HAL
open science

Conception, réalisation et mise en oeuvre d'un microsystème pour la micro spectroscopie par résonance magnétique nucléaire

Guillaume Pasquet

To cite this version:

Guillaume Pasquet. Conception, réalisation et mise en oeuvre d'un microsystème pour la micro spectroscopie par résonance magnétique nucléaire. Autre. Université Claude Bernard - Lyon I, 2009. Français. NNT : 2009LYO10106 . tel-00611547

HAL Id: tel-00611547

https://theses.hal.science/tel-00611547

Submitted on 26 Jul 2011

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 Claude Bernard Lyon 1

N° d'ordre : 106-2009 Année 2009

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Electronique, Electrotechnique et Automatique

Pour l'obtention du

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement le 10 juillet 2009

par

M. PASQUET Guillaume

Conception, réalisation et mise en œuvre d'un microsystème pour la micro spectroscopie par résonance magnétique nucléaire

Directeur de thèse : M. Pierre MORIN

Co-encadrant : M. Jean-François CHATEAUX

JURY:

Mme Sophie CAVASSILA, Professeur des universités, UCB Lyon1
M. Mustapha NADI, Professeur des universités, Université Nancy1
M. Christian BERGAUD, Directeur de Recherche, LAAS Toulouse
M. Brice SORLI, Maître de Conférences, Université Montpellier2
M. Pierre MORIN, Directeur de Recherche, UCB Lyon1
M. Jean-François CHATEAUX, Maître de Conférences, UCB Lyon1

Institut des Nanotechnologies de Lyon

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Monsieur Bergaud Christian, Chargé de Recherche au LAAS de Toulouse et Monsieur Nadi Mustapha, Professeur à l'Université Nancy I, pour avoir jugé cette thèse en tant que rapporteurs.

Je remercie vivement Mme Cavassila Sophie, Professeur à l'Université Lyon 1 et M. Sorli Brice, Maître de Conférences à l'Université Montpellier 2 pour avoir accepté d'examiner ce travail et de participer au jury.

Je remercie sincèrement Monsieur Pierre Morin, Directeur de Recherche au CNRS de m'avoir accueilli dans un premier temps au sein du Laboratoire d'Electronique Nanotechnologies Capteurs (LENAC) où ce travail a commencé pour continuer ensuite à l'Institut des Nanotechnologies de Lyon. Je le remercie pour ses conseils pertinents, sa culture scientifique et pour l'attention qu'il a porté à ce travail en tant que directeur de thèse.

Je tiens à remercier tout particulièrement Jean-François Chateaux, Maître de Conférences à l'INL pour avoir encadré mon travail. Nous avons travaillé ensemble sur ce projet, je le remercie pour sa disponibilité constante, sa culture et sa rigueur scientifique qu'il m'a communiquée. Je lui suis reconnaissant pour la formation à la recherche qu'il a su me donner et pour le travail conséquent qu'il a effectué pour la relecture de mon manuscrit. Au-delà du travail, j'ai apprécié les moments qu'on a passés ensemble à faire du sport. Et je lui souhaite beaucoup de bonheur à être papa.

Je remercie également Monsieur Bernard Fenet, Responsable du spectromètre utilisé dans mes travaux, pour sa disponibilité et son intérêt pour mon travail.

J'adresse ma sympathie, mon amitié et ma gratitude aux membres que j'ai côtoyés au laboratoire, pour leur gentillesse, leur aide et la bonne ambiance qu'il y a eu tout au long de ma thèse. En commençant par Rosaria, Anne-Laure, Marie-Pierre, Loubna, Junia, Marilyne, Yasmina et Marlène, et Lotfi, Laurent, Louis, Patrick, Pascal, Olivier, Michel, Khaled, Omar, Génaro, Aimad, Tewfik, Jean-Nicolas, Guillaume (G2), Guillaume (G3), Mathieu, Cyrille, et Mr Lu, Mr Pitaval et Mr Krawczyk.

Finalement un grand merci du fond du cœur à mes proches, à toute ma famille et à mes amis pour leur présence et à qui je dédie cette thèse.

A mes parents Catherine et Jean-Claude, pour leur présence et leur soutien tout au long de ma thèse et la relecture de mon manuscrit.

A mes grands parents, mon frère.

A tous mes amis de Sancé, de Mâcon, de Lyon, de Grenoble et de Marseille qui se reconnaitrons…

Et enfin, un grand merci à Carine, pour la relecture fastidieuse de mon manuscrit, pour m'avoir encouragé et pour tout ce qu'elle m'a apporté.

Table des matières

Introduction générale **1**

CHAPITRE I Microsystèmes pour la spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire **5**

1 Introduction : Généralité sur les micros capteurs et laboratoire sur puce **6**

2 Techniques d'analyse de faibles quantités de matière **8**

3 Spectroscopie RMN **9**

3.1 Principe de la RMN 10
3.1.1 Interactions d'un noyau atomique avec un champ magnétique 10
3.1.2 Noyaux de spin ½ 11
3.1.3 Phénomène de résonance 14
3.1.4 RMN impulsionnelle 14
3.1.5 Déplacement chimique 16
3.1.6 Signal utile : la FID 17
3.1.7 Temps de relaxation 19
3.2 Instrumentation pour la RMN 20
3.2.1 Structure d'un spectromètre par RMN 20
3.2.2 Sources de champs magnétiques intenses 21
3.3 Le Rapport signal sur bruit en spectroscopie par RMN 23
3.3.1 Signal d'excitation et aimantation de l'échantillon 23
3.3.2 Signal détecté 24
3.3.3 Origine du bruit et rapport signal sur bruit en RMN 25

4 Micros systèmes pour la spectroscopie RMN **28**

4.1 Microantennes Solénoïdales 28
4.2 Microantennes Planaires 29
4.3 Microantennes réalisées à l'Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL) 31
4.3.1 Solénoïde implantable 31
4.3.2 Antenne planaire implantable in vivo 33

5 Conclusion **34**

CHAPITRE II Conception d'une microantenne planaire **39**

1 Introduction : comparaison entre micros antennes solénoïdales et micros antennes planaires **40**

1.1 Facteur de remplissage 42
1.2 Facteur de remplissage et antenne volumique 42
1.3 Facteur de remplissage et antenne surfacique 43
1.4 Antennes planaires et antennes solénoïdales 44

2 Géométrie et modèle électrique de l'antenne planaire 45

2.1 Paramètres géométriques des antennes planaires 45
2.2 Caractéristiques électriques des antennes planaires.....46
2.2.1 Inductance de l'antenne planaire.....47
2.2.2 Capacités parasites 47
2.2.3 Résistance de perte 48
2.2.3.a Résistance en courant continu 49
2.2.3.b L'effet de peau 49
2.2.3.c L'effet de proximité.....51
2.2.3.d Résistances de pertes magnétiques et diélectriques 52
2.2.4 Facteur de qualité Q d'une antenne planaire 52

3 Modélisation électromagnétique par éléments finis 54

3.1 Développement sous COMSOL® 54
3.1.1 Géométries des antennes sous COMSOL® 54
3.1.2 Géométrie de la cavité 55
3.1.3 Modélisation d'une antenne et de sa cavité en 2D sous COMSOL® 56
3.1.4 L'interface de calcul développée sous MATLAB 57
3.2 Validation du logiciel de calcul 2D 58
3.2.1 Antennes planaires de référence 59
3.2.2 Caractérisation électrique 61
3.2.3 Présentation des résultats de mesure et de simulation.....63
3.2.4 Analyse des résultats de comparaison et validation du logiciel.....66
3.2.4.a Analyse des résultats sur la résistance 66
3.2.4.b Analyse des résultats sur l'inductance.....68

4 Optimisation des paramètres géométriques de l'antenne planaire par rapport à une cavité microfluidique 70

4.1 Contraintes de conception du système antenne-cavité.....70
4.2 Epaisseur de membrane.....71
4.3 Simulation des paramètres de l'antenne.....72
4.3.1 Détermination du nombre de spire de l'antenne 72
4.3.2 Le rayon interne (figure II-9) de la micro antenne.....73
4.3.3 Largeur des spires et de l'interspire de l'antenne planaire 74

5 Conclusion.....76

CHAPITRE III Réalisation du microsystème pour la spectroscopie par RMN 81

1 Introduction 82

2 Fabrication de microantennes planaires sur substrat polymère.....83

2.1 Procédé LIGA-UV 84
2.2 Métallisation du substrat polymère.....85
2.3 Création du moule d'électrodéposition par photolithographie UV 86
2.3.1 Principe de la photolithographie UV.....87
2.3.2 Résine sèche Ethertec HQ-6100 88
2.4 Electrodéposition de cuivre 90
2.4.1 Principe.....90

2.4.2 Montage du bain....92
2.4.3 Optimisation des paramètres de dépôt électrolytique 93
2.4.4 Vitesse de dépôt 94
2.4.5 Antennes réalisées par électrodéposition....96
3 Fabrication du système microfluidique par Hot Embossing....98
3.1 Principe de Hot Embossing 98
3.2 Fabrication du moule acier-nickel de pressage....100
3.2.1 Polissage du moule....100
3.2.2 Création des microstructures en nickel 101
3.2.2.a Production d'un micro-moule par photolithographie de résine SU-8 101
3.2.2.b Electrodéposition de nickel....103
3.3 Production de films de COC....104
3.4 Création des canaux et scellement irréversible....106
4 Fabrication du microsystème complet 109
4.1 Association de la microantenne et du réseau microfluidique....109
4.1.1 Microsystème entièrement à base de COC....109
4.1.1.a Remplissage du réseau microfluidique 111
4.1.1.b Etanchéité du système....112
4.1.2 Microsystème composite PCB/COC 112
4.2 Circuit électronique de conditionnement de l'antenne 114
4.2.1 Principe d'accord et d'adaptation capacitif 114
4.2.2 Circuits de conditionnement réalisés....116
4.2.2.a Version à capacités mécaniques 116
4.2.2.b Version à varicaps 116
4.2.3 Calcul et mesures du facteur de qualité de différentes sondes 117
4.2.4 Distorsions magnétiques dues aux composants du circuit de conditionnement 120
5 Essais et évaluation des performances des microsystèmes réalisés....122
5.1 Recherche des paramètres optimaux de spectroscopie RMN....123
5.1.1 Durée entre chaque acquisition....123
5.1.2 Durée d'impulsion....125
5.2 Essais en Spectroscopie RMN des microsystèmes réalisés 127
5.2.1 Essais en Spectroscopie RMN du microsystème en COC....127
5.2.2 Essais en spectroscopie RMN du microsystème composite PCB/COC....130
5.3 Rapport signal sur bruit calculé théoriquement et mesurés....132
5.3.1 Détermination du rapport signal sur bruit à partir d'un spectre....132
5.3.2 Rapport signal sur bruit théorique....132
5.3.3 Définition de la limite de détection 133
5.3.4 Rapport signal sur bruit et limite de détection mesurés 133
6 Conclusion....138

CHAPITRE IV Influence des inhomogénéités de champ et de l'amortissement radiatif sur la résolution spectrale 143
1 Introduction 144
2 Résolution spectrale en spectroscopie par RMN 145

2.1 Temps de relaxation 145
2.2 Relation entre T_2^* et résolution spectrale 146
2.3 Distorsion du champ magnétique et susceptibilité magnétique 147
2.3.1 Susceptibilité magnétique 147
2.3.2 Propriétés magnétiques d'un mélange 149
2.3.3 Mesure de la susceptibilité magnétique du COC 149
2.3.4 Mesure de la susceptibilité magnétique du FR4 152
2.3.5 Susceptibilités magnétiques des différents constituants du microsystème 153
2.3.6 Expérience RMN montrant l'élargissement des raies spectrales 154
3 Modélisation par éléments finis des distorsions magnétiques induites par la microsonde RMN 156
3.1 Modélisation 3D de la sonde RMN 156
3.2 Validation du modèle de calcul 157
3.3 Observation des distorsions du champ magnétique : influence de la distance antenne-cavité 160
4 Calcul numérique de la résolution spectrale 165
4.1 Forme de raie spectrale, fonction de Lorentz 165
4.2 Valeurs numériques du champ magnétique 166
4.3 Intégration de la fonction de Lorentz sur le volume de l'échantillon 167
4.4 Résolution spectrale calculée pour différents cas d'étude 168
4.4.1 L'échantillon est confiné dans la cavité microfluidique 168
4.4.1.a Influence de l'épaisseur de la membrane 169
4.4.1.b Susceptibilité magnétique variante dans la cavité du modèle 171
4.4.1.c Inclinaison du modèle 172
4.4.2 Discussion 173
5 Amortissement radiatif dans une expérience à 11.74 Tesla 174
5.1 Constante de temps de l'amortissement radiatif 174
5.2 Forme des raies spectrales en cas d'amortissement radiatif 175
5.3 Résolution spectrale dans le cas de l'amortissement radiatif 176
5.3.1 Variation de l'amortissement radiatif en fonction du facteur de remplissage 177
5.3.2 Modèle incluant l'amortissement radiatif 180
5.3.3 Variation de l'amortissement radiatif en fonction de la concentration en protons de l'échantillon 184
6 Conclusion 187
Conclusion Générale 191

Introduction générale

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit a pour objectif la conception la réalisation, le test et la caractérisation d'un microsystème d'instrumentation pour la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRMN) d'un échantillon de très faible volume (micro-SRMN). De part la nature du microsystème produit, ce travail s'inscrit dans le cadre plus général des Laboratoires-sur-Puce (Lab-on-Chip). Cette science pluridisciplinaire s'intéresse à la conception et à la réalisation de micro-dispositifs pour la manipulation et l'analyse de faibles quantités. Dans le travail présenté ici, nous nous sommes intéressés plus particulièrement à la fabrication d'un outil analytique permettant de regrouper sur une même puce, un système microfluidique servant à la rétention d'un échantillon, dont le volume est de l'ordre de 100nL, et une microantenne planaire qui sera l'élément sensible d'un spectromètre RMN.

La microfluidique est une discipline qui s'intéresse à la compréhension et à l'exploitation d'écoulements de fluides dans des canaux de très faible section (quelques dizaines à quelques centaines de micromètres) réalisés par des techniques de microfabrication dans des matériaux comme le silicium, le verre, ou un polymère. Cette thématique de recherche constitue une part importante de l'activité de l'Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL), institut dans lequel ce travail de thèse a été effectué.

Dans le domaine de l'analyse chimique, un très grand nombre de techniques analytiques ont été développées et mises en œuvre à l'échelle macroscopique. L'adaptation de ces techniques à l'échelle microscopique, lorsque cela est possible, présente souvent de nombreux avantages. Ainsi, il est possible de réduire les coûts (systèmes d'analyses jetables), les quantités de produits (coût, écologie), la quantité d'échantillon nécessaire (coût, échantillons par nature disponibles en très faible quantité) et parfois les temps d'analyse (analyse intrinsèquement plus rapide ou pouvant être effectuée en parallèle sur un grand nombre d'échantillons. Ainsi, la spectroscopie par résonance magnétique nucléaire, technique analytique incontournable devant la richesse des informations qu'elle peut fournir, est un outil très performant pour l'étude de composés chimiques et biochimiques complexes, et est

certainement aujourd'hui un des outils d'analyse parmi les plus utilisés en chimie organique. La réduction des dimensions du système de détection d'un spectromètre RMN présente l'avantage d'un gain important en sensibilité pour l'analyse d'échantillons de faible volume, analyse autrement impossible avec un système aux dimensions plus conventionnelles Il est donc particulièrement intéressant de chercher a intégrer cette technique analytique dans un microsystème de type laboratoire sur puce.

Ce mémoire s'articule autour de quatre chapitres.

Le premier chapitre donne une brève présentation des laboratoires sur puce et des systèmes micro-électromécaniques, qui par leurs domaines d'application et leurs avantages d'utilisation dans la vie de tous les jours, donnent les perspectives à atteindre dans notre étude. Le but de notre travail étant de concevoir et réaliser un étage d'analyse par spectroscopie RMN sur une puce microfluidique, une description élémentaire de la Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire est indispensable pour comprendre son domaine d'application, les instruments nécessaires à sa mise en œuvre, et ses applications. L'état de l'art de la micro-spectroscopie RMN et les travaux antérieurs sur ce thème auxquels le laboratoire a participé seront ensuite présentés.

Dans le deuxième chapitre, une description des différentes géométries d'antennes utilisables en RMN et leur champ d'action est donnée. En gardant à l'esprit notre objectif de fabriquer un microsystème d'analyse, un choix est effectué spécifiant l'antenne la plus adaptée à notre étude. Travaillant à hautes fréquences (quelques centaines de mégahertz), le comportement fréquentiel des propriétés électriques de l'antenne et sa modélisation sont présentés. Les problèmes de résolution analytique des paramètres électromagnétiques de l'antenne en hautes fréquences imposent le développement d'un outil de calcul numérique utilisant une modélisation par éléments finis. Le modèle utilisé pour la description de l'antenne est décrit et validé par comparaison à des mesures effectués à différentes fréquences sur des antennes planaires réalisées au laboratoire. Enfin, l'optimisation des paramètres géométriques de l'antenne grâce à cet outil fait l'objet d'une étude visant à maximiser le rapport signal sur bruit du signal électromagnétique à détecter.

Le troisième chapitre propose une description complète et précise de la réalisation de la microsonde RMN à base d'un polymère. Bien que les méthodes de réalisation de microsystèmes avec des matériaux durs soient éprouvées, l'utilisation des matériaux souples, tels que les polymères, suscite un intérêt grandissant depuis quelques années. En effet, les polymères sont moins couteux que le silicium et le verre et peuvent être micro-structurés par moulage. Cette méthode ne demande pas l'utilisation d'un équipement spécifique contrairement aux techniques de gravure utilisées pour les matériaux durs et les procédés de fabrication sur matériaux souples sont beaucoup plus rapides. De plus, nous verrons dans notre étude que l'utilisation d'un thermoplastique qui est un matériau rigide à température ambiante présente les avantages des matériaux durs et souples.

Dans un premier temps sont présentés les procédés de micro fabrication essentiels à la réalisation de notre microsystème d'analyse. Tous ces procédés ont été développés et optimisés pour créer d'une part l'antenne sur un substrat en polymère et d'autre part, un système microfluidique en polymère, destinée à la rétention de l'échantillon. Ensuite, est présentée la fabrication d'un microsystème complet fonctionnant en spectroscopie RMN. Enfin, les microsystèmes réalisés sont testés en spectroscopie RMN et une analyse des résultats est effectuée. L'efficacité des microsondes et leur performance, du point de vue de la détection de faible quantité de produits sont discutées. Une comparaison est effectuée entre les valeurs théoriques obtenues grâce à l'outil de calcul développé dans le deuxième chapitre et les mesures réalisées sur les spectres.

Enfin, le quatrième et dernier chapitre présente une étude de la résolution spectrale en SRMN. Dans un premier temps, les phénomènes de relaxation, exploités par le principe même de la SRMN, seront présentés afin de mettre en évidence leur lien avec l'élargissement des raies spectrales constaté expérimentalement lors des premiers essais du microsystème. Ensuite, une modélisation 3D par éléments finis des variations du champ magnétique statique induites par la microsonde, permettra de calculer la forme théorique des raies spectrales et d'en déduire l'influence de ces distorsions sur la résolution spectrale. Enfin, une comparaison est effectuée entre les résultats obtenus par calcul et les mesures réalisées sur les spectres. A partir de cette analyse, une étude supplémentaire sur le phénomène d'amortissement radiatif est développée afin de tenter d'expliquer les différences résiduelles observées.

CHAPITRE I Microsystèmes pour la spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire

Sommaire :

1 Introduction : Généralités sur les micros capteurs et laboratoire sur puce

2 Techniques d'analyse de faibles quantités de matière

3 Spectroscopie RMN

4 Microsystèmes pour la spectroscopie RMN

1 Introduction : Généralité sur les micros capteurs et laboratoire sur puce

Depuis une vingtaine d'année, un certains nombres de travaux ont été mis en œuvre afin d'analyser des échantillons de volumes toujours plus faibles par RMN. Cette orientation n'est pas propre à la RMN et s'explique par le développement et l'apparition de systèmes d'analyse sur puce tels que les Lab-On-a-Chip et les µTAS présentés dans la suite. La miniaturisation des systèmes est apparue avec le concept de microsystèmes électromécaniques, plus connus sous l'acronyme MEMS.

Les MEMS, (Micro Electro Mechanical Systems), sont apparus au début des années 70. Les procédés de la microélectronique, habituellement employés pour la fabrication des transistors, sont mis à profit dans la réalisation de microsystèmes. La première commercialisation remonte aux années 80 avec des capteurs de pression sur silicium. Ils sont de tailles micrométriques et sont souvent utilisés dans l'électroménager, l'automobile et la médecine. Ainsi, un des premiers microsystèmes qui a été développé à des millions d'exemplaires par l'industrie a été utilisé dans la fabrication des buses pour imprimantes à jet d'encre [1], (figure I-1).

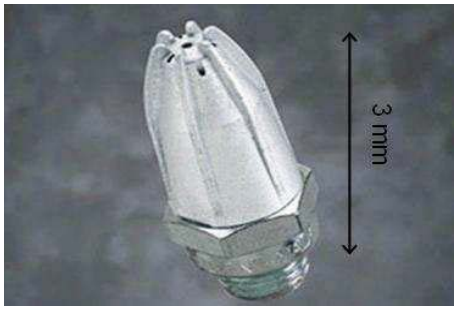


Figure I-1 : Buse pour imprimante à jet d'encre

C'est ainsi que les premiers miroirs électrostatiques ont été développés par Texas Instruments pour créer des vidéoprojecteurs, ou encore les premiers accéléromètres [2, 3] fabriqués par Analog Device pour leur utilisation dans les airbags, les capteurs de pression [4], et la micro optique [5]. Ces microsystèmes présentent des avantages en terme de taille (miniaturisation), de consommation réduite et sont de plus en plus utilisés dans l'industrie [6]. Le marché mondial des microsystèmes pourrait atteindre la valeur de 1,5 milliard de dollars US par année d'ici 2015. L'objet de notre étude va s'orienter vers un microsystème d'analyse chimique entrant dans le cadre des laboratoires sur puce.

Les laboratoires sur puce, ou Lab-On-a-Chip sont des technologies qui utilisent des réseaux de micro-canaux gravés dans du silicium ou dans des polymères pour fabriquer des minis laboratoires. C'est seulement au début des années 90 que les recherches se sont développées sur des micros pompes [7-9], des micros valves [10, 11] et d'autres concepts de traitements de liquides intégrés sur un microsystème d'analyse. Par exemple, les systèmes portatifs complets développés par le laboratoire Earth Sciences Division de Berkeley, (figure I-2).

Figure I-2 : Exemple de laboratoire sur puce fabriqué à Berkeley permettant l'analyse rapide de populations microbiennes. Image issue du site (http://www.lbl.gov/publicinfo/newscenter/pr/2008/TT-RD100.html).

Ce laboratoire sur puce, tenant dans une main, est une micro matrice d'ADN qui identifie rapidement des espèces chimiques, sans aucune culture préalable. Il permet de dépister des changements microbiens dans l'atmosphère dus au changement climatique, de découvrir des organismes nocifs dans les échantillons de sol ou d'eau et de contrôler des populations bactériennes.

Les progrès techniques, en particulier la miniaturisation, ont permis le développement d'appareillages d'analyse performants. Ces derniers permettent le traitement d'échantillons, le mélange, la dilution et la détection de particules avec des systèmes intégrés simples. L'échantillonnage, le transport des solutions, les réactions chimiques, les séparations et la détection sont automatisés. Par exemple, le développement de pompes à diaphragme miniatures couplées à des capteurs d'écoulement permettent le control du liquide au µL/min avec un temps de réponse court [12, 13].

Les avantages principaux du laboratoire sur puce sont la facilité d'utilisation, les faibles volumes à étudier, la vitesse d'analyse, la basse consommation d'énergie et la haute reproductibilité en raison de l'automatisation du matériel, d'autant plus que les produits à

analyser peuvent être chers et polluants. La miniaturisation permet également de rendre ces systèmes portables. Cette nouvelle vague de technologies ouvre la voie à un large domaine d'applications, tant génétiques que biochimiques, de l'étude des molécules aux diagnostiques médicaux, notamment pour dépister au plus vite des pathologies telles que la maladie d'Alzheimer et la maladie de Parkinson.

Les laboratoires sur puce sont souvent désignés par le terme µTAS (micro Total Analysis System [14, 15]). Les laboratoires sur puce définissent un ensemble d'étapes de détection sur une même puce pour l'analyse chimique et biochimique, alors que le µTAS a des applications plus variées [16]. Dans la suite du manuscrit, on ne fera pas cette distinction de vocabulaire et on ne parlera que de Laboratoires sur puce.

Le but de notre étude étant de concevoir et réaliser un étage d'analyse par spectroscopie RMN sur une puce microfluidique, une présentation de la Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire (SRMN) est indispensable afin de comprendre l'intérêt de l'intégrer dans un Laboratoire sur puce. D'abord, en la comparant à d'autres techniques de détection, ensuite en décrivant son principe de fonctionnement ainsi que le dispositif expérimental nécessaire à sa mise en œuvre. Enfin, une description des travaux réalisés par d'autres équipes en SRMN sera faite afin de définir les objectifs à atteindre et les progrès qui peuvent être apportés aux systèmes déjà existants.

2 Techniques d'analyse de faibles quantités de matière

L'extraction des spectres en Résonance Magnétique Nucléaire sur des échantillons de très faibles volumes (de l'ordre des microlitres à nano litres) n'a cessé de se développer ces dernières années. L'apparition d'aimants supraconducteurs pouvant produire des champs magnétiques de plus en plus grand a considérablement amélioré la sensibilité de cette technique d'analyse [17]. Cependant, elle reste encore peu sensible par rapport aux autres techniques d'analyse telles que la fluorescence et la spectrométrie de masse [17, 18].

La fluorescence est une des techniques les plus sensibles. Elle permet de détecter des quantités de matière de l'ordre de 10^{-12} M (molaire). Le principe repose sur les propriétés de certaines molécules appelées fluorophores capables d'absorber de l'énergie lumineuse véhiculé par des photons de longueur d'onde λ_1 et de la restituer rapidement (<1ns) sous forme de photons émis à une longueur d'onde λ_2 (avec toujours $\lambda_2 > \lambda_1$).

Par exemple, une approche analytique puissante, très utilisé pour des applications en biochimie comme sur le dosage immunologique [19], sur le fragment d'ADN [20], et sur la séparation de protéine et d'aminoacide [21], consiste à se servir d'un laser pour induire la fluorescence. Cette technique nommée « Lazer-Induced Fluorescence, (LIF) » a l'avantage d'être très sensible, surtout couplée à une technique de séparation en micro fluidique : l'électrophorèse capillaire. Elles permettent d'obtenir des limites de détection très basses en termes de concentration de composé chimique. Un microsystème d'analyse basé sur cette méthode a été précédemment réalisé à l'INL [22]. En combinant les techniques de LIF et d'électrophorèse capillaire, et en utilisant un détecteur CMOS, des mesures de concentrations sur des volumes aussi faibles que 5nL de fluorescéine ont été effectuées. Les résultats expérimentaux obtenus montrent qu'une concentration de 10^{-10} M est détectable à partir de ce microsystème.

On a vu que la fluorescence est un outil très performant pour la détection de molécules. Cette technique a déjà été intégrée dans des laboratoires sur puce et a fait ses preuves en termes de sensibilité. Il ne s'agit cependant que d'une technique analytique parmi d'autres, dont certaines présentent un avantage à être intégrées dans un laboratoire sur puce. Ainsi, l'intégration de la spectroscopie par RMN (SRMN) présente un double intérêt. Tout d'abord, parce que la SRMN, bien que moins sensible que la fluorescence (la limite de détection est de l'ordre de 10^{-9} M [23]), est bien souvent un outil incontournable pour analyser par exemple des structures complexes telles que les protéines.

Ensuite, l'analyse de très faibles volumes d'échantillon requière impérativement la miniaturisation du système de détection du signal RMN. Sans cette miniaturisation, le rapport signal sur bruit serait trop faible pour rendre la mesure possible. C'est dans ce cadre de recherche important et récent (pour ce qui est de l'intégration sur laboratoires sur puce) [24-26] que le travail dans ce manuscrit s'inscrit.

3 Spectroscopie RMN

La résonance magnétique nucléaire a débuté dans les années 1940 par l'étude des propriétés de certains noyaux atomiques. Edward Mills Purcell est à l'origine de cette découverte avec Torrey et Pound. Il obtient en 1952 le prix Nobel avec Félix Bloch pour l'une des plus importantes avancées du vingtième siècle dans le domaine de la médecine. L'importance de cette technique a été reconnue lorsqu'a été établie la relation entre les

fréquences de résonance des noyaux et la nature de leur environnement électronique, ouvrant la voie à une nouvelle méthode d'analyse par spectroscopie. L'analyse de produits chimiques et biochimiques par RMN a considérablement évolué depuis 1950, surtout grâce aux progrès technologiques qui ont permis d'obtenir une meilleure sensibilité et plus de facilité de mis en œuvre.

3.1 Principe de la RMN

3.1.1 Interactions d'un noyau atomique avec un champ magnétique

Les propriétés magnétiques des noyaux atomiques sont la base du fonctionnement de la RMN. Le noyau atomique est constitué de nucléons (protons et neutrons), à l'exception de l'atome d'hydrogène constitué d'un unique proton. Ces noyaux possèdent un spin S, généré par la somme des contributions des spins isolés de chaque nucléon. D'après la mécanique quantique, le spin S du noyau atomique suit les règles suivantes :

Soit Z le nombre de protons du noyau et N le nombre de neutrons,

- si Z et N sont pairs, alors S=0,
- Z est impair et N est impair, alors S est entier,
- Z est pair et N est impair, alors S est demi-entier
- et Z est impair et N est pair, alors S est demi-entier.

Le tableau I-1 présente quelques exemples de valeurs de spin de noyaux atomiques d'intérêt biochimique.

Noyau	Z	N	Spin S
^{1}H	1	0	½
^{12}C	6	6	0
^{13}C	6	7	½
^{14}N	7	7	1
^{23}Na	11	12	3/2
^{31}P	15	16	½
^{39}K	19	20	½

Tableau I-1 : Valeurs de spin déduites par rapport aux nombres de protons et neutrons pour quelques noyaux atomiques

Un noyau est caractérisé par un moment magnétique μ défini par la relation I-1. Si le spin est nul, le noyau n'a pas de moment magnétique est ne peut pas être détecté en RMN.

$$\vec{\mu} = \hbar\gamma.\vec{S} \qquad \textbf{I-1}$$

où ħ est la constante de Planck normalisée, le terme γ étant le rapport gyromagnétique du noyau considéré en radiant par seconde par tesla. Quelques valeurs de γ pour certains des noyaux atomiques les plus observés en RMN sont présentées dans le tableau I-2.

Noyau	**Rapport gyromagnétique (en rad.s^{-1}.T^{-1})**
^{1}H	267,13.10^{6}
^{13}C	67,23.10^{6}
^{23}Na	70,75.10^{6}
^{31}P	108,32.10^{6}

Tableau I-2 : Valeurs du rapport gyromagnétiques pour les atomes d'hydrogène, de carbone, de sodium et de phosphore

3.1.2 Noyaux de spin ½

Parmi les noyaux de moment magnétique non nul, les noyaux de spin ½ jouent un rôle particulier. Dans cette classification figurent entre autre les noyaux ^{1}H, ^{13}C, ^{14}N, ^{19}F et ^{31}P qui sont présents dans beaucoup de composés intéressants en chimie et en biochimie. La mécanique quantique énonce alors que le moment magnétique de ces noyaux possède deux états stables, (relation I-2).

$$\mu = \pm\frac{1}{2}.\gamma.\hbar \qquad \textbf{I-2}$$

En l'absence de champ magnétique, les moments magnétiques de tous les noyaux d'un échantillon prennent des directions aléatoires. Mais lorsqu'un champ magnétique constant B_0 est appliqué sur un échantillon de matière contenant ce type de noyaux, le moment magnétique de chaque noyau s'aligne suivant la direction de B_0 et prend une orientation parallèle ou antiparallèle à ce champ, (figure I-3).

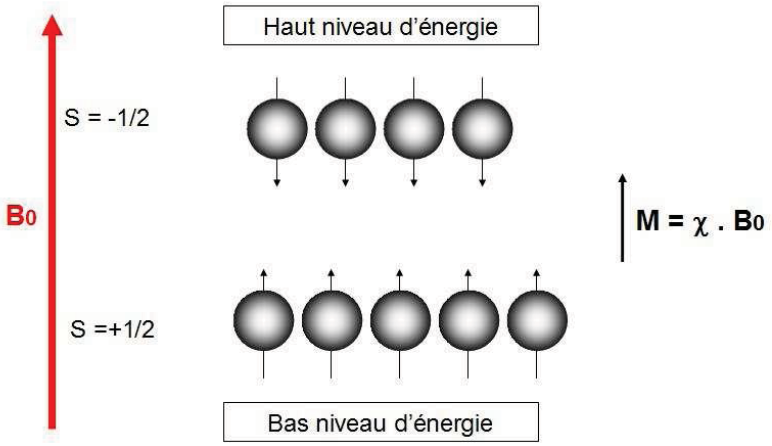


Figure I-3 : Alignement parallèle et antiparallèle des aimantations des noyaux soumis à un champ magnétique B_0

L'alignement parallèle étant à un niveau d'énergie plus faible que celui antiparallèle, les statistiques de Boltzmann nous apprennent que sous un champ constant, il existe un peu plus de noyaux orientés parallèlement qu'antiparallèlement. Cette asymétrie est cependant très faible, de l'ordre de quelques noyaux par millions, et c'est ce qui explique la faible sensibilité intrinsèque des méthodes basées sur la RMN.

Ainsi, le noyau peut être représenté par un vecteur de moment magnétique μ. Ce moment magnétique a un mouvement particulier appelé « précession », autour d'un axe dirigé suivant la direction du champ appliqué B_0, à la vitesse $\omega_0 = \gamma.B_0$ [27], c'est la pulsation de Larmor du noyau, appelée aussi phénomène de précession, (figure I-4). (Par exemple 42.58 MHz pour le proton sous un champ de 1 Tesla).

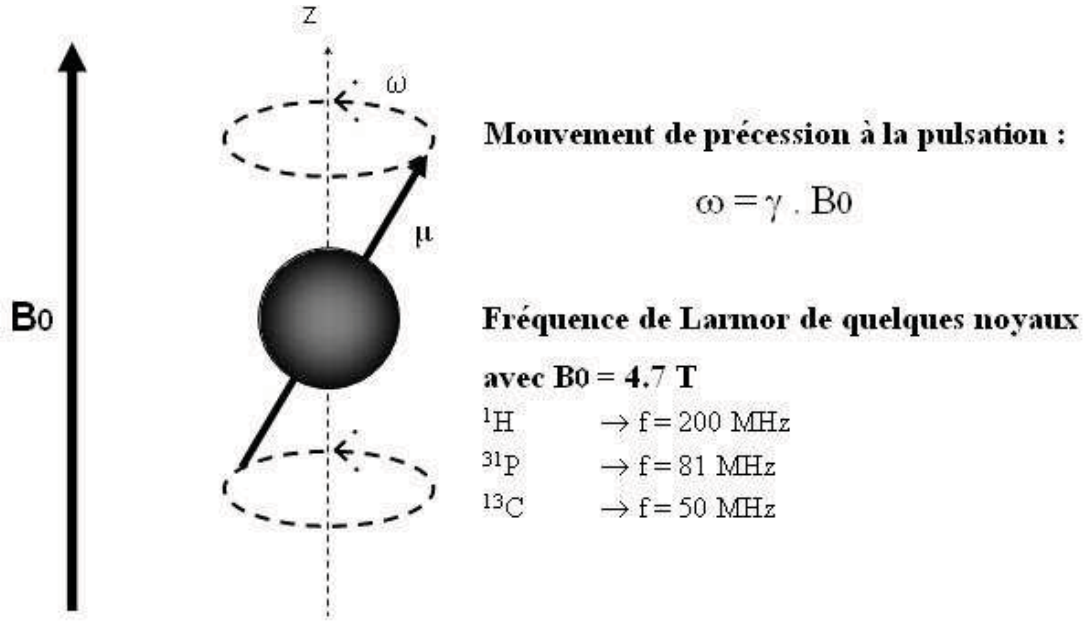


Figure I-4 : Mouvement de précession d'un noyau soumis à un champ magnétique statique

Ce mouvement de précession s'applique à tous les noyaux présents dans un échantillon. Les aimantations magnétiques de chacun d'entre eux n'ont pas tous la même direction à un instant donné mais sont régis par la même vitesse de précession, (figure I-5).

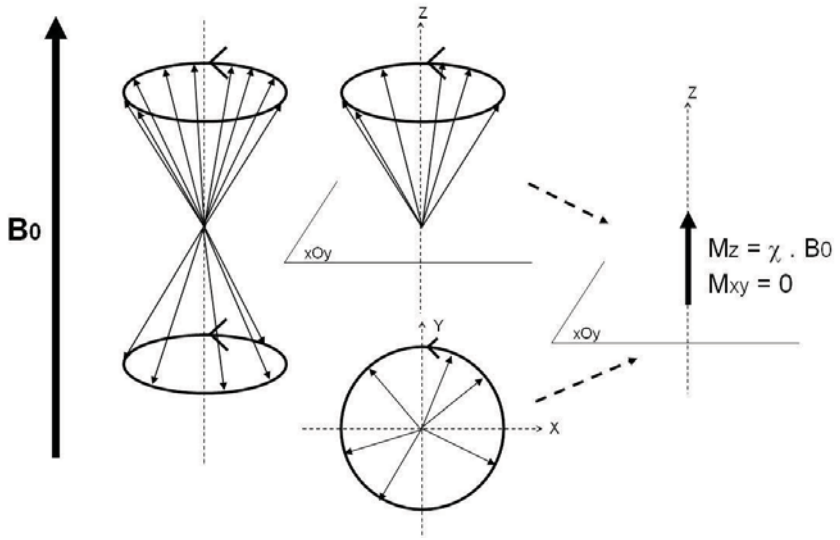


Figure I-5 : Schéma du mouvement de précession de plusieurs noyaux représentés par leur aimantation magnétique.

Pour un échantillon, on ne parlera plus du moment magnétique d'un noyau (μ), mais de l'aimantation résultante (M), constituée de la somme vectorielle des aimantations magnétiques des noyaux. L'asymétrie des directions parallèles et antiparallèles est mise en

évidence sur la figure I-5. La composante de l'aimantation résultante suivant l'axe du champ, (M_z) est donc toujours présente et colinéaire au champ B_0. Par contre, la composante de l'aimantation résultante, dans le plan xOy (M_{xy}), est nulle car elle représente la somme vectorielle des aimantations qui sont de directions aléatoires dans ce même plan.

3.1.3 Phénomène de résonance

Un noyau de spin ½ possède deux niveaux d'énergies lors de son interaction avec un champ magnétique. L'énergie nécessaire pour passer d'un état à l'autre, (E) (figure I-6) peut être atteinte par l'intermédiaire d'une onde électromagnétique (OEM).

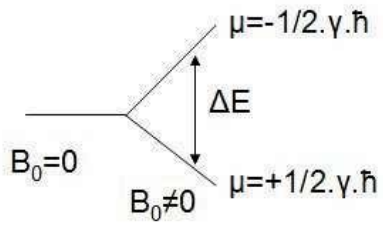


Figure I-6 : Diagramme représentant les deux niveaux d'énergie des orientations parallèles et antiparallèles

Cette transition est induite par l'application ponctuelle d'un champ magnétique B_1 perpendiculaire à B_0 et de fréquence choisie. Ces fréquences ont le même ordre de grandeur que celles utilisées pour des radio-transmissions. On parle alors de radiofréquence (RF). Pour que la résonance ait lieu, il faut que la RF appliquée soit égale à la fréquence de précession du noyau. C'est uniquement dans ce cas que l'énergie RF (E) est transférée de façon efficace aux noyaux et que le basculement s'opère : c'est le « phénomène de résonance » en RMN. Par habitude, un spectromètre de RMN est caractérisé par la fréquence de résonance du proton. Par exemple à un champ de 11.74 T correspond une fréquence de 500.13 MHz pour le proton qui nous intéressera tout particulièrement dans ce manuscrit.

3.1.4 RMN impulsionnelle

Une antenne RF est utilisée pour générer un champ magnétique B_1. Celui-ci fournie l'énergie suffisante aux noyaux occupant un bas niveau d'énergie (parallèle) pour passer à un haut niveau d'énergie (antiparallèle). Cela induit un équilibre des populations parallèles et antiparallèles et donc la réduction de la composante M_z. De plus, les vecteurs aimantations des noyaux se mettent en phase, (figure I-7).

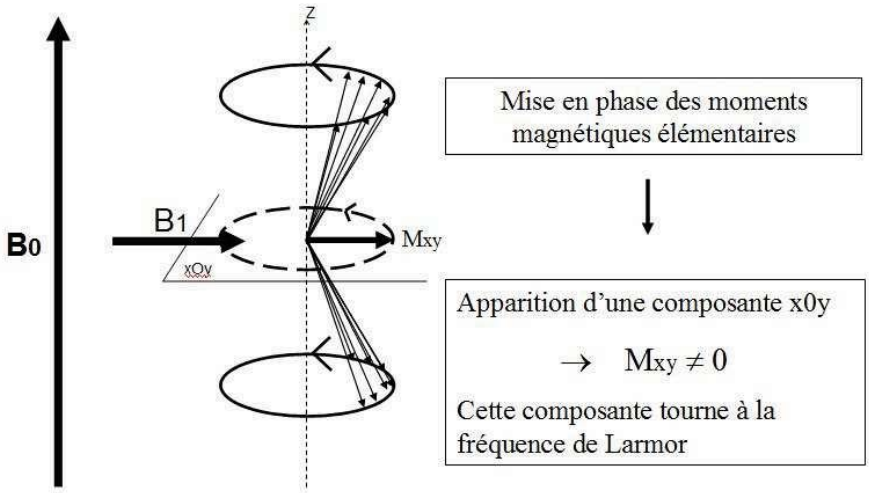


Figure I-7 : Schéma représentant l'action d'un champ B_1 sur les aimantations magnétiques de plusieurs noyaux

On a donc l'apparition d'une composante M_{xy}. Dans ce référentiel cartésien, le vecteur aimantation M peut donc se décomposer en un vecteur M_z sur l'axe Oz et en un vecteur M_{xy} dans le plan xOy, (figure I-8). M_{xy} peut aussi se décomposer en une composante M_x sur l'axe des x et une composante M_y sur y qui seront utiles dans la suite.

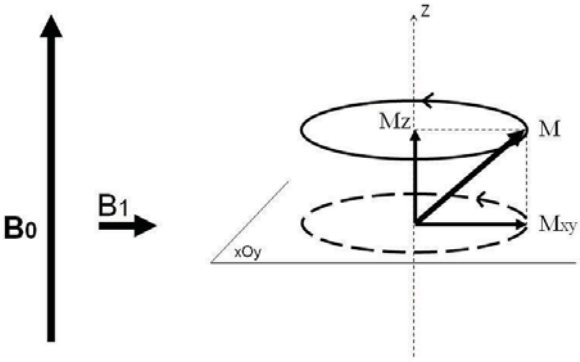


Figure I-8 : Schéma des composantes transverse (M_{xy}) et longitudinale (M_z) de l'aimantation magnétique

Le champ B_1 agit de quelques microsecondes à quelques centaines de microsecondes et ainsi, le vecteur M bascule d'un angle θ qui dépend donc de la différence entre les populations parallèle et antiparallèle. Comme il est possible de gérer facilement la durée de l'impulsion t_0, il est donc possible de contrôler l'angle θ par la (relation I-3).

$$\theta = \gamma . B_1 . t_0 \qquad \textbf{I-3}$$

Le contrôle de l'angle θ est fondamental et est à l'origine d'une multitude de séquences RMN. Mais le cas le plus simple correspond à un basculement de 90° dans lequel (Mz) s'annule car il y a équilibre parfait des populations, (figure I-9).

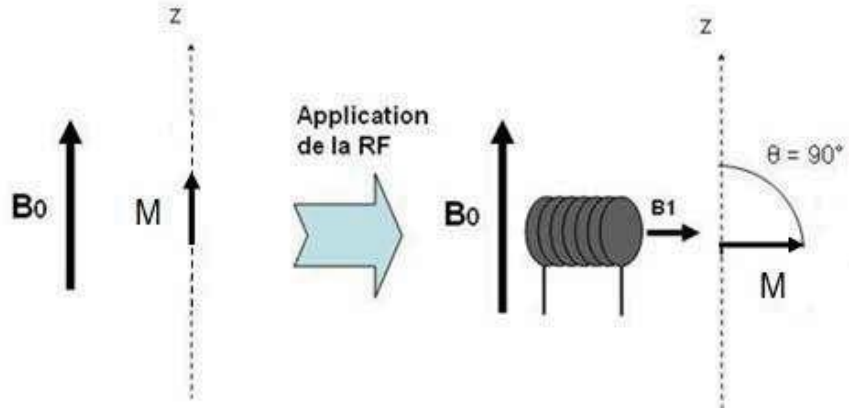


Figure I-9 : Représentation du basculement de l'aimantation d'un angle θ=90° grâce à une antenne RF produisant un champ B_1

En pratique, le temps d'excitation par le champ RF B_1 correspond à une impulsion de courte durée. On parle alors de RMN impulsionnelle (par opposition à la RMN continue qui historiquement a été la première à être utilisée).

3.1.5 Déplacement chimique

On pourrait penser que pour un type de noyau donné, caractérisé par son rapport gyromagnétique, la fréquence de résonance n'est déterminée que par l'intensité du champ magnétique B_0 appliqué. En fait, les électrons entourant le noyau créent un champ magnétique, perturbant le champ B_0. Chaque noyau perçoit donc un champ local B_0^{loc}, dépendant de la densité électronique au voisinage de ce noyau. La nature des atomes et des liaisons environnantes, c'est-à-dire l'environnement chimique du noyau, induit des valeurs particulières de B_0^{loc}. La relation entre B_0 et B_0^{loc} se fait au travers d'un paramètre appelé « constante d'écran » (relation I-4) qui traduit la diminution du champ magnétique perçu par le noyau (par rapport à B_0) due au phénomène d'écran produit par le nuage électronique.

$$B_0^{loc} = B_0(1-\sigma) \qquad \textbf{I-4}$$

La constante d'écran σ varie dans un intervalle restreint, d'une dizaine de partie par millions (ppm), 10^{-5} pour les protons ^1H à quelques centaines de ppm, 2.10^{-4} pour les noyaux de ^{13}C. Comme B_0^{loc} est légèrement différent de B_0, ce noyau précesse à une fréquence

différente de celle de Larmor (figure I-4) et en RMN, les différences entre deux fréquences de noyaux différents sont de quelques Hertz, les chimistes ont défini une autre grandeur, le déplacement chimique noté δ. Il est défini pour chaque type de molécule par rapport à une référence. Cette substance de référence est appelée le tétra-méthyl-silane (TMS) pour les noyaux ^{1}H et ^{13}C. La grandeur δ est sans unité :

$$\delta_{ppm} = \frac{f_0 - f_{ref}}{f_{ref}} 10^6 \qquad \textbf{I-5}$$

l'indice ppm désignant des « parties par million », f_{ref} correspond au déplacement chimique des protons du TMS et f_0 est celui du noyau étudié. Le pic de TMS vaut par convention 0 ppm. Pour le proton, les déplacements chimiques vont de 0 à 15 ppm. Dans le cas du carbone ^{13}C, ils vont de 0 à 300 ppm.

Type d'environnement ^{1}H	δ en ppm	Type d'environnement ^{1}H	δ en ppm
-CH-C	0,8 à 1	-CH-X	2,5 à 4
-CH-C-C-X	0,8 à 1,2	-CH-O-C=O	3,7 à 4,8
-CH-C=C-	1,6 à 2,2	$H_2C{=}C$	4,5 à 5,3

Tableau I-3 : Quelques exemples de déplacement chimique en ppm en fonction des liaisons atomiques

Le déplacement chimique est ce qui permet d'exploiter le phénomène de RMN pour en faire un outil en spectroscopie. Il indique que chaque noyau porte une signature intrinsèque dépendante de son environnement électronique et donc des liaisons moléculaires dans lesquelles le noyau observé est impliqué. Ainsi, les noyaux ^{1}H appartenant à une molécule de CH_2 par exemple n'auront pas la même fréquence de Larmor (et donc pas le même déplacement chimique) que ceux impliqués dans une molécule de CH_3. L'ensemble des déplacements chimiques observés pour un échantillon constitue son spectre de RMN.

3.1.6 Signal utile : la FID

Le signal utile en RMN est obtenu en observant le vecteur aimantation M lors de son retour à l'équilibre. Dès la disparition du champ B_1, M évolue pour retourner à son état d'équilibre, on parle alors de phénomène de relaxation. Il précesse à la vitesse angulaire ω_0 autour de l'axe vertical Oz. Donc, lors du retour du vecteur M à son état magnétique le plus

stable, cette précession fait décrire au vecteur M un mouvement de colimaçon autour de l'axe vertical Oz, (figure I-10).

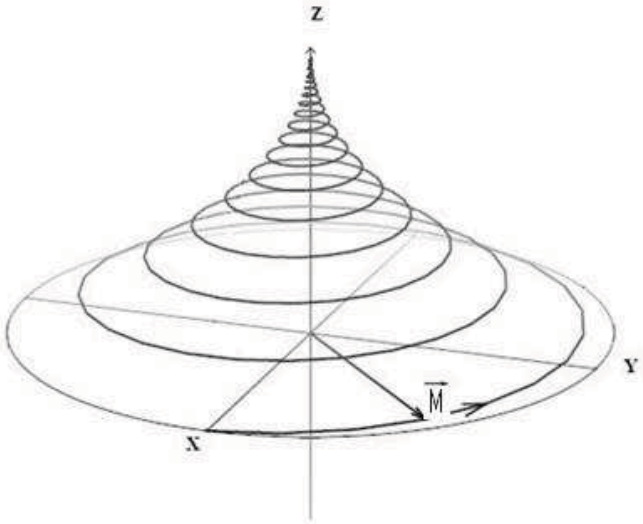


Figure I-10 Schéma représentant le vecteur aimantation pendant son retour à l'équilibre

En pratique, ce qu'on observe, c'est une des composantes de la projection de M dans le plan xOy, M_x ou M_y (définies plus haut), celles-ci vont avoir une variation sinusoïdale amortie. Bien entendu, ce que l'on observe pour M_x est également observé pour la composante M_y. On observe donc une décroissance de l'induction M_x sur l'axe x en fonction du temps, (figure I-11).

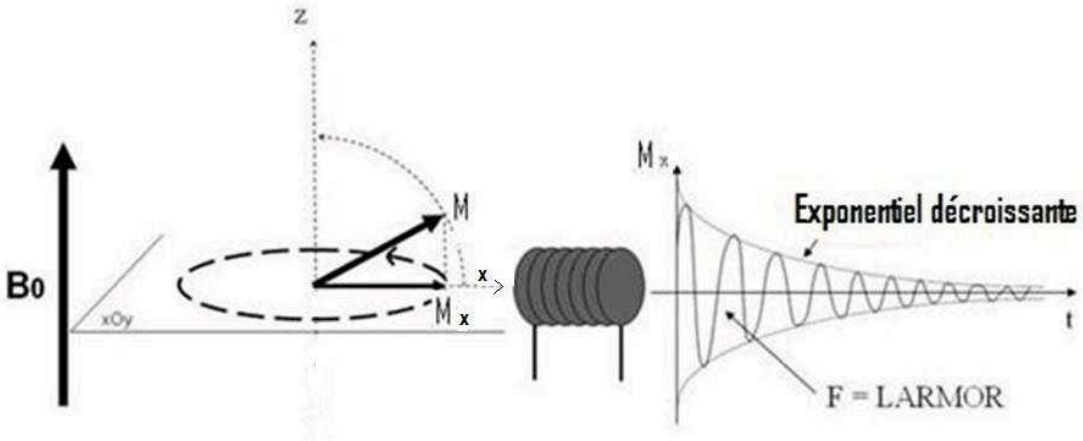


Figure I-11 : Variation de l'amplitude de M_x en fonction du temps après l'excitation. C'est le signal de relaxation décroissant, l'enveloppe est de la forme « exp(-t/k) ».

Ce signal est appelé F.I.D. ou "Free Induction Decay". En appliquant une transformée de Fourier à la FID, on obtient le spectre RMN. Expérimentalement, on recueille le signal de

FID grâce à une antenne dans laquelle la composante M_x (si c'est la composante observée) variable au cours du temps va induire une fem.

3.1.7 Temps de relaxation

On a vu qu'il est possible de décomposer l'aimantation M en deux vecteurs M_z et M_{xy}. M_z le long de l'axe des z est appelé aimantation longitudinale. Les temps de relaxation représentent les temps de retour des composantes longitudinales et transversales de M à leur position d'équilibre.

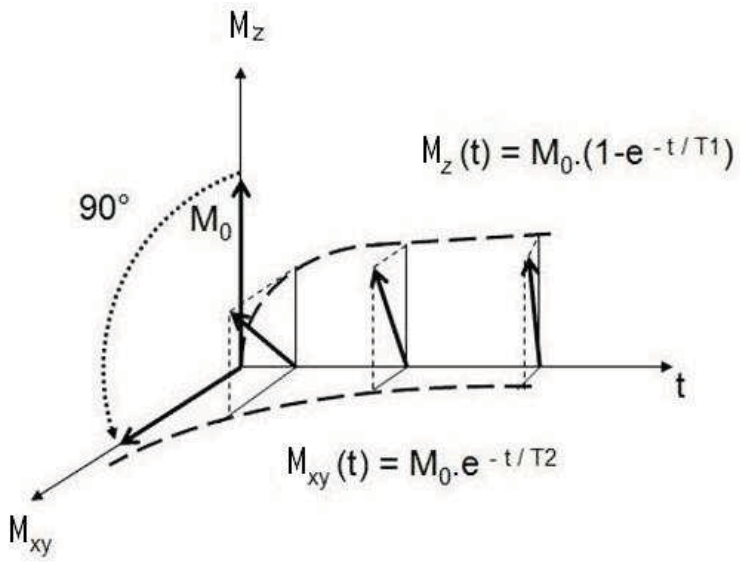


Figure I-12 : Evolution au court du temps des composantes M_z et M_{xy} après impulsion et basculement de l'aimantation de 90°, M_0 est l'aimantation à l'état d'équilibre.

Le retour de l'aimantation longitudinale M_z à la valeur d'équilibre suit une cinétique du premier ordre dont la constante de temps T_1 est appelée temps de relaxation longitudinale. La disparition de l'aimantation transversale (M_{xy} allant vers 0) suit une cinétique du premier ordre dont la constante de temps T_2 est appelée temps de relaxation transversale. La relaxation longitudinale, T_1, est liée à l'environnement moléculaire du noyau, il sera d'autant plus court que ces hydrogènes seront liés à de grosses molécules.

La relaxation transversale, T_2, encore appelé temps de relaxation « spin-spin » est due à la désynchronisation des aimantations élémentaires dans leur mouvement autour du champ B_0, désynchronisation qui est liée aux interactions entre les aimantations nucléaires de noyaux voisins. Ces interactions créent des modifications locales du champ magnétique, et sont responsables de ces déphasages qui vont détruire la composante transversale. Si le champ B_0

était parfaitement homogène et si l'échantillon placé dans ce champ n'induisait aucune inhomogénéité, la courbe de décroissance de la composante transversale permettrait d'avoir accès directement au temps de relaxation T_2. Mais, le champ B_0 n'est jamais parfaitement homogène, l'échantillon lui-même peut être responsable d'inhomogénéités et la désynchronisation des aimantations transversales élémentaires s'effectuent suivant une constante de temps plus courte que la valeur T_2 théorique. Cette constante de temps réellement observée est notée T_2* et est toujours inférieure à T2.

Les valeurs de T_1 et de T_2 pour le noyau d'hydrogène sont voisines et de l'ordre de la seconde. T_2* est de l'ordre de la dizaine voire de la centaine de millisecondes, et on reviendra plus précisément sur ce paramètre dans le chapitre IV sur les inhomogénéités de champ magnétique induite par notre microsystème. Surtout qu'en SRMN, la résolution des spectres dépend de la constante de temps réelle et donc des inhomogénéités (chapitre IV).

3.2 Instrumentation pour la RMN

3.2.1 Structure d'un spectromètre par RMN

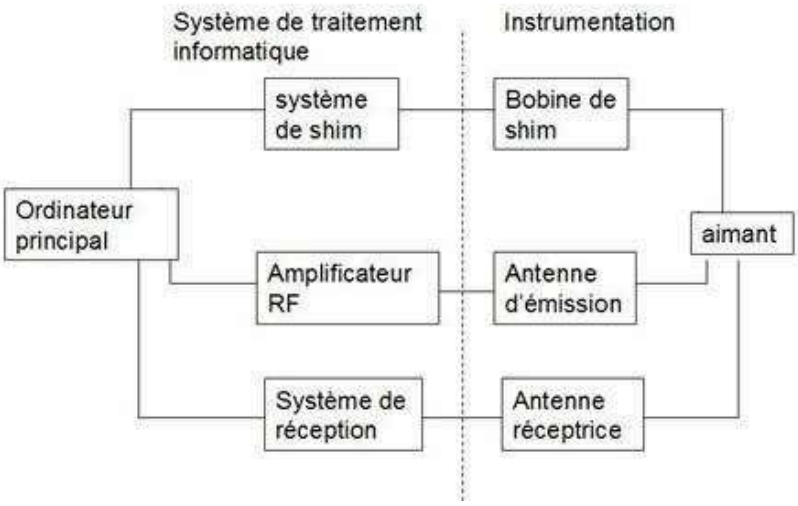


Figure I-13 : Diagramme d'un système de Spectroscopie par RMN

Le spectromètre de RMN est constitué d'une partie gérée par l'informatique et d'une partie instrumentale composée de bobines de « shim », d'une antenne d'émission et d'une antenne réceptrice.

La partie émettrice est constituée d'un séquenceur assurant la communication avec un ordinateur et synthétisant les délais définissant les séquences d'impulsions. La partie réceptrice récupère le signal induit dans l'antenne de réception par le retour à l'équilibre de l'aimantation transversale de l'ensemble de l'échantillon (FID). Elle est constituée d'une chaîne de forte amplification très large bande, puis d'un étage de démodulation permettant une détection (en phase et en quadrature de phase) afin de traiter le signal par transformée de Fourier. Les paramètres de la réception (amplification, bande passante, contrôle de quadrature,…) sont commandés de l'ordinateur via le séquenceur. Le séquenceur gère l'ensemble de la séquence de traitement informatique. Il commande soit l'émission des impulsions radiofréquences (RF), soit la réception du signal RMN, et de manière synchronisée le déclenchement et la forme des gradients associés.

Les bobines de « shim » créent un gradient de champ qui peut être compris entre 10 mT/m et 30 mT/m suivant les appareils. On utilise ces bobines pour modifier le champ magnétique statique B_0 afin de le rendre le plus homogène possible au niveau d'un volume donné : c'est l'opération de "shimming". Il est ainsi possible de compenser les petites distorsions du champ (de l'ordre du µT) liées aux défauts de fabrication et à l'environnement.

Il existe plusieurs types d'antennes en spectrométrie (antennes de type "bird cage" [28, 29] ou "saddle coil" [30, 31]). Nous verrons dans le prochain chapitre une description plus approfondie des antennes qui sont utilisées en SRMN pour l'analyse de faibles quantités d'échantillon.

3.2.2 Sources de champs magnétiques intenses

La sensibilité d'une expérience en spectroscopie par RMN augmente proportionnellement avec la valeur du champ magnétique produit par l'aimant utilisé. Le développement d'aimants supraconducteurs a permis d'améliorer le rapport signal sur bruit par un facteur 4 ou 5 [17] par rapport à l'utilisation d'électroaimants classiques. D'autre part, plus le champ est élevé, plus la séparation des pics de résonance des différents noyaux est importante. Il en résulte une meilleure interprétation des spectres, ce qui est fondamental dans le cas des études réalisées sur les composés à fortes masses moléculaires (polymères et protéines par exemple) dont les spectres sont extrêmement complexes. Les aimants les plus puissants utilisés à ce jour sont de 21,1 Tesla (fréquence de Larmor des protons de 900 MHz) [17]. Il existe des aimants expérimentaux encore plus puissants, 24,7 T [32], et des résultats

ont été obtenus en RMN avec des aimants à champ pulsé de 58 T [33].Ces instruments sont très coûteux, de l'ordre de plusieurs millions d'euros.

Ces aimants sont composés d'une bobine supraconductrice, qui délivre un champ magnétique, dont les caractéristiques d'homogénéité, de stabilité et d'intensité dépendent des fils très fins faits d'un alliage spécial (matériau supraconducteur) et de la technologie de refroidissement du système. Elle est plongée dans une enceinte thermostatique contenant de l'hélium liquide à -269°C, lequel est entouré d'une seconde enceinte contenant de l'azote liquide à une température de -196°C. A cette température la résistance du fil conducteur est nulle, l'ampérage circulant dans la bobine peut donc être important (de 30 à 90 ampères suivant le type d'aimant) avec une perte par effet Joule nulle. Ainsi, davantage de puissance électrique peut être utilisée pour générer les champs magnétiques. La seule contrainte est de garder la bobine à basse température afin d'assurer la supraconductivité. Si cette condition n'est pas remplie, la bobine monte en température causant la perte de la supraconductivité et la destruction de l'aimant.

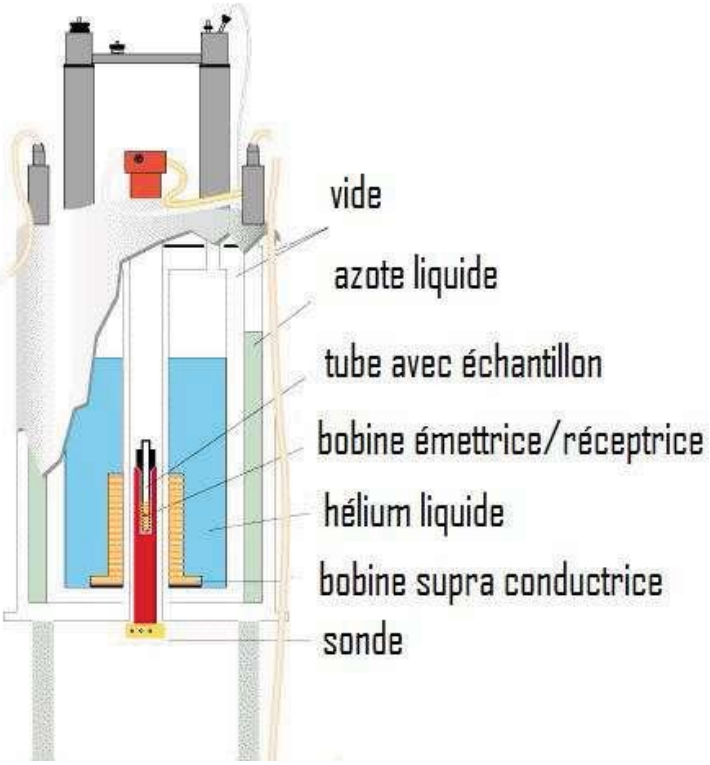


Figure I-14 Schéma représentant une coupe verticale d'un aimant supra conducteur. L'image est extraite du site suivant (http://www.astrosurf.com/luxorion/ordinateur-quantique.htm)

La taille de ces instruments d'analyse est très importante. Ce type de machine pèse plus d'une tonne et peut atteindre deux mètres de hauteur. Par contre, certains modèles,

comme celui mis à notre disposition, ne peuvent analyser que de faibles volumes de produits chimiques. En effet, le champ magnétique intense créé par l'aimant ne présente une homogénéité suffisante que dans une région réduite de l'appareil. Ainsi, les tubes d'analyse utilisables ne font que quelques millimètres de diamètre.

3.3 Le Rapport signal sur bruit en spectroscopie par RMN

3.3.1 Signal d'excitation et aimantation de l'échantillon

En appliquant un courant sinusoïdale i(t) = I.sin(ωt) à la fréquence de Larmor du noyau dans une antenne d'axe perpendiculaire à B_0, un champ magnétique B_1 est créé. Dans le cas d'un champ non uniforme comme celui créé par une antenne planaire, (figure I-15), B_1 varie dans l'espace. Seule sa composante perpendiculaire à B_0 est exploitée car c'est elle qui permet le basculement des spins.

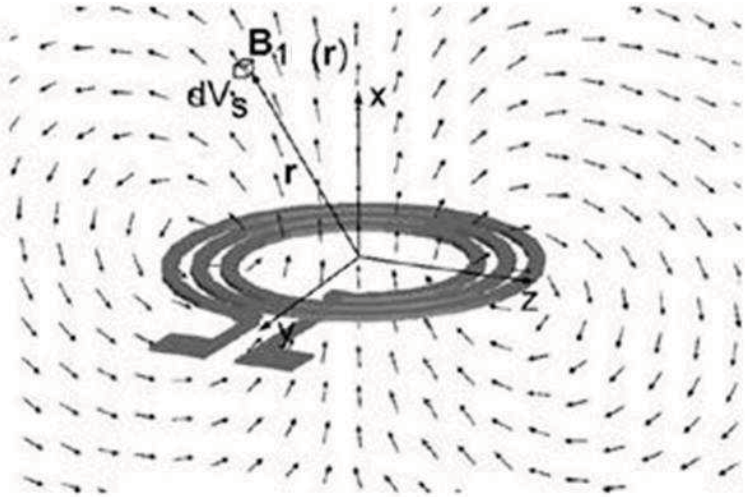
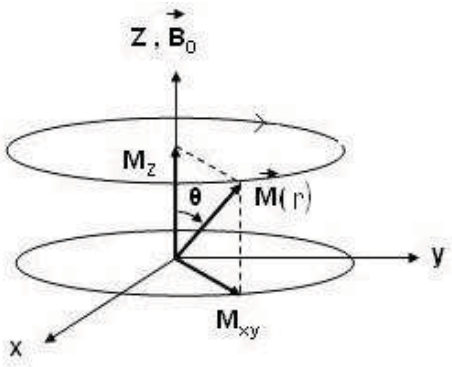


Figure I-15 : Schématisation de la microantenne planaire dans le repère xyz. Figures issues de l'article de Massin et al [34].

En reprenant le repère définit au paragraphe 3.1.6, cette composante est coplanaire au plan xOy et notée B_{1xy}. Durant l'excitation, celle-ci perturbe l'aimantation pendant une durée τ. Quand la pulsation ω de la composante B_{1xy} est proche de la pulsation de Larmor, ω_0, le vecteur aimantation au point r est basculé d'un angle θ, (figure I-15), défini par la (relation I-6).

$$\theta(r) = \frac{I}{2}.\gamma.\tau.B_{1xy}(r) \qquad \textbf{I-6}$$



,

Figure I-16 : En Appliquant un champ magnétique RF, perpendiculaire à B_0, l'aimantation est basculée d'un angle θ de sa position d'origine selon l'axe des z.

Ainsi, la composante transverse de l'aimantation dans le plan xy juste après l'excitation est $M_{xy} = M_0.\sin(\theta\ (r))$, où M_0 représente l'aimantation à l'équilibre, (expression I-7) [35].

$$M_0 = \frac{N\gamma^2\hbar^2 s(s+1)B_0}{3kTe} \qquad \textbf{I-7}$$

où N est le nombre d'atomes par unité de volume, S le nombre de spin et T_e la température de l'échantillon. M_0 est de l'ordre de quelques dizaines de milli tesla pour des protons dans un champ B_0 compris entre 2 et 14 Teslas (spectromètres usuels).

3.3.2 Signal détecté

Comme on l'a déjà vu, la réalisation d'une expérience de RMN nécessite dans un premier temps de produire un signal électromagnétique RF d'excitation, ce qui induit le basculement du vecteur aimantation hors de son équilibre, puis d'observer la relaxation du vecteur aimantation lors de son retour à l'équilibre. Pour ce faire, il est possible d'utiliser soit deux antennes distinctes, soit une antenne unique servant alternativement à l'excitation et à la réception.

Dans le premier cas, l'échantillon est excité par une antenne externe qui créée un champ uniforme dans tout le volume de celui-ci. L'antenne réceptrice, par exemple une antenne planaire, perçoit l'aimantation uniforme résultante. Dans le deuxième cas, l'excitation et la réception sont effectuées par la même antenne. La loi de réciprocité énonce que : *Si une force électromotrice est appliquée à l'entrée d'une antenne A et si l'on mesure le courant*

produit par cette antenne aux bornes d'une antenne B, on trouve un courant égal à celui que l'on aurait aux bornes de l'antenne A si la force électromotrice était appliquée à l'antenne B. A partir de celle-ci, il est possible de calculer la tension électromotrice induite par un échantillon dans une antenne de réception. La loi de réciprocité appliquée en RMN permet d'écrire l'expression I-8 [27, 30, 36].

$$\xi(r) = -\frac{\partial}{\partial t}(\vec{B}_{1xy}(r).\vec{M}(r)) \qquad \textbf{I-8}$$

où ξ(r) est la tension électromotrice induite, B_{1xy} est le champ magnétique créé en r par l'antenne si elle est utilisée en émission et M(r) est le moment magnétique au point r calculé au paragraphe précédent **3.3.1**. Pour calculer l'expression de la tension électromotrice induite créée par une antenne en émission-réception, on considère un champ B_{1xy} homogène, et l'amplitude maximale de l'enveloppe du signal est définie dans l'expression I-9.

$$\xi_0(\vec{r}) = \omega_0 B_{1xy}(r) M_0 \sin(\theta(\vec{r})) \qquad \textbf{I-9}$$

Le signal RMN induit dans l'antenne de réception est alors obtenu en intégrant ξ(r) sur tout le volume de l'échantillon et son amplitude initiale (c'est-à-dire juste après l'extinction du signal d'excitation) est donnée par la relation I-10 [34].

$$S_0 = \int_{Ve} \xi_0(r) dV_e \qquad \textbf{I-10}$$

Cette valeur permettra de calculer le rapport signal sur bruit de l'antenne, objet du chapitre II.

3.3.3 Origine du bruit et rapport signal sur bruit en RMN

Pour des antennes créant un champ uniforme, le rapport signal sur bruit dépend du facteur de qualité et du coefficient de remplissage η défini ci dessous. Ces deux grandeurs caractérisent les performances de l'antenne. En effet, le facteur de qualité (Q) traduit le rendement « électromagnétique » de l'antenne. Il est défini par le rapport entre l'énergie totale stockée par l'antenne et l'énergie perdue par cycle, (relation I-11) [27].

$$Q = \frac{L\omega_0}{R} \qquad \textbf{I-11}$$

où L représente l'inductance de l'antenne et R sa résistance série.

η traduit le couplage magnétique entre l'antenne et l'échantillon. Il est défini par le rapport entre l'énergie stockée dans le volume V_e de l'échantillon et l'énergie totale stockée par l'antenne dans le volume V_t l'environnant, (relation I-12) [30]. Ce paramètre sera défini pour différents types d'antennes au chapitre II.

$$\eta = \frac{\int_{Ve} B_1^2 dV}{\int_{Vt} B_1^2 dV} \qquad \textbf{I-12}$$

Dans le cas idéal où B_1 à l'intérieur de l'échantillon est homogène, l'expression du SNR peut alors s'écrire, (relation I-13).

$$SNR = K\sqrt{\eta Q} \qquad \textbf{I-13}$$

où K est un coefficient de proportionnalité.

Pour des antennes planaires, qui ne créent pas un champ B_1 homogène, cette expression n'est pas adaptée. En effet, pour celles-ci, le rapport signal sur bruit est défini par le rapport entre le signal induit par celles-ci et la tension efficace de bruit qu'elles créent.

Dans un spectromètre RMN utilisant des antennes de taille classique, la source de bruit limitant de façon ultime le rapport signal sur bruit provient de l'échantillon lui-même. Le couplage de l'échantillon avec l'antenne de réception peut être modélisé par la création d'une résistance série avec l'inductance de l'antenne, résistance de valeur supérieure à celle intrinsèque de l'antenne. Au contraire, dans le cas d'une microantenne, l'effet de charge de l'antenne par l'échantillon est très faible et le rapport signal sur bruit est ultimement limité par la résistance intrinsèque de la microantenne. Ainsi, le bruit thermique (bruit Johnson) associé à cette composante résistive, est dû à l'agitation thermique des porteurs de charges à l'intérieur de l'antenne. La puissance de bruit en sortie du système (microantenne et sa résistance série) est définie par l'expression I-14.

$$P = \int_0^\infty |G(f)|^2 \, DSP(f) df \qquad \textbf{I-14}$$

où G(f) est le gain en fonction de la fréquence du système microantenne et DSP(f) est la densité spectrale de puissance du bruit, qui pour une résistance est donnée par l'expression I-15.

$$DSP = 4kTR \qquad \textbf{I-15}$$

où T est la température de l'antenne, R la résistance série et k la constante de Boltzmann. Dans le cas ou le système de fonction de transfert G(f) est similaire à un filtre

passe-bas de 1er ordre, on peut définir une bande équivalente de bruit donnée par $\Delta f = f_c.\pi/2$ dans laquelle, le module de G(f) est constant et égal à sa valeur en continu. La puissance de bruit est alors donnée par l'expression I-16.

$$P = 4kTR\Delta f \qquad \textbf{I-16}$$

On peut alors calculer la tension efficace de bruit aux bornes de l'antenne grâce à la relation I-17.

$$V_{RMS} = \sqrt{4kT\Delta fR} \qquad \textbf{I-17}$$

En reprenant l'expression du signal RMN induit dans l'antenne de réception, (expression 1-10), et en la divisant par la tension efficace de bruit (expression I-17), on retrouve l'expression du SNR calculé pour tout le volume de l'échantillon (expression I-18).

$$SNR_t = \frac{S_0}{\sqrt{4kT\Delta fR}} \qquad \textbf{I-18}$$

Cette valeur est valable dans le domaine temporel. Le calcul de l'intégrale dans S_0 est impossible pour une antenne planaire car il n'existe pas d'expression analytique simple pour calculer le champ qu'elle créée. Nous verrons dans le chapitre II comment contourner cette difficulté en utilisant un modèle 2D conçu à partir d'un logiciel de calcul numérique par éléments finis.

Cependant, le signal RMN est généralement analysé à partir des spectres obtenus expérimentalement. Dans le domaine fréquentiel, il dépend du nombre d'acquisition et du temps de répétition. Nous verrons dans le chapitre suivant, des valeurs de SNR calculées en fonction des paramètres physiques du dispositif. Ainsi, pour calculer le rapport signal sur bruit d'un spectre, on utilise l'expression I-19 [17].

$$SNR = SNR_t T_2^* \sqrt{\frac{N_{acq}}{2T_{acq}}} \qquad \textbf{I-19}$$

où SNR est le rapport signal sur bruit d'un spectre et SNR_t celui calculé à partir de l'expression I-18, T_{acq} et N_{acq} sont le temps et le nombre d'accumulation. La présence de T_{acq} au dénominateur provient de la limite de résolution théorique de valeur $1/T_{acq}$, car dans le cas où T_{acq} a une valeur faible, on ne peut pas effectuer une analyse spectroscopique de bonne qualité. La constante de temps T_2* est liée au temps de relaxation T_2 et aux inhomogénéités

du champ magnétique qui sera davantage expliquée au chapitre IV. Enfin, le nombre d'acquisition N_{acq} fait intervenir la durée de l'expérience car $N_{acq} = T_{exp}/T_R$ où T_{exp} est le temps de l'expérience et T_R est le temps de répétition de la séquence. Cette expression sera utilisée dans les prochains chapitres pour calculer le rapport signal sur bruit.

4 Micros systèmes pour la spectroscopie RMN

4.1 Microantennes Solénoïdales

En réduisant les dimensions de l'antenne au volume de l'échantillon, le rapport signal sur bruit est amplifié [30]. Les premières antennes utilisées en RMN étaient des solénoïdes. Cette géométrie présente à la fois l'intérêt de produire un champ quasiment uniforme à l'intérieur des spires et l'intérêt de présenter une grande facilité de réalisation. En effet, une telle microantenne est obtenue par simple enroulement d'un fil conducteur autour d'un tube capillaire destiné à recevoir l'échantillon.

Ces antennes solénoïdales ont été utilisées par plusieurs équipes pour l'analyse de molécules et ont permis d'obtenir des résultats très intéressants. Par exemple, des travaux ont démontré en 1998 que les microantennes solénoïdales peuvent être utilisées en haute résolution en RMN du ^{13}C. En adaptant la taille des solénoïdes à un échantillon de volume de 1 µL, cette équipe a obtenu des spectres, dans un champ magnétique de 11.7 T, ayant des raies présentant une largeur à mi-hauteur de 0.002ppm [37], ce qui correspond effectivement à de la spectroscopie à haute résolution.

Une autre étude en 2000 a permis l'analyse par spectroscopie RMN d'un seul neurone. Le spectre obtenu en utilisant une antenne solénoïdale de 700 µm de diamètre dans un spectromètre à 600MHz leur a permis de démontrer la possibilité d'acquérir un signal provenant des métabolites contenus dans une seule cellule neuronale [38]. L'amélioration de la sensibilité dans cette expérience a été obtenue en combinant l'utilisation d'un champ magnétique intense et d'une micro antenne RF optimisée pour maximiser le rapport signal sur bruit.

Le dernier exemple concerne des travaux dans lesquels a été utilisé une microantenne solénoïdale de 267µm de diamètre pour détecter un échantillon de méthyle choline d'un volume de seulement 50pL. L'expérience a demandé quelques milliers d'acquisitions dans un aimant supra conducteur de 14,1 Tesla, et les spectres obtenus avaient des raies de largeur à

mi-hauteur de 0.03ppm [39]. C'est une résolution moyenne car théoriquement elle pourrait être inférieure à 0.002ppm. Le problème vient probablement d'un manque d'homogénéité du champ B_0 dû à des différences de susceptibilités entre les composants de la microantenne. L'extraction de spectres a aussi été réalisée sur des volumes de 5 pL de cellules de batraciens. Ces résultats montrent la possibilité d'effectuer des mesures sur les spectres du proton pour des volumes à l'échelle du pico litre.

Les premières microantennes pour la spectroscopie par RMN de très faibles volumes d'échantillons sont donc des structures solénoïdales. Leur simplicité de réalisation a permis de démontrer la faisabilité de mesures sur des échantillons de volume bien inférieur au microlitre. De part cette géométrie à symétrie de révolution, les antennes solénoïdales n'introduisent que peu de distorsions du champ magnétique B_0 [40]. Ce qui explique que des spectres à résolution élevée puissent être obtenu.

Malheureusement, une telle géométrie ne peut que très difficilement être intégrée dans un système de type Lab-on-Chip où l'utilisation des technologies de fabrication planaire prédomine. C'est dans ce cadre que les microantennes planaires prennent tout leur intérêt [16].

4.2 Microantennes Planaires

Basées sur les techniques de micro fabrication provenant de la microélectronique, les antennes planaires sont apparues plus récemment. Le procédé de réalisation est basé sur la technique LIGA-UV (Lithographie, Galvani-sierung und Abformung) qui permet de réaliser des microstructures en couche métallique épaisse, c'est-à-dire de quelques micromètres à quelques dizaines de micromètres d'épaisseur. Cette technique sera présentée en détail au chapitre III puisque elle a été utilisée dans le cadre du travail présenté dans ce manuscrit. La première équipe qui a réalisé une microantenne RMN l'a réalisée avec cette technique [41]. Cette méthode présentent l'avantage de permettre un excellent contrôle des dimensions des structures réalisées, de permettre la fabrication en parallèle d'un grand nombre de structures et d'être potentiellement compatibles avec les procédés de réalisation des réseaux microfluidiques, ce dernier point était crucial pour nous. Du fait de leur géométrie planaire, ce type d'antennes ne produit pas un champ homogène, celui-ci décroissant très rapidement en s'éloignant des spires. Pour être efficacement couplé à l'antenne, l'échantillon doit donc être placé dans la proximité immédiate du plan de l'antenne. A l'échelle macroscopique, des

antennes planaires sont utilisées en imagerie par RMN, on parle alors d'antennes surfaciques, celles-ci étant placées et permettant de sonder la surface de la structure étudiée.

Les 20 dernières années ont été marquées par un intérêt grandissant dans l'utilisation de laboratoires sur puce pour l'analyse de composés chimiques. Les antennes planaires s'adaptent très bien sur un système fluidique. Par exemple, en 1998, une équipe a réalisé et testé un système comportant une microantenne planaire de 3 mm de diamètre placée au dessus de l'échantillon, celui-ci étant confiné dans $1mm^3$ de volume et gravé dans une puce en verre. Cette expérience a été réalisée dans un champ de 1.4 T et a obtenu une raie spectrale de 5ppm de largeur à mi hauteur [42].

En 2000, une équipe a réalisé l'antenne planaire ainsi que le système microfluidique sur le même substrat de verre. L'expérience RMN a été faite avec un spectromètre à 11 T, l'échantillon d'huile de silicone d'un volume de 60nL a permis d'obtenir un spectre du proton (^1H) de largeur à mi hauteur de 0.2ppm [43].

Plus récemment, une équipe a observé une réaction chimique dans un laboratoire sur puce avec une microantenne planaire en spectroscopie RMN. La formation d'imine à partir d'un volume de 1 microlitre d'aniline et de benzaldéhyde a pu être étudiée en temps réel dans un spectromètre à 1.4 T [44], (figure I-17).

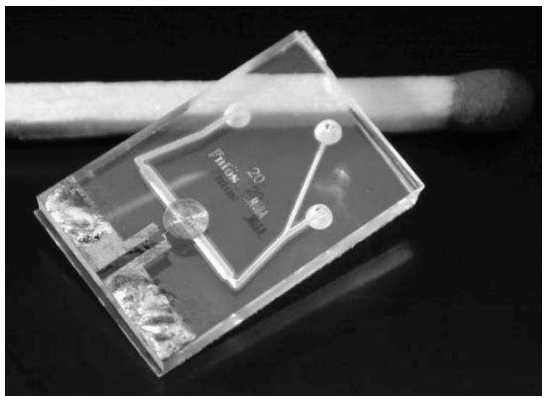


Figure I-17 : Image extraite de l'article de l'équipe de Wensink définissant leur système microfluidique muni d'une microantenne planaire

Une équipe a déjà travaillé sur ces antennes planaires et notamment sur la caractérisation de leur facteur de qualité [27]. Leurs travaux consistaient à fabriquer des antennes caractérisées par de faibles résistances séries et de bons facteurs de qualité par comparaison avec d'autre études [16, 45, 46].

Leur méthode de fabrication était basée sur l'électrodéposition d'une couche de cuivre sur un moule en SU-8. Ainsi, l'équipe a obtenu le spectre de 160 nL d'éthyle de benzène à 7 T (une seule acquisition) avec une antenne de 3 spires et d'un rayon interne de 500µm. La largeur à mi-hauteur du spectre est de 0.06ppm, ce qui ne correspond pas à une haute résolution. Mais leur travail s'est principalement dirigé sur l'augmentation du rapport signal sur bruit en améliorant les caractéristiques électriques de l'antenne. Par ailleurs, cette même équipe a réalisé des micros antennes planaires sur un substrat de verre dans lequel ont été gravés des canaux par voie chimique. Les expériences réalisées avec ce type de dispositif ont permis de montrer l'augmentation de la sensibilité d'analyse en réduisant le diamètre de leur antenne. Ces résultats pratiques ont été comparés avec succès avec des simulations en utilisant un logiciel de modélisation 3D permettant de caractériser le champ magnétique créé par une antenne. Les spectres ^{1}H obtenues avec un échantillon d'eau de faible volume (30 nL) dans un champ de 7T et trois acquisitions ont des largeurs à mi-hauteur de l'ordre de 0.1ppm [34].

Ces valeurs sont moins performantes que celles établis avec des antennes solénoïdales en termes de résolution spectrale. Pour ce donner une idée de la qualité de ces spectres, on trouve dans la littérature que des spectres de largeur à mi-hauteur supérieure à 0.07ppm, pour l'analyse in-vivo, ne sont pas utilisables par les spécialistes en RMN (R. Kreis « *Issues of spectral quality in clinical ^{1}H-magnetic resonance spectroscopy and a gallery of artifacts* », 2004). Nous verrons qu'il existe des solutions pour améliorer celle-ci dans les chapitres III et IV en étudiant les phénomènes apparaissant dans un champ intense sur l'échantillon d'analyse.

4.3 Microantennes réalisées à l'Institut des Nanotechnologies de Lyon (INL)

4.3.1 Solénoïde implantable

Le premier projet de microantenne RMN impliquant le laboratoire (à l'époque le LENAC, intégré en 2007 à l'INL lors de la création de l'institut) a été mené en collaboration avec le Laboratoire de RMN (LRMN, Lyon 1) et avait pour objectif la réalisation et la caractérisation d'une microantenne RMN de type solénoïdale. Cette antenne étant destinée à être implantée dans un tissu in-vivo, en l'occurrence un cerveau de rat, les contraintes sur ses dimensions sont imposées par la nécessité de limiter les lésions. L'antenne réalisée par enroulement d'un fil de cuivre de 20µm de diamètre autour d'un capillaire en verre mesure 200 µm de diamètre externe. La longueur du solénoïde mesure 580 µm et chaque spire est séparée de 20 µm. L'enroulement du fil de cuivre a été réalisé sous binoculaire et à l'aide d'un moteur faisant tourner le capillaire [47], (figure I-18).

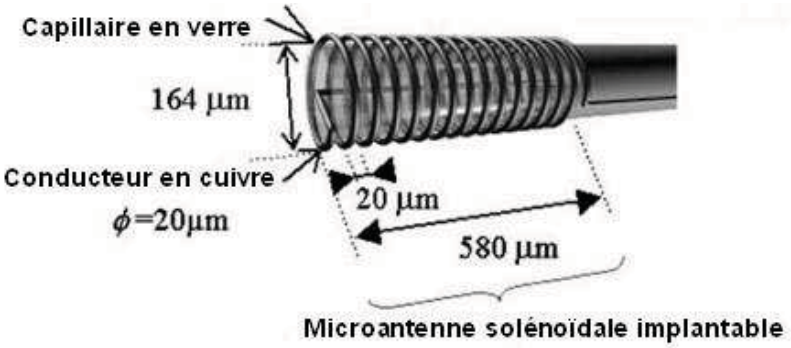


Figure I-18 : Représentation schématique d'une microantenne solénoïdale implantable avec ses caractéristiques géométriques

D'abord, cette antenne a été simulée avec le logiciel Maxwell 2D/3D pour calculer son champ magnétique. L'inductance et la résistance de l'antenne ont été estimées à 10 ,5 nH et 0,635 Ω. La valeur du facteur de qualité a été calculée et vaut 8,87.

Ensuite, l'expérience a été réalisée avec un spectromètre de 2 T, ce qui correspond à une fréquence de Larmor de 85,13 MHz. Cette antenne a été implantée dans un échantillon d'eau et de graisse et le spectre ^{1}H a été obtenu avec une résolution spectrale de 0.35ppm.

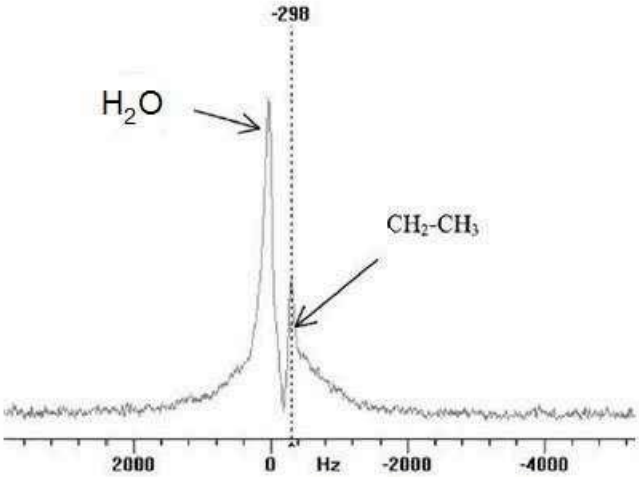


Figure I-19 : Spectre ^{1}H d'un échantillon de 0.33 cm^3 d'eau et de graisse.

Malgré des résultats encourageant obtenus avec ce dispositif, il semblait plus prometteur d'utiliser des antennes planaires car les solénoïdes sont surtout intéressant quand on peut utiliser leur volume interne ce qui n'est pas le cas ici.

4.3.2 Antenne planaire implantable in vivo

Le but de cette étude était d'étudier le sommeil paradoxal chez le rat par spectroscopie du phosphore (^{31}P) (réalisé avec l'aide de la plateforme technologique Femto-ST à Besançon). Un procédé a été mis au point pour concevoir des antennes de dimensions permettant l'implantation dans un cerveau de rat sans entraîner de lésions. Pour ce faire, l'aiguille en verre implantable dans un cerveau de rat ne doit faire que 500µm x 500µm de section. Les antennes planaires fabriquées sur cette aiguille ont donc un rayon externe fixé à 500µm. Or, une antenne avec de telles dimensions n'a pas une profondeur de champ suffisante, c'est pourquoi, elles sont allongées dans la longueur de l'aiguille. Ainsi, la microantenne planaire obtenue est de forme spirale elliptique de longueur 1000µm et de largeur 500µm. Les antennes sont électro-déposées sur un substrat en verre par les techniques LIGA UV (cf chapitre III). Une simulation a été effectuée avec le logiciel Maxwell 2D/3D pour évaluer, par éléments finis, les paramètres géométriques permettant d'optimiser le rapport signal sur bruit. L'antenne planaire simulée est composée de 4 spires de 22µm de large et de 50µm d'épaisseur et l'espace interspire est de 20µm. Ces antennes sont accordées et adaptées avec les capacités mécaniques visibles sur la figure I-20 afin de résonner à la fréquence de Larmor des noyaux dans un spectromètre de 4.7 Tesla. A cette fréquence, l'antenne présente une inductance de 14.4nH, une résistance série de 1,27 Ω et un facteur de qualité de 14. Les spectres de l'éthanol et des métabolites cérébraux obtenus à 4,7 Tesla présentent des pics de bonne résolution, autour de 0.025ppm [48], (figure I-20).

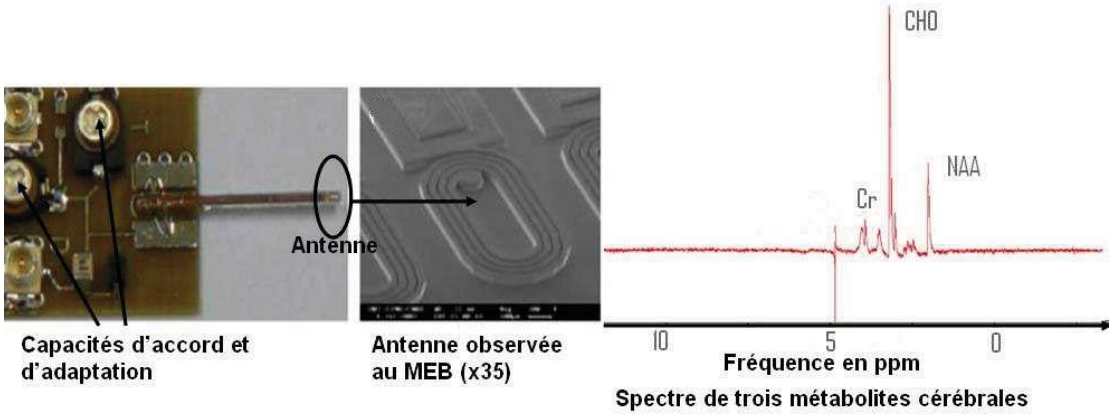


Figure I-20 : Prototype d'antenne implantable et son circuit d'accord et d'adaptation réalisée au LENAC. Spectre ^{1}H obtenue au LRMN de trois métabolites cérébraux : choline, créatine et N-Acétyl-Aspartate (NAA)

Des implantations on été effectuées et bien supportées par les rats. Les essais encourageants en spectroscopie du proton ^{1}H doivent être poursuivis en spectroscopie du phosphore (^{31}P) qui est plus difficile à réaliser car celui-ci est moins abondant dans la nature et donc il émet moins de signal. Cette étude est encore en cours au LRMN.

5 Conclusion

Différents résultats ont été obtenus avec des sondes d'analyse pour la spectroscopie par RMN. Les spectres de plus haute résolution spectrale ont des largeurs à mi-hauteur de l'ordre de 0.02ppm pour les dispositifs planaires et de 0.002ppm pour les solénoïdes. Cependant, la principale difficulté pour les microantennes solénoïdales est leur faible compatibilité d'intégration sur une puce microfluidique. Les microantennes planaires ont l'avantage d'avoir une géométrie contrôlée très précisément et une forte compatibilité d'intégration avec un réseau de micros canaux permettant le positionnement exact de l'antenne par rapport à celui-ci.

Les dispositifs planaires existant présentent une cavité de forme cylindrique dont le volume est compris entre 100nL et 1µL placée à proximité de l'antenne. L'amélioration de la sensibilité pour ce genre de configuration est survenue grâce au développement de logiciels de simulation par éléments finis permettant de maximiser le rapport signal sur bruit. En effet, le rapport signal sur bruit d'une expérience en RMN est directement lié aux performances de l'antenne radiofréquence utilisée pour l'excitation de l'échantillon et la détection du signal. Ainsi, l'optimisation des paramètres géométriques des antennes a permis d'améliorer la sensibilité des expériences en RMN, par contre, il reste encore des points sur lesquels il faut travailler comme la résolution spectrale, car la largeur des spectres déjà obtenus est encore peu expliquée et il est intéressant de comprendre d'où cela vient.

Les microantennes associées à des canaux microfluidiques présentés dans ce chapitre sont des microsystèmes réalisés sur un substrat de silicium ou de verre. Ces matériaux nécessitent d'importants moyens technologiques pour être exploités, ce qui rend la réalisation de laboratoires sur puces basés sur cette filière technologique couteuse accessible uniquement aux centrales technologiques de microfabrication. Afin de faciliter le développement de laboratoires sur puce et de réduire le coût de fabrication (visant ainsi la production de systèmes jetables), une nouvelle filière technologique basée sur l'emploi de polymères est apparue. Une des spécificités du laboratoire est le développement et la réalisation de systèmes

microfluidiques en polymère et le développement de techniques de microfabrication dites non conventionnelles pour cette filière technologique.

Devant le potentiel, déjà démontré par les travaux antérieurs, de la micro spectroscopie par RMN, il a été fixé comme objectif au travail présenté dans ce manuscrit, de développer un étage de spectroscopie RMN pouvant être intégré dans un laboratoire sur puce basé sur les technologies de la filière polymère. Ce travail s'appuiera sur l'expérience du laboratoire d'une part dans la réalisation de microantennes planaires pour la RMN et d'autre part dans la réalisation de systèmes microfluidiques en technologie polymère. La maitrise par le laboratoire d'un savoir faire particulier concernant un polymère idéalement adapté à cet objectif (le Cyclo Olefin Copolymer, COC), constituera un atout et une originalité du projet.

Bibliographie

1. Chen, J.K. and K.D. Wise, *A high-resolution silicon monolithic nozzle array for inkjet printing.* Ieee Transactions on Electron Devices, 1997. **44**(9): p. 1401-1409.

2. Chau, K.H.L., et al., *An integrated force-balanced capacitive accelerometer for low-g applications.* Sensors and Actuators a-Physical, 1996. **54**(1-3): p. 472-476.

3. Burns, D.W., et al., *Sealed-cavity resonant microbeam accelerometer.* Sensors and Actuators a-Physical, 1996. **53**(1-3): p. 249-255.

4. Chavan, A.V. and K.D. Wise, *Batch-processed vacuum-sealed capacitive pressure sensors.* Journal of Microelectromechanical Systems, 2001. **10**(4): p. 580-588.

5. Lee, S.S., et al., *Free-space fiber-optic switches based on MEMS vertical torsion mirrors.* Journal of Lightwave Technology, 1999. **17**(1): p. 7-13.

6. Gomm, T., L.L. Howell, and R.H. Selfridge, *In-plane linear displacement bistable microrelay.* Journal of Micromechanics and Microengineering, 2002. **12**(3): p. 257-264.

7. Wego, A. and L. Pagel, *A self-filling micropump based on PCB technology.* Sensors and Actuators a-Physical, 2001. **88**(3): p. 220-226.

8. Andersson, H., et al., *A valve-less diffuser micropump for microfluidic analytical systems.* Sensors and Actuators B-Chemical, 2001. **72**(3): p. 259-265.

9. Bart, S.F., et al., *Microfabricated Electrohydrodynamic Pumps.* Sensors and Actuators a-Physical, 1990. **21**(1-3): p. 193-197.

10. Neagu, C.R., et al., *An electrochemical active valve.* Electrochimica Acta, 1997. **42**(20-22): p. 3367-3373.

11. Suzuki, H. and R. Yoneyama, *Integrated microfluidic system with electrochemically actuated on-chip pumps and valves.* Sensors and Actuators B-Chemical, 2003. **96**(1-2): p. 38-45.

12. Zengerle, R., et al., *Transient Measurements on Miniaturized Diaphragm Pumps in Microfluid Systems.* Sensors and Actuators a-Physical, 1995. **47**(1-3): p. 557-561.

13. Gass, V., et al., *Integrated Flow-Regulated Silicon Micropump.* Sensors and Actuators a-Physical, 1994. **43**(1-3): p. 335-338.

14. Reyes, D.R., et al., *Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology.* Analytical Chemistry, 2002. **74**(12): p. 2623-2636.

15. Auroux, P.A., et al., *Micro total analysis systems. 2. Analytical standard operations and applications.* Analytical Chemistry, 2002. **74**(12): p. 2637-2652.

16. Manz, A., N. Graber, and H.M. Widmer, *Miniaturized Total Chemical-Analysis Systems - a Novel Concept for Chemical Sensing.* Sensors and Actuators B-Chemical, 1990. **1**(1-6): p. 244-248.

17. Webb, A.G., *Microcoil nuclear magnetic resonance spectroscopy.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005. **38**(5): p. 892-903.

18. Derome A. E., *Modem NMR Techniques for Chemistry Research.* Pergamon Press, New York, 1987: p. p. 129.

19. Wan, Q.H. and X.C. Le, *Capillary electrophoresis coupled with laser-induced fluorescence polarization as a hybrid approach to ultrasensitive immunoassays.* Journal of Chromatography A, 1999. **853**(1-2): p. 555-562.

20. Chen, J.F., et al., *A signal process method for DNA segments separation in microchannel electrophoresis.* Biosensors & Bioelectronics, 2002. **17**(6-7): p. 619-623.

21. Mattusch, J. and K. Dittrich, *Improvement of Laser-Induced Fluorescence Detection of Amino-Acids in Capillary Zone Electrophoresis.* Journal of Chromatography A, 1994. **680**(1): p. 279-285.

22. Pittet, P., et al., *CMOS LIF detection system for capillary analysis.* Sensors and Actuators B-Chemical, 2004. **97**(2-3): p. 355-361.

23. Lacey, M.E., et al., *High-resolution NMR spectroscopy of sample volumes from 1 nL to 10 mu L.* Chemical Reviews, 1999. **99**(10): p. 3133-+.

24. Gupta, R.K., *NMR Spectroscopy of Cells and Organisms.* CRC Press, Boca Raton, 1987.

25. Serber, Z. and V. Dotsch, *In-cell NMR spectroscopy.* Biochemistry, 2001. **40**(48): p. 14317-14323.

26. Ehrmann, K., et al., *Sample patterning on NMR surface microcoils.* Journal of Magnetic Resonance, 2006. **178**(1): p. 96-105.

27. Massin, C., et al., *High-Q factor RF planar microcoils for micro-scale NMR spectroscopy.* Sensors and Actuators a-Physical, 2002. **97-8**: p. 280-288.

28. Tropp, J., *Mutual inductance in the bird-cage resonator.* Journal of Magnetic Resonance, 1997. **126**(1): p. 9-17.

29. Rath, A.R., *Design and Performance of a Double-Tuned Bird-Cage Coil.* Journal of Magnetic Resonance, 1990. **86**(3): p. 488-495.

30. Hoult, D.I. and R.E. Richards, *The signal-to-noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment.* Journal of Magnetic Resonance (1969), 1976. **24**(1): p. 71-85.

31. de Alejo, R.P., et al., *Automatic tuning and matching of a small multifrequency saddle coil at 4.7 T.* Magnetic Resonance in Medicine, 2004. **51**(4): p. 869-873.

32. Lin, Y.Y., et al., *High-resolution, > 1 GHz NMR in unstable magnetic fields.* Physical Review Letters, 2000. **85**(17): p. 3732-3735.

33. Haase, J., et al., *High-field NMR in pulsed magnets.* Solid State Nuclear Magnetic Resonance, 2003. **23**(4): p. 263-265.

34. Massin, C., et al., *Planar microcoil-based microfluidic NMR probes.* Journal of Magnetic Resonance, 2003. **164**(2): p. 242-255.

35. Callaghan, P.T., *Principles of Nuclear Magnetic Resonance Microscopy.* Clarendon Press, Oxford, 1991.

36. Hoult, D.I., *Nmr Receiver - Description and Analysis of Design.* Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 1978. **12**: p. 41-77.

37. Subramanian, R. and A.G. Webb, *Design of solenoidal microcoils for high-resolution C-13 NMR spectroscopy.* Analytical Chemistry, 1998. **70**(13): p. 2454-2458.

38. Grant, S.C., et al., *NMR spectroscopy of single neurons.* Magnetic Resonance in Medicine, 2000. **44**(1): p. 19-22.

39. Minard, K.R. and R.A. Wind, *Picoliter H-1 NMR spectroscopy.* Journal of Magnetic Resonance, 2002. **154**(2): p. 336-343.

40. Webb, A.G., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.* 1997. **31**: p. 1-42.

41. Trumbull, J.D., et al., *Integrating microfabricated fluidic systems and NMR spectroscopy.* Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 2000. **47**(1): p. 3-7.

42. Boero, G., et al., *An NMR magnetometer with planar microcoils and integrated electronics for signal detection and amplification.* Sensors and Actuators a-Physical, 1998. **67**(1-3): p. 18-23.

43. Dechow, J., et al., *Fabrication of NMR - microsensors for nanoliter sample volumes.* Microelectronic Engineering, 2000. **53**(1-4): p. 517-519.

44. Wensink, H., D.C. Hermes, and A. van den Berg, *High signal to noise ratio in low field NMR on chip, simulations and experimental results.* Mems 2004: 17th Ieee International Conference on Micro Electro Mechanical Systems, Technical Digest, 2004: p. 407-410.

45. Olson, D.L., et al., *High-Resolution Microcoil H-1-Nmr for Mass-Limited, Nanoliter-Volume Samples.* Science, 1995. **270**(5244): p. 1967-1970.

46. Peck, T.L., et al., *Nmr Microspectroscopy Using 100-Mu-M Planar Rf-Coils Fabricated on Gallium-Arsenide Substrates.* Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 1994. **41**(7): p. 706-709.

47. Berry, L., et al., *Implantable solenoidal microcoil for Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy.* 1st Annual International Ieee-Embs Special Topic Conference on Microtecnologies in Medicine & Biology, Proceedings, 2000: p. 171-174.

48. Baxan, N., et al., *Limit of detection of cerebral metabolites by localized NMR spectroscopy using microcoils.* Comptes Rendus Chimie, 2008. **11**(4-5): p. 448-456.

CHAPITRE II Conception d'une microantenne planaire

Sommaire :

1 Introduction : comparaisons entre micros antennes solénoïdales et micros antennes planaires
2 Géométrie et modèle électrique de l'antenne planaire
3 Modélisation électromagnétiques par éléments finis
4 Optimisation des paramètres géométriques de l'antenne par rapport à une cavité microfluidique

1 Introduction : comparaison entre micros antennes solénoïdales et micros antennes planaires

Dans un système de spectrométrie par RMN, l'antenne d'excitation de l'échantillon et l'antenne de réception du signal utile (signal de FID) sont des éléments essentiels. Durant la phase d'excitation, l'objectif est de produire dans l'échantillon un basculement des spins des noyaux observés, par exemple les noyaux d'hydrogène. Afin de produire ce basculement, de l'énergie doit être apportée aux noyaux, ce qui se fait grâce à l'onde électromagnétique produite par l'antenne d'excitation. Afin que le transfert d'énergie ait bien lieu et qu'il soit efficace, il est nécessaire que le signal d'excitation soit à la fréquence de précession des noyaux observés (fréquence de Larmor), dont on rappelle que la valeur dépend aussi de l'intensité du champ magnétique statique. En pratique, ce signal d'excitation présente une fréquence de quelques dizaines à quelques centaines de mégahertz et rentre donc dans la gamme des radiofréquences (antenne RF). Le signal, qui sera recueilli par l'antenne de réception après la phase d'excitation, oscillera à cette même fréquence (au déplacement chimique près, soit quelques ppm). Que ce soit pour l'excitation ou la réception, il faut donc que les antennes utilisées soient accordées à la fréquence de Larmor du noyau étudié (et pour la valeur de champ magnétique statique utilisé) afin qu'elles présentent la meilleure efficacité dans une bande centrée sur cette fréquence. Il est également possible de n'utiliser qu'une seule antenne assurant séquentiellement le rôle d'antenne d'excitation et de réception.

Un certain nombre de géométries d'antennes ont été développées pour les besoins de la RMN mais dans le cadre de ce travail, il est pertinent de les classer en deux catégories, à savoir les antennes volumiques et les antennes surfaciques. Les antennes volumiques (bird cage, selle de cheval…) présentent une géométrie cylindrique à l'intérieure de laquelle l'échantillon à analyser est placé. L'intérêt de ce type d'antennes est qu'elles peuvent produire un champ d'excitation RF d'une grande homogénéité. Il est ainsi possible d'exciter l'échantillon de façon très uniforme (tous les spins basculeront du même angle) et, en vertu du principe de réciprocité, une telle antenne utilisée en réception présentera une sensibilité identique dans tout le volume étudié.

A contrario, les antennes surfaciques présentent une structure ouverte (antennes plates) et sont placées à la surface d'un échantillon ou d'une zone à observer. Le diagramme de rayonnement de ce type d'antenne n'est pas uniforme ce qui implique qu'utilisée en excitation, tous les noyaux de l'échantillon ne recevront pas le même signal. Leurs spins ne

basculeront donc pas tous du même angle. Toujours en vertu du principe de réciprocité, une telle antenne utilisée en réception voit sa sensibilité dépendre du point de l'espace d'où provient le signal. Ainsi, la sensibilité de celle-ci décroît au fur et à mesure que l'on s'éloigne de l'antenne et se limite à une distance environ égale à son rayon. Seule la composante normale à la surface de l'antenne, notée B_{1z}, nous intéresse car c'est elle qui permet de basculer l'aimantation des spins de l'échantillon, (figure II-1).

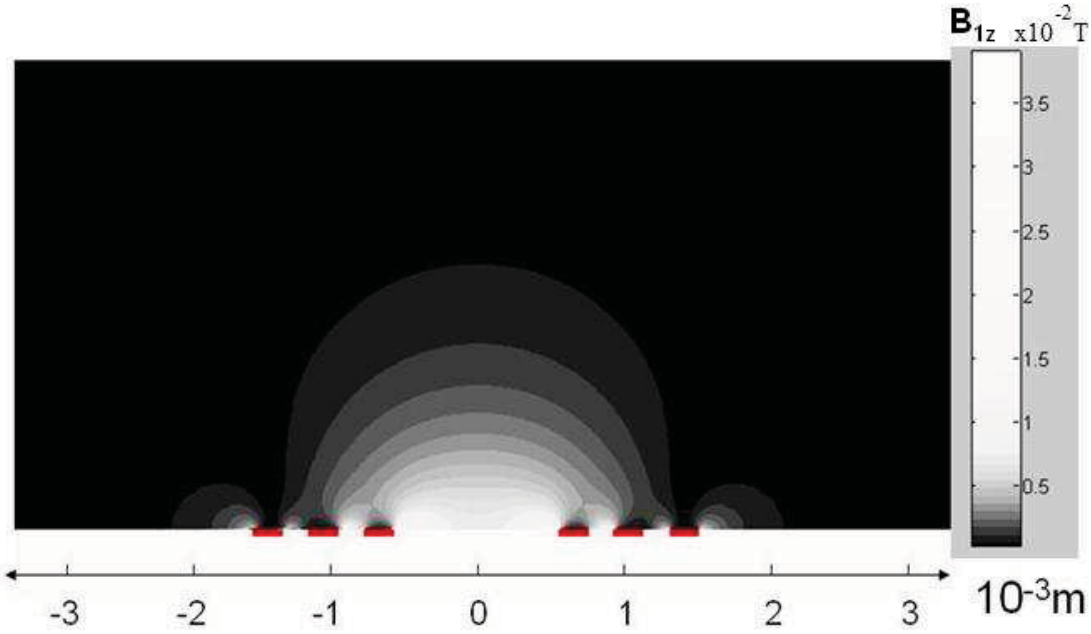


Figure II-1 : Coupe transversale de la composante B_{1z} du champ créé par une antenne planaire à 3 spires. Les rectangles ▬ représentent les pistes de l'antenne (3 spires). Le B_{1z} calculé par éléments finis est en Tesla

Malgré l'inhomogénéité du champ qu'elles créent, nous verrons que les antennes planaires présentent un véritable intérêt car, comme cela a déjà été évoqué dans le chapitre I, cette géométrie planaire s'adapte très bien sur un laboratoire sur puce. Par ailleurs, peu d'études ont été réalisées sur ce type d'antenne dans des expériences RMN en hautes fréquences (500MHz et au delà), ce qui laisse un domaine d'investigation à explorer.

Dans un premier temps, nous allons expliquer pourquoi l'utilisation de microantennes à la place d'antennes de tailles classiques améliore la sensibilité pour l'analyse de faibles volumes de solutions.

Ensuite nous verrons les avantages et les inconvénients d'une microantenne surfacique et expliquerons son intérêt pour le dispositif final.

Enfin, grâce à des simulations sous le logiciel COMSOL®, qui sera validé par comparaison aux mesures expérimentales sur des antennes, nous optimiserons la géométrie de l'antenne choisie afin de maximiser le rapport signal sur bruit.

1.1 Facteur de remplissage

Dans cette partie, nous expliquons pourquoi l'utilisation de microantennes pour analyser des faibles quantités d'échantillon améliore la sensibilité du signal. En effet, lors d'une expérience en RMN, une certaine proportion de l'énergie totale créée par l'antenne d'excitation est dissipée dans l'échantillon, cette proportion caractérisant le facteur de remplissage [1].

Soit B_1, la composante magnétique de champ RF créé par une antenne, et E l'énergie produite par celle-ci dans un certain volume. L'énergie E est alors proportionnelle au carré du champ intégré dans ce volume, (expression II-1).

$$E = \frac{1}{2\mu_0} \int_{volume} B_1^2 dV \qquad \textbf{II-1}$$

Le facteur de remplissage est défini comme le rapport entre l'énergie stockée dans le volume de l'échantillon et l'énergie produite par l'antenne dans tout le volume environnant celle-ci, lorsque cette dernière fonctionne en émission [1]. En raison du principe de réciprocité, on comprend que le facteur de remplissage est également extrêmement important lorsque l'antenne fonctionne en réception puisqu'il mesure la fraction du volume d'échantillon « perçue » par l'antenne.

1.2 Facteur de remplissage et antenne volumique

Comme cela a déjà été évoqué dans le chapitre I, la spectroscopie par RMN est relativement peu sensible, en tout cas par comparaison à d'autres techniques de détection ou analytiques, car seule une faible proportion de noyaux est effectivement impliquée dans la production du signal utile (signal de FID). Il est donc indispensable de maximiser le rapport signal sur bruit (Signal to Noise Ratio, SNR). Or, pour des antennes créant un champ uniforme, le SNR (et donc la sensibilité) est proportionnel à la racine carrée du facteur de remplissage [2], (relation I-12).

Dans le cas d'une antenne volumique, comme par exemple une antenne de type solénoïdal, le champ B_1 produit à l'intérieur des spires est approximativement homogène, ce qui implique que B_1 est constant sur le volume occupé par l'échantillon. Par ailleurs, toujours dans l'exemple d'un solénoïde, l'énergie générée dans le volume interne de l'antenne est environ égale à la moitié de l'énergie générée dans le volume total [2], (relation II-2).

$$\int_{Volume.antenne} B_1^2 dV \simeq \frac{1}{2} \int_{Volume.total} B_1^2 dV \qquad \textbf{II-2}$$

Par définition, on en déduit que le facteur de remplissage est environ égal au rapport du volume de l'échantillon sur deux fois le volume interne de l'antenne [2].

$$\eta \simeq \frac{V_{échantillon}}{2V_{antenne}} \qquad \textbf{II-3}$$

D'après l'expression II-3 (valable pour des antennes volumiques), plus le volume de l'antenne est petit devant celui de l'échantillon plus le facteur de remplissage est important. C'est pourquoi, pour l'analyse d'échantillon de très faible volume, l'utilisation de microantennes devient indispensable afin de maximiser le rapport signal sur bruit et donc la sensibilité.

1.3 Facteur de remplissage et antenne surfacique

Dans le cas des antennes surfaciques, particulièrement intéressant du point de vue des technologies de micro fabrication, le champ n'est pas uniforme, ce qui signifie que le calcul du facteur de remplissage n'est plus aussi simple. En effet, tous les points de l'espace ne sont plus « perçus » avec la même sensibilité par l'antenne. Cette dernière est évidemment plus fortement couplée avec la partie de l'échantillon proche de ses spires, (figure II-1).

Afin d'évaluer l'énergie E qu'elle créé, il faut connaître la répartition du champ produit par l'antenne surfacique, ce qui revient à calculer son diagramme de rayonnement. Il est alors possible d'estimer le facteur de remplissage en déterminant le rapport entre l'énergie créée par l'antenne dans l'échantillon et celle créée dans le volume total. Cependant, l'utilisation des équations de Maxwell sur une géométrie telle que celle d'une antenne planaire (une spirale composée de spires de section rectangulaire) ne permet pas d'établir une description analytique du champ qu'elle créée.

Toutefois, en utilisant « un raisonnement qualitatif permettant de se faire une idée approximative des conditions de couplage optimales entre un échantillon et une antenne planaire », on peut comprendre pourquoi l'utilisation de microantennes pour l'analyse de faibles quantités de matières améliore la sensibilité de mesure en RMN. Ainsi, par définition du facteur de remplissage, celui-ci est maximal lorsque la plus grande partie de l'énergie produite par l'antenne est présente dans l'échantillon. Or, on sait par ailleurs que la sensibilité des antennes surfaciques se limite environ à un rayon de celles-ci. C'est pourquoi, pour des antennes surfaciques, le facteur de remplissage est environ maximal lorsque le volume d'échantillon représente la sphère de même centre et de même rayon que l'antenne. Cette méthode est approximative, mais permet de conclure sur l'optimisation du facteur de remplissage et donc sur la sensibilité du signal. En effet, il faut que la taille de l'antenne surfacique et celle de l'échantillon soient très proches.

C'est pourquoi, pour l'étude d'échantillons de faibles volumes en spectroscopie par RMN, l'utilisation de microantennes permet de maximiser la sensibilité de détection [2-6].

1.4 Antennes planaires et antennes solénoïdales

Comme cela a déjà été dit au chapitre I, les antennes solénoïdales ont été les premières microantennes à avoir été testées en raison de leur simplicité de réalisation. Par ailleurs, ces antennes présentent également l'avantage de produire un champ homogène à l'intérieur de leurs spires lorsqu'un courant les parcourt. Ainsi, toutes les aimantations de spins basculent du même angle et émettent la même énergie lors de leur retour à l'état d'équilibre. Dans l'expérience de spectroscopie RMN la plus simple, l'amplitude et la durée du signal d'excitation sont choisies pour que l'aimantation des spins bascule d'un angle de 90°, le signal d'excitation est alors appelé impulsion $\pi/2$. Après l'excitation, les spins reviennent dans leur état d'origine et induisent dans l'antenne de réception un signal (FID) correspondant au retour de la composante transverse de l'aimantation à sa position d'équilibre. De ce fait, la FID est une sinusoïde amortie à la fréquence de Larmor des protons, comme déjà exposé dans le chapitre I, (paragraphe 3). L'homogénéité du champ créée par une antenne solénoïdale permet donc d'exciter l'échantillon de façon uniforme, ce qui correspond à un cas idéal. Une antenne à champ uniforme utilisée en réception cette fois, sera sensible avec la même intensité à tous les points du volume de l'échantillon. Enfin, la géométrie solénoïdale permet d'atteindre facilement le facteur de remplissage maximal possible ($\cong$ 1/2) car, comme on l'a

vu dans le paragraphe 1.1, l'échantillon est placé à l'intérieur des spires. Ces facteurs expliquent pourquoi les expériences effectuées avec les microantennes solénoïdales sur de très faibles volumes permettent d'obtenir des spectres avec un bon rapport signal sur bruit.

Malheureusement, ces antennes solénoïdales ne sont pas compatibles avec la technologie planaire et ne peuvent donc pas être intégrée sur une puce microfluidique. A contrario, les antennes planaires, réalisées avec les techniques de fabrication des microsystèmes, ont l'avantage d'être réalisables et reproductibles même avec des dimensions micrométriques. En contre partie, le champ produit par une antenne planaire n'est pas uniforme, ce qui les rend à priori moins performantes que les antennes solénoïdales. Ce point n'est cependant pas rédhibitoire et ne diminue par leur intérêt dans le cadre de leur intégration dans un laboratoire sur puce. Dans la suite de ce chapitre, nous développerons la conception des antennes planaires, nous définirons leur géométrie, leurs caractéristiques électriques et nous proposerons un outil permettant la recherche des paramètres géométriques optimaux permettant de maximiser le SNR dans le cadre d'un échantillon contenu dans un système microfluidique.

2 Géométrie et modèle électrique de l'antenne planaire

2.1 Paramètres géométriques des antennes planaires

Les antennes planaires sont définies géométriquement par des spirales de formes rectangulaires ou circulaires. Dans notre cas, l'étude est effectuée à partir d'une antenne spirale circulaire, (figure II-2). La section des spires est rectangulaire, nous en verrons les raisons lors de la présentation des étapes de micro fabrication. Les paramètres géométriques la décrivant sont le rayon interne r_i, le rayon externe r_e, le nombre de spire n, l'interspire s, la largeur des spires w et l'épaisseur de cuivre e, décrits (figure II-2).

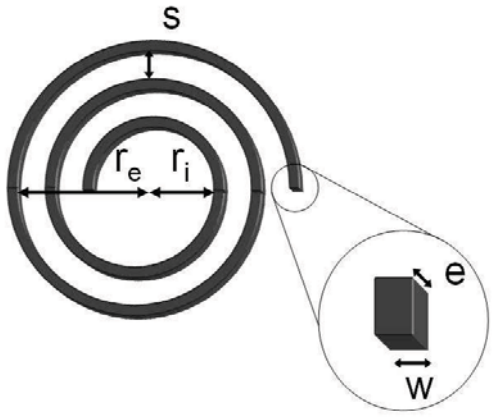


Figure II-2 : Paramètres géométriques d'une antenne planaire

Lors de la conception, les valeurs de ces paramètres seront définies de manière à optimiser le rapport signal sur bruit. Les caractéristiques électriques de l'antenne dépendent de sa géométrie mais aussi de la fréquence à laquelle elle est utilisée. Nous verrons par la suite quelles sont ces caractéristiques électriques et leur évolution à hautes fréquences.

2.2 Caractéristiques électriques des antennes planaires

Le schéma électrique équivalent le plus simple d'une antenne de type solénoïde plan est caractérisé par une inductance en série avec une résistance, le tout en parallèle avec une capacité [7, 8], (figure II-3).

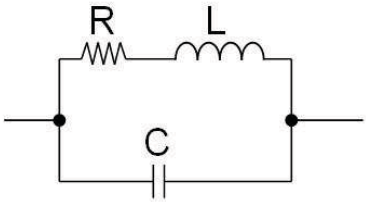


Figure II-3 : Modèle électrique équivalent d'une antenne

L'inductance L de l'antenne est un paramètre fondamental car c'est cette inductance qui permettra soit de produire le champ magnétique d'excitation B_1 (si l'antenne est utilisée pour l'excitation de l'échantillon) soit de recevoir le signal de FID lorsque l'antenne est utilisée en réception. Cette inductance sera analysée dans le paragraphe 3.2.1. La capacité parasite C traduisant le couplage électrique entre les spires sera détaillé dans le paragraphe 2.2.2. Enfin, la résistance série R, qui dégrade inévitable les performances de l'antenne, et qui

dépend de la haute fréquence de travail, sera étudiée dans le paragraphe 2.2.3. Enfin, nous étudierons la valeur du facteur de qualité de cette antenne planaire dans le paragraphe 2.2.4.

2.2.1 Inductance de l'antenne planaire

L'inductance L d'une antenne est proportionnelle au carré du champ créé par celle-ci intégré sur tout le volume. Or, la distribution du champ RF dépend considérablement de la géométrie de l'antenne et comme cela a déjà été dit, dans notre cas l'expression de son inductance ne peut pas être calculée analytiquement. La résolution des équations de Maxwell décrivant nos antennes planaires sera donc effectuée à l'aide d'un logiciel de résolution des équations différentielles par éléments finis.

Nous comparerons l'inductance des antennes planaires trouvées en simulation et en pratique dans le paragraphe 3.2.

2.2.2 Capacités parasites

La capacité parasite d 'une antenne planaire provient de la proximité des pistes conductrices formant la spirale, (figure II-4). En effet, les pistes sont de section rectangulaire, elles forment donc des armatures chargées qui peuvent emmagasiner de l'énergie électrique et donc créer une capacité parasite. Or, les lignes de champ entre deux pistes ne sont pas uniformes, elles varient en fonction de la distance qui les sépare et de leur géométrie, (figure II-4).

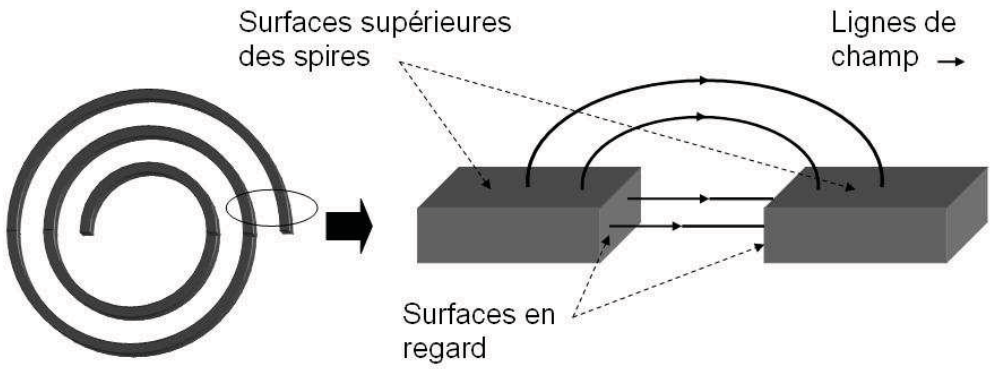


Figure II-4 : Figure représentant les lignes de champ entre deux pistes de l'antenne planaire en forme de spirale. La section des conducteurs est de forme rectangulaire.

Pour calculer cette capacité, il faut intégrer le champ électrique entre les deux surfaces. Ce calcul est simplifié si l'on considère que les plans conducteurs sont de dimensions grandes

devant la distance qui les sépare, on peut alors négliger les effets de bord qui peuvent apparaître aux extrémités des plans.

Toutefois, pour ce type d'antenne, on ne peut pas considérer cette configuration comme celle d'un condensateur plan infini. En effet, le champ créé entre les surfaces supérieures et inférieures des spires n'est pas négligeable car l'épaisseur des pistes est du même ordre de grandeur (35µm) que la distance d'interspire.

Bien que la capacité parasite de l'antenne n'intervienne pas directement dans la l'expression du facteur de qualité, elle agit sur la fréquence propre de résonance (f_0) de l'antenne. En effet, l'antenne et sa capacité parasite forment un circuit LC parallèle résonant de fréquence de résonance (auto résonance) f_0 exprimée par l'expression II-4.

$$f_0 = \frac{1}{2\pi\sqrt{L_{antenne} C_{parasite}}} \qquad \textbf{II-4}$$

En pratique, si la capacité parasite est élevée, elle peut engendrer une auto résonance inférieure à la fréquence de précession (Larmor) de l'expérience (<500MHz). En conséquence, l'impédance de l'antenne au-delà de f_0 est capacitive et le circuit LC ne peut plus résonner. Il est donc très important que la capacité parasite soit la plus faible [9].

Heureusement, dans notre cas d'étude, le spectromètre mis à notre disposition fonctionne à 500 MHz (correspondant à un champ de 11.74 Tesla) et les valeurs de fréquences propres augmentent avec la miniaturisation des antennes. En effet, plus l'antenne est petite, plus l'inductance diminue et plus f_0 augmente. Nous verrons dans le paragraphe 3.2 que pour des microantennes dans la gamme de dimensions qui nous intéresse, la fréquence propre de résonnance est généralement supérieure à 1GHz [10].

2.2.3 Résistance de perte

Cette résistance série R représente la contribution de plusieurs phénomènes liés au passage d'un courant à haute fréquence dans les spires, (relation II-5). Bien que les antennes soient fabriquées à partir de cuivre, qui est le deuxième meilleur conducteur après l'argent (conductivité $\sigma = 6.10^7$ S/m), leur résistance augmente avec la fréquence.

$$R = R_{cc} + R_{peau} + R_{prox} + R_m + R_d \qquad \textbf{II-5}$$

R_{cc} est la résistance en courant continu. R_{peau} est la résistance due à l'effet de peau qui apparait en hautes fréquences [11]. R_{prox} est la résistance due à l'effet de proximité entre les spires qui apparait aussi en hautes fréquences [12]. R_m est la résistance qui représente les

pertes magnétiques dans l'échantillon [13]. R_d est la résistance qui traduit les pertes diélectriques [14]. Ces composantes de la résistance seront décrites dans les paragraphes suivants.

2.2.3.a Résistance en courant continu

La résistance de l'antenne en courant continu correspond à la résistance équivalente d'une piste en cuivre. En effet, la spirale de section rectangulaire peut être confondue avec une piste. Pour un conducteur filiforme homogène, à une température donnée, la relation permettant de calculer sa résistance en fonction du matériau qui le constitue et de ses dimensions est donnée par l'expression II-6.

$$R = \rho \frac{l}{S} \qquad \textbf{II-6}$$

Avec ρ la résistivité du cuivre en Ωm^{-1}, l la longueur totale de la spirale et S sa section. On utilisera cette formule dans la suite pour calculer la résistance en courant continu de quelques antennes planaires.

2.2.3.b L'effet de peau

Lors du passage d'un courant alternatif à haute fréquence dans un conducteur, il apparait des courants (induits par le champ électromagnétique) forçant la densité de courant à se déplacer à la surface du conducteur. C'est le phénomène bien connu d'effet de peau. Cela a pour effet d'augmenter la résistance série R de l'antenne [15]. Afin de préciser son influence sur R en fonction de la fréquence, il est important de connaître la distribution de la densité du courant dans la section des conducteurs. C'est pourquoi, on utilise les équations de Maxwell dans un conducteur de section circulaire de rayon r afin d'évaluer la grandeur caractéristique de l'effet de peau nommée « épaisseur de peau » « ou épaisseur de pénétration », (expression II-7).

$$\delta = \sqrt{\frac{2}{\omega \mu \sigma}} \qquad \textbf{II-7}$$

où ω est la pulsation, σ est la conductivité électrique du matériau et μ est sa perméabilité magnétique. Une solution approchée de la distribution de densité de courant valable pour un conducteur de section circulaire (avec r>>δ) est décrite, (expression II-8).

$$j_z(t,r) = j_{0z}(r=0).e^{i\omega t}.\frac{1}{\sqrt{2\pi\frac{\sqrt{2}}{\delta}r}}.e^{\frac{r}{\delta}}.e^{i\left(\frac{r}{\delta}-\frac{\pi}{8}\right)} \qquad \textbf{II-8}$$

Le terme imaginaire dans l'exposant indique que la phase de la densité de courant varie avec la profondeur. Le terme réel traduit l'effet de peau avec une épaisseur de peau sur laquelle le courant est réduit d'un facteur 1/e de sa valeur de surface [16].

Dans le tableau II-1 sont calculées quelques valeurs d'épaisseurs de peau à différentes fréquences pour un conducteur en cuivre [17].

F(MHz)	10	100	200	400	500
δ(µm)	20.82	6.59	4.66	3.29	2.95

Tableau II-1 : Tableau donnant quelques valeurs d'épaisseur de peau en fonction de la fréquence dans un conducteur en cuivre

On remarque que plus la fréquence est élevée, plus l'épaisseur de peau est faible et donc plus la résistance de l'antenne est importante. A 500MHz, la résistance d'une antenne planaire de 2 spires de 850 µm de rayon externe est environ égale à 0.35 Ω alors qu'à 1MHz elle est de 0.04 Ω. La figure II-5 représente la distribution de la densité de courant sur une section de conducteur de forme rectangulaire à 42,58 MHz.

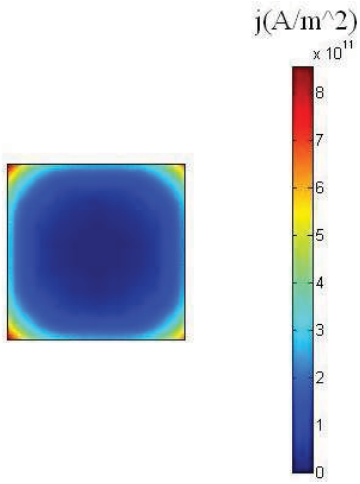


Figure II-5 : Distribution de la densité de courant dans une section de conducteur, aperçu de l'effet de peau sur un conducteur de section rectangulaire en cuivre de côté 100 µm avec un courant alternatif de 1A et de fréquence 42,58 MHz.

Ainsi, on peut remarquer sur la figure II-5 (Simulation sous COMSOL®) que la densité de courant est accumulée sur les arrêtes de la piste. De ce fait, on se rend compte que pour des antennes spirales avec des spires de section rectangulaire, la résistance due à l'effet de peau

n'est pas calculable analytiquement. Nous verrons dans la suite comment obtenir ces valeurs expérimentalement. L'effet de peau n'est pas la cause de l'augmentation de la résistance de l'antenne en hautes fréquences car il apparait aussi un effet de proximité entre les pistes, expliqué ci-dessous.

2.2.3.c L'effet de proximité

Dans le cas des antennes à plusieurs spires traversées par un courant alternatif, il existe une interaction entre les conducteurs adjacents [10]. Cette interaction vient du flux magnétique créé par ces conducteurs lors du passage du courant. La répartition du courant dans un conducteur est affectée d'une part, par le flux magnétique produit par le conducteur adjacent, et d'autre part par le flux magnétique produit dans le conducteur lui-même. L'effet de proximité a un impact sur la résistance série de l'antenne mais comme on l'a vu plus haut, le calcul analytique n'est pas réalisable pour des conducteurs de section rectangulaire. Il est cependant possible de trouver une solution numérique en utilisant un logiciel permettant de résoudre des équations différentielles par éléments finis. La figure II-6 représente cet effet de proximité.

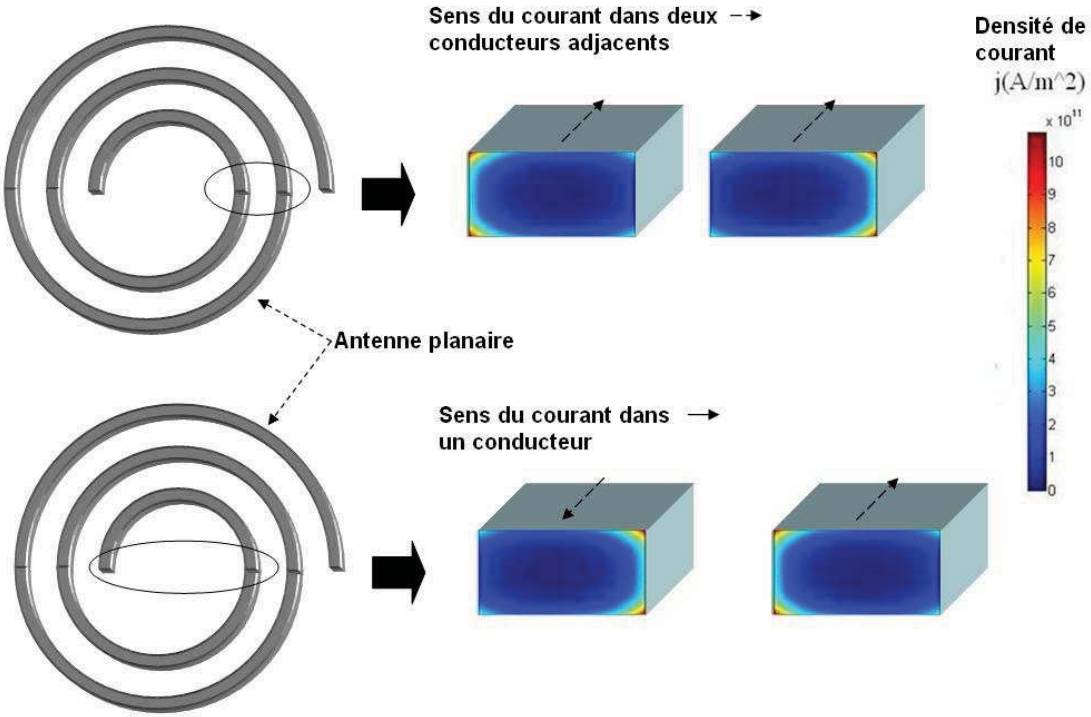


Figure II-6 : Représentation de l'effet de proximité sur deux sections de spires parcouru par un courant (1A à 42,58 MHz) allant dans le même sens (en haut) et de sens opposé (en bas).

La figure II-6 (en bas) représente l'effet de proximité qui apparait sur la section de la piste interne de l'antenne. La figure II-6 (en haut) représente l'effet de proximité entre deux sections de pistes adjacentes.

L'effet de proximité est d'autant plus important que l'espacement entre les pistes de l'antenne planaire est réduit et que le nombre de tours est important [10]. Nous verrons dans le paragraphe 4 que cet effet a très peu d'importance pour l'optimisation du rapport signal sur bruit. D'autres effets, dus à l'échantillon lui même, vont expliquer l'augmentation de la résistance en hautes fréquences.

2.2.3.d Résistances de pertes magnétiques et diélectriques

Les pertes magnétiques et diélectriques sont liées à l'échantillon par sa conductivité. En effet, le champ RF alternatif produit par l'antenne entraîne l'apparition de courants de Foucault dans un échantillon (conducteur) lequel dissipe de l'énergie par effet Joule. Ainsi, la résistance de pertes augmente très rapidement avec la conductivité de l'échantillon et la fréquence [10]. Cependant, ce phénomène sera négligé dans notre étude car l'effet de ces pertes est négligeable devant la résistance de la microantenne [10, 18].

Dans le cas d'une microantenne, la résistance série de son modèle électrique équivalent dépend donc de la résistance en continu, de l'effet de peau et de l'effet de proximité, l'augmentation de cette résistance par les pertes magnétiques et diélectriques dans l'échantillon pouvant être négligées. En raison de la géométrie planaire des antennes que nous voulons réaliser, une expression analytique ne peut être trouvée, c'est pourquoi un modèle par éléments finis a été développé. Ce modèle sera présenté dans le paragraphe 3.2.

2.2.4 Facteur de qualité Q d'une antenne planaire

Pour des fréquences de travail bien inférieures à l'auto résonance de l'antenne, le facteur de qualité traduit le rendement électromagnétique de l'antenne. Il est défini par le rapport entre l'énergie totale stockée par l'antenne et l'énergie perdue par cycle, (expression II-9).

$$Q = \frac{\omega_0 L}{R} \qquad \textbf{II-9}$$

Avec ω_0 la pulsation de travail, L l'inductance de l'antenne et R sa résistance série. Le tableau II-2 présente les valeurs du modèle équivalent ainsi que le facteur de qualité de quelques microantennes planaires fabriquées dans notre laboratoire (INL) et par d'autres équipes [3].

	d (µm)	n	e (µm)	L (nH)	R (Ω)	F(MHz)	Q
INL	**450**	**2**	**35.0**	**5.9**	**0.3**	**500**	**62.8**
Massin et al [3]	500	3	12.0	8.7	0.7	300	23.5
Stocker et al [19]	60	3	3.0	2.3	2.7	250	1.3
Peck et al [7]	100	4	1.0	4.3	8.6	300	0.9
Peck et al [20]	50	7	1.5	7.0	25.0	300	0.5

Tableau II-2 : Tableau représentant les caractéristiques électriques de quelques microantennes planaires en fonction du diamètre interne d, du nombre de spire n et de l'épaisseur des spires e

On voit dans le tableau II-2, les valeurs de facteur de qualité pour des antennes planaires comprises entre 0,5 et 62.8. Ces valeurs sont inférieures à celles d'antennes solénoïdales plutôt de l'ordre de 100.

Nous allons voir dans la suite qu'il est possible de modéliser ces antennes avec un logiciel de simulation par éléments finis et ainsi, qu'il est possible de trouver les paramètres géométriques optimaux pour maximiser le rapport signal sur bruit.

3 Modélisation électromagnétique par éléments finis

3.1 Développement sous COMSOL®

Dans cette partie, les résultats de l'influence de la géométrie des antennes planaires sur le rapport signal sur bruit sont présentés. Ces résultats sont obtenus grâce à un modèle numérique à éléments finis développé sous COMSOL®, lui-même exploitant le noyau de calcul de MATLAB®.

C'est dans cet environnement que nous avons développé un modèle 2D de microantenne planaire afin de pouvoir calculer leurs paramètres électromagnétiques tels que leur résistance série R, leur inductance L et le champ RF B_1 qu'elles créent.

3.1.1 Géométries des antennes sous COMSOL®

La modélisation en trois dimensions d'une microantenne planaire se révèle être extrêmement lourde en terme de mémoire nécessaire et de temps de calcul. Afin de déterminer les paramètres géométriques optimaux d'une antenne pour une application donnée, un grand nombre de simulations doivent être effectuées, typiquement plusieurs dizaines à quelques centaines. A moins d'exploiter les ressources informatiques d'un centre de calcul, un modèle en trois dimensions est donc inenvisageable. Heureusement, la géométrie d'une antenne solénoïdale planaire se prête très bien à une modélisation en deux dimensions, a condition d'accepter quelques simplifications.

La figure II-7 montre la différence entre la géométrie réelle de l'antenne (à gauche) et la géométrie réellement simulée (à droite). L'exploitation de la symétrie de révolution autour de l'axe z permet en effet de modéliser en deux dimensions un ensemble de pistes circulaires concentriques, le modèle 2D décrivant cette structure suivant un plan de coupe transversal (plan xOz par exemple).

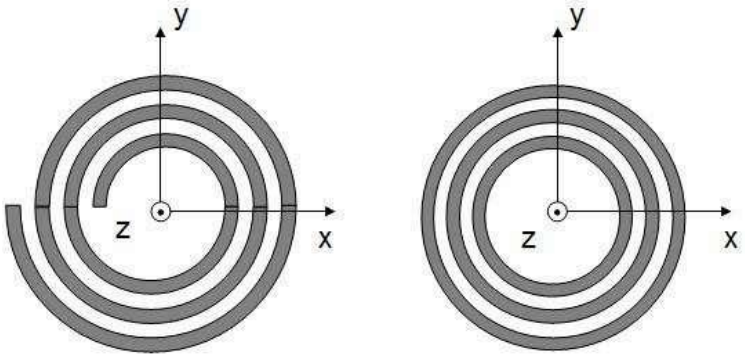


Figure II-7 : Spirale représentant l'antenne réelle à gauche et l'antenne modélisée à droite

Une approximation est donc effectuée concernant la géométrie exacte des spires et la longueur totale de la piste constituant l'antenne. Lors de la description du modèle dans l'environnement COMSOL®, il faudra s'assurer que les spires soient effectivement couplées électriquement, comme si elles résultaient effectivement de l'enroulement d'un conducteur unique. Nous démontrerons lors de la validation de ce modèle (paragraphe 3.2) que cette approximation ne compromet par la précision des résultats produits par ce modèle.

3.1.2 Géométrie de la cavité

Pour analyser un échantillon, celui-ci doit être placé dans un système microfluidique composé de microcanaux (pour l'entrée et la sortie des liquides) et d'une zone plus large positionnée à proximité de l'antenne que l'on appellera par la suite « cavité ». La cavité représente le volume d'échantillon qui sera analysé par SRMN.

La géométrie de la cavité est donc très importante pour optimiser le rapport signal sur bruit car, comme on l'a vu au paragraphe 1.1, le facteur de remplissage doit être maximal. Or, pour une antenne planaire, on a vu que l'échantillon doit être de même dimension que l'antenne et qu'il doit être placé à proximité des spires. C'est pourquoi, une cavité de géométrie cylindrique est choisie dans le cadre de notre étude (figure II-8). Les paramètres géométriques de celle-ci seront définis plus tard pour maximiser la sensibilité du signal.

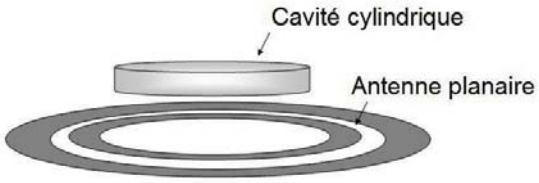


Figure II-8 : Schéma représentatif de la cavité de forme cylindrique au dessus de l'antenne planaire

Ce type de système microfluidique est réalisable à l'INL sur des puces en polymère, de plus, nous allons voir que sa géométrie est intéressante pour la modélisation sous COMSOL®.

3.1.3 Modélisation d'une antenne et de sa cavité en 2D sous COMSOL®

L'antenne et la cavité ayant toutes les deux une symétrie de révolution autour du même axe, il est possible de les intégrer dans le même modèle numérique à deux dimensions. Les paramètres géométriques définissant ce modèle sont l'épaisseur de membrane (distance entre la cavité et les spires), la hauteur de la cavité, le rayon de la cavité, le rayon interne de l'antenne, la largeur des spires, la largeur d'interspire et l'épaisseur des spires. Sur la figure II-9, le schéma d'une section de l'antenne et de sa cavité est représenté pour les x positifs. En effet, par symétrie par rapport à l'axe Oz, le système peut être représenté seulement dans un quart du domaine.

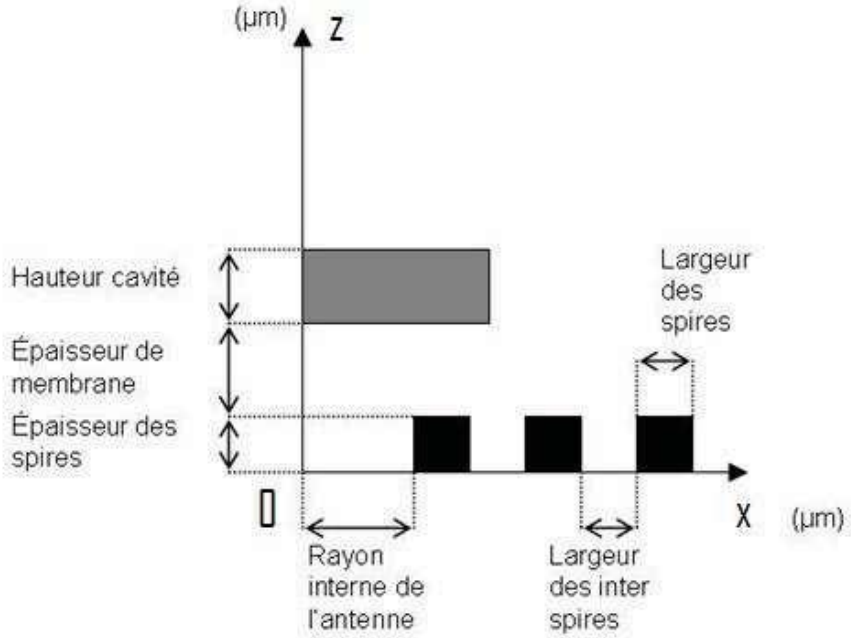


Figure II-9 : Schéma (non à l'échelle) représentant une coupe transversale des spires de l'antenne et de la cavité avec les paramètres nécessaires à la simulation.

Ainsi, le modèle que nous avons développé sous COMSOL® calcule simplement le champ créé par les trois carrés noirs dans le demi-plan. Ensuite, en utilisant la symétrie de révolution de 360° par rapport à Oz, nous obtenons le champ total créé par une antenne planaire.

3.1.4 L'interface de calcul développée sous MATLAB

Une interface utilisateur conviviale a été mise au point afin de pouvoir introduire dans le modèle, les valeurs de ses paramètres physiques. Ces paramètres peuvent varier automatiquement entre les des bornes saisies par l'utilisateur ce qui permet d'enchainer simultanément la simulation d'un grand nombre d'antennes. Les résultats (calcul de R, L, Q, Cacc, Cadap, SNR) sont stockés systématiquement sous format EXCEL en vue de l'analyse. En une douzaine d'heures, il est ainsi possible de réaliser près de 200 simulations.

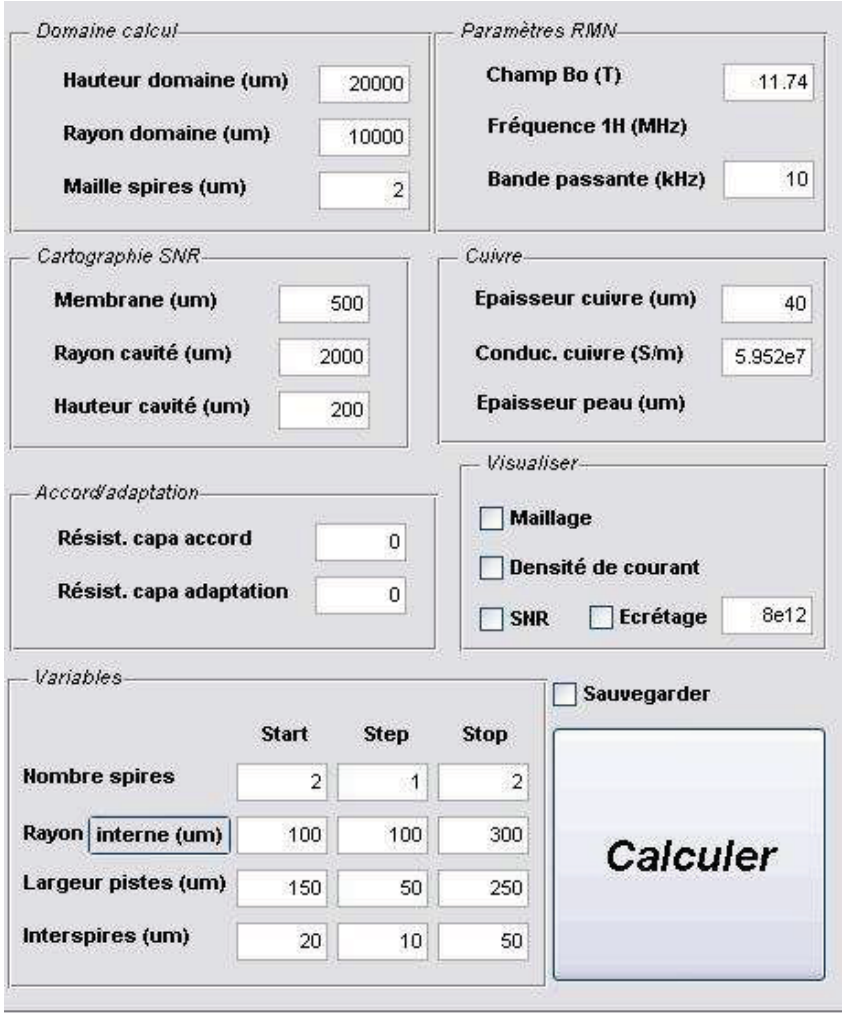


Figure II-10 : Interface de calcul permettant d'introduire dans le modèle les valeurs des paramètres physiques

3.2 Validation du logiciel de calcul 2D

Le logiciel de calcul développé afin de prévoir la valeur de la résistance et de l'inductance d'une microantenne planaire doit être validé expérimentalement. Ce n'est que lorsque cette validation aura été effectuée qu'il sera possible d'utiliser cet outil afin de rechercher les paramètres géométriques optimaux d'une antenne devant répondre à une problématique donnée. Afin de valider le logiciel, un lot d'antennes planaires de faibles dimensions a été réalisé puis caractérisé électriquement. Les résultats des mesures sont alors comparés aux résultats de simulations.

3.2.1 Antennes planaires de référence

Les antennes de référence réalisées comportent de une à trois spires, ce qui est suffisant pour valider le logiciel dans le cadre de notre application. Les dimensions de celles-ci sont également choisies pour être du même ordre de grandeur que celles qui seront réalisées et associées au système microfluidique de notre dispositif.

Dans un premier temps, des antennes ont été réalisées par simple gravure humide d'une plaque de circuit imprimé. Cette méthode présente l'avantage d'être rapide puisqu'il s'agit simplement de la méthode classique de gravure des circuits imprimés mais mise en œuvre avec des outils d'insolation permettant d'améliorer la résolution des structures gravées.

Cependant, pour la réalisation des antennes de références nécessaires à la validation du logiciel de calcul, cette technique de fabrication souffre de quelques limitations. En effet, la gravure humide du cuivre se fait de façon isotrope. De ce fait, le flanc des pistes obtenu après gravure n'est pas vertical (figure II-11).

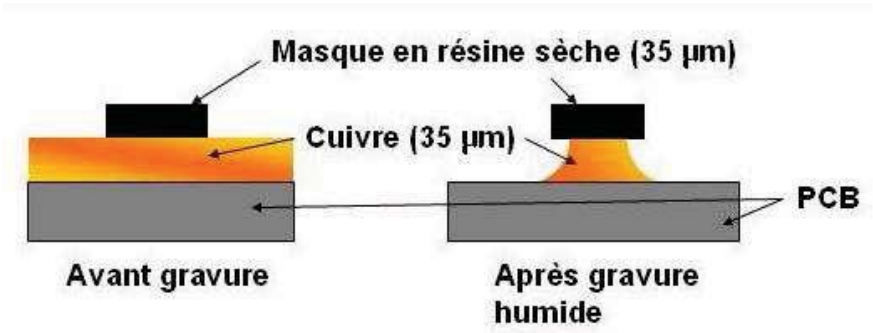


Figure II-11 : Schéma d'une section de piste représentant le phénomène de sur gravure (non à l'échelle)

Les flancs présentent un rayon de courbure égal à l'épaisseur de la couche de cuivre gravée. La largeur des pistes n'est donc pas clairement définie. Par ailleurs, cette méthode implique également que la distance interspires minimale est égale à deux fois l'épaisseur de cuivre gravé, soit 70 µm dans notre cas. Ce point n'est a priori par rédhibitoire mais limite les degrés de liberté sur les paramètres géométriques de l'antenne.

En dehors de la faible résolution de gravure inhérente au procédé de gravure humide (largeur des pistes et des interspires liées à l'épaisseur du cuivre), le problème principal est dû au mauvais état de surface du cuivre. Observé au microscope, celui-ci présente un réseau dense de rayures de plusieurs microns de profondeur, (figure II-12).

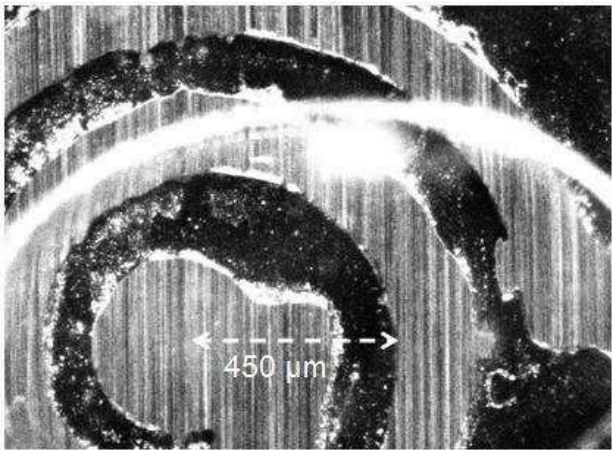


Figure II-12 : Etat de surface du cuivre de circuit imprimé

Un tel état de surface perturbera la mesure de la résistance en haute fréquence lorsque l'épaisseur de peau sera comparable à celui des rayures. Pour du cuivre, on rappelle qu'à 100 MHz, l'épaisseur de peau est de 6,5µm et passe à 3µm pour 500 MHz. Compte tenu de la profondeur de ces rayures, le chemin à parcourir par le courant en surface sera allongé, donc la résistance mesurée sera supérieure à celle attendue.

Afin d'obtenir des antennes présentant un bon état de surface et afin de maitriser précisément les dimensions des structures réalisées, le procédé de réalisation par croissance électrolytique est beaucoup mieux adapté (procédé LIGA UV). Ce procédé sera présenté en détail dans le chapitre III car la même méthode sera utilisée pour fabriquer l'antenne sur un substrat en polymère.

Les antennes produites sont réalisées sur un substrat en verre, matériau ayant l'avantage d'une excellente résistivité électrique même à haute fréquence. La reprise de contact au centre de l'antenne planaire est alors effectuée par micro soudage ultrasonore d'un fil d'aluminium de 25µm de diamètre.

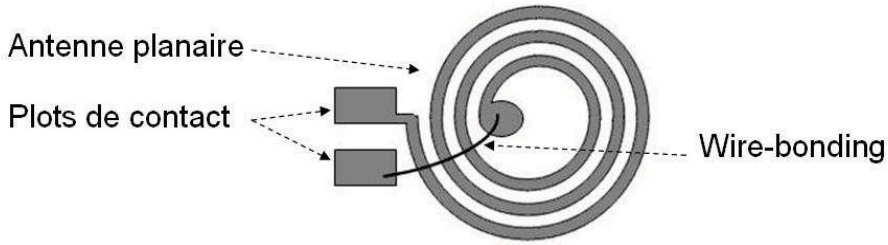


Figure II-13 : Schéma représentant l'antenne, ses plots de contact et le wire-bonding

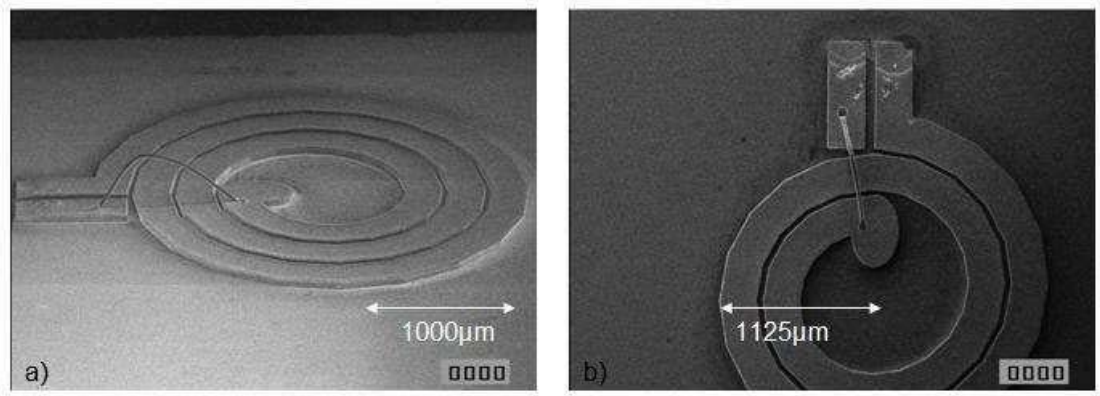


Figure II-14 : Photographie au MEB (x35) des antennes de référence obtenues par LIGA UV. a) antenne à trois spires vu de 45° avec son wire-bonding, b) antenne à deux spires vu du dessus avec son wire-bonding, les défauts de surface sur les plots de contacts sont dus aux micro-pointes de la station sous pointes, (figure 2-15).

L'observation au microscope optique permet de mesurer les paramètres géométriques effectivement obtenus pour les microantennes réalisées, (tableau II-3).

Paramètre géométrique	Dimension mesurée
largeur de piste	255µm
distance interspire	35µm
rayon interne de la première spire	580µm
épaisseur de cuivre déposé	39µm

Tableau II-3 : Paramètres géométriques mesurés des antennes de référence.

Ces mesures ne sont pas tolérancées car seules les trois antennes (de 1 à 3 spires), effectivement utilisées comme antennes de référence, ont été mesurées sans que les écart-types puisses être calculés.

Comme le montre la figure II-14, l'état de surface du cuivre est beaucoup plus lisse que celui du circuit imprimé. Bien que non mesurée, on peut raisonnablement affirmer que la contribution de la rugosité résiduelle à l'augmentation de la résistance avec la fréquence est négligeable.

3.2.2 Caractérisation électrique

Pour chaque antenne de référence, les mesures de résistance et d'inductance sont effectuées à l'aide d'un analyseur de réseau HP8752C et d'une station de test sous pointes Karl Suss EP4 (figure II-15). La gamme de fréquence observée est comprise entre 10 MHz et 1 GHz ce qui inclut toutes les fréquences de travaille exploitées en spectroscopie RMN. Dans

notre cas, la fréquence de 500 MHz sera d'un intérêt particulier (fréquence de Larmor du proton dans un champ magnétique de 11,74 T).

L'ensemble du banc de mesure doit être préalablement calibré afin de compenser les erreurs internes de l'analyseur de réseau ainsi que les impédances parasites introduites par la connectique (câble et micro-pointes).

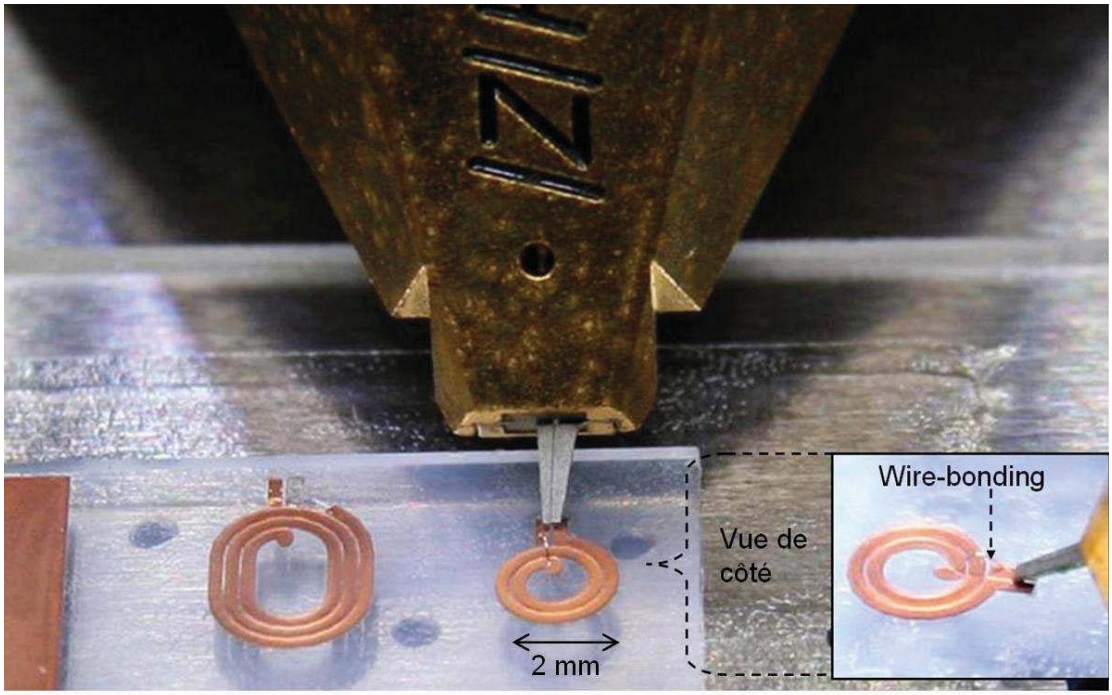


Figure II-15 : Micro-pointes de la station KSEP4 sur les plots de contact d'une microantenne

Afin de réaliser cette calibration, la méthode des 3 charges de référence est utilisée. Ces trois charges sont respectivement un circuit ouvert (Z_∞) un court-circuit (Z_0) et une charge de référence de 50Ω. Cette dernière est disponible sur un substrat de calibration accompagnant la station KSEP4. Sur ce même substrat, des circuits ouverts et des courts-circuits sont également disponibles mais ils ne sont pas utilisés. En effet, leurs électrodes étant des couches minces d'or, l'impédance de contact avec celles-ci peut être très différente de celle effectivement présente au contact électrodes/cuivre des antennes. L'épaisseur des électrodes étant également différente, une erreur de compensation sur la capacité parasite peut également être commise. Des structures de calibration ont donc été réalisées en même temps que les antennes. Elles reprennent la géométrie des plots de contact de celles-ci et l'antenne proprement dite est remplacée par un court-circuit ou un circuit ouvert selon le cas.

Pour une charge inconnue, l'expression de l'impédance réelle en fonction de l'impédance mesurée est alors donnée par [21, 22].

$$Z_r = Z_{rl} \cdot \frac{(Z_{ml} - Z_{m\infty}) \cdot (Z_m - Z_{m0})}{(Z_{ml} - Z_{m0}) \cdot (Z_m - Z_{m\infty})} \qquad \textbf{II-10}$$

avec $Z_{m\infty}$ l'impédance mesurée en circuit ouvert, Z_{m0} l'impédance mesurée en court-circuit, Z_{ml} l'impédance mesurée sur la charge de référence et Z_{rl} sa valeur réelle.

En prenant pour modèle d'antenne, une simple association série d'une résistance et d'une inductance, on déduit alors facilement de la valeur de Z_r, à une fréquence donnée, les valeurs de R et L correspondantes, (expression II-11 et II-12).

$$R = \mathrm{Re}(Z_r) \qquad \textbf{II-11}$$

$$L = \frac{\mathrm{Im}(Z_r)}{\omega} \qquad \textbf{II-12}$$

3.2.3 Présentation des résultats de mesure et de simulation

Il est observé expérimentalement que la procédure de calibration effectuée sur l'ensemble de la plage de fréquence allant de 10 MHz à 1 GHz conduit à des résultats incorrects, surtout en haute fréquence. En divisant la plage de fréquence en deux afin d'appliquer la procédure de calibration d'abord entre 10 MHz et 100 MHz puis de 100 MHz à 1 GHz, des résultats nettement meilleurs sont obtenus. Lors de la phase de calibration, les mesures sur les charges de référence de type court-circuit et circuit ouvert sont effectuées dix fois avant d'être moyennées. Dans le cas de la charge en court-circuit et en circuit ouvert, les micro-pointes sont soulevées puis remises en contact avec les électrodes entre chaque mesure afin de prendre en compte la variabilité de l'impédance de contact. Cette procédure n'a pas pu être appliquée sur la charge de référence en raison de la fragilité de ses électrodes qui peuvent être rapidement détruites par des contacts trop répétés. Une moyenne sur dix mesures est cependant effectuée en laissant les micro-pointes en place.

Les mesures sur les microantennes sont également systématiquement répétées dix fois avec remise en place des micro-pointes à chaque nouvelle mesure (toujours pour prendre en compte la variabilité de l'impédance de contact). Compte tenu de l'expression II-10, il apparaît très difficile de calculer les écarts-types sur les valeurs de R et L en incluant les écarts-types sur les mesures des impédances de référence. Cependant, les écarts-types relatifs sur les valeurs moyennes, (expression II-13), sont très faibles, inférieures à 1%, ce qui permet de les négliger.

$$Ecart-type\ relatif\ sur\ la\ valeur\ moyenne = \frac{\sigma}{\left|\overline{m}\right|.\sqrt{n}} \qquad \textbf{II-13}$$

avec σ l'écart-type sur les valeurs, $\overline{m}$ la valeur moyenne et n le nombre de mesures.

Compte tenu de cette simplification, seuls les écart-types des mesures sur les antennes sont pris en compte pour le calcul des écarts-types sur les valeurs moyennes de R et L. La reproductibilité des mesures est excellente puisque les écarts-types relatifs sur les valeurs moyennes restent encore inférieurs à 1%. A titre d'exemple, la figure II-16 présente les résultats de mesure de R, pour l'antenne de référence à 3 spires, dans la gamme de fréquence allant de 10 MHz à 100 MHz. Les barres d'erreurs représentent les incertitudes sur la valeur moyenne à $\pm 3\sigma$. Devant les très faibles valeurs de ces incertitudes et afin de conserver des courbes lisibles, les barres d'erreurs ne seront pas représentées par la suite.

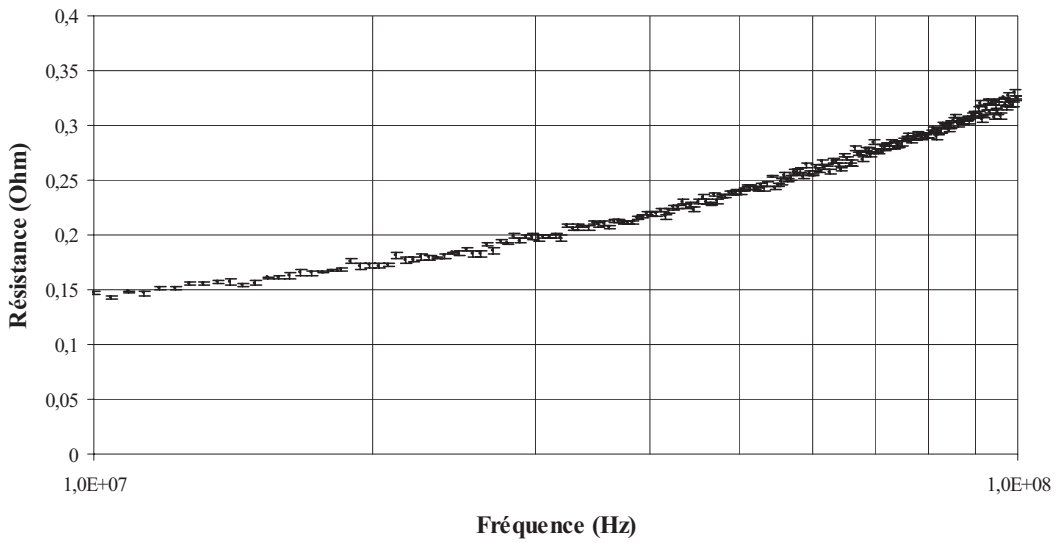


Figure II-16 : Résistances mesurées sur l'antenne de référence à 3 spires. Barres d'erreur à $\pm 3\sigma$

Les valeurs de résistance et d'inductance obtenues par mesures et par simulations pour les 3 antennes de référence sont présentées (figures II-17 et II-18).

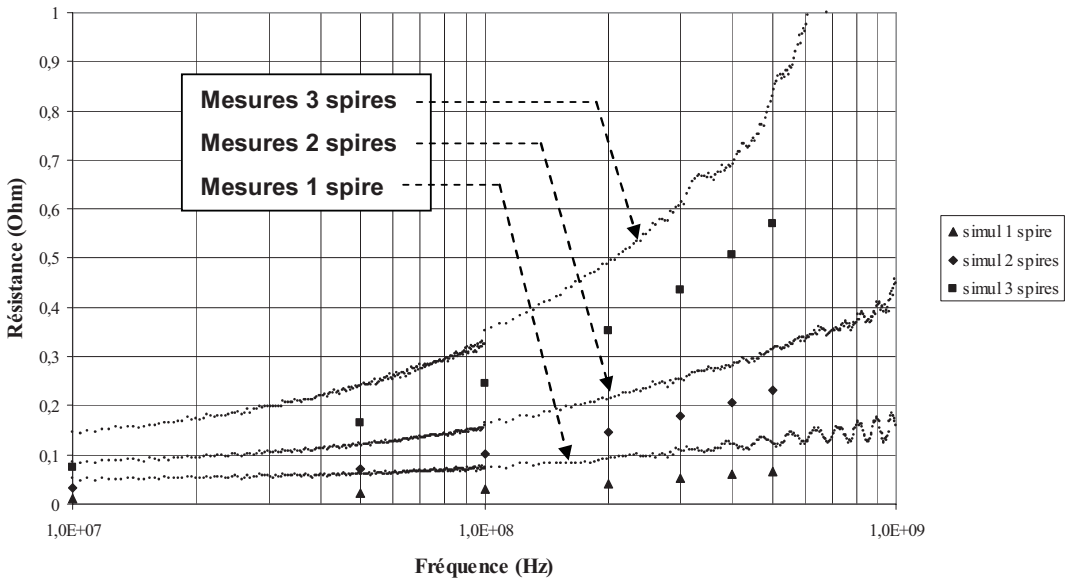


Figure II-17 : Valeurs mesurées et simulées de la résistance pour les 3 antennes de référence

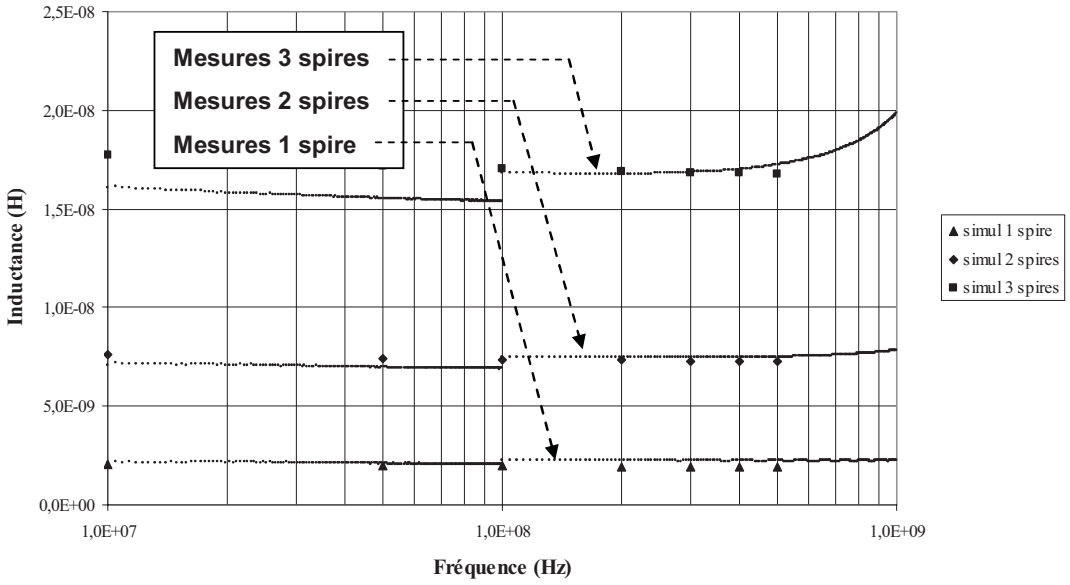


Figure II-18 : Valeurs mesurées et simulées de l'inductance pour les 3 antennes de référence

3.2.4 Analyse des résultats de comparaison et validation du logiciel

3.2.4.a Analyse des résultats sur la résistance

La figure II-17, sur laquelle les mesures de résistances pour les trois antennes et les résultats de simulation sont comparées, fait apparaître un écart significatif. Bien que la variation de résistance avec la fréquence soit pratiquement identique entre mesures et résultats de simulation, les valeurs mesurées sont sensiblement plus élevées que celles prédites par le logiciel. Le tableau II-4 donne quelques valeurs d'écarts relatifs observés entre valeurs mesurées et simulées.

fréquence (Hz)	E% (1 spire)	E% (2 spires)	E% (3 spires)
$1{,}00.10^{7}$	78	60	49
$5{,}00.10^{7}$	65	41	30
$1{,}00.10^{8}$	59	36	25
$2{,}00.10^{8}$	54	32	28
$3{,}00.10^{8}$	53	29	28
$4{,}00.10^{8}$	51	26	27
$5{,}00.10^{8}$	46	26	31

Tableau II-4 : Ecarts relatifs constatés entre les valeurs mesurées et les valeurs calculées de la résistance

Cependant, le logiciel de simulation ne prend pas en compte la résistance introduite par la micro-connexion (wire-bonding, figure II-14) permettant la reprise de contact au centre des spires de l'antenne. Cette connexion, réalisée avec un fil d'aluminium de 25µm de diamètre, introduit une résistance supplémentaire non négligeable. Le tableau II-5 donne pour différentes fréquences, la résistance d'un tel fil de 1mm de long. Bien qu'un calcul analytique puisse être effectué en raison de la symétrie cylindrique du fil, ces valeurs sont obtenues par calcul par éléments finis sous COMSOL®.

Fréquence (MHz)	résistance (Ω)
1	$5{,}40.10^{-2}$
10	$5{,}41.10^{-2}$
50	$5{,}55.10^{-2}$
100	$5{,}96.10^{-2}$
200	$7{,}21.10^{-2}$
300	$8{,}53.10^{-2}$
400	$9{,}69.10^{-2}$
500	$1{,}07.10^{-1}$

Tableau II-5 : Résistance d'un fil d'aluminium de 25µm de diamètre et de 1mm de long en fonction de la fréquence.

En comparant les valeurs des tableaux II-4 et II-5, il est clair qu'une partie des écarts observés entre mesures et simulations peut s'expliquer par la présence du wire-bonding.

Des mesures au microscope optique ont permis d'obtenir une évaluation de la longueur des wire-bonding pour les trois antennes de référence utilisées. Ainsi, le wire-bonding présente une longueur d'environ 690µm pour l'antenne à une spire, 940µm pour l'antenne à deux spires et 1210µm pour l'antenne à trois spires. En corrigeant les valeurs simulées de résistance en ajoutant l'estimation de celle des wire-bonding, l'accord entre valeurs mesurées et simulées devient excellent (figure II-19 et tableau II-6).

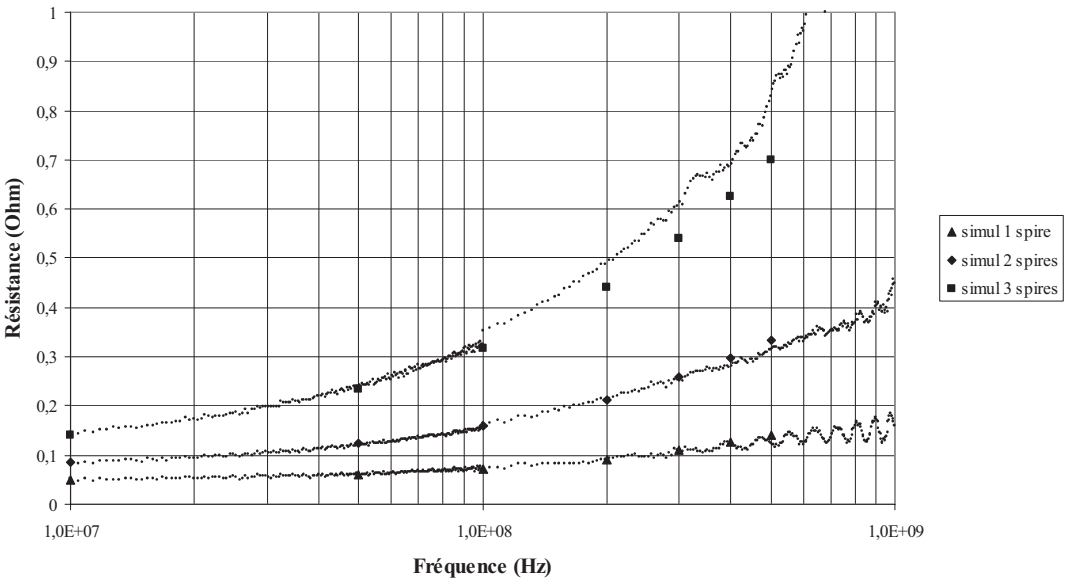


Figure II-19 : Valeurs mesurées et simulées de la résistance pour les 3 antennes de référence en tenant compte de la résistance des wire-bonding.

Freq (Hz)	E% 1 spire	E% 2 spires	E% 3 spires
$1{,}00.10^{7}$	6	1	5
$5{,}00.10^{7}$	3	2	2
$1{,}00.10^{8}$	4	1	3
$2{,}00.10^{8}$	1	<1	10
$3{,}00.10^{8}$	1	3	11
$4{,}00.10^{8}$	3	7	10
$5{,}00.10^{8}$	15	6	16

Tableau II-6 : Ecarts relatifs constatés entre valeurs mesurées et valeurs calculées de la résistance en tenant compte de la résistance des wire-bonding.

En tenant compte de la résistance des wire-bonding, l'écart relatif entre valeurs mesurées et valeurs simulées est compris entre 1% et 16% pour des antennes à 1, 2 ou 3 spires

dans la gamme de fréquences allant de 10 MHz à 500 MHz. L'observation sur la figure II-19 de l'évolution de ces écarts en fonction de la fréquence ainsi que l'observation des courbes des valeurs mesurées appellent les commentaires suivants :

- pour les antennes à forte résistance et forte inductance (antenne à trois spires), les mesures en haute fréquence sont perturbées par la présence d'une capacité parasite, en parallèle de l'antenne, non prise en compte lors du calcul de R et L à partir de l'impédance mesurée. Cette capacité fait apparaître une fréquence de résonnance naturelle de l'antenne au-delà de 1GHz. L'estimation de la valeur de la capacité parasite permettrait de corriger les valeurs mesurées mais nécessite de pouvoir observer l'évolution de l'impédance autour de la fréquence de résonnance. Ce n'est malheureusement pas possible avec l'analyseur de réseau utilisé dont la plus haute fréquence de mesure est limitée à 1,3 GHz.

- pour les antennes à faible résistance (antenne à une spire), la procédure de calibration semble atteindre ses limites vers 300 MHz, fréquence au-delà de laquelle une ondulation des valeurs de résistances mesurées est observée.

- le domaine de fréquence étant coupé en deux parties (de 10 MHz à 100 MHz et de 100 MHz à 1 GHz) lors de la procédure de calibration, on observe, surtout pour l'antenne comportant 3 spires, un léger défaut de raccordement entre les courbes mesurées. En dehors des erreurs de reproductibilités (très faible), ce défaut de raccordement met en évidence la présence d'erreurs systématiques persistant malgré la calibration. Ces erreurs restent cependant faibles et ne remettent pas en cause la comparaison entre valeurs mesurées et valeurs simulées.

Compte tenu des points évoqués ci-dessus, il apparaît clairement que les écarts résiduels observés entre les valeurs mesurées et simulées de la résistance sont principalement imputables aux erreurs de mesure. On peut donc affirmer que le calcul de la résistance d'une microantenne planaire comportant de 1 à 3 spires dans le domaine fréquentiel s'étendant de 10MHz à 500MHz est validé.

3.2.4.b Analyse des résultats sur l'inductance

L'observation de la figure II-19 montre, a une exception près, une excellente adéquation entre valeurs d'inductance mesurées et simulées. Comme précédemment, un défaut de raccord apparaît entre les deux plages de fréquences mesurées séparément. Malgré plusieurs séries de mesures en réitérant la calibration, le défaut de raccordement important observé pour l'antenne à trois spires ne peut pas être réduit. La comparaison avec les valeurs

simulées, auxquelles il est manifestement raisonnable d'accorder crédit, indique que les mesures sous-estiment la valeur de l'inductance dans la gamme 10MHz-100MHz lorsque l'inductance est élevée, (tableau II-7).

Fréquence (Hz)	E% 1 spire	E% 2 spires	E% 3 spires
$1{,}00.10^{7}$	3	8	10
$5{,}00.10^{7}$	5	7	10
$1{,}00.10^{8}$	5	7	11
$2{,}00.10^{8}$	13	2	1
$3{,}00.10^{8}$	13	2	<1
$4{,}00.10^{8}$	13	2	1
$5{,}00.10^{8}$	13	3	3

Tableau II-7 : Ecarts relatifs constatés entre valeurs mesurées et valeurs calculées de l'inductance.

A plus haute fréquence, l'augmentation apparente de l'inductance mesurée traduit à nouveau la présence d'une capacité parasite non prise en compte dans le modèle équivalent de l'antenne. Plus l'inductance est élevée, plus cette fréquence de résonnance est basse (mais dans notre cas, elle reste au-delà de 1,3 GHz) ce qui explique que ce sont les mesures sur l'antenne à 3 spires qui sont les plus perturbées. Pour cette antenne, les mesures d'inductance au-delà de 300 MHz ne peuvent plus être prises en compte.

On observe également, aussi bien sur les valeurs mesurées que calculées, une très légère diminution de l'inductance lorsque la fréquence augmente. Cela s'explique par l'effet de proximité qui a tendance à réduire le rayon moyen effectif des spires de l'antenne (figure II-6, pour un courant de sens opposé), ce qui se traduit par une diminution de l'inductance.

Comme pour les mesures de résistances, les écarts constatés entre les valeurs mesurées et simulées d'inductance peuvent être très majoritairement imputées aux erreurs de mesures. On peut donc affirmer que le calcul de l'inductance d'une microantenne planaire comportant de 1 à 3 spires dans le domaine fréquentiel s'étendant de 10 MHz à 500 MHz est validé.

4 Optimisation des paramètres géométriques de l'antenne planaire par rapport à une cavité microfluidique

4.1 Contraintes de conception du système antenne-cavité

L'outil de calcul numérique présenté au paragraphe précédent a été développé afin de permettre la recherche des paramètres géométriques d'une microantenne planaire optimisant son couplage avec une cavité microfluidique contenant l'échantillon. L'optimisation de ce couplage ayant évidemment l'intérêt de maximiser le rapport signal sur bruit du système de micro spectroscopie RMN. Un nombre important de paramètres géométriques doivent être déterminés, à savoir le diamètre de l'antenne, le nombre de spires, la largeur de la piste conductrice, l'espace interspires, l'épaisseur de l'antenne et la distance séparant l'antenne de la cavité contenant l'échantillon. Cependant, un certain nombre de contraintes, liées aux techniques de fabrication ou à la mise en œuvre du microsystème dans un spectromètre RMN, permettent de définir les bornes dans lesquelles ces paramètres sont susceptibles d'évoluer.

Ainsi, nous savons que notre microsystème doit servir à analyser des faibles volumes, c'est pourquoi il est muni d'un système microfluidique. Il est donc indispensable dans un premier temps de définir le volume et les paramètres géométriques de celui-ci et en particulier de la cavité contenant l'échantillon qui sera analysé. Pour ce faire, des structures microfluidiques de 150µm de profond sont réalisables avec les techniques de micro fabrication développées au laboratoire, (chapitre III). Il est donc possible de créer une cavité microfluidique de forme cylindrique avec une épaisseur de 150µm, nous permettant ainsi de travailler avec des volumes de l'ordre de 50 à 300 nano litre en fonction de la valeur du rayon de ce cylindre. Nous choisissons dans cette gamme de valeurs de travailler avec un volume de 100nL. Le rayon du cylindre est donc calculé en utilisant l'expression II-14.

$$V = \pi r^2 h \qquad \textbf{II-14}$$

Ainsi, le système microfluidique (réalisable au laboratoire) définie pour les simulations est doté d'une cavité de forme cylindrique avec un rayon de 450µm et une hauteur de 150µm.

Les autres contraintes de conceptions seront spécifiées au fur et à mesures de la présentation des simulations dans les paragraphes suivants.

4.2 Epaisseur de membrane

L'épaisseur de membrane correspond à la distance entre la face inférieure de la cavité et la surface des spires, (figure II-9). Le choix de l'épaisseur de membrane optimale doit répondre à la satisfaction d'un compromis. En effet, une antenne planaire ne produisant pas un champ uniforme, on sait que sa sensibilité décroit à mesure que l'échantillon en est éloigné. Par ailleurs, la zone dans la proximité immédiate du plan contenant les spires de l'antenne est sujette à de fortes distorsions du champ magnétique statique produit par l'aimant supraconducteur. Cette distorsion, qui sera l'objet d'une étude détaillée dans le chapitre IV, entraine une diminution de la résolution spectrale ce qui est évidemment un problème majeur.

A partir des études développées dans le chapitre IV, nous pouvons conclure que les distorsions magnétiques sont très atténuées à partir d'une épaisseur de membrane de 100µm. Il faut donc calculer la proportion de signal encore perçue par l'antenne à cette distance. Pour connaitre cette proportion de signal, nous effectuons des calculs de rapport signal sur bruit intégré dans la cavité qui sera placée à différentes distances de l'antenne, (figure II-20). Le rapport signal sur bruit est calculé à partir de l'expression défini dans le chapitre I.

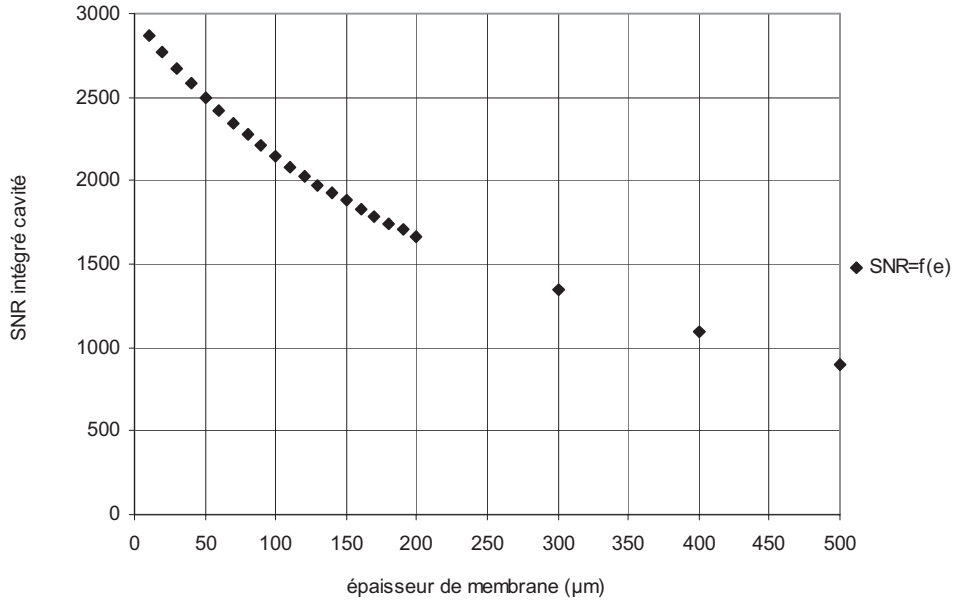


Figure II-20 : Courbe représentant la variation du rapport signal sur bruit intégré dans la cavité en fonction de l'épaisseur de la membrane.

Comme cela était attendu, le SNR décroit en fonction de l'épaisseur de membrane puisque l'antenne planaire a une sensibilité plus forte à proximité des spires.

Avantageusement, la variation de SNR, entre une épaisseur de membrane de 10µm et 100µm, reste faible car seulement 20% de perte de signal sont calculés. C'est pourquoi, l'épaisseur de membrane est donc fixée à 100µm pour les simulations relatives aux paramètres géométriques de l'antenne.

4.3 Simulation des paramètres de l'antenne

4.3.1 Détermination du nombre de spire de l'antenne

Le spectromètre utilisé pour les tests du microsystème produit un champ magnétique de 11.74 T. Dans un champ de cette intensité, la fréquence de Larmor des noyaux d'hydrogène est de 500 MHz. C'est donc à cette fréquence que la microantenne doit travailler. Comme cela sera vu au chapitre 3, l'antenne sera accordée à cette fréquence grâce à un élément capacitif monté en parallèle du schéma électrique équivalent de l'antenne. La fréquence de résonance de ce circuit est donnée par la relation II-15.

$$f_{rés} = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \qquad \textbf{II-15}$$

En pratique, il est difficile de manipuler des capacités d'une valeur inférieure à 1pF car cette valeur très faible est comparable à la valeur de la moindre capacité parasite affectant tout circuit électronique. Par ailleurs, comme cela a déjà été évoqué dans le paragraphe relatif aux mesures sur antennes de références (3.2), une capacité parasite est inhérente à la structure même de l'antenne. Cette capacité fait apparaître une fréquence d'auto-résonance de l'antenne. Afin qu'il soit possible de l'utiliser, cette fréquence doit être bien supérieure à la fréquence à laquelle on désire accorder l'antenne (500 MHz dans notre cas).

Pour ces raisons, il est nécessaire d'obtenir une antenne présentant une valeur d'inductance limitée à environ 10nH. La surface de l'antenne ne pouvant varier dans de grandes proportions (car elle doit rester en adéquation avec les dimensions de la cavité microfluidique contenant l'échantillon), la variable permettant de sélectionner la valeur de l'inductance est le nombre de tours de l'antenne planaire. Afin de choisir ce nombre de tours, une série de simulations mettant en avant la variation de l'inductance en fonction du nombre de spires ont été effectuées en fixant de façon arbitraire (tout en restant dans la gamme des valeurs susceptibles de convenir) la largeur des spires, la distance interspire et le rayon interne de l'antenne, (figure II-21).

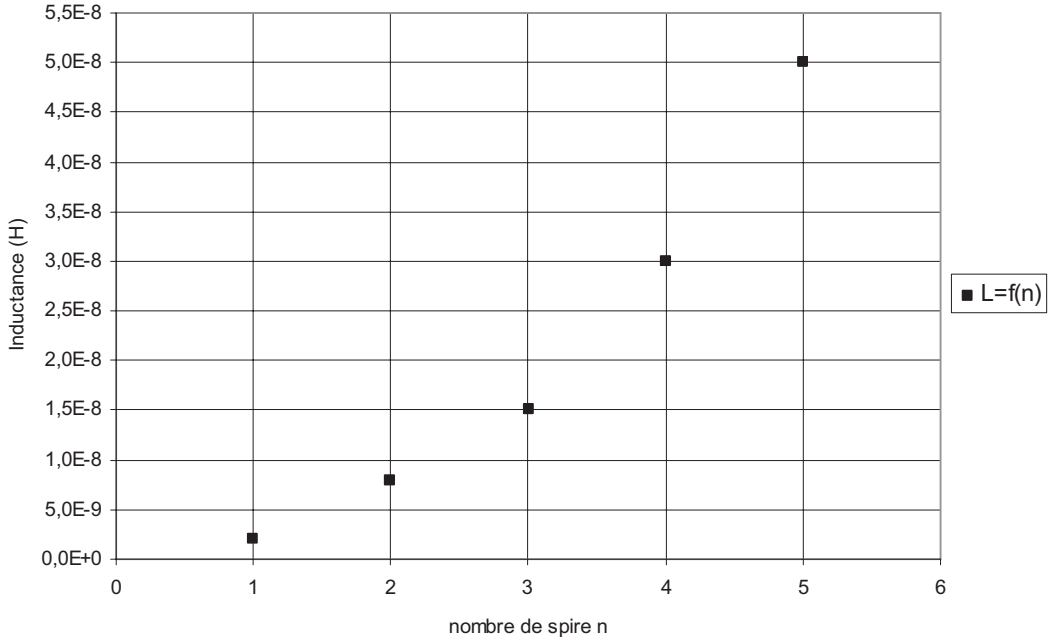


Figure II-21 : Courbe représentant la valeur de l'inductance en fonction du nombre de spire

La valeur de l'inductance en fonction du nombre de tour de l'antenne est de la forme d'une parabole en x^2. Deux points se rapprochent de la valeur de 10nH envisagée : celle pour deux spires et celle pour trois spires. Nous avons choisi d'utiliser une antenne à deux spires car travailler avec une inductance moins élevée facilitera le choix de la capacité d'accord, (en référence au paragraphe 2.2.2).

4.3.2 Le rayon interne (figure II-9) de la micro antenne

Ces simulations consistent à trouver le rayon interne de l'antenne pour lequel le SNR est maximal. Le nombre de spire est défini à 2 pour que l'inductance de l'antenne soit approximativement 10nH. Le rayon externe n'est plus fixé mais limité à 1mm car l'antenne doit être insérée dans le tube d'analyse du spectromètre qui fait 4.8mm de diamètre, de plus, une petite marge de 1mm autour de la dernière spire est nécessaire lors de la fabrication du microsystème, (chapitre III). Comme pour les simulations précédentes, les valeurs de la largeur de spire et d'interspire ont été fixées de façon à ce que l'antenne n'ait pas un rayon externe supérieur à 1mm.

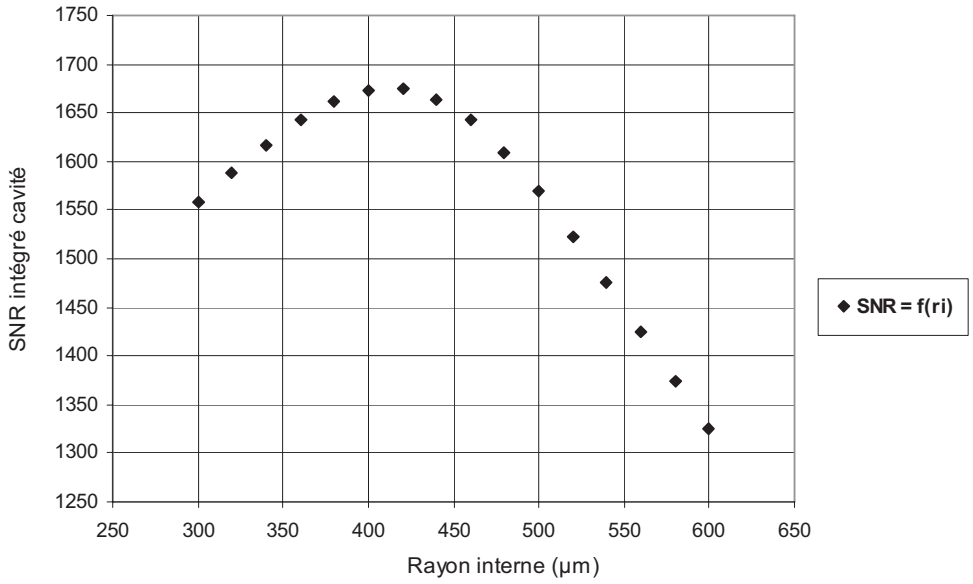


Figure II-22 : Courbe représentant la valeur intégrée du SNR dans la cavité en fonction du rayon interne de la micro antenne pour une antenne en cuivre de 2 spires.

La figure II-22 montre que le maximum de SNR est obtenu pour un rayon interne de 440 µm ce qui correspond, à 10µm près, au rayon de la cavité choisie pour les simulations. Ce résultat est cohérent avec des études similaires déjà réalisées [17, 23]. Dans la pratique, nous utiliserons donc une antenne de rayon interne 450µm.

4.3.3 Largeur des spires et de l'interspire de l'antenne planaire

Enfin, il faut encore déterminer la largeur des spires et la largeur de l'interspire de l'antenne planaire afin d'obtenir le meilleur rapport signal sur bruit. Ainsi, la variation du SNR pour différentes largeurs de spires et d'interspire d'une antenne planaire composée de deux spires et d'un rayon interne de 450µm est obtenue avec le logiciel de calcul, (figure II-23).

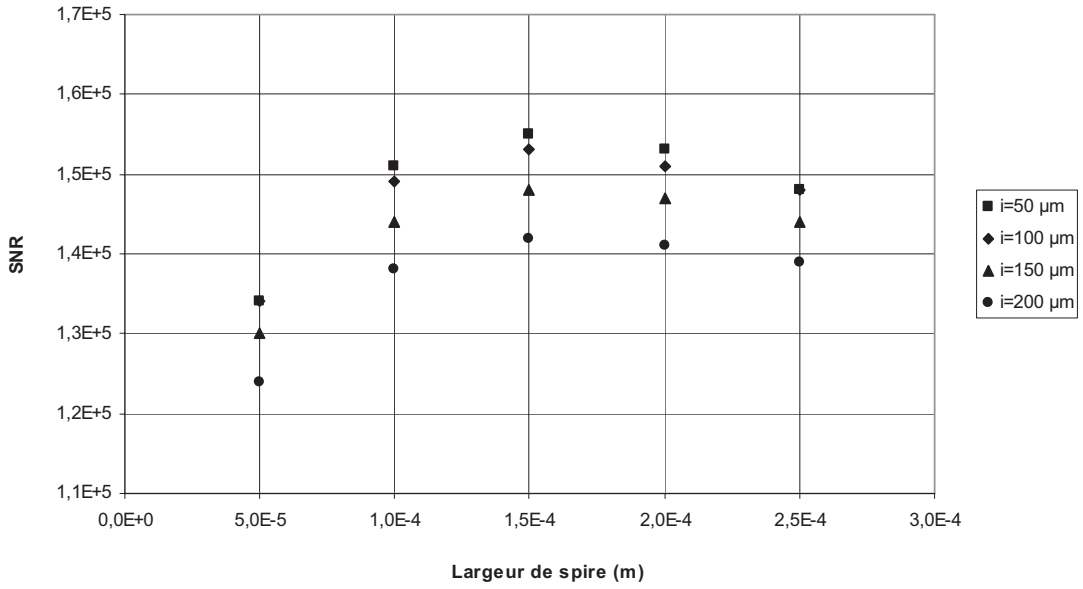


Figure II-23 : Courbe représentant la valeur de SNR en fonction de la largeur des spires pour différentes largeurs d'interspire (i)

La figure II-23 représente la variation du SNR en fonction de la largeur de spire. Les différentes courbes représentent les simulations pour plusieurs largeurs d'interspire (50µm ; 100µm ; 150µm ; 200µm). Les valeurs de largeur de spire et d'interspire ne vont pas au-delà de 200µm (pour l'interspire) et 250µm (pour la spire) car l'antenne doit avoir un rayon externe inférieur à 1 mm pour entrer dans le tube d'analyse du spectromètre (diamètre de 5 mm). De plus, d'après les simulations, les quatre courbes ont un maximum pour une largeur de spire de 150µm.

La première remarque en observant ces résultats de simulations est que la variation de SNR n'est pas forte en fonction de la largeur de spire et d'interspire. En effet, excepté les points de simulations obtenus pour une largeur de piste de 50µm, tous les autres ont une valeur de SNR proche de $1.5.10^5$.

Ensuite, la simulation avec laquelle nous obtenons le plus grand SNR est effectuée avec une interspire de 50µm et une largeur de spire de 150µm. Or, en tenant compte des difficultés rencontrées lors de la fabrication des antennes planaires, (chapitre III), nous verrons qu'il est difficile de créer une antenne avec une interspire inférieure à 150µm. C'est pourquoi, pour la fabrication de notre microsystème, nous choisissons d'utiliser une antenne planaire de largeur de spire et d'interspire de 150µm.

Ainsi, d'après toutes ces simulations, pour maximiser le SNR lors d'une expérience en spectroscopie par RMN à 11.74 T, le microsystème composé d'un échantillon contenu dans une cavité microfluidique de forme cylindrique et d'une antenne planaire doit avoir les dimensions suivantes : la cavité a une épaisseur de 150µm, un rayon de 450µm et un volume de 100nL et l'antenne optimale est formée de deux tours, elle a un rayon interne de 450µm, une interspire de 150µm et des pistes de largeur 150µm. Cette microantenne planaire ainsi que tout le microsystème associé seront fabriqués dans le prochain chapitre.

5 Conclusion

Dans l'optique de fabriquer un dispositif pour la spectroscopie par RMN, la conception de l'antenne est fondamentale. Pour un système d'analyse servant à la fois en émission et en réception, le signal RMN est entièrement défini par les caractéristiques électromagnétiques de l'antenne en hautes fréquences.

On a pu voir que la taille des antennes est un facteur prépondérant pour la sensibilité de l'analyse. En effet, le facteur de remplissage doit être maximal, c'est-à-dire que la plus grande partie de l'énergie produite par l'antenne doit être présente dans le volume de l'échantillon. De même, le facteur de qualité de celle-ci doit être important, on a vu qu'il est dégradé par les résistances de pertes apparaissant en hautes fréquences.

De plus, comme nous voulons travailler sur un dispositif muni d'un système microfluidique, nous avons choisi d'utiliser des antennes planaires pour leur simplicité d'association avec le système microfluidique.

Enfin, dans le but de maximiser le rapport signal sur bruit, nous avons développé une méthode permettant d'optimiser les paramètres géométriques des antennes planaires en tenant compte des contraintes expérimentales et du volume de la cavité.

Il faut noter que l'étude de ces antennes planaire est complexe car il est impossible de calculer analytiquement ses paramètres géométriques. En effet, leur utilisation en hautes fréquences et la proximité de leurs pistes nous obligent à résoudre numériquement les équations de Maxwell. La mise en œuvre d'un logiciel de simulations électromagnétiques par éléments finis nous a donc été indispensable pour tester un maximum d'antennes en un

minimum de temps. Pour ce faire, nous avons validé cet outil de calcul par rapport aux mesures sur des antennes planaires en pratique.

Les simulations sous COMSOL® ont permis de déterminer les paramètres géométriques optimaux d'une antenne planaire par rapport au volume de l'échantillon afin d'obtenir le maximum de rapport signal sur bruit. Ainsi, les dimensions trouvées pour une expérience RMN avec un aimant de 11.74 T sont, une cavité de 450µm de rayon et d'épaisseur 70µm, l'antenne optimale est constituée de deux spires d'épaisseur 35µm, de largeurs 150µm et séparées de 150µm avec un rayon interne de 440µm.

Dans le chapitre suivant, seront présentées les méthodes de micro fabrication développées dans notre laboratoire pour fabriquer le microsystème d'analyse muni de l'antenne planaire optimale. De plus, une étude approfondie sera effectuée sur la conception de son circuit de conditionnement qui devra d'une part être intégré au microsystème pour améliorer le transfert du signal, et d'autre part, accorder et adapter l'antenne à l'intérieur du spectromètre à la fréquence de Larmor des protons (500MHz).

Bibliographie

1. Hill, H.D.W., Richards, R. E., *Limits of measurement in magnetic resonance.* Journal of Physics E Scientific Instruments, 1968. **1**: p. 977-983.

2. D. Hoult, R.R., *the signal to noise ratio of the nuclear magnetic resonance experiment.* Journal of Magnetic Resonance, 1976. **24**: p. 71-85.

3. Massin, C., et al., *High-Q factor RF planar microcoils for micro-scale NMR spectroscopy.* Sensors and Actuators a-Physical, 2002. **97-8**: p. 280-288.

4. Webb, A.G. and S.C. Grant, *Signal-to-noise and magnetic susceptibility trade-offs in solenoidal microcoils for NMR.* Journal of Magnetic Resonance Series B, 1996. **113**(1): p. 83-87.

5. Abragam, A., *The principles of Nuclear Magnetism.* Clarendon Press, Oxford, 1961.

6. Webb, A.G., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.* 1997. **31**: p. 1-42.

7. Peck, T.L., et al., *Nmr Microspectroscopy Using 100-Mu-M Planar Rf-Coils Fabricated on Gallium-Arsenide Substrates.* Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 1994. **41**(7): p. 706-709.

8. Mohan, S.S., et al., *Simple accurate expressions for planar spiral inductances.* Ieee Journal of Solid-State Circuits, 1999. **34**(10): p. 1419-1424.

9. Subramanian, R., M.M. Lam, and A.G. Webb, *RF microcoil design for practical NMR of mass-limited samples.* Journal of Magnetic Resonance, 1998. **133**(1): p. 227-231.

10. Peck, T.L., R.L. Magin, and P.C. Lauterbur, *Design and Analysis of Microcoils for Nmr Microscopy.* Journal of Magnetic Resonance Series B, 1995. **108**(2): p. 114-124.

11. Heaviside, O., *Electromagnetic induction and its propagation.* The Electrician, 1885, 1886 and 1887.

12. Terman, F.E., *Radio Engineers' Handbook.* McGraw-Hill, 1943.

13. Wang J., R.A., and Dickas, *Calculation of the signal-to-noise ratio for simple surface coils and arrays of coils.* IEEE Trans. Biomed. Eng., 1995. **42(9)**: p. 908-917.

14. Decorps, M., et al., *An Inductively Coupled, Series-Tuned Nmr Probe.* Journal of Magnetic Resonance, 1985. **65**(1): p. 100-109.

15. Chen, C.N. and D.I. Hoult, *The Visualization of Rf Probe Electric-Fields.* Magnetic Resonance in Medicine, 1993. **29**(3): p. 386-390.

16. Terman, J.E., *Radioengineer's Handbook.* 1st. ed., New york: Mc Graw Hill, 1943.

17. Massin, C., et al., *Planar microcoil-based microfluidic NMR probes.* Journal of Magnetic Resonance, 2003. **164**(2): p. 242-255.

18. Olson, D.L., et al., *High-Resolution Microcoil H-1-Nmr for Mass-Limited, Nanoliter-Volume Samples.* Science, 1995. **270**(5244): p. 1967-1970.

19. Stocker, J.E., et al., *Nanoliter volume, high-resolution NMR microspectroscopy using a 60-mu m planar microcoil.* Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 1997. **44**(11): p. 1122-1127.

20. Peck, T.L., and al, *Application of planar microcoils fabricated on glass substrates to NMR microspectroscopy.* Proceedings of the 17th international Conference of the engineering in medecin and biology society, Montreal, Que., 1995. **september 20-23**: p. 1547-1548.

21. Rigaud B. , M.J.P., Chauveau N., *Bioelectrical impedance techniques in medecine. Part I: Bioimpedance measurement. Second section: Impedance spectrometry.* Critical Reviews in Biomedical Enineering, 1996. **24**(4-6): p. 257-351.

22. Bao J. Z. , D.C.C., Schmukler R. E., *Impedance spectroscopy of erythrocytes: System calibration and nonlinear modeling.* Ieee Transactions on Biomedical Engineering, 1993. **40**(4): p. 364-378.

23. Dechow, J., et al., *Fabrication of NMR - microsensors for nanoliter sample volumes.* Microelectronic Engineering, 2000. **53**(1-4): p. 517-519.

CHAPITRE III Réalisation du microsystème pour la spectroscopie par RMN

Sommaire :

1 Introduction

2 Fabrication de microantennes planaires sur substrat polymère

3 Fabrication du système microfluidique par Hot Embossing

4 Fabrication du microsystème complet

5 Essais et évaluation des performances des microsystèmes réalisés

1 Introduction

Dans le chapitre précédent a été présenté l'outil informatique développé sous COMSOL® permettant de déterminer les paramètres géométriques optimaux d'une microantenne planaire destinée à la spectroscopie d'un échantillon de 100nL. Ce nouveau chapitre va permettre de présenter les procédés de micro fabrication qui ont été développés afin de réaliser l'antenne et le réseau microfluidique qui lui est associé et devant pouvoir fonctionner dans un spectromètre RMN utilisant un champ de 11,74T. L'originalité de ces travaux réside dans l'utilisation d'un polymère pour fabriquer ce dispositif d'analyse.

Les polymères présentent certains avantages par rapport à d'autres matériaux issus de l'industrie de la microélectronique et classiquement mis en œuvre pour la réalisation de microsystèmes. En effet, les polymères sont moins coûteux que le silicium par exemple et peuvent reproduire des microstructures de très faibles résolutions à partir de moules micro-structurés. Un procédé a été développé au laboratoire permettant de fabriquer un système microfluidique à base d'un polymère rigide, le Cyclique Oléfine Copolymère ou COC par pressage à chaud. Ce thermoplastique de haute performance présente des propriétés très intéressantes pour la rétention de produit chimique.

- Il est rigide, même pour de très fine épaisseur,
- isolant,
- transparent,
- non poreux,
- bonne résistance aux produits chimiques tels que les solvants (acétone, éthanol, méthanol).
- façonnable par pressage à chaud, la transition vitreuse du COC utilisé pour notre dispositif est de 120°C.

Ainsi, le COC sera le matériau de base des dispositifs que l'on souhaite réaliser au cours de ce chapitre.

Dans ce chapitre, nous commencerons donc par expliquer les procédés mis au point afin de fabriquer une microantenne planaire en cuivre sur un substrat en COC par LIGA UV. Les techniques de photolithographie UV et d'électrodéposition seront développées et appliquées à notre cas d'étude.

Ensuite, la réalisation d'un système microfluidique à base de COC sera présentée. Pour ce faire, la technique de hot embossing, pressage à chaud, sera utilisée afin de créer des structures dans ce polymère à l'aide d'un moule.

Puis, nous utiliserons le microsystème fluidique à base de COC afin de fabriquer des dispositifs capables de fonctionner en Spectroscopie par RMN. Le premier objectif sera de fabriquer l'antenne planaire au plus proche de l'échantillon et le deuxième consistera à concevoir un circuit électrique intégré aux dispositifs permettant d'accorder l'antenne à la fréquence de Larmor des protons dans le spectromètre mis à notre disposition (500MHz) et de l'adapter sur une impédance de 50Ω.

Enfin, nous comparerons les spectres obtenus expérimentalement avec ces dispositifs et calculerons pour chacun le rapport signal sur bruit et la limite de détection.

2 Fabrication de microantennes planaires sur substrat polymère

Comme cela a été démontré dans le chapitre II, il est nécessaire que les microantennes planaires présentent une résistance électrique aussi faible que possible. C'est pourquoi il a été choisi de les réaliser en cuivre (le choix de l'argent n'aurait pas apporté une amélioration significative pour un surcoût important). Par ailleurs, les antennes réalisées doivent présenter une épaisseur de plusieurs dizaines de micromètres. Pour notre application, une épaisseur de 40µm est souhaitée, une épaisseur supérieure n'apportant pas d'amélioration significative du facteur de qualité de l'antenne.

La réalisation de microstructures métalliques présentant des épaisseurs aussi importantes peut être obtenue grâce à la technique LIGA-UV (Lithographie, Galvoformung und Abformung, électrodéposition et moulage). Après avoir rappelé brièvement le principe de cette méthode occupant une place importante dans l'arsenal des techniques de fabrication des microsystèmes, nous exposerons le procédé que nous avons développé, basé sur cette technique, pour réaliser des microantennes planaires sur un substrat en polymère (COC). L'utilisation d'un substrat de ce type constitue une originalité du travail présenté ici.

2.1 Procédé LIGA-UV

Les étapes du procédé LIGA-UV sont représentées figure III-1.

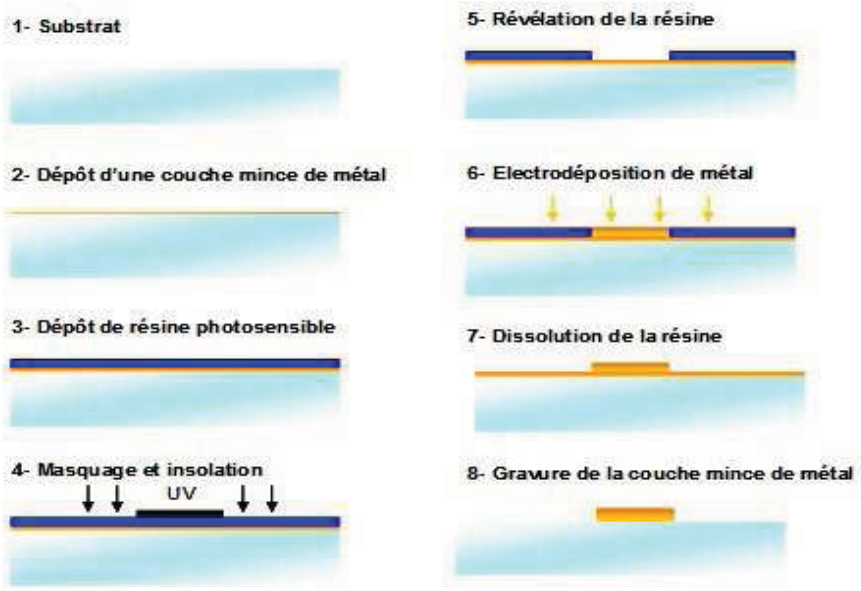


Figure III-1 : Etapes de fabrication des microantennes planaires par électrodéposition de cuivre sur le COC

Le procédé LIGA consiste à réaliser par lithographie des microstructures sur une surface conductrice. Cette surface conductrice peut être réalisée par déposition d'une couche mince de métal si le substrat n'est pas conducteur.

Ensuite une étape de lithographie utilisant une résine photosensible, un masque et un rayonnement UV permet de définir les motifs des microstructures. La largeur et l'épaisseur des microstructures déterminent l'épaisseur de la résine déposée. Les motifs sont développés chimiquement pour l'étape d'électrodéposition.

Puis l'électrodéposition de métal est réalisée. Le métal est électro-déposé dans les microstructures développées précédemment sur toute l'épaisseur de la couche de résine subsistante.

Enfin, l'élimination de la résine après l'électrodéposition révèle les microstructures métalliques sur la surface.

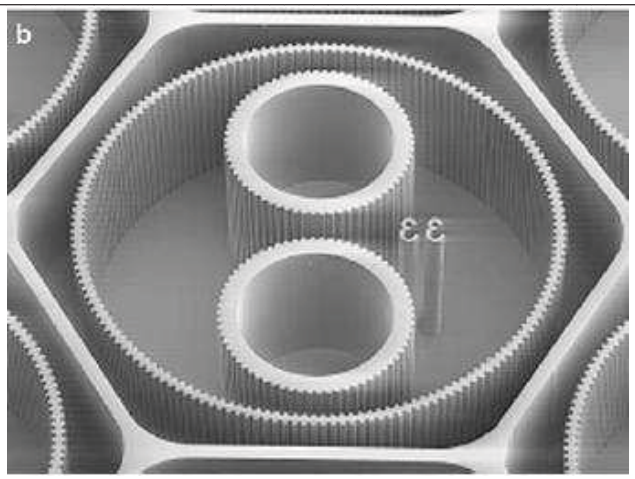


Figure III-2 : Photographie au MEB d'engrenages de taille micrométrique réalisés par LIGA UV [1]

Ce procédé permettant d'obtenir des microsystèmes métalliques en couche épaisse est classiquement mis en œuvre sur un substrat de silicium. Suivant l'application, le microsystème peut être libéré de ce substrat après fabrication ou au contraire en rester solidaire. Pour notre application, nous avons modifié ce procédé afin de l'adapter à la réalisation de microantennes sur un substrat non conventionnel puisque le silicium est remplacé par le cyclo olefin copolymer (COC) déjà présenté en introduction.

2.2 Métallisation du substrat polymère

Le procédé LIGA-UV nécessite que le substrat de fabrication soit conducteur. Cette contrainte est imposée par l'étape de dépôt électrolytique de la couche métallique épaisse où le substrat va devenir la cathode de la cellule électrochimique. Par ailleurs, il faut que le métal déposé à la surface du substrat puisse y adhérer. Pour ces raisons, le substrat polymère en COC que nous utilisons doit être préalablement traité par dépôt d'une couche mince métallique. Cette couche, qui va servir à faire « croitre » le cuivre des antennes pendant la phase de dépôt est généralement désigné sous le nom de « seed layer ». Dans la suite de ce manuscrit, nous parlerons plutôt de plan de masse.

Le dépôt d'une couche mince, c'est-à-dire de quelques dizaines à quelques centaines de nanomètres d'épaisseur, à la surface d'un substrat peut se faire en suivant divers procédés (évaporation par effet joule, évaporation par canon à électrons, sputtering). Nous avons réalisé nos essais de métallisation de COC sur un bâti d'évaporation par canon à électrons (EVA 300,

Alliance Concept). Lors de la métallisation d'un substrat plus classique comme le silicium ou le verre, il est généralement nécessaire de déposer une première couche, dite couche d'accroche, de titane ou de chrome. Cette couche permet d'assurer une bonne adhésion du métal souhaité déposé dans une seconde étape d'évaporation.

Pour un substrat en polymère, on peut supposer que l'interaction du métal déposé par évaporation avec la surface du substrat est très différente de celle observée avec un substrat en silicium par exemple. Des essais ont donc été réalisés en déposant d'abord directement sur la surface du polymère une couche de 200nm de cuivre afin d'observer son adhérence. Nous ne disposons pas des moyens permettant de caractériser quantitativement la force d'adhérence. Cependant, un test qualitatif couramment employé consiste à simplement coller sur la couche mince un morceau de ruban adhésif, type Scotch®, puis de l'arracher. Si le métal ne vient pas avec le ruban adhésif, alors on peut conclure à une bonne qualité d'adhésion. Bien que rudimentaire, ce test est suffisant pour notre application car les antennes n'auront pas de stress mécanique à supporter en dehors de leur manipulation courante pendant les expériences de spectroscopie. Le résultat de l'évaporation d'une couche de 200nm de cuivre directement sur un substrat en COC montre que l'adhérence du cuivre est faible, celui-ci ayant tendance par endroit à se décoller presque spontanément. Par contre ce premier essai permet de vérifier que l'échauffement subit par le polymère lors de l'évaporation reste inférieur a son point de transition vitreuse (120°C pour le COC zeonor1020R que nous avons utilisé).

Un nouvel essai avec cette fois l'évaporation d'une couche de 50nm de titane puis d'une couche de 200nm de cuivre démontre cette fois une très bonne qualité d'adhérence, le « test du Scotch » étant passé avec succès. Cette couche mince sur laquelle les antennes seront réalisées devrait assurer la tenue mécanique nécessaire lors des prochaines étapes de fabrication ainsi que lors de l'utilisation du microsystème pendant les expériences de spectroscopie.

2.3 Création du moule d'électrodéposition par photolithographie UV

Le procédé de fabrication LIGA-UV nécessite la réalisation d'un micro-moule, produit à la surface du substrat métallisé. C'est en remplissant les zones creuses de ce moule par du métal déposé électrolytiquement que les microstructures, ici des antennes, sont produites. Le

principe de production de ce micro-moule est celui de la photolithographie UV. Cette technique provient de l'industrie des semi conducteurs [2-7] et est sans conteste la méthode la plus répandue de micro-structuration planaire. Le principe de cette méthode est d'abord brièvement rappelé dans le paragraphe suivant avant que ne soit exposée sont application dans le cadre de notre projet.

2.3.1 Principe de la photolithographie UV

La photolithographie UV est basée sur l'emploi de polymères dont la solubilité dans un solvant ad-hoc est modifiée par exposition à un rayonnement ultra-violet. Ces résines (terme générique habituellement utilisé pour désigner les polymères de photolithographie), se présentent le plus généralement sous forme liquide et sont disponibles dans une grande gamme de viscosité. Les résines les plus fluides sont destinées à la réalisation de structures photolithographiées minces (de quelques dizaines de nanomètres à quelques microns). Pour la réalisation de structures plus épaisses, allant de quelques dizaines à quelques centaines de microns (bien que des épaisseurs au delà de la centaine de microns soient nettement plus rarement réalisées et difficiles à obtenir), des résines très visqueuses doivent être employées. Une résine phare dans cette gamme d'épaisseur est la SU-8 (Microchem) disponible dans une grande gamme de viscosités et permettant de réaliser couramment des structures de 100µm d'épaisseur (SU-8-2100). Le dépôt de ces résines sous forme de film à la surface du substrat est effectué par centrifugation à l'aide d'une tournette (spin-coating): Un volume de résine est déposé au centre du substrat qui est alors mis en rotation. La viscosité de la résine, la vitesse de rotation, la durée de centrifugation et l'accélération lors de la mise en rotation conditionnent l'épaisseur du film obtenu.

Après avoir été étalée sur le substrat, la résine est cuite afin d'en faire évaporer les solvants, un film solide est alors obtenu. Certaines résines épaisses, comme le SU-8, nécessite que la montée en température et le refroidissement de cette étape de cuisse se fassent en respectant des rampes de changement de température très douces afin d'éviter la création de stress mécaniques pouvant entrainer l'apparition de fissures dans la résine.

Afin de pouvoir structurer la couche de résine, il est alors procédé à la phase d'insolation UV au travers d'un masque (figure III-3). Les zones opaques du masque permettent de protéger certaines zones de l'irradiation. Ces masques sont réalisés par

lithographie électronique d'une couche de chrome sur un substrat en verre ou en quartz, le choix étant imposé par la longueur d'onde du rayonnement UV utilisé.

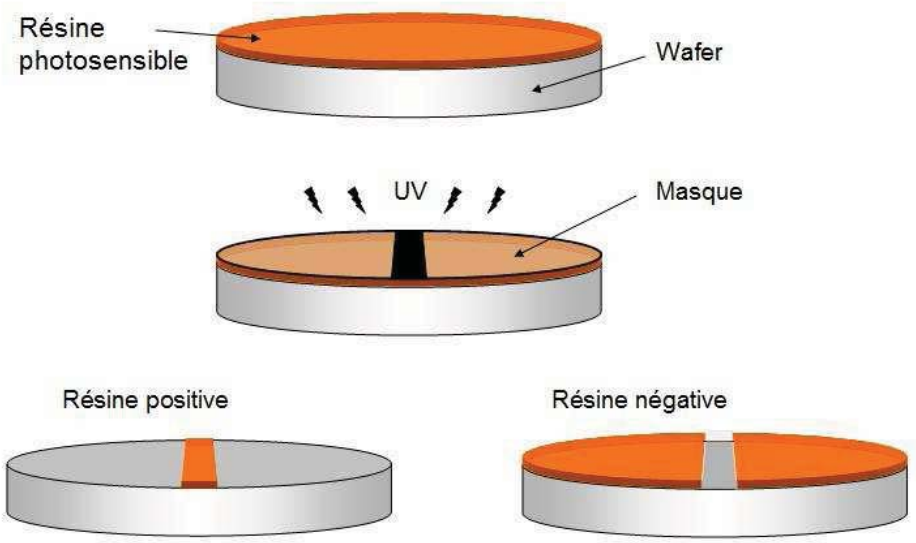


Figure III-3 : Procédés de photolithographie UV fonctionnant pour une résine photosensible négative et positive

En fonction du processus photochimique mis en œuvre, les résines photosensibles peuvent être classées en deux catégories suivant leur sensibilité, positive ou négative. Dans le cas d'une résine positive, les chaines polymères exposées au rayonnement UV sont brisées ce qui les rends plus facilement solubles. Dans le cas d'une résine négative, l'exposition au rayonnement UV entraine une réticulation du polymère ce qui en réduit la solubilité. Lors de la phase de révélation, la résine irradiée au travers du masque est plongée dans un bain du révélateur ad-hoc au cours duquel les parties solubles de la résine sont dissoutes faisant ainsi apparaître les structures photolithographiées (figure III-3).

2.3.2 Résine sèche Ethertec HQ-6100

La première étape consiste à appliquer une couche de résine photosensible sur toute la surface de la couche de cuivre recouvrant le COC. La résine sèche Ethertec HQ-6100 a été choisie dans le cadre de notre projet puisqu'elle présente une résolution suffisante par rapport aux dimensions espérées des microantennes et qu'elle ne nécessite pas l'emploi de solvant susceptible d'attaquer le COC. En effet, elle est révélée au carbonate de sodium et peut être

dissoute à l'éthanol et l'acétone qui n'interagissent pas avec le COC. Ce film transparent d'épaisseur 35µm est appliqué sur le cuivre par laminage à chaud ce qui permet une adhésion forte à la surface du cuivre. De plus, des travaux importants ont été effectués au laboratoire sur la fabrication de micros systèmes à base d'Ethertec HQ-6100, l'utilisation de cette résine est maitrisée.

En parallèle, le masque définissant les structures de l'antenne planaire est dessiné avec un logiciel de dessin, (figure III-4). Les structures de la microantenne planaire définies au chapitre II, ont des dimensions de 150 µm ce qui nous permet, pour de telles résolutions, d'utiliser des masques obtenus par flashage de films transparents avec une imprimante à haute résolution (3800 dpi). Bien que limitée à la production de structures d'au moins 20 ou 30µm, cette approche présente l'intérêt de l'économie (quelques euros par masque) et de la rapidité de mise en œuvre, le délai de fabrication étant quasiment nul.

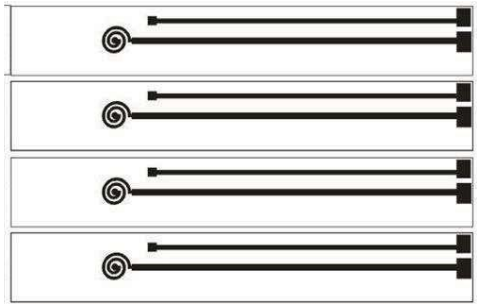


Figure III-4 : Dessin sous le logiciel COREL DRAW des antennes planaires reproduites sur le masque par flashage

Ensuite, le microsystème et le masque sont placés dans un aligneur, constitué d'une lampe à mercure créant des UV et d'un système de positionnement par observation avec une binoculaire.

Le temps d'exposition à l'UV dépend de plusieurs paramètres : l'irradiation optimale de la résine, la puissance par unité de surface de la lampe, l'épaisseur de résine et le temps d'insolation. En effet, l'utilisation de l'Ethertec HQ-6100 requiert l'optimisation de la dose d'irradiation. Cette durée varie essentiellement en fonction de l'épaisseur de la résine. Ces paramètres optimums ont été déterminés au laboratoire grâce aux tests multiples effectués sur l'Ethertec avec des structures de différentes épaisseurs et différents substrats. Les durées d'irradiation optimales ont donc été définies au laboratoire : la résine doit être irradiée pendant une durée, d, qui est fonction de l'épaisseur de résine (e) : $d = 9.4 + 0.34\ e$, $dirr$ est exprimée en mJ / cm^2 et e en μm [8].

- La lampe à mercure du laboratoire, qui produit les UV, fournit une puissance de 5mW / cm^2
- Deux couches de résines sèches ont été empilées afin d'obtenir une épaisseur de moule de 70µm de profondeur. Il faut en effet, que le moule soit significativement plus profond que l'épaisseur des structures à électro-déposer.

Finalement, le temps optimal d'insolation d'une épaisseur de 70µm d'Ethertec HQ-6100 a été trouvé, nous insolons la couche de résine à travers le masque pendant 6 secondes.

Enfin, l'Ethertec HQ-6100 est révélée au carbonate de sodium, celui-ci étant dilué à 1% et mis à température de 30°C. Cette résine étant négative, la partie non irradiée est dissoute et la partie insolée durcit. La durée de développement dure environ 3 minutes pour une structure d'épaisseur 35 µm.

Finalement, les parties développées laissent le cuivre à nu et l'électrodéposition de cuivre peut s'appliquer dans ces zones. C'est pourquoi, les zones opaques du masque définissent les antennes planaires, (figure III-4).

2.4 Electrodéposition de cuivre

2.4.1 Principe

Les procédés classiques de la microélectronique permettant de déposer des couches métalliques sont limités à des épaisseurs très faibles, au plus quelques centaines de nanomètres. Pour réaliser les antennes de notre microsystème, il est nécessaire de pouvoir déposer des couches métalliques de l'ordre de quelques dizaines de micromètres d'épaisseur afin de limiter les pertes ohmiques de l'antenne. La réalisation de structures épaisses (par opposition à ce qui est communément appelé « les couches minces ») est donc dans notre cas un facteur indispensable à l'obtention d'antennes aussi performantes que possible.

En microfabrication, l'obtention de couches épaisses est obtenue par dépôt électrolytique du métal souhaité, à savoir le cuivre pour notre application. Le substrat en COC préalablement métallisé par évaporation d'une couche mince de Ti/Cu devient alors une des électrodes (la cathode) d'une cellule de dépôt électrolytique (figure III-5).

On rappelle ici brièvement qu'une cellule de dépôt électrolytique comporte :

- une anode constituée du métal à déposer. Ici, une plaque de cuivre de 150mm x 150mm x 5mm a été utilisée (cuivre sans oxygène, Goodfellow),
- une cathode, représentant la surface à métalliser,
- un électrolyte, assurant la migration des ions
- un générateur de tension permettant d'imposer un courant entre cathode et anode au travers de l'électrolyte.

Lorsqu'un courant est imposé, on observe aux deux électrodes les réactions :

À la cathode : $Cu^{2+} + 2e^- \longrightarrow Cu$

À l'anode : $Cu \longrightarrow Cu^{2+} + 2e^-$

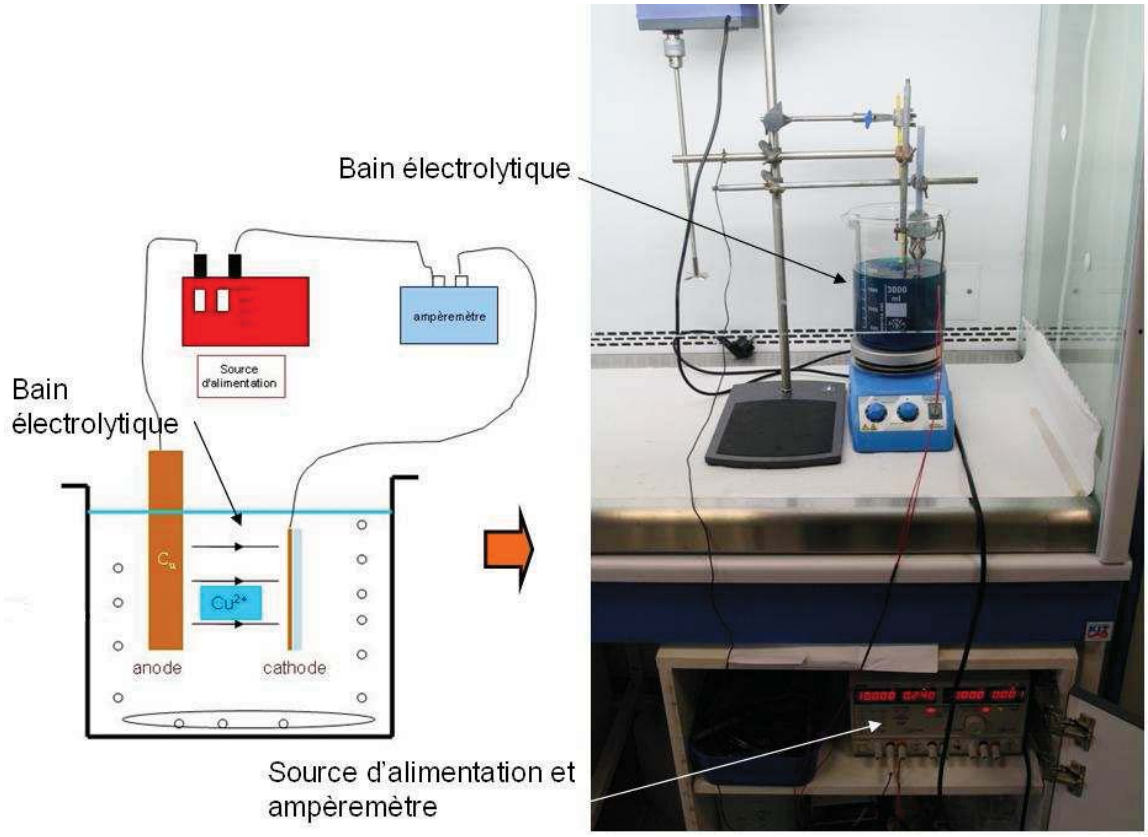


Figure III-5 : Schéma expérimental et photographie prise lors de la manipulation l'électrodéposition de cuivre dans un bain électrolytique acide

La formulation du bain a un impact très important sur la qualité de l'état de surface du dépôt obtenu. Un bon état de surface ne peut être obtenu qu'en incluant dans formulation des agents mouillant permettant de maitriser la qualité du dépôt à petite et moyenne échelle. A petite échelle, l'obtention d'un dépôt à granularité très fine est obtenu avec un adjuvant dit agent brillanteur. A plus grand échelle, un adjuvant dit agent nivelant, permet de corriger les dépôts ayant un défaut d'aspect semblable à de la peau d'orange. La formulation du bain doit être optimisée en fonction des adjuvants utilisés. Nous avons pris pour point de départ les adjuvants et la formulation du bain industriel d'électrodéposition de cuivre commercialisé par la société PROLECTRO (http://www.prolectro.com) sous le nom de procédé RUBIN®.

En plus de la concentration en adjuvant, la température, la densité de courant et l'agitation sont également des paramètres importants pour l'obtention d'un bon état de surface. Lors de la phase de mise au point du procédé d'électrodéposition, l'ensemble de ces paramètres doivent être ajustés. La mesure du pH peut également être effectuée afin de vérifier l'évolution de la concentration en sulfate de cuivre résultant de l'évaporation du bain. Dans notre cas le bain sera remplacé souvent et cette mesure ne sera donc pas faite.

2.4.2 Montage du bain

Le montage du bain initial a été effectué en suivant le protocole suivant pour un litre :

1) Verser environ 0.5 L d'eau déminéralisée dans une cuve de mélange.

2) Ajouter 32 mL d'acide sulfurique H_2SO_4.

3) Dissoudre 220 g de sulfate de cuivre $CuSO_4$, dans la solution diluée d'acide sulfurique et compléter avec de l'eau afin d'obtenir 1 L de solution. Agiter jusqu'à dissolution complète.

4) Rajouter 200 µL d'acide chlorhydrique HCl à cette solution.

5) Verser 2 g de charbon actif. Le charbon actif permet l'élimination des substances organiques. Laisser le système d'agitation opérer pendant 30 min.

6) Filtrer le charbon actif (2 fois si nécessaire).

7) Ajouter alors, en suivant l'ordre ci-dessous :

- 2 mL de solution de montage du bain Rubin T-200 A,
- 1 mL d'agent brillanteur Rubin T-200 G

2.4.3 Optimisation des paramètres de dépôt électrolytique

L'optimisation du bain a tout d'abord été effectuée en cherchant à optimiser la densité de courant à la cathode et la température tout en conservant la formulation initiale du bain.

D'après les éléments obtenus auprès de la société PROLECTRO, on sait qu'à priori :

- la température doit être quant à elle comprise entre 17°C et 35°C.
- la densité de courant à la cathode doit être comprise entre 1A/dm^2 et 5 A/dm^2.

Industriellement, l'agitation est réalisée par un système de bullage, ce qui permet d'agiter de gros volumes. Dans notre cas, un agitateur magnétique est utilisé. Il est difficile de quantifier l'agitation. Nous nous contenterons de dire que la vitesse de rotation de l'agitateur et le choix du barreau magnétique ont été choisi de telle sorte à produire une agitation assez vigoureuse pour assurer un renouvellement rapide des espèces chimiques à la surface de la cathode.

Les premiers essais ont été réalisés avec une densité de courant de 5 A/dm2. Afin d'être indépendant des variations de température ambiante (quelque soit la saison), une température de bain de 30°C a été choisie. Un wafer en silicium préalablement métallisé par évaporation de 50nm de titane puis de 200nm de cuivre est utilisé comme cathode. Avec ces paramètres, un dépôt très terne a été obtenu, traduisant un mauvais état de surface à petite échelle (figure III-6). Des défauts à plus grande échelle de type « peau d'orange » ont été également observés.

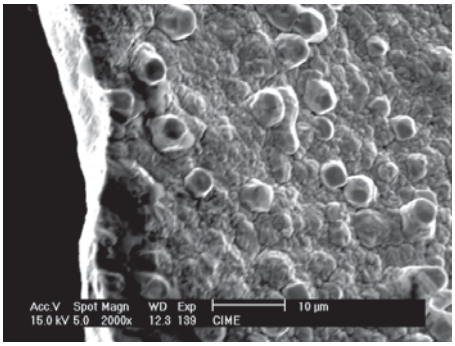


Figure III-6 : Défauts de surface de type peau d'orange observés au MEB

De très nombreux essais ont alors été réalisés afin d'optimiser la densité de courant, la température et la concentration en adjuvants. Dans la gamme allant de 25°C à 30°C, la température ne semble pas être un facteur influant significativement la qualité du dépôt. Par

contre, la densité de courant et la concentration en adjuvants sont des paramètres essentiels. Nous avons finalement trouvé un point de fonctionnement optimal avec les paramètres récapitulés dans le tableau III-1 pour lesquels un excellent état de surface est obtenu, même si ponctuellement des défauts subsistent comme le montre la figure III-7. La présence de ces défauts locaux implique que sur l'ensemble des structures réalisées simultanément, un certain nombre d'entre elles ne seront pas opérationnelles. La densité de défauts observés est cependant suffisamment faible pour ne pas être rédhibitoire et l'optimisation du bain est considérée comme achevée.

Paramètres optimisés	
Température	25℃ à 30℃
Densité courant	2 A/dm2 à 3 A/dm2
Rubin T-200 A	2 mL/L
Rubin T-200 G	8 mL/L
Rubin T-200 E	2 mL/L

Tableau III-1 : Paramètres quantitatifs d'adjuvant

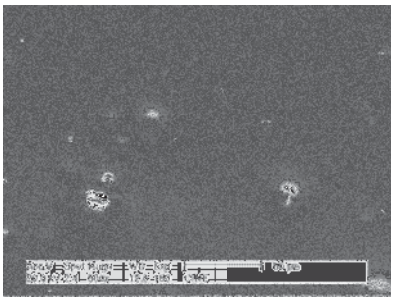


Figure III-7 : Observation au MEB de l'état de surface après optimisation du bain

2.4.4 Vitesse de dépôt

En première approximation, le nombre d'ions Cu^{2+} réduits à la surface de la cathode est fixé par le courant circulant entre les électrodes, il est donc simple de déterminer la relation liant la densité de courant (à la cathode) à l'épaisseur déposée au cours du temps (relation III-1)

$$e = \frac{1}{n \cdot 96485} \cdot \frac{M_{Cu}}{Mv_{Cu}} \cdot t \cdot d = 3.689 \cdot 10^{-11} \cdot d \cdot t \qquad \textbf{III-1}$$

avec e l'épaisseur déposée, M_{Cu} la masse molaire du cuivre (63,5 g/mol), Mv_{Cu} la masse volumique du cuivre (8920 kg/m^3), n la valence des ions Cu^{2+} (donc n=2), d la densité de courant (en A/m^2), t la durée de dépôt (en s). Avec une densité de courant de 1 A/m^2, la vitesse de dépôt théorique est donc de 0,22µm/min.

En pratique il est nécessaire de prendre en compte le rendement du bain, qui dépend des conditions de dépôt, ainsi que la variation locale de la densité de courant. Ce dernier point est particulièrement important dans notre cas où de telles variations sont inévitables. En effet,

nous avons déjà vu que certaines zones de la cathode sont protégées par une couche de résine (structurée par photolithographie) afin d'éviter localement la formation du dépôt de cuivre. C'est de cette manière que la géométrie des structures métalliques à réaliser par électrodéposition est définie. En général, toutes les zones ouvertes dans la résine ne présentent pas toutes les mêmes dimensions (par exemple pour nos antennes, toutes les pistes ne sont pas de la même largeur). Comme le montre le figure III-8, la densité locale de courant n'est alors pas non plus la même au niveau de chaque ouverture de résine. Il en résulte des vitesses de dépôt différentes. L'observation expérimentale de la vitesse de croissance des structures est donc nécessaire et doit être effectuée à chaque fois que les dimensions ainsi que la géométrie des structures à réaliser sont modifiées.

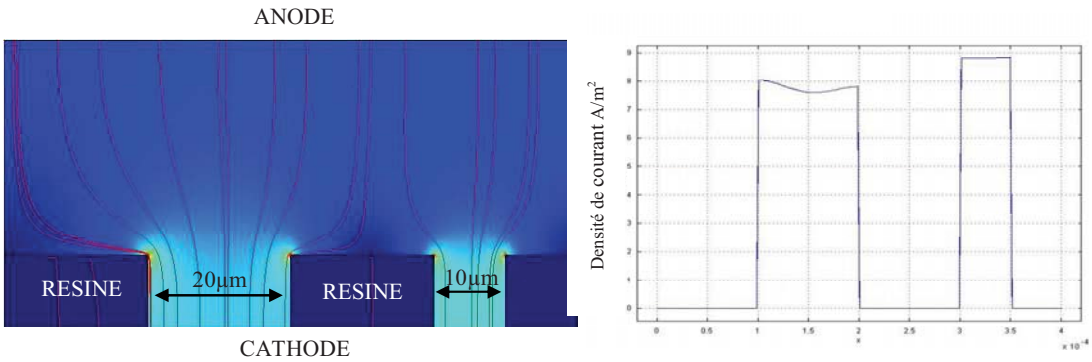


Figure III-8 : A gauche : lignes de courant au niveau de 2 ouvertures de résine de largeurs différentes. A droite : Profil de densité de courant à la surface de la cathode.

La figure III-8 met également en évidence le fait que la densité de courant présente des variations au sein même des ouvertures de résine. Le profil de vitesse de dépôt résultant est affecté par la largeur de l'ouverture (sur la figure III-7 la vitesse de dépôt sera moins uniforme pour l'ouverture large de gauche que pour l'ouverture plus étroite de droite) mais aussi par les éventuels défauts de verticalité des flancs de résine. Ces défauts de verticalité sont fréquemment observés, surtout lorsque l'épaisseur de résine lithographiée est importante, comme c'est le cas ici. Cette variation du profil de vitesse de dépôt dans les ouvertures de résine peut se traduire par un défaut de planéité des structures métalliques obtenues. Il est généralement possible d'avoir une action sur ce type de défauts par l'intermédiaire des adjuvants.

2.4.5 Antennes réalisées par électrodéposition

Au chapitre II, nous avons utilisé des antennes planaires servant de référence afin de vérifier les résultats produits par le modèle numérique que nous avons développé. Ces antennes ont été les premières structures que nous avons réalisées par dépôt électrolytique et nous ne les représenterons pas ici.

L'objectif final de cette étape de microfabrication est de parvenir à réaliser des antennes planaires sur un substrat en COC. Nous avons déjà démontré que la métallisation par évaporation d'une couche de Ti/Cu (respectivement 50nm et 200nm) sur ce polymère permettait d'obtenir une surface conductrice avec une très bonne accroche. Cette couche est donc tout à fait adapté pour servir de couche de croissante électrolytique (on parle de « seed layer »).

Après avoir métallisé un substrat en COC, un moule d'électrodéposition a été réalisé par photolithographie de deux couches de résine sèche Ethertec HQ-6100. Le moule présente alors une profondeur de 70µm ce qui est suffisant, l'épaisseur de cuivre désirée étant d'environ 40µm. Les premiers essais ont permis de mesurer une vitesse de dépôt de 0,4 µm/min au niveau des spires des antennes pour une densité de courant moyenne à la cathode de 2 A/dm2. Après 110 minutes de dépôts, des spires de 45µm d'épaisseur sont ainsi obtenues (figure III-9).

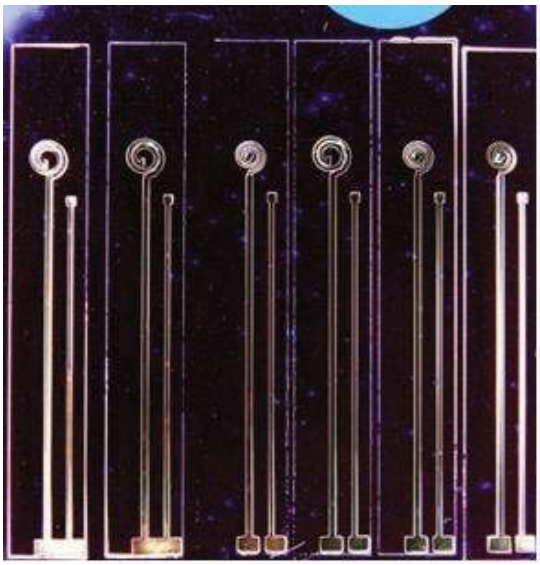


Figure III-9 : Photographie des antennes après électrodéposition de cuivre dans les motifs de la résine.

La planéité du dépôt (figure III-10) et son état de surface (figure III-11) sont observés au microscope électronique à balayage.

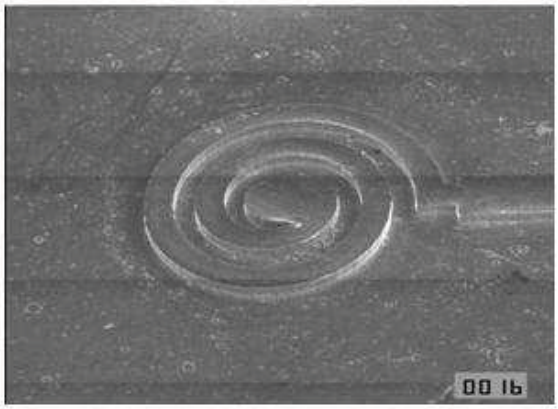


Figure III-10 Photographie au MEB de la microantenne grandit 35 fois

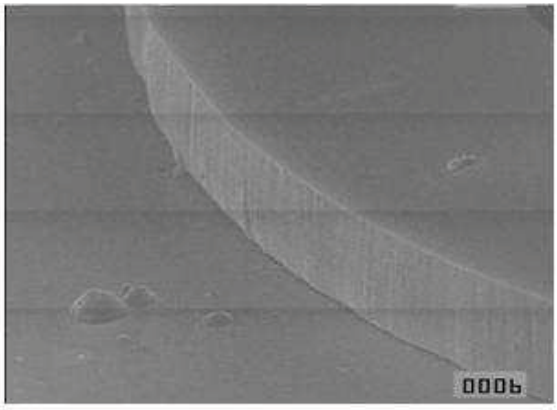


Figure III-11 Photographie au MEB d'un bord de la microantenne grandit 350 fois

Ces observations montrent qu'il n'y a pas de défaut de planéité significatif pour notre application. L'état de surface est également excellent avec une granularité très fine que nous n'avons cependant pas caractérisée quantitativement.

Pour finaliser la fabrication des antennes, il ne reste plus qu'à :

- éliminer le moule en résine sèche dans un bain d'acétone. L'excellente résistance du COC à de nombreux solvants organiques permet de réaliser cette étape sans difficulté. Une assistance aux ultrasons permet de dissoudre plus facilement les zones de résine difficiles d'accès, principalement entre les spires.

- éliminer la couche mince de Ti/Cu initialement protégée par la résine et qui maintenant court-circuite les spires de l'antenne. Le cuivre a été attaqué par une solution de perchlorure de fer fortement diluée afin de réduire sa vitesse de gravure. Cette méthode de gravure humide n'est possible ici que parce que la couche à enlever est très fine (200nm) par rapport à celle formant l'antenne (45µm). Le titane est également attaqué par gravure humide dans un bain d'acide hydro-fluorhydrique.

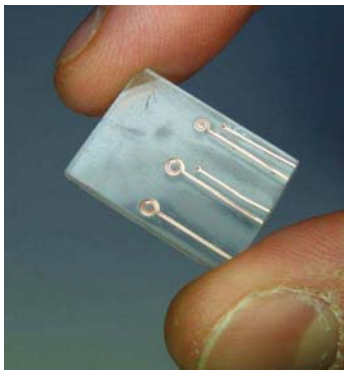


Figure III-12 : Photographie de trois antennes fabriquées sur un substrat en COC

3 Fabrication du système microfluidique par Hot Embossing

L'étape essentielle pour la réalisation d'un système microfluidique consiste en la réalisation de microcanaux. Ce paragraphe se propose d'en présenter le matériau employé et les méthodes de fabrication, plus particulièrement la technique de hot embossing.

3.1 Principe de Hot Embossing

Le hot embossing est une technique de micro fabrication [9-14] mettant en œuvre plusieurs procédés de fabrication permettant de réaliser des systèmes microfluidiques avec des thermoplastiques. Le hot embossing consiste à répliquer des microstructures, présentent à la surface d'un moule, dans un thermoplastique ou un polymère.

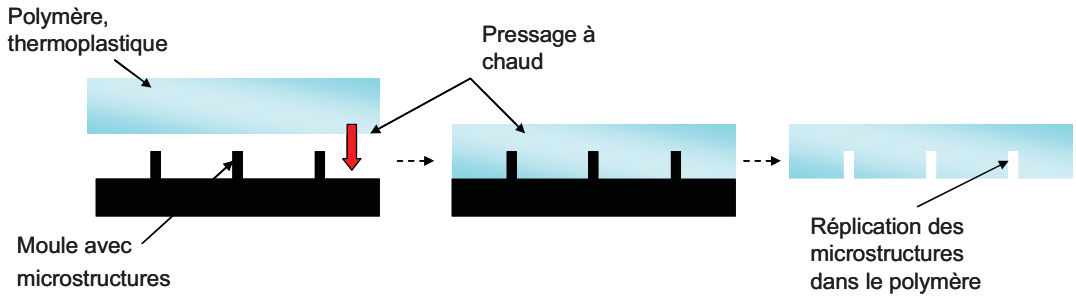


Figure III-13 : Schéma représentant le principe général de Hot Embossing

Dans le cas des substrats en polymère, le moulage doit se faire à une température contrôlée, légèrement supérieure au point de transition vitreuse, et sous pression [15]. Pour se faire une presse chauffante est utilisée, capable d'appliquer des pressions et des températures régulées. Le polymère est donc pressé contre un moule micro-structuré pendant une courte durée pour qu'il prenne bien la forme du moule. Le thermoplastique ainsi moulé est refroidi à température ambiante, phase au cours de laquelle il durcit. Enfin, le polymère est séparé du moule. Notons ici que cette méthode de fabrication présente de nombreux avantages, en effet elle permet de fabriquer des structures de facteur d'aspect élevé, les polymères utilisés ont des surfaces compatibles avec la biologie et sont des matériaux peu onéreux par rapport aux wafers de silicium et de verre, et les procédés de réalisation sont assez rapides (de l'ordre de la demi heure pour créer des canaux [16]).

Pour utiliser cette technique sur un thermoplastique tel que le COC, il faut connaitre sa température de transition vitreuse qui dépend du type de COC mis à notre disposition. Quelques propriétés de COC ZEONOR sont données dans le tableau III-2.

Propriétés	750R	1020R	1060R	1420R	*1600*
Masse volumique (g/cm^3)	1.01	1.01	1.01	1.01	*1.01*
Température de transition vitreuse (°C)	70	105	100	136	*163*
Porosité (g/m^2 (24hr))	0.28	0.23	0.29	0.3	-
ε constant diélectrique	2.3	2.3	2.3	2.3	*2.3*
Résistivité (Ω.m)	$>10^{16}$	$>10^{16}$	$>10^{16}$	$>10^{16}$	$>10^{16}$

Tableau III-2 : Caractéristiques de quelques types de COC ZEONOR

Le COC que nous avons utilisé dans la suite est du COC ZEONOR 1020R, sa température de transition vitreuse est de 105°C. Par rapport au PDMS qui est un polymère très utilisé pour créer des systèmes microfluidiques, il a une porosité faible.

Il a une constante diélectrique élevée (2.3) mais inférieure à celle du verre (4.6 - 5.0) et du silicium (3.5 – 4.5), donc les pertes diélectriques sont réduites, et c'est un bon isolant avec une résistivité élevée surtout si l'on veut l'utiliser comme substrat pour l'antenne.

La réalisation d'un système microfluidique par hot embossing nécessite donc la fabrication d'un moule.

3.2 Fabrication du moule acier-nickel de pressage

Le moule est un objet qui permet de répliquer dans un polymère des structures par pression à chaud. Il est constitué de microstructures qui permettent d'imprégner l'autre surface et doit résister aux hautes températures. Dans notre étude, nous réalisons un moule constitué d'un disque en inox de 8 cm de diamètre totalement inerte à hautes températures.

3.2.1 Polissage du moule

La surface du moule doit être parfaitement plane car, s'il reste des rayures, elles seront reproduites sur la plaque de COC après le pressage. Ces rayures peuvent être à l'origine de problèmes d'étanchéité lors de l'écoulement des fluides. Ainsi, il faut que la surface du disque soit polie pour assurer l'étanchéité du système. Ce polissage est réalisé avec des disques abrasifs en carbure de silicium de 20 cm de diamètre. C'est un papier imperméable non collant recouvert de grains de tailles variantes en fonction de l'indice du disque, (tableau III-3).

Indice	P100	P120	P180	P240	P320	P400	P600	P800	P1000	P1200	P2400	P4000
Taille grains (µm)	150	120	76	60	46	35	26	22	18	15	10	5

Tableau III-3 Tableau de valeur donnant la valeur de la taille moyenne des grains en fonction de l'indice du disque

Le disque en inox est d'abord poli avec des disques abrasifs d'indice faible, P100...P180, et poli progressivement avec les disques de granulométrie inférieure à vingt micromètres. On peut remarquer qu'à partir du disque P1200, l'inox est très réfléchissant,

comme un miroir. La surface du disque peut alors être utilisée pour accueillir les microstructures des microcanaux.

3.2.2 Création des microstructures en nickel

Le procédé LIGA UV sera de nouveau employé pour fabriquer des microstructures à la surface du moule, mais cette fois ci, en utilisant de la résine SU-8. Afin d'obtenir un moule à partir de SU-8, il faut suivre cinq étapes dont chaque paramètres doivent être optimisés pour obtenir la bonne épaisseur de résine.

3.2.2.a Production d'un micro-moule par photolithographie de résine SU-8

La première étape consiste à étaler une couche mince de résine par « spin coating » en utilisant la tournette du laboratoire (SUSS Microtec Delta 10TT). L'épaisseur de la résine dépend de la viscosité de celle-ci et de la vitesse de rotation appliquée à la tournette. La SU-8 (2100) que nous avons utilisé a été conçue pour former des épaisseurs de 100µm. Pour obtenir une épaisseur de 150µm, une multitude d'essais ont été réalisés car les paramètres donnés par le constructeur n'étaient pas assez précis. Ainsi, les paramètres optimaux permettant d'obtenir une couche de résine de 150µm sont de faire tourner la plaque pendant 30 secondes à 2000 tours par minute, (tableau III-4).

Ensuite, il faut effectuer un premier recuit avant l'insolation de la résine. Ce traitement thermique permet une première évaporation du solvant présent dans la SU-8. Le substrat est chauffé à une température supérieure à la transition vitreuse de la résine ce qui permet d'homogénéisé le polymère. La température appliquée avec une plaque chauffante (JUMO dTRON 16.1) est de 105°C pendant 40 minutes, (tableau III-4). Ce temps de recuit dépend de l'épaisseur de SU-8.

Pour optimiser la qualité de la couche déposé, nous avons trouvé qu'il fallait appliquer une rampe (5°C par minute) jusqu'à la température de recuit 105°C et finalement de laisser le substrat refroidir lentement sur la plaque chauffante jusqu'à température ambiante. Cette étape permet d'éviter les craquelures et décollements de la résine.

Résine	Vitesse et durée d'étalement (tr/min et s)	Temps de recuit avant insolation (min)	Temps d'irradiation UV (s)	Temps de recuit après insolation (min)	Temps de révélation (min)	Epaisseur obtenue (µm)
SU-8 2100	2000 rpm 30 s	40	35	7	6	130

Tableau III-4 : Caractéristiques des étapes du processus de fabrication de structures dans la SU-8

Un masque est fabriqué pour définir les microstructures à développer sur la résine. Les motifs sur le masque sont aussi réalisés avec le logiciel COREL DRAW. Comme pour les antennes planaires, il est réalisé par flashage d'un film plastique avec une imprimante haute résolution.

L'insolation est réalisée afin d'amorcer la réaction de polymérisation, la SU-8 est une résine photosensible qui doit être exposée aux UV. Pour cela, la lampe à UV d'un aligneur de masque (Sulzer Electro Technic MA70) est utilisée. Elle fournie une puissance de 5 mW / cm^2. La dose d'irradiation est ajustée en fonction de l'épaisseur du film de SU-8. Cette étape est très importante pour la résolution des microstructures. Après quelques essais, nous avons trouvé que 35 secondes d'irradiation nous permettaient d'obtenir une bonne résolution des microstructures présentes à la surface de la SU8-2100, (tableau III-4).

Ensuite, un second traitement thermique est nécessaire afin de propager la polymérisation de la SU-8 ce qui induit une meilleur adhésion et une densification du réseau (augmentation du degré de réticulation). Le recuit est réalisé à 105°C pendant 7 minutes en appliquant les mêmes rampes qu'utilisées précédemment, (tableau III-4).

Enfin, la dernière étape consiste à développer la résine afin de révéler les structures du réseau microfluidique. Cette étape s'appuie sur la révélation de la SU-8 non polymérisée dans un solvant, le Propylène Glycol Méthyl Ether Acétate (PGMEA). Pour optimiser la révélation des microstructures, une agitation pendant 6 minutes est effectuée, (tableau III-4). Le temps de développement doit être respecté pour éviter des problèmes de décollement des structures.

La résine est donc révélée aux endroits où l'on veut faire croitre des murs par électrodéposition de nickel. Avec une épaisseur de résine de 150µm, les dimensions espérées des structures microfluidiques de 150µm ce qui est compatible avec les résolutions qu'on est capable d'obtenir.

3.2.2.b Electrodéposition de nickel

L'électrodéposition de nickel se passe en deux étapes, une permettant une bonne adhésion du nickel sur l'inox et l'autre permettant de former l'épaisseur des structures. La première étape est donc effectuée avec un bain de nickel de Wood. Le montage du bain initial a été effectué en suivant le protocole suivant pour trois litres :

1) Verser environ 2.5 L d'eau déminéralisée dans une cuve de mélange et chauffer à 50°C.

2) Ajouter 960g de chlorure de nickel ($NiCl_2$).

3) 500mL d'acide chlorhydrique sont ajoutés.

Avant le dépôt, la surface de la plaque d'inox est plongée environ 10 secondes dans une solution d'acide sulfurique à 10 %. Ensuite, il faut la rincer à l'eau distillée et la plonger dans le bain de nickel de Wood. La température idéale du bain doit être de 50°C. La densité de courant appliquée lors de cette première étape est de 2A/ dm^2, c'est-à-dire un courant de 80 mA sur la surface de dépôt de $4cm^2$. Cette couche d'accroche est fabriquée pendant 5 minutes.

Ensuite, il faut fabriquer le bain permettant de former les structures. Le montage du bain initial a été effectué en suivant le protocole suivant pour cinq litres :

1) Verser environ 3 L d'eau déminéralisée dans une cuve de mélange et chauffer à 70-80°C.

2) Dissoudre 1425 g de sulfate de nickel ($NiSO_4$), 300 g de chlorure de nickel (NiCl2) et 225g d'acide borique (H_3BO_3).

3) Ajouter 5 mL de peroxyde d'hydrogène à 30 %.

4) 15 g de charbon actif sont ajoutés. Laisser le système d'agitation opérer pendant 30 min et filtrer.

5) On complète la solution avec de l'eau pour obtenir 5 L de bain. Le pH de celui-ci est ajusté à 4,3 avec de l'acide sulfurique (H_2SO_4) préalablement dilué à 10 %

6) 50mL d'agent mouillant N-95 et 5 mL de SIRIUS-TOP et SIRIUS-BASIS sont ajoutés au bain

Comme effectué précédemment, la densité de courant est appliquée à 3A/ dm^2 soit 120mA dans notre cas. La température du bain est régulée à 55°C. La vitesse de dépôt est 0,6 µm/min. On laisse donc le dépôt se faire pendant 3h30 pour atteindre une épaisseur de 150µm.

La résine SU-8 restante est dissoute avec du remover PG dans un bain à ultrasons chauffé à 50°C pendant 2 heures. La résolution et la hauteur des structures sont vérifiées au microscope et les structures font 130µm et leur surface est très lisse, (figure III-14).

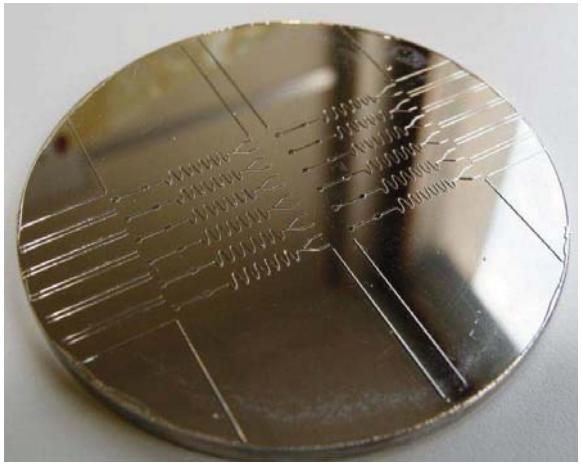


Figure III-14 : Moule en inox de 8 cm de diamètre. Les structures présentes à sa surface ont une épaisseur de 130 µm.

Notons ici que cette méthode de fabrication présente de nombreux avantages de coût et de temps de développement. En effet, il est possible de fabriquer de cette manière un très grand nombre de puces microfluidiques à partir d'un seul moule en inox et nickel, puisque celui-ci est réutilisable.

Afin de former les canaux et la cavité, nous employons une presse chauffante munie d'un système de stabilisation en température et d'un dispositif de mise en pression. Le COC est pressé entre deux pièces métalliques. L'une d'entre elles sert à imprégner la cavité dans le polymère, c'est le moule et l'autre servant d'appuie. Enfin, différentes étapes de pressage doivent être mises au point pour obtenir un réseau microfluidique complet.

3.3 Production de films de COC

La fabrication d'un système microfluidique dans l'optique de l'utiliser sur un dispositif RMN nécessite la production de films minces en COC. En effet, nous avons vu au chapitre 2 que la sensibilité de l'antenne planaire décroit en s'éloignant de ses spires, c'est pourquoi, l'échantillon doit être placé à proximité de l'antenne, dans le cas optimal à 100µm. Pour cela, la membrane en COC, séparant la cavité de l'antenne (figure III-15), doit avoir une épaisseur la plus fine possible.

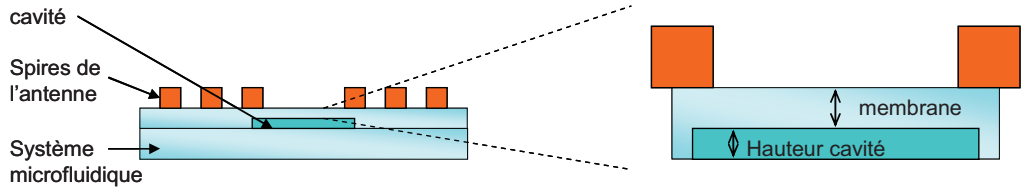


Figure III-15 : Schéma de la vue en coupe d'un microsystème constitué d'une antenne planaire et du système microfluidique.

La première étape consiste à presser deux plaques de COC 1020R d'une épaisseur initiale de 1 mm. Elles sont placées entre les mors de la presse chauffante afin de les amincir.

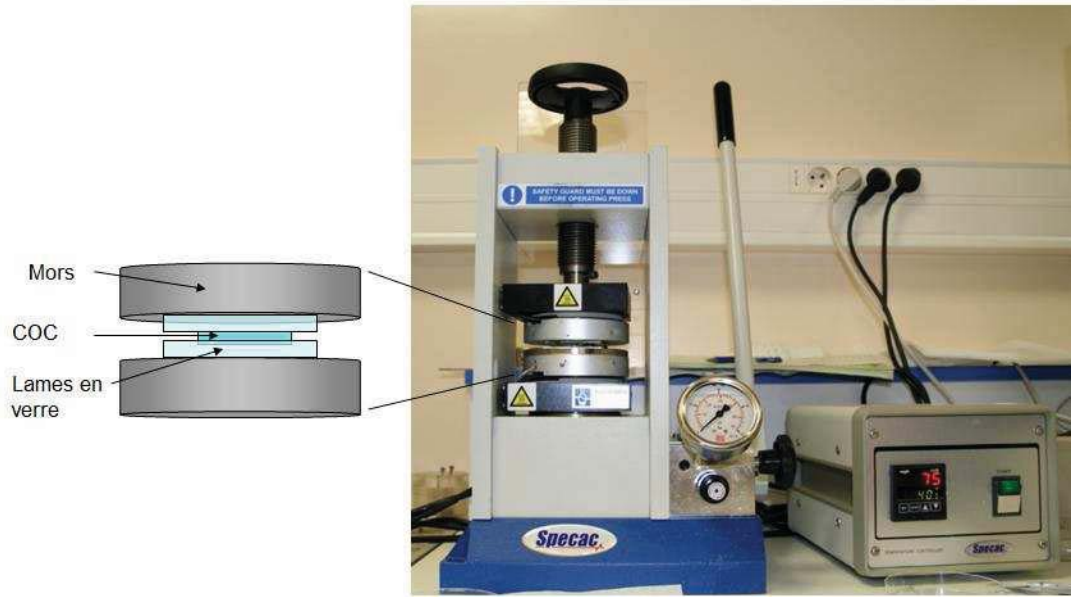


Figure III-16 : Photographie de la presse chauffante et schéma représentant le COC pris entre deux lames de verre et pressé par les mors.

Une grande quantité d'essais ont été effectués pour trouver les paramètres optimaux pour chaque étape de pressage. Quelques paramètres parmi ceux réalisés sont donnés dans le tableau III-5.

Pression (kg/cm^2)	Température (°C)	Durée (s)	Surface (cm^2)	Epaisseur (µm)
450	125	600	10	600
450	125	600	10	500
900	135	600	10	400
1800	145	900	10	250
2700	150	1200	5	150

Tableau III-5 : Valeurs d'épaisseur de COC obtenues pour les conditions de pression, température, durée et surface appliquées

La presse chauffante atteint une pression maximale de 2700 kg/ cm^2 et la température maximale que l'on peut appliquer sans dégrader le COC est de 150°C. Nous avons réussi à obtenir une feuille de COC de 250 µm d'épaisseur avec une surface de 10 cm^2. Pour amincir davantage le COC, il faut diminuer sa surface, ainsi une épaisseur de 150µm a été acquise avec une feuille de COC de 5cm^2 de surface. Mais il est impossible d'amincir davantage le COC par cette méthode même en augmentant considérablement la durée de pressage.

Une méthode qui permettrait d'obtenir des épaisseurs plus faibles consiste à dissoudre le COC dans un solvant tel que le méthylcyclohéxane et de l'étaler sur un wafer à l'aide d'une tournette. Des essais ont été réalisé dans lesquels 20g de COC sont dissout dans 50mL de méthylcyclohéxane. La viscosité de ce mélange est suffisante pour le déposer sur un wafer et de réaliser un « spin coating » à 2000 tours par minute. Ensuite, le wafer est placée dans une étuve afin de polymériser le COC à sa surface par évaporation du solvant. Un film de COC de 100µm a été obtenu mais elle n'a pas été utilisée pour le système microfluidique car ce procédé n'a pas été suffisamment développé pour obtenir des films de COC de bonne qualité.

3.4 Création des canaux et scellement irréversible

Le moule fabriqué au paragraphe 3.1 est placé entre les deux mors de la presse. Le film de COC est posé sur le moule et recouvert d'une lame en verre. Le COC est donc pressé entre le moule et la lame de verre, (figure III-17).

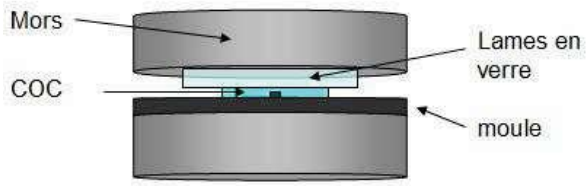


Figure III-17 : Etape de pressage des microstructures

Les paramètres de pressage sont : une température de 125°C, une pression de 300 kg/cm² pendant 120 s. Ainsi, le réseau microfluidique est créé sur le film de COC, (figure III-17).

Enfin, la fermeture des structures microfluidiques présentes à la surface du COC est réalisée par un collage irréversible. En effet, le système microfluidique est recouvert par une autre plaque en COC préalablement exposée au vapeur de méthylcyclohexane. Etant donné la

finesse des deux plaques en COC et les dimensions micrométriques des canaux, les paramètres permettant ce collage ont été difficiles à obtenir. En effet, il faut un minimum de pression et un temps d'exposition précis pour réaliser un collage sans détruire les canaux. Après de nombreux essais, nous avons obtenu de bons collages avec les paramètres suivants. Le méthylcyclohéxane est chauffé à une température de 30°C. La quantité de vapeur est alors idéale, la plaque de COC est donc placée au dessus pendant vingt deux secondes pour liquéfier légèrement sa surface. Ensuite les deux pièces sont mises en contact pendant 15 minutes à une température de 40°C et une pression très faible afin d'obtenir un système étanche et non bouché, (figure III-18).

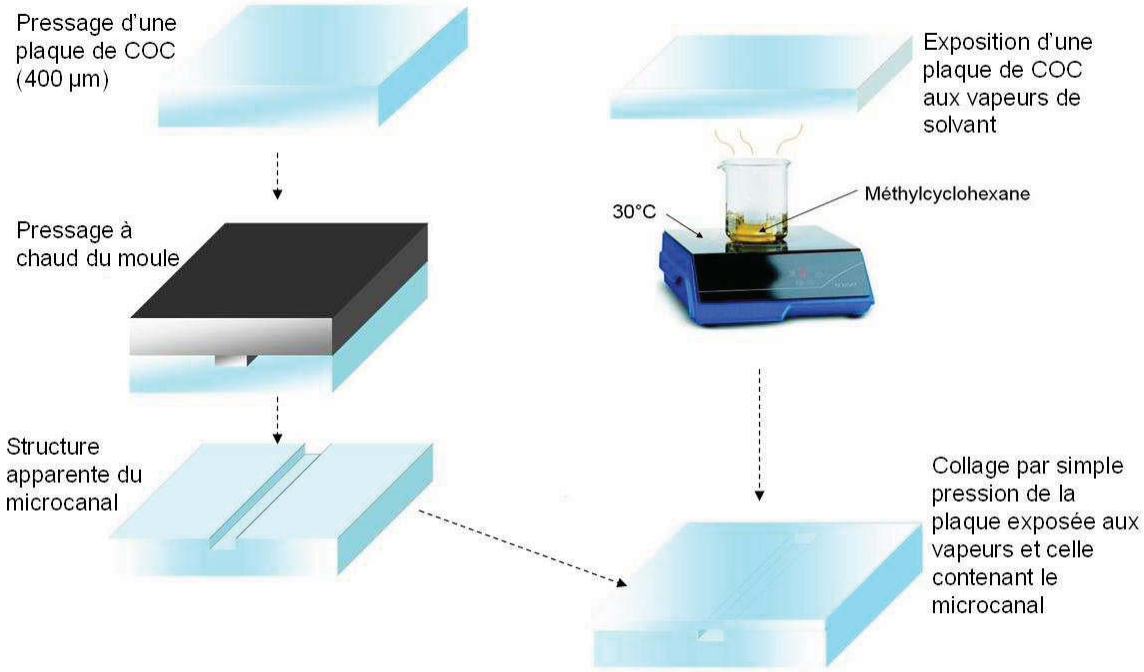


Figure III-18 : Schématisation des différentes étapes de fabrication d'un système microfluidique. La cavité n'est pas représentée.

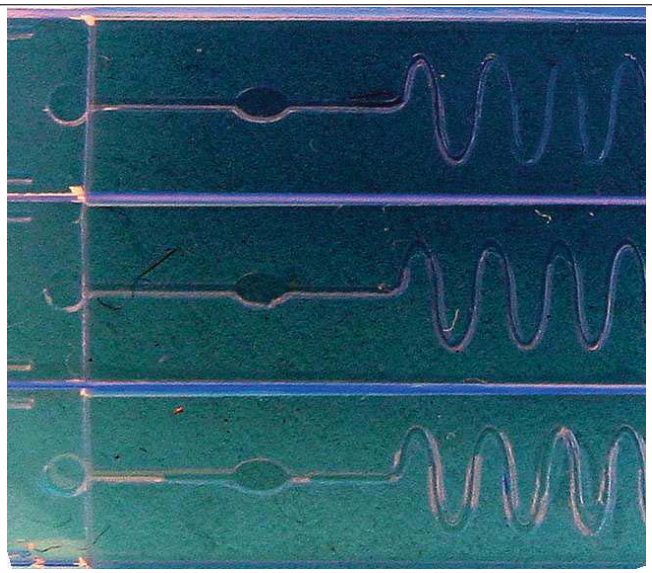


Figure III-19 : Photographie du système micro fluidique sous un film de protection de la poussière

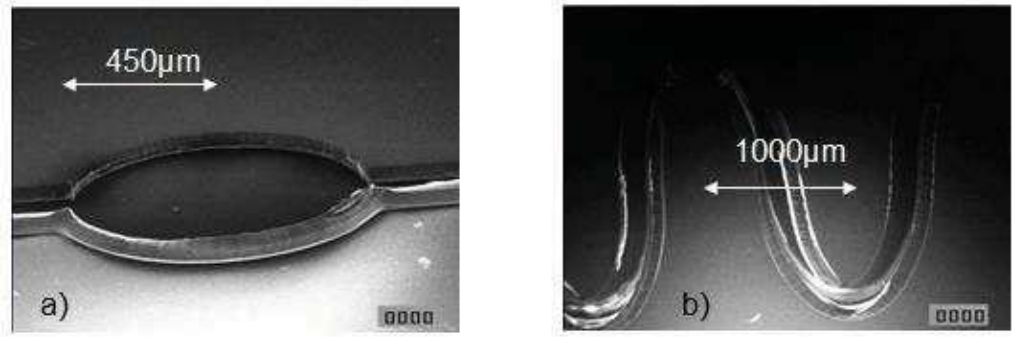


Figure III-20 : Photographie au MEB des structures microfluidiques métallisées par dépôt d'aluminium. a) cavité microfluidique, b) canaux en forme de serpentin

Ainsi, le système microfluidique permettant la rétention de solution chimique est réalisé. Les intérêts de cette méthode sont le temps limité de fabrication, un coût et une bonne reproductibilité des systèmes.

Il nous faut à présent fabriquer le dispositif RMN à partir de ce système micro fluidique.

4 Fabrication du microsystème complet

Nous avons décrit deux procédés de fabrication dans lesquelles nous réalisons une microantenne planaire sur un substrat en COC et un système microfluidique à base de COC. Ces deux procédés vont nous servir pour créer un dispositif d'analyse par Spectroscopie RMN lequel devant être constitué d'un système microfluidique et d'une antenne RF.

4.1 Association de la microantenne et du réseau microfluidique

4.1.1 Microsystème entièrement à base de COC

Les procédés de fabrication de ce microsystème à base de COC sont basés sur les principes de réalisation décrits dans les paragraphes 2 et 3. L'antenne planaire doit être déposée sur le système microfluidique à base de COC

Pour éviter les étapes de pression, nécessaires à la réalisation de microcanaux, sur les pistes en cuivre de la microantenne, nous devons réaliser dans un premier temps le système microfluidique à base de COC. Les premiers systèmes microfluidiques qui ont servis pour réaliser ce type de dispositif ont été réalisés avec des feuilles de COC de 500µm d'épaisseur.

Dans un premier temps, une résine photosensible de protection est déposée sur la surface du système microfluidique et photolithographiée afin de protéger les canaux situés aux extrémités. Cette étape permet dans la suite d'aligner les antennes planaires du masque sur les canaux non recouvert de cuivre.

Puis, un dépôt d'une couche mince de titane et de cuivre est réalisé sur cette surface. Par un procédé de Lift-off [17, 18], la couche mince de cuivre recouvrant les canaux aux extrémités est enlevée en dissolvant la résine photosensible.

Ensuite, une étape de LIGA UV est réalisée pour créer les structures des antennes planaires à partir de cette couche mince de cuivre.

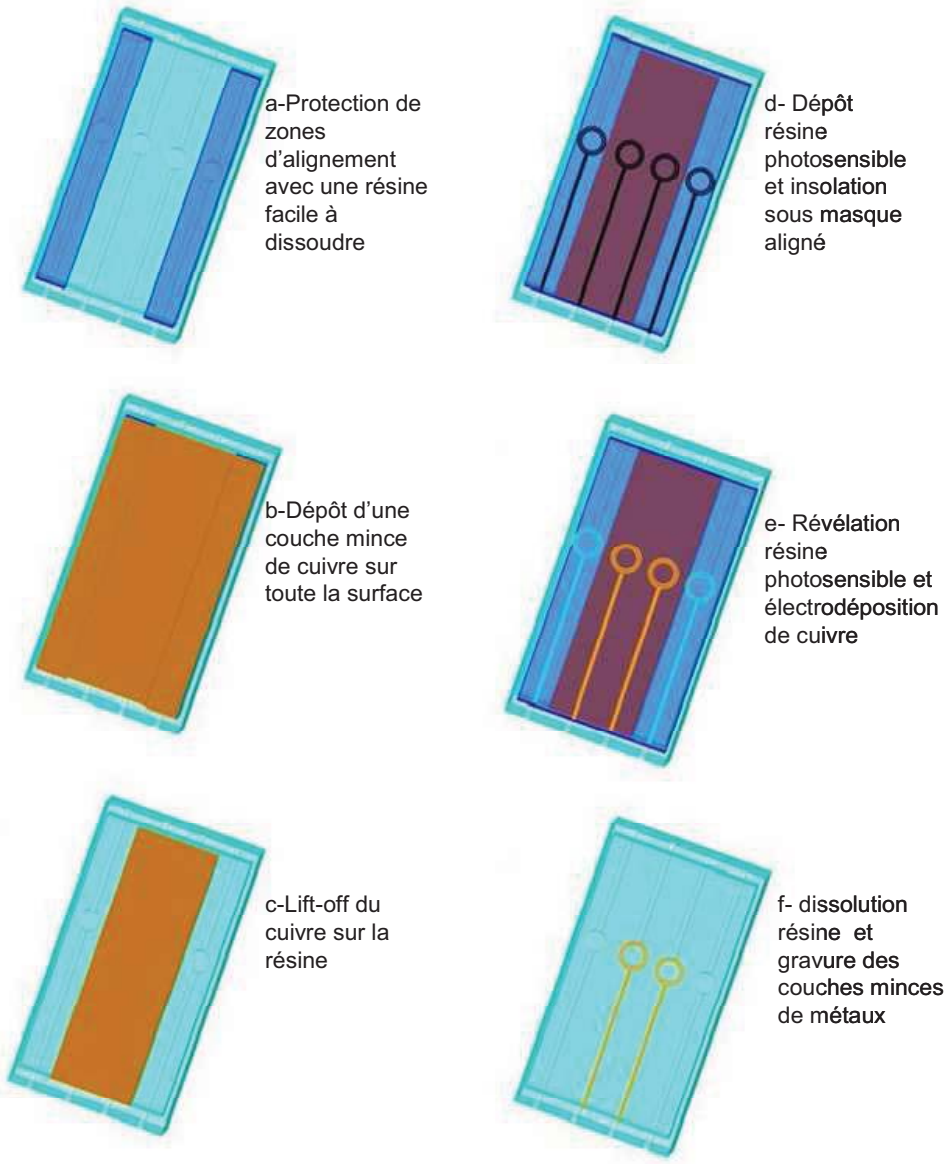


Figure III-21 : Schéma des procédés de fabrication de l'antenne planaire sur le système microfluidique

L'alignement des antennes planaires avec les cavités microfluidiques est effectué sous la binoculaire de l'aligneur de masque en plaçant les structures des antennes au dessus des cavités placées aux extrémités.

Ensuite, la microantenne est électro-déposée comme décrit au paragraphe 2 dans les zones de la résine photosensible dissoute après la révélation.

Enfin, il ne reste plus qu'à dissoudre la résine et à graver les couches minces de titanes et de cuivre pour obtenir notre microsystème, (figure III-22).

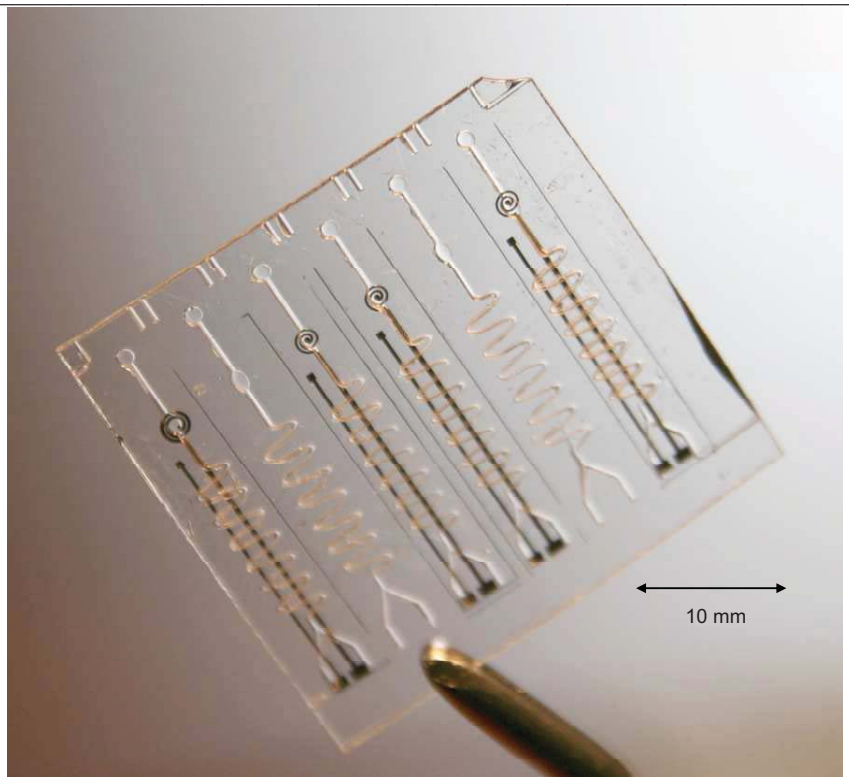


Figure III-22 : Photographie du microsystème avec antenne et réseau microfluidique. Les antennes sont sur la face opposée, derrière le réseau microfluidique.

Le dispositif final sera présenté au paragraphe 5 ainsi que les spectres que nous avons obtenu en l'utilisant. Des tests ont été réalisés afin de vérifier le remplissage des micros canaux et l'étanchéité des structures micros fluidiques ainsi obtenues.

4.1.1.a Remplissage du réseau microfluidique

Les microcanaux d'entrée et de sortie de liquide de notre système microfluidique sont ouverts à leur extrémité. On veut remplir notre système avec de l'eau, malheureusement le COC est hydrophobe donc l'eau pure ne remplit pas le réseau par capillarité. Afin de pouvoir l'injecter dans le système micro fluidique, nous utilisons donc un micro capillaire (diamètre externe = 90µm) collé à l'extrémité d'un micro canal ce qui permet d'injecter l'échantillon avec une seringue et de remplir toute la cavité d'eau distillée. Par contre, ce problème ne se pose pas avec les solvants organiques couramment utilisés en SRMN car dans ce cas, l'effet de capillarité a bien lieu.

4.1.1.b Etanchéité du système

L'étanchéité du système est vérifiée à l'aide d'un microscope à fluorescence. La cavité est remplie avec un mélange d'eau et de rhodamine B (colorant fluoresçant), (figure III-23).

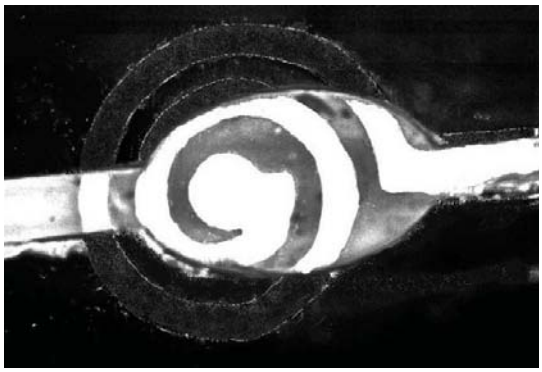


Figure III-23 : Photographie au microscope à fluorescence (x25) de la cavité et de la microantenne associée

Sur ce microsystème de test d'étanchéité, la microantenne et la cavité sont visiblement un peu décalées. Mais cette version d'essai a seulement été fabriqué pour vérifier l'étanchéité et n'a pas été utilisée en RMN.

La forme de la cavité est allongée dans la direction horizontale pour améliorer le débit de liquide dans la cavité car le mélange d'eau et de rhodamine ne remplit pas la cavité par capillarité et des bulles peuvent apparaitre à l'entrée et à la sortie de celle-ci.

Par contre l'étanchéité du système est vérifiée car la fluorescence n'apparait que dans ce système microfluidique.

4.1.2 Microsystème composite PCB/COC

Les premiers dispositifs ont été réalisés avec des dispositifs à base de circuit imprimé, aussi appelé PCB pour Printed Circuit Board car c'est une méthode rapide et peu onéreuse. La microantenne planaire est dessinée sous le logiciel ORCAD^{TM} puis fabriqués par une société spécialisée dans la réalisation de circuit imprimé, (figure III-24).

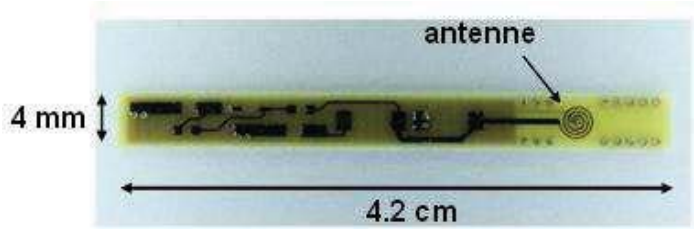


Figure III-24 : Plaquette de PCB sur laquelle est créée une antenne planaire de 35 µm d'épaisseur

L'avantage de travailler avec ce genre de technologie est la possibilité de fabriquer rapidement un grand nombre de plaquettes. De plus, la reprise de contact au centre de l'antenne est assuré par un via, c'est un trou métallisé qui rejoint la face opposée de ce circuit. Il n'est donc pas nécessaire de réaliser un wire-bonding, (chapitre II) par microsoudure. Par contre, avec cette technologie, la résolution des structures est limitée, on a donc utilisé un PCB de classe 5 (norme Française NFC93-713) qui permet de réaliser des structures dont la plus petite distance entre deux conducteurs est de 150µm et un via de diamètre supérieur à 500µm. Heureusement, les dimensions de l'antenne optimisée au chapitre II rentrent dans cette gamme de fabrication.

Il faut à présent trouver un moyen d'intégrer le système microfluidique sur la surface du circuit imprimé. Le procédé que nous avons mis au point pour parvenir à cette association consiste à presser le système microfluidique conçu au paragraphe 3 sur l'antenne planaire par pressage à chaud. En effet, le COC est pressé sur la surface du circuit imprimé et moule toutes les structures apparentes de la microantenne planaire, ce qui crée une adhésion. Une multitude d'essais ont été nécessaires afin de trouver les paramètres de pression et de température idéaux à cet assemblage car le système microfluidique est très fragile.

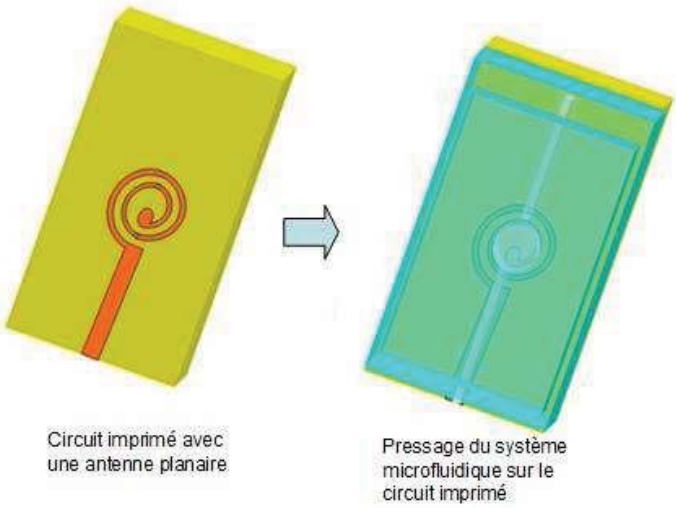


Figure III-25 : Schéma de réalisation du dispositif à base de circuit imprimé et de COC

Une pièce a été usinée afin d'aligner l'antenne planaire et le système microfluidique.

Finalement, à la température de 110°C pendant 15 minutes et avec une pression très faible de 30 kg/cm^2, nous sommes parvenus à presser le système microfluidique sur le circuit imprimé sans détruire les canaux. Nous présenterons dans le paragraphe 5 ce dispositif et les spectres qu'il nous a permis d'obtenir.

L'antenne planaire permet la détection du signal RMN à condition quelle soit accordée et adaptée à la fréquence de Larmor des protons dans le spectromètre mis à notre disposition. Pour ce faire un circuit de conditionnement doit être conçu et intégré au dispositif, nous verrons cela dans le paragraphe 4.2.

4.2 Circuit électronique de conditionnement de l'antenne

4.2.1 Principe d'accord et d'adaptation capacitif

Le transfert du signal de l'antenne à la chaine de traitement du spectromètre est effectué par plusieurs câbles coaxiaux et un circuit de conditionnement et il doit permettre une restitution maximale de l'information extraite de l'échantillon. Que ce soit en excitation ou en réception, l'antenne doit présenter une efficacité maximale à la fréquence de Larmor des noyaux dans le champ magnétique du spectromètre 11.74 T, (chapitre I).

Ainsi, l'antenne est associée à un réseau de capacités permettant l'accord de l'antenne à la fréquence de Larmor des noyaux dans le spectromètre utilisé (500MHz) et l'adaptation de l'impédance du circuit de conditionnement aux 50Ω des câbles coaxiaux pour éviter les réflexions de signal à l'interface et donc la perte de signal.

Il existe différentes configurations pour accorder et adapter une antenne [19] et nous choisissons « l' accord capacitif parallèle » [20] en raison de sa simplicité de mise ne œuvre. Ainsi, en notant r et L respectivement la résistance et l'inductance de l'antenne, C_t la capacité d'accord (tunning) et C_m la capacité d'adaptation (matching), le schéma électrique du circuit résonant est décrit sur la figure III-26. La capacité parasite de l'antenne est négligée.

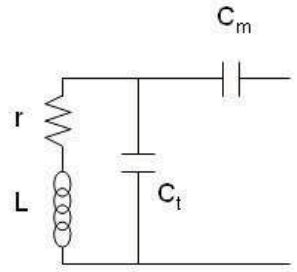


Figure III-26 : Schéma électrique simplifié de l'accord C_t et l'adaptation C_m capacitif d'une antenne d'inductance L et de résistance série r

L'impédance de ce circuit est donnée par l'expression III-2 [21].

$$Z = \frac{R}{(1-\omega^2 LC_t)^2 + \omega^2 R^2 C_t^2} + j\left[\frac{\omega L(1-\frac{R^2 C_t}{L} - \omega^2 LC_t)}{(1-\omega^2 LC_t)^2 + \omega^2 R^2 C_t^2} - \frac{1}{\omega C_m}\right] \quad \textbf{III-2}$$

Pour une valeur de pulsation ω_0 choisie, il existe une solution unique physiquement réalisable pour C_t et C_m tel que Z = 50 +j0. Ainsi, on a les relations III-3 et III-4 [21].

$$C_t = \frac{\omega_0 LR_0 - \sqrt{rR_0(\omega_0^2 L^2 - rR_0 + r^2)}}{\omega_0 R_0(\omega_0^2 L^2 + r^2)} \quad \textbf{III-3}$$

$$C_m = \frac{2\omega_0^2 LC_t - \omega_0^4 L^2 C_t^2 - \omega_0^2 r^2 C_t^2 - 1}{\omega_0^2 (r^2 C_t - L + \omega_0^2 L^2 C_t)} \quad \textbf{III-4}$$

où R_0 est l'impédance de charge (50Ω), L est l'inductance de l'antenne (5.2nH) et r est la résistance série de l'antenne (0.3Ω) correspondant aux valeurs des antennes réalisées. Le calcul de C_t et C_m est effectué pour une pulsation égale à $2\pi f_0$ avec f_0 la fréquence de travail du spectromètre (500 MHz). Ces valeurs de capacités sont 20pF pour la capacité d'accord et

4pF pour celle d'adaptation. Nous allons voir dans la suite quels composants peuvent être utilisés afin que ce circuit soit intégré sur le dispositif RMN et introduit dans le spectromètre.

4.2.2 Circuits de conditionnement réalisés

4.2.2.a Version à capacités mécaniques

Les capacités d'accord et d'adaptation ont été choisies parmi des composants de type CMS pour leur gamme de valeurs (proche du pico farad) et leur dimension (afin qu'ils puissent entrer dans un tube d'analyse de 5mm de diamètre interne). Les capacités AVX, CTZ3 ont des valeurs intéressantes pour notre étude (entre 1.5pF et 50pF) et ont des dimensions appropriées (4.5x3.2 mm).

Ces capacités ont une résistance série faible, de l'ordre de 0.1Ω, (nous verrons l'influence de cette valeur sur la dégradation du facteur de qualité). Par contre, elles ont le défaut majeur qu'il est difficile de les accorder à l'intérieur du spectromètre. En effet, des essais ont été réalisés avec ces capacités mécaniques mais, une fois à l'intérieur de l'aimant, celles-ci ne sont plus réglables ce qui pose un problème pour accorder et adapter l'antenne. De plus, les effets de couplage qui peuvent apparaître entre l'antenne du dispositif et l'antenne interne du spectromètre font varier la fréquence de résonance, ce qui ne permet pas l'accord de la sonde à l'extérieur du spectromètre. Pour palier à ces problèmes, un nouveau circuit à base de varicaps a été développé.

4.2.2.b Version à varicaps

Une varicap est une diode polarisée en inverse. Sa capacité série est proportionnelle à la tension appliquée à ses bornes [22]. De ce fait, le réglage de la capacité peut être déporté, ce qui est une méthode originale pour des applications avec des microantennes en RMN. Comme les capacités mécaniques, elles sont choisies en fonction de leur valeur et leur taille. Les varicaps (BB857-BB535) mesurent 2x0.8mm et ont une capacité entre 0.6pF et 20pF. La tension qu'il faut appliquer à leurs bornes peut varier de 0 à 30 V. La figure III-27 présente la courbe de valeurs de capacité en fonction de la tension inverse appliquée (échelle logarithmique).

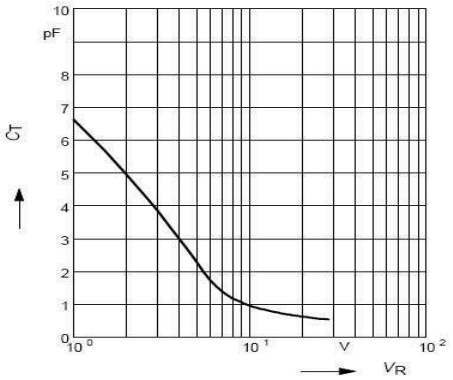


Figure III-27 : Courbe de valeur de capacité en fonction de la tension inverse appliquée pour une varicap BB857 capable de descendre en dessous du pico Farad. (0.6 pF→6.5pF)

L'accord et l'adaptation du circuit résonant peuvent être réalisés à l'intérieur de l'aimant en amenant les tensions de polarisation des varicaps grâce à de petits câbles coaxiaux. La sensibilité de l'antenne est très fortement liée à la précision de cet accord, il est donc impératif d'utiliser des capacités réglables à l'intérieur du spectromètre. Par contre, ces capacités ont une résistance série qui n'est pas négligeable, de l'ordre de 1Ω, ce qui est supérieur à la résistance série de l'antenne. Par conséquent, le facteur de qualité est réduit. Pour quantifier cette dégradation, nous effectuons des simulations grâce au logiciel PSPICE vérifiées par des mesures avec un analyseur de réseau.

4.2.3 Calcul et mesures du facteur de qualité de différentes sondes

En réalisant un modèle sous SPICE du circuit de conditionnement et de l'antenne, il est possible de prévoir le facteur de qualité de l'ensemble du circuit en prenant en compte tous les éléments parasites comme par exemple les câbles coaxiaux d'amenée des tensions de polarisation ou encore les résistances parasites des capacités d'accord. L'analyse du coefficient de réflexion (paramètre S_{11}) du circuit sur un système d'impédance caractéristique 50 Ω (entrée de la chaine d'acquisition du spectromètre RMN ou de l'analyseur de réseaux HP8752C) permet d'observer l'efficacité du réseau capacitif d'accord/adaptation ainsi que de calculer le facteur de qualité, suivant la relation III-5.

$$Q = \frac{\upsilon_0}{\frac{\Delta\upsilon_{-3dB}}{2}} \qquad \textbf{III-5}$$

où ν_0 est la fréquence de résonance et $\Delta\nu$ la bande passante à -3dB

Le circuit utilisé pour les expériences RMN est décrit figure III-28 sous PSPICE.

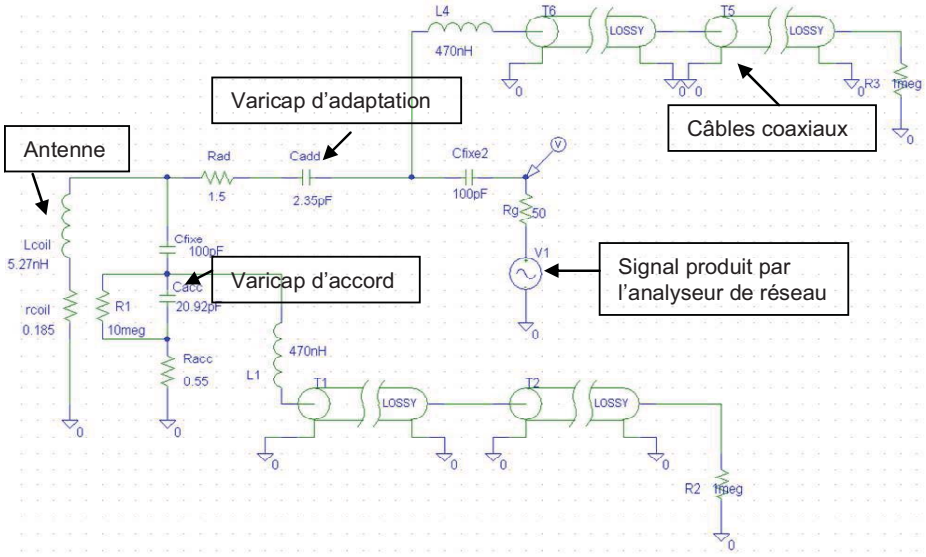


Figure III-28 : Modèle sous PSPICE du circuit électrique complet de la sonde RMN avec (à gauche) L_{coil} et r_{coil} l'inductance et la résistance série de l'antenne.

Le modèle du circuit sous PSPICE tient compte des câbles coaxiaux d'alimentation des varicaps (T_1 T_2 et T_6 T_5). Les inductances d'arrêt, L_1 et L_4 de 470nH servent à bloquer le signal RMN haute fréquence afin qu'il ne puisse « remonter » dans les câbles apportant les tensions de polarisation des varicap. Cela permet de ne pas charger le circuit d'accord/adaptation et l'antenne avec les éléments inductifs et capacitifs du schéma équivalent de ces câbles coaxiaux. Des capacités fixes de 100pF sont mises en séries avec les varicaps pour bloquer la tension continue de polarisation des varicaps.

La courbe de S_{11} obtenu à partir de ce modèle de circuit sous PSPICE est présentée dans la figure III-29.

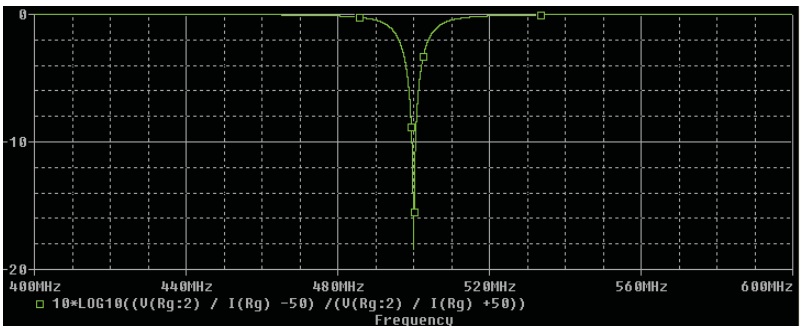


Figure III-29 : Courbe de réponse du S_{11} obtenu par exemple sous PSPICE avec une résonance à 500MHz

Le pic de résonance est centré sur 500MHz et sa profondeur caractérise l'atténuation en dB de la réflexion du signal à l'interface circuit/câbles coaxiaux. Afin d'optimiser le transfert du signal, il faut une forte atténuation de la réflexion.

Les mesures réalisées sur un microsystème constitué de son circuit de conditionnement avec l'analyseur HP8752C sont transférées à un ordinateur grâce à un logiciel de capture, les valeurs des courbes de S_{11} obtenues lors de l'expérience sont traitées sous Excel, (figure III-30).

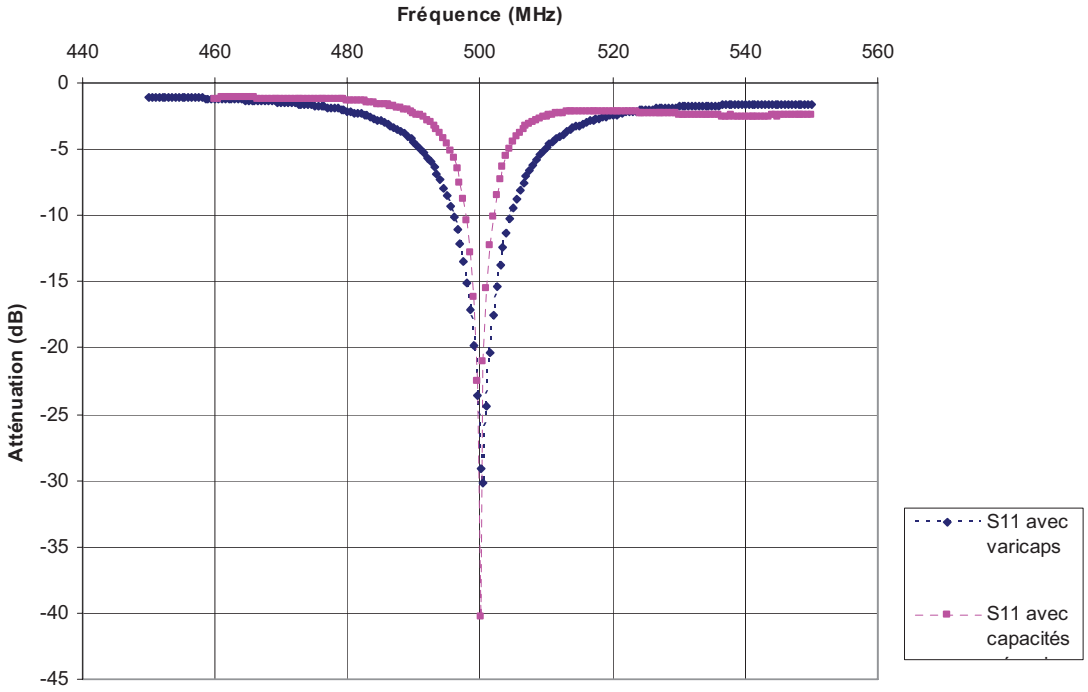


Figure III-30 : Mesures effectuées avec un analyseur de réseau du S_{11} des circuits résonants avec varicaps ou avec des capacités mécaniques.

Le traitement par EXCEL des mesures effectuées avec l'analyseur de réseau permet de comparer les courbes de S_{11} obtenues. Ainsi, le pic est plus large lorsqu'on utilise des varicaps à la place des capacités mécaniques. Le calcul du facteur de qualité est possible à partir des courbes obtenues en utilisant l'expression III-5. Le facteur de qualité du circuit avec capacités mécaniques est égal à 70 et celui avec varicaps est égal à 35. Les valeurs des capacités d'accord et d'adaptation utilisées pour chaque circuit sont répertoriées dans le tableau III-6.

	Cac (pF)	Cad (pF)	Largeur à (-3dB) Simulation	Largeur à (-3dB) Expérimental	Q Simulation	Q Expérimental
Capacités mécaniques	18.2	1.2	10.2	14.2	98	70
Varicaps	17.3	2.3	30.2	28.6	33	35

Tableau III-6 : Valeurs simulées et expérimentales du pic de résonance et du facteur de qualité

Les résultats des simulations et des expériences montrent que le pic de résonance est plus large quand nous utilisons des varicaps à la place des capacités mécaniques. En effet, la largeur du pic de S_{11} à (-3dB) est de 2 à 3 fois plus grande lorsque nous utilisons des varicaps ce qui implique la diminution du facteur de qualité. Cette observation est conforme avec ce qui était attendu car la résistance série de ces composants est plus élevée. On remarque aussi que la capacité d'adaptation est très faible (de l'ordre de 1pF) ce qui rend l'expérience délicate car on est à la limite des valeurs de capacités vendues dans le commerce, (chapitre 2).

Mais, étant donné la difficulté pour accorder l'antenne à l'intérieur du spectromètre, nous privilégions l'aspect pratique pour nos expériences RMN. Ce qui signifie que nous utiliserons les varicaps pour notre circuit de conditionnement.

Par contre, ces varicaps sont très légèrement magnétiques. On peut trouver des CMS amagnétiques, cependant, à notre connaissance, il n'existe pas de varicaps de ce genre sur le marché. C'est pourquoi, afin d'éviter de perturber le champ magnétique à proximité de l'échantillon à analyser, il faut déporter les composants du circuit de conditionnement d'une faible distance que nous allons définir grâce à une série d'expériences dans un spectromètre RMN.

4.2.4 Distorsions magnétiques dues aux composants du circuit de conditionnement

Comme on l'a vu précédemment, pour éviter une première réflexion du signal au niveau de la connexion antenne-câble, il faut que l'accord et l'adaptation soient réalisés le plus proche possible de l'antenne [23], or certains composants sont légèrement magnétiques et ne doivent pas être placés à proximité de l'échantillon. Il s'agit donc de trouver le meilleurs compromis entre proximité (meilleurs efficacité su le plan électronique) et éloignement (afin de ne pas distordre le champ magnétique dans la zone de mesure).

L'expérience consiste à placer un composant à tester dans un échantillon d'eau à plusieurs distances du centre magnétique du spectromètre, (figure III-31). Les raies spectrales obtenues sans composant sont très fines, de largeur à mi-hauteur de 2 Hertz. La présence d'un composant magnétique près du centre magnétique induit une dégradation de la résolution spectrale, ce qui se traduit par un élargissement de la raie de l'eau. Pour voir l'influence des différents composants du circuit sur le champ magnétique, il faut donc comparer les largeurs à mi-hauteur des spectres obtenus à différentes distances du centre magnétique.

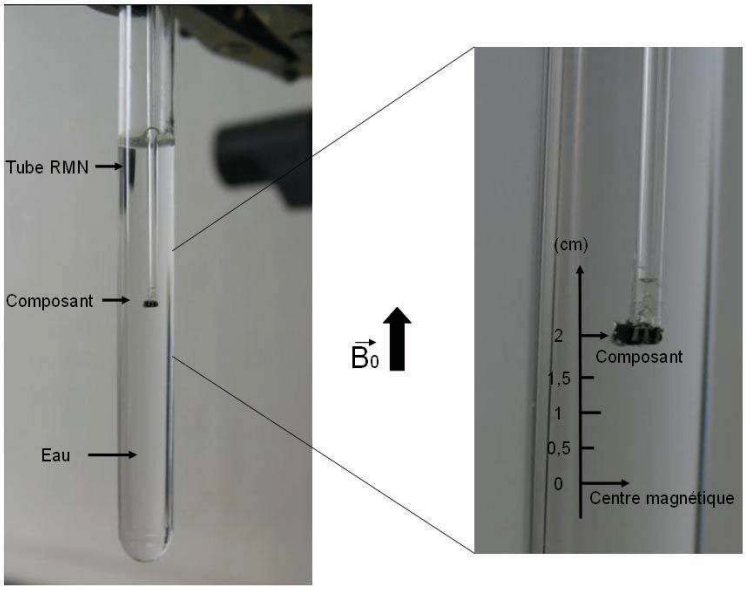


Figure III-31 : Expérience réalisée au centre RMN pour vérifier l'influence des composants sur le champ magnétique

Le bilan est établi dans le tableau III-7. Les composants suivants sont testés: varicaps, capacité fixe amagnétique, capacité variable mécanique et les inductances de protection. Ces composants sont testés à différentes distances du centre magnétique de l'aimant : 1cm, 1.5cm, 2cm, 2.5cm. La raie de référence est obtenue sans composant dans le tube et sa largeur à mi-hauteur est de 2 Hz.

	D=1cm	D=1.5 cm	D=2 cm	D=2.5 cm
Sans composant	2 Hz	2 Hz	2 Hz	2 Hz
Varicaps	16 Hz	6.1 Hz	2 Hz	2 Hz
Capacité fixe amagnétique	8 Hz	2 Hz	2 Hz	2 Hz
Capa mécanique	14 Hz	2 Hz	2 Hz	2 Hz
Inductance	15 Hz	2.1 Hz	2 Hz	2 Hz

Tableau III-7 : Valeurs de la largeur à mi-hauteur des raies spectrales de l'eau perturbées par différents composants qui sont placées à différentes distances du centre magnétique

Les résultats du tableau III-7 montrent les perturbations apportées par les différents composants sur la largeur à mi-hauteur des raies spectrales en fonction de la distance de ceux-ci par rapport au centre magnétique du spectromètre. A partir de l'ensemble des spectres obtenus, nous pouvons conclure que les composants placés à plus de deux centimètres du centre magnétique n'ont plus d'influence sur la forme de raie des spectres.

C'est pourquoi, lors de la réalisation du dispositif final, les pistes reliant l'antenne à son circuit de conditionnement feront au moins deux centimètres. La résistance de ces pistes à 500MHz est de l'ordre de 0.1Ω ce qui reste faible par rapport à celle de l'antenne et du wire-bonding de l'ordre de 0.5Ω. De plus cette longueur est très inférieure à la longueur d'onde à 500MHz (60cm) ce qui n'entraine pas de perturbations de l'adaptation d'impédance. De plus la perte de signal est très faible en rajoutant seulement 2 cm de piste.

5 Essais et évaluation des performances des microsystèmes réalisés

Le microsystème à base de COC et celui à base de PCB/COC ont tous les deux le même circuit de conditionnement. Afin de réaliser les expériences en spectroscopie RMN, nous utilisons un spectromètre du Centre Commun de RMN. C'est un spectromètre commercial Bruker de 500 MHz capable de fournir un champ magnétique statique de 11,74 Tesla.

Pour réaliser les mesures en spectroscopie RMN, l'alimentation permettant de régler les varicaps doit être placée à au moins trois mètres du spectromètre. Pour réaliser la connexion, deux micro-câbles coaxiaux U50A-3607 TAU sont soudés sur le circuit du dispositif et doivent être assez grand (50cm) pour sortir du spectromètre. Ensuite, ils sont

reliés à deux câbles coaxiaux RG 59 de 4 mètres chacun permettant de se connecter aux alimentations.

Enfin un autre câble coaxial RG 174/U est directement connecté sur le circuit du dispositif pour le transfert du signal RMN.

5.1 Recherche des paramètres optimaux de spectroscopie RMN

5.1.1 Durée entre chaque acquisition

En spectroscopie RMN, dans le cas des microsystèmes de détection analysant de faibles quantités de solutions, le rapport signal sur bruit n'est pas toujours suffisant pour que les raies spectrales soient bien visibles par rapport au bruit généré par le dispositif avec une seule mesure (acquisition).

C'est pourquoi, afin de remédier à ce problème, il est possible d'effectuer plusieurs acquisitions du signal RMN. Le bruit étant aléatoire, il s'annule au cours des acquisitions, alors que les raies spectrales s'ajoutent, ce qui permet d'augmenter le rapport signal sur bruit.

Cependant, il est important de définir le temps de répétition car les phénomènes de relaxation en RMN, suivant l'arrêt de l'excitation des noyaux peuvent être long (de l'ordre de la seconde). En pratique, il faut attendre cinq fois le temps de relaxation entre les acquisitions pour que les noyaux reviennent à leur état d'équilibre. Si ce temps n'est pas respecté, les noyaux ne sont pas complètement à l'équilibre lorsque l'excitation est réappliquée et on peut observer une perte de signal et donc le rapport signal sur bruit n'est pas optimisé.

C'est pourquoi, pour les expériences nécessitant plusieurs acquisitions, comme c'est le cas pour l'utilisation de notre microsystème en RMN, il faut trouver la durée permettant aux noyaux de revenir complètement à leur état d'équilibre après l'excitation. Par exemple, pour observer ce phénomène, nous avons réalisé plusieurs expériences dans lesquelles, seule le temps de répétition est changée, puis, le rapport signal sur bruit obtenu pour chaque expérience est mesuré. La figure III-32 présente quatre spectres de l'éthanol avec différentes durées entre chaque acquisition de 1s, 3s, 6s, 10s.

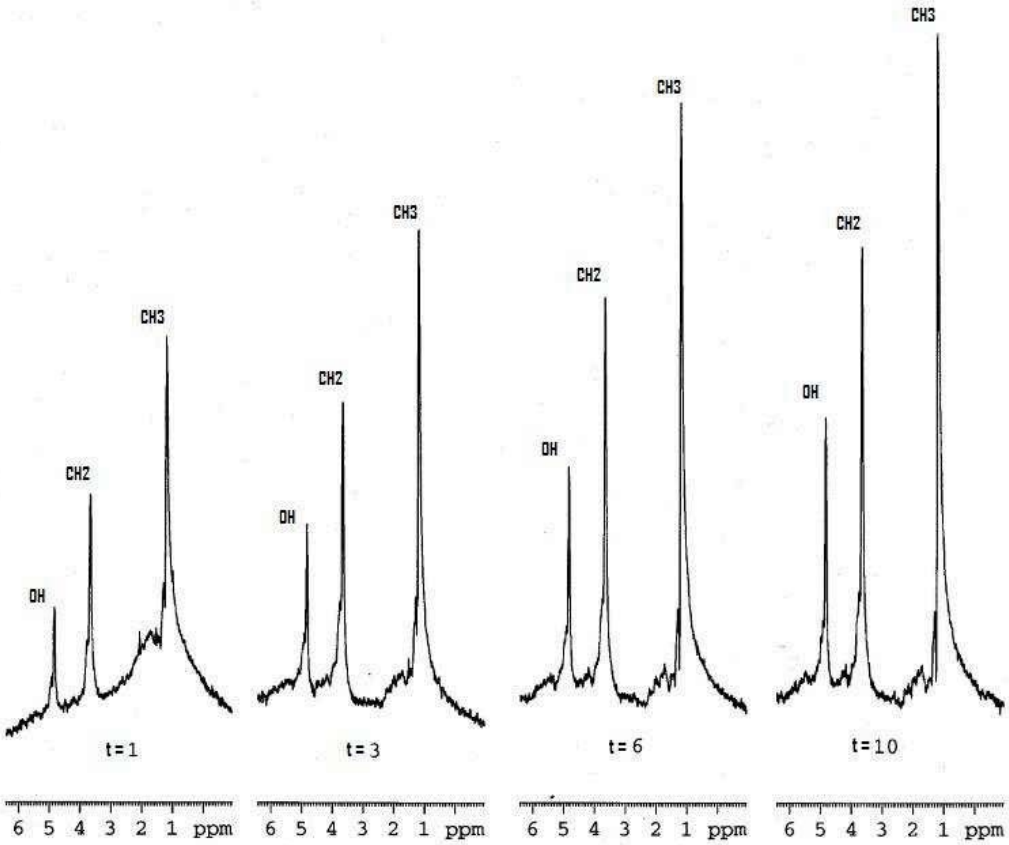


Figure III-32 : La figure présente quatre spectres de l'éthanol tous obtenus avec 64 acquisitions. Le premier a été obtenu avec une durée entre chaque acquisition d'une seconde, le second avec trois secondes, le troisième avec six secondes et le dernier avec dix secondes.

On observe que plus le temps de répétition est long, plus le rapport signal sur bruit est élevé. L'homogénéité du spectre est plus grande dans le cas où la durée entre chaque acquisition est de dix secondes. On remarque que la ligne de base (bruit) est plus constante ce qui améliore le rapport signal sur bruit et la qualité de détection.

Normalement, à partir d'un temps de répétition supérieur ou égale à cinq fois le temps de relaxation, le rapport signal sur bruit arrive à une valeur limite, en effet, la courbe présentée figure III-33 semble tendre vers une valeur limite.

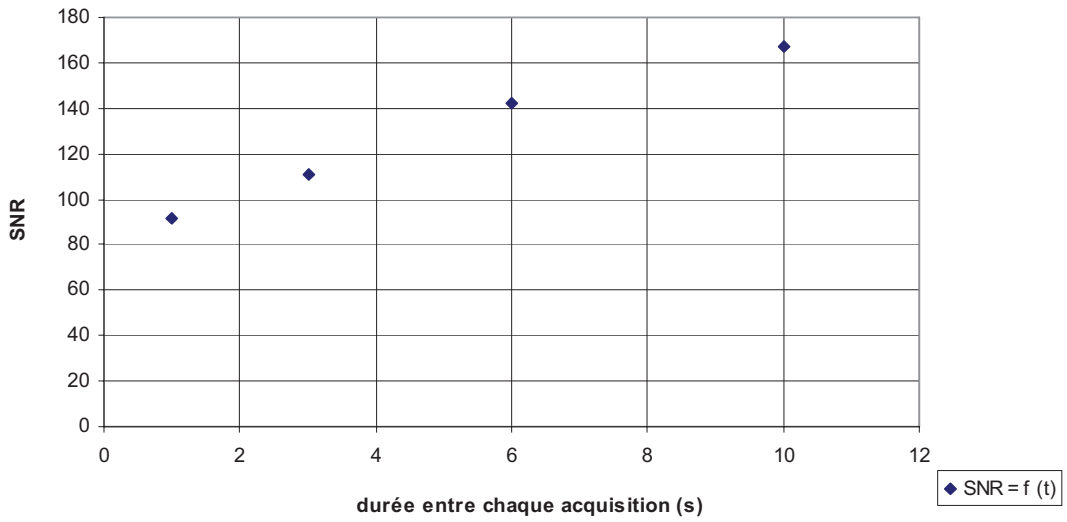


Figure III-33 : valeurs mesurées de SNR en fonction de la durée entre chaque acquisition

5.1.2 Durée d'impulsion

Un autre paramètre important peut être réglé lorsque l'on veut optimiser le rapport signal sur bruit quand on utilise des microsystèmes en spectroscopie RMN, c'est la durée de l'impulsion, τ. Celle-ci est directement liée à l'angle de basculement lors de l'excitation des aimantations des noyaux, (expression III-6).

$$\theta(r) = \gamma.B_1(r).\tau \qquad \textbf{III-6}$$

Cet angle de basculement varie en fonction du point observé pour des antennes planaires. Dans notre cas, on cherche à obtenir le maximum de signal, c'est-à-dire de faire basculer le maximum d'aimantations de noyaux de l'échantillon d'un angle de 90°, chapitre 1. La figure III-34 représente un schéma explicatif d'une vue en coupe d'un microsystème avec les iso angles.

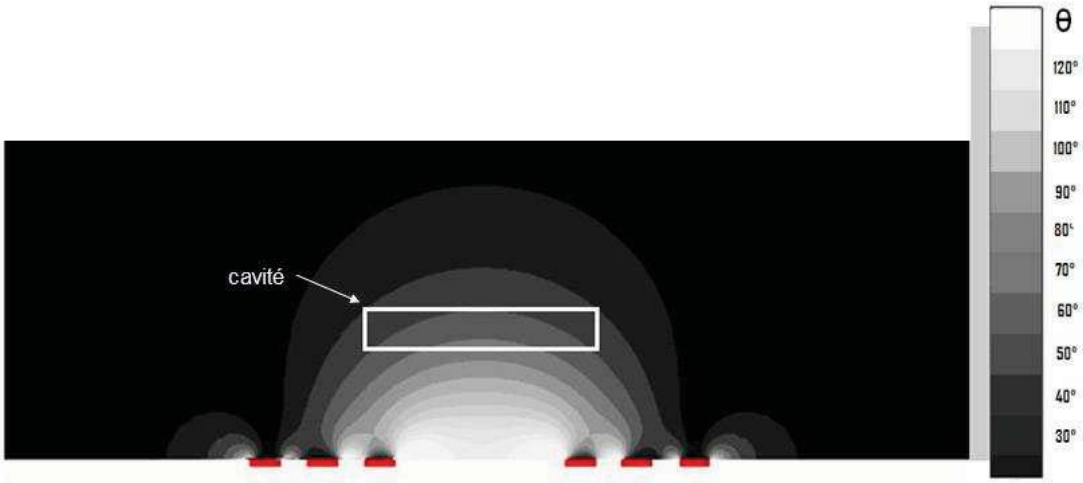


Figure III-34 : Schéma représentant une vue en coupe de l'antenne, de la cavité et des zones dans lesquelles l'angle de basculement est constant.

Le but est de trouver la durée adéquate pour que le maximum de noyaux de l'échantillon soient basculés d'un angle de 90° comme le montre le schéma de la figure III-34.

Grâce à un test effectué sur la console du spectromètre, on peut comparer la forme d'un spectre en fonction de la durée de l'impulsion qui a été appliquée pour l'obtenir. On a réalisé ce test sur un de nos microsystèmes, (figure III-35).

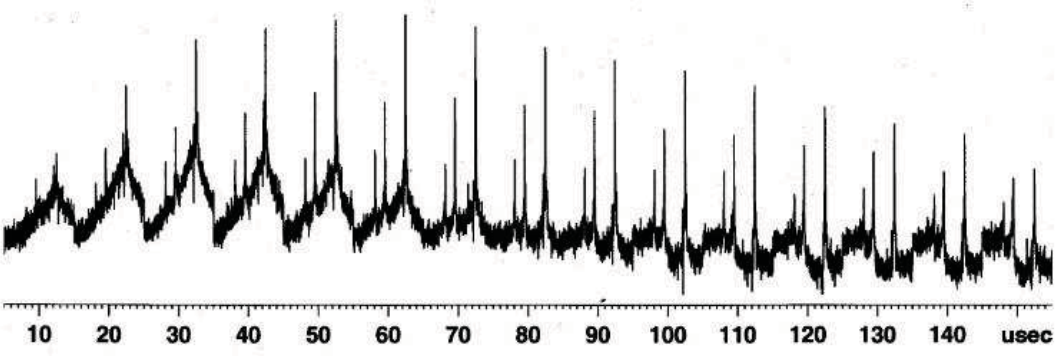


Figure III-35 : Observation des spectres de l'éthanol obtenus avec différentes durées d'impulsion lors de l'excitation des noyaux de l'échantillon.

On observe donc pour ce spectre de l'éthanol, que la durée de l'impulsion optimale pour obtenir le meilleur SNR est de 80µs. En effet, pour une durée plus courte d'impulsion (<80µs), la ligne de base (bruit) n'est pas constante ce qui entraine une baisse du rapport

signal sur bruit. Pour une durée plus grande, les pics ont une amplitude moins élevée et donc un rapport signal sur bruit plus faible.

Cette durée d'impulsion doit être vérifiée avant chaque expérience, car elle est différente en fonction du microsystème utilisé et varie aussi en fonction de l'échantillon.

5.2 Essais en Spectroscopie RMN des microsystèmes réalisés

5.2.1 Essais en Spectroscopie RMN du microsystème en COC

Le dispositif à base de COC est présenté sur la figure III-36.

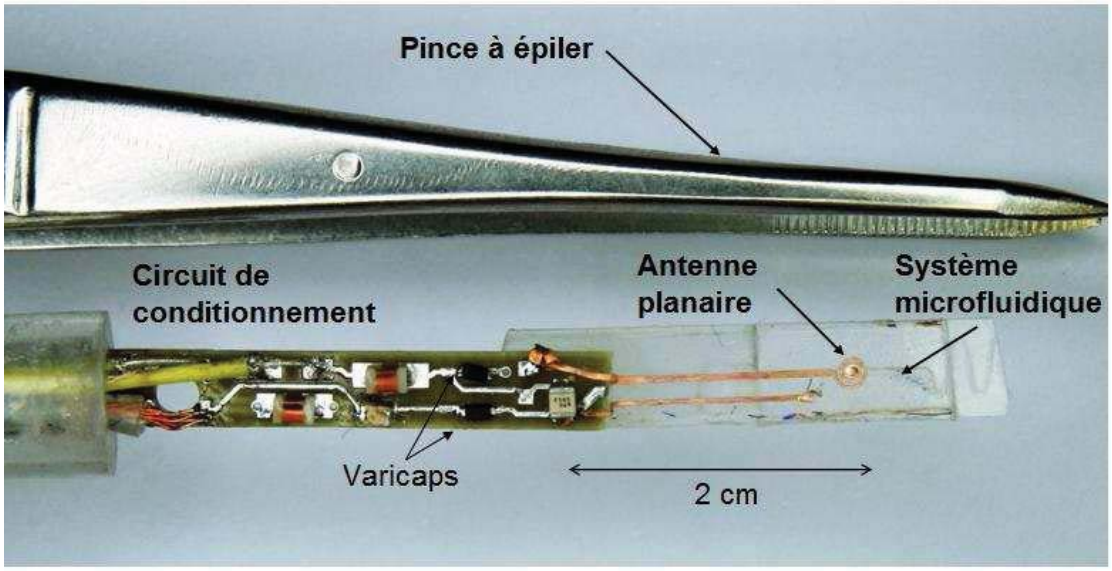


Figure III-36 : Photographie du dispositif final sur COC avec son système microfluidique et son circuit de conditionnement

Comme on peut le remarquer sur la figure III-36, le dispositif est constitué d'une partie entièrement réalisée sur un substrat en COC et de son circuit de conditionnement en circuit imprimé. Celui-ci est prévu pour rentrer dans les tubes d'analyse de 10 mm de diamètre. Ainsi, l'antenne (à droite) et les pistes en cuivre sont déposées sur un substrat en COC contenant le système microfluidique. Le circuit de conditionnement (à gauche) est réalisé sur une plaquette de PCB FR4 de 4 mm de largeur et 400µm d'épaisseur. Ce dispositif

a été testé en Spectroscopie RMN. Nous avons réussi à obtenir le spectre ^{1}H d'un volume de 150nL d'eau, (figure III-37).

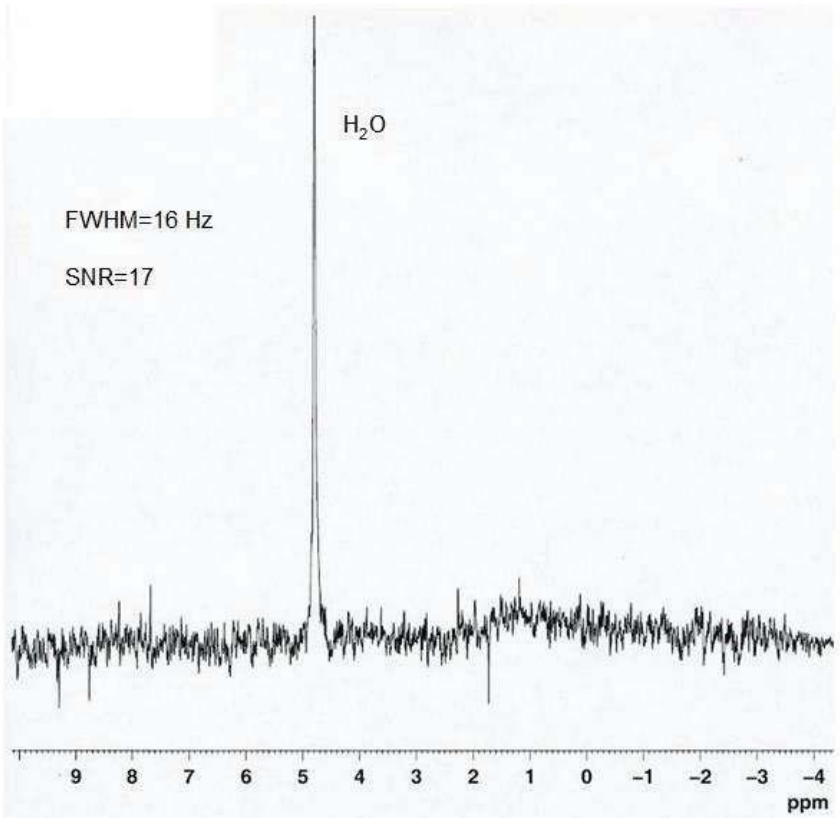


Figure III-37 : Spectre ^{1}H de l'eau à 500MHz obtenus avec un spectromètre créant un champ magnétique de 11.74T

Le spectre de la figure III-37 a été obtenu avec une seule acquisition et un temps d'acquisition de 1.64 seconde. La largeur à mi-hauteur de la raie d'eau est de 0.03ppm et le rapport signal sur bruit de 17. On observe une très bonne homogénéité de la raie d'eau, c'est-à-dire que la forme du pic est très homogène, même à la base, où on ne remarque pas de gros élargissement, de plus la ligne de base est constante.

Ce dispositif a été testé aussi pour obtenir le spectre ^{1}H de 150nL d'éthanol, (figure III-38).

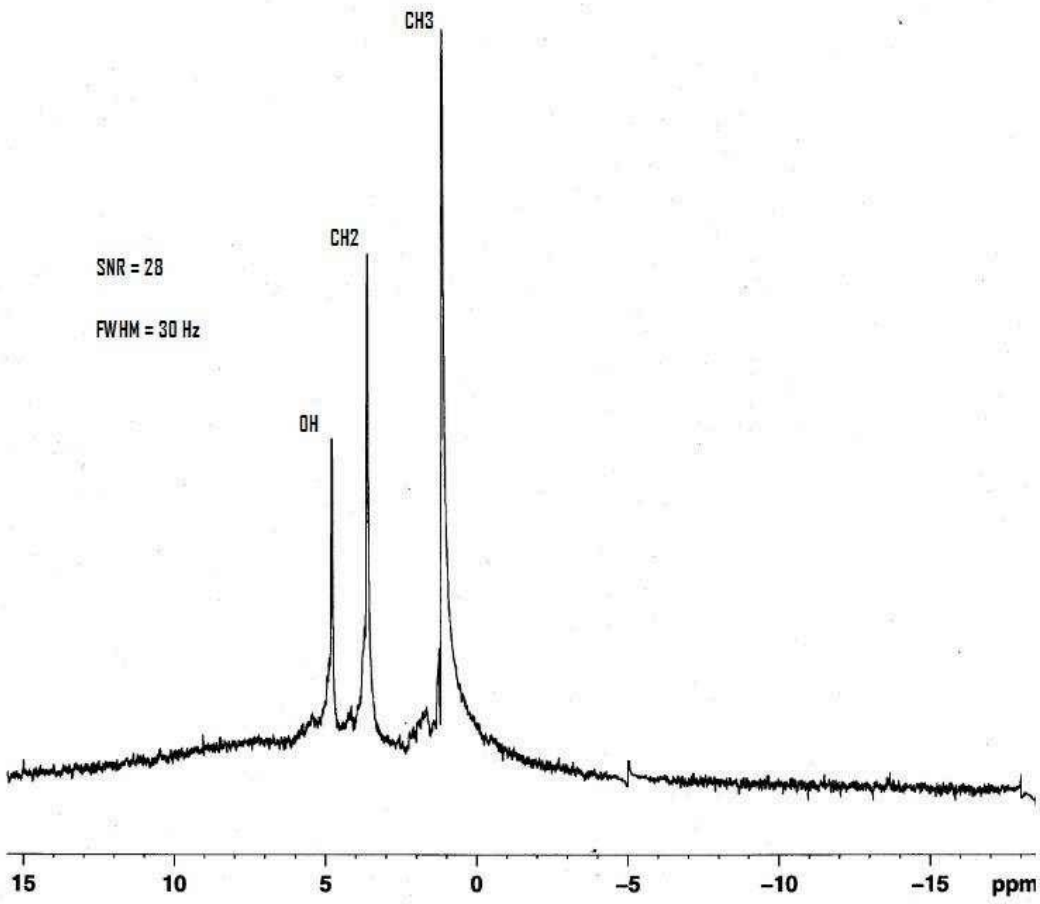


Figure III-38 : Spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu avec notre microsystème en COC et un spectromètre de 500MHz

Le spectre de la figure III-38 a été obtenu avec 16 acquisitions et un temps de répétition de 10 secondes. On observe les trois pics caractéristiques d'un spectre de l'éthanol à 99.8% (contenant 0.2% d'eau). La largeur à mi-hauteur est de 0.06ppm et le rapport signal sur bruit est de 7 (ramener à une acquisition) avec une durée d'impulsion de 80µs.

Ces valeurs de largeurs à mi-hauteur sont grandes si on les compare à celles obtenus en utilisant les antennes classiques du spectromètre sur des solutions similaires, dont les raies spectrales sont plutôt de l'ordre de deux Hertz de largeur. Mais, pour un microsystème comme le notre, ces largeurs à mi-hauteur sont très intéressantes et même plus fine que celle obtenue avec des microsystèmes à base de verre ou de silicium [3].

Par contre, le rapport signal sur bruit est faible, mais pour ce type de microsystème, il est du même ordre de grandeur que ceux obtenus avec des microsystèmes en verre.

5.2.2 Essais en spectroscopie RMN du microsystème composite PCB/COC

Ce dispositif est réalisé sur un circuit imprimé de 4mm de large et 400µm d'épaisseur. Le système microfluidique est fabriqué en COC et permet la rétention de 150nL de produit à proximité de l'antenne. Celui-ci est prévu pour rentrer dans les tubes d'analyse de 5mm de diamètre. Le circuit de conditionnement (à gauche) est le même que celui du dispositif précédent.

Figure III-39 : Photographie du dispositif à base de PCB/COC avec son système microfluidique et son circuit de conditionnement

Ce dispositif a aussi été testé en Spectroscopie RMN. Nous avons réussi à obtenir le spectre ^{1}H de 150nL d'eau, (figure III-40).

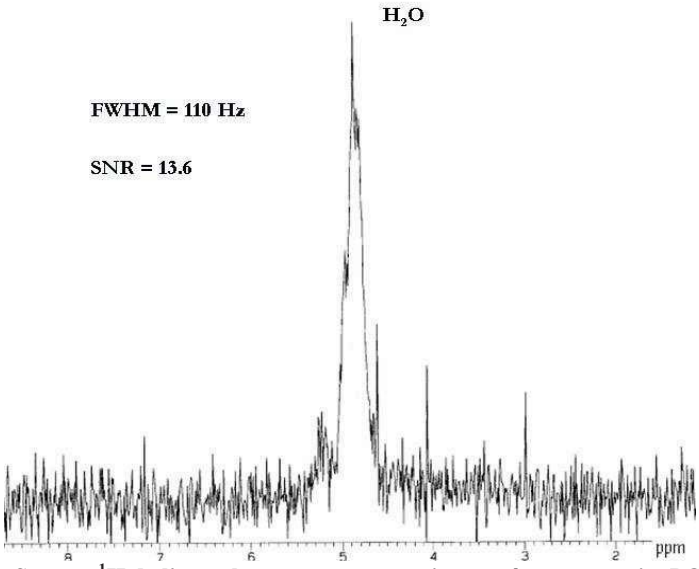


Figure III-40 : Spectre ^{1}H de l'eau obtenu avec notre microsystème composite PCB/COC et un spectromètre créant un champ magnétique de 11.74 T

Le spectre de la figure 3-40 a été obtenu avec une seule acquisition et un temps d'acquisition de 1.64 seconde. La largeur à mi-hauteur de la raie d'eau est de 0.2ppm et le rapport signal sur bruit de 13.6.

Ce dispositif a été testé aussi pour obtenir le spectre ^{1}H de l'éthanol, (figure III-41).

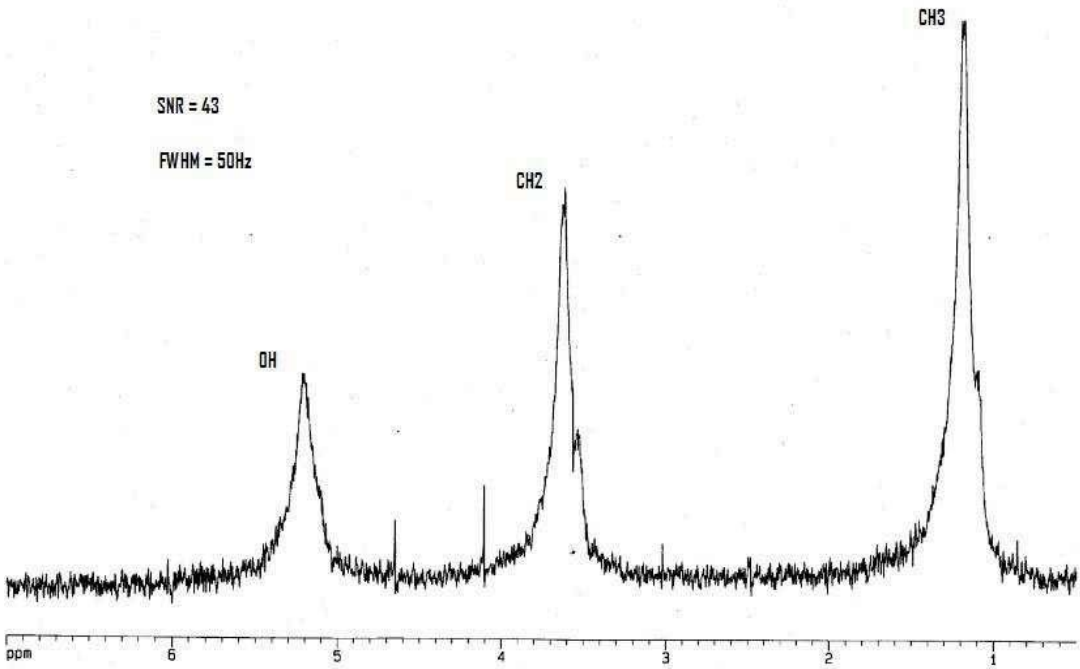


Figure III-41 : Spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu avec notre microsystème composite PCB/COC et un spectromètre de 500MHz

Le spectre de l'éthanol a été obtenu avec 64 acquisitions. Les trois raies correspondantes aux groupes OH, CH2 et CH3 sont présentes. Le rapport signal sur bruit a été mesuré et vaut 43 pour une durée d'impulsion de 62µs (maximum de signal pour ce dispositif) et une durée entre chaque acquisition de trois secondes. La largeur à mi-hauteur vaut 0.1ppm.

On remarque dans un premier temps que la largeur à mi-hauteur des spectres obtenus avec notre microsystème composite PCB/COC est très grande. La résolution spectrale est de moins bonne qualité que celle obtenue avec nos microsystèmes en COC et ceux en verre et silicium de la littérature.

Le rapport signal sur bruit par unité de temps est aussi du même ordre de grandeur que celui obtenu avec le microsystème en COC.

L'objet du paragraphe suivant est de proposer une analyse du rapport signal sur bruit obtenu expérimentalement en réalisant une comparaison en les valeurs théoriques prédites par le modèle numérique que nous avons développé (présenté au chapitre II) et les valeurs effectivement mesurées. L'analyse de la résolution spectrale (largeur à mi-hauteur des raies) fera l'objet d'une étude très détaillée au chapitre IV.

5.3 Rapport signal sur bruit calculé théoriquement et mesurés

5.3.1 Détermination du rapport signal sur bruit à partir d'un spectre

L'amplitude du signal RMN enregistré dans le domaine temporel (ou la surface intégrée sous la raie dans le domaine fréquentiel) sont proportionnels au nombre de noyaux dans l'échantillon et au rapport signal sur bruit. Expérimentalement, cette valeur est obtenue en utilisant la console du spectromètre, qui calcule directement cette valeur à partir des signaux extraits.

5.3.2 Rapport signal sur bruit théorique

Le rapport signal sur bruit (SNR) est calculé grâce au logiciel, développé dans le chapitre 2, qui a permis d'optimiser l'antenne planaire. Mais, si on considère l'atténuation du signal due à la connexion entre les câbles et le bruit du préamplificateur de la chaine de mesure du spectromètre, non pris en compte par le logiciel, la valeur calculée de SNR doit être divisée par un facteur F (facteur de bruit) pour être comparée à celle de l'expérience. En effet, le facteur de bruit F est égal au rapport entre le signal sur bruit en entrée de chaine d'acquisition par celui en sortie. Afin de calculer F, nous utilisons la formule de Friis, (expression III-7).

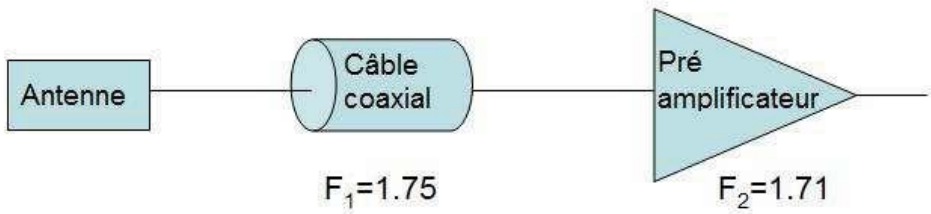


Figure III-42 : Schéma représentant les composants électriques susceptibles de diminuer le rapport signal sur bruit

$$F = F_1 + \frac{F_2 - 1}{G_1} \qquad \textbf{III-7}$$

où F_1 et F_2 sont les facteurs de bruit du câble coaxial et du préamplificateur et G_1 est le gain du câble. Le câble coaxial est un atténuateur, le facteur de bruit est égal à l'atténuation en dB. Ainsi, l'atténuation due au câble coaxial est de 1.75 dB à 500 MHz, celui du préamplificateur est de 2.35 dB. Ce qui nous donne un facteur de bruit F = 3, identique pour les deux expériences réalisées avec le dispositif en COC et celui en composite PCB/COC. Les valeurs mesurées et calculées de SNR seront comparées dans le tableau III-8 du paragraphe 5.3.4. Mais au préalable, il est nécessaire de définir comment sera évaluée la limite de détection des microsystèmes réalisés, ce qui est l'objet du paragraphe suivant.

5.3.3 Définition de la limite de détection

Les performances d'un microsystème en spectroscopie RMN sont définies par un seuil de détection, S_m, défini par le rapport entre le rapport signal sur bruit et le nombre de moles analysées, mol, (normalisé à une seule acquisition), expression III-8 [24-27].

$$S_m = \frac{SNR}{mol\sqrt{N_{acq}}} \qquad \textbf{III-8}$$

Habituellement, une limite de détection arbitraire est posée en spectroscopie RMN supposant que le rapport signal sur bruit doit être au moins égale à 3 dans une expérience. On en déduit que la limite de détection est donnée par l'expression III-9 [28, 29].

$$LOD_m = \frac{3.mol}{SNR_f\sqrt{N_{acq}}} \qquad \textbf{III-9}$$

Ces valeurs de limite de détection sont calculées pour les deux expériences réalisées avec le microsystème en COC et celui en PCB/COC, (tableau III-8).

5.3.4 Rapport signal sur bruit et limite de détection mesurés

Le rapport signal sur bruit et la limite de détection sont évalués à partir des spectres ^1H de l'eau obtenus avec nos microsystèmes en COC et en PCB/COC utilisés dans un spectromètre de 500MHz. Leur valeur est normalisée par rapport au nombre d'acquisition pour pouvoir les comparer aux valeurs calculées.

Les éléments importants pour caractériser les expériences en spectroscopie par RMN sont : le type de molécule présent dans l'échantillon d'analyse, le nombre de moles, le volume de celui-ci, l'épaisseur de membrane entre l'antenne et l'échantillon, et le nombre d'acquisitions effectuées pour la mesure, (tableau III-8).

Microsystème	Microsystème composite PCB/COC	Microsystème en COC	Microsystème en COC	Microsystème en verre littérature [2]
Volume échantillon	150nL	150nL	150nL	120nL
Nombre de moles dans l'échantillon	8.25µmol	8.25µmol	8.25µmol	6µmol
Epaisseur de membrane	200µm	530µm	250µm	65µm
Molécule (C en mol.L^{-1})	eau (55)	Eau (55)	eau (55)	eau(55)
SNR calculé	81	57	84	320
SNR mesuré	13.8	17	35.5	260
LODm	1.8 µmol	1.3µmol	0.69µmol	80nmol

Tableau III-8 : Rapport signal sur bruit normalisée par rapport au nombre d'accumulations, limites de détection en fonction de la concentration et largeur à mi-hauteur pour les deux dispositifs présentés dans ce chapitre.

Microsystème	Microsystème PCB/COC	Microsystème en COC
Volume échantillon	150nL	150nL
Nombre de moles	2.55µmol	2.55µmol
Epaisseur de membrane	200µm	250µm
Molécule (C en mol.L^{-1})	Ethanol (17)	éthanol (17)
SNR calculé	14	19.4
SNR mesuré	5.3	7
LODm	1.44 µmol	1.13µmol

Tableau III-9 : Rapport signal sur bruit normalisée par rapport au nombre d'accumulations, limites de détection en fonction de la concentration et largeur à mi-hauteur pour les deux spectres de l'éthanol obtenu avec les microsystèmes en COC et en PCB/COC.

Conformément aux raies spectrales obtenues avec un échantillon d'eau et celles obtenues avec un échantillon d'éthanol, les rapports signal sur bruit mesurés sont plus faibles que ceux calculés théoriquement.

Ces valeurs ont été comparées à celles trouvées dans une étude portant sur un microsystème fabriqué en verre de dimensions comparables au notre.

On a remarqué que nos valeurs étaient inférieures aux leurs, mais cette différence s'explique notamment à cause d'une épaisseur supérieure de la membrane dans notre cas.

En effet, nos microsystèmes ont une épaisseur de membrane de 250µm et 530µm alors qu'elle n'est que de 65µm pour celui de la littérature. En se référant aux résultats obtenus au chapitre 2, (figure II-20) on sait que le rapport signal sur bruit diminue lorsque l'on augmente l'épaisseur de membrane.

De plus, si on compare nos deux microsystèmes en COC, (tableau III-8) fabriqués avec différentes épaisseurs de membrane, on observe que les rapports signal sur bruit mesurés sont différents. En effet, celui formé d'une épaisseur de membrane de 250µm permet d'obtenir un rapport signal sur bruit de 35.5, et celui formé d'une membrane de 530µm permet d'obtenir un rapport signal sur bruit de 17. Cette différence était prévu par les calculs effectués au chapitre II, (figure II-20) car on observe une diminution d'un rapport deux du SNR entre un microsystème formé d'une membrane de 250µm et 500µm.

On en conclue que les rapports signal sur bruit mesurés à partir de nos microsystèmes sont de deux à trois fois plus faibles qu'ils ne devraient être. Cette dégradation de la sensibilité lors des expériences peut être expliquée par deux paramètres expérimentaux.

Premièrement, comme on l'a vu au chapitre II, le logiciel de simulation ne prend pas en compte la résistance introduite par le wire-bonding permettant la reprise de contact au centre des spires de l'antenne. La résistance d'un wire-bonding de 3mm de long a une valeur non négligeable, elle est de 0.3Ω à 500MHz par rapport à la résistance série de l'antenne qui est de 0.5Ω. Cette résistance s'ajoute à la résistance série de l'antenne et dégrade le facteur de qualité. En ajoutant cette valeur dans le modèle de calcul du rapport signal sur bruit, le SNR calculé vaut alors 38 au lieu de 57. Mais un facteur deux reste encore à expliquer entre la valeur calculée et celle mesurée.

Ensuite, bien que l'outil de calcul tienne compte des pertes de signal dues au facteur de bruit de la chaine de traitement, (chapitre II), il ne prévoit pas les pertes de signal résultantes d'un accord et d'une adaptation de l'antenne non parfaite. Dans notre cas, l'accord et l'adaptation de l'antenne sont difficiles à réaliser sur la console du spectromètre car une fois l'antenne introduite dans le spectromètre, la courbe de S_{11} n'a plus une forme aussi idéale que celle observée à l'analyseur de réseau en dehors de l'environnement du spectromètre. Il nous est donc impossible de connaitre la partie du signal réfléchie par le câble coaxial et donc la perte de signal due à une adaptation d'impédance imparfaite.

Les valeurs de rapport signal sur bruit et de la concentration de l'échantillon permettent de calculer la valeur de la limite de détection des dispositifs, expression III-9. Les limites de détection calculées à partir des spectres sont de 1.8 et 1.3µmol, (tableau III-8).

Pour montrer les limites de détection de notre microsystème en COC, le spectre ^1H de glucose a été acquis. Le glucose est dissout dans du D_2O, qui est chimiquement identique à l'eau, mais les atomes d'hydrogène dont elle est composée sont des isotopes lourds (deutérium), dont le noyau n'est pas visible en RMN. Le glucose n'est pas dissout dans l'eau car, le spectre de cette solution ne montrerait que la raie de l'eau qui est en concentration très supérieure en proton. Comparé à un échantillon d'eau de densité de spin ($Ns = 6.10^{28}m^{-3}$), la densité de spin du glucose est $Ns = 6.10^{26}m^{-3}$, ce qui réduit la constante d'aimantation de l'échantillon d'un facteur 100 et donc le rapport signal sur bruit d'un facteur 100.

Pour obtenir une concentration de 2mol/L, il faut dissoudre 100mg de glucose dans un millilitre de D_2O. Deux expériences sont réalisées pour comparer les spectres du glucose, l'un est obtenu avec l'antenne interne du spectromètre et l'autre est obtenu avec notre microsystème en COC, (figure III-44).

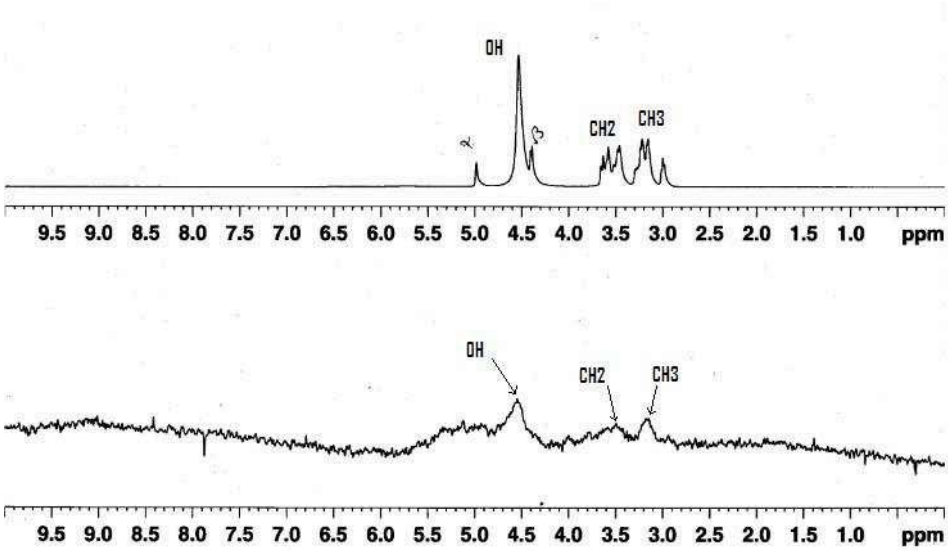


Figure III-43 : Spectres ^{1}H du glucose dilué dans du D2O obtenu avec l'antenne du spectromètre (en haut) et avec notre microsystème (en bas)

Le spectre ^{1}H du glucose de la figure 3-41 obtenu avec notre microsystème en COC (en bas) est difficile à analyser car le rapport signal sur bruit est trop faible malgré les 64 acquisitions effectuées pour l'obtenir. Le rapport signal sur bruit est mesuré sur la molécule dont le pic est de plus faible amplitude, et s'avère être inférieur à la valeur limite de 3.

Mais la différence entre ces deux spectres s'explique surtout par la quantité de produit analysé dans chacune des expériences. En effet, le spectre obtenu avec l'antenne interne du spectromètre utilise 50µL de solution de glucose alors que notre microsystème analyse seulement 150nL. Le spectre obtenu avec l'antenne du spectromètre a nécessité plus de 300 fois plus de glucose qu'avec notre microsystème.

Pour obtenir un spectre utilisable en spectroscopie RMN du glucose avec nos microsystèmes, il faudrait quelques centaines voire quelques milliers d'acquisitions. Etant donné qu'il faut compter au moins dix secondes entre chacune d'entre elles, le temps d'analyse devient très important (quelques heures).

Ainsi, on peut conclure que nos microsystèmes ont un véritable intérêt en spectroscopie RMN car ils rendent possible l'analyse de très faibles quantités de molécules de quelques micromoles, même si, les temps d'analyse pour des échantillons faiblement concentrées en protons peuvent être longs.

6 Conclusion

Ce chapitre a permis de décrire plusieurs procédés de microfabrication nécessaires à la réalisation de dispositifs fonctionnant en RMN.

Dans un premier temps a été développée la réalisation d'une microantenne planaire fabriquée par le procédé de LIGA UV sur un substrat en polymère (COC). Ce procédé LIGA regroupe différents procédés de microfabrication tels que le dépôt de cuivre par évaporation, la photolithographie UV et l'électrodéposition de cuivre. Tous ont été développés et optimisées pour réaliser une microantenne planaire de dimensions équivalentes à celle calculée dans le chapitre 2 pour optimiser le rapport signal sur bruit (rayon interne égale à 450µm, une largeur de spire et d'interspire égale à 150µm).

Ensuite, la fabrication du réseau microfluidique en COC a été réalisée par Hot Embossing. Les paramètres de pression, de température et de durée appliqués avec une presse chauffante régulée en température ont été optimisés pour fabriquer des films de COC d'épaisseur comprise entre 200µm et 500µm. Les structures des microcanaux et de la cavité sont obtenues par pression à chaud d'un moule en nickel/inox réalisé au préalable grâce au procédé LIGA. Celui-ci est utilisé cette fois-ci pour former des microstructures en nickel d'épaisseur 150µm à la surface du moule. Le réseau microfluidique est enfin scellé par collage d'un film de COC à sa surface en utilisant une technique de liquéfaction par évaporation d'un solvant (méthylcyclohexane).

La fabrication d'une antenne planaire sur un substrat en COC et la réalisation d'un système microfluidique en COC nous ont permis de créer un microsystème fonctionnant en spectroscopie RMN. D'abord en fabricant une antenne planaire au plus proche de l'échantillon. Pour la créer, il faut électro-déposer l'antenne sur le système microfluidique en COC. Deux microsystèmes en COC ont été produit par cette méthode, ils sont formés d'épaisseurs de membrane différentes, une d'épaisseur 250µm et l'autre de 530µm.

Enfin, pour que ces microsystèmes fonctionnent en RMN, la conception et la fabrication d'un circuit de conditionnement (permettant l'accord de l'antenne à 500MHz et l'adaptation d'impédance à 50Ω) a été réalisé. Ainsi, pour réaliser l'accord et l'adaptation de l'antenne à l'intérieur du spectromètre, nous avons utilisés un circuit capacitif parallèle à base de varicaps, ce qui permet un réglage déporté à l'extérieur de l'aimant du spectromètre.

Tous ces microsystèmes ont été testés en RMN grâce à un spectromètre produisant un champ magnétique de 11.74T. Les spectres ^{1}H de l'eau et de l'éthanol ont été extraits et analysés. Le rapport signal sur bruit mesuré sur chaque spectre est comparé aux valeurs calculées théoriquement grâce au logiciel développé au chapitre II. On remarque que le rapport signal sur bruit mesuré est deux fois plus faible que celui calculé, cependant des explications sont proposées.

En revanche, une comparaison a été effectuée sur les microsystèmes en COC formés d'épaisseurs de membrane différentes. Les calculs effectués au chapitre II sur la sensibilité des microsystèmes en fonction de l'épaisseur de membrane prévoient un rapport de deux entre une épaisseur de 250µm et 530µm sur la valeur du SNR, ce qui est en effet observé expérimentalement sur les spectres de l'eau acquis avec ces deux microsystèmes (SNR_{530}=17 et SNR_{250}=35.5).

Les limites de détection de nos microsystèmes sont de l'ordre de 1µmol d'eau et d'éthanol, ce qui permet de détecter parfaitement des molécules concentrées en proton comme les solvants organiques. Ainsi, on peut conclure que nos microsystèmes permettent d'analyser des quantités bien inférieures au microlitre, ce qui correspond à quelques micromoles de produit. De plus, pour des molécules concentrées en protons, leur utilisation a un véritable intérêt en termes de quantité de produit chimique et vitesse d'analyse pour la RMN. Par contre, pour des solutions peu concentrée en proton, le temps d'analyse devient très important avec ces microsystèmes en raison des valeurs de limites de détections élevées les caractérisant.

Microsystème	PCB/COC	PCB/COC	COC	COC
Volume échantillon	150nL	150nL	150nL	150nL
Nombre de moles dans l'échantillon	8.25µmol	2.55µmol	8.25µmol	2.55µmol
Epaisseur de membrane	200µm	200µm	530µm	250µm
Molécule (C en $mol.L^{-1}$)	eau (55)	éthanol (17)	eau (55)	éthanol (17)
FWHM	0.2ppm	0.1ppm	0.03ppm	0.6ppm
Tacq (Nacq)	1.64s (1)	1.64s (64)	1.64s (1)	1.64s(64)
SNR_f mesuré	13.8	43	17	28
LODm	1.8 µmol	1.44 µmol	1.3µmol	1.13µmol

Tableau III-10 : Rapport signal sur bruit normalisée par rapport au nombre d'accumulations, limites de détection en fonction de la concentration et largeur à mi-hauteur pour les microsystèmes présentés dans ce chapitre.

En comparant les spectres obtenus avec les microsystèmes à base de COC et ceux en composite PCB/COC, une observation sur la largeur de raie est effectuée. Les résolutions spectrales que nous avons obtenues avec ces dispositifs sont très différentes, c'est pourquoi, nous allons voir dans le chapitre IV comment prévoir la résolution des spectres à partir de la géométrie de la sonde et de l'intensité du champ statique utilisé. Une étude numérique va être réalisée afin de comprendre quel paramètre de notre expérience élargit les raies spectrales.

Bibliographie

1. Loechel B., a.a., *Extreme aspect ratio NiFe gear wheels for the production of commercially available Micro Harmonic Drive gears.* Microsystem Technologies, 2008. **14**(9-11): p. 1675-1681.

2. Massin, C., et al., *Planar microcoil-based microfluidic NMR probes.* Journal of Magnetic Resonance, 2003. **164**(2): p. 242-255.

3. Dechow, J., et al., *Fabrication of NMR - microsensors for nanoliter sample volumes.* Microelectronic Engineering, 2000. **53**(1-4): p. 517-519.

4. Renaud, L., et al., *Implantable planar rf microcoils for NMR microspectroscopy.* Sensors and Actuators a-Physical, 2002. **99**(3): p. 244-248.

5. Roth S., D.L., Racine G.A., *High aspect ratio UV photolithography for electroplated structures.* Journal of Micromechanics and Microengineering, 1999. **9(2)**: p. 105-108.

6. Gorzolnik B., M.P., Moeller M., *Nano-structured micropatterns by combination of block copolymer self-assembly and UV photolithography.* Nanotechnology, 2006. **17**(19): p. 5027-5032.

7. Critchley K., Z.L.X., Fukushima H., *Soft-UV photolithography using self-assembled monolayers.* Journal of Physical Chemistry B, 2006. **110**(34): p. 17167-17174.

8. Stephan K., P.P., Renaud L., Kleimann P., Morin P., Ouaini N., Ferrigno R., *Fast prototyping using a dry film photoresist: microfabrication of soft lithography masters for microfluidic structures.* J. Micromech. Microeng, 2007. **17**: p. N69-N74.

9. Roetting, O., M. Heckele, and W. Bacher, *Reactive ion etching for the production of metal microstructures by hot embossing.* Microsystem Technologies, 1999. **6**(1): p. 11-14.

10. Heckele, M., W. Bacher, and K.D. Muller, *Hot embossing - The molding technique for plastic microstructures.* Microsystem Technologies, 1998. **4**(3): p. 122-124.

11. Martynova L., L.L.E., Gaitan M., Kramer G.W., Christensen R.G. and MacCrehan W.A., *Fabrication of plastic microfluid channels by imprinting methods.* Analytical Chemistry, 1997. **69(23)**: p. 4783-4789.

12. Whitesides G.M., O.E., Takayama S., Jiang X.Y. and Ingber D.E., *Soft lithography in biology and biochemistry.* Annual Review of Biomedical Engineering, 2001. **3**: p. 335-373.

13. McDonald J.C., D.D.C., Anderson J.R., Chiu D.T., Wu H.K., *Fabrication of microfluidique systems in poly(dimethylsiloxane).* Electrophoresis, 2000. **21(1)**: p. 27-40.

14. Schift, H., et al., *Nanostructuring of polymers and fabrication of interdigitated electrodes by hot embossing lithography.* Microelectronic Engineering, 1999. **46**(1-4): p. 121-124.

15. H. Becker , L.E.L., *Polymer microfluidic devices.* Talanta, 2002. **56**: p. 267-287.

16. Wang, J., *Towards disposable lab-on-chip : Poly(methylmethacrylate) microchip electrophoresis device with electrochemical detection.* Electrophoresis, 2002. **23**: p. 596-601.

17. Akedo J. , P.J., Tsuda H., *Fine patterning of ceramic thick layer on aerosol deposition by lift-off process using photoresist.* Journal of Electroceramics, 2009. **22**(1-3): p. 319-326.

18. Park B.Y. , Z.R., and Madou M.J., *Fabrication of microelectrodes using the lift-off technique.* Methods Mol Biol, 2006: p. 321.

19. Hwang, F. and D.I. Hoult, *Automatic probe tuning and matching.* Magnetic Resonance in Medicine, 1998. **39**(2): p. 214-222.

20. Ackerman, J.J.H., et al., *Observation of H-1-Nmr Signals with Receiver Coils Tuned for Other Nuclides.* Journal of Magnetic Resonance, 1981. **42**(3): p. 498-500.

21. Webb, A.G., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.* 1997. **31**: p. 1-42.

22. Muftuler, L.T., et al., *Automatic tuned MRI RF coil for multinuclear imaging of small animals at 3T.* Journal of Magnetic Resonance, 2002. **155**(1): p. 39-44.

23. Gordon, R.E. and W.E. Timms, *An Improved Tune and Match Circuit for B0 Shimming in Intact Biological Samples.* Journal of Magnetic Resonance, 1982. **46**(2): p. 322-324.

24. Lacey, M.E., et al., *High-resolution NMR spectroscopy of sample volumes from 1 nL to 10 mu L.* Chemical Reviews, 1999. **99**(10): p. 3133-+.

25. Webb, A.G., *Microcoil nuclear magnetic resonance spectroscopy.* Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis, 2005. **38**(5): p. 892-903.

26. Olson, D.L., et al., *Microflow NMR: Concepts and capabilities.* Analytical Chemistry, 2004. **76**(10): p. 2966-2974.

27. Olson, D.L., et al., *Nanoliter-volume H-1 NMR detection using periodic stopped-flow capillary electrophoresis.* Analytical Chemistry, 1999. **71**(15): p. 3070-3076.

28. Currie, L.A., *Detection and quantification limits: origins and historical overview.* Analytica Chimica Acta, 1999. **391**(2): p. 127-134.

29. Andersson, H., et al., *A valve-less diffuser micropump for microfluidic analytical systems.* Sensors and Actuators B-Chemical, 2001. **72**(3): p. 259-265.

CHAPITRE IV Influence des inhomogénéités de champ et de l'amortissement radiatif sur la résolution spectrale

Sommaire :

1 Introduction

2 Résolution spectrale en spectroscopie par RMN

3 Modélisation par éléments finis des distorsions magnétiques induites par la microsonde RMN

4 Calcul numérique de la résolution spectrale

5 Amortissement radiatif dans une expérience à 11.74 Tesla

1 Introduction

Le développement de la transformée de Fourier pour la RMN par Ernst dans le milieu des années 60 a permis d'analyser les signaux de FID d'un échantillon contenant différentes molécules car le détecteur reçoit en même temps autant de signaux FID de fréquences distinctes qu'il y a de noyaux ayants un environnement électronique différent. La transformée de Fourier permet d'observer instantanément la superposition de plusieurs signaux sous forme de raies à différentes fréquences, définies par leur déplacement chimique, (figure IV-1).

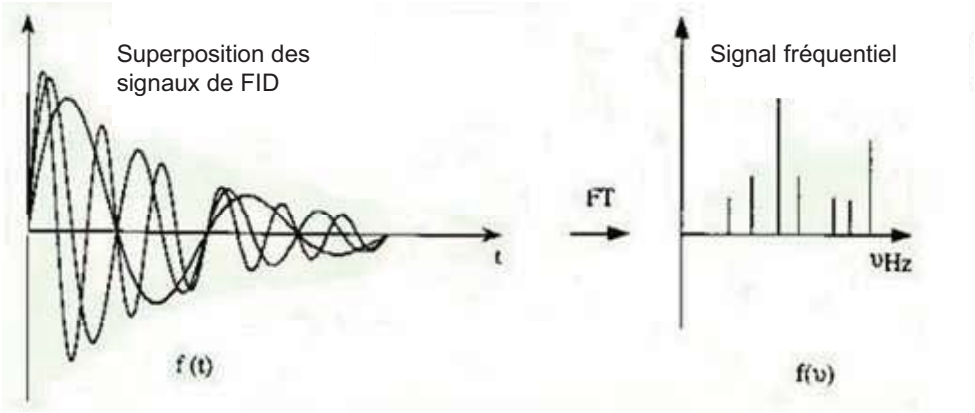


Figure IV-1 : Transformée de Fourier d'un signal RMN composé de plusieurs fréquences

La résolution spectrale est cruciale en RMN dans ce sens qu'elle permet d'observer les fines structures résultantes des déplacements chimiques. En pratique, la résolution spectrale est définie comme la largeur à mi-hauteur des raies spectrales obtenues. Pour des molécules complexes dont les spectres comportent plusieurs raies très proches en fréquence, il peut se produire un recouvrement de spectre (perte d'informations) si celles-ci sont élargies. La largeur des raies RMN dépend de plusieurs facteurs dont la qualité de l'appareillage [1], la relaxation de l'aimantation de spin, le nombre d'atomes d'hydrogène et la valeur de spin I (I=1/2 pour l'atome d'hydrogène).

Les spectromètres modernes utilisent des champs de plus en plus élevés, améliorant la sensibilité de l'expérience (cf. expression formule du SNR en fonction de B_0 chapitre I, I-17) et la séparation des raies spectrales des molécules observées (cf. expression du déplacement chimique dans le chapitre I, I-4) ce qui permet d'analyser des structures chimiques complexes comme par exemple les protéines. Par contre, les distorsions de champ magnétique induites par les variations de susceptibilité des différents éléments du microsystème augmentent avec

le champ, entraînant un élargissement des raies spectrales et la dégradation de la résolution spectrale.

Dans ce chapitre, nous commencerons par définir les temps de relaxation, caractéristiques du retour à l'équilibre des aimantations de spin et leurs corrélations avec la résolution des spectres obtenus expérimentalement. Puis, nous verrons que le champ magnétique varie à l'interface de deux milieux différents en raison des changements de susceptibilité magnétique propre à chaque milieu. Cette variation de champ entraine un élargissement des raies spectrales et donc une dégradation de la résolution spectrale.

Ensuite, afin de quantifier cet élargissement des raies dans notre étude, nous présenterons une méthode numérique permettant de calculer la forme des raies spectrales en fonction des conditions expérimentales. Pour cela, un modèle 3D du micro système fabriqué au chapitre III sera conçu avec le logiciel COMSOL®. Celui-ci nous permettant d'extraire par simulations, les données nécessaires au calcul de la forme des raies, dans le cas d'un champ non homogène. Nous comparerons ces résultats numériques aux spectres des expériences décrites dans le chapitre III.

Enfin, à partir des résultats numériques et expérimentaux sur la largeur des raies, nous verrons qu'il est nécessaire d'ajouter au modèle le phénomène d'amortissement radiatif. Tout d'abord, nous présenterons deux expériences permettant de montrer que l'amortissement radiatif participe à l'élargissement des raies, une étude en faisant varier le facteur de remplissage du microsystème et l'autre en faisant varier le nombre de protons de l'échantillon.

2 Résolution spectrale en spectroscopie par RMN

2.1 Temps de relaxation

En spectroscopie par RMN, comme présenté au chapitre 1, le terme « relaxation » décrit le retour à l'équilibre des vecteurs aimantations. Il représente la vitesse à laquelle les spins reprennent leur état d'équilibre après l'interruption de l'excitation. Il existe deux temps de relaxation nommés T_1 et T_2. T_1 est le temps de relaxation longitudinal. Il représente le temps que met la composante en z de l'aimantation pour reprendre 63% de sa valeur

d'origine. Ce temps dépend de l'amplitude du champ magnétique appliqué sur les spins. T_2 est le temps de relaxation transverse (aussi appelé « spin-spin » relaxation). Il représente le temps que met la composante perpendiculaire au champ B, pour atteindre 37 % de sa valeur initiale. Ce temps de relaxation transverse est un phénomène complexe : les variations du champ magnétique local induisent des modifications des fréquences de précession des différents spins ce qui induit la disparition de la composante transverse (en xy) de l'aimantation. Ainsi, T_2 dépend principalement de la phase des spins nucléaires et moins de l'intensité du champ magnétique que les valeurs de T_1.

Dans un système idéal où le champ magnétique est parfaitement homogène, tous les spins des noyaux de l'échantillon ont un mouvement de précession caractérisé par la même fréquence (cf. chapitre I paragraphe 3.1.2). Cependant, dans les systèmes réels, des petites variations de permittivité diélectrique relative des milieux peuvent engendrer une distribution de fréquences de précession autour de celle induite par le champ, c'est le phénomène de « décohérence ». Au cours du temps, cette distribution entraîne une perte de signal.

Ainsi, ces phénomènes de décohérence de noyaux dus à l'inhomogénéité du champ magnétique ne sont pas de vrais processus de relaxation. Ils dépendent de la position des molécules dans l'échantillon. Ainsi, le temps de relaxation transverse correspondant est noté T_2* et est toujours inférieur à T_2. L'expression IV-1 décrit la relation entre ces deux valeurs.

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{\text{inhom}}} = \frac{1}{T_2} + \gamma \Delta B_0 \qquad \textbf{IV-1}$$

Où γ représente le rapport gyromagnétique, et ΔB_0 la différence d'intensité locale du champ magnétique. Le temps réel de relaxation transverse T_2* dépend donc de l'homogénéité du champ et, comme on va le voir, influe sur la résolution spectrale.

2.2 Relation entre T_2^* et résolution spectrale

Le temps de relaxation transverse T_2* est directement lié à la largeur à mi-hauteur de la raie spectrale. Cette largeur à mi-hauteur appelée FWHM de l'anglais (Full Width at Half Maximum) est un des critères de la résolution spectrale. L'expression IV-2 définie la relation entre T_2* et FWHM [2, 3].

$$FWHM(Hz) = \frac{1}{\pi . T_2^*} \qquad \textbf{IV-2}$$

En fait, la différence entre T_2* et T_2 est assez importante même pour de faibles variations du champ magnétique. Le calcul de T_2 pour l'eau est donné dans la relation IV-3 [4].

$$\frac{1}{T_2} = \frac{K}{2}\left[3\tau_c + \frac{5\tau_c}{1+\omega_0^2\tau_c^2} + \frac{2\tau_c}{1+4\omega_0^2\tau_c^2}\right] \qquad \textbf{IV-3}$$

Où ω_0 est la pulsation de Larmor pour un champ magnétique B_0, τ_c est le temps de corrélation du mouvement des molécules. K est une constante, expression IV-4.

$$K = \frac{3\mu^2}{160\pi^2}\frac{\hbar^2\gamma^4}{r^6} \qquad \textbf{IV-4}$$

μ est le moment magnétique du noyau de spin 1/2, $\hbar$ est la constante de Planck normalisée, γ est le rapport gyromagnétique et r est la distance entre les deux noyaux portant le moment magnétique dipolaire. Dans le cas des molécules d'eau dans une phase liquide, la valeur de K est égale à $1{,}02.10^{10}$ s^{-2}. Le temps de corrélation τ_c est de l'ordre de la pico seconde et pour un champ de 1,5 Tesla, celui-ci est estimé à 5.10^{-12} s [5]. Le calcul de T_2 pour l'eau est d'environ 2,9 secondes.

Si l'on se réfère à l'expression IV-2, et si T_2* était égale à T_2, (c'est-à-dire le champ serait parfaitement homogène) alors le spectre aurait une largeur à mi-hauteur de 0,08 Hz. Or, les spectres de l'eau que nous avons obtenu, chapitre 3 ont des raies de largeurs à mi-hauteur de l'ordre de quelques Hertz voire quelques dizaines d'hertz. C'est pourquoi nous pouvons émettre l'hypothèse que l'inhomogénéité du champ magnétique due à la présence de notre microsystème RMN dans le tube d'analyse dégrade la résolution spectrale.

2.3 Distorsion du champ magnétique et susceptibilité magnétique

2.3.1 Susceptibilité magnétique

L'inhomogénéité du champ est due aux propriétés magnétiques des éléments constituants le dispositif de détection. Dans ce cas, nous ne parlerons pas des inhomogénéités

dues aux défauts de l'aimant supraconducteur. D'après les équations classiques de l'électromagnétisme, l'induction magnétique B et le champ magnétique H, dans un matériau, sont liés par la relation 4-5 [6].

$$B = H + 4\pi M \qquad \textbf{IV-5}$$

Où M est l'amplitude du moment magnétique par unité de volume. Pour des matériaux isotropes non ferromagnétiques, ce moment magnétique est proportionnel au champ H, (expression IV-6) [6].

$$M = \chi_v H \qquad \textbf{IV-6}$$

Où χ_v est la susceptibilité magnétique volumique qui ne dépend que de la nature du matériau [6]. La susceptibilité magnétique volumique a une valeur positive ou négative. Si elle est positive, la substance est dite paramagnétique et si elle est négative, la substance est diamagnétique. Pour la plupart des matériaux, la susceptibilité magnétique est proportionnelle à la densité, ce qui veut dire que chaque matériau possède sa propre susceptibilité magnétique. On peut définir alors la susceptibilité massique χ et molaire χ_M par la relation IV-7 [6].

$$\chi_M = M\chi = \frac{M\chi_v}{d} \qquad \textbf{IV-7}$$

Où M est la masse molaire et d la densité. La susceptibilité volumique est sans dimension. Pour des substances diamagnétiques utilisées en RMN (eau, éthanol, acétone), les valeurs sont de l'ordre de $(-1).10^{-6}$. Les susceptibilités magnétiques des solutions, des tubes de test, des sondes et de certaines parties du spectromètre contribuent à l'élargissement des raies spectrales et l'objectif de cette partie est de déterminer l'importance de ce phénomène afin de vérifier s'il explique le niveau d'élargissement observé.

Nos dispositifs sont constitués de cuivre (antenne), de COC (substrat et système microfluidique) de circuit imprimé et des liquides introduits dans la cavité du système micro fluidique. Les susceptibilités magnétiques du COC et du circuit imprimé n'ont pas été trouvées dans la littérature, or ces paramètres sont indispensables à l'établissement d'un modèle magnétique. Il a donc été nécessaire de mesurer ces susceptibilités magnétiques, ce qui a été fait en utilisant une balance magnétique modèle AUTO MSB.

2.3.2 Propriétés magnétiques d'un mélange

La plus simple hypothèse concernant la susceptibilité magnétique d'un mélange de substances diamagnétiques est énoncée dans les lois de Wiedemann, dans lesquelles la susceptibilité molaire d'un mélange de deux composés est donnée par l'expression IV-8 [6].

$$\chi_{M,mixt} = x_1\chi_{M1} + x_2\chi_{M2} \qquad \textbf{IV-8}$$

Où x1 et x2 sont les fractions molaires des composés et χ_{M1} et χ_{M2} leurs susceptibilités molaires respectives. Une relation correspondante pour les susceptibilités volumiques est donnée expression IV-9 [7].

$$\chi_{v,mixt} = \Phi_1\chi_{v1} + \Phi_2\chi_{v2} \qquad \textbf{IV-9}$$

Où $\Phi 1$ et $\Phi 2$ sont les proportions (volumiques) des composés présents dans la solution.

La susceptibilité du COC est donc mesurable avec la balance magnétique à condition de connaitre d'une part les proportions volumiques du mélange COC-liquide de référence dans le tube de mesure dans lequel ils sont plongés, d'autre part, la susceptibilité magnétique du liquide utilisé et la susceptibilité magnétique du mélange (mesuré directement sur la balance magnétique).

2.3.3 Mesure de la susceptibilité magnétique du COC

Pour que la mesure de susceptibilité soit précise, le COC devrait remplir complètement le tube de mesure calibré pour cette balance magnétique, ce qui n'est pas possible car nous disposons que de COC sous forme de grains de petite taille. Malgré ce problème, une mesure précise de la susceptibilité du COC est réalisable en ajoutant dans le tube un liquide de référence de susceptibilité magnétique et de volume connu.

L'expérience de mesure de la susceptibilité du COC est réalisée avec plusieurs liquides de référence et des proportions différentes de COC afin de multiplier les données expérimentales et réduire ainsi le bruit de mesure.

Ainsi, le COC a été plongé dans trois liquides de référence (eau, éthanol, et acétone), et des mesures ont également été effectuées en utilisant de l'air comme susceptibilité de

référence. De plus, nous avons utilisé quatre proportions volumiques différentes de COC (notées A, B, C, et D dans le tableau IV-1). Le COC ayant une masse volumique de 1.02 g / cm^3, les proportions volumiques de COC sont calculées à partir de la masse des grains de chaque essais, (tableau IV-1).

Proportion	Masse (mg)	Volume (cm^3)
A	25 ± 2	0.024 ± 0.002
B	57 ± 2	0.056 ± 0.002
C	87 ± 2	0.085 ± 0.002
D	103 ± 2	0.101 ± 0.002

Tableau IV-1 : Proportions massiques et volumiques de COC pour l'expérience de mesure de la susceptibilité magnétique du COC.

Les valeurs de susceptibilité magnétique des mélanges ont été obtenues en moyennant vingt mesures pour chaque expérience, (tableau IV-2).

Proportion	Hauteur liquide (cm)	χ (10^{-6}) COC+air	χ (10^{-6}) COC+eau	χ (10^{-6}) COC+éthanol	χ (10^{-6}) COC+acétone
A	0.7 ± 0.05	-0.16± 0.4	-0.74± 0.4	-0.62± 0.3	-0.53± 0.3
B	1.3 ± 0.05	-0.29± 0.3	-0.78± 0.2	-0.66± 0.2	-0.61± 0.3
C	1.45 ± 0.05	-0.36± 0.4	-0.8± 0.3	-0.69± 0.2	-0.64± 0.2
D	1.5 ± 0.05	-0.41± 0.3	-0.83± 0.2	-0.7± 0.1	-0.69± 0.2

Tableau IV-2 : Valeur de susceptibilité magnétique des mélanges en fonction des proportions volumiques de COC et de liquide.

A partir de ces mesures de susceptibilité de mélange, on peut remonter à la valeur de la susceptibilité du COC en utilisant l'équation de Wiedemann, (expression IV-10).

$$a\chi_l + b\chi_{coc} = \chi_m \qquad \textbf{IV-10}$$

Les constantes a et b représentent les fractions volumiques du COC et du liquide dans le tube expérimental. Les grandeurs χ_{coc} et χ_l, sont les susceptibilités volumiques respectives du COC et du liquide et χ_m celle du mélange.

En effet, on connait la susceptibilité volumique des liquides de référence, (tableau IV-3).

Milieu	Eau	Ethanol	Acétone	Air
Susceptibilité magnétique 10^{-6} (cgs)	-0.72 [8, 9]	-0.58	-0.46	0.031 [1]

Tableau IV-3 : Valeurs de la susceptibilité magnétique des différents milieux de référence

L'air est très légèrement paramagnétique et sa susceptibilité magnétique est positive.

Sachant que a + b = 1 car ce sont des proportions volumiques, on obtient l'expression IV-11.

$$\chi_{coc} = \frac{\chi_m - a\chi_l}{1-a} \qquad \textbf{IV-11}$$

En prenant l'ordonnée à l'origine de la droite de régression linéaire des points expérimentaux représentant χ_m en fonction de a (pourcentage du liquide de référence), on retrouve la susceptibilité magnétique volumique du COC, χ_{COC}. Cette droite est tracée pour chaque mélange et en faisant figurer les incertitudes de mesure de la balance magnétique.

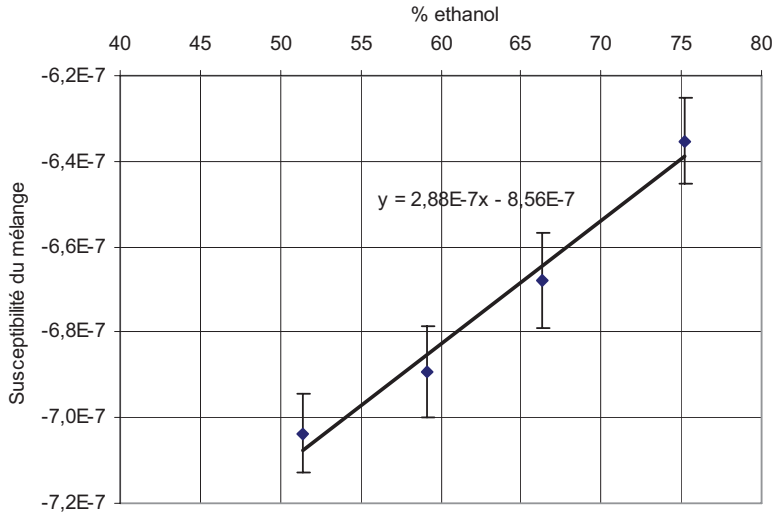


Figure IV-2 : Points de mesure représentant la variation de susceptibilité du mélange coc/éthanol en fonction des proportions volumiques d'éthanol

Cette méthode permet d'utiliser les 80 points de mesure effectués avec la balance magnétique sur chaque liquide. En tenant compte des incertitudes de mesure dues à la balance magnétique, les valeurs suivantes sont obtenues, avec une incertitude à 2σ.

	Air	Ethanol	Acétone	Eau
χ_{COC} (10^{-6})	-0.92 ± 0.02	-0.86 ± 0.03	-0.92 ± 0.05	-0.84 ± 0.6

Tableau IV-4 : Valeurs moyennes de la susceptibilité du COC avec incertitudes obtenues dans différents milieux

Sachant que les trois premières valeurs du tableau sont les plus fiables car l'incertitude sur l'eau est plus importante que pour les autres, une moyenne est effectuée sur celle-ci pour obtenir une valeur très approchée de la susceptibilité du COC. La mesure de la valeur de susceptibilité du COC est, $\chi_{coc} = -0.9.10^{-6} \pm 0.07.10^{-6}$ (cgs).

2.3.4 Mesure de la susceptibilité magnétique du FR4

Une méthode analogue a été réalisée pour mesurer la susceptibilité du circuit imprimé de type FR4. La moyenne de la susceptibilité du FR4 pour chaque mélange et l'incertitude sur la mesure effectuée par la balance magnétique sont donnés dans le tableau IV-5.

	Air	Ethanol	Acétone	Eau
χ_{FR4} (10^{-6})	-0.32 ± 0.11	-0.22 ± 0.03	-0.19 ± 0.05	-0.20 ± 0.06

Tableau IV-5 : Valeurs moyennes de la susceptibilité du circuit imprimé de type FR4 avec incertitudes obtenues dans différents milieux

Pour vérifier ces valeurs, la courbe de mesure représentant la valeur de la susceptibilité des mélanges en fonction des susceptibilités de référence est tracée, (figure IV-3).

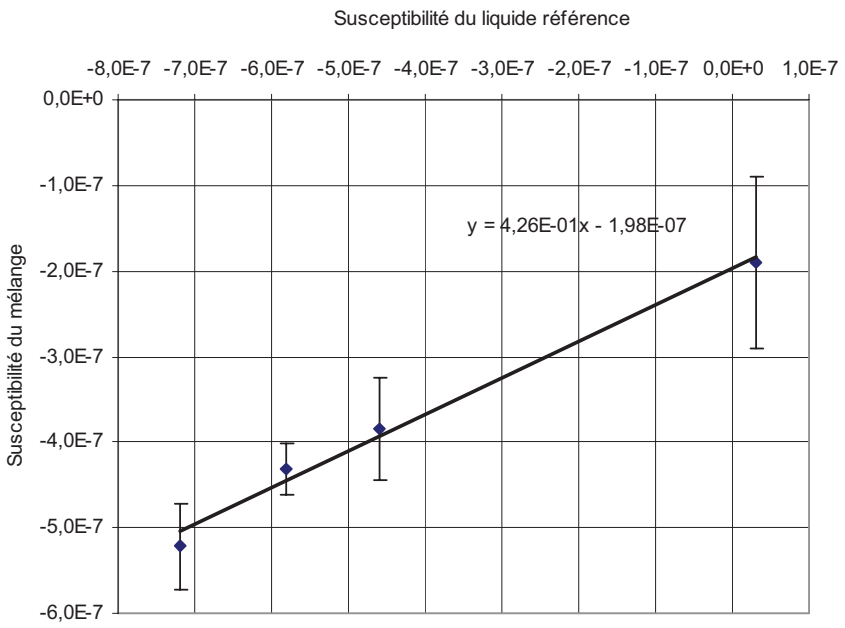


Figure IV-3 : Points de mesure représentant les valeurs de susceptibilité magnétique du mélange circuit imprimé / liquide de référence en fonction de la susceptibilité magnétique des liquides de référence.

L'incertitude de mesure concernant le mélange FR4 / air est importante comparée aux mélanges dans les liquides. A partir de la régression linéaire de premier ordre réalisée sur ces points de mesure, on calcule la valeur de la susceptibilité du FR4. La valeur moyenne trouvée pour le circuit imprimé FR4 est la suivante χ_{FR4}= -0.21.10^{-6} ±0.05.10^{-6} (cgs).

2.3.5 Susceptibilités magnétiques des différents constituants du microsystème

Toutes ces valeurs de susceptibilité magnétique appartenant aux matériaux et liquides constituants le dispositif RMN sont récapitulées dans le tableau IV-6 [7, 9].

Elément	Eau	éthanol	Acétone	Air	COC	Circuit imprimé	Cuivre
Susceptibilité magnétique 10^{-6} (cgs)	-0.72	-0.58	-0.46	0.031	-0.9	-0.2	-0.77

Tableau IV-6 : Valeurs de la susceptibilité magnétique des différents matériaux constituants le dispositif RMN

D'après les valeurs de susceptibilité magnétique du tableau IV-6, on remarque que celles de l'air et du circuit imprimé sont éloignées des autres valeurs. Afin de montrer l'influence d'un matériau placé dans un tube d'analyse du spectromètre sur le champ magnétique et donc sur la résolution spectrale, une expérience en spectroscopie RMN a été mise ne place pour comparer deux matériaux.

2.3.6 Expérience RMN montrant l'élargissement des raies spectrales

Une expérience de spectroscopie RMN a été réalisée avec le spectromètre à 11.74T pour caractériser la dégradation de la résolution spectrale en fonction de matériaux présents dans le tube d'analyse du spectromètre. Les matériaux testés sont le COC et le PCB.

Le tube RMN est rempli d'eau puis inséré dans le spectromètre. L'analyse de l'eau est effectuée à 11.74T avec l'antenne interne du spectromètre. C'est une antenne volumique de type « selle de cheval », elle nous permet d'obtenir un spectre très fin de l'eau de largeur à mi-hauteur de 2.5Hz. Le « shim », permettant de corriger les variations de champ (expliqué dans le chapitre I), appliqué lors de cette analyse, est gardé comme référence dans les expériences suivantes. Ainsi, les conditions expérimentales restent les mêmes et il ne reste plus qu'à insérer les matériaux que l'on veut comparer.

La géométrie des échantillons des deux matériaux à tester doit être exactement la même pour que la comparaison soit réalisable. Le circuit imprimé en PCB est dépourvu de cuivre, c'est une plaque de 4cm de long, 4mm de large et 0.4mm d'épaisseur. Le morceau de COC est pressé et découpé pour avoir les mêmes dimensions.

Finalement, la languette de COC est insérée dans le tube RMN jusqu'au centre magnétique. Ainsi, le champ magnétique dans le spectromètre est perturbé ce qui induit une dégradation de la résolution spectrale.

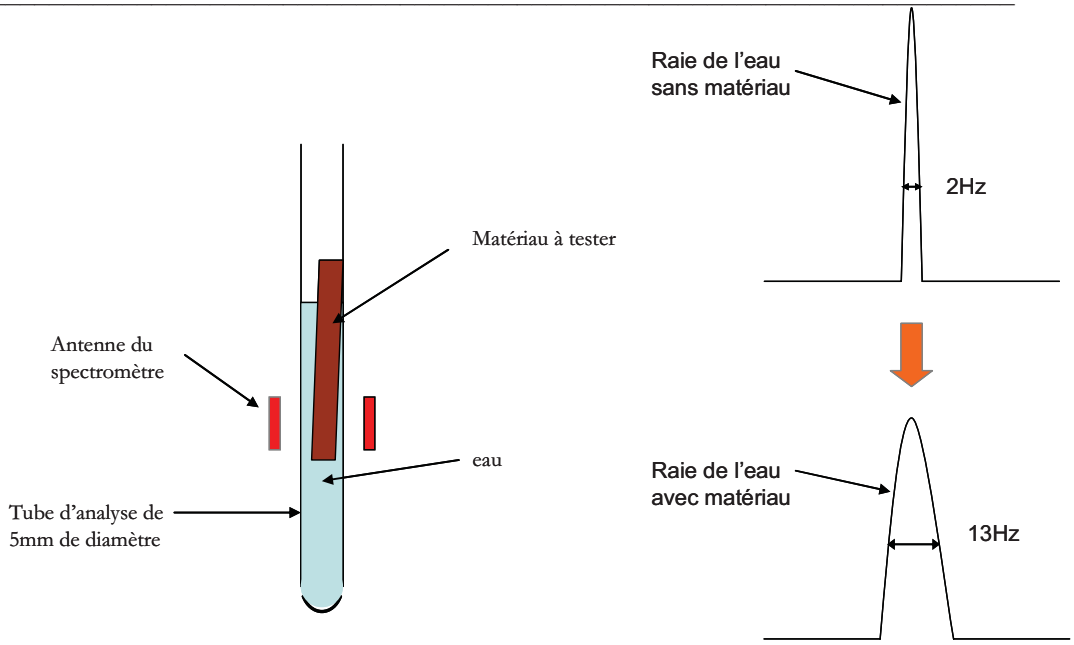


Figure IV-4 : Schéma présentant l'expérience d'insertion d'un matériau dans un tube d'analyse du spectromètre.

Plus les distorsions de champ magnétique sont importantes et plus la raie de l'eau est large. La même expérience est réalisée avec le circuit imprimé. Le tableau IV-7 présente la largeur à mi-hauteur (FWHM) et la largeur à la base (FWM) des spectres obtenus.

	FWHM (Hz)	FWM (Hz)	**Aspect**
D_2O + eau	2.5	34	Très Bonne résolution
PCB+ D_2O + eau	13	150	Résolution faible
COC+ D_2O + eau	3.7	40	Bonne résolution

Tableau IV-7 : Largeurs de spectres à mi hauteur FWHM et à la base FWM

Le spectre de l'eau obtenu avec l'antenne de type « selle de cheval », sans perturbations magnétiques, a une haute résolution (2,5 Hz). Dans le tableau IV-7, les résultats des expériences montrent que le COC dégrade moins la résolution spectrale que le circuit imprimé : le spectre de l'eau avec l'échantillon de circuit imprimé est plus large et plus dégradé que celui obtenu avec l'échantillon de COC dans les mêmes conditions expérimentales (mêmes valeurs de shim).

Cette expérience permet de comprendre pourquoi dans le chapitre 3, la résolution du spectre obtenue avec le dispositif sur circuit imprimé est beaucoup plus dégradée que celle

obtenue avec le dispositif en COC. En effet, on a obtenu un spectre de largeur à mi-hauteur de 50 Hz avec le dispositif sur un substrat en circuit imprimé et 16 Hz avec un substrat en COC.

Cette expérience est cependant insuffisante pour pouvoir quantifier précisément l'influence de la susceptibilité magnétique des matériaux du microsystème sur la résolution spectrale. Un modèle 3D par éléments finis sous COMSOL® a donc été développé permettant de calculer numériquement la forme, et donc la largeur, des raies spectrales à partir des paramètres géométriques du micro système d'analyse et des susceptibilités magnétiques des matériaux le constituant.

3 Modélisation par éléments finis des distorsions magnétiques induites par la microsonde RMN

L'objectif de cette étude est de concevoir un outil numérique permettant de calculer la forme des raies spectrales à partir de la géométrie et des propriétés magnétiques des différents constituants du microsystème de spectroscopie RMN que nous avons développé. Nous allons donc dans un premier temps décrire le modèle développé sous COMSOL®.

3.1 Modélisation 3D de la sonde RMN

Un modèle 3D de la sonde est réalisé avec le logiciel COMSOL®. Cette représentation 3D est simplifiée car elle fait apparaître seulement le substrat, la microantenne planaire et la cavité du système microfluidique, en négligeant le circuit de conditionnement. Cependant, comme cela a été démontré au chapitre III, le fait de déporter les composants de ce circuit de 20mm de l'antenne suffit à faire disparaître les effets de distorsion magnétique qu'ils pourraient induire.

Les dimensions de ce modèle sont appliquées en tenant compte des dimensions des dispositifs fabriqués au chapitre 3. La microantenne planaire est modélisée par deux pistes en cuivre circulaires de largeur 150µm et d'épaisseur 35µm comme nous l'avons fait au chapitre II pour trouver numériquement l'antenne optimale permettant d'obtenir le maximum de rapport signal sur bruit. Le substrat en COC est modélisé par un parallélépipède d'une

épaisseur de 400 µm. Enfin, la cavité est modélisée par un cylindre d'épaisseur 100µm et de rayon 450µm.

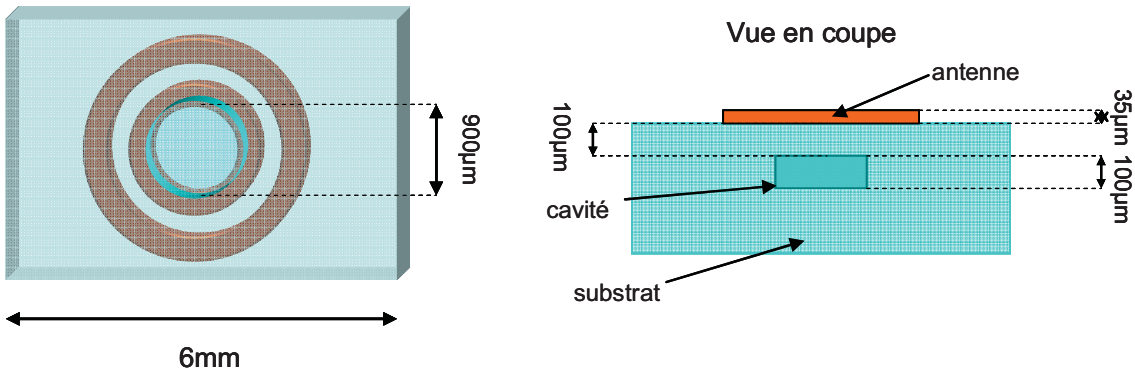


Figure IV-5 : Modèle 3D de la sonde réalisée sous le logiciel COMSOL®.

Le modèle 3D est placé au centre d'un cylindre de grande taille par rapport à l'antenne et au substrat (pour éviter les effets de bords), où règne un champ magnétique statique intense et homogène. Ce champ est celui produit par l'aimant supraconducteur du spectromètre. Pour calculer les distorsions du champ magnétique induites par la présence du microsystème, on simule d'abord un milieu vide. En effet, les variations de champ à observer sont extrêmement faibles, il est donc nécessaire de travailler de façon différentielle ce qui permet de corriger les petites variations du champ calculé en milieu homogène, dues aux imperfections du calcul numérique (en particulier aux limites du domaine de calcul).

Ensuite, la même simulation est effectuée en introduisant le modèle du microsystème prenant en compte la valeur de la susceptibilité magnétique de chaque matériau qui lui est associé. Par exemple, on applique au volume du substrat, la valeur de la susceptibilité magnétique du COC, au volume de l'antenne, celle du cuivre et au volume de l'échantillon, la susceptibilité magnétique du liquide que l'on veut étudier.

3.2 Validation du modèle de calcul

Le modèle de calcul développé afin de prévoir les variations du champ magnétique doit être validé, ce qui peut se faire par comparaison avec la solution analytique d'un cas simple.

Le cas d'un cylindre colinéaire à un champ magnétique H, peut être résolu analytiquement et donc comparé aux simulations. Le plus simple pour calculer le champ est

d'utiliser les méthodes de charges magnétiques équivalentes. Le champ magnétique H est défini en utilisant l'équation de la densité de charge de surface en électrostatique, (expression IV-12) [10].

$$d\sigma = M.dS = \chi H.dS \qquad \textbf{IV-12}$$

où M est le vecteur magnétisation et dS est l'élément de surface. En prenant R, le vecteur entre l'élément de charge de surface et le point où le champ magnétique est perturbé, la loi de Coulomb est donnée expression IV-13.

$$\Delta\vec{H} = \frac{1}{4\pi}\int\frac{\vec{R}}{R^3}d\sigma \qquad \textbf{IV-13}$$

On considère donc un cylindre creux, avec un rayon b = 2 mm, de longueur L = 6 mm, d'épaisseur t = 150µm, dont l'axe de révolution correspond à la direction et au sens du champ magnétique statique.

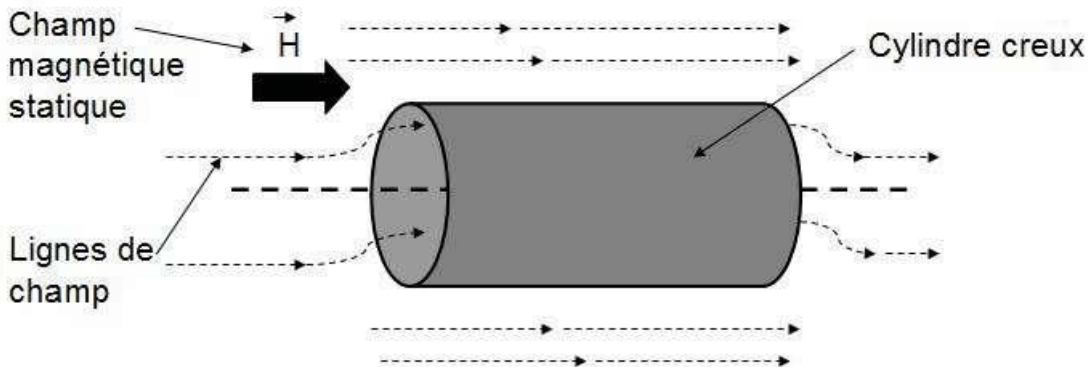


Figure IV-6 : Schéma du cylindre creux placé dans un champ magnétique statique H.

Si le cylindre a une susceptibilité χ_{cyl}, alors la charge magnétique au bout du cylindre a pour expression IV-14.

$$q_m = M.2\pi bt = 2\pi\chi_{cyl}bHt \qquad \textbf{IV-14}$$

En appliquant l'expression IV-13 à notre cylindre, on obtient la variation du champ magnétique ΔH_z par rapport à H, au point z le long de l'axe, en considérant que t<<b ;

$$\Delta H_Z = \frac{1}{4\pi}\frac{q_m}{R^2}\left[\cos(\theta_1) - \cos(\theta_0)\right] \qquad \textbf{IV-15}$$

$$\Delta H_Z = \frac{\chi H_Z tb}{2}\left\{\frac{z-z_0}{\left[(z-z_0)^2+b^2\right]^{3/2}} - \frac{z-z_1}{\left[(z-z_1)^2+b^2\right]^{3/2}}\right\} \qquad \textbf{IV-16}$$

La variation de fréquence de Larmor $\Delta\omega_0$ est directement liée à la variation du champ ΔH_z en utilisant la relation IV-17.

$$\Delta\omega_0 = \gamma \Delta H_z \qquad \textbf{IV-17}$$

γ étant le rapport gyromagnétique : γ = 42.58 (MHz/T) pour ^{1}H.

Pour comparer le calcul analytique et le calcul numérique de la variation de fréquence, on défini la valeur de la susceptibilité du cylindre par celle du cuivre. Ces deux calculs sont effectués sur l'axe du cylindre, pour un champ statique H de 11 Tesla, (figure IV-7).

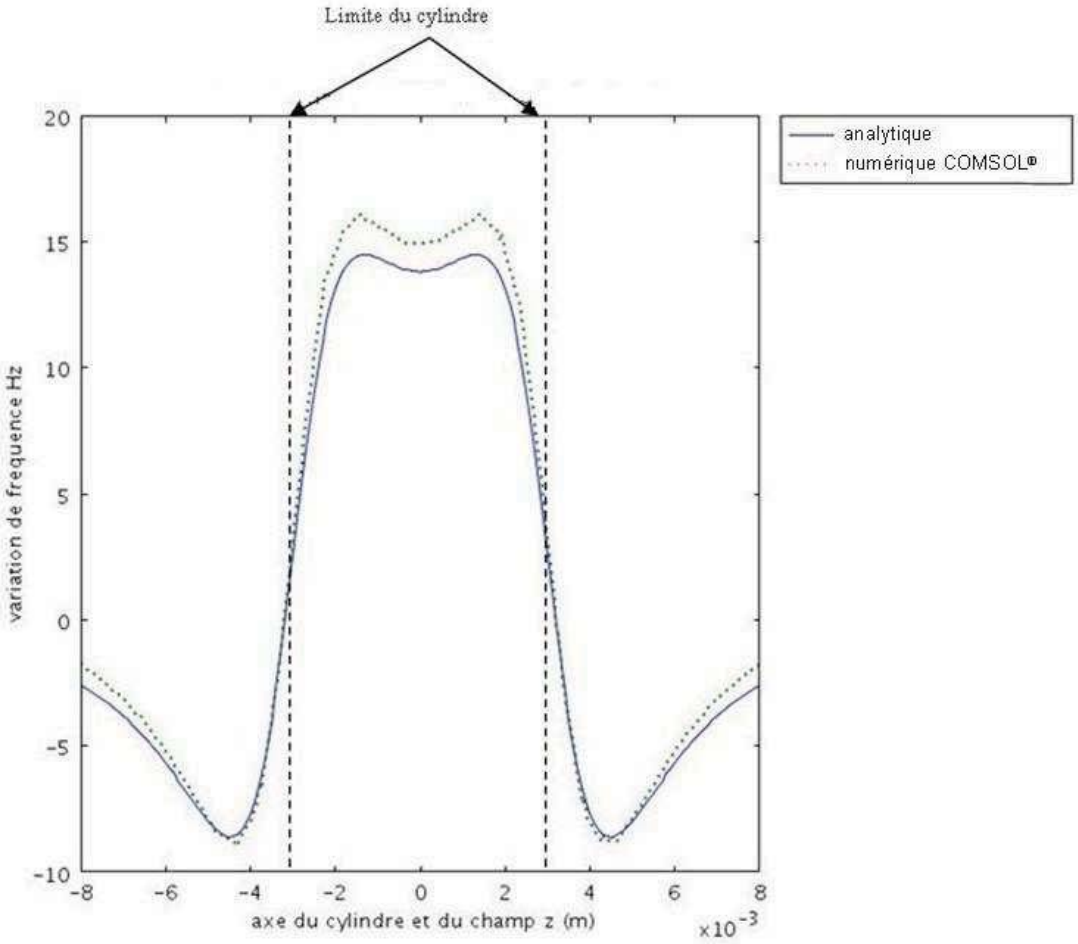


Figure IV-7 : Comparaison entre les variations de fréquences sur l'axe du cylindre dans le cas analytique et le cas simulé sous COMSOL®.

Les distorsions du champ sont dues à la différence de susceptibilité qu'il existe entre l'air et le cuivre car l'air est légèrement paramagnétique et le cuivre diamagnétique. Or, lorsqu'on introduit de la matière dans un lieu où règne un champ magnétique, ce dernier agit sur l'ensemble du mouvement électronique par un phénomène d'induction de Faraday. Lequel produit un moment magnétique induit, proportionnel au champ magnétique appliqué, qui s'oppose à ce dernier.

Dans notre cas, les variations de fréquences sont de l'ordre de 20 Hz sur l'axe du cylindre. Les différences entre les deux courbes sont très faibles (inférieures à 1 Hz). En conséquence, le modèle numérique sous COMSOL® est en bon accord avec le résultat obtenu analytiquement. Nous allons donc utiliser le modèle 3D du microsystème conçu avec COMSOL® pour simuler les variations de champ qu'il engendre sur un champ statique intense.

3.3 Observation des distorsions du champ magnétique : influence de la distance antenne-cavité

Maintenant que le modèle de calcul a été validé, nous utilisons notre modèle 3D du microsystème pour effectuer des simulations sous COMSOL®. Les calculs numériques sont effectués dans les conditions d'un champ de 11 Tesla, valeur du champ magnétique utilisé en pratique pour le test de notre microsystème. Les éléments du modèle 3D sont tous caractérisés par la valeur de leur permittivité diélectrique relative ε_r qui est égale à $1+\chi_v$ où χ_v représente la susceptibilité volumique du matériau. On a mesuré la susceptibilité magnétique du COC et du PCB au paragraphe 2. Pour avoir la susceptibilité volumique, on utilise la relation IV-18.

$$\chi_v = 4\pi\chi \qquad \textbf{IV-18}$$

où χ est la susceptibilité magnétique mesurée. Pour le cuivre de l'antenne, on a $\chi_{cu} = -9{,}67e^{-6}$ (SI) et pour le substrat, on choisit la susceptibilité du COC, $\chi_{COC} = -11{,}5e^{-6}$ (SI). Tout le reste du cylindre est rempli d'air, de susceptibilité magnétique $\chi_{air} = 3{,}9e^{-6}$ (SI). La figure IV-8 ci-dessous représentent les distorsions du champ au dessus de l'antenne, sur des plans situés aux hauteurs suivantes : 100µm; 150µm; 200µm.

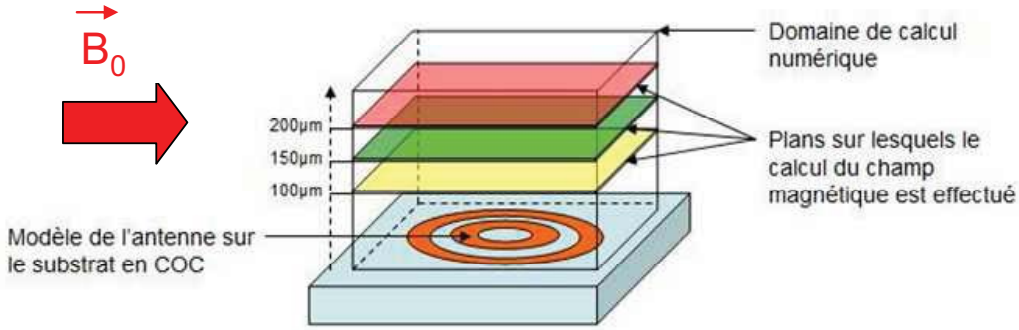


Figure IV-8 : Schéma représentant le modèle de l'antenne sur son substrat en COC, le domaine de calcul numérique avec les trois plans d'observation et le champ magnétique B_0.

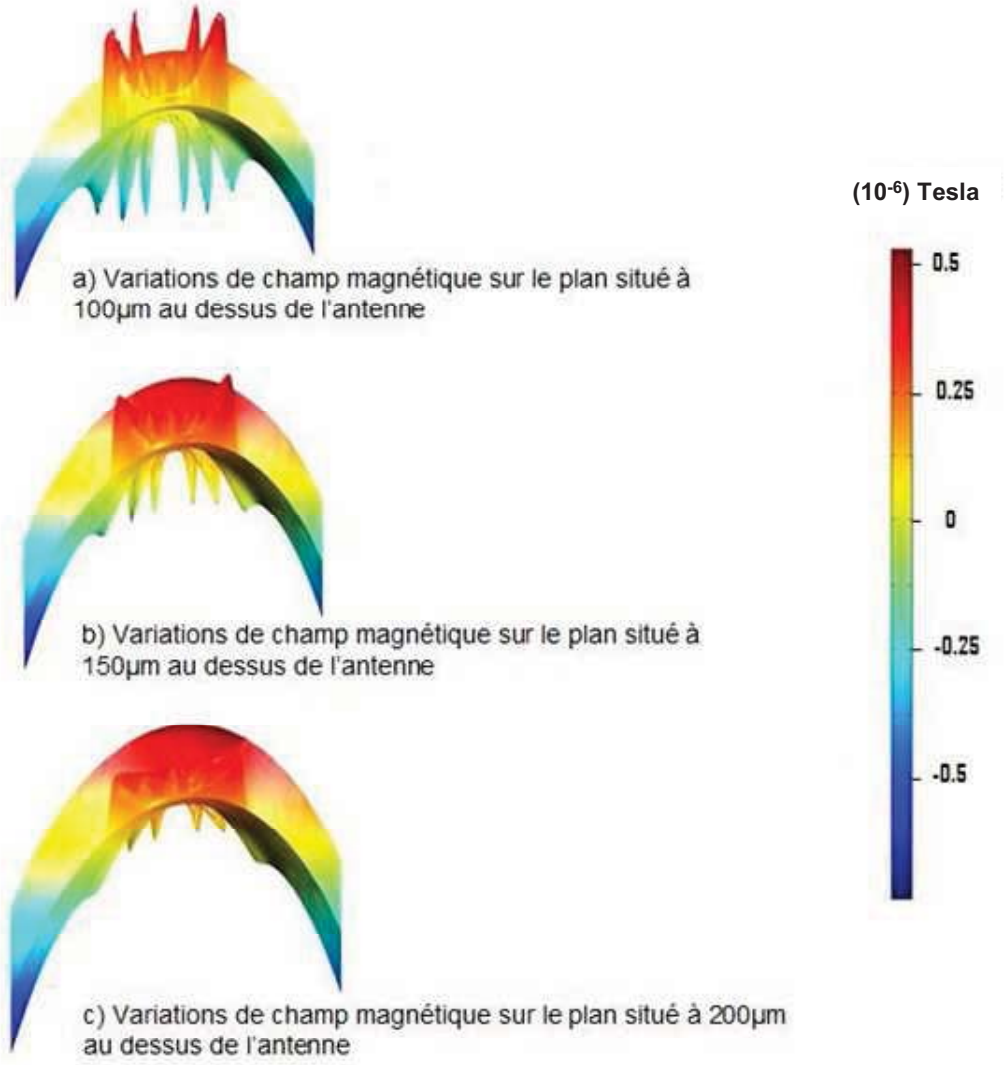


Figure IV-9 : Visualisations des distorsions créées par l'antenne et son substrat à différentes distances au dessus des spires, le champ est suivant y.

Les variations de champ magnétique, sur les vues rapprochées de l'antenne, sont bien visibles, en effet on observe des variations fortes de champ au dessus des spires. Ces distorsions dues au cuivre des pistes disparaissent au fur et à mesure que le plan de simulation est élevé.

Pour définir les amplitudes des variations de champ, un calcul numérique est effectué sur une ligne située par exemple à 30µm au dessus de l'antenne.

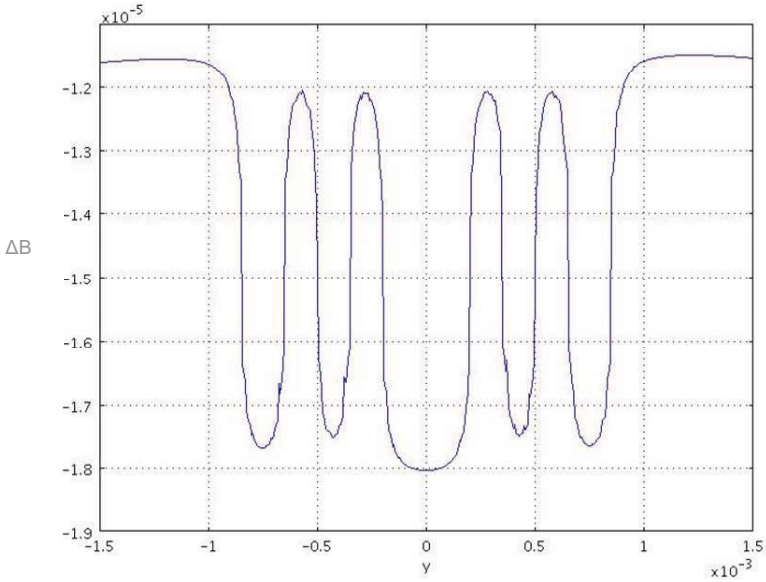


Figure IV-10 : Distorsions du champ magnétique à 30µm au dessus de la surface de l'antenne.

Les variations de champ magnétique mettent en évidence la présence des pistes, (figure IV-10). Elles ont une amplitude d'environ 6.10^{-6} Tesla à 30µm au dessus des spires. Mais cette valeur n'est représentative que d'une ligne et non du volume total de l'échantillon. Si l'on effectue la même étude pour des lignes situées entre 50µm à 200µm au dessus de l'antenne, on constate qu'à partir de 100µm, les variations deviennent inférieures à 5.10^{-7} Tesla. A cette distance, les variations de champ sont donc dix fois moins importantes ce qui permet de conclure que si l'échantillon est placé à 100µm de l'antenne, les variations du champ magnétique dues à la présence du cuivre de l'antenne à l'intérieur de l'échantillon auront une faible contribution à l'élargissement de la raie spectrale.

Par contre, on peut voir sur les figures a), b) et c) de la figure IV-9, que la surface autour des spires dans le sens du champ n'est pas plane et présente l'aspect d'une « selle de cheval ». Afin de clarifier ce phénomène, une simulation sur une plus grande surface du modèle est réalisée.

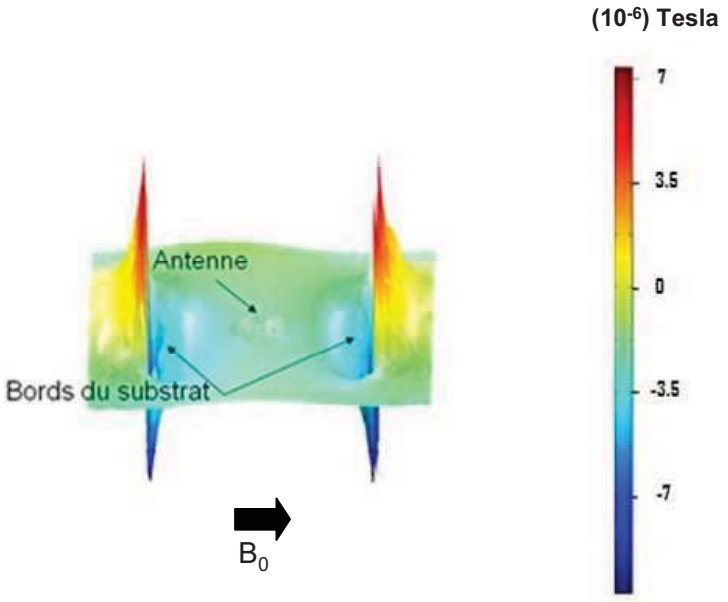


Figure IV-11 : Variations du champ magnétique à grande échelle sur un plan situé à 100µm au dessus de l'antenne.

Les variations de champ magnétique dues aux bords du substrat sont très importantes suivant l'axe du champ et presque nulles sur l'axe perpendiculaire au champ. Elles sont dues à la différence de susceptibilité magnétique qu'il existe entre le COC formant le système microfluidique et l'air entourant le modèle du microsystème. Les variations du champ dues au substrat sont tellement importantes que celles engendrées par l'antenne paraissent infimes. C'est pourquoi, une expérience a été réalisée pour évaluer l'impact de ces variations de champ dues au système microfluidique sur la raie spectrale.

Le principe de cette expérience est de comparer les spectres de l'éthanol que l'on a obtenu avec le microsystème plongé dans deux milieux différents. Dans la première expérience, le microsystème est placé dans le tube d'analyse du spectromètre et il est entouré d'air. Dans la deuxième expérience, le microsystème est placé dans le tube et plongé dans du D_2O, qui a approximativement la même susceptibilité magnétique que l'eau ($\chi = -0.7.10^{-6}$), mais qui n'émet pas de signal en RMN.

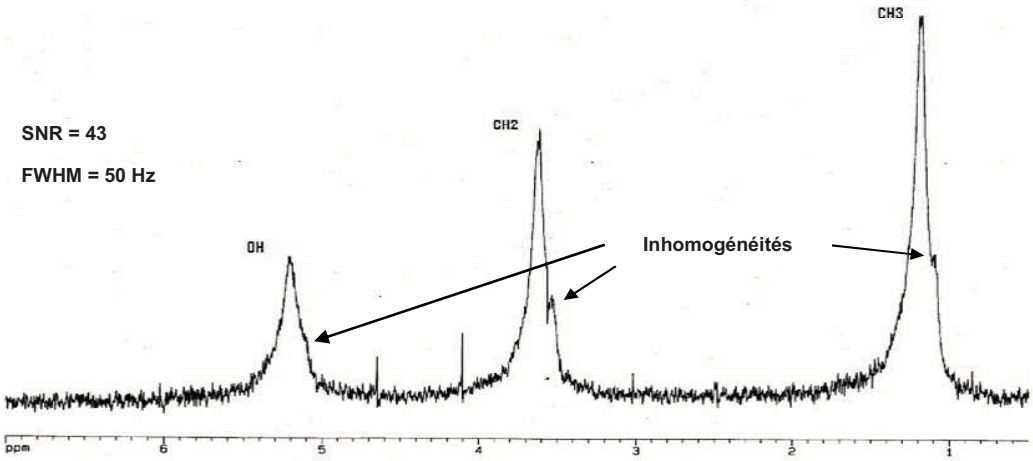


Figure IV-12 : Spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu avec le microsystème placé dans le tube d'analyse RMN, il est entouré d'air.

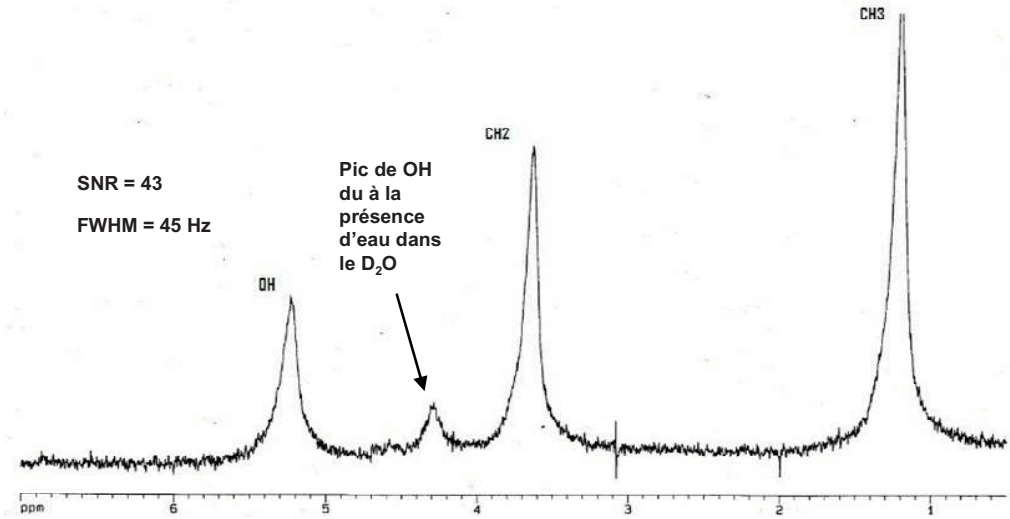


Figure IV-13 : Spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu avec le microsystème placé dans le tube d'analyse RMN et plongé dans du D2O.

On remarque, sur le spectre de l'éthanol de la figure IV-12, des inhomogénéités sur les pics de OH, CH2 et CH3. En comparant ce spectre à celui obtenu avec le microsystème plongé dans du D_2O, on observe que ces inhomogénéités ont disparues. Ces inhomogénéités participent à l'élargissement des raies et à la dégradation de la résolution spectrale.

On peut ainsi conclure que les variations de champ magnétique prévues par le modèle 3D du microsystème ont un impact sur la forme de la raie spectrale.

A partir des valeurs de distorsion du champ magnétique obtenues grâce au modèle en 3D réalisés sous COMSOL®, il est possible de calculer la largeur à mi-hauteur des raies spectrales et donc la résolution spectrale. Dans ce but, un ensemble de routines de calcul ont été développées sous MATLAB afin de traiter les données extraites des simulations, ce qui est présenté au paragraphe suivant.

4 Calcul numérique de la résolution spectrale

L'objectif est d'utiliser les valeurs de champ simulées dans le paragraphe 3 pour calculer la largeur à mi-hauteur des raies que l'on obtiendrait expérimentalement.

4.1 Forme de raie spectrale, fonction de Lorentz

Le calcul de la forme de raie dans une zone où le champ n'est pas homogène consiste à additionner les contributions de petites régions où le champ peut être considéré homogène. Dans un champ statique parfaitement homogène, un échantillon RMN génère un signal FID (Free Induction Decay), de la forme $A\exp(-t/T_2)\exp(j\omega_0 t)$ dans le domaine temporel, où A est l'amplitude du signal, T_2 est le temps de relaxation transverse et ω_0 la pulsation de Larmor. Par transformée de Fourier, la forme de raie dans le domaine fréquentiel est décrite par la relation IV-19 [10, 11].

$$L(\omega) = \mathrm{Re}\left\{\frac{AT_2}{1+jT_2(\omega-\omega_0)}\right\} = \frac{AT_2}{1+T_2^2(\omega-\omega_0)^2} \qquad \textbf{IV-19}$$

C'est expression est une fonction de Lorentz. La fréquence de Larmor est une fonction qui dépend de la position lorsque le champ B_0 n'est pas homogène (paragraphe 2.1). La forme de raie résultante de tout l'échantillon RMN est obtenue en intégrant la relation IV-19 sur tout le volume de celui-ci.

Finalement, les données à extraire des simulations sont définies par les valeurs de champ magnétique dans le volume de l'échantillon. Les données acquises en simulation sont transférées sous le logiciel MATLAB et traitées de façon à prédire la forme de la raie spectrale correspondante.

4.2 Valeurs numériques du champ magnétique

Comme précédemment pour les plans d'observations, les valeurs du champ magnétique sont calculées sur un volume défini par sa hauteur, sa surface et la distance par rapport au plan de l'antenne planaire, (figure IV-14).

Plusieurs programmes sous MATLAB sont créés afin d'exploiter les données simulées. Un programme permet de récupérer les valeurs de champ en fonction de leur position dans le modèle 3D du micro système. Le volume ainsi simulé fait 6 mm de côté, 3 mm de haut centré sur le point de référence comme l'indique la figure IV-14.

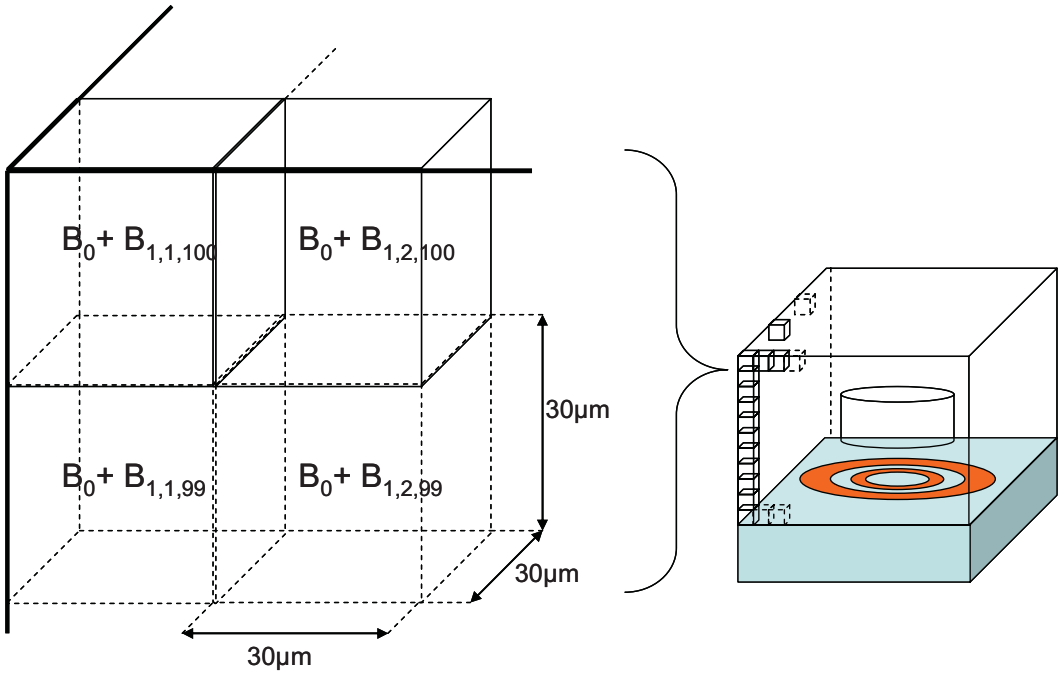


Figure IV-14 : Schéma représentant le domaine de calcul découpé en petits volumes de 30 µm d'arrête munis chacun de la valeur de champ magnétique calculée numériquement avec COMSOL®.

La résolution, qui est limitée par la puissance de calcul de l'ordinateur, est de 30 µm. On découpe donc ce volume en petits volumes de 30 µm d'arrête, soit 200 points sur la longueur, 200 points sur la largeur et 100 points sur la hauteur. La simulation comporte donc quatre millions de volumes élémentaires à l'intérieur desquels le champ magnétique est considéré homogène.

Toutes ces valeurs sont multipliées par le rapport gyromagnétique γ pour obtenir les valeurs de pulsation équivalentes à chaque petit volume car $\omega_0 = \gamma B_0$. On a donc la relation IV-20.

$$B_0 + B_{p,m,n} = \frac{1}{\gamma}\left[\omega_0 + \omega_{p,m,n}\right] \qquad \textbf{IV-20}$$

Pour calculer la forme de raie équivalente à un petit volume de simulation dans lequel le champ magnétique est homogène, on remplace dans la relation IV-20 la valeur ω_0 par la pulsation équivalente du petit volume, (expression IV-21).

$$L(\omega) = \frac{AT_2}{1 + T_2^2(\omega_0 + \omega_{1,2,99} - \omega)^2} \qquad \textbf{IV-21}$$

Cette fonction de Lorentz décrit la forme de la raie par exemple pour le petit volume placé à la position (1, 2, 99).

Comme on l'a vu, le calcul de la forme de raie dans une zone où le champ n'est pas homogène consiste à additionner les contributions de petites régions où le champ est homogène. C'est pourquoi, pour calculer la forme de raie résultante au volume total de l'échantillon, comme la cavité par exemple, il faut additionner les fonctions de Lorentz pour chaque petit volume présent dans le volume de la cavité.

4.3 Intégration de la fonction de Lorentz sur le volume de l'échantillon

Pour calculer la forme de raie d'un signal, la relation IV-21 doit être intégrée sur tout le volume de l'échantillon, c'est-à-dire sommer les fonctions de Lorentz équivalentes à tous les petits volumes appartenant au volume de l'échantillon.

Mais ceci reste vrai tant que l'antenne, avec laquelle les noyaux sont excités, crée un champ magnétique B_1 parfaitement homogène sur tout le volume de l'échantillon. Dans le cas où le champ créé par l'antenne n'est pas homogène (comme dans le cas de l'excitation par l'antenne planaire), il est nécessaire de pondérer chaque fonction de Lorentz par la valeur du champ B_1 créée par l'antenne. A chaque petit volume de l'échantillon correspond une valeur de pulsation $\omega_0 + \omega_{p,n,m}$ due aux variations du champ magnétique et une valeur de champ, $B_{1(p,n,m)}$, créée l'antenne d'excitation.

Grâce à l'interface de calcul définie dans le chapitre II ayant permis de trouver l'antenne optimale, on peut extraire les valeurs du champ créé par une antenne planaire sur un

volume identique à celui pris pour le modèle 3D. Ces valeurs servent à pondérer les fonctions de Lorentz, elle remplace donc la constante A dans l'expression IV-21.

$$\sum L(\omega) = \sum_{m=0;n=0;p=0}^{m=100;n=200;p=200} \frac{B_{1(p,n,m)}.T_2}{1+T_2^2(\omega_0+\omega_{p,n,m}-\omega)} \qquad \textbf{IV-22}$$

Cette fonction est tracée pour visualiser la forme de raie calculée numériquement dans une zone où le champ magnétique n'est pas homogène. Différentes études sont effectuées sur le modèle 3D pour déterminer l'influence de ses paramètres sur la largeur à mi-hauteur et donc la résolution spectrale.

4.4 Résolution spectrale calculée pour différents cas d'étude

4.4.1 L'échantillon est confiné dans la cavité microfluidique

Le modèle 3D à partir duquel nous calculons la largeur à mi-hauteur d'une raie produite par un échantillon de susceptibilité magnétique $\chi_{liquide}$ est présenté figure IV-15.

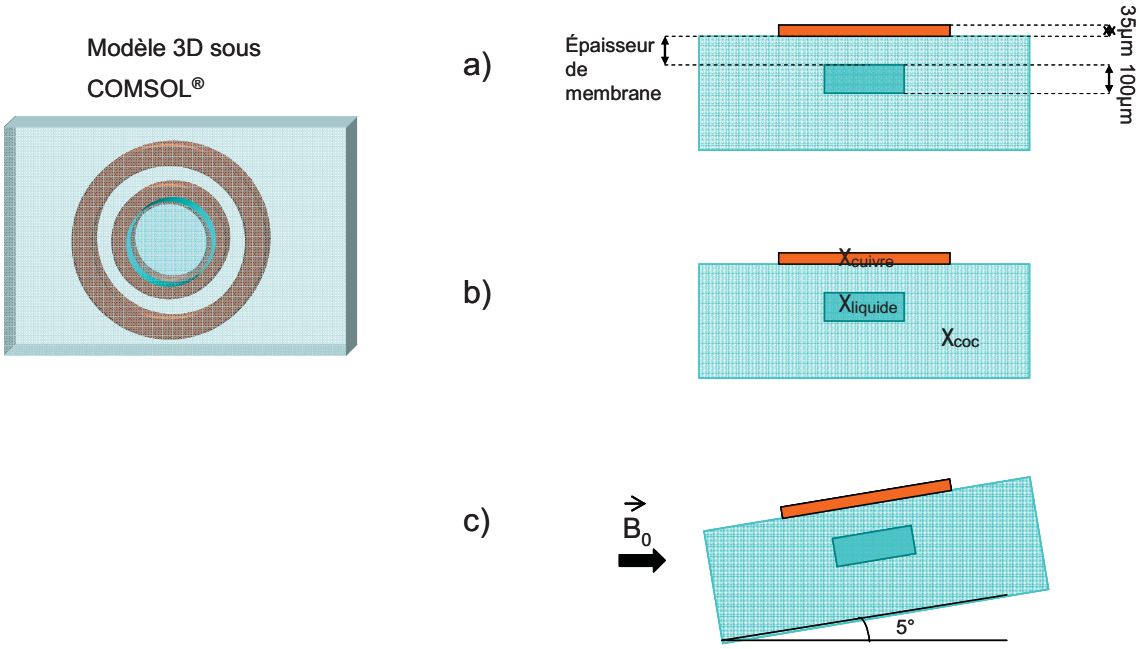


Figure IV-15 : Schéma représentant le modèle 3D et les différents cas d'étude. a) on fait varier l'épaisseur de membrane ; b) on fait varier $\chi_{liquide}$ et c) le modèle est incliné par rapport à la direction du champ magnétique B_0

On a vue au paragraphe 3 que les variations de champ magnétique sont importantes à moins de 100 µm du plan de l'antenne. On veut donc voir l'effet de ces variations de champ sur la résolution spectrale. Ainsi, différentes épaisseurs de membrane sont testées pour voir l'influence des points situés entre 0 et 200 µm sur la largeur de raie, (figure IV-15 a)).

Ensuite, les matériaux et les substances chimiques ont toutes des susceptibilités magnétiques différentes. Comme on l'a vu au paragraphe 3, le champ magnétique varie à l'interface de deux milieux de susceptibilités différentes. Cette variation est d'autant plus importante que la différence de susceptibilité est grande. Ainsi, le but des prochaines simulations est de comparer la résolution spectrale que l'on peut obtenir avec différents paramètres de susceptibilité magnétique introduis dans le modèle pour le volume de l'échantillon, (figure IV-15 b)).

Enfin, il est difficile d'aligner parfaitement la sonde avec le champ B_0 dans le spectromètre. Il suffit d'un petit jeu entre le micro système et le tube RMN pour créer un angle entre le champ magnétique B_0 et le plan de l'antenne. C'est pourquoi, il est intéressant de simuler les effets causés par l'inclinaison du dispositif sur la résolution spectrale. Dans cette étude, le dispositif a été incliné d'un angle de 5° par rapport au champ B_0, (figure IV-15 c)).

4.4.1.a Influence de l'épaisseur de la membrane

Dans un premier temps, c'est l'influence de l'épaisseur de membrane qui est étudiée. Comme nous l'avons vu pour le système sans cavité, la largeur de raie est obtenue pour trois épaisseurs de membrane (50µm ; 100µm ; 200µm), (figure IV-16).

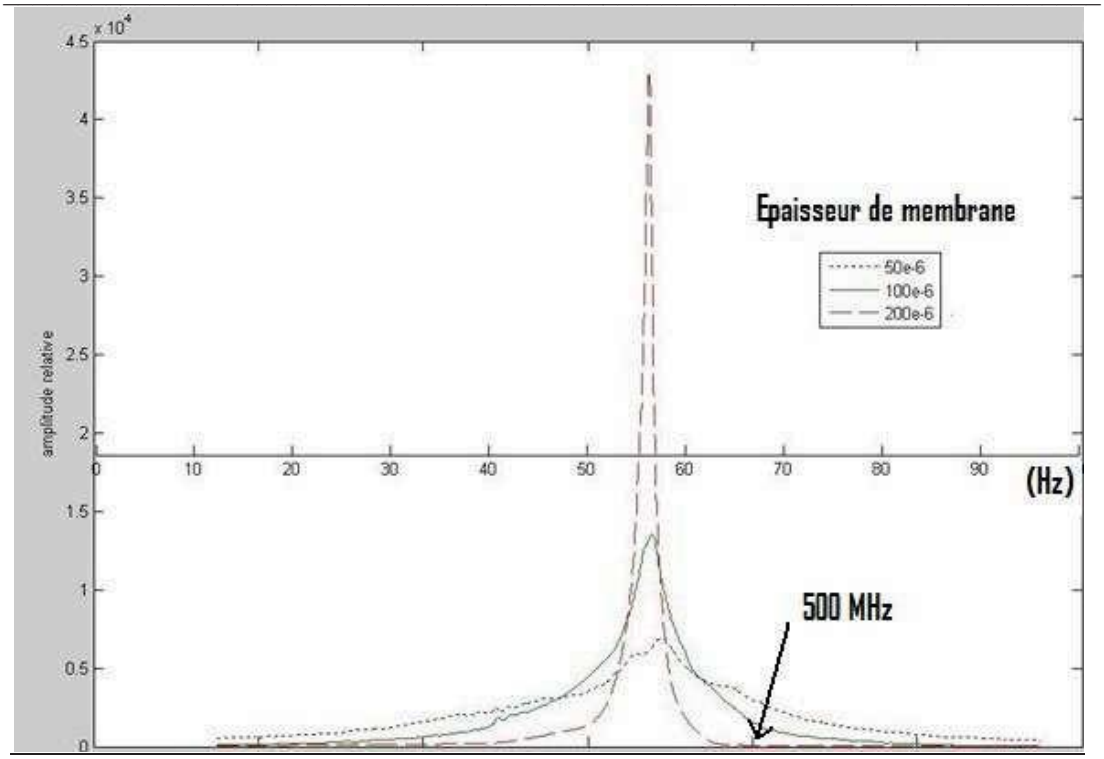


Figure IV-16 : Visualisation de la forme de raie pour différentes épaisseurs de membrane dans le cas d'un échantillon placé dans une cavité

L'épaisseur de la membrane a une véritable incidence sur la largeur de raie et sur l'homogénéité du pic lorsque l'échantillon est placé dans la cavité. La largeur à mi-hauteur est divisée par 3 pour une épaisseur passant de 50 à 200µm. Comme on l'avait vu pour la position de la cavité par rapport au plan de l'antenne, les variations de champ magnétique sont très importantes pour une épaisseur de membrane inférieure à 100µm, (paragraphe 3.3).

Les valeurs de largeur à mi-hauteur calculées numériquement en fonction des paramètres du dispositif sont répertoriées dans le tableau IV-8.

Modèle 3D	Epaisseur de membrane	Echantillon	Inclinaison du dispositif	*FWHM*
Cavité	50 µm	Eau	0°	13 Hz
Cavité	100 µm	Eau	0°	5.5 Hz
Cavité	200 µm	Eau	0°	4 Hz
Cavité	50 µm	Éthanol	0°	14 Hz
Cavité	100 µm	Éthanol	0°	8.5 Hz
Cavité	200 µm	Éthanol	0°	7 Hz
Cavité	50 µm	Acétone	0°	15 Hz
Cavité	100 µm	Acétone	0°	9.5 Hz
Cavité	200 µm	Acétone	0°	8 Hz

Tableau IV-8 : Valeurs de la largeur à mi-hauteur des raies spectrales simulées pour différents cas d'étude pour un échantillon placée dans la cavité microfluidique.

La largeur à mi-hauteur des raies calculées augmente lorsque l'épaisseur de la membrane diminue. Cet élargissement est obtenu pour chaque simulation avec différents produits dans le modèle du volume de la cavité. Par exemple pour l'eau, la largeur de raie passe de 4Hz à 13Hz pour une épaisseur de membrane passant de 200µm à 50µm. Cette observation était attendue car les variations de champ magnétique sont importantes à proximité de l'antenne comme on l'a vu au paragraphe 3.

4.4.1.b Susceptibilité magnétique variante dans la cavité du modèle

On observe aussi que lorsqu'on applique une valeur de susceptibilité magnétique différente dans le modèle 3D de la cavité pour caractériser d'autres produits, la largeur à mi-hauteur de la raie obtenue est différente. En effet, en prenant les mêmes paramètres géométriques pour le modèle 3D, la raie obtenue avec la valeur de susceptibilité de l'eau est plus étroite que celle obtenue avec la susceptibilité de l'éthanol. Cette variation de la largeur de raie est faible d'un produit à un autre mais était attendue, car comme on l'a vu au paragraphe 2, plus le dispositif est homogène en susceptibilité, c'est-à-dire, plus les matériaux et produits constituants le microsystème RMN ont des susceptibilités proches et plus la résolution spectrale est élevée. Or, d'après les mesures effectuées sur le COC, la valeur de la susceptibilité de l'eau est plus proche de celle du COC et du cuivre que celle de l'éthanol et de l'acétone, (tableau IV-8).

4.4.1.c Inclinaison du modèle

Enfin, lorsque le dispositif est incliné par rapport au champ magnétique, la largeur à mi-hauteur des raies augmente également. Cette observation a été faite sur les trois simulations avec différentes valeurs de susceptibilités dans la cavité.

Modèle 3D	Epaisseur de membrane	Echantillon	Inclinaison du dispositif	*FWHM*
Cavité	100 µm	Eau	5°	8.5 Hz
Cavité	200 µm	Eau	5°	7.5 Hz
Cavité	100 µm	Éthanol	5°	15 Hz
Cavité	200 µm	Éthanol	5°	10.5 Hz
Cavité	100 µm	Acétone	5°	16.5 Hz
Cavité	200 µm	Acétone	5°	11.5 Hz

Tableau IV-9 : Valeurs de la largeur à mi-hauteur des raies spectrales calculées dans le cas où le modèle est incliné par rapport au champ magnétique

La largeur à mi-hauteur de la raie obtenue pour une épaisseur de membrane de 100µm pour l'éthanol passe de 8.5Hz à 15 Hz pour une inclinaison de 5°. Cette élargissement s'explique par la géométrie de la cavité, car celle-ci ayant une épaisseur faible par rapport à son rayon, les variations de champ magnétique son beaucoup plus importantes dans tout son volume.

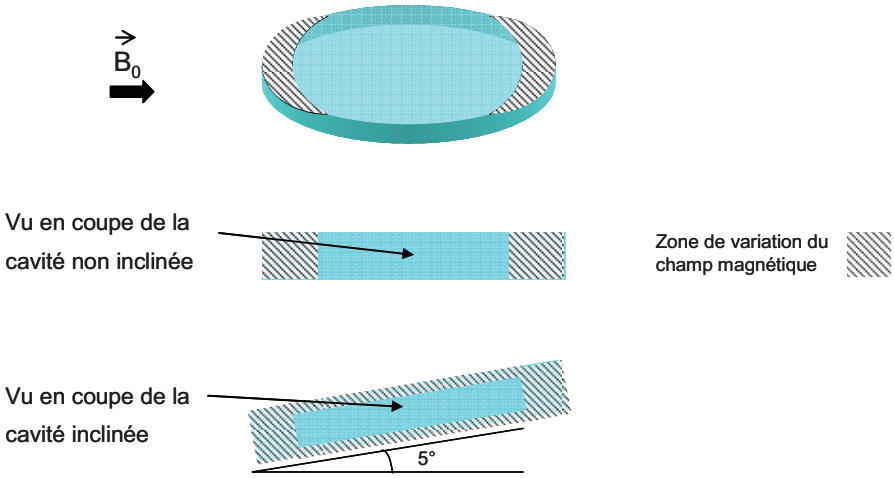


Figure IV-17 : Schéma représentant les zones où le champ magnétique est inhomogène dans une cavité microfluidique.

Lorsque la cavité n'est pas inclinée par rapport à la direction du champ, la zone (à l'intérieur de la cavité) où le champ magnétique n'est pas homogène se trouve proche de l'interface entre le COC et l'échantillon car ils n'ont pas la même susceptibilité magnétique. Comme on peut le voir sur la figure en 3D, la zone d'inhomogénéité pénètre d'autant plus dans la cavité que la direction du champ magnétique est perpendiculaire à l'interface COC/échantillon. Si l'interface COC/échantillon est parallèle au champ, il n'y a pas de variation de champ.

Si on regarde ce qui se passe lorsque la cavité est inclinée par rapport à la direction du champ, la surface sur laquelle le champ n'est pas parallèle à l'interface COC/échantillon est plus importante, ce qui induit plus de variations de champ à l'intérieur de la cavité, ce qui explique pourquoi la largeur à mi-hauteur des raies est plus importante dans ce cas.

4.4.2 Discussion

Les valeurs de largeur à mi-hauteur calculée numériquement à partir du modèle 3D que nous avons développé montrent que le microsystème tel qu'il est réalisé induit une dégradation de la résolution spectrale par rapport à ce qui peut être obtenu avec une antenne classique. Un des paramètres les plus importants est l'épaisseur de la membrane séparant l'antenne et la cavité contenant l'échantillon. Cette membrane doit être assez fine pour assurer un bon couplage avec l'échantillon (contrainte sur le rapport signal sur bruit étudié dans les chapitres II et III) mais doit être assez épaisse pour éviter que l'échantillon ne soit placé dans une zone de champ magnétique trop inhomogène. Cependant, la comparaison avec les résultats expérimentaux du chapitre III montre que les prévisions du modèle numérique sur les valeurs des largeurs à mi-hauteur des raies spectrales sont inférieures aux raies de l'eau observées en pratique dans le spectromètre. En effet, au chapitre III, on a vu que la raie de l'eau obtenue avec le dispositif en COC avait une largeur à mi-hauteur de 16 Hz avec une épaisseur de membrane de 250µm. Or, en comparant cette valeur à celle du tableau correspondant au même cas d'étude, on prévoie une largeur à mi-hauteur de 7.5Hz, soit environ deux fois moins que ce qui est observé.

Ces résultats nous conduisent à penser qu'un autre phénomène intervient sur la dégradation de la résolution spectrale. Nous suggérons que l'effet d'amortissement radiatif est

susceptible d'expliquer la différence qu'il existe entre les résultats issus de notre modèle numérique et les résultats expérimentaux obtenus. Ce point fait l'objet du paragraphe suivant.

5 Amortissement radiatif dans une expérience à 11.74 Tesla

Une expérience de spectroscopie RMN réalisée avec un champ très intense (>7T) sur un échantillon de concentration élevée en noyaux observés est sujette au phénomène « d'amortissement radiatif ». Ce phénomène, mis en évidence dans les années 50 [8], semble pourtant être évoqué rarement, peu d'études y faisant référence. Il est à l'origine d'un mécanisme au niveau atomique accélérant le retour à l'équilibre des aimantations après l'excitation des noyaux par un champ RF. Il dépend principalement de paramètres instrumentaux tels que l'intensité du champ magnétique, le facteur de qualité de l'antenne de détection, le facteur de remplissage et la concentration de l'échantillon [12-14]. Dans des expériences classiques de RMN, le signal de FID décroît exponentiellement au cours du temps avec un taux de $1/T_2^*$. Nous verrons par la suite la conséquence de l'amortissement radiatif sur le temps de relaxation T_2^* et sur l'élargissement des raies.

5.1 Constante de temps de l'amortissement radiatif

La constante de temps liée à l'amortissement radiatif, T_r, est définie par l'expression 4-21 qui représente l'évolution au cours du temps de l'angle entre l'aimantation résultante et le champ statique externe [15].

$$\tan(\theta/2) = \tan(\theta_0/2)\exp(-t/T_r) \qquad \textbf{IV-23}$$

avec θ l'angle entre l'aimantation résultante et le champ statique externe B_0, θ_0 l'angle de basculement dû à l'impulsion d'excitation et T_r la constante de temps de l'amortissement radiatif. Dans le cas d'un fort amortissement radiatif, nous verrons que le signal dans le domaine fréquentiel est décrit par une fonction hyperbolique.

L'inverse du temps de relaxation transverse expérimental T_2^* peut être défini par la somme des inverses du temps de relaxation transverse intrinsèque de la molécule étudiée T_2,

du temps provenant des inhomogénéités de champ T_{inhom}, et de la constante de temps de l'amortissement radiatif T_r, (expression IV-24) [11].

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2} + \frac{1}{T_{in\,\mathrm{hom}}} + \frac{1}{T_r} \qquad \textbf{IV-24}$$

En conséquence, à partir de l'expression IV-24, on peut conclure que plus T_{inhom} et T_r sont petits, plus la largeur à mi-hauteur de la raie spectrale est importante et plus la résolution spectrale est dégradée.

5.2 Forme des raies spectrales en cas d'amortissement radiatif

Le calcul de la forme d'une raie spectrale dans les conditions d'un fort amortissement radiatif n'est pas tout à fait le même que pour la simple relaxation (paragraphe 4) car la fonction définissant le signal FID devient de la forme $S(t) = M_0 \sec h[(t-t_0)/T_r]\exp(j\omega_0 t)$ (domaine temporel), où sech est la fonction sécante hyperbolique et t_0 est une constante de temps qui dépend de l'angle de basculement θ_0. Lorsque $\theta_0=\pi/2$, la constante de temps t_0 est nulle. Par transformée de Fourier, la forme de raie est exprimée dans le domaine fréquentiel, relation IV-25 [15].

$$S(\omega) = \int_0^\infty M_0 \sec h[(t-t_0)/T_r]\cos(\omega-\omega_0)t\,dt \qquad \textbf{IV-25}$$

Supposons qu'une impulsion $\pi/2$ soit utilisée pour exciter le volume de l'échantillon, l'intégrale de la fonction hyperbolique est donnée par l'expression IV-26.

$$S(\omega) = K \sec h\left[\frac{\pi T_r}{2}(\omega-\omega_0)\right] \qquad \textbf{IV-26}$$

C'est aussi une fonction hyperbolique, avec K est une constante.

La fréquence de Larmor est une fonction qui dépend de la position quand le champ B_0 n'est pas homogène. La forme de raie qui résulte du signal issu de tout l'échantillon est trouvée en intégrant la relation 4-28 sur le volume de celui-ci.

Comme dans le cas de la fonction de Lorentz, les valeurs de champs magnétiques dans l'échantillon vont nous permettre de calculer la forme de raie. Finalement, les mêmes séries de données seront nécessaires pour calculer les formes de raies dans le cas de l'amortissement radiatif que dans le cas de la relaxation simple. On pourra alors comparer pour ces deux cas

la largeur de raie et donc la résolution spectrale prédite en prenant en compte ou non l'effet de l'amortissement radiatif.

La fonction hyperbolique S(ω) est sommée sur tous les petits volumes de l'espace comme dans le cas des inhomogénéités de champ étudié précédemment dans ce chapitre. La pulsation de Larmor est remplacée par la valeur de la pulsation calculée pour chaque petit volume. La constante K est remplacée par la valeur du champ magnétique B_1 créé par l'antenne planaire dans chaque petit volume, notée $B_{1(p,\,n,\,m)}$, (expression IV-27).

$$\sum S(\omega) = \sum_{m=0;n=0;p=0}^{m=100;n=200;p=200} B_{1(p,n,m)}.\sec h\left[\frac{\pi T_r}{2}(\omega-(\omega_0+\omega_{(p,n,m)}))\right] \qquad \textbf{IV-27}$$

La fonction obtenue est une superposition de fonctions hyperboliques. Nous verrons dans la suite que cette fonction dépend fortement de la valeur de la constante de temps de l'amortissement radiatif T_r.

5.3 Résolution spectrale dans le cas de l'amortissement radiatif

L'amortissement radiatif est difficile à déceler dans une expérience en spectroscopie par RMN et très peu d'articles se réfèrent à ce phénomène. Il s'agit par ailleurs d'un phénomène très complexe, d'autant plus difficile a étudier sur le plan théorique que l'antenne planaire développée pour notre microsystème nécessite de prendre en compte des champs non uniformes. Une étude théorique détaillée sort clairement des objectifs et de l'ambition du travail présenté dans ce manuscrit. On peut cependant affirmer par comparaison avec des travaux se classant dans un cas de fort amortissement radiatif [15], que notre étude, effectuée souvent avec de l'eau (cas d'une très fort concentration en protons) et un champ de 11,74 Tesla se trouve être dans les conditions correspondantes au cas de l'amortissement radiatif ne pouvant être négligé.

Deux expériences ont été effectuées afin de tenter d'établir le niveau de contribution de l'amortissement radiatif dans le phénomène d'élargissement des raies observé.

5.3.1 Variation de l'amortissement radiatif en fonction du facteur de remplissage

La première expérience pour déceler la contribution de l'élargissement des raies spectrales dues à l'amortissement radiatif a consisté à faire varier la constante de temps de l'amortissement radiatif en modifiant le facteur de remplissage du micro système. En effet, dans le cas d'une antenne créant un champ homogène, la constante de temps de l'amortissement radiatif T_r, est inversement proportionnelle à la valeur du facteur de remplissage η [12, 14, 16], (expression IV-28).

$$T_r = \frac{1}{2\pi\eta Q\gamma M_0} \qquad \textbf{IV-28}$$

où η est le facteur de remplissage, Q est le facteur de qualité de l'antenne, γ le rapport gyromagnétique et M_0 l'aimantation à l'équilibre. Nous faisons l'hypothèse que T_r varie approximativement dans le même sens en fonction de η pour une antenne planaire (cas cette fois d'un champ non homogène).

Afin de faire varier le facteur de remplissage d'un micro système, il faut modifier la taille de l'échantillon par rapport à l'antenne. Pour que cette différence soit importante et qu'elle nous permette d'observer une distinction notoire sur la largeur de raie spectrale, nous avons pensé à comparer une expérience dans laquelle l'échantillon est placé dans la cavité et une autre dans laquelle l'antenne est plongée dans un échantillon de volume important, (figure IV-18).

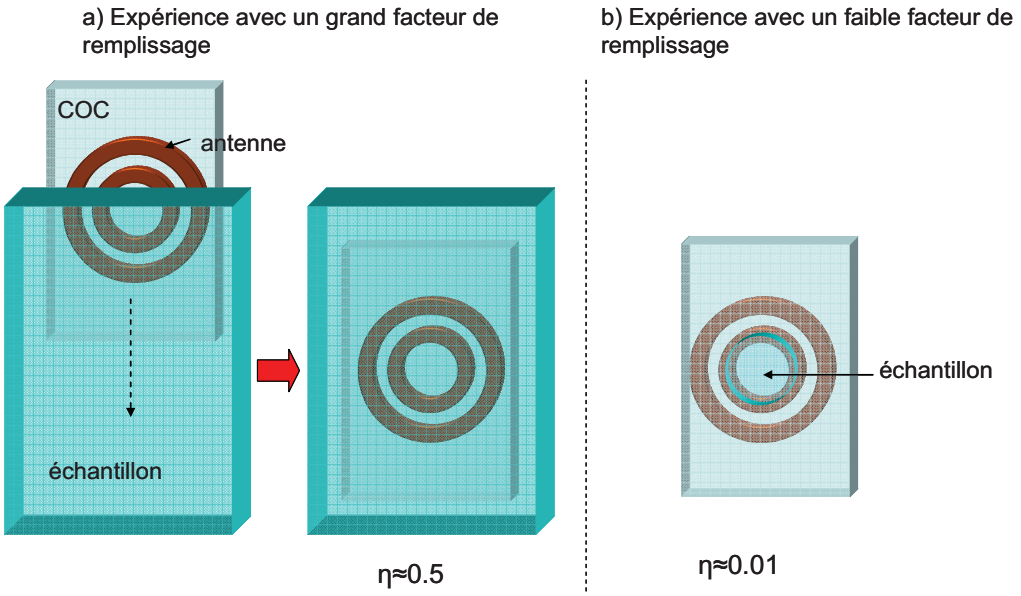


Figure IV-18 : Schéma présentant les deux expériences effectuées pour observer l'amortissement radiatif. En a) l'antenne est plongée dans l'échantillon se qui produit un facteur de remplissage maximum approximativement égale à 0.5. En b) l'échantillon est placé dans la cavité du système microfluidique, le facteur de remplissage est de l'ordre de 1%.

L'expérience réalisée avec le micro système muni d'une cavité est semblable à celle présentée au chapitre III excepté que la cavité soit remplie d'éthanol et non d'eau. Le spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu est présenté sur la figure IV-19.

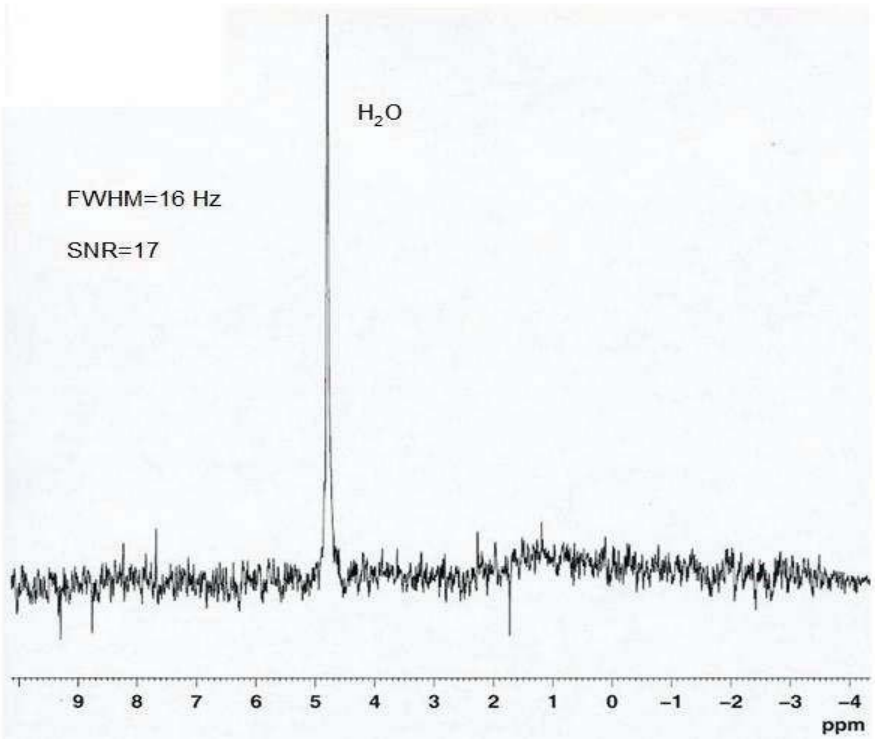


Figure IV-19 : Spectre ^{1}H obtenu avec notre microsystème à cavité remplie d'eau avec une seule acquisition

L'autre expérience consiste donc à plonger le dispositif dans un échantillon contenant uniquement de l'eau. La surface de l'antenne est protégée par une couche de COC d'épaisseur 50µm pour éviter les courts circuits. Le spectre ^{1}H de l'éthanol obtenu est décrit sur la figure IV-20.

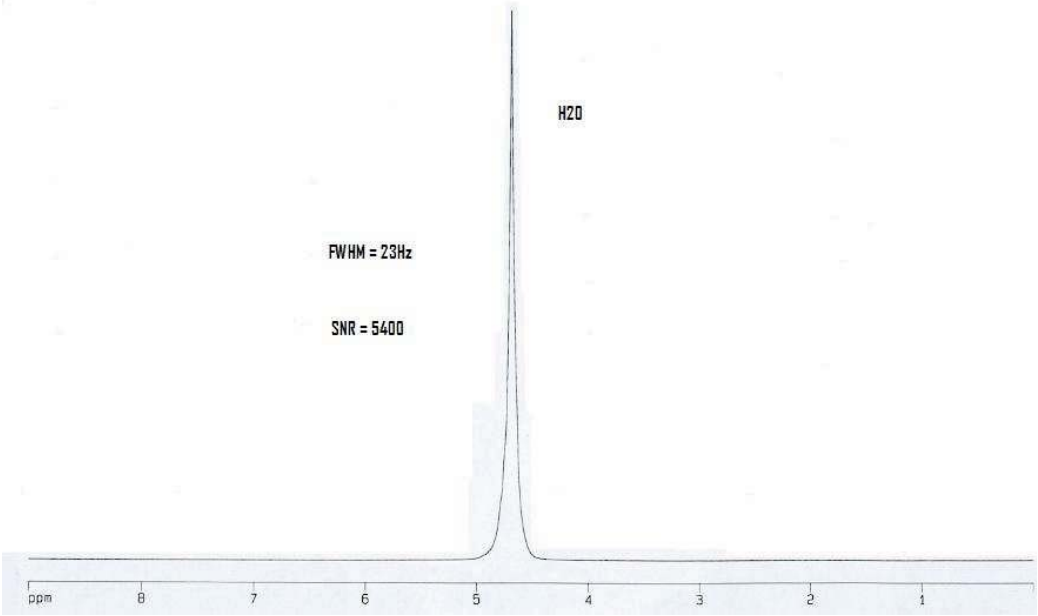


Figure IV-20 : Spectre ^{1}H obtenu avec notre antenne planaire plongée dans un échantillon d'eau.

Ce spectre de l'eau a une largeur à mi-hauteur de 0.04ppm et un rapport signal sur bruit de 5400.

Ainsi, on observe un élargissement des raies entre le cas où l'échantillon est placé dans la cavité et celui où l'antenne est plongée dans l'échantillon. On passe d'une largeur à mi-hauteur de 0.03ppm dans l'expérience avec un faible facteur de remplissage, à 0.04ppm dans celle avec un facteur de remplissage maximum (0.5). Cette variation de la résolution spectrale semble coïncider avec la présence du phénomène d'amortissement radiatif. Afin de vérifier cette hypothèse, une autre expérience sera développée sur la concentration en proton des solutions, (paragraphe 5.3.3). Mais tout d'abord, on compare les résultats obtenus expérimentalement aux calculs numériques de la largeur de raie à mi-hauteur dans des conditions similaires.

5.3.2 Modèle incluant l'amortissement radiatif

Afin de comparer le modèle numérique tenant compte seulement des inhomogénéités de champ et celui tenant compte en plus de l'amortissement radiatif, il est nécessaire de refaire des simulations dans le cas où l'antenne est plongée dans l'échantillon.

L'inconvénient majeur du calcul de la forme de raie dans le cas de l'amortissement radiatif est qu'il nous est impossible de connaitre la constante de temps T_r d'une expérience en RMN réalisée avec une antenne planaire.

C'est pourquoi, les calculs ont été effectués en testant différentes valeurs de T_r. Dans la figure IV-21 sont données les valeurs de largeurs à mi-hauteur calculées en fonction de différentes valeurs de T_r.

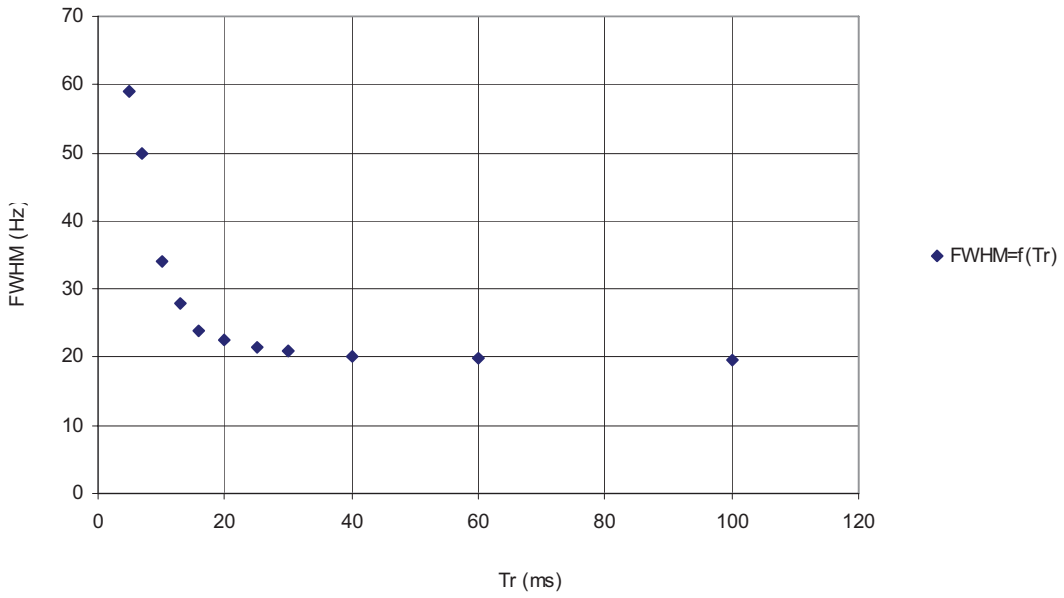


Figure IV-21 : Courbe représentant la variation de la largeur à mi-hauteur calculée numériquement en fonction du temps d'amortissement radiatif pour le modèle où l'antenne est plongée dans l'échantillon.

A partir de la courbe de la figure IV-21, on observe que la largeur à mi-hauteur diminue jusqu'à 20Hz en fonction de la constante de temps de l'amortissement radiatif dans le cas où l'antenne est plongée dans l'échantillon. Cette variation de la résolution spectrale était attendue d'après la relation 4-23 entre T_2* et T_r.

Si on compare le spectre ^{1}H de l'eau obtenu expérimentalement avec ces résultats numériques, on remarque que la forme de raie numérique se rapprochant le plus de l'expérience a été calculée avec une constante de temps de l'amortissement radiatif de 16ms. Cette valeur semble acceptable puisque du même ordre de grandeur que la valeur trouvée dans une étude [17] visant à déterminer T_r expérimentalement (dans le cas cependant d'un champ homogène. Une valeur de 20ms est rapportée.). La forme de raie obtenue numériquement correspondant à ce cas est tracée, (figure IV-22).

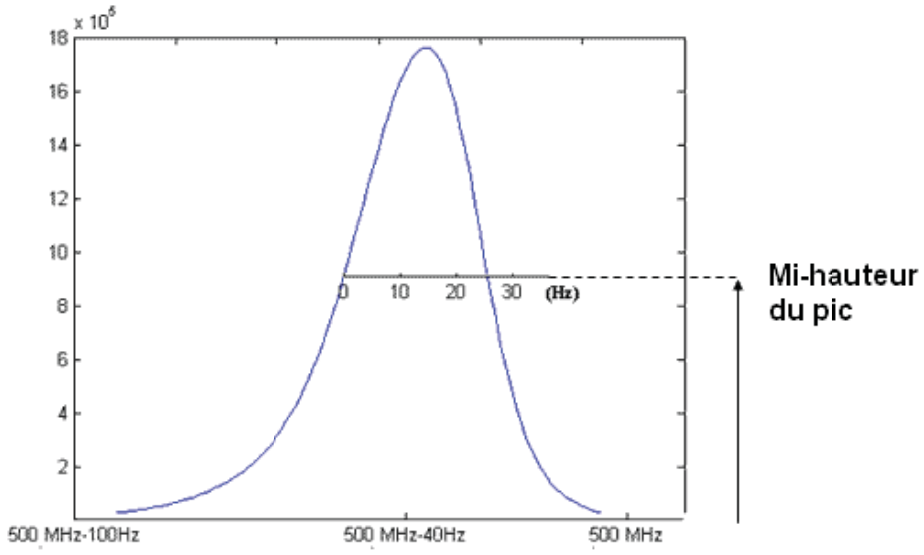


Figure IV-22 : Visualisation de la forme (hyperbolique) des raies obtenues numériquement pour un échantillon de grand volume.

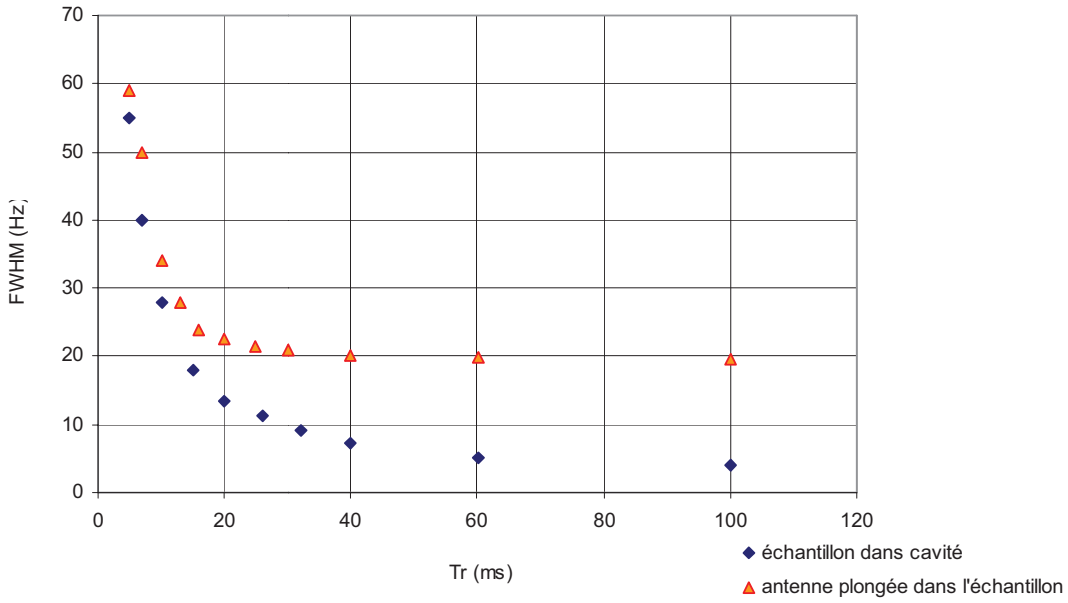


Figure IV-23 : Courbe représentant la variation de la largeur à mi-hauteur calculée en fonction du temps d'amortissement radiatif pour l'échantillon placée dans la cavité.

A partir de la courbe de la figure IV-23, on observe que la largeur à mi-hauteur diminue en fonction de la constante de temps de l'amortissement radiatif dans le cas où l'échantillon est placé dans la cavité du modèle du microsystème.

Si on compare le spectre ^1H de l'eau obtenu expérimentalement, (figure IV-19), avec ces résultats numériques, on remarque que la forme de raie numérique se rapprochant le plus de l'expérience a été calculée avec une constante de temps de l'amortissement radiatif de 20ms. Cette valeur de T_r est légèrement plus grande que dans le cas où l'antenne est plongée dans l'échantillon ce qui était attendu car dans ce cas, le facteur de remplissage est plus faible, relation IV-30. La forme de raie obtenue numériquement est tracée, (figure IV-24).

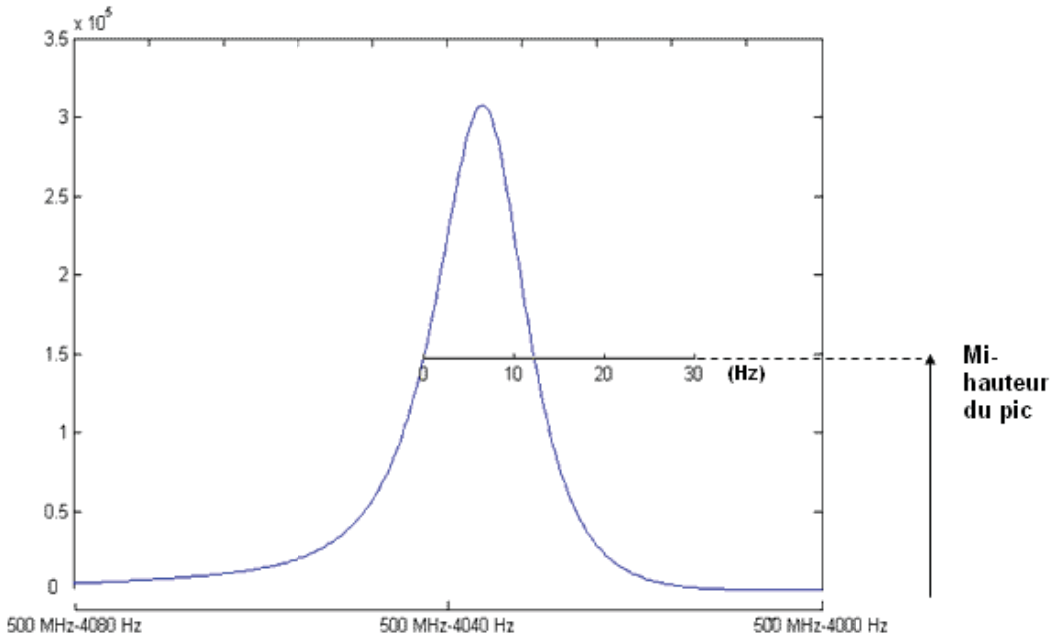


Figure IV-24 : Visualisation de la forme hyperbolique des raies obtenues dans le cas d'un échantillon de grand volume.

Les simulations nous permettent de visualiser la forme de la raie spectrale en tenant compte de l'amortissement radiatif avec une constante de temps T_r=20ms.

En supposant que notre microsystème est dans un cas d'intense amortissement radiatif, les constantes de temps des raies calculées numériquement semblent être du même ordre de grandeur que celle trouvée dans des travaux analysant cette effet en spectroscopie par RMN [17] et leur variation en fonction du facteur de remplissage de l'expérience coïncide avec ce qui était prévu analytiquement.

Afin de vérifier que le phénomène d'amortissement radiatif est bien la cause d'une part de la dégradation de la résolution spectrale, une seconde expérience est effectuée. Cette

dernière a pour objectif de mettre en évidence l'élargissement des raies spectrales en cas de forte concentration en protons, ce qui est attendu en cas d'amortissement radiatif significatif.

5.3.3 Variation de l'amortissement radiatif en fonction de la concentration en protons de l'échantillon

L'amortissement radiatif est lié à la concentration en protons de la solution d'analyse. Plus la concentration est élevée, plus le phénomène d'amortissement radiatif est grand. Ainsi, pour observer ce phénomène avec le même microsystème, une expérience est mise en place dans laquelle plusieurs échantillons de concentration différentes en proton sont introduits. Pour réaliser ces échantillons, on mélange un produit concentré en proton avec une solution deutérée telle que le D_2O qui ne contient pas d'atome d'hydrogène. Trois mélanges ont été testés en RMN, de l'éthanol à 99.8% (0.2% d'eau), de l'éthanol à 10% (90% de D_2O) et de l'éthanol à 1% (99% de D_2O). Les spectres que nous avons obtenus grâce au microsystème en COC sont présentés dans les figures IV-25, IV-26 et IV-27.

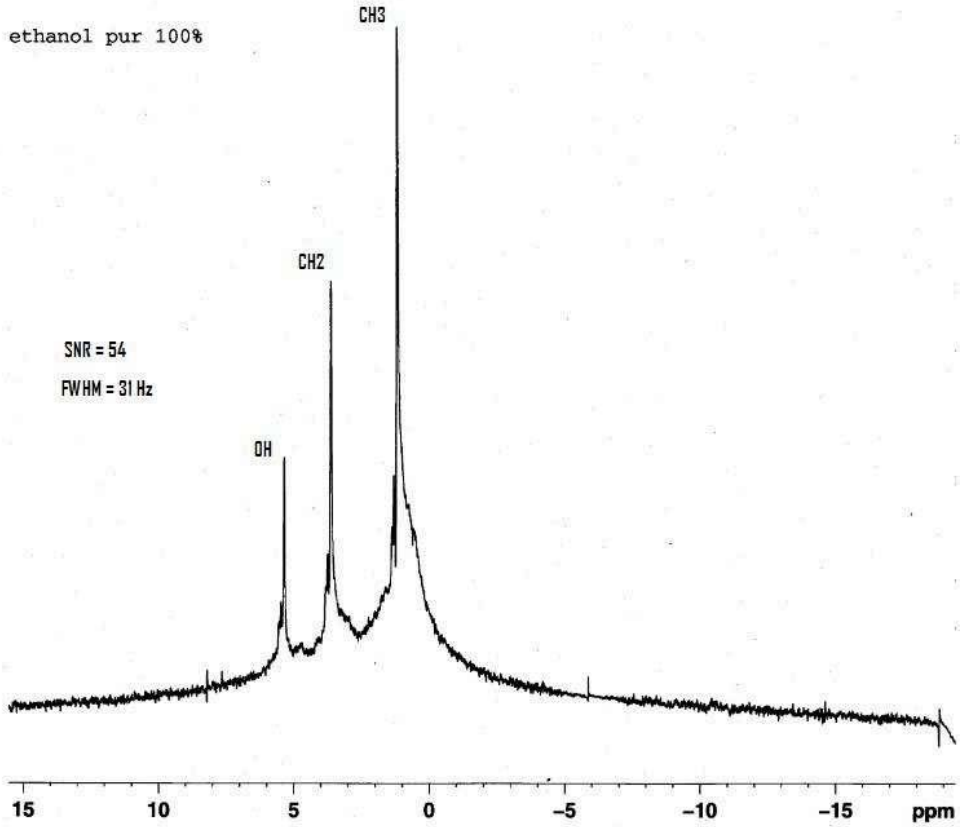


Figure IV-25 : Spectre ^{1}H de 150nL d'éthanol à 99.8% obtenu avec le spectromètre de 11.74T et 64 acquisitions

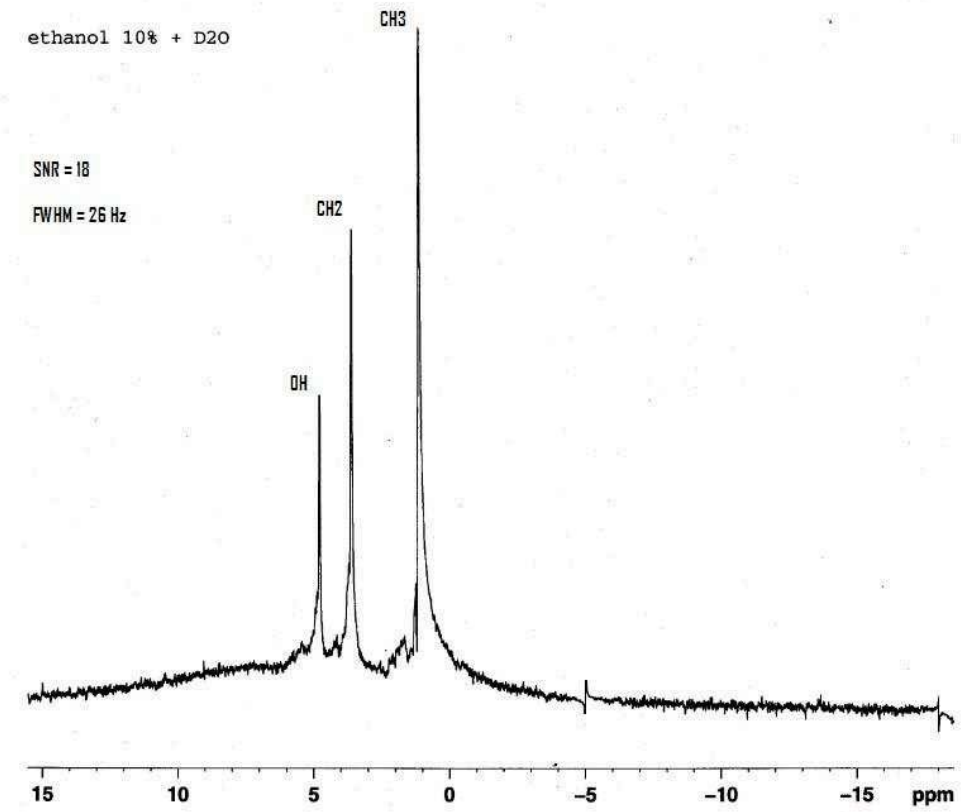


Figure IV-26 : Spectre ^{1}H de 150nL d'éthanol à 10% obtenu avec le spectromètre de 11.74T et 64 acquisitions

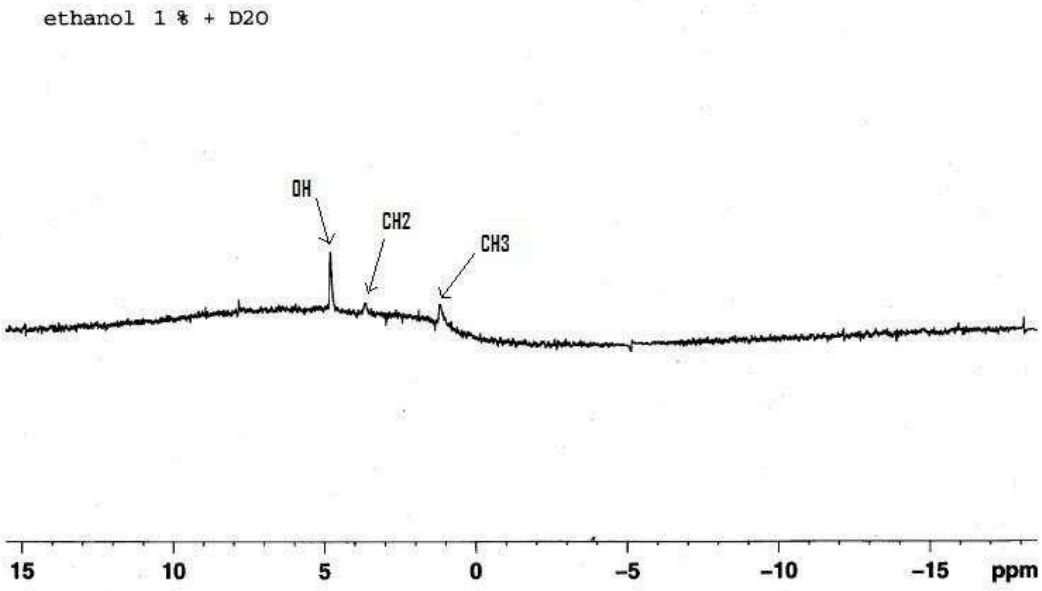


Figure IV-27 : Spectre ^{1}H de 150nL d'éthanol à 1% obtenu avec le spectromètre de 11.74T et 64 acquisitions

Proportion d'éthanol et de D_2O	Ethanol 100%	Ethanol 10% + D_2O 90%	Ethanol 1% + D_2O 99%
Concentration	17 mol/L	1.7 mol/L	0.17 mol/L
Nombre de moles	2.55µmol	255nmol	25nmol
FWHM	0.06ppm	0.05ppm	--Hz

Tableau IV-10 : Valeurs de largeurs à mi-hauteur mesurées sur des spectres de l'éthanol pour différentes concentrations et nombres de moles analysés.

Les trois spectres de l'éthanol ont été obtenus avec le même microsystème. Nous avons donc réussi à obtenir le spectre de l'éthanol à 10%, ce qui correspond à l'analyse de 15nL d'éthanol soit seulement 255nmol d'éthanol grâce à notre microsystème et en 64 acquisitions.

L'expérience effectuée avec une solution de 1% d'éthanol n'a pas donnée de résultats très intéressant, car avec seulement 64 acquisitions, on remarque qu'on est à la limite de détection de nos microsystèmes. Il faudrait beaucoup plus d'acquisitions pour obtenir des raies bien distinctes et analysables, ce que nous n'avons pas eu le temps de tester. C'est pourquoi, nous n'utiliserons pas les valeurs de rapport signal sur bruit et de largeur à mi-hauteur issues cette expérience.

L'objectif de cette expérience était d'observer l'effet de l'amortissement radiatif sur la résolution spectrale en fonction de la concentration en proton de l'échantillon. Or, d'après les spectres obtenus, il n'est pas évident d'arriver à une conclusion claire, car la variation de la largeur à mi-hauteur entre les spectres de 99.8% et 10% d'éthanol est très faible. Cette différence ne permet pas de conclure avec certitude que l'amortissement radiatif a un rôle important dans l'élargissement des raies spectrales pour des microsystèmes.

Par contre, en comparant la base des raies spectrales, on remarque que la raie est plus homogène dans le cas de l'échantillon avec 10% d'éthanol que dans le cas avec 100% d'éthanol. Cette observation était attendue mais n'est pas résultante des effets de l'amortissement radiatif. Ces variations à la base des spectres proviennent des différences de susceptibilité magnétique entre les échantillons. En effet, l'éthanol à 10% a pratiquement la même susceptibilité magnétique que l'eau en raison de la quantité de D_2O (90%), et on a pu voir que la susceptibilité de l'eau se rapproche de celle du COC (par rapport à celle de

l'éthanol) ce qui cause une homogénéité de la microsonde et donc une meilleure homogénéité du spectre.

6 Conclusion

La résolution spectrale en RMN est définie par la largeur à mi-hauteur des raies spectrales obtenues expérimentalement. Elle est inversement proportionnelle au temps de relaxation transverse T_2*. Cependant, le temps de relaxation transverse dépend des variations de champ magnétique local qui apparaissent à l'intérieur de l'échantillon. Ces variations de champ magnétique sont dues aux différentes susceptibilités magnétiques propres à chaque matériau constituant le microsystème.

Le microsystème réalisé au chapitre III étant fabriqué à base de COC, la susceptibilité magnétique de celui-ci a été mesurée avec une balance magnétique et vaut $-0.9.10^{-6}$ (cgs). A partir d'une expérience effectuée en spectroscopie RMN montrant l'effet de l'insertion d'un échantillon de COC dans un tube d'analyse, on démontre que ce polymère est nettement meilleur qu'un substrat en circuit imprimé. En effet, les résultats encourageants concernant l'élargissement des raies spectrales nous laisse penser qu'il est avantageux de l'utiliser en spectroscopie RMN.

Une méthode permettant de modéliser les variations de champ magnétique a été développée en fonction du microsystème d'analyse. Cette méthode est basée sur la conception d'un modèle 3D du microsystème sous COMSOL® et la simulation par éléments finis des variations du champ magnétique générées par l'introduction de ce microsystème dans un champ magnétique statique uniforme. On observe à partir des simulations que le modèle de l'antenne introduit des variations du champ magnétique à proximité de celle-ci (<100µm), ce qui nous permet de conclure que l'échantillon doit être positionné à une distance du plan de l'antenne au moins égale à 100µm.

A partir des valeurs calculées du champ magnétique avec le modèle de simulation a été déterminée la forme de la raie spectrale. Celle-ci est définie par l'intégration sur le volume de l'échantillon d'une fonction de Lorentz. Plusieurs simulations sont effectuées pour connaitre le paramètre physique du microsystème qui a le plus d'impact sur la résolution spectrale. Ainsi, l'épaisseur de membrane, la valeur de susceptibilité magnétique de

l'échantillon et l'inclinaison du dispositif par rapport à la direction du champ sont étudiés. L'analyse des raies spectrales calculées a démontrée que l'épaisseur de membrane a le plus d'impact sur la résolution spectrale. En effet, dans le modèle, plus la distance entre les spires et l'échantillon est faible et plus la largeur à mi-hauteur des raies est grande. On passe d'une raie de largeur 5Hz pour un échantillon d'eau placé à 100µm du plan de l'antenne, à 13Hz pour le même échantillon d'eau mais placé à 50µm.

Cependant, les valeurs calculées de largeur à mi-hauteur sont plus faibles que celles mesurées sur les spectres obtenus en pratique. La dégradation de la résolution spectrale n'est donc pas seulement due aux inhomogénéités de champ présentes dans l'échantillon. Un autre phénomène doit donc être pris en cause et l'hypothèse de l'amortissement radiatif est avancée.

L'amortissement radiatif apparaît pour des molécules très concentrées en protons et un champ magnétique intense. On a pu voir que c'est un phénomène difficile à étudier sur le plan théorique. Cependant notre étude, effectuée souvent avec de l'eau et de l'éthanol (cas d'une très fort concentration en protons) et un champ de 11,74 Tesla se trouve être dans les conditions correspondantes au cas de l'amortissement radiatif. Pour vérifier que c'est le cas, deux expériences ont été effectuées afin d'estimer le niveau de contribution de l'amortissement radiatif dans le phénomène d'élargissement des raies observé.

Une première expérience consiste à comparer deux spectres obtenus avec les mêmes microsystèmes mais avec des facteurs de remplissage différents. On observe bien un élargissement de la raie de l'eau dans le cas d'un facteur de remplissage maximal, ce qui était espéré. Ces résultats de mesures étant difficiles à interpréter théoriquement, la part d'élargissement des raies due à l'amortissement radiatif n'est pas clairement définie, c'est pourquoi une autre expérience a été réalisée.

La seconde expérience consiste à analyser des échantillons d'éthanol à différentes concentrations avec le même microsystème. En effet, en testant des mélanges d'éthanol et d'eau deutérée (D_2O), on a pu comparer les largeurs de raies spectrales obtenues avec 100%, 10% et 1% d'éthanol. On observe bien un élargissement des raies de l'éthanol à forte concentration (100%). Ces résultats ont besoins d'être reproduits et quelques expériences supplémentaires à 5% et 2% permettraient de conclure sur la réelle implication de l'amortissement radiatif sur l'élargissement des raies.

Bibliographie

1. Webb, A.G. and S.C. Grant, *Signal-to-noise and magnetic susceptibility trade-offs in solenoidal microcoils for NMR.* Journal of Magnetic Resonance Series B, 1996. **113**(1): p. 83-87.

2. Ehrmann, K., et al., *Sample patterning on NMR surface microcoils.* Journal of Magnetic Resonance, 2006. **178**(1): p. 96-105.

3. Ernst R. R., B.G., Waukun A., *Principles of nuclear magnetic resonance experiment in one and two dimensions.* Clarendon Press, Oxford, 1987.

4. Demeure, R., *Paramètres Biophysiques Fonctionnels et les IRM Fonctionnelles.* Louvain Med., 1999. **118**: p. 114-128.

5. Bloembergen, N., E.M. Purcell, and R.V. Pound, *Citation Classics - Relaxation Effects in Nuclear Magnetic-Resonance Absorption.* Current Contents, 1977(18): p. 7-7.

6. Pople, J.A., Schneider, W.G., and Bernstein, H.J., *High Resolution Nuclear Magnetic Resonance.* McGraw-Hill, New York, 1959: p. 79-80.

7. Webb, A.G., *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy.* 1997. **31**: p. 1-42.

8. Massin, C., et al., *Planar microcoil-based microfluidic NMR probes.* Journal of Magnetic Resonance, 2003. **164**(2): p. 242-255.

9. Doty, F.D., Entzminger, G., *Magnetism in high-resolution NMR probe design. I: General methods.* Concepts in Magnetic Resonance, 1998. **10**: p. 133-156.

10. Fuks, L.F., et al., *Susceptibility, Lineshape, and Shimming in High-Resolution Nmr.* Journal of Magnetic Resonance, 1992. **100**(2): p. 229-242.

11. Gueron, M. and J.L. Leroy, *Nmr of Water Protons - the Detection of Their Nuclear-Spin Noise, and a Simple Determination of Absolute Probe Sensitivity Based on Radiation Damping.* Journal of Magnetic Resonance, 1989. **85**(1): p. 209-215.

12. Bloembergen N., P.R.V., *Radiation damping in magnetic resonance experiments.* Physical Review, 1954. **95**: p. 8-12.

13. Augustine, M.P., *Transient properties of radiation damping.* Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy, 2002. **40**(2): p. 111-150.

14. Krishnan, V.V., *Radiation damping in microcoil NMR probes.* Journal of Magnetic Resonance, 2006. **179**(2): p. 294-298.

15. Mao, X.A. and C.H. Ye, *Line-Shapes of Strongly Radiation-Damped Nuclear-Magnetic-Resonance Signals.* Journal of Chemical Physics, 1993. **99**(10): p. 7455-7462.

16. Abragam, A., *The principles of Nuclear Magnetism.* Clarendon Press, Oxford, 1961.

17. Mao, X.A., J.X. Guo, and C.H. Ye, *Radiation Damping Effects on Transverse Relaxation-Time Measurements.* Chemical Physics Letters, 1994. **227**(1-2): p. 65-68.

Conclusion Générale

L'objectif du travail présenté dans ce manuscrit concerne l'étude et la réalisation d'un microsystème permettant l'analyse de faibles quantités de produits chimiques ou biologiques par spectroscopie par résonance magnétique nucléaire. Ce microsystème est destiné à être testé dans un spectromètre à haut champ magnétique (11.74 T) ce qui, pour ce genre de dispositif, est très élevé par rapport aux travaux publiés jusqu'ici. L'approche mise en œuvre afin d'atteindre cet objectif a été décomposée en quatre phases faisant chacune l'objet d'un chapitre de ce manuscrit.

Le premier chapitre propose tout d'abord une présentation générale des laboratoires sur puce et de la microfluidique. La spectroscopie par résonance magnétique nucléaire est ensuite présentée car la compréhension de son principe permet de déterminer quels sont les paramètres importants pour la conception du microsystème. Enfin, nous proposons un état de l'art sur les principaux travaux antérieurs réalisés en micro-spectroscopie RMN basés sur un microsystème et notamment les travaux auxquels ont participés notre laboratoire.

Le second chapitre traite de la conception d'une microantenne représentant la partie sensible d'un microsystème fonctionnant en spectroscopie RMN. La géométrie de l'antenne est choisie de type planaire en raison de la compatibilité de cette structure avec les techniques de micro-fabrication et de la possibilité de l'associer à un système microfluidique. Les paramètres géométriques de l'antenne sont un facteur prépondérant pour la sensibilité du microsystème. Le facteur de qualité de l'antenne et le taux de remplissage doivent être optimisés afin d'obtenir le meilleurs couplage électromagnétique entre l'antenne et l'échantillon, ce qui se traduit par la maximisation du rapport signal sur bruit..

Dans ce but, nous avons développé un outil permettant d'optimiser les paramètres géométriques des antennes planaires en tenant compte des contraintes expérimentales et du volume de la cavité. Cet outil de résolution numérique par éléments finis a été développé sous l'environnement COMSOL® et permet de déterminer les paramètres géométriques optimaux d'une antenne planaire par rapport au volume de l'échantillon afin d'obtenir le maximum de rapport signal sur bruit. Ainsi, pour une cavité microfluidique de 450µm de

rayon et 70µm d'épaisseur (mettre le volume exact correspondant) destinée à contenir un échantillon a analyser par spectroscopie RMN dans un champ à 11,74 T, l'antenne planaire optimale correspondante comporte deux spires d'épaisseur 35µm, de largeurs 150µm et séparées de 150µm avec un rayon interne de 440µm.

La géométrie de l'antenne planaire optimale étant validée, le troisième chapitre est consacré à la fabrication du microsystème fonctionnant en RMN. Dans un premier temps est présenté le procédé de réalisation d'une microantenne planaire basé sur la technique LIGA UV mais adaptée à un substrat en polymère en cyclique-oléfine-copolymère (COC). Dans un second temps, la fabrication du réseau microfluidique, également en COC, destiné à contenir l'échantillon est présenté. Pour ce faire, un procédé de pressage à chaud (hot embossing) sur moule en acier et nickel a été développé au laboratoire et est présenté. Le moule en de pressage à chaud est réalisé au préalable grâce au procédé LIGA.

La fabrication d'un dispositif à base de polymère pour la SRMN a été réalisée à partir des techniques développées précédemment sur COC. L'antenne planaire est fabriquée au plus proche de la cavité du système micro fluidique. Enfin, pour que ces microsystèmes puissent fonctionner, la conception et la fabrication d'un circuit de conditionnement permettant l'accord de l'antenne à 500MHz et l'adaptation d'impédance à 50Ω ont été effectuées. Ce circuit présente l'originalité d'exploiter un circuit capacitif parallèle à base de varicaps afin de pouvoir réaliser l'accord et l'adaptation de l'antenne à l'intérieur du spectromètre de façon déportée.

Les microsystèmes réalisés ont été testés dans un spectromètre produisant un champ magnétique de 11,74T. Les spectres ^{1}H de l'eau et de l'éthanol ont été extraits et analysés. Le rapport signal sur bruit mesuré sur chaque spectre est comparé aux valeurs calculées théoriquement grâce à l'outil de calcul développé au chapitre II. En comparant les rapports signal sur bruit obtenus avec les microsystèmes en COC formés d'épaisseurs de membrane différentes, on observe le même rapport sur les valeurs de SNR mesurés que celles calculées avec l'outil numérique. Enfin, les limites de détection de nos microsystèmes sont mesurées et sont de l'ordre de 250nmol pour 64 acquisitions dans le cas de l'eau et de l'éthanol, molécules utilisées pour nos essais.

Enfin, dans un dernier chapitre est présentée une étude portant sur la résolution spectrale des spectres obtenus. La résolution spectrale est définie par la largeur à mi-hauteur des raies spectrales. Lors d'une expérience de SRMN utilisant l'antenne habituelle du spectromètre, la résolution spectrale est de 0.002ppm alors qu'elle est de 0.03ppm lorsque

c'est l'antenne d'un microsystème qui est employée. Afin d'expliquer cette dégradation de la résolution spectrale, on fait tout d'abord l'hypothèse qu'elle résulte des inhomogénéités du champ magnétique dues à l'introduction de matériaux dans le tube d'analyse du spectromètre. Ces inhomogénéités de champ magnétique sont dues aux différences de susceptibilités magnétiques qui existent entre les éléments constituants la microsonde. Une mesure de la susceptibilité magnétique du COC a été réalisée avec une balance magnétique pour comparer sa valeur à celles des solvants utilisés en SRMN tels que l'eau, l'éthanol et l'acétone. On a pu observer que le COC est un choix judicieux pour la fabrication du microsystème d'analyse car il contribue moins à l'élargissement des raies que le circuit imprimé.

Ensuite, afin de prévoir la largeur à mi-hauteur des raies spectrales en fonction du microsystème et des paramètres de l'expérience, un outil de calcul utilisant un modèle 3D par éléments finis (développé sous COMSOL) de la microsonde a été réalisé. Ainsi, on a pu calculer les variations de champ magnétique créées par la sonde en différents points de l'espace.

Ces résultats nous ont enfin permis de calculer la forme des raies et leur largeur à mi-hauteur pour différents modèles de microsonde. En comparant les largeurs à mi-hauteurs obtenues par calculs, il apparait bien une dépendance de la résolution spectrale avec le positionnement, la susceptibilité magnétique et l'inclinaison de l'échantillon dans le modèle 3D du microsystème. Ces valeurs calculées sont cependant plus faibles que celles mesurées en pratique ce qui nous a amené à introduire le phénomène d'amortissement radiatif dans le modèle. Cependant, c'est un phénomène difficile à quantifier en pratique et dont l'étude théorique précise sort très largement du cadre de ce travail de thèse. Toutefois, deux expériences ont été réalisées afin de mettre en évidence l'effet de l'amortissement radiatif, l'une faisant varier le facteur de remplissage de la sonde et l'autre faisant varier la concentration en proton de l'échantillon. Bien que la population des essais soit trop réduite pour qu'une statistique puisse être concluante, des indices tendent à confirmer que le phénomène d'amortissement radiatif contribue effectivement en partie à l'élargissement des raies spectrales observé…

Perspectives

Le microsystème développé au cours de ce travail permet d'obtenir des spectres sur des substances très concentrées en protons en un minimum de temps. L'étape suivante consiste à réduire le temps d'analyse pour des substances biologiques moins concentrées en

protons. Pour cela, quelques essais pourraient être menés sur l'intégration d'un amplificateur opérationnel directement sur le circuit de conditionnement afin d'augmenter le signal à la sortie du dispositif.

Résumé

Ce travail de thèse porte sur la conception, la réalisation et l'évaluation expérimentale d'un microsystème d'analyse dont l'originalité repose sur l'intégration d'une microantenne planaire de spectroscopie par résonance magnétique nucléaire (SRMN) sur un système microfluidique à base d'un polymère, le Cyclique Oléfine Copolymère (COC). La détermination des caractéristiques géométriques optimales du microsystème afin d'optimiser le couplage électromagnétique entre la microantenne de détection et l'échantillon est effectuée à l'aide d'un modèle de calcul numérique, ce qui permet l'optimisation du rapport signal sur bruit (RSB). La réalisation du microsystème avec des procédés de micro fabrication développés au laboratoire ont permis de valider son fonctionnement dans un spectromètre dont le champ magnétique statique atteint 11.74 Tesla (fréquence de Larmor du proton égale à 500 MHz). Travailler dans un champ aussi intense permet d'améliorer la sensibilité de détection mais nécessite de porter une attention particulière à l'homogénéité du champ magnétique qui, dans notre cas, peut être dégradée en raison de l'introduction du microsystème dans le spectromètre. En effet, les distorsions du champ magnétique, dues aux différentes susceptibilités magnétiques des matériaux constituant la microsonde, ont un impact direct sur la résolution spectrale. C'est pourquoi, une modélisation 3D par éléments finis est proposée afin de prévoir l'influence du microsystème sur la forme des raies spectrales et donc d'en déduire la résolution spectrale pouvant être espérée. La comparaison des résultats expérimentaux et ceux issus des simulations permet de valider le modèle de calcul numérique. Il apparaît cependant nécessaire d'inclure au modèle le phénomène d'amortissement radiatif afin de pouvoir rendre compte des résultats expérimentaux relatifs à la résolution spectrale effectivement observée.

Mots clefs : Spectroscopie par Résonance Magnétique Nucléaire, système microfluidique, rapport signal sur bruit, micro fabrication, modélisation numérique, susceptibilité magnétique, amortissement radiatif, résolution spectrale.

Abstract

The work presented in this thesis involves the design, the development and the experimental evaluation of an analysis micro system. The originality of the work lies in the integration of a planar micro coil of spectroscopy by nuclear magnetic resonance (SNMR) on a micro fluidic system based on a polymer, cyclo olefin copolymer (COC). The determination of the optimum geometric characteristics of the micro system to improve electromagnetic coupling between the detection micro coil and the sample is performed with the aid of a numerical model that ensures the optimization of the signal to noise ratio (SNR). Using micro fabrication techniques developed in the laboratory, the micro system was developed and its behaviour was validated in a spectrometer producing a static magnetic field of 11.74 Tesla (Larmor frequency of the proton equal to 500 MHz). Working in such an intense field results in improved sensitivity of detection but requires paying close attention to the homogeneity of the magnetic field. In this case the homogeneity can be degraded due to the introduction of the micro system in the spectrometer. Indeed, the distortions of the magnetic field, due to the different magnetic susceptibilities of the materials constituting the microprobe, have a direct impact on the spectral resolution. As such, 3D modelling by finite elements is proposed to predict the influence of the micro system on the shape of the spectral lines and to determine the best expected spectral resolution. The comparison of the experimental results to those obtained from simulation allows the validation of the numerical model. However, it appears necessary to include the effect of radiation damping in the model to be able to justify the experimental results relative to the spectral resolution that was observed.

Keywords : Spectroscopy by nuclear magnetic resonance, micro fluidic system, signal to noise ratio, micro fabrication, numerical modelling, magnetic susceptibility, radiation damping, spectral resolution.