



HAL
open science

Développement de microcapteurs chimiques intégrés pour la détection de l'ion sodium en phase liquide: application au suivi du stress physiologique

Arnaud Cazalé

► **To cite this version:**

Arnaud Cazalé. Développement de microcapteurs chimiques intégrés pour la détection de l'ion sodium en phase liquide: application au suivi du stress physiologique. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2012. Français. NNT: . tel-00782580

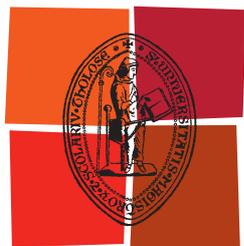
HAL Id: tel-00782580

<https://theses.hal.science/tel-00782580>

Submitted on 30 Jan 2013

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

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



Université
de Toulouse

THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Université Toulouse 3 Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Présentée et soutenue par :

Arnaud CAZALÉ

le vendredi 21 décembre 2012

Titre :

Développement de microcapteurs chimiques intégrés pour la détection de l'ion sodium en phase liquide: application au suivi du stress physiologique

École doctorale et discipline ou spécialité :

ED GEET : Micro et Nanosystèmes

Unité de recherche :

Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes - UPS Toulouse

Directeur(s) de Thèse :

Pierre TEMPLE-BOYER et William SANT

Jury :

Wojciech WROBLEWSKI, Professeur des Universités - WUT Varsovie (Pologne), Rapporteur

Abdelhamid ERRACHID, Professeur des Universités - LSA Lyon, Rapporteur

Pierre TEMPLE-BOYER, Directeur de Recherche - LAAS-CNRS Toulouse

William SANT, Chef de Projet - Société Hémodia Toulouse

Thierry CAMPS, Professeur des Universités - LAAS-CNRS Toulouse

Hubert PERROT, Directeur de Recherche - LISE-CNRS Paris

Frédéric RÉVOL-CAVALIER, Chef de projet - CEA/LETI Grenoble

Remerciements

Ces travaux de thèse ont été rendu possibles grâce à l'implication de la société HEMODIA dans le domaine de l'innovation et du secteur bio-médical. À ce titre, je remercie Monsieur Pierre Montoriol, PDG d'HEMODIA, pour m'avoir accueilli au sein de sa structure, m'ayant permis d'effectuer mes travaux dans un environnement idéal. Je souhaite également exprimer mes remerciements à tous les membres de l'équipe R&D, qui m'ont soutenu tout au long de ces trois dernières années, et plus particulièrement à mon encadrant technique, Monsieur William Sant.

Ce doctorat à été effectué en collaboration avec le Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes du CNRS. Les travaux de recherche et l'encadrement au sein du laboratoire ont été pris en charge par Monsieur Pierre Temple-Boyer, pour lequel je témoigne une vive reconnaissance. Je tiens à saluer par cette occasion mes collègues du LAAS, qui se reconnaîtront.

Les résultats issus de cette thèse sont finalement le fruit d'une étroite collaboration entre plusieurs acteurs majeurs de la recherche française : le Commissariat à l'Énergie Atomique (CEA-LETI), les laboratoires Pierre Fabre, La société Paul Boyé Technologies, et le Service de Santé des Armées (CRSSA). Ainsi, je remercie toutes les personnes ayant travaillé (de près ou de loin) sur ce projet.

Finalement, je tiens à remercier mes proches, à savoir mes amis et ma famille pour leur soutien sans faille.

Sommaire

INTRODUCTION GENERALE	1
------------------------------------	----------

CHAPITRE 1: Positionnement du projet SWEAT et état de l'art des méthodologies d'analyses ioniques

I. Positionnement du projet	9
I.1. Contexte économique	9
I.2. Enjeux scientifiques	11
II. La Thermorégulation.....	12
II.1. Thermolyse	15
II.1.A. Vasodilatation	15
II.1.B. Sudation	16
II.2. La sueur.....	17
II.3. Le sodium.....	18
II.3.A. Son rôle dans le corps humain	18
II.3.B. Sa signification dans la sueur	19
III. Méthodologies d'analyses.....	21
III.1. Spectroscopie	21
III.1.A. Spectroscopie d'émission.....	21
III.1.B. Spectroscopie d'absorption.....	23
III.1.C. Technologies à plasma	24
III.1.D. La spectroscopie et l'analyse de fluides biologiques	25
III.2. Chromatographie.....	25
III.2.A. Chromatographie en phase gazeuse.....	26
III.2.B. Chromatographie en phase liquide.....	27
III.3. Electrochimie	28
III.4. Limites analytiques	32
IV. Méthodes électroanalytiques.....	33
IV.1. Généralités.....	33
IV.1.A. Interfaces à l'équilibre.....	34
IV.1.B. Interfaces hors équilibre	36
IV.1.C. Courants faradiques	37

IV.1.D. Courants capacitifs	37
IV.2. Méthodes expérimentales.....	38
IV.3. Capteurs électrochimiques.....	40
IV.3.A. Ampérométrie	41
IV.3.B. Conductimétrie.....	44
IV.3.C. Impédimétrie.....	45
IV.3.D. Potentiométrie	47
V. Potentiométrie	48
V.1. Filières technologiques.....	48
V.2. Mécanismes de réponse.....	50
V.2.A. Dispositifs symétriques	50
V.2.B. Dispositifs asymétriques	53
V.3. Sélectivité des membranes.....	56
VI. Membranes sensibles.....	58
VI.1. Rôle des membranes	58
VI.2. Composition des membranes.....	59
VI.2.A. Matrices polymères.....	59
VI.2.B. Ionophores	61
VI.2.C. Plastifiants	64
VI.2.D. Additifs ioniques.....	65
VI.3. Technologies d'intégration	68
VI.3.A. Dépôt de microgouttes	68
VI.3.B. Dépôt par centrifugation.....	69
VI.3.C. Sérigraphie	69
VI.3.D. Jet d'encre	69
VII. Positionnement propre	70

CHAPITRE 2: Développement de la technologie pNa-ISFET

I. Technologie développée par HEMODIA	83
I.1. Fonctionnement d'un capteur ISFET	83
I.1.A. Architecture du MOSFET	83

I.1.B.	Principe de fonctionnement du MOSFET	84
I.1.C.	Architecture de l'ISFET	86
I.1.D.	Principe de fonctionnement de l'ISFET	87
I.2.	Principe de mesure	92
I.3.	Instrumentation de mesure.....	93
I.3.A.	Circuit de polarisation	93
I.3.B.	Carte d'acquisition.....	95
I.3.C.	Logiciel.....	96
I.4.	Caractérisations des composants ISFET	97
I.4.A.	Caractérisations électriques.....	98
I.4.B.	Encapsulation	100
I.4.B.a.	Substrat rigide.....	101
I.4.B.b.	Substrat flexible	101
I.4.C.	Caractérisations en phase liquide	102
I.4.C.a.	Caractéristique I_{ds}/V_{gs}	103
I.4.C.b.	Mesures en continu	104
I.4.C.b.i	Sensibilité au pH	104
I.4.C.b.ii	Dérive temporelle	106
II.	Intégration des couches sensibles aux ions sodium Na^+	109
II.1.	Dépôt de polychlorure de vinyl (PVC)	109
II.1.A.	Formulation des membranes PVC.....	109
II.1.B.	Intégration des membranes PVC.....	110
II.1.C.	Caractérisations des membranes PVC	110
II.1.D.	Conclusion	111
II.2.	Dépôt de polysiloxane (PSX).....	112
II.2.A.	Formulation des membranes PSX	113
II.2.B.	Intégration des membranes PSX.....	113
II.2.C.	Caractérisations des membranes PSX.....	113
II.2.C.a.	Limite de détection	113
II.2.C.b.	Sensibilité	114
II.2.C.c.	Sélectivité	115
II.2.C.d.	Dérive temporelle	119

II.2.C.e.	Répétabilité	120
II.2.C.f.	Reproductibilité.....	122
II.2.D.	Conclusion	123
II.3.	Dépôt de fluoropolysiloxane (FPSX)	123
II.3.A.	Formulation des membranes FPSX	124
II.3.B.	Intégration des membranes FPSX	124
II.3.B.a.	Réalisation du prototype de jet d'encre	124
II.3.B.b.	Etude du procédé de dépôt par jet d'encre.....	127
II.3.A.	Caractérisations des membranes FPSX	134
II.3.A.a.	Hydrophobicité	135
II.3.A.b.	Limite de détection	135
II.3.A.c.	Sensibilité	136
II.3.A.d.	Sélectivité.....	137
II.3.A.e.	Dérive temporelle	139
II.3.A.f.	Répétabilité	141
II.3.A.g.	Reproductibilité	141
III.	Conclusion	143

CHAPITRE 3: Intégration de la technologie pNa-ISFET dans un bandeau physiologique en vue d'améliorer la sécurité des primo-intervenants

I.	Lien physiologique du sodium dans la sueur	151
I.1.	Description de l'expérimentation menée au CRSSA.....	151
I.2.	Analyse globale.....	152
I.3.	Analyse individuelle	156
II.	Intégration du pNa-ChemFET dans un outil d'analyse de la sueur.....	159
II.1.	Description du bandeau physiologique.....	159
II.1.A.	Electronique embarquée.....	160
II.1.B.	Pompe à sueur.....	163
II.1.C.	Substrat flexible.....	165
II.2.	Intégration du module de détection	165
II.2.A.	Description du module	165

II.2.B.	Intégration de l'électrode de référence sur le module de détection	166
II.2.C.	Report du module de détection sur le "patch"	169
II.3.	Caractérisations in-vitro	171
II.3.A.	Sensibilité du système	171
II.3.B.	Performances de détection sur un échantillon de sueur réel	175
II.3.C.	Sensibilité du système incluant la pompe à sueur	176
III.	Mesures in-vivo réalisées au CRSSA.....	179
III.1.	Descriptif de l'expérimentation.....	179
III.2.	Analyse globale.....	181
III.3.	Reproductibilité individuelle	183
III.4.	Performances de détection du bandeau physiologique	184
III.4.A.	Méthode de conversion	186
III.4.B.	Mesures exploitables	188
III.4.C.	Evaluation de la température interne par la mesure du sodium dans la sueur	192
IV.	Conclusion	195
	 CONCLUSION GENERALE	 199
	 ANNEXES	 205

Introduction générale

Ces dix dernières années, l'actualité concernant la perception de la menace terroriste à conduit, d'une part, à un renforcement direct en équipements de prévention destinés aux unités d'intervention, mais également à une évolution des mentalités sur le long terme. L'objectif "zéro mort" a généré des facteurs de croissance du marché des tenues de protection. L'augmentation de la demande est liée à l'amélioration des performances techniques des personnels équipés de ces tenues, mais aussi à l'amélioration de leur sécurité. L'intégration d'équipements électroniques de contrôle confère à ces tenues une valeur ajoutée garantissant une position compétitive sur le marché de la sécurité.

Lors d'opérations d'urgence, les primo-intervenants (pompiers, protection civile, gendarmerie ou militaires en opération) sont exposés à des environnements extrêmes. Ces personnes endurent alors de fortes contraintes physiologiques (température, humidité) et peuvent subir des défaillances physiques importantes responsables d'accidents médicaux graves (coup de chaleur, déshydratation), voire même de décès. Le suivi de paramètres physiologiques (fréquence cardiaque, pression artérielle, déshydratation, température corporelle) est primordial afin de prévenir et d'éviter de tels accidents, et, par la même occasion, de maintenir les performances de ces personnels. Actuellement, les systèmes de surveillance de santé sont basés sur des mesures de paramètres physiques (mouvement corporel, pression sanguine, pulsations cardiaques) à partir desquels il est impossible d'obtenir un état physiologique réaliste et fiable. Dans le but d'améliorer la sécurité des primo-intervenants, des outils d'analyse intégrant des capteurs physiologiques biochimiques capables de réaliser des mesures sur les fluides corporels tels que la sueur se positionnent comme une source importante d'amélioration. En effet, des études récentes montrent un lien étroit entre la composition de la sueur (concentration en ion sodium Na^+) et l'état physiologique de la personne, mais ces études restent peu référencées. De plus, ces capteurs se doivent d'être peu intrusifs afin de ne pas gêner la personne en intervention. C'est pourquoi, généralement, ils sont intégrés directement dans le textile de la tenue de protection, ou bien dans des bandeaux dits "physiologiques".

Pour aller plus loin et améliorer la prévention des primo-intervenants, nous avons proposé, dans le cadre du projet ANR SWEAT (**S**weatband for physiological security of **W**orkers wearing protective **E**quipment by an **A**nalysis using biochemical **T**ools) qui réunit un consortium représenté par le laboratoire LAAS-CNRS, la société HEMODIA, le laboratoire

CEA-LETI, les laboratoires PIERRE FABRE, la société PAUL BOYE TECHNOLOGIE, et l'IRBA-CRSSA, de développer un bandeau physiologique intégrant des capteurs chimiques et/ou biochimiques capables d'analyser et de surveiller la concentration de certains marqueurs dans la sueur. En effet, les technologies de micro-fabrication permettent de mettre en pratique des concepts novateurs au niveau des systèmes de détection. Par exemple, la technologie CMOS a vu son principe de base (confection de circuits intégrés) adapté à la mesure d'ions en phase liquide (ISFET) dès les années 70 (*Bergveld*). Les secteurs du biomédical et de la sécurité peuvent profiter pleinement des avantages de cette technologie. Ses possibilités d'intégration alliées à sa fiabilité font d'elle une des candidates idéales pour intégrer des outils de détection biochimique dans les tenues de protection dédiées aux personnels d'intervention, et ce, au plus près du corps. Les travaux effectués au cours de cette thèse CIFRE effectuée en partenariat avec le LAAS-CNRS et la société HEMODIA s'inscrivent pleinement dans le cadre de ce projet et consistent en la mise au point d'un prototype fonctionnel permettant de mesurer en temps réel l'état de déshydratation d'un intervenant (pompier) en situation d'urgence. Pour cela, nous proposons de développer un capteur basé sur la technologie ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) en vue de la détection de l'ion sodium dans la sueur.

Ce manuscrit est composé de trois parties. Dans un **premier chapitre** nous décrivons les différentes méthodologies d'analyse des ions, et plus particulièrement en phase liquide, dans le but de discerner les limites analytiques de ces différentes techniques ainsi que leur possibilité d'intégration. Ce premier travail a permis de nous positionner vis-à-vis de la technologie envisagée afin de satisfaire le cahier des charges du projet, à savoir la détection de l'ion sodium en phase liquide. La partie finale de ce chapitre présente plus en détail sur les principes de détection de la technique choisie, la potentiométrie.

Le **deuxième chapitre** décrit la phase de développement de la technologie pNa-ISFET. Il expose de manière didactique les différentes étapes liées à la formulation, à l'intégration et à la caractérisation in-vitro des performances électrochimiques de membranes polymériques. Ces membranes, déposées sur la partie sensible de la technologie générique ISFET utilisée, permettent de modifier les propriétés de détection en vue de la mesure de l'ion sodium.

Le **troisième chapitre** se concentre en premier lieu sur la description des expérimentations mettant en évidence le lien physiologique entre un état corporel hyperthermique et la concentration en ions sodium dans la sueur. Une relation a été mise en évidence et a permis d'établir un modèle mathématique adapté aux capteurs potentiométriques. Ce modèle permet d'accéder à la valeur de la température interne du sujet, et, le cas échéant, de définir un seuil d'alerte. Ensuite, nous présentons l'intégration de la technologie pNa-ISFET décrite dans le chapitre précédent dans un bandeau physiologique, ainsi que les résultats issus des mesures in-vivo effectuées, grâce au bandeau prototype développé au cours de ce projet, sur un panel de dix individus.

Chapitre 1:

*Positionnement du projet
SWEAT et état de l'art des
méthodologies d'analyses
ioniques*

Chapitre 1: Positionnement du projet SWEAT et état de l'art des méthodologies d'analyses ioniques

Depuis les années 2000, le marché des équipements de protection individuelle est en constante évolution, suite, notamment, aux attentats de New York du 11 septembre 2001 et à l'accident industriel survenu à Toulouse le 21 septembre de la même année. Ces équipements, les tenues NRBC (risques Nucléaires, Radiologiques, Biologiques, Chimiques), s'avèrent contraignants pour l'organisme dans le cadre d'interventions dans des environnements chauds. C'est pourquoi sont apparus au cours de ces dernières années des systèmes électroniques intégrés à ces tenues, permettant de maintenir les capacités opérationnelles et de prévenir les accidents médicaux (déshydratation, coup de chaleur), en anticipant le retrait des intervenants de la zone à risque.

I. Positionnement du projet

I.1. Contexte économique

Le marché principal cible donc les primo-intervenants tels que les sapeurs-pompier. En France, on dénombre 235 000 individus répartis en trois catégories différentes: les sapeurs-pompier volontaires, professionnels et militaires. Cette répartition n'est pas homogène (Figure 1). Le projet cible principalement les sapeurs-pompier professionnels et militaires, car leurs activités, plus contraignantes, justifient plus particulièrement l'usage d'un système de surveillance de l'état thermo-physiologique. Ainsi, le marché potentiel porte sur environ 35 000 utilisateurs au niveau national.

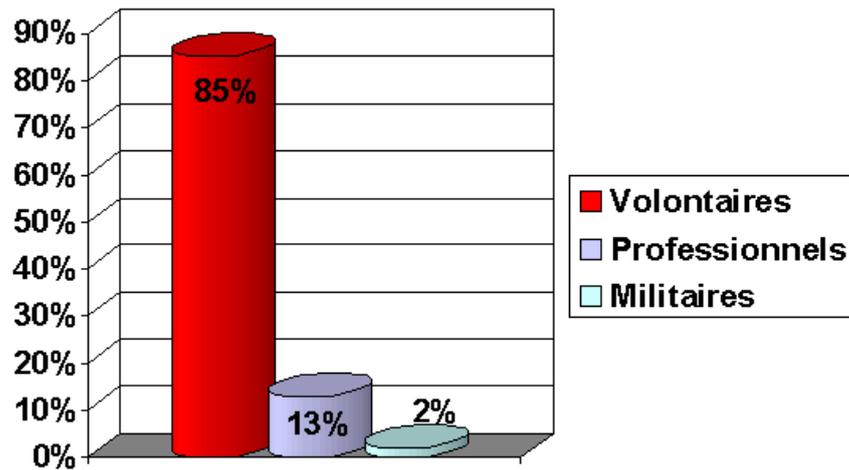


Figure 1: Répartitions des catégories de sapeurs-pompiers en France

Au niveau européen, France y compris, l'effectif est supérieur à deux millions, dont environ 150 000 sapeurs-pompiers professionnels. Le tableau 1 reprend la répartition des catégories de pompiers par pays.

Pays	Total	Professionnels	Volontaires	Note
Allemagne	1 383 730	24 000	1 300 000	en plus : env. 30 à 40 000 pompiers d'entreprise
Autriche	247 227			
Belgique	17 000	5 000	12 000 (70 %)	
Danemark	6 500	1 700	3 400	dont 1 400 conscrits ;
France	229 000	39 000	190 000 (85 %)	parmi les 39 000 professionnels : 30 000 civils et 9 000 militaires (Paris, Marseille, bases aériennes...)
Luxembourg	9 219	178	9 041	
Pays-Bas	26 512	4 253	22 259 (85 %)	
Angleterre et Pays de Galles	58 000	35 500	1 500	en plus 15 000 professionnels à temps partiel
Italie	31 000	27 000	4 000	
Finlande	15 060	4 680	10 380	en plus : 4300 professionnels à temps partiel et env. 6 000 pompiers d'entreprise
Norvège	2 618	2 618		en plus : 11 989 professionnels à temps partiel et env. 13 281 pompiers d'entreprise
Suède		6 600	4 000	en plus : 12 400 professionnels à temps partiel

Tableau 1: Répartition des sapeurs-pompiers à l'échelle européenne

Par analogie avec le nombre d'équipements de protection vendus en Europe (notamment les tenues spécifiques aux risques NRBC), le marché des bandeaux physiologiques est estimé raisonnablement à 25 000 unités par an. Cependant, ce marché peut être plus important si

l'on considère des possibilités d'utilisation grand public. En effet, en raison du succès des sports de plein air (VTT, footing) et du fort taux d'utilisation d'équipements sportifs (cardiofréquence-mètres), le suivi physiologique des sportifs est devenu du plus grand intérêt.

I.2. Enjeux scientifiques

Nous proposons, dans le cadre de cette thèse, d'établir une relation entre les propriétés chimiques (concentrations ioniques) et/ou physique (débit, volume) de la sueur et l'état physiologique d'un individu (température interne, déshydratation). Cette relation permettra, par le biais d'un outil spécifiquement développé pour effectuer l'analyse continue de la sueur, de suivre l'état de santé d'un intervenant afin de prévenir un éventuel accident relatif à une hyperthermie.

Pour ce projet, le CRSSA (Centre de Recherche du Service de Santé des Armées) a mis en place des expérimentations sur individus dans le but de mettre en évidence une relation entre l'augmentation de la concentration en sodium dans la sueur et une élévation de la température interne en fonction de contraintes thermiques différentes. Bien qu'évoquée dans la littérature, cette relation n'a jamais été clairement démontrée à cause de difficultés méthodologiques liées aux techniques de recueil et d'analyse.

Par la suite, un bandeau physiologique intégrant une électronique autonome, une pompe à sueur et des capteurs électrochimiques dédiés à la mesure du sodium dans la sueur a été développé. Ce prototype accueille, sur un substrat flexible, deux types de capteurs sélectifs au sodium, basés sur deux technologies différentes:

- pNa-ISFET (cf. chapitre 2),
- Na-ISE (électrodes sensibles aux ions sodium).

Le CEA-LETI a développé les Na-ISE, qui ne seront présentées que succinctement dans ce manuscrit. Le développement et l'intégration des pNa-ISFET sont propres à la société Hémodia et sont les buts de mes travaux de thèse.

Une fois le bandeau développé et ses performances validées in-vitro, une deuxième campagne de mesures sur individus a été menée au CRSSA. Celle-ci a permis de tester, in-

vivo, les performances des prototypes de bandeaux développés. Ces bandeaux permettent une analyse de la sueur en temps réel, pour une contrainte thermique simulant un sujet en situation d'intervention. La relation précédemment établie entre la concentration en ions sodium dans la sueur et l'élévation de la température interne a pu a posteriori être intégrée dans un modèle mathématique qui, *in fine*, permet d'obtenir la valeur de la variation de température interne grâce à la réponse potentiométrique du capteur. De nos jours, cette information n'est accessible ni en conditions d'intervention ni en temps réel (techniques actuelles de mesure de température trop invasives, par exemple: sonde rectale ou oesophagiale).

Le premier travail entrepris dans le cadre de ce projet a donc consisté à s'intéresser à la physiologie humaine concernant les phénomènes de thermorégulation afin de mieux cerner les problématiques mises en jeu.

II. La Thermorégulation

Ce mécanisme permet à un être humain de maintenir sa température centrale (*core temperature*) dans des limites étroites compatibles avec la vie. Chez un sujet au repos, la température centrale normale varie entre 36,5 et 37,5 °C au cours de la journée. Lorsque la température de l'organisme est en deçà ou au-delà de ces limites, les mécanismes thermorégulateurs se manifestent par des modifications comportementales et par la mise en jeu de mécanismes physiologiques [1]. La boucle de la thermorégulation (Figure 2) comprend des thermorécepteurs périphériques et centraux qui captent l'information thermique (chaleur ou froid) et la transfère aux centres thermorégulateurs situés dans l'hypothalamus. Celui-ci intègre les signaux thermiques périphériques et centraux et les compare à une température de consigne. Selon l'écart entre la température de consigne et celle déterminée par intégration, les centres thermorégulateurs déclenchent des réactions thermorégulatrices comportementales mais aussi physiologiques qui font appel à la vasomotricité, à la sudation ou même à des frissons suivant les circonstances.

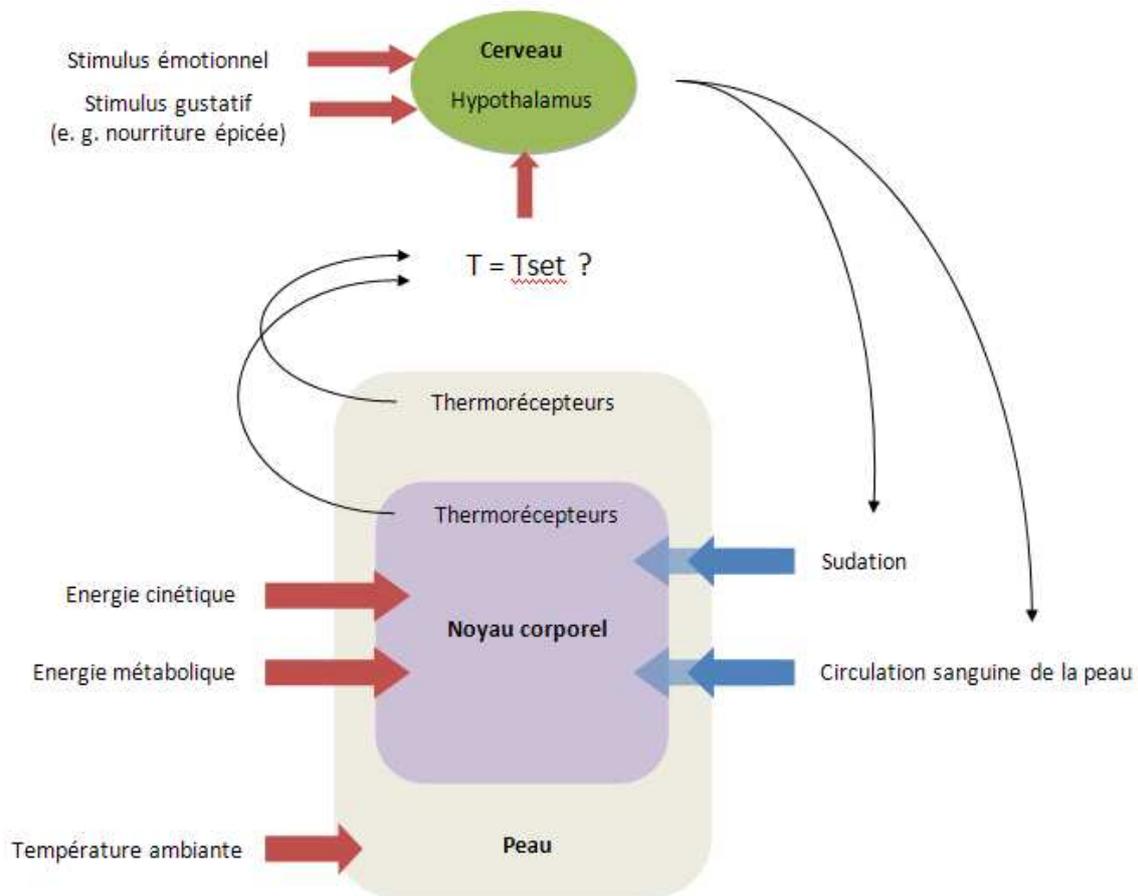


Figure 2: Système de contrôle de la thermorégulation [2]

Habituellement, la thermorégulation d'origine comportementale précède et accompagne ces réactions physiologiques thermorégulatrices: position corporelle, moyens technologiques: effets vestimentaires adaptés à la situation, recherche d'un abri, mais également alimentation (boisson et nourriture) et activité physique [3].

La thermorégulation assure à l'être humain une certaine indépendance vis-à-vis du milieu climatique environnant qui n'a habituellement que très peu d'influence sur le maintien de sa température interne. Ainsi la température interne d'un sujet au repos et en confort thermique varie dans d'étroites limites autour d'une valeur moyenne de 37 °C. Il existe des variations physiologiques autour de cette valeur: variations nyctémérales (Figure 3), variations mensuelles chez la femme [4], des variations annuelles ayant aussi été décrites dans certaines populations (variations saisonnières).

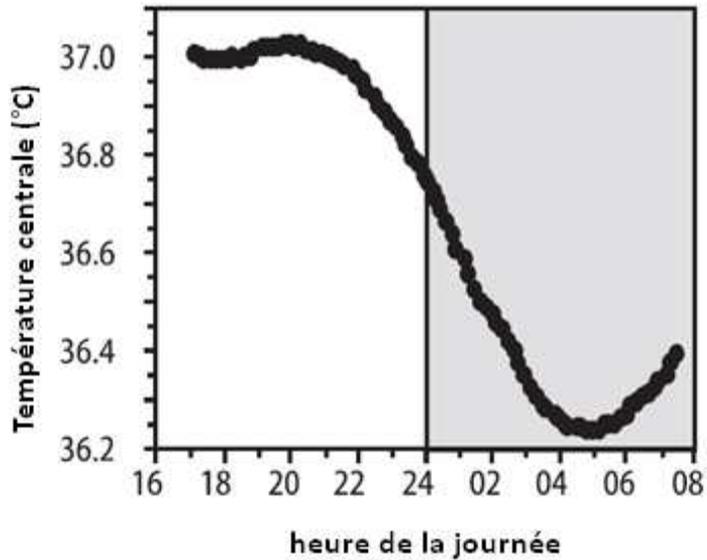


Figure 3: Variations de température interne liées au cycle nyctéméral [5]

L'exposition au froid met d'abord en jeu les réponses thermorégulatrices comportementales puis, si elles sont insuffisantes, les réponses thermorégulatrices physiologiques spécifiques : vasoconstriction cutanée, augmentation du tonus musculaire, et surtout frisson thermique. Lors de l'exposition à la chaleur, la thermorégulation comportementale est limitée ; elle est rapidement complétée par les réactions physiologiques ; d'abord par la vasodilatation cutanée puis rapidement par la mise en jeu d'un mécanisme spécifique, la sudation. Lorsque les mécanismes thermorégulateurs sont dépassés, l'organisme risque soit l'hypothermie (température centrale inférieure à 35 °C) soit l'hyperthermie (température centrale supérieure à 38,5°C).

En cas d'hypothermie, la thermolyse est réduite à son minimum grâce à la vasoconstriction qui diminue les pertes de chaleur par rayonnement, convection et éventuellement par conduction, tandis que l'augmentation du tonus musculaire et les frissons musculaires augmentent la thermogénèse.

En situation d'hyperthermie, au delà de 38°C et suivant la résistance des sujets, une perte de la régulation se produit. C'est ce que l'on appelle plus communément le coup de chaleur. La sudation est alors réduite ce qui a pour conséquence une augmentation incontrôlée de la température interne. Les réflexes sont diminués alors que de l'hypotension artérielle

apparaît. Pour des températures supérieures à 42°C, le sujet risque des convulsions et la mort cérébrale [6].

II.1. Thermolyse

Lors d'une exposition à une ambiance chaude représentant ainsi une charge thermique externe, et/ou lors d'un exercice physique à l'origine d'une charge thermique interne l'organisme va solliciter les mécanismes de thermolyse soit la vasodilatation cutanée et la sudation. Cette situation thermique correspond particulièrement à celles des primo-intervenants, sujets de notre projet, car ils effectuent une activité physique relativement importante et portent le plus souvent une tenue de protection qui par son étanchéité à la vapeur d'eau crée un climat sous-vestial chaud et rapidement humide à cause de l'évaporation de la sudation.

II.1.A. Vasodilatation

D'un point de vue thermique le sang se comporte comme un liquide caloporteur car il permet le transfert de la chaleur entre les organes profonds constituant le noyau et la surface corporelle qui sert de radiateur. La vasodilatation permet un apport de sang au niveau de la peau entraînant une augmentation de sa température et donc, si le gradient de température est favorable, favorise les pertes de chaleur par convection et rayonnement. A l'opposé, la vasoconstriction permet de conserver la chaleur à l'intérieur du corps en empêchant le sang de se refroidir lors de son passage dans la peau et donc en limitant les échanges par convection et rayonnement avec l'environnement proportionnellement à l'importance du gradient thermique entre la peau et l'environnement (Figure 4).

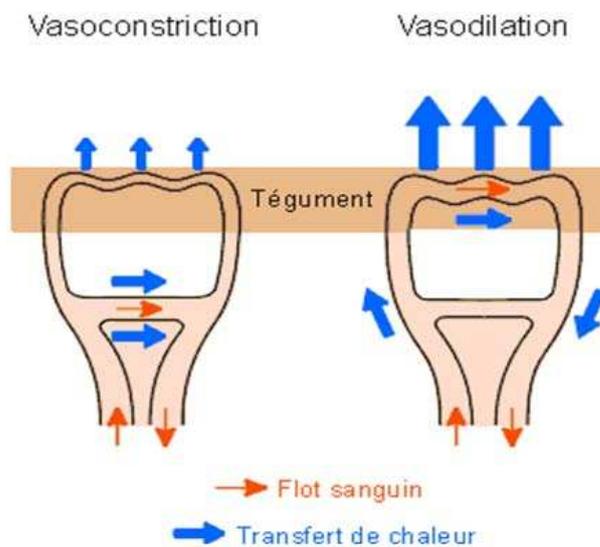


Figure 4: Schématisation des mécanismes vasomoteurs [7]

Ce mécanisme n'est efficace que si la température externe est inférieure à la température cutanée, auquel cas le gradient de température cutanée/externe garantit une perte de chaleur de l'intérieur vers l'extérieur du corps.

II.1.B. Sudation

La vasodilatation est un mécanisme de thermolyse dont la puissance est limitée. Elle est complétée par un processus très efficace, la sudation. Lorsque la charge thermique atteint un certain niveau, les glandes sudorales eccrines sécrètent de la sueur qui mouille la peau ; les molécules d'eau contenues dans la sueur absorbent la chaleur de la peau jusqu'à s'évaporer sous forme de vapeur dissipant la chaleur stockée. Cependant, cette évaporation de la sueur n'est possible que si la pression partielle de vapeur d'eau dans l'air est inférieure à pression saturante de vapeur d'eau à la température de la peau. En effet, les pertes de chaleur par évaporation vont être directement fonction du gradient de pression partielle de vapeur d'eau entre peau et ambiance. Ainsi, dans les atmosphères chaudes, dont la température de l'air est supérieure à celle de la peau (donc généralement au-delà de 33 °C) si elles sont saturées en vapeur d'eau l'évaporation de la sueur est impossible et la thermolyse ne peut se faire. Ainsi dans de telles atmosphères, la tolérance de l'être humain est fortement réduite pour des raisons thermiques puisqu'elles favorisent le stockage de

chaleur et donc augmentent le risque de survenue d'un accident type coup de chaleur. La sueur étant un ultrafiltrat du plasma, la sécrétion sudorale crée une déshydratation et engendre la perte de sels minéraux qui lorsqu'elle est intense peut être responsable de troubles hydroélectrolytiques comme l'hyponatrémie ; celle-ci se traduit par exemple par des troubles du comportement et des troubles psychiques.

II.2. La sueur

A une perte en eau transcutanée très faible mais permanente, non régulée ou perspiration insensible peut s'ajouter en cas de contrainte thermiques les pertes en eau liées à la sécrétion sudorale. La sueur est un liquide aqueux hypotonique par rapport au plasma sécrétée par les glandes sudorales qui sont de deux types : les glandes eccrines et les glandes apocrines (Figure 5).

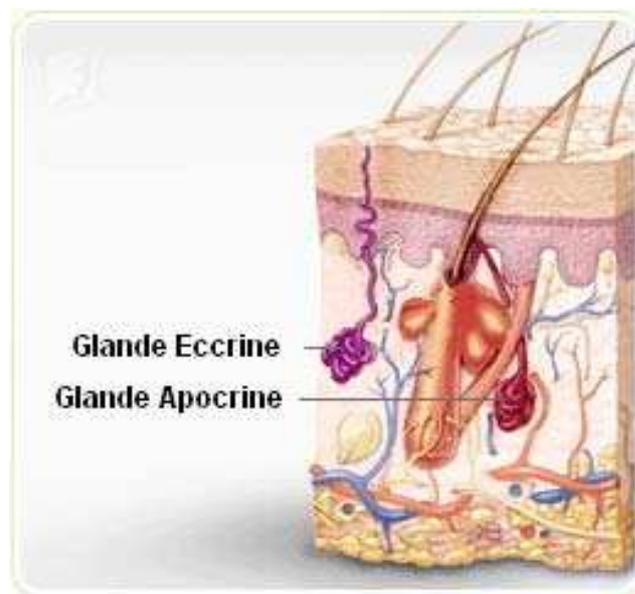


Figure 5: coupe de la surface de la peau [8]

Glandes eccrines : Elles sont les plus nombreuses (de 1,6 à 4 millions). Elles sont réparties sur la totalité du corps humain, mais leur densité est plus importante au front, diminuant dans l'ordre, membres supérieurs, tronc, membres inférieurs . La sueur est une solution aqueuse d'ions et de substances organiques qui dérive du plasma sanguin par ultrafiltration.

Les glandes eccrines sont spécifiques de la thermorégulation car l'évaporation de la sueur au niveau de la peau constitue le moyen physiologique le plus efficace pour refroidir le corps humain : 1 g de sueur évaporé au niveau de la peau à une température de 33 °C absorbe 2,42 kJ. Le débit sudoral peut atteindre sur de courtes périodes (10 minutes) 2 à 3 L/h. La sueur est composée à 99% d'eau et d'électrolytes qui sont principalement du sodium, du chlore, du potassium, du calcium, du magnésium et des bicarbonates. Elle contient également des composés organiques comme de l'acide lactique et de l'urée.

Glandes apocrines : Ces glandes sont principalement situées dans les régions axillaires (aisselle) et génitales. Elles sont annexées au follicule pileux. Leurs sécrétions sont plus riches en protéines que les sécrétions issues des glandes eccrines et elles n'interviennent pas dans la thermorégulation.

II.3. Le sodium

II.3.A. Son rôle dans le corps humain

Le sodium est un élément majeur de l'équilibre osmotique entre les milieux intra et extracellulaires et dans le maintien du potentiel de membrane des cellules permettant par exemple la contraction des cellules musculaires (cf. les contractions cardiaques). Par son action osmotique, le sodium a un rôle majeur dans le maintien de l'équilibre hydrique car il participe au transport de l'eau à travers la membrane cellulaire et d'une façon plus générale à la gestion des entrées et sorties d'eau du corps humain (Figure 6). Des mécanismes de régulation maintiennent le taux de sodium dans le sang ou natrémie dans d'étroites limites autour d'une valeur de 140 mEq/L [10].

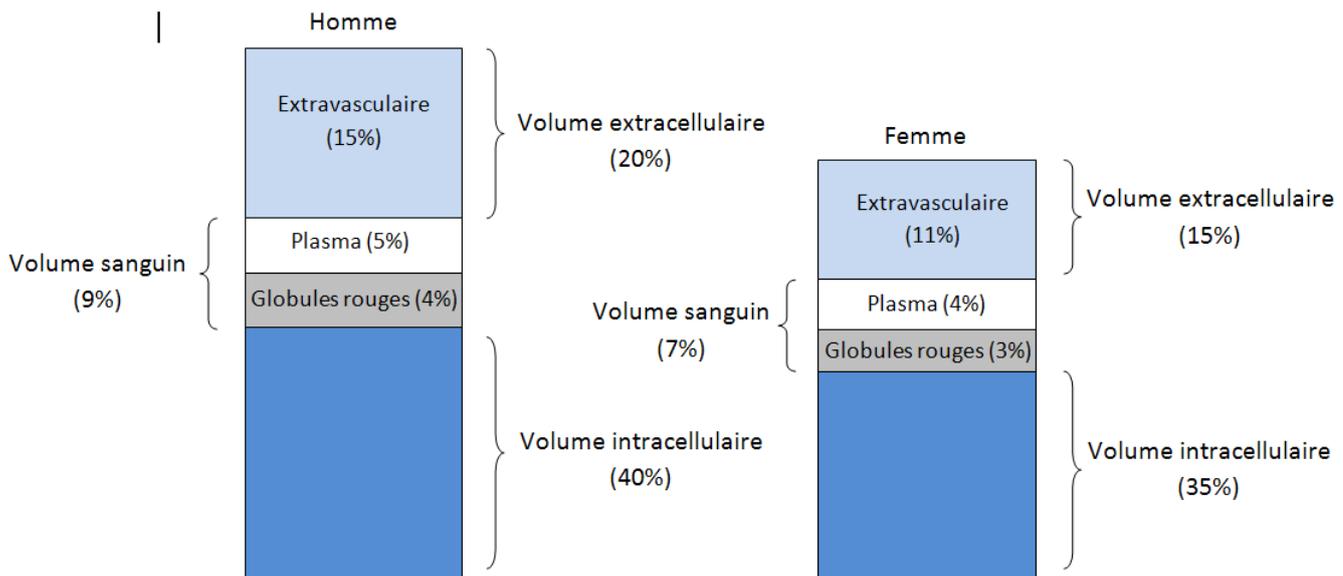


Figure 6: Schématisation des volumes des fluides biologiques dans le corps humain [9]

II.3.B. Sa signification dans la sueur

La sécrétion sudorale eccrine nécessaire aux besoins de la thermolyse est donc stimulée par la constitution d'un stockage thermique reflet d'une augmentation des températures corporelles, cutanées et profonde. Cette sécrétion est sous la dépendance du système nerveux sympathique cholinergique. La sueur est sécrétée en continue par les cellules les plus profondes de la glande sudorale ; son excrétion discontinue à la surface de la peau est sous la dépendance des cellules musculaires du canal tubulaire excréteur. La sueur primitive est un ultrafiltrat du plasma qui subit en traversant le canal excréteur une réabsorption de NaCl qui rend la sueur excrétée hypotonique au plasma et favorise le maintien des équilibres hydroélectrolytiques du milieu intérieur [11]. Comme la capacité de réabsorption de l'ion Na⁺ par les cellules du canal excréteur est limitée, lorsque la sudation est trop importante cette capacité est saturée, ce qui conduit à une augmentation linéaire de la concentration en ions sodium dans la sueur excrétée à la surface de la peau (Figure 7).

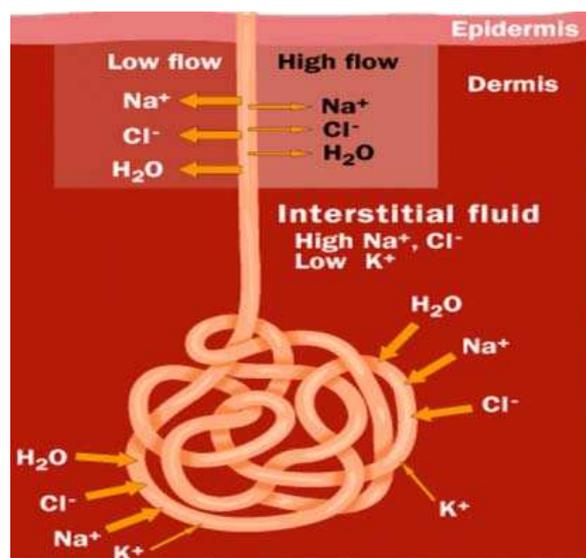


Figure 7: Coupe d'une glande eccrine et flux ioniques associés [12]

Lors d'efforts physiques intenses et prolongés impliquant une sudation importante, la concentration en NaCl augmente dans la sueur et conduit à des pertes totales en NaCl qui si elles ne sont pas suffisamment compensées engendrent une hyponatrémie. L'hyponatrémie se manifeste par divers symptômes psychiques et physiques dont certains peuvent diminuer de façon importante la capacité opérationnelle du primo-intervenant : désorientation, confusion, discours incohérent, nausées, crampes, maux de tête mais aussi ballonnements et maux d'estomac. Bien que de constitution lente dans ce cas, l'hyponatrémie lorsqu'elle est trop prononcée peut entraîner le décès du sujet.

En conclusion, lors de l'exposition à une contrainte environnementale chaude, associant généralement une contrainte thermique chaude externe et interne, les besoins de la thermorégulation vont stimuler la sécrétion sudorale de façon intense qui peut aboutir à des modifications importantes de la balance hydrominérale exposant l'être humain à une diminution de la capacité opérationnelle voir à des accidents qui peuvent être mortels. Il apparait alors une relation entre la sudation et l'état physiologique humain. Ainsi, selon la littérature, il existe un lien étroit entre la concentration en ions sodium dans la sueur et celle du plasma dans le cas de phénomènes de déshydratation [13-15]. Une perte élevée de sodium dans la sueur pourrait conduire à une perte importante de sodium dans les volumes intra et extracellulaires et ainsi provoquer des modifications de sa concentration plasmatique associée à une déshydratation. Comme l'accès à la sueur est non invasif (pas de

prise de sang) , la sueur apparait comme un excellent candidat pour une application relevant du suivi physiologique en temps réel, en particulier par la mesure de sa concentration en sodium et ainsi participer à l'élaboration d'un système de suivi en continu de l'état physiologique d'un primo-intervenant en vue de prévenir les accidents à la chaleur.

Actuellement, de nombreuses méthodologies d'analyse permettent d'identifier et de quantifier la composition ionique de fluides biologiques [16, 17]. Ces différentes techniques reposent sur des principes de mesure bien distincts et peuvent être ainsi classées en plusieurs catégories. La spectroscopie, la chromatographie et l'électrochimie en sont les trois principales. La spectroscopie d'émission (ou d'absorption) est une mesure quantitative de l'émission (ou de l'absorption) optique provenant de l'état atomique de la matière analysée. La chromatographie est un terme général désignant toute technique permettant la séparation physico-chimique d'éléments entre une phase mobile et une phase stationnaire. Cette technique est scindée en plusieurs branches, dépendant de la nature de ces deux phases. L'électrochimie est divisée suivant ses divers modes de transduction, cependant, dans le cadre de cette thèse, nous nous focaliserons principalement sur la potentiométrie. Effectivement, cette dernière est plus largement utilisée en tant que technique d'analyse quantitative appliquée au dosage ionique dans les fluides biologiques [18]. Elle se réfère à un principe de mesure basé sur des phénomènes chimiques directement liés à l'activité d'un ion ciblé en présence d'autres ions de même charge.

III. Méthodologies d'analyses

Les différentes méthodologies d'analyses ioniques sont explicitées plus en détail ci-après afin d'entrevoir leurs avantages ainsi que leurs limites analytiques, et, ainsi, de définir notre positionnement propre et les axes de développement qui en découlent.

III.1. Spectroscopie

III.1.A. Spectroscopie d'émission

La spectrophotométrie d'émission de flamme est la méthode de dosage des éléments alcalins et alcalino-terreux la plus ancienne. Elle est apparue à la fin du 19^{ème} siècle. Son principe repose sur la mesure du spectre lumineux issu de l'émission atomique. En effet, lorsque la solution à analyser est vaporisée au sein d'une flamme, les atomes sont soumis à de hauts niveaux énergétiques, permettant aux électrons des sous-couches d'atteindre un état excité. Lorsqu'ils retournent à leur état fondamental, les électrons de la couche externe libèrent l'énergie accumulée sous forme de photons, en émettant de la lumière à une longueur d'onde caractéristique de leur structure électronique. C'est l'émission atomique (Figure 8).

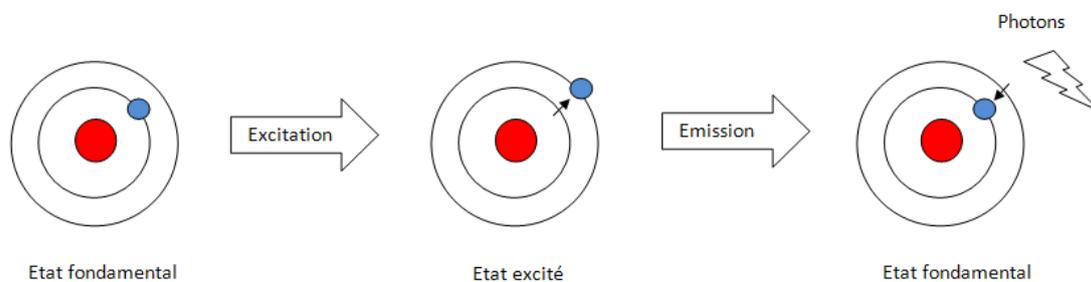


Figure 8: Emission atomique

A titre indicatif, le sodium émet de la lumière à une longueur d'onde de 589 nm, le potassium à 767 nm. La radiation ainsi émise traverse un monochromateur qui isole la longueur d'onde propre à l'analyse souhaitée (par exemple, 589 nm pour le sodium), et, finalement, un photo-détecteur convertit le signal lumineux en signal électrique proportionnel à la concentration de l'espèce ionique mesurée [19]. Bien que peu coûteuse et reposant sur un appareillage simple, la spectroscopie d'émission de flamme souffre cependant de certains inconvénients. Effectivement, la dilution préalable des échantillons engendre une perte de temps et un risque d'erreur. De plus, elle requiert une arrivée de gaz (propane) entraînant des contraintes de sécurité fortes. De par sa structure, cette méthode n'est pas facilement intégrable dans des outils d'analyses multiparamétriques, ni automatisable, ce qui limite significativement les cadences d'utilisation [20].

III.1.B. Spectroscopie d'absorption

Vers 1950, près d'un demi-siècle après son apparition, la spectroscopie atomique se développe et s'étend largement au domaine de la chimie analytique grâce aux principes d'absorption et de fluorescence. Logiquement, la spectroscopie d'absorption atomique (AAS: Atomic Absorption Spectroscopy) s'impose de plus en plus, grâce à ses performances vis-à-vis de la sensibilité et de la rapidité d'analyse [21]. Bien qu'elle soit basée sur le même fondement, énoncé par *Kirchhoff*, qui stipule que la matière émet de la lumière à la même longueur d'onde qu'elle en absorbe, la spectroscopie d'absorption atomique correspond à une mesure d'absorption et non d'émission de lumière. De ce fait, lorsqu'une source de lumière émettant à une longueur d'onde bien précise (correspondant à la même longueur d'onde caractéristique de l'élément à mesurer) affecte un atome libre à l'état fondamental, cet atome va absorber la lumière et atteindre un état d'excitation. C'est l'absorption atomique (Figure 9).

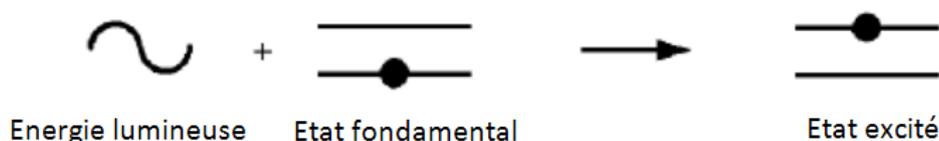


Figure 9: Absorption atomique (Concepts, instrumentation and techniques in atomic absorption spectroscopy, R.D. Beaty and J. D. Kerber)

La diminution d'énergie lumineuse mesurée par un photo-détecteur est proportionnelle à la concentration de l'espèce chimique ciblée [22]. L'atomisation de l'échantillon à analyser se fait généralement des manières suivantes : flamme (FAAS: Flame Atomic Absorption Spectroscopy), fours en graphite (ETAAS: Electrothermal Atomic Absorption Spectroscopy), vapeur froide (CVAAS: Cold Vapor Atomic absorption Spectroscopy), génération d'hydrures gazeux (HGAAS: Hydride Generation Atomic Absorption Spectroscopy).

Enfin, la spectroscopie de fluorescence (AFS: Atomic Fluorescences Spectroscopy), qui combine les effets d'émission et d'absorption atomique, plus complexe à mettre en œuvre, est moins répandue que les précédentes techniques, notamment à cause de l'apparition tardive sur le marché d'appareils abordables.

En plus de leur côté destructeur, les méthodes liées à la spectroscopie d'absorption atomique souffrent d'un inconvénient majeur, à savoir leur incapacité à effectuer des mesures simultanées de plusieurs éléments. Effectivement, à l'origine, ces appareils ont été développés en vue de l'analyse d'un élément unique. Cette perspective est étroitement liée à son principe : la source d'excitation lumineuse doit être hautement sélective envers un élément précis. Même si plus récemment des sources permettant de doser plusieurs éléments ont été développées, l'analyse multi-élément n'est possible que de manière séquencée, ce qui engendre une augmentation du temps d'analyse, et inévitablement des coûts supplémentaires [23].

III.1.C. Technologies à plasma

Face à ces problèmes, les technologies à plasma apparaissent dans les années 1980. La spectroscopie d'émission atomique par plasma à couplage inductif (ICP AES: Inductively Coupled Plasma Atomic Emission Spectroscopy) utilise, comme son nom l'indique, un plasma afin d'atomiser l'échantillon. La très haute température du plasma (entre 5000 et 8000 K pour un plasma contre 3000-5000 K pour des flammes ou des fours) garantit une atomisation complète de l'échantillon, permettant ainsi d'améliorer la sensibilité par rapport aux techniques d'absorption [24]. Cette particularité permet à cette méthode d'être adaptée à la détection de très faibles quantités : l'analyse de traces.

Le large spectre d'émission issu du plasma couplé à des polychromateurs permet une analyse multi-élément rapide. Il est possible de mesurer avec cette technique 30 ou 40 éléments en des temps relatifs à la minute [25].

Ces appareils, dédiés à l'analyse de traces, ont été plus récemment appariés à la spectroscopie de masse, dont le principe de séparation des éléments est fonction de leur charge et leur masse [26]. Leurs performances sont équivalentes à celles de techniques plus « ancestrales » (FAAS, ETAAS), mais ces dispositifs restent chers et complexes à mettre en œuvre.

III.1.D. La spectroscopie et l'analyse de fluides biologiques

Dans le but de déterminer la concentration d'ions métalliques dans des fluides biologiques, bien que la spectrophotométrie d'émission de flamme soit encore de nos jours considérée comme une référence dans le monde de la chimie analytique, l'ETAAS est la technique la plus utilisée (Figure 10) [27]. Elle est la plus pertinente si l'on considère le prix du dispositif, sa complexité de mise en œuvre et ses performances.

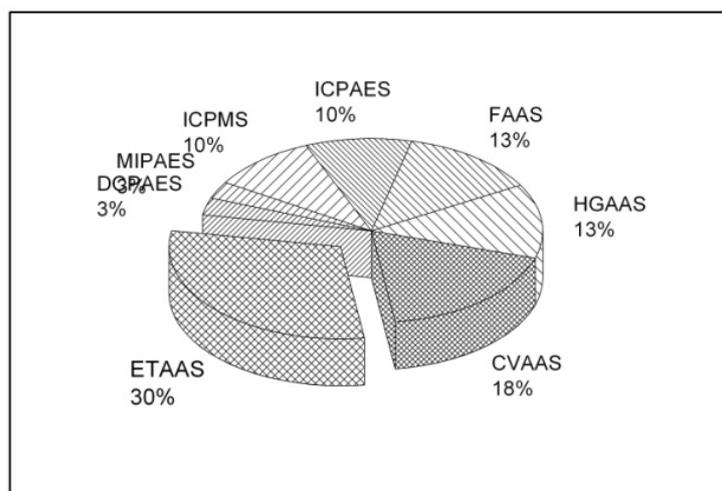


Figure 10: Méthodes de spectroscopie atomique appliquée à la spéciation de fluides biologique [27]

III.2. Chromatographie

Parallèlement à la spectroscopie atomique, les premiers concepts relatifs à la chromatographie ont vu le jour au début des années 1900. Plus précisément, sa découverte est attribuée à *Tswett* en 1903. La chromatographie est, tout comme la spectroscopie atomique, largement répandue dans le domaine de la chimie analytique. C'est un terme générique qui regroupe une multitude de techniques de séparation physico-chimique, ayant en commun la distribution d'une espèce chimique entre une phase mobile et une phase stationnaire. Elle est scindée en deux branches principales, qui sont fonction de la nature de chacune des deux phases : la chromatographie en phase gazeuse et la chromatographie en phase liquide [28]. Il faudra malgré tout attendre 1941 pour que la chromatographie en

phase liquide émerge concrètement (*Martin et Synge*), et 1952 pour la chromatographie en phase gazeuse (*Martin et James*).

III.2.A. Chromatographie en phase gazeuse

Dans le cas de la chromatographie en phase gazeuse (GC), l'échantillon analysé est transporté à travers une colonne (phase stationnaire) via un gaz porteur inerte (phase mobile). Les affinités chimiques induites par les propriétés d'adsorption de la phase stationnaire permettent, par rétention, de ralentir la progression des composés, et ce de manière spécifique. Un composé dont l'affinité avec la phase stationnaire est forte mettra d'autant plus de temps à la traverser. Cette grandeur est définie comme le « temps de rétention ». A la sortie de la colonne, un détecteur permet de mesurer la quantité de chacun des constituants. Un chronogramme permet de visualiser la quantité des composés en fonction du temps de rétention (Figure 11) :

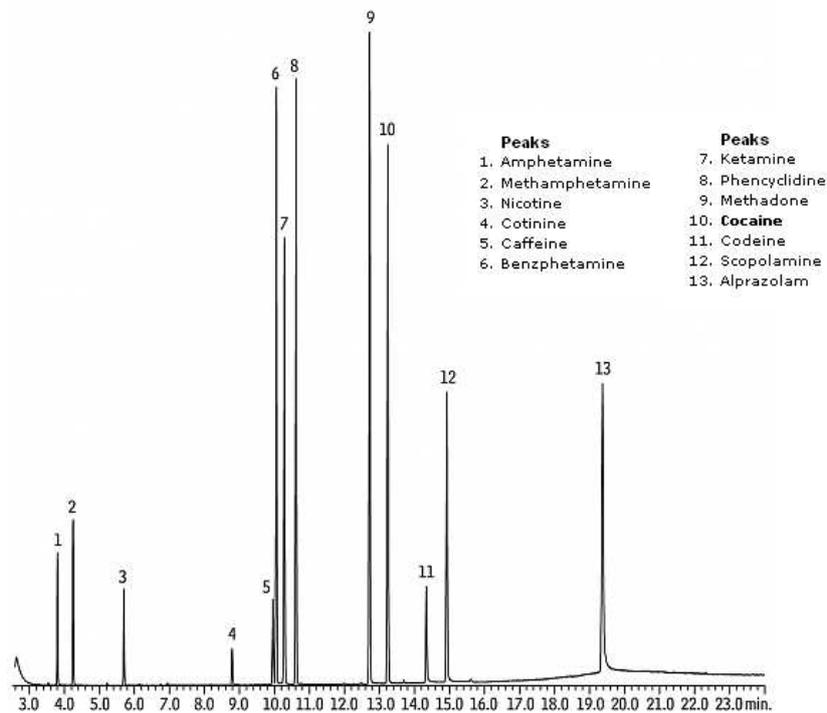


Figure 11: Exemple de chronogramme
(<http://www.restek.com/chromatogram>)

III.2.B. Chromatographie en phase liquide

La chromatographie en phase liquide (LC) utilise un liquide sous pression en tant que phase mobile. La phase stationnaire est caractérisée par une fine granulométrie. Plus le diamètre des grains est faible, plus la surface d'échange avec la phase mobile est importante (pour un même volume), ce qui engendre une meilleure résolution et un seuil de détection plus bas. La LC comprend également plusieurs types, qui eux, dépendent des méthodes de rétention et donc de la nature de la phase stationnaire.

Une des formes de chromatographie en phase liquide couramment utilisée pour le dosage des ions est la chromatographie ionique. La rétention est ici contrôlée par les interactions entre les ions du soluté (échantillon) et les contre-ions de la phase stationnaire. Cette phase est la plupart du temps composée de grains de polymère qui ont la particularité de créer des groupes ioniques à leur surface. Ainsi, suivant l'importance de l'interaction électrostatique entre la colonne et le soluté, la séparation aura lieu plus ou moins facilement. Au vu de la nature du soluté, une détection conductimétrique est principalement utilisée dans ce type de technique (Figure 12). Cependant, c'est un type de chromatographie relativement difficile à exploiter, qui est souvent utilisé pour l'analyse d'anions pour lesquels il n'existe pas d'autres méthodes analytiques rapides



Figure 12: Chromatographe ionique Methrom
(http://www.metrohm.fr/chromatographie_ionique)

Les techniques de chromatographie, que ce soit en phase gazeuse ou en phase liquide, offrent des performances analytiques élevées similaires, mais se différencient par la nature de l'échantillon analysable. En GC, il n'est possible d'analyser que des substances volatiles, ou qui peuvent être évaporées intactes. Environ 20% des composés organiques connus peuvent être analysés par ce biais-là sans traitements préalables. En LC, l'échantillon doit simplement être dissout dans un solvant, et la plupart des composés ioniques organiques et inorganiques satisfont à cette condition [29].

III.3. L'électrochimie

L'électrochimie décrit des phénomènes situés à mi-chemin entre la chimie et l'électronique. Les systèmes électrochimiques comportent des interfaces entre des phases conductrices d'ions (liquides le plus souvent) et des phases conductrices d'électrons (solides métalliques, principalement). Ses premiers balbutiements eurent lieu au début des années 1800 avec la découverte de la pile électrochimique par *Alessandro Volta*. Ses applications recouvrent des domaines larges: métallurgie (traitement de surfaces, élaboration de matériaux), stockage d'énergie (piles et accumulateurs) et analyse (capteurs électrochimiques). Grâce à la découverte des membranes sélectives au cours des années 1930 [30], les ISE (Ion Sensitive Electrodes) émergent en tant qu'outil analytique dans les années 1980 [31]. Ainsi, de nos jours, la plupart des laboratoires utilisent des dispositifs de mesures potentiométriques à base d'électrodes sensibles aux ions, notamment dans le cas du dosage de l'ion sodium et de l'ion potassium (Figure 13) [32].



Figure 13: Analyseur d'électrolyte multi-paramétrique dédié aux fluides corporels (<https://www.lachema.com>)

Dans les années 1990, le fameux capteur de glucose fait son apparition et permet aux capteurs électrochimiques de s'intégrer dans le marché des dispositifs médicaux. Basé sur un mécanisme de détection ampérométrique, il permet de diagnostiquer des cas de diabète en mesurant le taux de glucose dans le sang (Figure 14) [33]. Son principe est développé plus loin, dans la partie consacrée aux capteurs ampérométriques.



Figure 14: capteur de glucose portatif [33]

L'électrochimie regroupe quatre disciplines principales, à savoir: l'ampérométrie (mesure de courant), la conductimétrie (mesure de conductivité), l'impédimétrie (mesure d'impédance) et la potentiométrie (mesure de potentiel). Bien que les différents principes électrochimiques soient discutés plus loin dans le manuscrit, nous nous focaliserons plus particulièrement sur la potentiométrie, qui est particulièrement bien adaptée au dosage ionique, et qui a su s'imposer dans le domaine de la chimie analytique, notamment au niveau de l'analyse des fluides biologiques (sang, plasma, etc..). Cette technique consiste à mesurer la différence de potentiel créée par la présence d'ions en solution entre deux électrodes. Une de ces deux électrodes est dite « de référence », ce qui implique, de par sa composition, une stabilité et une indépendance de son potentiel vis-à-vis de la composition de la solution. L'autre électrode dispose d'un matériau sensible envers l'ion à analyser. Cela signifie qu'elle possède des affinités chimiques réversibles avec une espèce cible, et son potentiel dépendra de l'activité de l'ion à doser (Figure 15) :

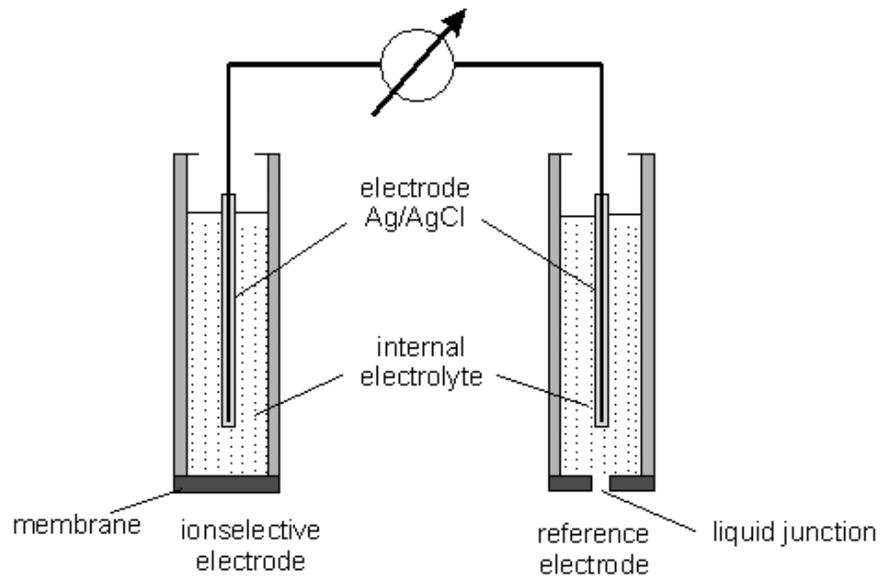


Figure 15: Schéma d'une mesure par électrode sélective
(<http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/ise/>)

Le signal électrique issu d'un système à électrode sélective est proportionnel au logarithme de l'activité de l'ion ciblé contenu dans la solution, et ce, suivant la loi de Nernst:

$$E = E^0 + \left(\frac{RT}{\nu F}\right) \ln (A) \quad \text{Équation 1}$$

Où E est le potentiel entre les deux électrodes, exprimé en Volts; E^0 correspond à la contribution du potentiel de l'électrode de référence, ainsi que du potentiel d'équilibre de la demi-cellule sensible, exprimé en Volts; R est la constante des gaz parfaits; T la température; ν la valence de l'ion mesuré; F la constante de Faraday; et A l'activité de l'ion ciblé. Le potentiel E est alors une fonction linéaire du logarithme de l'activité A de l'ion ciblé. L'activité A et la concentration C d'un ion sont liées par le coefficient d'activité γ tel que:

$$A = \gamma C \quad \text{Équation 2}$$

Cette activité représente le rapport entre ions "actifs" et ions "libres". Ainsi, dans une solution très diluée, les ions sont libres de se déplacer dans toutes les directions. Lorsque la concentration augmente, ils se rapprochent et leur charge engendre des interactions mutuelles: leur activité diminue. L'activité ne dépend donc pas que de la propre concentration de l'ion ciblé, mais également de celle des autres ions présents dans la solution, et donc, de sa force ionique. Cette notion est particulièrement importante car, suivant la méthode de mesure choisie, il est possible d'assimiler (ou pas) l'activité à la

concentration. En effet, les mesures d'échantillons sont réalisées de deux manières différentes: soit sur un échantillon dilué (potentiométrie indirecte), soit sur un échantillon pur (potentiométrie directe). Dans le cas de la potentiométrie indirecte, l'échantillon est dilué dans une solution dont la force ionique est connue, ce qui permet de doser la concentration d'ions comme le sodium dans des milieux dont la force ionique est très variable, comme par exemple, dans les urines. Cependant, il faut garder à l'esprit que l'activité de l'ion mesuré est alors différente de celle de son milieu originel. Dans le cas de la potentiométrie directe, l'activité vraie de l'échantillon est mesurée. A titre d'exemple, pour un dosage ionique dans le plasma sanguin, qui contient un volume d'eau représentant 93% du volume plasmatique, les mesures seront environ 7% supérieures à des mesures effectuées par potentiométrie indirecte [34]. Le problème réside dans l'habitude qu'ont les cliniciens à utiliser des valeurs issues de mesures par potentiométrie indirecte, qui nécessitent des corrections en fonction du volume plasmatique vrai, ceci afin d'éviter, à titre d'exemple, le diagnostic de fausses hyponatrémies (concentrations en ions sodium dans le plasma anormalement basses). Bien qu'elle soit légèrement moins utilisée pour le dosage du sodium dans le cas d'analyses biologiques médicales, comme le montre une étude réalisée à l'échelle nationale par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé entre 1999 et 2009 sur un panel d'environ 3500 laboratoires d'analyses biochimiques (Figure 16) [35], la potentiométrie directe représente un avantage par rapport à la potentiométrie indirecte au niveau de l'intégration des électrodes sélectives dans des appareils dits de chimie "sèche". En effet, l'ajout d'un circuit d'eau nécessaire à la dilution des échantillons est alors inutile.

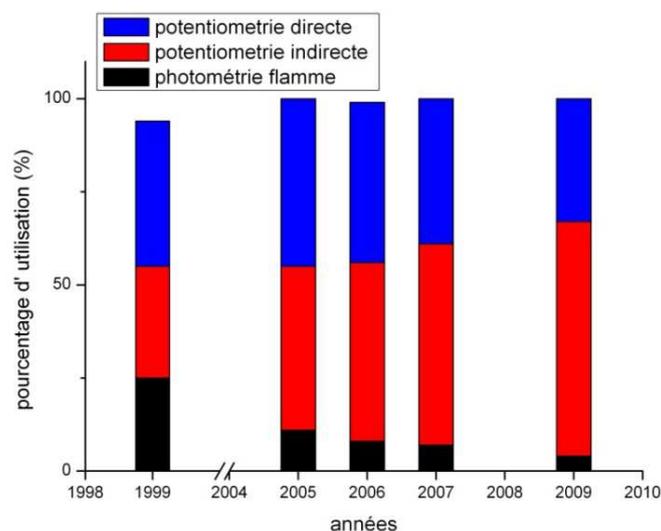


Figure 16: Evolution de l'utilisation des méthodes de dosage du sodium pour 3500 laboratoires français entre 2005 et 2007 (Enquête AFSSAPS)

III.4. Limites analytiques

Les limites analytiques des différentes méthodes de dosage ionique précédemment explicitées diffèrent plus par leurs capacités d'intégration et leur complexité de mise en œuvre que par leurs performances analytiques. Il est évident que les techniques liées à la spectroscopie et à la chromatographie nécessitent un équipement volumineux, onéreux, et une prise en charge par un personnel qualifié. Ainsi, ce sont des méthodes qui sont principalement dédiées à des laboratoires de pointe, particulièrement bien adaptées à la détection d'éléments à l'état de traces. En contrepartie, et malgré un spectre de détection extrêmement large, leurs perspectives d'intégration et de miniaturisation sont peu réalistes. De plus, le recours à ce type de technique requiert un délai entre la collecte de l'échantillon et son analyse, ainsi que, la plupart du temps, un traitement préalable de ce même échantillon (dilution). Ces contraintes ne permettent pas un suivi en temps réel de l'évolution de l'espèce chimique ciblée en fonction des contraintes environnementales liées à la composition du fluide analysé (monitoring). Ce sont donc des méthodes d'analyse ex-situ, inadaptées à des applications (notamment médicales) nécessitant des mesures in-vivo [36]. A contrario, l'électrochimie et plus précisément la potentiométrie s'impose en tant que candidate idéale pour la détection ionique en phase liquide. Elle se distingue des précédentes techniques par sa simplicité, sa rapidité de mise en œuvre, son faible coût de fabrication et ses performances. Les progrès récents de l'instrumentation couplés aux avancées technologiques de micro-fabrication ont permis une augmentation de la sensibilité et du rapport signal sur bruit, ce qui a engendré, d'une part, une amélioration des limites de détection, et, d' autre part, une miniaturisation des détecteurs [37]. Grâce à ces avantages, les capteurs électrochimiques offrent la possibilité d'effectuer des mesures directes d'ions dans des matrices complexes en temps réel [38]. L'utilisation de ces capteurs dans le but de mesurer en continu et en temps réel les propriétés d'espèces chimiques en solution est significativement bénéfique à de nombreux secteurs (industriel, environnemental) car cette approche évite la collecte d'échantillons ainsi que leur transport dans un laboratoire ex-situ [39]. Ainsi, les analyses étant plus rapides (et donc moins chères) et surtout in-situ, de nouveaux marchés ont vu le jour, contribuant à une production de ce type de capteurs à l'échelle industrielle. Dès les années 1990 [40], les avancées majeures des micro-capteurs électrochimiques ont ouvert la voie à de nouveaux champs d'analyse, notamment dans le

secteur biomédical [41]. Des micro-capteurs intégrés permettent alors de répondre à un besoin grandissant de monitoring clinique en temps réel, (mesures d'espèces chimiques liées à un état physiologique). Ces applications récentes permettent un suivi médical, et assurent également la protection de personnes en conditions extrêmes (sécurité, sport). Quelle que soit l'application, les capteurs biomédicaux se doivent d'être portables tout en étant le moins intrusifs possible envers leurs utilisateurs [42]. L'arrivée de ces micro-capteurs chimiques a donc permis d'ouvrir une nouvelle ère dans le monde de la chimie analytique.

IV. Méthodes électroanalytiques

IV.1. Généralités

Le principe de base d'une mesure électrochimique repose sur des réactions chimiques entre des substances actives en solution (molécules ou ions) et des matériaux d'électrodes qui donnent lieu à un transfert ou une adsorption de charge. Les interactions ayant lieu à l'interface solution/électrode sont propres à la nature des matériaux utilisés et à la particularité du composé chimique analysé. La mesure de ces charges (potentiel) ou des électrons induits (intensité) est une image de leur activité ou de leur concentration.

Lors de la mise en contact d'un électrolyte (conducteur ionique) et d'une électrode (conducteur électronique) une transformation chimique a lieu à l'interface, engendrant un transfert de charge. C'est ce que l'on appelle l'oxydoréduction:



Ox représente l'espèce sous sa forme oxydée, et *Red*, l'espèce sous sa forme réduite. Un oxydant est défini comme une espèce susceptible de capter un ou plusieurs électrons, et un réducteur comme une espèce susceptible de céder un ou plusieurs électrons. Le transport des électrons dans une cellule électrochimique complète est illustré dans la figure 17.

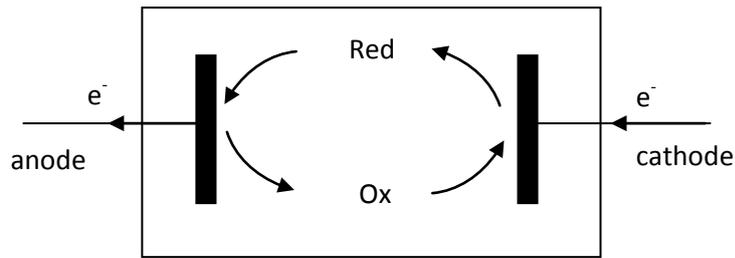


Figure 17: schématisation des réactions d'oxydoréduction pour une cellule électrochimique complète.

IV.1.A. Interfaces à l'équilibre

Considérons une demi-cellule électrochimique non polarisée. A courant nul, un potentiel d'équilibre apparaît à l'interface selon des phénomènes thermodynamiques. Les charges se répartissent de manière spécifique à l'interface, et constituent la double couche électrochimique, modélisée par un condensateur plan. Un potentiel est donc établi entre les deux phases (liquide et solide). Ce potentiel E_{eq} est associé à chaque couple redox et défini par la loi de Nernst tel que:

$$E_{eq} = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln\left(\frac{a_{Ox}}{a_{Red}}\right) \quad \text{Équation 4}$$

E^0 représente le potentiel standard du couple redox, R la constante des gaz parfaits ($R = 8,31457 \text{ J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$), T la température absolue (en Kelvin), n le nombre d'électrons mis en jeu dans la réaction, F la constante de Faraday ($F = 96485 \text{ C.mol}^{-1}$) et a_{Ox} et a_{Red} les activités des espèces oxydantes et réductrices. À température ambiante (25°C), la relation précédente équivaut à:

$$\frac{RT}{F} \ln 10 \approx 0,059 \text{ V} \quad \text{Équation 5}$$

Finalement, l'expression du potentiel d'équilibre à température ambiante peut s'écrire sous la forme d'un logarithme décimal:

$$E_{eq} = E^0 + \frac{0,059}{n} \log\left(\frac{a_{Ox}}{a_{Red}}\right) \quad \text{Équation 6}$$

Ce potentiel n'est pas directement mesurable. Expérimentalement, il est déterminé par rapport à une autre électrode, dite de référence, qui fait office de deuxième demi-cellule et

permet de former un système électrochimique complet. L'électrode de référence choisie par convention est l'électrode normale à hydrogène. Elle est composée d'un métal "noble" (platine) immergé dans une solution d'acide (ions oxonium H_3O^+) en contact avec du dihydrogène (H_2) sous forme gazeuse. La pression du gaz et la concentration des ions étant connues et constantes, son potentiel est approximativement égal au potentiel d'oxydoréduction du couple (H^+/H_2) et ne dépend plus que de la température. La réaction d'oxydoréduction mise en jeu est la suivante:



Les potentiels standards (Tableau 2) des différents couples d'oxydoréduction sont donc mesurés par rapport au précédent couple redox.

Réactions	E^0 volts	Réactions	E^0 volts
$Li^+ + e \rightleftharpoons Li$	- 3,04	$2 H^+ + 2 e \rightleftharpoons H_2$	0
$K^+ + e \rightleftharpoons K$	- 2,92	$Cu^{2+} + e \rightleftharpoons Cu^+$	+ 0,15
$Cs^+ + e \rightleftharpoons Cs$	- 2,92	$AgCl + e \rightleftharpoons Ag + Cl^-$	+ 0,22
$Ca^{++} + 2 e \rightleftharpoons Ca$	- 2,87	$Cu^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Cu$	+ 0,34
$Na^+ + e \rightleftharpoons Na$	- 2,71	$I_2 + 2 e \rightleftharpoons 2 I^-$	+ 0,54
$Mg^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Mg$	- 2,37	$O_2 + 2 H^+ + 2 e \rightleftharpoons H_2O_2$	+ 0,68
$Al^{3+} + 3 e \rightleftharpoons Al$	- 1,66	$Fe^{3+} + e \rightleftharpoons Fe^{2+}$	+ 0,77
$Mn^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Mn$	- 1,18	$Hg^{2+} + 2 e \rightleftharpoons 2 Hg$	+ 0,79
$Zn^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Zn$	- 0,76	$Ag^+ + e \rightleftharpoons Ag$	+ 0,80
$Cr^{3+} + 3 e \rightleftharpoons Cr$	- 0,74	$Br_2 + 2 e \rightleftharpoons 2 Br^-$	+ 1,06
$Fe^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Fe$	- 0,44	$Cr_2O_7^{2-} + 14 H^+ + 6 e \rightleftharpoons 2 Cr^{3+} + 7 H_2O$	+ 1,33
$Co^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Co$	- 0,28	$Cl_2 + 2 e \rightleftharpoons 2 Cl^-$	+ 1,36
$Ni^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Ni$	- 0,25	$Au^{3+} + 3 e \rightleftharpoons Au$	+ 1,50
$Sn^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Sn$	- 0,14	$MnO_4^- + 8 H^+ + 5 e \rightleftharpoons Mn^{2+} + 4 H_2O$	+ 1,51
$Pb^{2+} + 2 e \rightleftharpoons Pb$	- 0,13	$H_2O_2 + 2 H^+ + 2 e \rightleftharpoons 2 H_2O$	+ 1,77
$2 H^+ + 2 e \rightleftharpoons H_2$	0	$F_2 + 2 e \rightleftharpoons 2 F^-$	+ 2,65

Tableau 2: Différents potentiels standard d'électrodes à 25°C

IV.1.B. Interfaces hors équilibre

Lorsqu'un potentiel E (surtension) est appliqué à l'électrode, la réaction d'oxydoréduction (Équation 3) est induite, et donne lieu à un transfert électronique entre l'espèce redox et le conducteur électronique. L'électrode est alors traversée par un courant I . Le système, alors déséquilibré, va tendre vers un nouvel équilibre imposé par la surtension appliquée. La surtension est définie comme la différence entre le potentiel appliqué et le potentiel d'équilibre ou potentiel à courant nul:

$$\eta = E - E_{eq} \quad \text{Équation 8}$$

Il existe deux manières de caractériser un système électrochimique:

- Les méthodes à potentiel imposé (contrôle de la surtension à l'électrode et mesure du courant induit)
- Les méthodes à courant imposé (contrôle du courant circulant dans l'interface et mesure du potentiel de l'électrode)

On parle de chronoampérométrie ($I=f(t)$) et de voltampérométrie ($I=f(E)$) (Figure 18) dans le premier cas, et de chronopotentiométrie ($E=f(t)$) dans le second cas.

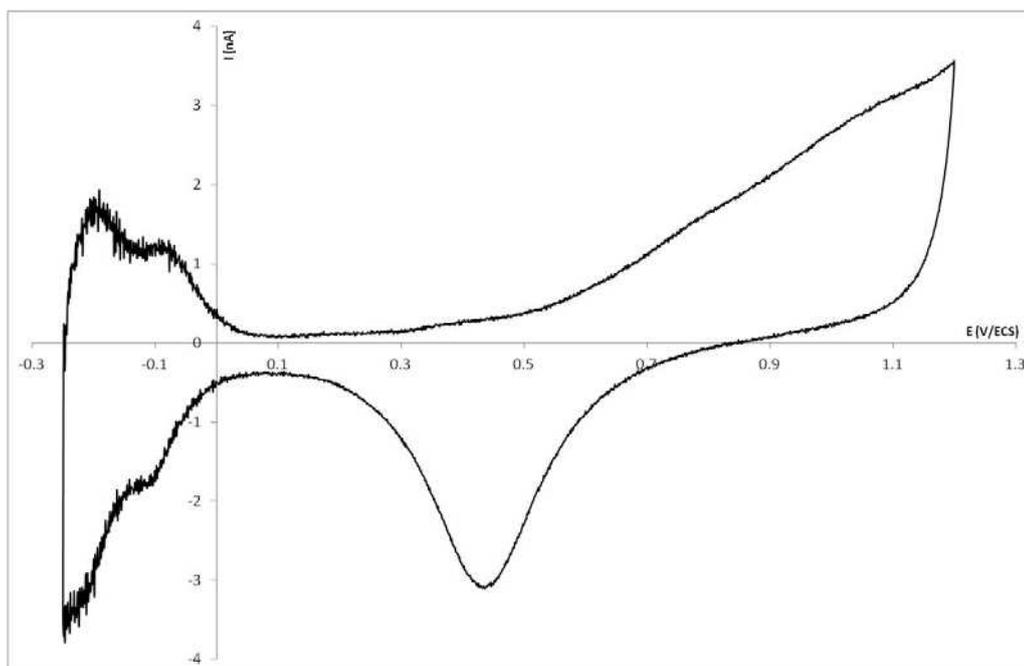


Figure 18: Exemple de voltammogramme effectué sur une électrode de platine [43]

L'expression analytique du courant mis en jeu à l'interface est fonction du caractère du système (réversible ou irréversible) et du type de méthode employée (saut, impulsions, ou balayage en potentiel). De plus, il peut être engendré par des processus différents, à savoir des processus faradiques ou capacitifs.

IV.1.C. Courants faradiques

Ils sont issus d'une réaction d'oxydoréduction à l'interface électrode/solution et sont représentatifs du transfert de charge régi par la loi de Faraday. Cette loi relie la quantité d'espèces chimiques transformées par la réaction et la charge électrique totale échangée entre les deux phases:

$$Q = It = nFN \quad \text{Équation 9}$$

Où Q est la charge totale (en Coulombs), F la constante de Faraday et N le nombre de moles de réactifs consommés à l'électrode (mol). Le courant d'intensité I peut être exprimé par:

$$I = nFA \frac{dN_s}{dt} \quad \text{Équation 10}$$

Où A est l'aire de l'électrode, N_s le nombre de moles de réactifs consommés à l'électrode par unité de surface ($N_s = \frac{N}{A}$). Ainsi, la mesure du courant est une mesure directe de la vitesse de réactions mise en jeu.

IV.1.D. Courants capacitifs

Il est possible que des courants circulent dans un système électrochimique sans qu'une réaction redox n'ait lieu. La formation de la double couche électrochimique interfaciale, établie à l'équilibre, est équivalente, comme nous l'avons vu plus tôt, à un condensateur plan. De ce fait, lorsqu'il y a une variation de potentiel de part et d'autre de ce condensateur (application d'une surtension par exemple), un courant est induit à ses bornes et circule donc entre la phase solide et la phase liquide. Ainsi:

$$I = \frac{dQ}{dt} \quad \text{Équation 11}$$

Avec

$$Q = CV \quad \text{Équation 12}$$

Et

$$C = \varepsilon \frac{A}{d} \quad \text{Équation 13}$$

Où C est la capacité du condensateur équivalent formé par la double couche électrochimique, ε sa constante diélectrique, d l'épaisseur du diélectrique et A la surface de la capacité. Le courant circulant dans le condensateur est équivalent à:

$$I = C \frac{dV}{dt} \quad \text{Équation 14}$$

Comme la solution présente une résistance (sa conductivité n'est pas infinie), le circuit équivalent est un circuit RC. De ce fait le condensateur se charge et se décharge à travers cette même résistance. Si un potentiel E est appliqué à l'électrode, le courant de charge décroît exponentiellement avec le temps:

$$I = \frac{E}{R} \exp\left(-\frac{t}{RC}\right) \quad \text{Équation 15}$$

IV.2. Méthodes expérimentales

Une cellule électrochimique classique est composée de trois électrodes: une électrode de référence, une électrode de travail et une contre-électrode [44]. La mise en place expérimentale d'une telle cellule est pilotée par un potentiostat. Son fonctionnement repose sur l'utilisation d'un amplificateur (CA) qui permet, tout en contrôlant le potentiel entre l'électrode de référence (RE) et l'électrode de travail (WE), d'appliquer et de mesurer un courant traversant la contre-électrode (CE) (Figure 19).

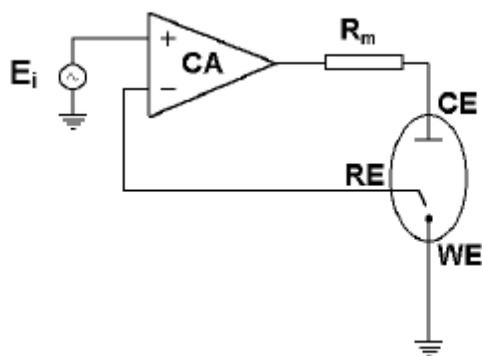


Figure 19: Principe de mesure d'une cellule électrochimique classique [44]

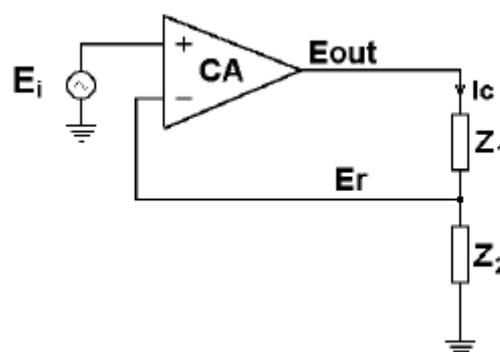


Figure 20: Schéma électronique équivalent [44]

L'amplificateur régule la valeur du courant de sortie de manière à garder la différence de potentiel entre RE et WE aussi proche que possible de la tension de consigne E_i . Le circuit électronique équivalent d'une cellule électrochimique à trois électrodes est équivalent à deux impédances (Figure 20). Ainsi, L'impédance Z_1 représente la résistance R_m (résistance de mesure) en série avec l'impédance interfaciale de RE et la résistance de la solution entre RE et WE . L'impédance Z_2 est équivalente à l'impédance interfaciale de WE (qui est le siège des phénomènes étudiés) en série avec la résistance de la solution entre WE et RE . L'amplificateur CA amplifie la tension différentielle d'entrée telle que:

$$E_{out} = A(E^+ - E^-) = A(E_i - E_r) \quad \text{Équation 16}$$

Où A est le facteur d'amplification, de l'ordre de 1 000 000 pour des amplificateurs réels. Comme RE est connectée à une entrée dont l'impédance est très élevée, on suppose qu'aucun courant n'y circule, ou qu'il est négligeable dans le pire des cas. De ce fait, il circule dans la cellule un courant:

$$I_C = \frac{E_{out}}{Z_1 + Z_2} = \frac{E_r}{Z_2} \quad \text{Équation 17}$$

Cette dernière équation fait apparaître le terme β qui représente la fraction du potentiel de sortie réinjectée sur l'entrée négative: le facteur de contre-réaction. Ainsi:

$$E_r = \frac{Z_2}{Z_1 + Z_2} E_{out} = \beta E_{out} \quad \text{Équation 18}$$

$$\beta = \frac{Z_2}{Z_1 + Z_2} \quad \text{Équation 19}$$

En combinant les équations 16 et 18, le rapport entre la tension de consigne E_i et la tension de référence E_r est égal à:

$$\frac{E_r}{E_i} = \frac{\beta A}{1 + \beta A} \quad \text{Équation 20}$$

Le produit βA étant très grand devant 1:

$$E_r = E_i \quad \text{Équation 21}$$

Il apparaît clairement que, suivant l'équation 21, le potentiel entre RE et WE est contrôlé et ajusté par la tension de consigne E_i . Cependant, la topologie de la cellule est variable suivant le mode de transduction choisi.

IV.3. Capteurs électrochimiques

Les capteurs électrochimiques sont classés suivant leur mode de transduction, à savoir: l'ampérométrie, la conductimétrie, l'impédimétrie et la potentiométrie. Les capteurs ampérométriques imposent un potentiel entre une électrode de référence et une électrode de travail qui va causer une oxydation ou une réduction d'une espèce électroactive. Cette réaction engendre un courant résultant qui est proportionnel à la concentration de l'espèce en solution. Les capteurs conductimétriques impliquent une mesure de conductivité à une fréquence donnée. L'impédimétrie, bien qu'utilisée comme technique de caractérisation est aussi utilisée comme mode de transduction [45]. Grâce à l'application d'un potentiel entre deux électrodes, le courant induit est mesuré sur une large gamme de fréquences. Ces mesures d'impédances donnent des informations sur la structure de l'électrolyte ou sur les phénomènes engendrés à l'interface de l'électrode. Enfin, pour les capteurs potentiométriques, un équilibre est établi à l'interface du matériau sensible, et le potentiel entre cette électrode sensible et une électrode de référence est mesuré. Dans le domaine de l'analyse clinique, le type de méthode électrochimique utilisé dépend du mesurande analysé [46] (Figure 21).

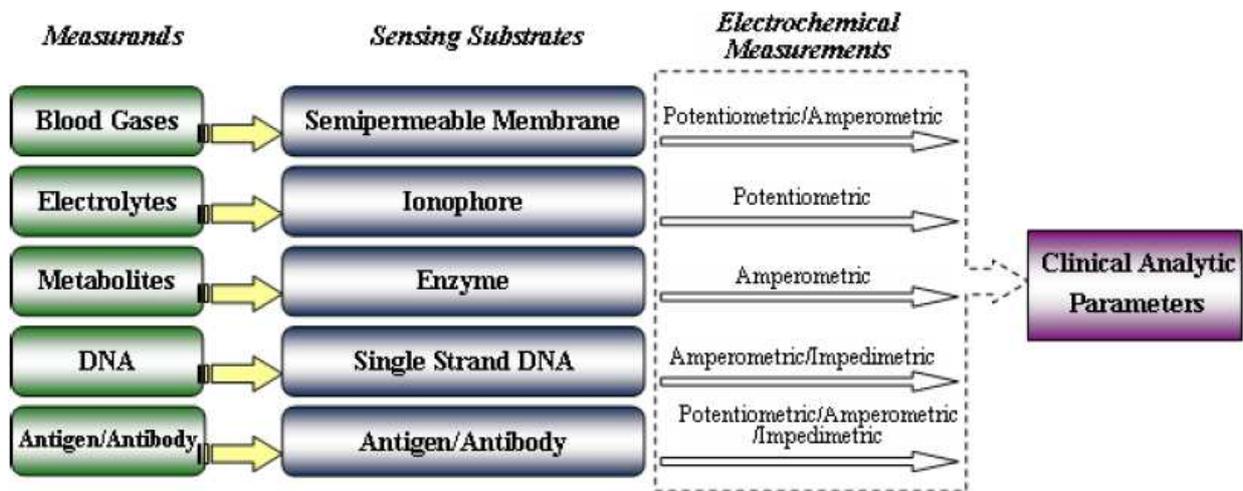


Figure 21: Correspondance entre les différents modes de transduction électrochimique et les mesurands dans le cas d'analyses cliniques [46]

Ainsi, suivant la cible à mesurer, un mode de transduction sera préférable, ce qui déterminera la topologie et l'architecture du capteur. Ces différents modes de transduction sont expliqués plus en détail ci-dessous.

IV.3.A. Ampérométrie

Les méthodes ampérométriques exploitent des réactions d'oxydoréduction, qui engendrent, par l'application d'un potentiel spécifique de l'espèce électroactive, des échanges d'électrons entre un métal d'électrode et une solution. Le courant électrique induit par ces réactions chimiques est appelé "courant faradique" et dépend linéairement de la concentration de la cible dans l'analyte. Dans le cas des biocapteurs ampérométriques, les éléments de reconnaissance biologique qui réagissent sélectivement avec l'analyte d'intérêt sont principalement des réactions enzymatiques ou des mécanismes anticorps-antigène (biomolécules) [47]. Historiquement, nous pouvons distinguer trois générations de biocapteurs ampérométriques basés sur des réactions enzymatiques, définies selon les différents mécanismes liés au transport électronique [48]. Les biocapteurs de première génération sont basés sur l'électroactivité du substrat (ou produit) enzymatique. Ceux de deuxième génération utilisent des médiateurs redox, libres ou immobilisés sur la

biomolécule. Enfin, la troisième génération est basée sur un principe de transfert électronique direct entre la biomolécule redox et la surface de l'électrode [49] (Figure 22).

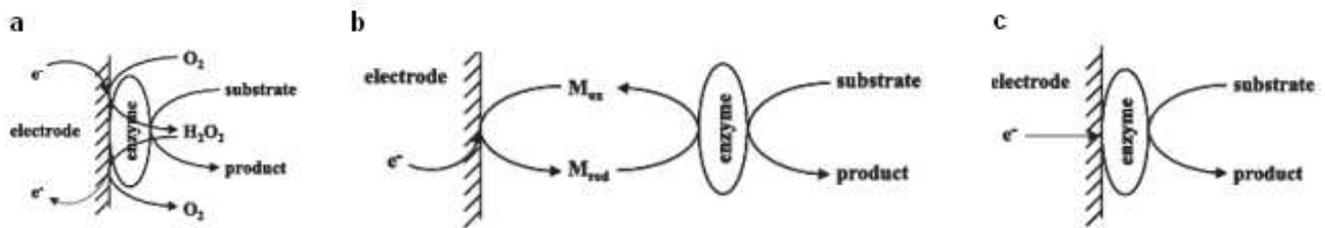
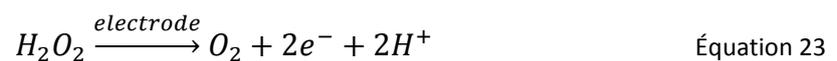


Figure 22: Principes d'échanges électroniques des différentes générations de biocapteurs enzymatiques: (a) première, (b) deuxième et (c) troisième génération [48]

Afin d'illustrer ces propos, prenons comme exemple le capteur de glucose qui est le biocapteur le plus célèbre. Pour les premières générations, et de manière simplifiée, une réaction d'oxydation, catalysée par une enzyme de type glucose oxydase (GOd) produit du peroxyde d'hydrogène (H_2O_2) tel que:

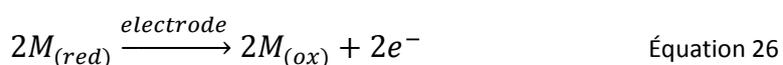
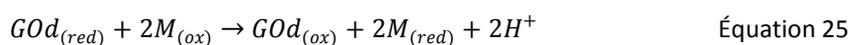
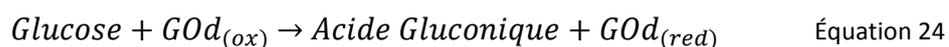


En un second temps, sous l'effet d'un potentiel appliqué à l'électrode, le peroxyde d'hydrogène va s'oxyder à sa surface de la manière suivante:



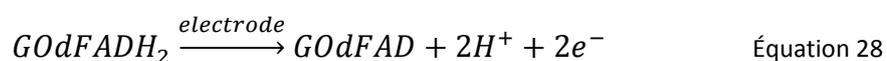
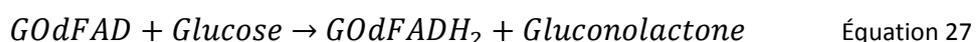
Ainsi, le signal ampérométrique obtenu est linéairement dépendant de la concentration en glucose [50]. Bien que ce type de capteur soit relativement simple à mettre en œuvre, sa faible sélectivité électrochimique, causée par l'oxydation de diverses espèces présentes dans des fluides biologiques, ainsi que sa dépendance envers l'oxygène, ont contribué à son amélioration et à l'arrivée d'une seconde génération.

Pour des capteurs de seconde génération, l'oxygène est remplacé par un donneur d'électrons synthétique (médiateur), capable de transporter les électrons de l'enzyme jusqu'à la surface de l'électrode [51]. Les dérivés de ferrocène sont les principaux médiateurs utilisés. La forme oxydée du médiateur réagit avec la forme réduite de l'enzyme, et vice-versa, tel que:



L'oxygène n'étant plus utilisé en tant que co-substrat, sa dépendance envers la réponse du capteur n'est plus de mise. L'oxydation du ferrocène est effectuée à des potentiels plus faibles que pour l'oxygène. À de tels potentiels, les interférences avec les autres espèces oxydables deviennent moindres, ce qui a pour conséquence d'améliorer la sélectivité du capteur. L'inconvénient majeur de cette génération de capteurs est la diffusion du médiateur dans le milieu d'analyse. Sa toxicité n'autorise pas une utilisation *in vivo*. Les travaux effectués en vue de résoudre ce problème ont conduit au développement d'autres moyens de transporter les électrons du centre de l'enzyme jusqu'à la surface de l'électrode. Des polymères redox hydrophobes [52] voire même des nano-fils [53] permettent ainsi de faciliter le transfert électronique.

Le fonctionnement optimum de ces précédentes techniques consiste en un transfert direct d'électrons, dont le potentiel d'utilisation serait très faible (proche du potentiel redox de l'enzyme elle-même). L'absence de médiateur qui est l'avantage de ces capteurs, dits de "troisième génération", impliquerait donc une haute sélectivité. Lorsque la glucose oxydase catalyse l'oxydation du glucose, un de ses groupements, la flavine adénine dinucléotide (FAD), est réduit sous la forme FADH₂:



Cependant, il est difficile pour la FADH₂ d'être directement oxydée par la réaction d'électrode car c'est un centre actif qui est "contenu" dans l'enzyme et sa distance jusqu'à l'électrode excède généralement la distance critique de l'effet tunnel. Malgré ce verrou technologique sur cette technique encore très récente, de nombreux travaux sont à l'ouvrage [54].

L'ampérométrie est principalement utilisée dans le but d'étudier des réactions chimiques ou d'analyser des espèces électro-actives (qui ont la possibilité d'échanger un électron dans leur

milieu de mesure). Néanmoins, elle est inadaptée à la détection d'espèces chimiques électro-inactives tels que les ions sodium ou potassium, qui sont les ions d'intérêt majeurs dans les fluides biologiques.

IV.3.B. Conductimétrie

La mesure de la résistance d'une solution permet la déduction de la concentration de charges entre deux électrodes. La conductance d'une cellule de conductivité (Figure 23) est fonction de la surface de sa section ainsi que de sa longueur conformément à la loi de Pouillet, qui stipule:

$$G = \kappa \frac{A}{l} \quad \text{Équation 29}$$

Où G est la conductance (S ou Ω^{-1}), κ la conductance spécifique du corps (S/cm), A la surface de sa section (cm^2) et l sa longueur (cm).

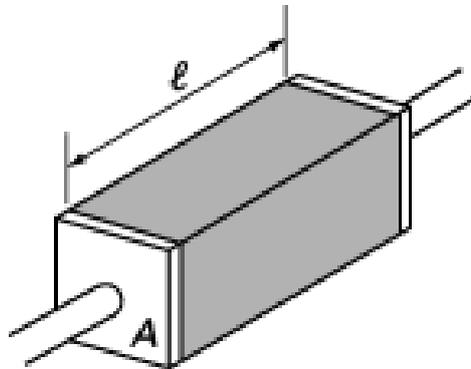


Figure 23: Cellule de conductivité (<http://www.techniques-ingenieur.fr>)

La conductance de cellule est proportionnelle à la concentration de l'électrolyte dans laquelle elle est plongée. Un étalonnage préalable dans une solution de concentration connue est nécessaire. Les mesures sont effectuées à courant alternatif afin d'éviter des variations de résistance engendrées par la polarisation des électrodes à courant continu.

Dans un électrolyte où existent les cations A^+ et B^- , la conductivité totale est égale à la somme des conductivités cationique (σ_+) et anionique (σ_-) telle que:

$$\sigma = \sigma_+ + \sigma_- \quad \text{Équation 30}$$

Dans le cas d'un électrolyte divalent (chlorure de sodium, par exemple, $[Na^+] = [Cl^-]$), la conductivité cationique est égale à la conductivité anionique, Ainsi:

$$\sigma_+ = \lambda_{Na^+}[Na^+] \quad \text{Équation 31}$$

$$\sigma_- = \lambda_{Cl^-}[Cl^-] \quad \text{Équation 32}$$

$$\sigma = \lambda_{Na^+}[Na^+] = \lambda_{Cl^-}[Cl^-] = [Na^+](\lambda_{Na^+} + \lambda_{Cl^-}) \quad \text{Équation 33}$$

Dans un cas général, pour un électrolyte asymétrique (cas de fluides complexes), cette technique ne possède aucune sélectivité intrinsèque. C'est pourquoi elle est utilisée en conjonction avec des techniques de séparation, comme la chromatographie liquide à haute performance.

IV.3.C. Impédimétrie

Comme nous l'avons vu auparavant, les courants circulant à l'interface électrochimique sont soit d'origine faradique (réaction d'oxydoréduction), soit causés par la présence de la double couche électrochimique (processus non faradiques). Le transfert de charges associé à ces phénomènes peut être modélisé par des cellules électroniques élémentaires, à savoir des résistances, des capacités ou des inductances. La composante faradique est représentée par la résistance de transfert de charge (R_p). Les courants non-faradiques résultent de la charge de la capacité de double couche électrochimique (C_d). La solution possède une résistance non nulle (R_s). L'impédance de Warburg (notée Z_w) rend compte des phénomènes de diffusion qui dépendent des quantités d'oxydants consommés et des réducteurs produits lors de la réaction redox. L'architecture d'une demi-cellule électrochimique classique peut donc être modélisée par le circuit équivalent suivant (Figure 24):

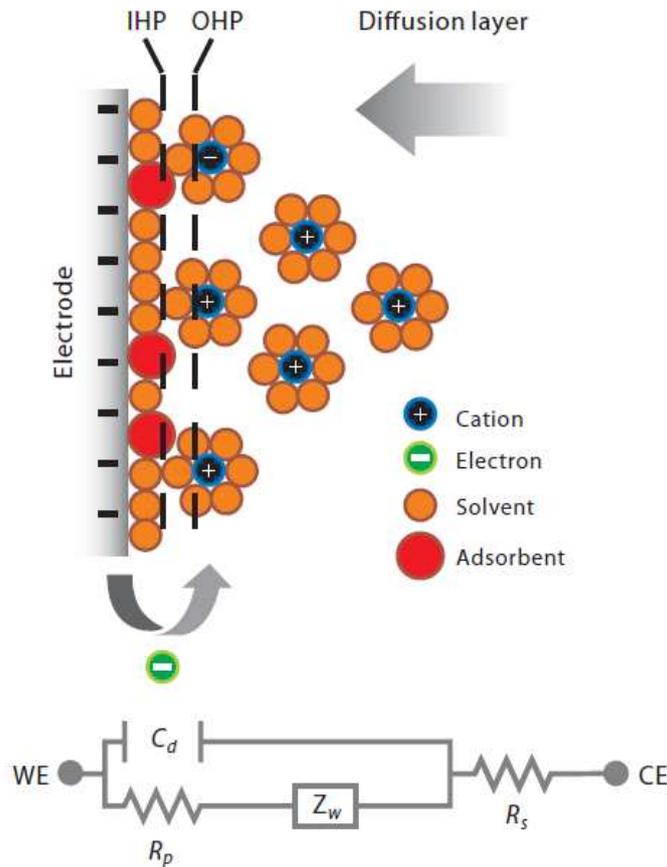


Figure 24: Schéma électrique équivalent d'une interface métal/solution [55]

La spectroscopie d'impédance consiste à mesurer la réponse d'une cellule électrochimique à une perturbation causée par un signal sinusoïdal en tension de faible amplitude. Le courant résultant est décalé temporellement par rapport au signal perturbateur selon les éléments élémentaires composant la cellule, qui s'opposent au flux d'électrons (Figure 25a). La mesure est répétée pour une large gamme de fréquences. L'impédance est définie comme le rapport entre:

$$Z = \frac{V(t)}{I(t)} = \frac{V_0 \sin(\omega t)}{I_0 \sin(\omega t + \varphi)} = \frac{1}{Y} \quad \text{Équation 34}$$

L'impédance peut s'exprimer sous sa forme polaire ou sous sa forme cartésienne:

$$Z(\omega) = |Z| \exp(j\varphi) = \text{Re}(Z) + j \cdot \text{Im}(Z) \quad \text{Équation 35}$$

Typiquement, deux types de graphes sont obtenus suivant la forme de l'expression de l'impédance (diagramme de Bode pour la forme polaire, et diagramme de Nyquist pour la forme cartésienne) (Figures 25b et 25c) [56].

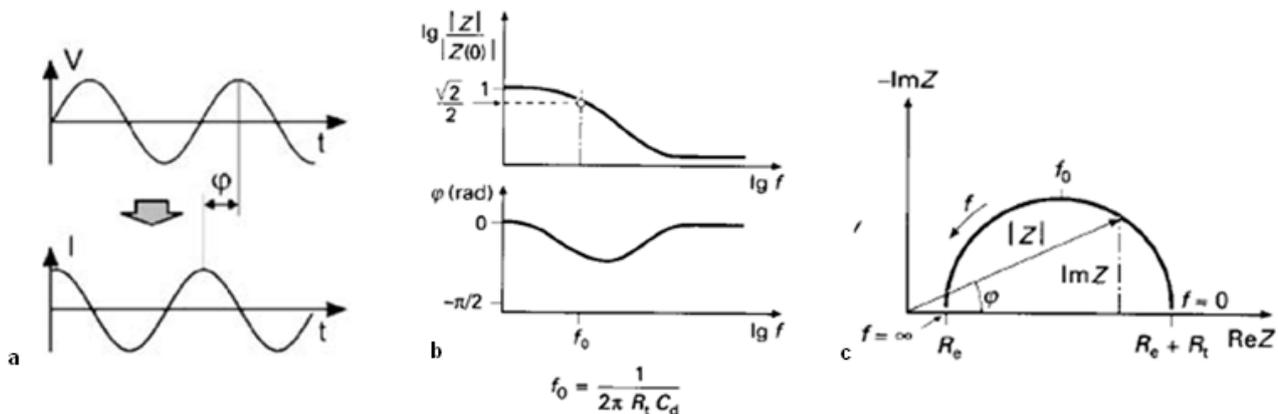


Figure 25: Formes d'onde des signaux perturbateurs et induits (a), diagramme de Bode (b), diagramme de Nyquist (c) (<http://www.techniques-ingenieur.fr>)

Suivant leurs interactions avec les matériaux d'électrodes, certaines substances peuvent interagir avec la surface et engendrer une variation de capacité [57, 58]. Ce principe de transduction, couramment utilisé comme technique de caractérisation, offre cependant des perspectives prometteuses dans le cadre d'applications liées aux capteurs. Par exemple, le suivi direct d'interactions antigène-anticorps [59], l'hybridation de brins d'ADN [60], la détection de métaux lourds à l'état de traces [61], ou même la détection de bactéries [62]. L'avantage majeur de ce type de capteur, comme tous les autres types de capteurs électrochimiques, se situe dans sa miniaturisation et son faible coût de production. Ainsi, les capteurs impédimétriques sont devenus particulièrement attractifs par rapport à d'autres approches basées sur les microbalances à quartz, l'ellipsométrie ou la résonance plasmon de surface [63]. Malgré cela, l'inconvénient majeur, à savoir le manque de sélectivité ne permet pas d'utiliser aisément l'impédimétrie en vue de la détection d'ions.

IV.3.D. Potentiométrie

La potentiométrie est une technique permettant de mesurer directement les charges électriques des ions présents en solution. Elle est grandement répandue dans le domaine de l'électroanalyse. Comme ce travail de thèse est principalement focalisé sur le

développement de dispositifs à détection potentiométrique, j'ai choisi de présenter ce mode de transduction plus en détail dans le paragraphe suivant.

V. Potentiométrie

V.1. Filières technologiques

Les dispositifs électrochimiques potentiométriques sont largement utilisés dans le cas d'analyses cliniques: ils ne consomment pas d'analyte et ne nécessitent pas de préparation de l'échantillon [64]. Les ISE (Ion Sensitive Electrodes) et les ChemFET (Chemical Field Effect Transistors) sont particulièrement bien adaptés au secteur biomédical, principalement grâce à leur faible encombrement et à leurs perspectives d'implantation.

Ces deux types de dispositifs ont en commun une même interface électrochimique. Cette interface est composée d'une membrane polymérique sélective aux ions, qui contient différents éléments chimiques et principalement des récepteurs moléculaires: les ionophores. Ils ont la capacité de former des complexes ioniques sélectifs, et sont le siège de réactions induisant une variation de potentiel, qui, mesurée par rapport à une électrode de référence, est directement liée à une activité ionique spécifique [65]. Ces couches ou membranes polymériques jouent donc le rôle de reconnaissance chimique, délivrant au transducteur une information qu'il transformera en signal électrique, mesurable par un circuit externe (Figure 26):

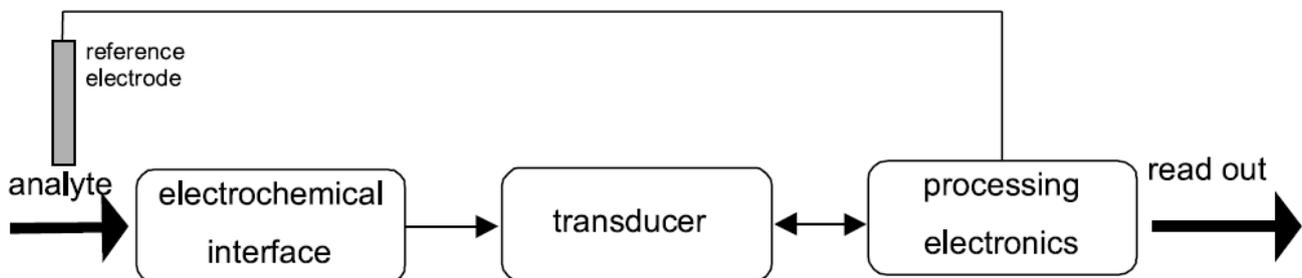


Figure 26: Principe de conversion du signal d'un capteur potentiométrique [65]

Malgré leurs apparentes similitudes, les ISE et ChemFET se différencient par leur mode de transduction, ainsi que par leur topologie d'interface. En effet, les ISE classiques adoptent une architecture symétrique: la variation de potentiel à la surface externe de la membrane est en équilibre avec la variation de potentiel présent à la surface interne, qui est elle-même en équilibre thermodynamique avec l'interface interne métal/solution. C'est la présence du couple redox qui assure un équilibre réversible ions/électrons à l'interface interne.

Le principe de transduction d'un ChemFET directement recouvert d'une couche sensible est totalement différent. C'est l'effet de champ qui permet, grâce à la présence d'un isolant, de moduler le courant qui parcourt le canal en fonction des variations de potentiel en surface de la membrane [66]. L'architecture de ce type de dispositif est donc asymétrique dans le sens où la couche sensible, qui est directement déposée sur un isolant, n'est pas en équilibre entre deux solutions.

Ce type d'interface est défini comme capacitif ou « bloqué »: sans la présence d'un couple redox, le transfert réversible entre électrons et ions est impossible. Le potentiel de ces systèmes, distribué au niveau des capacités des deux matériaux en contact, n'est généralement pas stable, à cause de la sensibilité capacitive envers les espèces pénétrant la membrane et le solide (interférents ioniques, eau). De nombreuses tentatives pour solutionner ce problème d'interface « bloquante » ont été proposées.

En ce qui concerne les CWE (Coated Wire Electrodes), qui sont des électrodes directement recouvertes d'une membrane sensible, l'introduction d'agents redox dans le polymère [67], le dépôt de couches de polymères conducteurs [68], notamment de Polypyrrôle [69], ont permis d'introduire un couple redox à l'interface, autorisant un échange entre ions et électrons, assurant ainsi une meilleure stabilité de la réponse potentiométrique.

Le problème est de nature différente pour un dispositif basé sur un ChemFET. Comme la membrane est déposée directement sur un isolant, l'introduction d'un couple redox à cette interface est impensable. Puisque les dérives sont dues à la pénétration d'eau et d'espèces neutres au travers de la membrane [70], il a été suggéré de déposer une couche d'Ag/AgCl à la surface de l'isolant [71], mais une telle structure est équivalente à une électrode à contact solide interne (CWE), qui ne requiert pas l'utilité d'un transistor à effet de champ. *Van Den Vlekkert et al.* a proposé l'introduction d'un hydrogel afin de séparer la membrane de

l'isolant. Ainsi, cette couche « tampon » permet de maintenir un pH constant sur la surface sensible de l'isolant, évitant ainsi toute interférence. Cette approche peut être vue comme la miniaturisation d'une structure ISE conventionnelle, où l'architecture devient symétrique, engendrant des problématiques différentes.

Malgré les apparences, les dispositifs symétriques présentent certains inconvénients majeurs vis-à-vis des dispositifs asymétriques [72] : la présence de la solution interne induit des risques au niveau de la stabilité du potentiel en surface de l'isolant, si sa concentration venait à changer (pénétration de l'eau, élution de l'électrolyte à l'extérieur de la membrane). De par la pression osmotique, de tels dispositifs possèdent une limite de détection d'environ 10^{-6} M. Cette limite est d'environ 10^{-8} à 10^{-11} M pour des dispositifs asymétriques, grâce à l'absence de solution interne, et de l'inexistence des risques qui lui sont associés. L'absence de cette solution interne procure d'autres avantages : simplicité de fabrication, coûts de réalisation plus faibles, flexibilité mécanique (possibilité d'utiliser l'électrode horizontalement ou verticalement) et possibilité de miniaturisation et de micro-fabrication.

V.2. Mécanismes de réponse

V.2.A. Dispositifs symétriques

Dans les dispositifs de type ISE symétriques, la membrane est en équilibre avec une solution électrolytique interne, de composition connue, et une solution (analyte) de composition inconnue. On peut donc considérer que le potentiel de membrane E_m est lié à la contribution de trois potentiels distincts : les potentiels aux interfaces des phases aqueuses et organiques de part et d'autre de la membrane, et le potentiel de diffusion à l'intérieur de la membrane. Le potentiel à l'interface membrane/solution interne est indépendant de l'analyte, et le potentiel de diffusion à l'intérieur de la membrane est négligeable. Le potentiel électrochimique de l'ion I^z dans la phase aqueuse est :

$$\tilde{\mu}_{(aq)} = \mu_{(aq)} + vF\phi_{(aq)} = \mu_{(aq)}^0 + RT\ln(a_{I(aq)}) + vF\phi_{(aq)} \quad \text{Équation 36}$$

Pour la couche organique en contact avec la solution aqueuse précédente, on a :

$$\tilde{\mu}_{(org)} = \mu_{(org)} + vF\phi_{(org)} = \mu_{(org)}^0 + RT\ln(a_{I(org)}) + vF\phi_{(org)} \quad \text{Équation 37}$$

Avec :

- μ qui est le potentiel chimique (μ^0 est le potentiel chimique standard)
- v et a_I la valence et l'activité de l'ion I non-complexé
- ϕ le potentiel électrique
- R la constante des gaz parfaits
- T la température absolue
- F la constante de Faraday

En supposant que la membrane n'est perméable qu'aux ions ciblés I^z (permsélectivité cationique), les potentiels électrochimiques à l'équilibre ont la même valeur dans les phases aqueuses et organiques. Ainsi, la différence de potentiel électrique entre l'électrolyte et la membrane E_{PB1} (potentiel de Donnan) est égale à :

$$E_{PB1} = \phi_{(org1)} - \phi_{(aq1)} = \frac{\mu^0_{(aq1)} - \mu^0_{(org1)}}{vF} + \frac{RT}{vF} \ln \left(\frac{a_{I(aq1)}}{a_{I(org1)}} \right) \quad \text{Équation 38}$$

Pour l'autre interface, le raisonnement est identique. Finalement, la différence de potentiel électrique $\phi_{(aq2)} - \phi_{(aq1)}$ entre les deux solutions électrolytiques séparées par la membrane est égal à :

$$E_M = \phi_{(aq2)} - \phi_{(aq1)} = \frac{RT}{vF} \ln \left(\frac{a_{I(aq1)}}{a_{I(aq2)}} \right) + \Delta\phi_{as} \quad \text{Équation 39}$$

$$\Delta\phi_{as} = \phi_{(org2)} - \phi_{(org1)} \quad \text{Équation 40}$$

Le terme $\Delta\phi_{as}$ traduisant une asymétrie possible à l'intérieur de la membrane.

Il est important de noter que cette réponse n'est possible que si le terme $a_{I(org1)} = a_{I(org2)}$ est constant, c'est-à-dire si il n'est pas altéré par la composition de l'analyte. Le rôle des sites anioniques est de maintenir l'équilibre avec les ions non complexés par les ionophores. Grâce à cet équilibre et à la forte complexation, la concentration de l'ion libre est toujours très faible par rapport à la concentration de l'ion complexé, ce qui permet de considérer que le potentiel E_M n'est dépendant que des deux activités relatives aux solutions externes et internes.

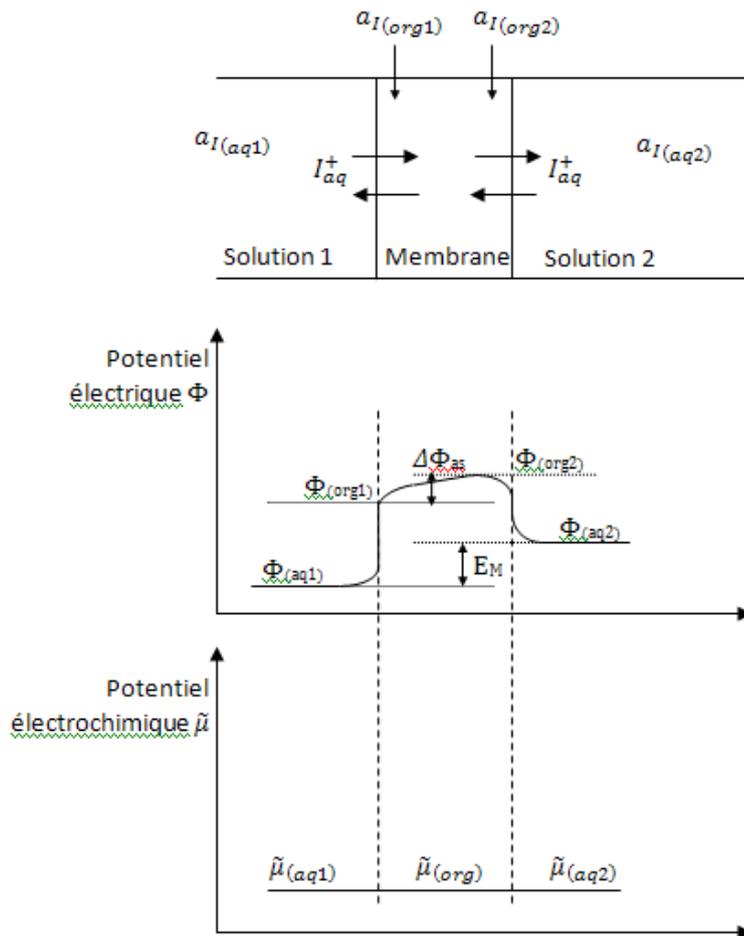


Figure 27: Equilibres électrochimique aux interfaces d'une ISE à structure symétrique (<http://www.techniques-ingenieur.fr>)

Finalement, comme l'activité $a_{I(aq2)}$ de la solution de référence est supposée être constante, le potentiel E_M est donc lié à l'activité $a_{I(aq1)}$ de l'analyte, par la loi de Nernst :

$$E_M = \frac{RT}{vF} \ln(a_{I(aq1)}) - \frac{RT}{vF} \ln(a_{I(aq2)}) + \Delta\phi_{as} = E_0 + \frac{RT}{vF} \ln(a_{I(aq1)}) \quad \text{Équation 41}$$

Pour un cation monovalent ($v=1$), à température ambiante ($T=25^\circ\text{C}$), l'expression devient :

$$E_M = E_{0(membrane)} + 59,2 \log(a_{I(aq1)}) \quad \text{Équation 42}$$

La chaîne électrochimique complète pour la mesure de l'activité d'un ion en solution [73] est décrite ci-dessous (Figure 28):

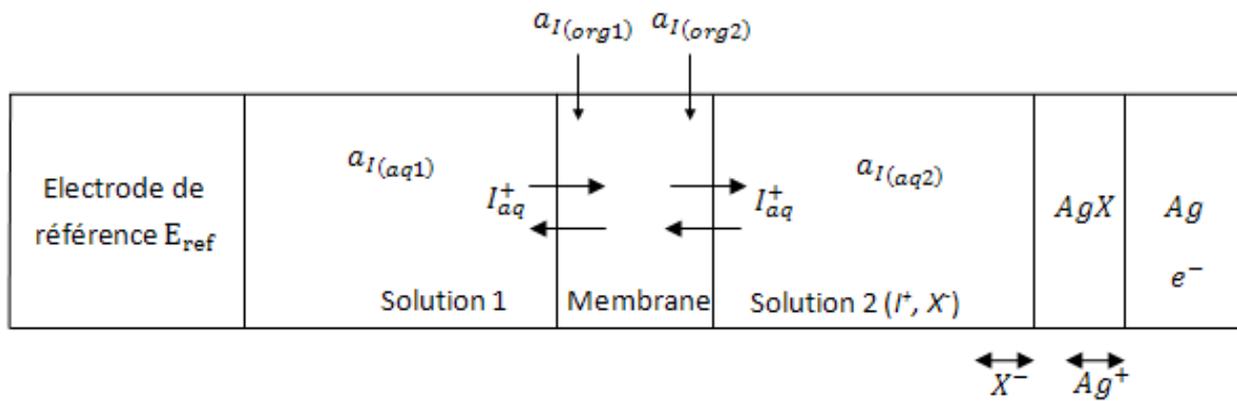


Figure 28: Chaîne électrochimique complète

L'équilibre entre la solution de référence interne et le transducteur est assuré par une réaction d'équilibre. Par exemple, pour le couple Ag/AgCl, on a la réaction réversible suivante :



Qui obéit également à la loi de Nernst :

$$E_{Ag/AgCl} = E_{0(Ag/AgCl)} + 59,2 \log(a_{Cl^-}) \quad \text{Équation 44}$$

Finalement, la tension mesurée est égale à :

$$E = E_{ref} + E_M + E_{Ag/AgCl} \quad \text{Équation 45}$$

Avec E_{ref} constant (par définition) et $E_{Ag/AgCl}$ constant si l'activité de l'ion Cl^- est constante dans la solution interne. Ainsi, la différence de potentiel mesurée ne dépend plus que de l'activité $a_{I(aq1)}$ de l'ion ciblé I_{aq}^+ , de telle sorte que :

$$E = E_0 + 59,2 \log(a_{I(aq1)}) \quad \text{Équation 46}$$

Avec $E_0 = E_{ref} + E_{0(membrane)} + E_{Ag/AgCl}$.

V.2.B. Dispositifs asymétriques

Les ChemFET à grille Si_3N_4 directement recouvert d'une membrane polymérique sont un exemple concret de structure asymétrique. La chaîne électrochimique équivalente complète

est constituée des éléments suivants (M' et M'': Métaux, Si: Silicium, Si₃N₄: Nitrure de Silicium, ISM: Ion Sensitive Membrane):



En reprenant la même logique que pour les structures symétriques (ISE), cette structure équivaut à (la demi-pile de référence est écartée, par souci de clarté) (Figure 29):

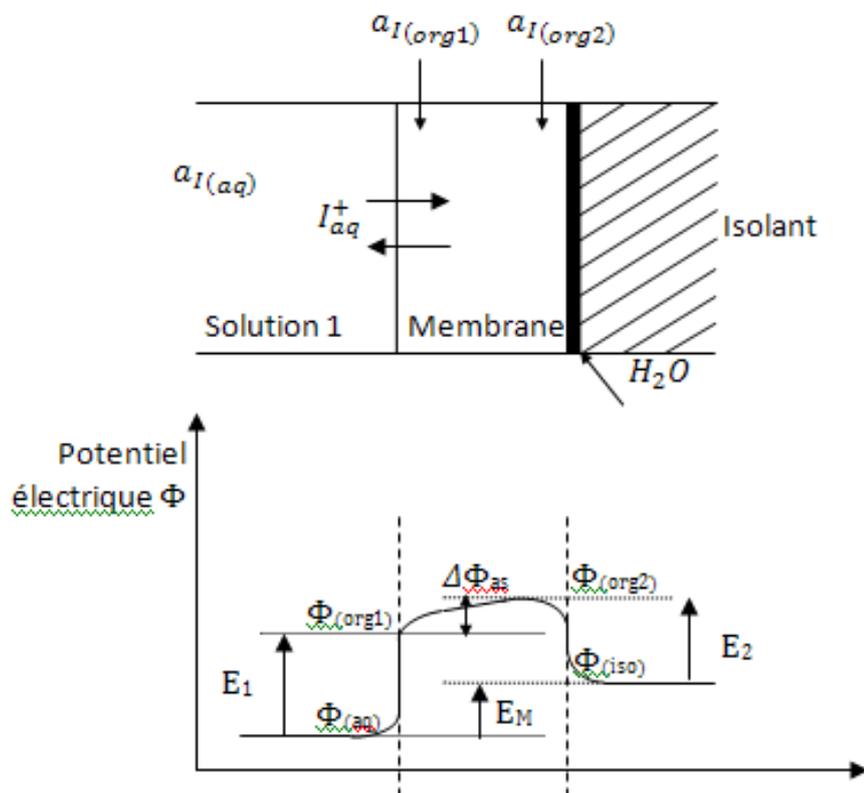


Figure 29: Equilibre dans une structure ChemFET asymétrique (<http://www.techniques-ingenieur.fr>)

L'interface solution1/membrane étant perméable aux ions I , on peut alors considérer qu'à l'équilibre, leur potentiel électrochimique dans chacune des deux phases (liquide et organique) est identique, c'est à dire:

$$\tilde{\mu}_{I(aq)} = \tilde{\mu}_{I(org1)} \quad \text{Équation 47}$$

Pour l'interface membrane/isolant, aucun échange n'a lieu. Cependant, il est nécessaire de considérer le potentiel électrochimique de l'ion I dans l'isolant, car, bien que la composante chimique de cet ion soit totalement « virtuelle », le nitrure est impacté par un potentiel à sa surface. Ce « raccourci » permet d'introduire un terme indéfini « α^{ISM} » rendant compte de l'instabilité de cette interface variable, affectée par la présence d'une très fine couche d'eau [74, 75]. On peut donc considérer qu'à l'équilibre :

$$\tilde{\mu}_{I(org2)} = \tilde{\mu}_{I(iso)} \quad \text{Équation 48}$$

De plus, dans la phase liquide, il y a :

$$\tilde{\mu}_{I(aq)} = \mu_{I(aq)} + RT \ln(a_{I(aq)}) + zF\phi_{(aq)} \quad \text{Équation 49}$$

Dans la phase organique, côté solution:

$$\tilde{\mu}_{I(org1)} = \mu_{I(org1)} + RT \ln(a_{I(org1)}) + zF\phi_{(org1)} \quad \text{Équation 50}$$

Dans la phase organique, côté isolant:

$$\tilde{\mu}_{I(org2)} = \mu_{I(org2)} + RT \ln(a_{I(org2)}) + zF\phi_{(org2)} \quad \text{Équation 51}$$

Et dans l'isolant :

$$\tilde{\mu}_{I(iso)} = \alpha^{ISM} + zF\phi_{(iso)} \quad \text{Équation 52}$$

A partir des équations 47 à 52, on retrouve le potentiel de Donnan à l'interface solution/membrane, qui est identique à celui d'une ISE :

$$E_1 = \phi_{(org1)} - \phi_{(aq)} = \frac{\mu_{I(aq)} - \mu_{I(org1)}}{zF} + \frac{RT}{zF} \ln\left(\frac{a_{I(aq)}}{a_{I(org2)}}\right) \quad \text{Équation 53}$$

Idem pour l'interface membrane/isolant:

$$E_2 = \phi_{(org2)} - \phi_{(iso)} = \frac{\alpha^{ISM}}{zF} - \frac{\mu_{I(org2)}}{zF} - \frac{RT}{zF} \ln(a_{I(org2)}) \quad \text{Équation 54}$$

Le potentiel à travers la membrane est égal à (en considérant que l'activité de l'ion libre dans la membrane est constante, donc $a_{I(org1)} = a_{I(org2)}$ et $\Delta\phi_{as}$ est négligé):

$$E_M = E_1 - E_2 = \frac{\mu_{I(aq)}}{zF} + \frac{RT}{zF} \ln(a_{I(aq)}) - \frac{\alpha^{ISM}}{zF} \quad \text{Équation 55}$$

Il apparaît donc un terme α^{ISM} non défini, qui traduit l'instabilité de ce potentiel.

V.3. Sélectivité des membranes

En réalité, les membranes ne sont pas totalement sélectives à un seul ion. Les déviations par rapport à une réponse nernstienne sont dues à la présence d'autres espèces ioniques dans l'analyte. Ainsi, l'équation de Nikolski-Eisenman décrit l'influence des ions interférents [76]:

$$E_M = E_0 + \frac{RT}{v_i F} \ln \left[a_i + \sum_j K_{ij} a_j^{v_i/v_j} \right] \quad \text{Équation 56}$$

Avec :

- v_i est la valence de l'ion primaire i (ion ciblé)
- v_j la valence de l'ion interférent j
- a_i l'activité de l'ion primaire i dans l'analyte
- K_{ij} le coefficient de sélectivité de l'ion primaire i par rapport à un ion interférent j
- a_j l'activité de l'ion interférent j dans l'analyte

Le coefficient de sélectivité K_{ij} , couramment exprimé par son logarithme, est déterminé expérimentalement. Pour cela, l'organisation de l'IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) suggère deux méthodes [77]: La méthode à interférence fixe (FIM), et la méthode à solutions séparées (SSM).

En ce qui concerne la FIM, le potentiel est mesuré pour des solutions dont l'activité de l'ion interférent a_j est constante, en faisant varier l'activité de l'ion primaire a_i . Le logarithme de a_i est tracé en fonction des valeurs obtenues. L'intersection de la portion linéaire extrapolée indique la valeur de a_i permettant de calculer le coefficient de sélectivité K_{ij} de l'ion i par rapport à l'ion j tel que :

$$K_{ij} = \frac{a_i^{z_i/z_j}}{a_j} \quad \text{Équation 57}$$

Avec, respectivement, z_i et z_j les valences des ions primaires et interférents.

Pour la SSM, le potentiel est mesuré dans deux solutions différentes : une contenant l'ion primaire, d'activité a_i , et l'autre contenant l'ion interférent, d'activité $a_j = a_i$. Si les deux valeurs de potentiel sont notées E_i et E_j , alors la valeur du coefficient de sélectivité K_{ij} peut être calculée suivant :

$$\log K_{ij} = \frac{(E_j - E_i)z_i F}{2,303RT} + \left(1 - \frac{z_i}{z_j}\right) \log(a_i) \quad \text{Équation 58}$$

Dans cette méthode, il n'y a pas de concurrence entre espèces primaires et interférentes. Les valeurs obtenues sont généralement plus faibles que celle obtenues par le biais d'autres méthodes (FIM ou variantes). Une courbe de réponse réelle dévie de la réponse nernstienne théorique tel qu'illustré ci-dessous (Figure 30):

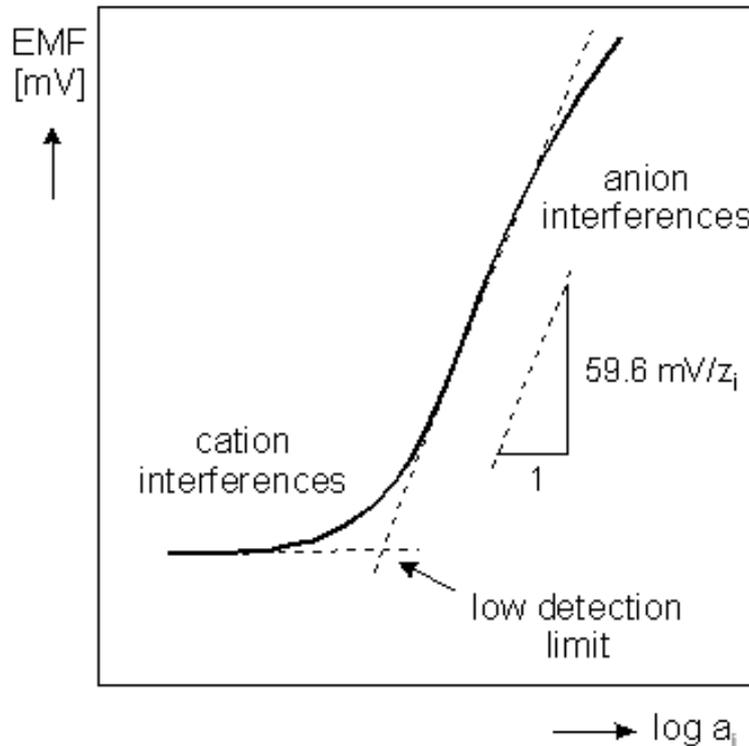


Figure 30: Courbe de calibration d'une ISE (<http://csrg.ch.pw.edu.pl/tutorials/ise/>)

Il est également important de noter qu'une telle courbe de calibration est utilisée pour déterminer l'activité d'un ion primaire dans une solution inconnue. De ce fait, une relation linéaire entre le potentiel mesuré et la concentration de cet ion n'est possible qu'en maintenant la force ionique de l'analyte constante. En effet, l'activité chimique d'une espèce est liée à concentration par le coefficient d'activité tel que [78] :

$$a_i = \gamma_i \frac{[I]}{c^0} \quad \text{Équation 59}$$

Où :

- a_i est l'activité de l'espèce i
- γ_i le coefficient d'activité de l'espèce i
- $[I]$ la molarité de l'espèce i
- C^0 la molarité standard, généralement égale à 1mol.L^{-1}

Et, si l'on considère la molarité de l'espèce i en mol.L^{-1} , alors :

$$a_i = \gamma_i [I] \quad \text{Équation 60}$$

Il y a bien une relation linéaire entre concentration et activité, mais, comme l'activité dépend de la force ionique suivant la loi de Debye-Hückel (attention, cette loi est utilisable pour des solutions diluées jusqu'à $10^{-3} \text{mol.L}^{-1}$, pour des solutions plus concentrées, il faut utiliser la relation de Debye-Hückel étendue) :

$$\log \gamma_i = -v_i^2 A_{DH} \sqrt{F_{ion}} \quad \text{Équation 61}$$

Avec :

- A_{DH} la constante de Debye-Hückel
- F_{ion} la force ionique, définie telle que : $F_{ion} = \frac{1}{2} \sum_i v_i^2 [I]$

Ainsi, cette relation linéaire (équation 55) est applicable seulement si la force ionique est constante et ce pour toutes les mesures impliquées dans la calibration.

VI. Membranes sensibles

VI.1. Rôle des membranes

Les membranes sensibles sont utilisées en tant qu'élément permettant la reconnaissance chimique spécifique à un ion ciblé. Elles sont basées sur une matrice en polymère, qui joue le rôle de support et, dans certains cas, d'un plastifiant, qui est un solvant organique servant à assurer une certaine mobilité aux espèces contenues dans celle-ci. Cette reconnaissance

chimique d'un ion présent dans l'analyte, noté I^z , repose sur un mécanisme de complexation entre un récepteur et un ion. Cette fonction est assurée par les ionophores qui ont la particularité d'être sélectifs vis-à-vis d'une espèce ionique précise. Ces ionophores [79, 80] sont mobiles, chargés ou neutres, lipophiles, organiques ou inorganiques. Ils interagissent avec l'ion ciblé, par des interactions électrostatiques, des forces de Van Der Waals, ou des liaisons hydrogènes. Ce phénomène de « complexation », permet de faciliter le transport de l'ion à travers la membrane hydrophobe. Ces membranes sont composées de substances organiques chargées électriquement, appelées additifs ioniques lipophiles [81, 82]. Ces composés chargés ont plusieurs rôles : diminuer la résistance électrique de la membrane, fournir des sites chargés et des contre-ions labiles, ce qui influence la sélectivité et permet de maintenir l'électro-neutralité à travers la membrane, nécessité en vue d'obtenir une réponse quasi-nernstienne.

VI.2. Composition des membranes

VI.2.A. Matrices polymères

A l'origine, les membranes sensibles étaient obtenues en trempant un matériau poreux dans une solution visqueuse organique, immiscible à l'eau et non volatile, contenant un ionophore dissout. De nos jours, les polymères ont remplacé cette façon de faire. Leur structure homogène fournit un support aux éléments actifs nécessaires à la reconnaissance ionique. Longtemps considérées comme inertes, ces matrices polymères procurent à la membrane des propriétés physiques adéquates: stabilité mécanique et élasticité [83].

Les premières membranes destinées aux ISE, constituées de polymère (PVC) comportant des transporteurs neutres (ionophores), étaient réalisées sans aucun additif et manifestaient des réponses nernstiennes. Il a par ailleurs été prouvé qu'une telle réponse n'est possible que par le biais d'additifs ioniques lipophiles [84]. Cette contradiction a été expliquée par la suite par la présence d'impuretés ioniques dans certains polymères (*e.g.* PVC) et certains plastifiants [85].

Il convient donc de ne pas considérer l'agent matriciel (polymère) comme un simple support physique, mais comme un paramètre influent sur les propriétés physico-chimiques de la membrane. L'aptitude d'un polymère à être employé en tant que matrice dans une membrane sensible est définie par sa température de transition vitreuse T_g . Cette température correspond à un changement de sa structure moléculaire. En deçà de cette température, le polymère a un aspect rigide et cassant, alors qu'au-delà, il apparaît comme souple et élastique. Une membrane conçue avec un polymère dont la température T_g est plus basse que la température ambiante permettra une diffusion correcte des éléments dans la matrice, et présentera une conductivité ionique raisonnable tout en possédant de bonnes propriétés mécaniques [86].

L'emploi de polymères à haute température de transition vitreuse, comme par exemple le PVC ($T_g \approx 80 \text{ °C}$), nécessite l'usage de plastifiants afin de conférer aux éléments électroactifs constituant la membrane une plus grande mobilité. Les polymères à faible T_g , plus couramment appelés élastomères (*e.g.* polyuréthane, poly(fluorophosphazène), poly(vinylidène chlorure), polysiloxane (PSX)) possèdent des chaînes polymériques très flexibles. Ils assurent une bonne mobilité aux constituants, prérequis impératif en vue de l'obtention d'un processus électrochimique stable et réversible. Leur avantage réside dans leur capacité à être utilisés sans plastifiant, évitant ainsi les problèmes liés au lessivage de ce dernier à l'extérieur de la membrane, ce qui conduit inévitablement à une dégradation des performances au cours du temps. En contrepartie, il n'est pas possible de modifier la sélectivité ionique en variant sa concentration. Toutefois, il est possible d'incorporer un plastifiant à un polymère à faible T_g . En effet, ces membranes possèdent une plus grande résistance et un temps de réponse plus lent que les membranes PVC. L'ajout de plastifiant dans ce cas-là permet de réduire cette résistance en augmentant la solubilité de ses composants. Cependant, l'avantage du polysiloxane (PSX) à être utilisé sans plastifiant est éliminé (son utilisation engendre des dérives liées à sa diffusion hors de la matrice). Pour palier à ce problème, il a été proposé l'utilisation de fluoropolysiloxane, un polysiloxane faiblement résistif [87].

Malgré son apparent caractère hydrophobe, un polymère tel que le PVC n'est pas complètement étanche à l'eau. Il a été observé une diffusion de molécules d'eau au travers de ce type de polymères [88]. Des membranes de PVC originellement transparentes

deviennent opaques lorsqu'elles sont en contact avec l'eau ou avec une atmosphère humide. Ce phénomène est réversible lorsque les membranes sont séchées. Cette opacité est attribuée à la formation de gouttes d'eau au sein de la matrice. La durée de vie d'une membrane polymérique dépend d'une part, de l'élution progressive de ses composés actifs, induisant une diminution de ses performances de détection (sensibilité, sélectivité), et d'autre part, de son adhésion. Pour éviter que les composés chimiques ne « s'échappent » du polymère, une modification chimique de ce dernier permet la création de liaisons covalentes [89] entre la matrice et les composants actifs (ionophores, additifs ioniques). L'adhésion du polymère sur le substrat (Si_3N_4 pour les ChemFET) dépend fortement de sa nature. Par exemple, le polysiloxane possède une plus forte adhésion que le PVC sur le nitrure de silicium [90]. De plus, le traitement de surface du nitrure (silanisation) est une possibilité permettant de favoriser l'accroche du polymère hydrophobe.

VI.2.B. Ionophores

Les ionophores sont des récepteurs moléculaires qui forment des complexes réversibles avec une espèce ionique spécifique. Ils sont grandement responsables des performances des membranes, notamment en termes de sélectivité et de sensibilité.

Ces molécules ont été découvertes grâce à l'étude de processus biologiques. Il existe des antibiotiques naturels (valinomycine, monensine) qui, grâce à des fonctions oxygénées, sont capables de former des complexes avec des cations alcalins (Na^+ , K^+). Leur structure interne est hydrophile, alors que la structure externe est hydrophobe, ce qui leur donne la propriété de transporter ces ions au travers de membranes biologiques hydrophobes, comme les membranes cellulaires [91].

A la suite de ces observations, les premiers ionophores de synthèse ont été mis au point, tels que les éther-couronnes (ou coronands), qui possèdent une cavité centrale hydrophile. Les cryptands, capables d'envelopper complètement le cation complexé grâce à leur cavité sphérique tridimensionnelle, ont amélioré significativement la sélectivité. Ces différents ionophores diffèrent par leur degré de pré-organisation, influençant la stabilité thermodynamique et cinétique du complexe créé. En d'autres termes, les sites de liaisons de

ces récepteurs ne sont pas géométriquement ordonnés pour la complexation, ainsi, elle est accompagnée d'une consommation d'énergie nécessaire à une réorganisation du récepteur. C'est pourquoi, d'après *le principe de pré-organisation*, plus les récepteurs sont organisés pour créer des liaisons avec la cible, et plus l'interaction (complexation) est forte [92].

La considération de ce principe a donné naissance, dans les années 70, à la synthèse des sphérands. Ces macrocycles sont les récepteurs qui, à ce jour, forment les complexes les plus forts envers les cations alcalins. En effet, grâce à la structure convergente de leurs groupes réactifs, aucune réorganisation ne leur est nécessaire pour former un complexe. La force de complexation des différentes familles de récepteurs synthétiques envers les cations alcalins est la suivante [93]:

Sphérands > cryptasphérands > cryptands > hemisphérands > coronands > éther couronnes > podand

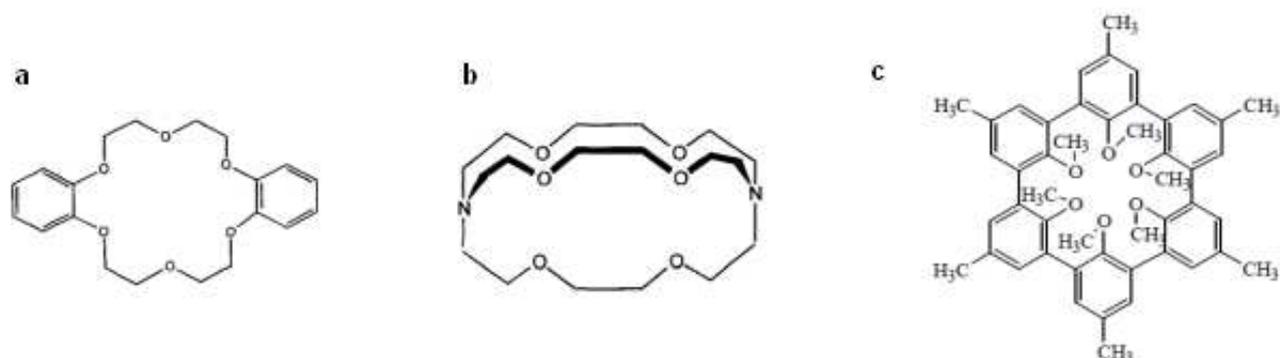


Figure 31: Coronand (a), Cryptan (b), Sphérand (c) [91]

En 1978, Gutsche et *al.* ont synthétisé des récepteurs structurellement proches des sphérands, les « calixarenes » [94]. Ils sont constitués d'une cavité hydrophobe, composée de n unités phénoliques (généralement $n = 4$ à 8) et d'une partie hydrophile, formée par des groupes OH. La structure de base est montrée dans la figure ci-après [95] (Figure 32):

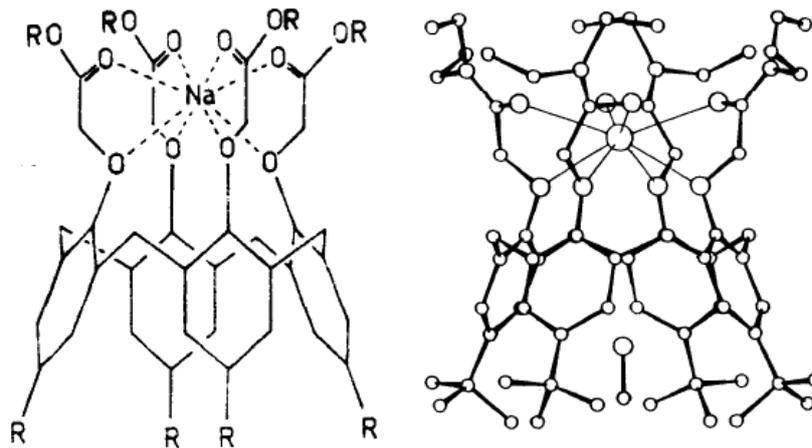


Figure 32: Structure basique d'un calixarene: partie haute hydrophobe, partie basse hydrophile [95]

Les calixarènes, hormis leur aptitude à créer de forts complexes avec les cations alcalins, possèdent la propriété de pouvoir être aisément fonctionnalisés. Ils offrent ainsi la possibilité de jouer sur plusieurs paramètres, comme la taille de la cavité, le greffage de fonctions particulières et la solubilité. Pour la détection du sodium par potentiométrie, les calixarènes les plus utilisés et les plus performants sont les dérivés de la structure p-tert-butylcalix[4]arène, représentée ci-dessous (Figure 33):

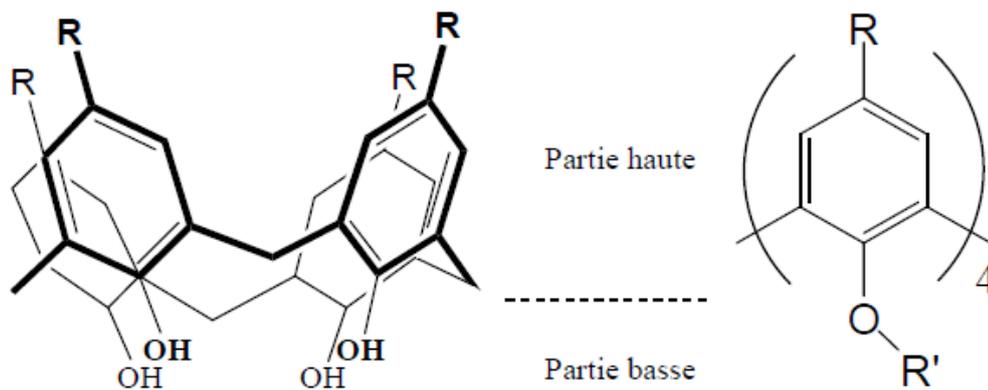


Figure 33: Structure d'un dérivé de p-tert-butylcalix[4]arène [95]

VI.2.C. Plastifiants

Les membranes composées d'une matrice basée sur un polymère à forte température de transition vitreuse (*e.g.* PVC) nécessitent l'ajout de plastifiant (*cf.* § VI.2.A). Ce solvant abaisse la température de transition vitreuse en remplaçant certaines liaisons polymère-polymère par des liaisons polymère-solvant, et rend la membrane plus souple et plus visqueuse.

Les membranes PVC sont habituellement composées de 66% de plastifiant. C'est la quantité optimale nécessaire pour obtenir des membranes aux propriétés physiques et mécaniques satisfaisantes et assurer la mobilité de ses constituants. Réduire ce rapport revient à concevoir des membranes possédant une meilleure adhérence, mais dont la résistivité est plus élevée [96].

La résistivité d'une membrane est également fortement dépendante de la polarité du solvant, et impacte la mobilité des espèces qui la constituent. Il existe de nombreux solvants, cependant, afin d'obtenir une phase organique homogène, ils se doivent d'être compatibles avec le polymère utilisé. Ainsi, les solvants les plus utilisés peuvent être de nature polaire, comme le 2-nitrophenyl octyl ether (n-POE), ou de nature apolaire, comme le bis(2-ethylhexyl)sebacate (DOS). Sont utilisés couramment : benzyl acetate (BA), bis-(1-butylpentyl)adipate (BBPA), bis(2-ethylhexyl) adipate (DOA), bis(2-ethylhexyl) phthalate(dioctyl phthalate) (DOP), bis(2-ethylhexyl) sebacate (BEHS), bibenzyl ether (DBE), dibutyl phthalate (DBP), dibutyl sebacate (DBS), didecyl phthalate (DDP), 2-nitrophenyl octyl ether (*o*-NPOE), tri-*n*-butyl phosphate (TBP) [97, 98].

Pour une membrane dénuée d'échangeurs spécifiques (*e.g.* ionophores), la sélectivité est déterminée par la différence entre l'énergie nécessaire à la solvation relative aux deux phases (liquide et organique). Ainsi, la constante diélectrique du plastifiant joue un rôle important [99] sur la sélectivité ($\epsilon_{DOS} = 3,9$ et $\epsilon_{o-NPOE} = 23,9$).

Lors de mesures dans les fluides corporels, des espèces chargées peuvent se déposer sur la membrane (principalement des protéines), et engendrer des dérives. Ce phénomène est plus important si la membrane est constituée d'un solvant polaire. De plus, il est possible que des molécules de solvant éluent à l'extérieur de la membrane, induisant d'une part, un

vieillissement de la membrane, mais également une réaction inflammatoire envers les organismes vivants. Ces remarques soulèvent donc des problèmes au niveau de la biocompatibilité attendue. Cependant, l'exsudation du plastifiant peut être en partie évitée par une photo-polymérisation de celui-ci [100].

Alors qu'il est le polymère précurseur, le PVC est très répandu dans le monde des capteurs potentiométriques. Bien que "populaire", ce polymère nécessite l'utilisation d'un plastifiant, qui peut potentiellement diffuser à l'extérieur de la membrane [101]. Comme il l'est expliqué plus haut, cela diminue la durée de vie du capteur, engendre une pollution de l'analyte, et dégrade les performances relatives à la sélectivité et à la sensibilité (diminution de la solubilité du ionophore). Un autre inconvénient majeur de ces membranes PVC réside dans sa faible adhésion au niveau des isolants de grille utilisés dans les ChemFET, permettant ainsi à l'eau de s'infiltrer facilement jusqu'à la surface de l'isolant, jusqu'à court-circuiter la membrane, et ainsi diminuer sa durée de vie [102].

C'est pourquoi l'utilisation de polymères à faible température de transition vitreuse (*e.g.* polysiloxanes) est avantageuse pour des applications liées aux ChemFET. Leur principal avantage réside dans leur bonne adhésion à la surface de l'isolant de grille (Si_3N_4) (*cf.* § VI.2.A).

Néanmoins, ces membranes à base de polysiloxane présentent d'autres inconvénients par rapport aux membranes PVC. D'une part, elles possèdent une résistivité plus élevée générant un rapport signal sur bruit plus élevé, mais également, l'absence de plastifiant induit une faible dispersibilité des transporteurs neutres (*e.g.* calixarènes) dans la matrice polymère. Leur structure symétrique leur confère une forte cohésion moléculaire, se traduisant par une mauvaise dilution dans la matrice polymère, ce qui peut entraîner une cristallisation. Des calixarènes modifiés, avec une structure asymétrique, et donc, une meilleure solubilité, ont été synthétisés pour une application à la mesure du sodium [103].

VI.2.D. Additifs ioniques

La permselectivité d'une membrane, pour ainsi dire l'aptitude à être perméable à certains ions et imperméable à d'autres, est un facteur primordial en vue d'obtenir des réponses en

accord avec la théorie. La permselectivité garantie alors une insensibilité envers les contre-ions. Pour empêcher leur migration dans la phase organique (membrane), et ainsi accomplir ce qui est plus couramment appelé « l'exclusion de Donnan », des sites ioniques négatifs sont incorporés au sein de la membrane, réduisant ainsi cette sensibilité anionique (dans le cas de membranes pour la détection de cations). Bien que de telles membranes fonctionnent grâce à la présence d'impuretés présentes dans les polymères (*cf.* § VI.2.A), l'utilisation d'additifs ioniques lipophiles présente bien des avantages.

En plus de diminuer l'interférence anionique, ils diminuent la résistance électrique de la membrane, engendrant des temps de réponse plus rapides. Ces groupes abaissent également « la barrière d'activation » relative à l'échange cationique, ce qui mène à une augmentation de la sensibilité. La sensibilité est également influencée par la concentration de ces sites dans la membrane, d'une part parce qu'elle détermine la concentration des cations (de charge opposée) échangeables dans la membrane, et d'autre part parce qu'elle influence la concentration des transporteurs libres (ionophores) disponibles pour la complexation des cations ciblés [104].

Le rapport molaire entre ces sites anioniques et les ionophores a un impact sur la sélectivité. En ajustant ce ratio de telle sorte que les ionophores soient en excès par rapport à l'ion primaire libre (complexation quasi-totale) et en déficit par rapport aux ions interférents, la sélectivité est optimale. La quantité de ces sels doit donc être précisément ajustée par rapport à la quantité de ionophores afin d'aboutir à des performances acceptables. Pour la détection de cations monovalents, le ratio molaire des sites anioniques/ionophores est de un pour deux. Ces sites lipophiles anioniques sont introduits par l'ajout de sels tétraphényl borate. Les plus utilisés sont : potassium tetrakis(*p*-chlorophenyl) borate (KTPCIPB), sodium tetrakis-[3,5 bis(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-methoxy-2-propyl)phenyl] borate (NaHFPB), sodium tetraphenyl borate (NaTPB), tetrakis(4-fluorophenyl)borate (cesibor), tetrakis[3,5 bis(trifluoromethyl)phenyl]borate (TFPB). Leur charge négative étant entourée d'une enveloppe, ils ne peuvent pas former de paires d'ions spécifiques, et c'est une des raisons pour laquelle ce sont des additifs de choix (Figure 34).

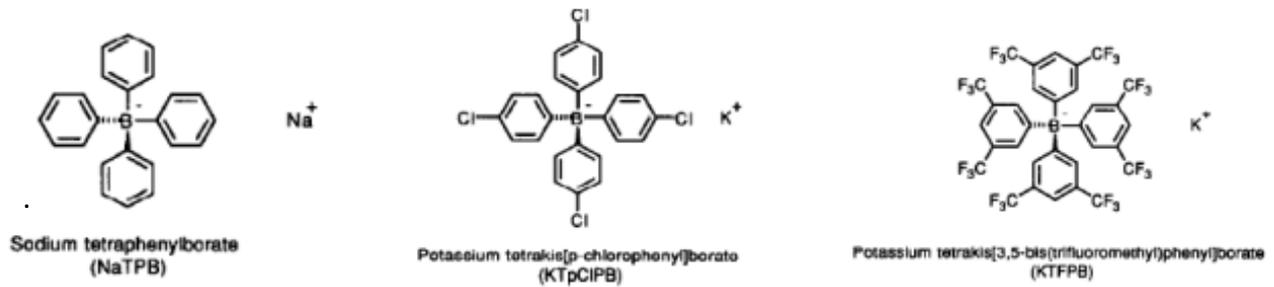


Figure 34: Différents types de sels tétraphénylborate [105]

En effet, comme une réponse nernstienne implique une concentration constante en ions primaires libres dans la membrane et comme ces sels participent à cet équilibre, il est évident que leur présence soit nécessaire. Tout comme les ionophores, et les autres composants de la membrane, ils influencent la lipophilicité qui est directement liée à la durée de vie du capteur. Ainsi, la lipophilicité est définie comme le taux d'éluion d'un composé C (C peut être un ionophore, additif anionique ou plastifiant) de sa phase organique vers la phase aqueuse en fonction du temps [105] :

$$\ln \frac{C_{tot(org,0)}}{C_{tot(org,t)}} = \frac{D_{aq}}{p_C d \delta} t \quad \text{Équation 62}$$

Avec :

- $C_{tot(org,0)}$ et $C_{tot(org,t)}$ la concentration du composé C dans la phase organique au temps $t=0$ et $t>0$, respectivement.
- D_{aq} le coefficient de diffusion de C dans la phase aqueuse
- d l'épaisseur de la couche sensible
- δ l'épaisseur de l'interface nernstienne
- $p_C = \frac{C_{tot(org)}}{C_{tot(aq)}}$ est la lipophilicité

Malheureusement leur stabilité chimique est limitée en présence d'acides, d'oxydants et de lumière. Leur décomposition est due à une attaque d'un ion hydronium H_3O^+ sur les groupes phényles. Grâce à leur lipophilicité et stabilité chimique, le KTPCIPB et NaHFPB sont les meilleurs additifs anioniques disponibles [106].

Lorsque les membranes sont conditionnées dans des solutions adéquates, les cations hydrophiles de ces sels sont échangés avec l'ion primaire de la solution de conditionnement. C'est pourquoi, si l'on prend l'exemple de la détection du sodium, il est préférable d'utiliser des sels lipophiles tels que le NaHFPB, afin que l'ion sodium de ce sel s'équilibre avec les ions sodium de la solution [107].

Il a été mis en évidence que pour des membranes en polysiloxane, l'ajout de dérivés de FPB [(fluoro)phenyl]-borate) permet une baisse de la résistivité électrique de la membrane. Cette réduction de résistance est due à la forte polarité des groupes fluorométhyl, qui augmentent leur solubilité dans le milieu également polaire de la matrice polysiloxane, délocalisant la charge anionique de ce composé, facilitant la dissociation de son contre-ion (K^+ ou Na^+ , suivant le dérivé employé), et réduisant ainsi la résistance de la membrane [108].

VI.3. Technologies d'intégration

L'intégration des couches sensibles est un point crucial dans un processus de fabrication industrielle de masse, dont le but est bien sûr commercial. Bien qu'il existe des couches sensibles inorganiques (nitrure de silicium, aluminosilicate), elles ne présentent pas des performances optimales [109], ou bien, leur procédé de dépôt ne sont pas compatibles envers les exigences des centrales technologiques (implantations ioniques à basse énergie) [110, 111]. Au contraire, l'utilisation de films polymères offre de grandes performances, plus de flexibilité, et des moyens multiples d'intégration par rapport aux membranes inorganiques. Le polychlorure de vinyle (PVC) est le polymère le plus utilisé comme matrice pour la fonctionnalisation de microélectrodes [112] et peut être adapté aux ChemFET [113].

VI.3.A. Dépôt de microgouttes

L'une des méthodes de dépôt les plus simples consiste à un dépôt de goutte au moyen d'une micro-seringue (drop-coating) [114]. Cette technique manuelle est très utilisée en laboratoire car elle permet rapidement d'évaluer les performances des couches obtenues.

Cependant, si ce procédé n'est pas automatisé, il se traduit par une faible reproductibilité qui ne permet pas une industrialisation des dispositifs fonctionnalisés de cette manière.

VI.3.B. Dépôt par centrifugation

L'intégration au niveau d'un substrat peut être obtenue en couplant des méthodes de photolithographie et des techniques de dépôt par centrifugation (spin coating), ceci en utilisant des polymères photosensibles comme le polyuréthane ou le polysiloxane (PSX) [115, 116]. C'est une méthode qui présente une bonne reproductibilité et permet d'obtenir des films d'épaisseur contrôlée, variable selon les paramètres de rotation. Néanmoins, un tel processus implique de gaspiller la majeure partie du polymère et des ionophores, qui sont des composés onéreux. En conséquence, un tel processus d'intégration ne correspond pas à une stratégie de fabrication à faible coût. En outre, cette méthode d'intégration empêche la réalisation de multicouches et la conception de dispositifs d'analyse multi-ions.

VI.3.C. Sérigraphie

La sérigraphie (screen-printing) permet de réaliser des dépôts de films épais, et, dans le cadre de la réalisation de dispositifs électrochimiques à base de microélectrodes, de supplanter la technologie silicium. Le dépôt d'encre à faible température autorise l'impression de membranes sensibles solides sur des substrats plastiques faible coût [117]. Cela présente également des solutions d'intégration innovante, comme par exemple, le développement de vêtements intelligents [118]. Sa simplicité, son faible coût, sa haute reproductibilité font de cette méthode une parfaite candidate pour la production à large échelle.

VI.3.D. Jet d'encre

La technologie jet d'encre et plus particulièrement le DOD (Drop-On-Demand) est une alternative comportant bien des avantages. Elle consiste à déposer des gouttes contrôlées directement sur le substrat, ce qui a pour bénéfice une grande flexibilité du processus de

fabrication [119]. Cette technique ne nécessite pas l'usage de masque, inhérent aux techniques de photolithographie. De plus, de nombreux types de polymères peuvent être déposés par ce biais (photosensibles, RTV, etc...). Le développement "personnalisé" de dispositifs de dispense par jet d'encre permet un contrôle total des paramètres opérationnels, et représente un coût relativement bas par rapport à des dispositifs disponibles sur le marché [120].

VII. Positionnement propre

Dans le cadre de la réalisation d'un dispositif de détection de l'ion sodium Na^+ en phase liquide, nos choix de développement se sont principalement portés sur des solutions électrochimiques. Cette voie offre d'une part des performances satisfaisantes, et d'autre part, des perspectives d'intégration élevées, liées aux avancées des méthodes de micro-fabrication. L'ion sodium n'étant pas électroactif, il n'est pas possible de le détecter par voie ampérométrique. La conductimétrie ne présente pas la sélectivité suffisante. L'impédimétrie et la potentiométrie se présentent alors comme choix éventuels. La société HEMODIA, acteur principal du projet SWEAT, possède et maîtrise une filière technologique de capteurs potentiométriques ISFET, qui seront la base des futurs dispositifs voués à la mesure du sodium. Ces ISFET, originellement sensibles au pH [94] (grâce à la nature de leur isolant de grille: le nitrure de silicium Si_3N_4) seront fonctionnalisés par des membranes polymériques conférant au dispositif une sélectivité envers un ion voulu, à savoir l'ion sodium Na^+ . Au vu des inconvénients des procédés d'intégration de ces couches sensibles tels que le dépôt par microgoutte (faible reproductibilité) ou le dépôt par centrifugation (perte de matière onéreuse), nous avons choisi de développer un prototype de dispense par jet d'encre. Cette technique, présentée dans le prochain chapitre, permettra d'obtenir des gouttes uniques et reproductibles en vue de la réalisation industrielle de capteurs sensibles au sodium, tout en conservant la possibilité de fonctionnalisation spécifique puce par puce. Cet avantage confère au capteur ISFET un caractère générique adaptable à une détection ionique spécifique.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] D.J. Buggy and A. W. A. Crossley: "Thermoregulation, mild perioperative hypothermia and post-anaesthetic shivering", *British Journal of Anaesthesia*, 84 (2000) 615-628
- [2] K. Wilke, A. Martin, L. Terstegen and S. S. Biel: "A short history of sweat gland biology", *International Journal of Cosmetic Science*, 29 (2007) 169-179
- [3] Pr. A. Denjean: Cours de Physiologie, 2007
- [4] Marsh, A. Susan, Jenkins and G. Davis: "Physiological response to the menstrual cycle: implications for the development of heat illness for female athletes", *Sports Medicine*, 32 (2002) 601-614
- [5] K. Kräuchi: "How is the circadian rhythm of core body temperature regulated?", *Clin. Auton. Res.*, 12 (2002) 147-149
- [6] P. Connes: Thermorégulation
- [7] A. D. Venereol: "Thermorégulation", *Comprendre la peau*, 132 (2005) 8549-8568
- [8] «Rapport bibliographique concernant la sudation », Pierre Fabre dermo-cosmétique.
- [9] D. H. Ellison: "Disorders of sodium balance, Disorders of Water, Electrolytes, and Acid-Base"
- [10] Z. Fumeaux: "Hyponatrémie : approche diagnostique et thérapeutique en ambulatoire", revue médicale suisse.
- [11] M. J. Buono, R. Claros, T. DeBoer and J. Wong: "Na⁺ secretion rate increases proportionally more than the Na⁺ reabsorption rate with increases in sweat rate", *J. Appl. Physiol.*, 105 (2008) 1044-1048
- [12] <http://www.howstuffworks.com>
- [13] M.J. Buono, K.D. Ball and F.W. Kolkhorst: "Sodium ion concentration vs. sweat rate relationship in humans", *J. Appl. Physiol.*, 103 (2007) 990-994,

- [14] D. Wendt D, L.J.C. Loon and W.D. Marken Lichtenbelt: "Thermoregulation during exercise in the heat", *Sports Med.*, 37 (8) (2007) 669-682
- [15] A. Takamata, T. Yoshida, N. Nishida and T. Morimoto: "Relationship of osmotic inhibition in thermoregulatory responses and sweat sodium concentration in humans", *American Journal of Physiology*, 280-3 (2001) R623-R629
- [16] T. Kiss and A. Odani: "Demonstration of the importance of metal ion speciation in bioactive systems", *Bull. Chem. Soc. Jpn*, 80-9 (2007) 1691-1702
- [17] I. Ali and H. Y. Aboul-Enein: "Instrumental methods in metal ion speciation", CRC press, 2006
- [18] J-P. Cristol, B. Balint, B. Canaud and M.-F. Daurés: "Méthodes de dosage du sodium dans les liquides biologiques", *Néphrologie & Thérapeutique*, 3 (2007) S104-S111
- [19] M.S. Subramanian: "Analysis of common ions at low concentrations in water", Indian Institute of Technology Madras
- [20] J.-F. Mollard: "40 ans de gazométrie sanguine et autres analytes de l'urgence", *Annales de Biologie Clinique*, 58 (2000) 131-140
- [21] N. W. Alcock: "Flame, flameless, and plasma spectroscopy", *Analytical Chemistry*, 65 (1993) 463R-469R
- [22] B. V. L'vov: "Fifty years of atomic absorption spectrometry", *Journal of Analytical Chemistry*, 60 (2005) 382-392
- [23] M. A. White: "A comparison of Inductively Coupled Plasma Mass Spectrometry with Electrothermal Atomic Absorption Spectrophotometry for the determination of trace elements in blood and urine from non occupationally exposed populations", *J. Trace Elements Med. Biol.*, 13 (1999) 93-101
- [24] C. B. Boss and K. J. Fredeen: "Concepts, instrumentation, and techniques in Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectroscopy", Editions Perkin Elmer (1997)
- [25] T. J. Manning and W. R. Grow: "Inductively Coupled Plasma - Atomic Emission Spectrometry", *The chemical educator*, 1 (1997)

- [26] A. A. Ammann: "Inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS): a versatile tool", *J. Mass Spectrom.*, 42 (2007) 419-427
- [27] A. K. Das, R. Chakraborty, M. L. Cervera and M. de la Guardia: "Metal speciation in biological fluids - a review", *Mikrochim. Acta*, 122 (1996) 209-246
- [28] J. Weiss: "Handbook of Ion Chromatography, third, completely revised and enlarged edition", Editions WILEY-VCH (2004)
- [29] V. R. Meyer: "Practical High-Performance Liquid Chromatography, fourth edition", Editions John Wiley and Sons (2004)
- [30] R. P. Buck and E. Lindner: "Tracing the history of selective ion sensors", *Analytical Chemistry*, February 1 (2001) 88-99
- [31] J.H. Ladenson: "Evaluation of an instrument (Nova-i) for direct potentiometric analysis of sodium and potassium in blood and their indirect potentiometric determination in urine", *Clin. Chem*, 25/5 (1979) 757-763
- [32] Agence Française de Sécurité Sanitaires des Produits de Santé: "Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale", (2009)
- [33] L. S. Kuhn: "Biosensors: Blockbuster or Bomb?", *The Electrochemical Society Interface*, 1998
- [34] P. Valdiguié: "Biochimie clinique"
- [35] <http://www.afssaps.fr/>
- [36] D.G. Pijanowska and W. Torbicz: "Biosensors for bioanalytical applications", *Bulletin of the polish academy of sciences*, 53 (2005) 3
- [37] C. M. A. Nrett and A. M. Oliveira-Brett: "Electrochemical sensing in solution-origins, applications and future perspectives", *J. Solid State Electrochem.*, 15 (2011) 1487-1494
- [38] P. Whitehead: "Determination of ions in water-Techniques used and the role of purified water", *LabPlus International* (2001)

- [39] J. Wang: "Real-time electrochemical monitoring: toward green analytical chemistry", *Acc. Chem. Res.*, 35 (2002) 811-816
- [40] B. F. Myasoedov: "Chemical sensors", *Plenum Publishing Corporation*, (1992) 383-387
- [41] S. Laschi and M. Mascini: "Planar electrochemical sensors for biomedical applications", *Medical Engineering & Physics*, 28 (2006) 934–943
- [42] M. Engin, A. Demirel, E. Z. Engin and M. Fedakar: "Recent developments and trends in biomedical sensors", *Measurement*, 37 (2005) 173-188
- [43] C. Christophe: "Intégration de microcapteurs électrochimiques en technologies "silicium et polymères" pour l'étude du stress oxydant. Application à la biochimie cutanée", *Thèse de l'université Paul Sabatier, Toulouse*, 2010
- [44] <http://www.bio-logic.info>
- [45] C. D. Nugent, P. J. McCullagh, E. T. McAdams and A. Lymberis: "Personalised Health Management System", *Technology and informatics*, 117 (2005)
- [46] Y. Wang, H. Xu, J. Zhang and G. Li: "Electrochemical Sensors for Clinic Analysis", *Sensors*, 8 (2008) 2043-2081
- [47] S. Borgmann, A. Schulte, S. Neugebauer and W. Schuhmann: "Advances in Electrochemical Science and Engineering", Edition. WILEY-VCH Verlag GmbH, 2011
- [48] W. Vastarella: "Enzyme modified electrodes in amperometric biosensors", *phD thesis*, 2001
- [49] R. S. Freire, C. A. Pessoa, L. D. Mello and L. T. Kubota: "Direct Electron Transfer: An Approach for Electrochemical Biosensors with Higher Selectivity and Sensitivity", *J. Braz. Chem. Soc.*, 14-2 (2003) 230-243
- [50] E. Wilkins and P. Atanasov: "Glucose monitoring: State of the art and future possibilities", *Med. Eng. Phy.*, 18 (1996) 273-288
- [51] J. Wang: "Electrochemical Glucose Biosensors", *Chem. Rev.*, 108 (2008) 814-825

- [52] T. Chen, G. Binyamin, D. Schmidtke, K. Friedman and Adam Heller: "In vivo Glucose Monitoring with Miniature "Wired" Glucose Oxidase Electrodes", *Analytical Sciences*, 17 (2001) 297-300
- [53] D. Pradhan, F. Niroui and K. T. Leung: "High-Performance, Flexible Enzymatic Glucose Biosensor Based on ZnO Nanowires Supported on a Gold-Coated Polyester Substrate", *Applied materials and interfaces*, 2-8 (2010) 2409-2412
- [54] C. X. Guo and C. M. Li: "Direct electron transfer of glucose oxidase and biosensing of glucose on hollow sphere-nanostructured conducting polymer/metal oxide composite", *Phys. Chem. Chem. Phys.*, 12 (2010) 12153–12159
- [55] B-Y. Chang and S-M. Park: "Electrochemical impedance spectroscopy, *Annu. Rev. Anal. Chem.*, 3 (2010) 207-229
- [56] F. Lisdat: "The use of electrochemical impedance spectroscopy for biosensing", *Anal Bioanal Chem*, 391 (2008) 1555-1567
- [57] N. R. Stradiotto: "Electrochemical Sensors: A Powerful Tool in Analytical Chemistry", *J. Braz. Chem. Soc.*, 14-2 (2003) 159-173]
- [58] M. Pohanka: "Electrochemical biosensors – principles and applications", *J. Appl. Biomed.*, 6 (2008) 57–64
- [59] A. C. Barton, S. D. Collyer, F. Davis, G.-Z. Garifallou, G. Tsekenis, E. Tully, R. O’Kennedy, T. Gibson, P. A. Millner and S. P.J. Higson: " Labelless AC impedimetric antibody-based sensors with pg ml⁻¹ sensitivities for point-of-care biomedical applications", *Biosensors and Bioelectronics*, 24 (2009) 1090-1095
- [60] Q. Gao, W. Zhang, Y. Guo, H. Qi and C. Zhang: "Highly sensitive impedimetric sensing of DNA hybridization based on the target DNA-induced displacement of gold nanoparticles attached to ssDNA probe", *Electrochemistry communications*, 13 (2011) 335-337
- [61] R. K. Shervedani and S. A. Mozaffari: Impedimetric sensing of uranyl ion based on phosphate functionalized cysteamine self-assembled monolayers ", *Analytica Chimica Acta*, 562 (2006) 223-228

- [62] L. M. Olivier, P. S. M. Dunlop, J.A. Byrne, I.S. Blair, M. Boyle and K. G. McGuigan: "An impedimetric sensor for monitoring the growth of *Staphylococcus epidermidis*", *Proceedings of the 28th IEEE*, 2006
- [63] M. I. Prodromidis: "Impedimetric Biosensors and Immunosensors", *Pak. J. Anal. Environ. Chem.*, 8 (2007) 69-71
- [64] A. Ceresa: "Ion-Selective Polymeric Membrane Electrodes for Potentiometric Trace Level Measurements" Swiss federal Institute of Technology, 2001
- [65] A. Dybko: "Analyte Recognition and Signal Conversion in Potentiometric and Optical Chemical Sensors", *Journal of Environmental Studies*, 11 (2002) 5-10
- [66] J. Janata: "Potentiometric microsensors", *Chem. Rev*, 90 (1990) 691-703.
- [67] D. Liu: "Enhancing EMF stability of solid-state ion-selective sensors by incorporating lipophilic silver-ligand complexes within polymeric films", *Analytica Chimica Acta*, 321 (1996) 173-18
- [68] C. Masalles: "Simple PVC–PPy electrode for pH measurement and titrations", *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 372 (2002) 513-518
- [69] I.A. Marques de Oliveira: "Sodium ion sensitive microelectrode based on a p-tert-butylcalix[4]arene ethyl ester", *Sensors and Actuators B*, 130 (2008) 295-299
- [70] H. Van Den Vlekkert: "Solvent Polymeric Membranes Combined with Chemical Solid-state Sensors", *The Analyst*, 113 (1988) 1029-1033
- [71] X. Li: "Elimination of Neutral Species Interference at the Ion-Sensitive Membrane/Semiconductor Device Interface", *Anal. Chem*, 60 (1988) 493-498
- [72] F. Faridbod: "H₃O⁺ Ion Selective Microelectrode: An Asymmetric PVC Membrane Sensor", *Int. J. Electrochem. Sci*, 4 (2009) 1679-1690
- [73] N. Jaffrezic-Renault: "capteurs chimiques et biochimiques", *techniques de l'ingénieur*
- [74] J. Janata: "Twenty Years of Ion-selective Field-effect Transistors", *Analyst*, 119 (1994) 2275-2278

- [75] A. D. C. Chan: "Evidence for a Water-Rich Surface Region in Poly(vinyl chloride)-Based Ion-Selective Electrode Membranes", *Anal. Chem.*, 64 (1992) 2512-2517
- [76] E. Bakker: "Selectivity of carrier-based ion-selective electrodes: is the problem solved?", *trends in analytical chemistry*, 16 (1997) 252-260
- [77] E. Bakker: "Selectivity of Potentiometric Ion Sensors", *Anal. Chem.*, 72 (2000) 1127-1133
- [78] P. Fabry, C. Gondran: "Capteurs électrochimiques, fonctionnement, utilisation, conception, cours et exercices corrigés", éditions Elipses.
- [79] P. Buhlmann: "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 2. Ionophores for Potentiometric and Optical Sensors", *Chemical Reviews*, 98 (1998) 1593-1687
- [80] E. Bakker: "Hydrophobic Membranes as Liquid Junction-Free Reference Electrodes", *Electroanalysis*, 11 (1999) 788-791
- [81] Y. Mi: "Polymeric Membrane pH Electrodes Based on Electrically Charged Ionophores", *Analytical Chemistry*, 70 (1998) 5252-5258
- [82] K. N. Mikhelson: "Improvement of potentiometric selectivity of ion-exchanger based membranes doped with co-exchanger: Origin of the effect", *Sensors and Actuators B*, 48 (1998) 344-350
- [83] E. Bakker: "Carrier-Based Ion-Selective Electrodes and Bulk Optodes. 1. General Characteristics", *Chemical Reviews*, 97 (1997) 3083-3132
- [84] P. Buhlmann: "EMF response of neutral-carrier based ion-sensitive field effect transistor with membranes free of ionic sites", *Electrochimica acta*, 40 (1995) 3021-3027
- [85] E. Linder: "Responses of Site-Controlled, Plasticized Membrane Electrodes", *Analytical Chemistry*, 60 (1988) 295-301
- [86] F. Faridbod: "Developments in the Field of Conducting and Non-conducting Polymer Based Potentiometric Membrane Sensors for Ions Over the Past Decade", *Sensors*, 8 (2008) 2331-2412
- [87] D. N. Reinhoudt: "Supramolecular materials and technologies", John Wiley & Sons, 2008

- [88] Z. Li, X. Li, M. Rothmaier and D. J. Harrison: "Comparison of Numerical Modeling of Water Uptake in Poly(vinyl chloride)-Based Ion-Selective Membranes with Experiment", *Anal. Chem*, 68 (1996) 1726-1734
- [89] Y. Tsujimura: "Sodium Ion-selective Electrodes Based on Silicone-rubber Membranes Covalently Incorporating Neutral Carriers", *The Analyst*, 121 (1996) 1705-1709
- [90] Y. Tsujimura: "Comparison between silicone-rubber membranes and plasticized poly(vinyl chloride) membranes containing calix[4]arene ionophores for sodium ion-sensitive field-effect transistors in applicability to sodium assay in human body fluids", *Sensors and Actuators B*, 22 (1994) 195-199
- [91] A. Haddaoui: "Propriétés complexantes, extractantes et de transport des calix[4]arènes couronnes diamides en conformation cône vis-à-vis des cations alcalins", 2004
- [92] C. Dinse: "Extraction sélective des actinides : application a l'analyse radiotoxicologique", *Radioprotection*, 32 (1997) 659-671
- [93] V. Böhmer: "Calixarenes, a versatile class of macrocyclic compounds", Springer, 1990
- [94] C. D. Gutsche: "Calixarenes. 1. Analysis of the Product Mixtures Produced by the Base-Catalyzed Condensation of Formaldehyde with Para-Substituted Phenols", *J. Org. Chem*, 43 (1978) 4095-4906
- [95] N. Muzet: "Simulation par Dynamique Moléculaire de l'extraction d'ions par des calixarènes. Importance des phénomènes interfaciaux", Thèse, 1999
- [96] W. S. Gibbons: "Effects of plasticizers on the mechanical properties of poly(vinyl chloride) membranes for electrodes and biosensors", *Polymer*, 38 (1997) 2633-2642
- [97] C. Mihali and N. Vaum: "Use of plasticizers for Electrochemical Sensors", *Recent Advances in Plasticizers*, 2012
- [98] B. Comeau: "Plasticizers alternatives for use in polymer membrane ion selective electrodes", These, 2008
- [99] W.P.R.V. Stauthamer: "Influence of plasticizer on the selectivity of nitrate-sensitive CHEMFETs", *Sensors and actuators B*, 17 (1994) 197-201

- [100] D. J. Harrison: "Photopolymerization of Plasticizer in Ion-Sensitive Membranes on Solid-state Sensors", *Analytical Chemistry*, 61 (1989) 246-251
- [101] L. Y. Heng and E. A. H. Hall: "Producing "self-plasticizing" ion-selective membranes, *Anal. Chem.*, 72 (2000) 42-51
- [102] Franz J. Keplinger: "Water Flux across Neutral Carrier Membranes", *Anal. Chem.*, 70 (1998) 4271-4279
- [103] K. Kimura: "Unsymmetrical Calix[4]arene Ionophore/Silicone Rubber Composite Membranes for High-Performance Sodium Ion-Sensitive Field-Effect Transistors", *Analytical Chemistry*, 64 (1992) 2508-2511
- [104] R. Eugster: "Selectivity-Modifying Influence of Anionic Sites in Neutral-Carrier-Based Membrane Electrodes", *Anal. Chem*, 63 (1991) 2285-2289
- [105] E. Bakker: "Lipophilicity of tetraphenylborate derivatives as anionic sites in neutral carrier-based solvent polymeric membranes and lifetime of corresponding ion-selective electrochemical and optical sensors", *Analytica Chimica Acta*, 309 (1995) 7-17
- [106] T. Rosatzin, E. Bakker, K Suzuki and W. Simon: "Lipophilic and immobilized anionic additives in solvent polymeric membranes of cation selective chemical sensors", *Analytica Chimica Acta*, 280-2 (1993) 197-208
- [107] A. Bratov: "Lowering the detection limit of calcium selective ISFETs with polymeric membranes", *Talanta*, 62 (2004) 91-96
- [108] H. J. Lee: "All solid state sodium selective electrodes based on room temperature vulcanizing type silicone rubber matrix", *Analytical sciences*, 13 (1997) 289-294
- [109] B. Hajji, P. Temple-Boyer, J. launay, T. Do Conto and A. Martinez: "pH, pK and pNa detection properties of SiO₂/Si₃N₄ ISFET chemical sensors", *Microelectronics Reliability*, 40 (2000) 783-786
- [110] Z.M. Baccar, N. Jaffrezic-Renault, C. Martelet, H. Jaffrezic, G. Marest and A. Plantier: "Sodium microsensors based on ISFET/REFET prepared through an ion implantation

- process fully compatible with a standard silicon technology", *Sensors and Actuators B*, 32 (1996) 101-105
- [111] P-K. Shin and T. Mikolajick: "H⁺, Na⁺ and K⁺ ion sensing properties of sodium and aluminium co-implanted LPCVD silicon oxynitride thin films", *Applied surface science*, 207 (2003) 351-358
- [112] U. Oesch, D. Amman and W. Simon: "Ion-selective membrane electrodes for clinical use", *Clinical Chemistry*, 32-8 (1986) 1448-1459
- [113] U. Oesch, S. Caras and J. Janata: "Field effect transistors sensitive to sodium and ammonium ions", *Analytical Chemistry*, 53 (1981) 1983-1986
- [114] J. A. J. Brunink, J. R. Haak, J. G. Bomer and D. Reinhoudt: "Chemically modified field effect transistors; a sodium ion selective sensor based on calix[4]arene receptor molecules", *Analytica Chimica Acta*, 254 (1991) 75-80
- [115] J. Muñoz, C. Jimenez, A. Bratov, J. Bartoli, S. Alegret and C. Dominguez: "Photosensitive polyurethanes applied to the development of CHEMFET and ENFET devices for biomedical sensing", *Biosensors & Bioelectronics*, 12 (1997) 577-585
- [116] N. Abramova and A. Bratov: "Photocurable polymers for Ion Selective Field Effect Transistors. 20 Years of Applications", *Sensors*, 9 (2009) 7097-7110
- [117] L. Tymecki, S. Glab and R. Koncki: "Miniaturized, planar ion-selective electrodes fabricated by means of thick-film technology", *Sensors*, 6 (2006) 390-396
- [118] M-C. Chuang, J. R. Windmiller, P. Santhosh, G. V. Ramirez, M. Galik, T-Y Chou, J. Wang: "Textile-based electrochemical sensing: effect of fabric substrate and detection of nitroaromatic explosives", *Electroanalysis*, 21 (2010) 2511-2518
- [119] M. Saedan: "Drop-on-demand printer for micro ion-selective electrode fabrication", *Int. J. of Automation Technology*, 5 (2011)
- [120] J. Wannasai, K. Sarawong and M. Saedan: "Development of ion-selective electrode fabrication process based-on Drop-on-demand technique", *The second TSME International Conference on mechanical Engineering*, 2011, Krabi

Chapitre 2:

*Développement de la
technologie pNa-ISFET*

Chapitre 2: Développement de la technologie pNa-ISFET

Le département R&D du groupe HEMODIA conçoit et développe des dispositifs électromédicaux utilisés dans le domaine de l'hémodialyse et de la neurochirurgie. Dans le cadre de cette activité, HEMODIA a mis en place une filière technologique dédiée à la fabrication de capteurs chimiques en phase liquide basée sur des transistors à effet de champ. Nous nous sommes appuyés sur cette technologie générique développée dans le cadre d'une précédente thèse (cf. § 1.3.C) pour l'adapter à la détection des ions sodium. Le travail a porté sur la détection in-vitro de cet ion, puis à son analyse dans la sueur. Ce chapitre décrit les principes fondamentaux de cette technologie, puis le développement ainsi que l'intégration des couches sensibles à l'ion sodium.

I. Technologie développée par HEMODIA

I.1. Fonctionnement d'un capteur ISFET

Le comportement électrique d'un ISFET (Ion Sensitive Field Effect Transistor) en phase liquide est similaire à un MOSFET (Metal Oxide Semiconductor Field Effect Transistor). Ces transistors à effet de champ sont des composants de base de l'électronique et sont équivalents à des interrupteurs commandés en tension. Il est nécessaire d'appréhender leur fonctionnement en premier lieu.

I.1.A. Architecture du MOSFET

Un MOSFET est composé d'une couche d'isolant imbriquée entre une grille métallique et un semi-conducteur. Le substrat de silicium de type P (dans le cas de transistor canal N, les plus courants) accueille deux régions de type N, la source et le drain, qui constituent les extrémités du canal de conduction (Figure 1) [1].

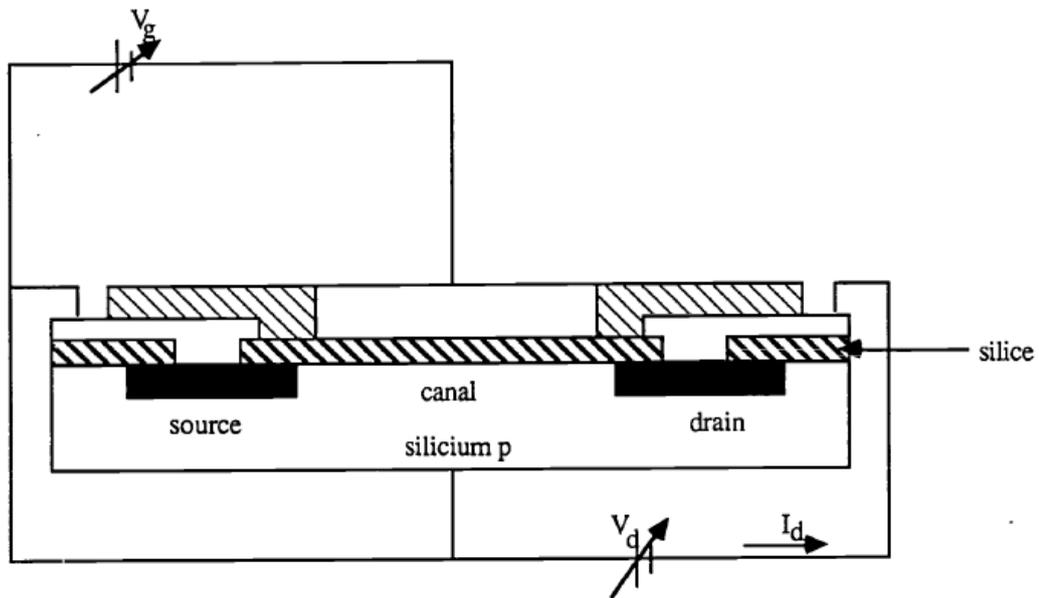


Figure 1: Architecture d'un MOSFET

Il existe plusieurs types de MOSFET. Nous utilisons un MOSFET de type N, mais le canal de conduction peut être de type P. Les MOSFET peuvent également être à enrichissement ou à appauvrissement, ce qui signifie que, dans le premier cas, il faut appliquer une tension sur la grille pour que le canal conduise, et, dans le second cas, le canal conduit alors que le potentiel appliqué sur la grille est nul. En l'occurrence, les MOSFET utilisés dans notre cas sont à enrichissement.

I.1.B. Principe de fonctionnement du MOSFET

Généralement, le substrat et la source sont reliés au même potentiel, à savoir la masse. Ce court-circuit permet de s'affranchir de "l'effet de corps" induit par la différence de potentiel éventuel entre la source et le substrat qui, dans certains cas, peut influencer la valeur de la tension de seuil (voir page suivante). Lorsqu'un potentiel apparaît sur la grille, un champ électrique se crée de part et d'autre de l'isolant, et a pour effet d'attirer des charges au niveau du canal, modulant ainsi l'intensité du courant y circulant. Suivant la valeur de la tension de grille V_{gs} , il existe plusieurs modes de fonctionnement:

$V_{gs} < 0V$: Les trous (porteurs majoritaires dans un substrat de type P) saturent le canal. Il n'y a pas de conduction entre la source et le drain. C'est le régime d'accumulation. Le canal du transistor est "bloqué".

$V_{gs} > 0V$: Les trous sont repoussés du canal vers le substrat. Il n'y a aucune charge libre dans le canal et, en conséquence, aucun courant n'y circule. C'est le régime de déplétion.

$V_{gs} > V_t$: La tension de grille est supérieure à une tension dite "de seuil" (V_t). Ce potentiel doit être assez important pour attirer les porteurs minoritaires (électrons) au niveau du canal. Il y a alors conduction entre la source et le drain, dès lors que le drain est porté à un potentiel V_d supérieur à celui de la source. C'est le régime d'inversion. Dans ce cas de figure, la caractéristique du courant de drain en fonction de la différence de potentiel appliquée entre le drain et la source $I_{ds}=f(V_{ds})$, (Figure 2) est composée d'une zone linéaire et d'une zone saturée [2].

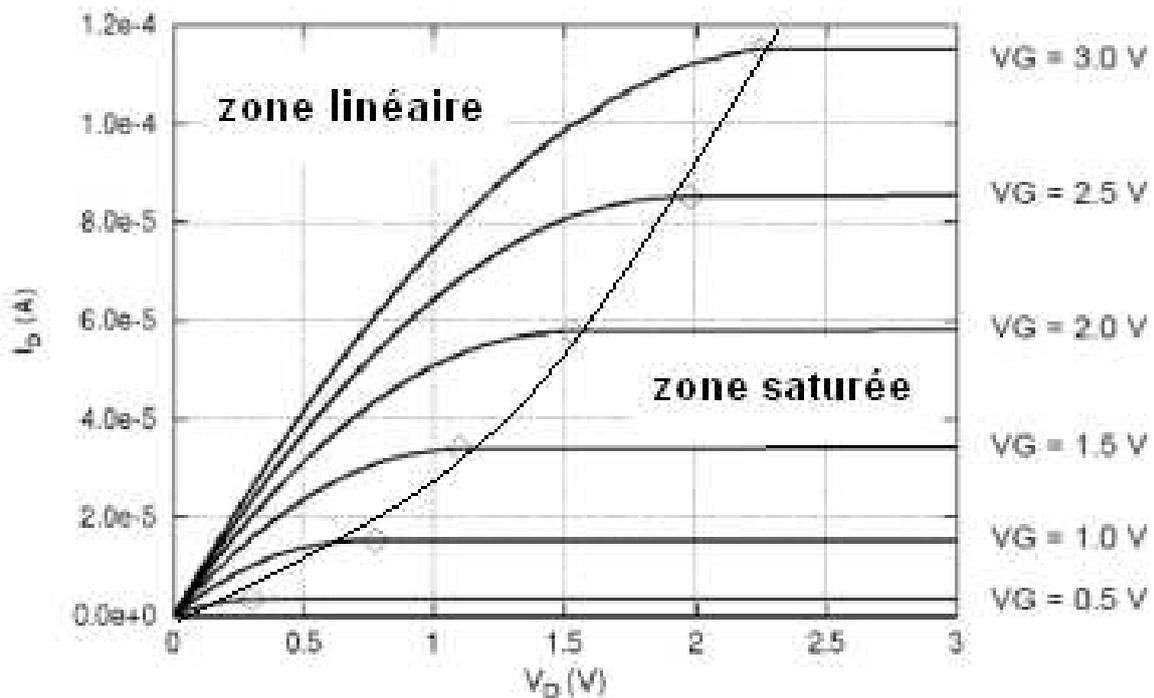


Figure 2: Caractéristiques $I_{ds}=f(V_{ds})$ pour différentes valeurs de tensions de grille (V_g)

Ainsi, lorsque le MOSFET est en inversion, on distingue deux régimes de fonctionnement suivant la valeur du potentiel drain-source (V_{ds}):

- Régime linéaire ($V_{ds} < V_{gs} - V_t$):
$$I_{ds} = K \left[(V_g - V_t) V_{ds} - \frac{V_{ds}^2}{2} \right]$$
 Équation 1

- Régime saturé ($V_{ds} > V_{gs} - V_t$):
$$I_{ds} = K (V_g - V_t)^2$$
 Équation 2

Le terme K représente la pente de la caractéristique $I_{ds}(V_{gs})$. Ce terme, appelé transconductance, regroupe les paramètres technologiques du composant. Il peut s'écrire sous la forme:

$$K = \frac{1}{2} \mu_n C_{ox} \frac{W}{L}$$
 Équation 3

Avec μ_n la mobilité des électrons dans le canal, C_{ox} la capacité de l'oxyde et W et L , largeur et longueur effectives de grille.

La tension de seuil V_t d'un MOSFET est donnée par la relation suivante:

$$V_t = V_{FB} - \frac{Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F$$
 Équation 4

Où V_{FB} est la tension de bande plate (définie comme la tension appliquée au métal de grille pour laquelle le potentiel de surface du silicium est nul [3]), Q_B est la charge située dans la zone de déplétion du semi-conducteur, C_{ox} la capacité de l'oxyde de grille et ϕ_F le potentiel de Fermi. La tension de bande plate est égale à:

$$V_{FB} = \frac{\Phi_M - \Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox}}{C_{ox}}$$
 Équation 5

Avec Φ_M et Φ_{Si} les travaux de sortie du métal de grille et du silicium, respectivement, Q_{SS} la densité de charge à la surface du silicium et Q_{ox} la charge de l'oxyde.

1.1.C. Architecture de l'ISFET

Un ISFET est similaire à un MOSFET, sauf que le métal de grille est remplacé par un matériau sensible à une espèce chimique (isolant inorganique ou membrane polymérique) en contact avec un électrolyte polarisé par une électrode de référence (Figure 3) [1].

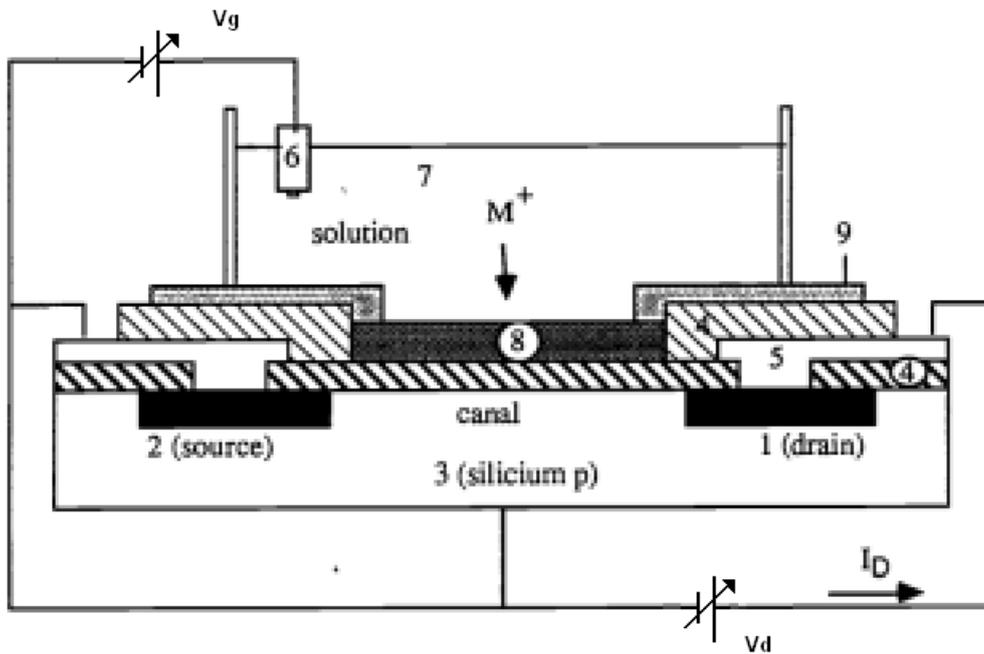


Figure 3: Architecture d'un ISFET, 1) drain, 2) source, 3) substrat, 4) isolant, 5) métal, 6) électrode de référence, 7) électrolyte, 8) membrane sensible, 9) encapsulant

I.1.D. Principe de fonctionnement de l'ISFET

Le potentiel qui va moduler le courant circulant dans le canal est engendré par les charges ioniques adsorbées à la surface du matériau sensible, de par leurs affinités chimiques réciproques. Cette adsorption résulte de la création de zones de charges équivalentes à des capacités, qui vont engendrer des gradients de potentiel tout au long de la structure. La nature de ces interactions surfaciques et l'organisation des ions au sein de la phase liquide seront expliquées plus en détail dans les paragraphes suivants. Le potentiel est distribué dans la structure Electrolyte/Isolant/Semi-conducteur (EIS), de la façon présentée dans la figure 4 [4].

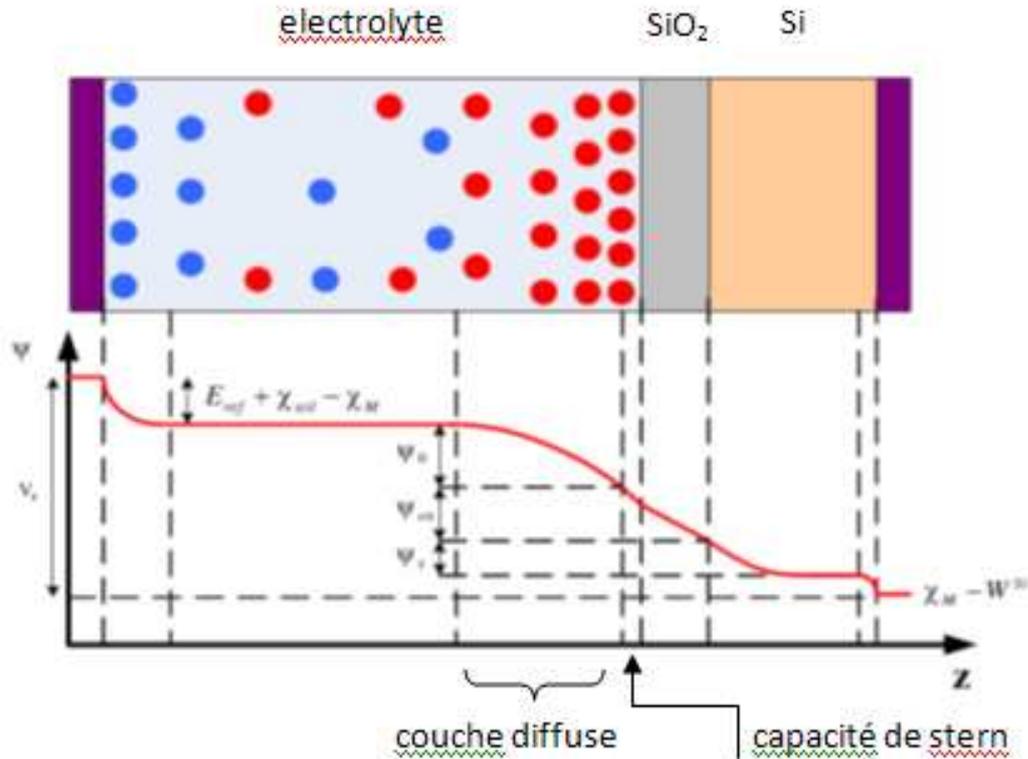


Figure 4: distribution du potentiel au travers d'une structure Electrolyte/Isolant/Semi-conducteur (EIS)

Le potentiel varie donc selon les différentes zones et de ce fait, les paramètres du composant sont fonction de plusieurs facteurs. La tension de seuil d'un ISFET plongé en solution et polarisé par une électrode de référence est alors dépendante de composantes liées:

- aux caractéristiques intrinsèques du composant (Φ_{Si} , Q_{SS} , Q_{ox} , C_{ox}),
- à un terme reflétant l'interface à l'électrode de référence (E_{ref} , qui inclut Φ_M),
- à un terme reflétant l'interface à la couche sensible (χ_{sol} , qui est une constante représentant le potentiel dipolaire entre la membrane et la solution, et ψ_0 , le potentiel de surface de la couche sensible, résultant d'une réaction chimique).

Finalement, la tension de bande plate d'une structure EIS est donnée par:

$$V_{FB} = E_{ref} - \psi_0 + \chi_{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox}}{C_{ox}} \quad \text{Équation 6}$$

La tension de seuil est alors:

$$V_t = E_{ref} - \psi_0 + \chi_{sol} - \frac{\phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox}}{C_{ox}} - \frac{Q_B}{C_{ox}} + 2\phi_F \quad \text{Équation 7}$$

Comme tous les termes sont constants excepté ψ_0 , le potentiel aux bornes du dispositif ISFET dépend de ce potentiel de surface. Ainsi, pour un matériau sensible au pH (par exemple, le nitrure de silicium Si_3N_4), le potentiel est fonction des constantes de dissociation des sites surfaciques. En effet, à l'interface isolant-électrolyte, et dans le cas d'un matériau du type Si_3N_4 , les sites surfaciques ont la particularité de "donner" ou "accepter" un proton de la solution, modifiant ainsi la charge globale en surface. Ce mécanisme, basé sur le modèle du "site-binding", est schématisé ci-dessous (Figure 5):

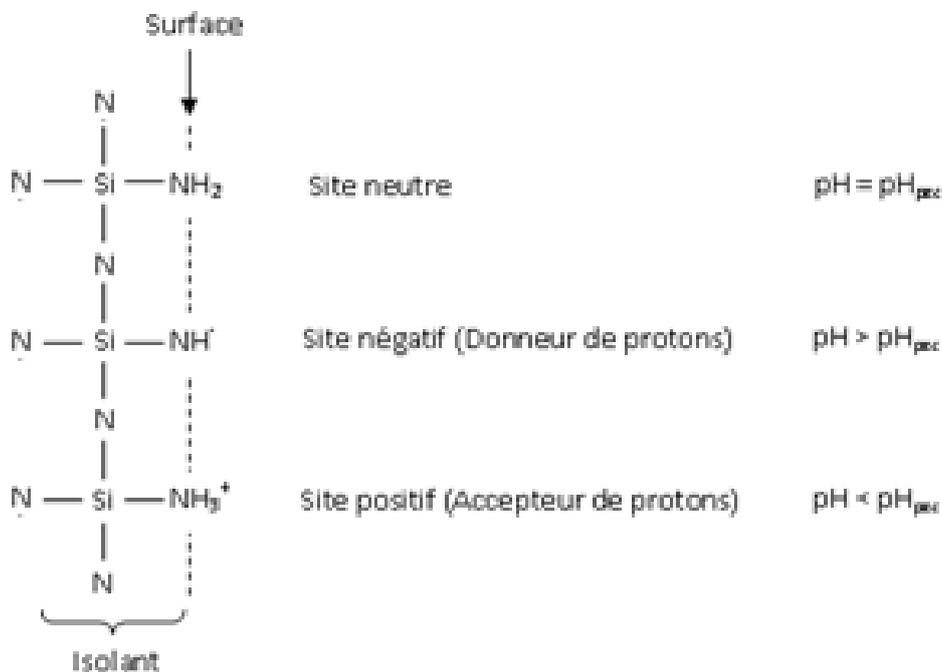


Figure 5: Schématisation des interactions chimiques à la surface du nitrure de silicium

Les réactions acido-basiques sont les suivantes:

- Dissociation acide : $SiNH_2 + H_2O \leftrightarrow SiNH^- + H_3O^+$
- Dissociation basique : $SiNH_2 + H_3O^+ \leftrightarrow SiNH_3^+ + H_2O$

Il en découle les constantes de dissociation acido-basiques suivantes:

$$K_a = \frac{[SiNH^-][H_3O^+]_s}{[SiNH_2]} \quad \text{Équation 8}$$

$$K_b = \frac{[SiNH_3^+]}{[SiNH_2][H_3O^+]_s} \quad \text{Équation 9}$$

Le potentiel ψ_0 est distribué à l'interface selon la théorie de la double couche, approximée par le modèle Gouy-Chapman-Stern [5]. Cette interface est équivalente à un condensateur plan, composé de deux régions distinctes, tel que (Figure 6):

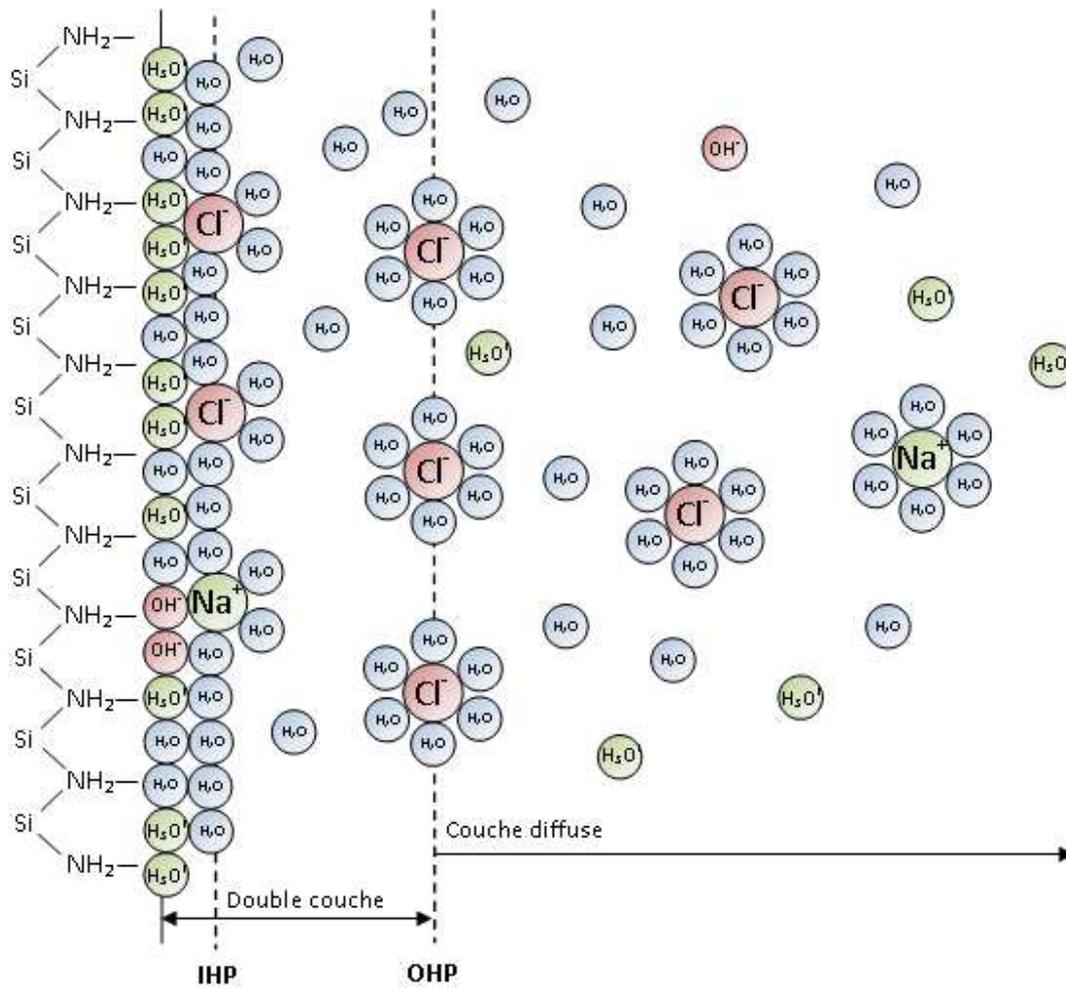


Figure 6: Répartition des charges à l'interface isolant/analyte

Le plan interne d'Helmholtz (IHP) définit la « frontière » de la couche interne. Dans cette région, des ions, à cause de la charge en surface de l'isolant, peuvent se libérer partiellement de leur bouclier hydratant et être adsorbés à la surface du Si₃N₄. Le plan interne d'Helmholtz est la distance entre le centre de ces ions et la surface de l'isolant. Le plan externe d'Helmholtz (OHP) est la deuxième région composant la double couche. Elle s'étend du plan

interne d'Helmholtz jusqu'au centre de la première couche d'ions, totalement hydratés. En effet, de par leur rayon plus important, ces ions ne peuvent s'approcher plus près de la surface. Au delà du plan externe d'Helmholtz, c'est la couche diffuse, où les ions s'organisent suivant la statistique de Boltzmann. Ces deux plans expliquent l'existence d'une capacité à proximité de l'interface isolant-électrolyte, composée de deux capacités en série. Finalement, en prenant en considération les phénomènes chimiques et les phénomènes physiques [6], la relation entre le potentiel de surface ψ_0 et le pH de l'électrolyte a été démontrée par *Bousse* [7] qui stipule que:

$$\psi_0 = \ln(10) \left(\frac{kT}{q} \right) \left(\frac{\beta}{\beta+1} \right) [pH_{pzc} - pH] \quad \text{Équation 10}$$

A température ambiante (25°C), cela donne (en millivolts):

$$\psi_0 = 59,2 \left(\frac{\beta}{\beta+1} \right) [pH_{pzc} - pH] \quad \text{Équation 11}$$

Bousse a introduit un terme correctif β qui tient compte de la non-idéalité du capteur ISFET vis-à-vis de la structure EIS. Lorsque ce terme tend vers 0, la relation précédente (cf. équation 11) équivaut à une relation nernstienne. Le terme correctif β équivaut à:

$$\beta = \frac{q^2 N_s \delta}{kT C_{eq}} \quad \text{Équation 12}$$

Où N_s correspond à la densité totale de sites réactifs en surface, et où δ et C_{eq} sont définis tels que, respectivement:

$$\delta = 2(K_a K_b)^{1/2} \quad \text{Équation 13}$$

$$\frac{1}{C_{eq}} = \frac{kT}{q} \frac{1}{(2kT \epsilon C_\infty)^{1/2}} + \frac{1}{C_{stern}} \quad \text{Équation 14}$$

Avec C_∞ la concentration de tout ion dans la couche diffuse, et C_{stern} la valeur de la capacité de Stern (capacité équivalente située entre la surface de l'isolant et le plan externe d'Helmholtz). L'ordre de grandeur de la capacité de Stern est de $100 \mu\text{F} \cdot \text{cm}^{-2}$ [8].

La démonstration complète de cette étude est donnée en détail dans l'annexe 1.

I.2. Principe de mesure

Nous nous intéressons à la mesure du courant I_{ds} modulé par la tension appliquée à la grille (V_{gs}), en régime de saturation [9]. En effet, dans ce régime, lorsque l'ISFET fonctionne en inversion ($V_{gs} > V_t$) et que $V_{ds} > V_{gs} - V_t$, le courant I_{ds} n'est pas fonction de la tension V_{ds} . Ainsi, toute influence de cette dernière est évitée. Le courant I_{ds} est donné par les relations suivantes:

$$I_{ds} = \frac{1}{2} \mu_n C_{ox} \frac{W}{L} (V_{gs} - V_t)^2 \quad \text{Équation 15}$$

$$I_{ds} = \frac{1}{2} \mu_n C_{ox} \frac{W}{L} \left(V_{gs} - E_{ref} - \psi_0 + \chi_{sol} - \frac{\Phi_{Si}}{q} - \frac{Q_{SS} + Q_{ox}}{C_{ox}} - \frac{Q_B}{C_{ox}} + 2\Phi_F \right)^2 \quad \text{Équation 16}$$

Hormis I_{ds} et V_{gs} qui sont des paramètres de polarisation du composant et ψ_0 qui correspond au potentiel de surface de la couche sensible au pH, tous les autres termes sont constants. Ce sont des paramètres fixés par le processus de fabrication (capacité d'oxyde: C_{ox} , largeur et longueur développées: W et L , différences de travaux de sortie des différents matériaux: Φ_{Si} , Φ_F , charges: Q_{SS} , Q_{ox} , Q_B , mobilité des électrons: μ_n), ou bien des termes électrochimiques (potentiel de l'électrode de référence: E_{ref} , moment dipolaire entre phase sensible et phase liquide: χ_{sol}). En simplifiant l'équation 16, le courant circulant dans le canal est égal à:

$$I_{ds} = K (V_{gs} - \psi_0 + V_{ref})^2 \quad \text{Équation 17}$$

Si I_{ds} et V_{ref} sont fixés, alors, les caractéristiques $I_{ds}=f(V_{gs})$, fonctions du pH, sont liées à l'évolution du potentiel chimique ψ_0 . Ces courbes subissent un décalage proportionnel au pH de la solution. Ce décalage varie idéalement d'environ 59 mV/pH (Figure 7).

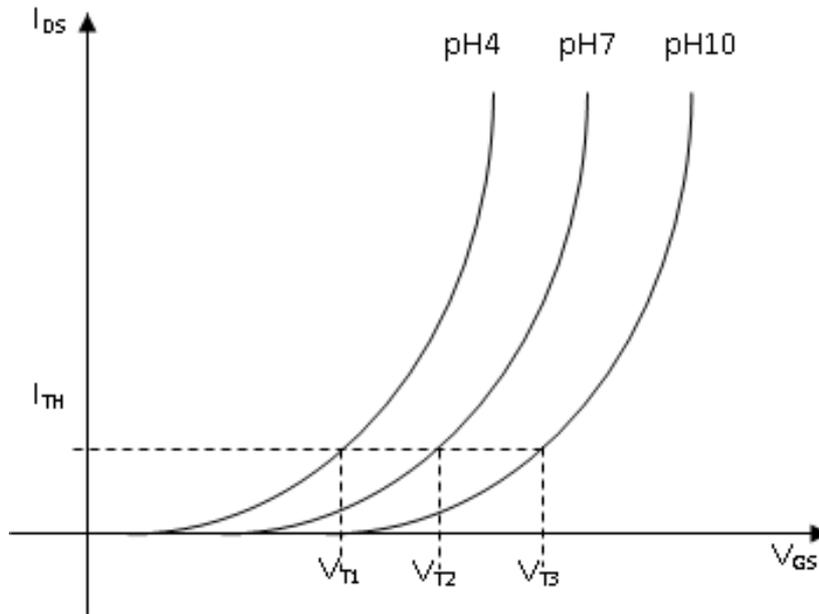


Figure 7: Caractéristiques $I_{DS}=f(V_{GS})$ pour différentes valeurs de pH

Le principe de mesure cité précédemment implique que la tension V_{gs} puisse évoluer "librement" dans le but de compenser la variation de potentiel ψ_0 , afin de conserver l'égalité (cf. équation 17). Pour que la mesure soit correcte, les tensions V_{ds} , V_{ref} , ainsi que le courant I_{ds} doivent être maintenus constants. Ces conditions sont réalisées par un circuit électronique appelé "source-drain follower". Son développement est discuté dans le paragraphe suivant.

I.3. Instrumentation de mesure

I.3.A. Circuit de polarisation

Nous avons choisi de polariser la grille (électrode de référence) à 0V (masse du circuit), et d'appliquer une contre-réaction sur la source. Ainsi, le courant dans le canal peut être modulé par l'intermédiaire de V_{gs} , tout en maintenant fixe le potentiel de l'électrode de référence. Ce mode de mesure est applicable aussi bien à un dispositif différentiel qu'à un dispositif à plusieurs ISFET avec une même électrode de référence [10]. Le potentiel entre le drain et la source doit être flottant, afin que soit compensée la variation de potentiel induite

par la solution tout en conservant une tension drain-source constante [11]. Le circuit présenté en figure 8 permet de polariser l'ISFET de la manière décrite précédemment.

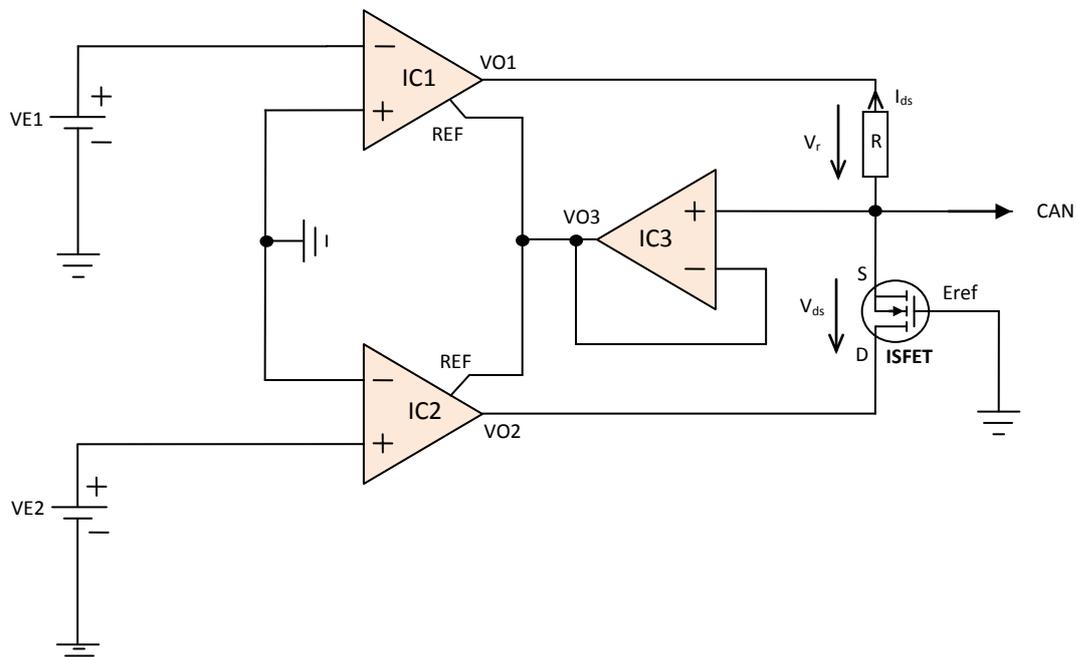


Figure 8: Circuit de polarisation de l'ISFET

Les amplificateurs d'instrumentation IC1 et IC2 fournissent une tension en sortie (différence de potentiel entre VO et REF) identique à la tension appliquée sur leur entrée. Cette tension sera positive ou négative suivant l'entrée utilisée (non-inverseuse: entrée "+", inverseuse: entrée "-"). L'amplificateur IC1 agit comme générateur de courant: il impose quelle que soit la valeur de la tension de source, une différence de potentiel fixe aux bornes de la résistance R qui va engendrer un courant I_{ds} . Ainsi:

$$I_{ds} = \frac{V_{REF} - VO1}{R} = \frac{VE1}{R} \quad \text{Équation 18}$$

L'amplificateur opérationnel IC3 est utilisé comme adaptateur d'impédance. En d'autres termes, il permet d'assurer la contre-réaction sur la source sans prélever de courant, et ceci grâce à la haute impédance de ses entrées. Ainsi, le courant généré via IC1 passe dans sa totalité dans l'ISFET. Cet amplificateur est câblé en suiveur, sa sortie VO3 est donc égale à l'entrée, qui correspond à la tension de source. L'amplificateur IC2 agit comme générateur

de tension, grâce, tout comme IC1, à la contre-réaction appliquée à la source via IC3. Ainsi, on obtient :

$$V_{ds} = VO2 - REF = VE2 \quad \text{Équation 19}$$

Lorsque le capteur est immergé en solution, le potentiel de source va se fixer négativement par rapport au potentiel de l'électrode de référence (la masse du circuit), selon la valeur du courant I_{ds} correspondant situé sur la droite de la caractéristique $I_{ds}=f(V_{gs})$ (cf. Figure 7). Le potentiel de source va suivre les variations de pH, alors que le transistor conserve ses paramètres de polarisation (I_{ds} , V_{gs}) constants. Ce potentiel, proportionnel à la concentration en pH de la solution, est ensuite numérisé par un convertisseur analogique/numérique.

I.3.B. Carte d'acquisition

Une carte d'acquisition a été développée au sein de l'entreprise HEMODIA (Figure 9). Cette carte comporte une partie analogique (circuit de polarisation) couplée à une partie numérique permettant de contrôler les paramètres de polarisation et de numériser le signal mesuré sur la source (V_s). La transmission des données est effectuée par liaison Bluetooth sur un ordinateur externe. Le convertisseur analogique/numérique utilisé est un convertisseur sigma-delta ADS1217 (Texas Instruments®) dont la résolution théorique est de $0,3 \mu V$.

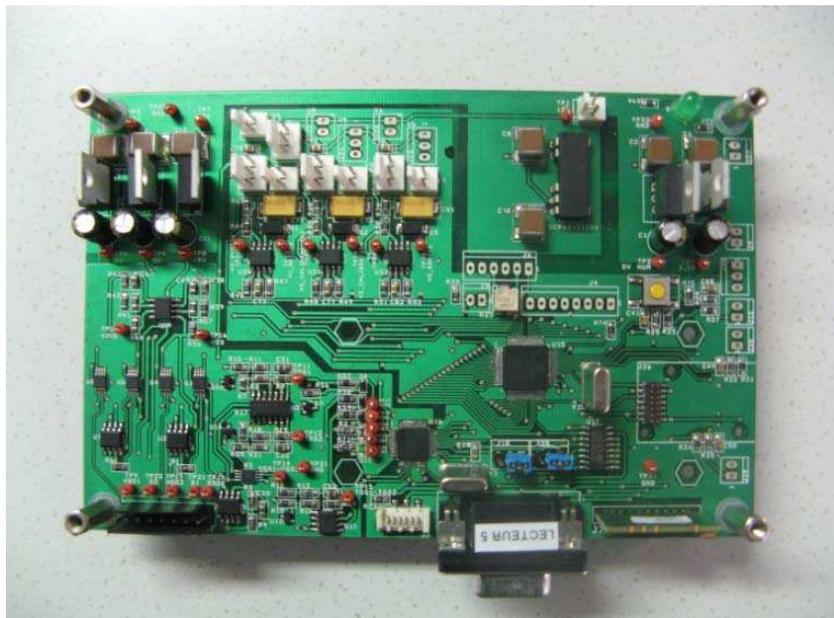


Figure 9: Carte d'acquisition

Ma contribution personnelle au développement de cette carte électronique a consisté à des améliorations de la partie analogique, et à l'implémentation d'un logiciel dont la fonction première est l'affichage en temps réel des données issues du capteur sur un terminal externe.

I.3.C. Logiciel

Le logiciel, développé dans le cadre de mes travaux, a été implémenté en C++, à l'aide de la bibliothèque Qt. Qt est un outil de développement logiciel dédié à l'implémentation d'interfaces graphiques. Il permet, grâce à une liaison RS232, de dialoguer avec le microcontrôleur embarqué sur la carte. Il est possible de modifier les paramètres de polarisation (I_{ds} , V_{ds}) et la période d'échantillonnage. L'affichage des données est effectué en temps réel (Figure 10). Dans cet exemple, le capteur utilisé est fonctionnalisé à l'aide d'enzymes et permet la détection de l'urée grâce à une mesure différentielle. Ce capteur, issu de la même technologie, sort du cadre de cette thèse et ne sera pas discuté ici [12].



Figure 10: Affichage du signal de source en temps réel

I.4. Caractérisations des composants ISFET

Les puces ISFET sont issues d'un transfert technologique effectué entre la société HEMODIA et la société MHS (Nantes), une fonderie spécialisée dans la fabrication de composants en technologie CMOS. Nous disposons de substrats 6 pouces, comportant environ 4000 puces ISFET (Figure 11).

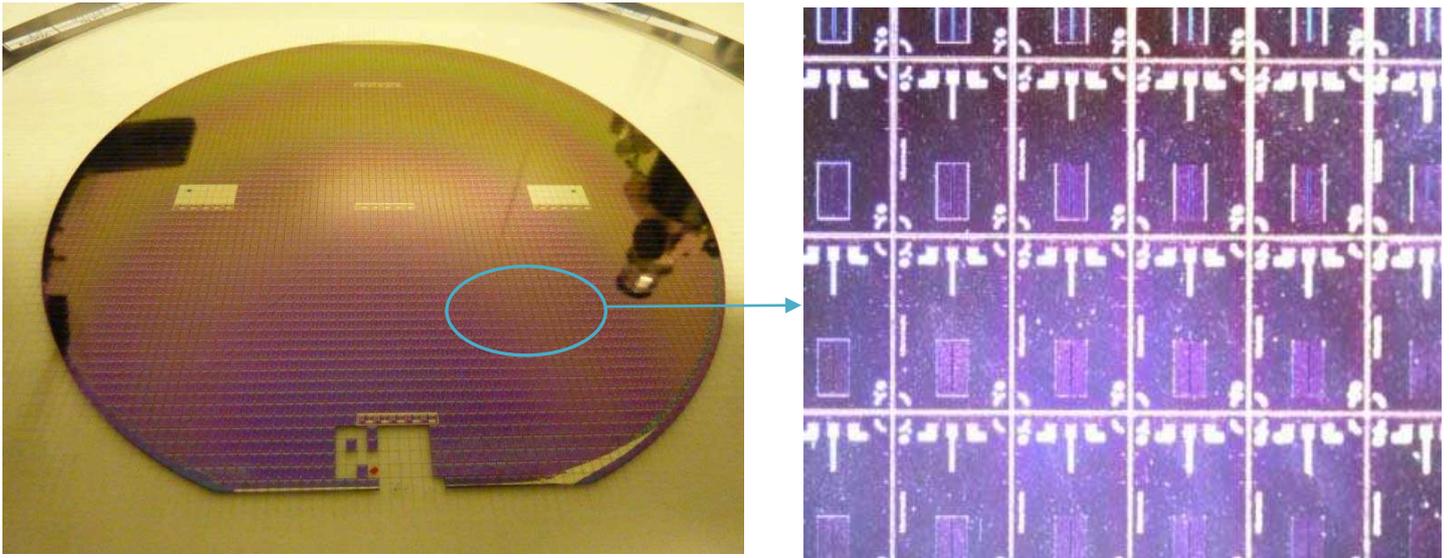


Figure 11: Substrat 6 pouces contenant les puces ISFET (fabrication MHS)

Chaque puce ISFET est composée d'un transistor MOS construit en parallèle de l'ISFET, dans le même caisson de type P. Ces deux composants partagent les mêmes sources, drains et isolants de grille. Le transistor MOS est caractérisé par la présence d'une couche métallique recouvrant l'isolant: la grille dite "partielle". Cette architecture fait l'office d'un dépôt de brevet et est présentée ci-dessous (Figure 12):

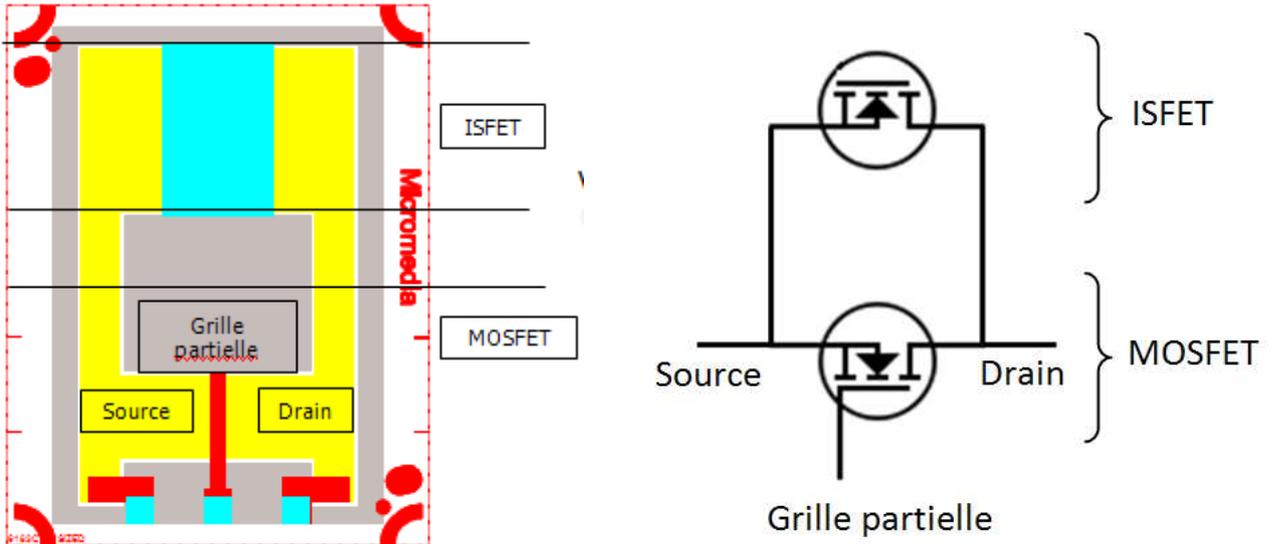


Figure 12: Architecture d'une puce HEMODIA

L'ISFET ne pouvant être polarisé qu'en phase liquide (le potentiel de grille est assuré par une électrode de référence immergée dans l'électrolyte), il présente, à l'air libre, un comportement bloqué. Pour ainsi dire, aucun courant ne peut circuler entre le drain et la source. Par le biais de ce MOSFET de "contrôle", il est alors possible d'effectuer des tests électriques sous pointes permettant d'accéder à ses caractéristiques intrinsèques et ainsi contrôler la qualité du processus de fabrication technologique afin d'avoir un aperçu de la qualité de l'ISFET, qui de par sa proximité géographique, est statistiquement identique au MOSFET.

I.4.A. Caractérisations électriques

Les caractéristiques $I_{ds}=f(V_{gs})$ permettent donc d'extraire les paramètres propres au transistor MOS. Ce sont des paramètres classiques typiques liés à la technologie CMOS, à savoir: K_p , I_{leak} et V_{th} (respectivement: transconductance, courant de fuite et tension de seuil). Les mesures ont été effectuées grâce à une station semi-automatique Kark Suss PA200 couplée à une source courant/tension Agilent 4142. Chaque puce a ainsi été testée afin d'aboutir à une cartographie (mapping) complet du substrat afin de repérer les zones

défectueuses. La méthodologie d'extraction des paramètres est illustrée par la figure 13 [13]:

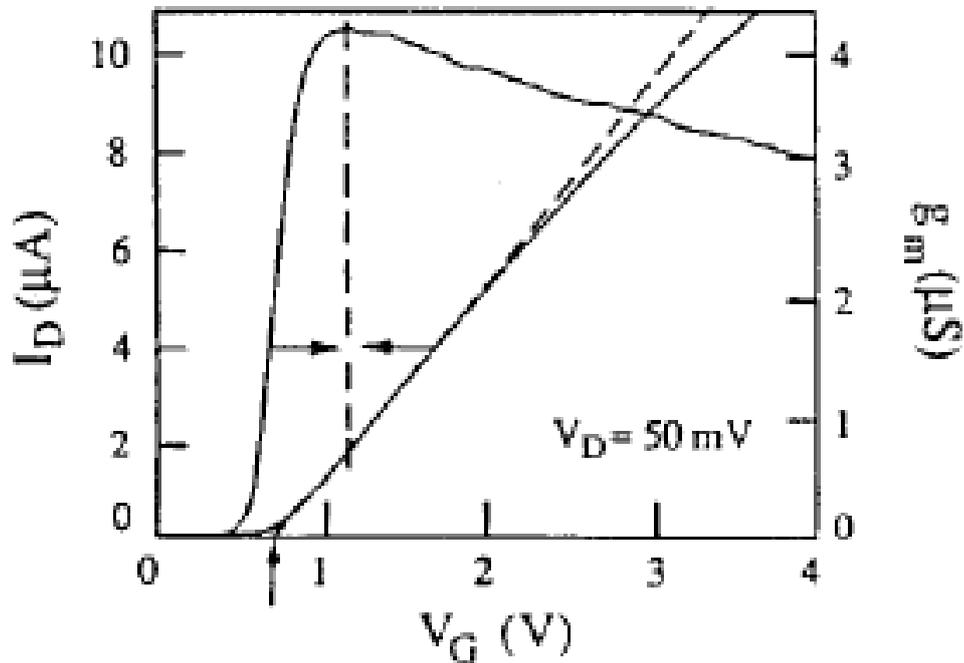


Figure 13: Extraction des paramètres du MOS [14]

La courbe caractéristique $I_{ds}=f(V_{gs})$ est obtenue en mesurant le courant de drain induit par des variations de tension de grille incrémentées pas à pas. La courbe de transconductance $G_m(V_{gs})$ correspond à la dérivée de la courbe caractéristique $I_{ds}=f(V_{gs})$. Son maximum permet de déterminer le point d'inflexion (maximum de la courbe de transconductance) à partir duquel est définie la tangente à la courbe $I_{ds}=f(V_{gs})$. La pente de cette tangente correspond au coefficient de transconductance, noté K_p , alors que son intersection avec l'axe des abscisses représente la tension de seuil, notée V_{th} . Le courant de fuite I_{leak} est le courant de drain correspondant à une tension de grille nulle. Dans le tableau 1 sont résumées les valeurs issues de statistiques sur les paramètres V_{th} , K_p et I_{leak} .

	V_{th} (V)	K_p ($\mu A/V^2$)	I_{leak} (μA)
moyenne	1,54	400	0,3
écart-type	0,03	8	0,04

Tableau 1: Récapitulatif des paramètres des transistors MOS sur un substrat complet

Les caractéristiques de puces d'un substrat ont été extraites et reportées dans la figure 14. Sur ce graphe, nous pouvons remarquer que les courbes issues des mesures prises dans les régions nord, sud, est et ouest sont superposées. La figure 15 montre une cartographie d'un substrat en fonction de la valeur de la tension de seuil V_{th} .

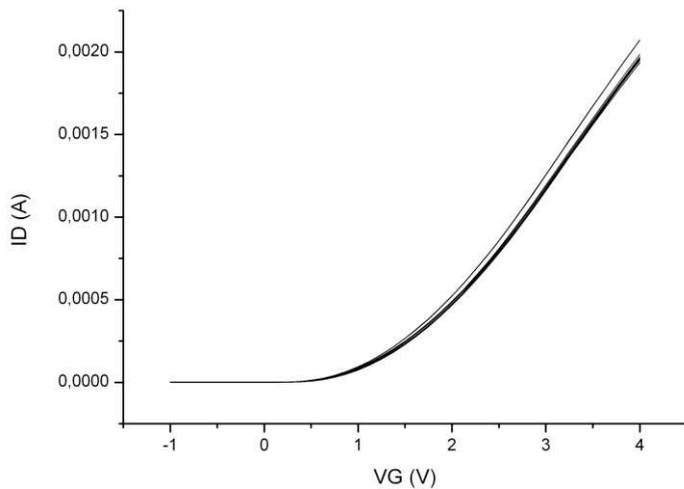


Figure 15: Caractéristiques $I_{ds}=f(V_{gs})$ des régions nord, sud, est, ouest et centre du substrat

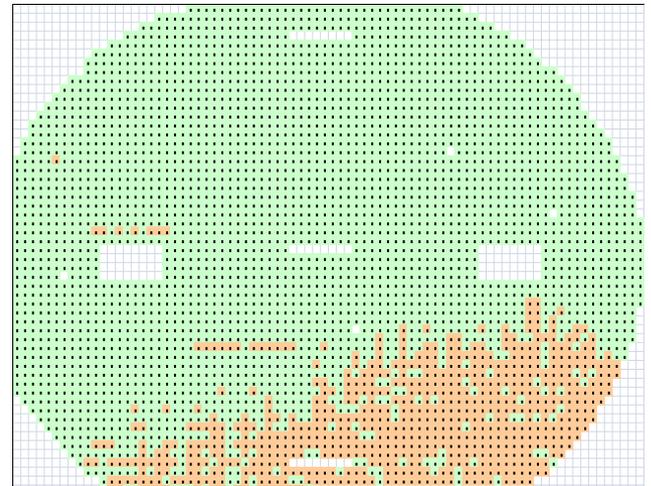


Figure 14: Cartographie d'un substrat en fonction de la valeur de la tension de seuil

D'une part, ces caractérisations ont permis de vérifier que les composants sont conformes aux attentes et de valider le transfert technologique. D'autre part, il est possible de sélectionner des puces conformes. Toutefois, pour tester les performances de détection au pH, les capteurs doivent être assemblés et encapsulés pour pouvoir être testés en milieu liquide.

I.4.B. Encapsulation

La phase d'encapsulation, étape cruciale pour tout type de capteur, consiste à adapter les capteurs à leur environnement. Dans notre cas, le milieu de mesure est relativement contraignant, puisque les capteurs sont immergés en phase liquide. En l'occurrence les matériaux encapsulants devront être hydrofuges. L'encapsulation assurera une étanchéité parfaite du dispositif, tout en laissant le matériau de grille sensible au pH (Si_3N_4) au contact de l'électrolyte. Plusieurs solutions ont été testées afin de déterminer une encapsulation optimale.

1.4.B.a. Substrat rigide

/

Une de ces solutions, la plus commune [15], consiste à reporter le capteur sur un substrat rigide de type PCB (Printed Circuit Board). La puce est en premier lieu collée sur le substrat grâce à une colle époxy (353ND, EPO-TEK®). Dans un second temps, les connexions sont effectuées par microsoudures entre les plots de contact de la puce (aluminium) et les pistes du PCB (or). Finalement, les parties conductrices sont englobées par un époxy isolant (H70E-2, EPO-TEK®) afin d'éviter tout court-circuit une fois les capteurs immergés. Pour nos applications, deux puces sont ainsi reportées sur chaque bâtonnet, permettant éventuellement des mesures différentielles (Figure 16).

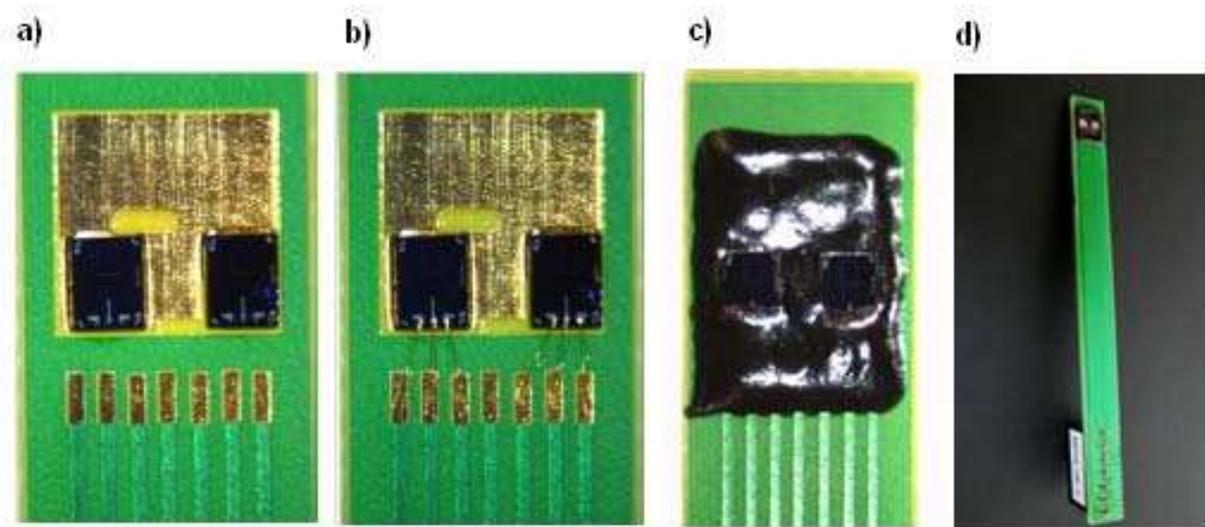


Figure 16: Etape d'encapsulations a) collage, b) microsoudures, c) englobage, d) connectique

1.4.B.b. Substrat flexible

Nous avons également conçu le design d'un substrat flexible en polyimide (Kapton®) qui prévoit un plot d'or en vue de l'intégration future d'une électrode de référence. Les étapes de réalisation sont identiques à celles effectuées sur substrat rigide. Les substrats flexibles sont équipés de connecteurs ZIF (connecteurs à force d'insertion nulle) et, de par leur encombrement réduit, sont une alternative élégante à un substrat rigide (Figures 17 et 18).

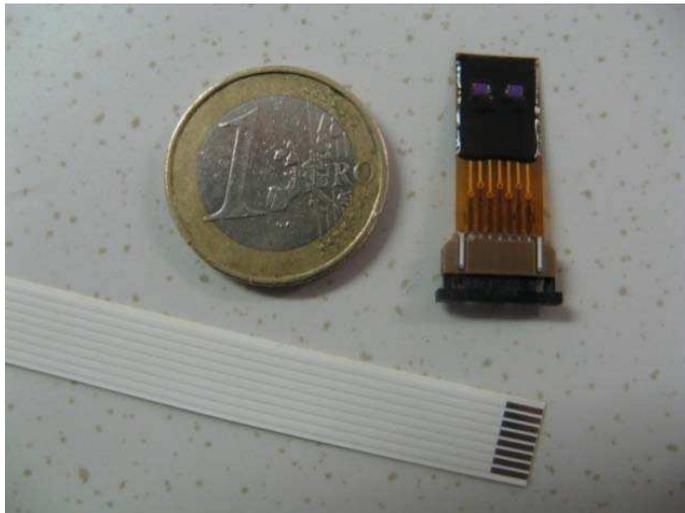


Figure 18: Capteur encapsulé, face avant

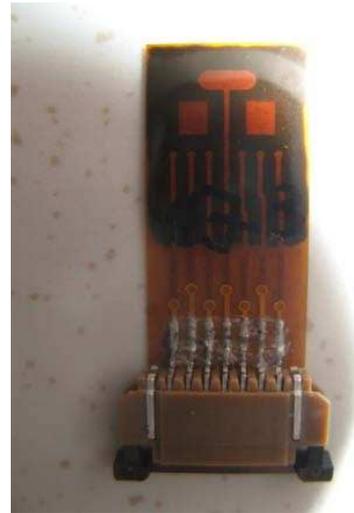


Figure 17: Capteur encapsulé, face arrière

Comme nous le verrons plus loin, les performances des deux types d'encapsulation se sont avérées similaires, en termes d'impact sur la dérive des capteurs (*cf.* § I.4.C.B.ii). Ceci dit, la solution "substrat flexible" présentant un encombrement réduit ainsi qu'une souplesse avantageuse dans l'optique d'une intégration au plus proche du corps humain, elle nous est apparue logiquement plus adaptée à cette application. C'est pourquoi toutes les performances de détection décrites dans ce second chapitre ont été obtenues avec ce type d'encapsulation.

I.4.C. Caractérisations en phase liquide

Les caractérisations dites "en phase liquide" sont réalisées sur des capteurs encapsulés. Les parties polarisées (contacts métalliques) du capteur sont alors protégées du milieu de mesure. Ce chapitre étant dédié au développement de la membrane sensible, nous nous sommes affranchis des problèmes liés au potentiel de référence, et notamment les dérives, en utilisant une électrode commerciale. Pour toutes les expériences en phase liquide, une électrode de référence commerciale Ag/AgCl (Metrohm®) à double jonction a été employée. Cette électrode est immergée dans la même solution que le capteur et fait office de grille. Le développement de l'électrode de référence intégrée au dispositif sera présenté dans le chapitre suivant.

I.4.C.a. Caractéristique I_{ds}/V_{gs}

Nous avons effectué avec les capteurs encapsulés des caractérisations similaires à celles du transistor MOS. Les courbes $I_{ds}=f(V_{gs})$ sont caractéristiques de l'ISFET en fonction du pH de la solution. Pour ces caractérisations, nous utilisons un équipement source de courant/tension HP 4140. Cet appareil incrémente par paliers la tension appliquée entre l'électrode de référence et la source (tension V_{gs}) et mesure le courant I_{ds} . La tension V_{ds} est maintenue à 2V. Les caractérisations sont effectuées avec des solutions tampons commerciales de pH4, pH7 et pH10 (Bioblock). Pour un courant drain-source I_{ds} fixe (en l'occurrence 100 μ A), nous observons une variation de la tension de seuil (plus précisément de la composante ψ_0 , correspondant au potentiel de surface du nitrure de silicium), dépendante du pH de la solution (cf. § 1.2). La variation observée est environ égale à 50 mV/pH (Figure 19).

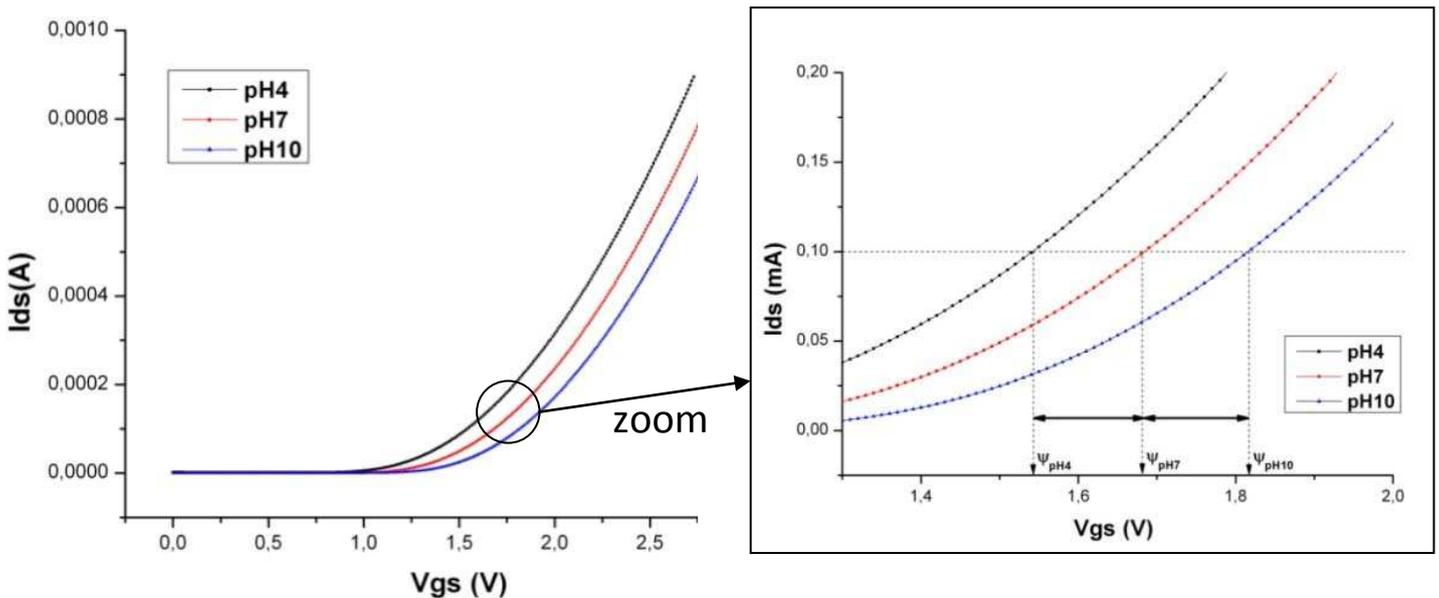


Figure 19: Caractéristiques $I_{ds}=f(V_{gs})$ de l'ISFET pour trois solutions de pH différents, polarisées par une électrode de référence Ag/AgCl commerciale

Cependant, bien que cette méthode soit pertinente pour estimer la sensibilité du capteur au pH, elle ne permet pas d'obtenir une réponse exploitable en temps réel. Nous avons donc utilisé une carte électronique dédiée à cet usage.

I.4.C.b. Mesures en continu

La carte d'acquisition décrite dans le paragraphe précédent a été réalisée. Cette carte permet de recueillir le signal de source V_s et donc de visualiser directement la variation du potentiel de surface du nitrure de silicium, représentatif du pH de la solution analysée, avec une résolution de l'ordre du microvolt (cf. § I.3.B).

I.4.C.b.i Sensibilité au pH

Le protocole de mesure, décrit précédemment, est réitéré. L'ensemble capteur/électrode de référence est immergé dans des béchers de solutions tampons de pH4, pH7, pH10, puis pH7 et pH4. De cette manière, nous pouvons estimer la sensibilité du capteur et évaluer les phénomènes liés à l'hystérésis. Le capteur présente ici une sensibilité de 48,5 mV/pH, linéaire sur la gamme située entre pH4 et pH10. Cette sensibilité du matériau de grille Si_3N_4 est en accord avec les valeurs de la littérature [16]. L'hystérésis constatée est faible (environ 3 mV) (Figures 20 et 21).

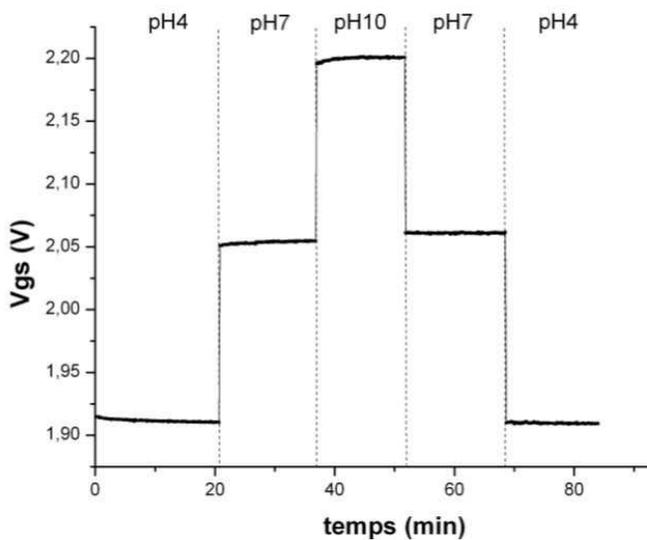


Figure 21: Tension de sortie du capteur en fonction du temps pour différentes valeurs de pH

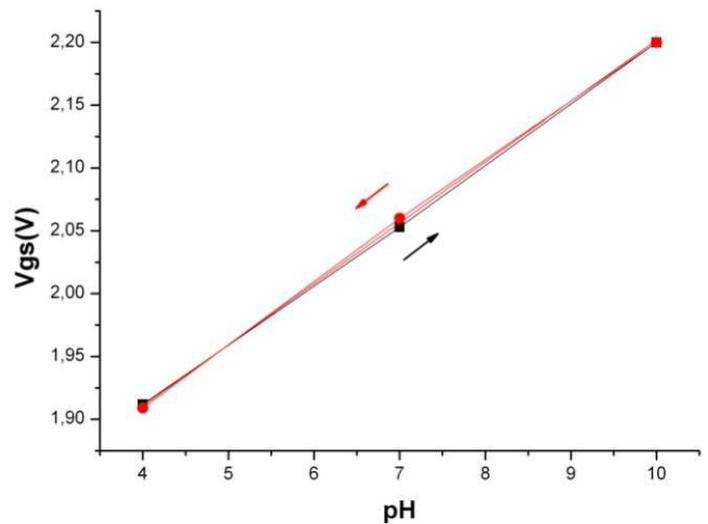


Figure 20: Sensibilité du capteur en fonction du pH

Nous avons également procédé à des mesures de titration, qui offrent l'avantage d'effectuer des caractérisations de sensibilité dans une solution unique dont le pH varie au fil du temps. A l'aide de doseurs automatisés (Metrohm DOSIMAT 765), une solution acide (HCl: acide chlorhydrique 10^{-2} M) a été diluée grâce à une solution basique (TMAH: Tetra Méthyl Ammonium Hydroxyde 10^{-1} M). Ainsi, par ajouts successifs de volumes précisément contrôlés, le pH d'une solution va varier de 2 à 12. L'utilisation d'une base forte telle que le TMAH permet de s'affranchir des ions interférents, comme l'ion sodium [17], contenu par exemple dans une autre base forte: l'hydroxyde de sodium (NaOH). La solution de l'équation régissant l'évolution de la concentration en ion hydronium ($[H_3O^+]$ ou $[H^+]_{aq}$) dans les conditions précédemment décrites est la suivante:

$$[H_3O^+] = \frac{1}{2} \left[\left(\frac{c_0 v_0 - c_b v_b}{v_0 + v_b} \right) + \sqrt{\left(\frac{c_0 v_0 - c_b v_b}{v_0 + v_b} \right)^2 + 4K_e} \right] \quad \text{Équation 20}$$

Où C_0 est la concentration en ions hydronium H_3O^+ de la solution acide initiale, V_0 son volume. C_b est la concentration en ions hydroxyde OH^- issus de la solution basique et V_b son volume injecté. K_e est le produit ionique de l'eau qui est égal à 10^{-14} à température ambiante. L'évolution de la valeur de pH est modélisée grâce au logiciel MATLAB, et comparée aux valeurs mesurées issues du capteur et d'une sonde pH commerciale Orion (Figures 22 et 23).

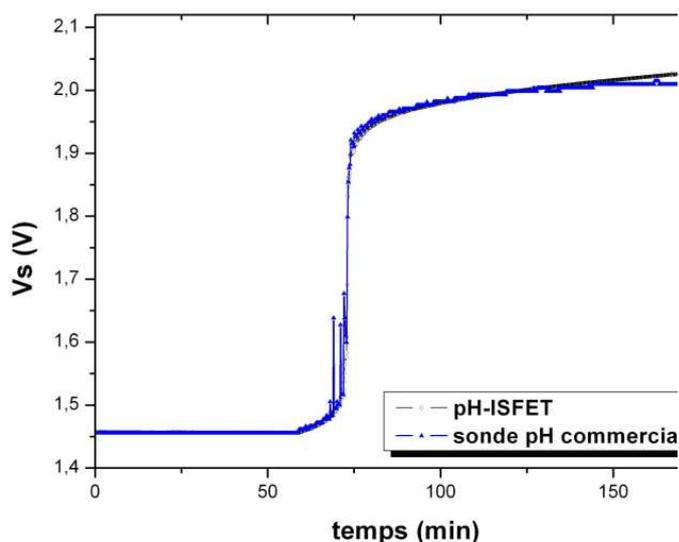


Figure 23: Tension de sortie du capteur pour une solution dont le pH varie de 2 à 12

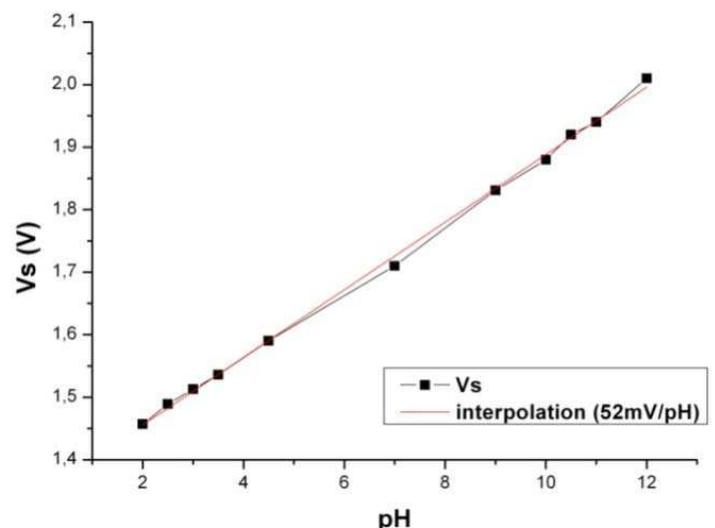


Figure 22: Sensibilité de l'ISFET pour une gamme de pH variant de 2 à 12

Le capteur présente une sensibilité de 52 mV/pH, et ce sur une large gamme de pH [2-12]. La sensibilité mesurée est légèrement plus élevée que celle obtenue "statiquement" avec différentes solutions tampons. Cette différence est très certainement liée à la composition de ces solutions tampons commerciales qui contiennent de nombreux ions, et particulièrement des ions sodium Na^+ et potassium K^+ , dont les concentrations sont inconnues. Le nitrure de silicium qui compose la couche sensible de l'ISFET est légèrement sensible à ces mêmes ions (environ 15 mV/pX) [18]. Par conséquent, la sensibilité au pH mesurée dans les solutions tampon commerciales peut être entachée d'une erreur.

I.4.C.b.ii Dérive temporelle

Les mesures de dérives temporelles ont été effectuées sur une durée de 5 jours dans une solution tampon commerciale de pH4, régulée en température à 25°C (Figure 25). Le bain est recouvert par un film opaque qui permet de s'affranchir des effets liés aux fluctuations de luminosité. Une électrode de référence commerciale Ag/AgCl en verre est utilisée. Les conditions de polarisation sont identiques aux expériences précédentes, à savoir: $V_{ds} = 2\text{V}$, et $I_{ds} = 100 \mu\text{A}$.

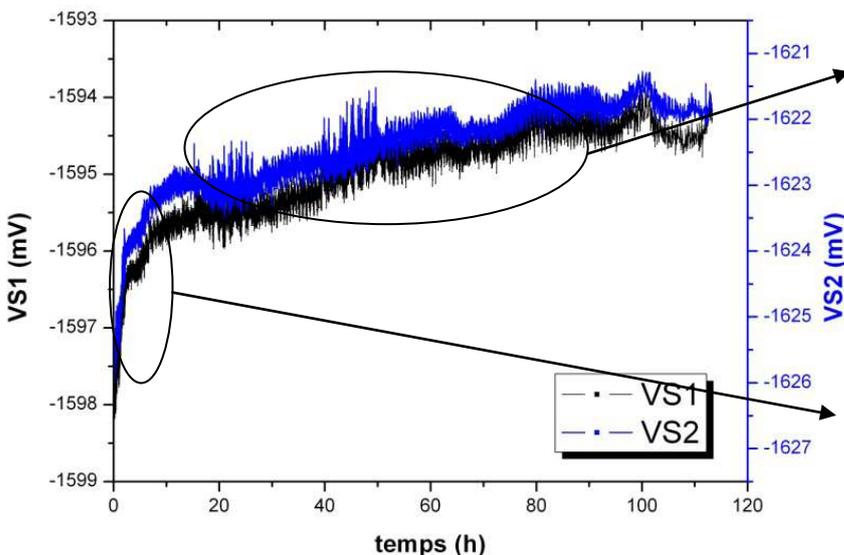


Figure 25: Dérives des deux sites ISFET

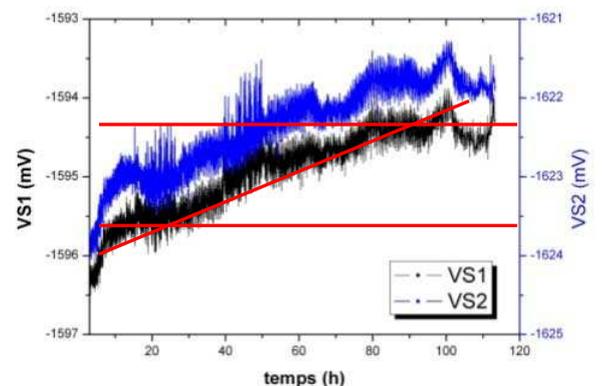


Figure 24: Dérive linéaire ($\approx 15 \mu\text{V/h}$)

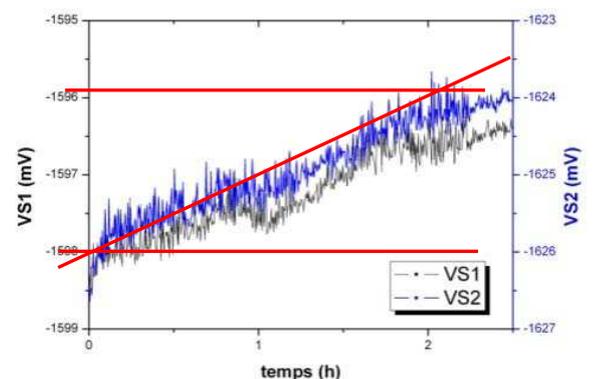


Figure 26: Dérive initiale ($\approx 0,8 \text{mV/h}$)

La dérive évolue en deux phases distinctes. Une phase initiale qui correspond aux deux premières heures, où la dérive est de l'ordre du millivolt par heure (Figure 26). S'ensuit une deuxième phase présentant une dérive quasi-linéaire, qui, plus faible (15µV/h), a tendance à s'annuler (Figure 24). D'après la littérature, la dérive temporelle des ISFET à grille Si₃N₄ est associée à la croissance d'une couche d'oxyde natif en surface du nitrure de silicium Si₃N₄ de l'ordre du nanomètre [19]. La capacité totale créée par l'isolant tendrait donc à diminuer avec le temps, et engendre, dans un système bouclé, une dérive de la tension de seuil tel que:

$$\Delta V_g(t) = -(Q_D + Q_I + Q_{inv}) \left(\frac{\epsilon_n - \epsilon_{HL}}{\epsilon_n \epsilon_{HL}} \right) x_{HL}(\infty) \left\{ 1 - \exp \left[- \left(\frac{t}{\tau} \right)^\beta \right] \right\} \quad \text{Équation 21}$$

Où Q_D et Q_{inv} représentent la charge contenue dans la zone de déplétion du semi-conducteur et la charge d'inversion, respectivement. Q_I est la charge effective induite dans le semi-conducteur par les différents types de charges qui peuvent être présents dans l'isolant (contamination des isolants de grille par du sodium, par exemple). ε_n et ε_{HL} représentent les constantes diélectriques du nitrure de silicium et de la couche d'oxyde natif, respectivement, et x_{HL} son épaisseur. τ est la constante de temps associée à la relaxation et β le paramètre de dispersion, ces deux composantes reflétant le transport de charges dans l'isolant et leurs dépendances temporelles.

Bien que de nombreuses approches aient été tentées pour résoudre ces problèmes de dérives, incluant notamment [20]:

- le conditionnement préalable du capteur dans une solution aqueuse afin de s'affranchir de la dérive initiale relativement importante,
- la correction de la dérive en utilisant des données de dérive in vitro préalablement stockées dans une mémoire (EPROM),
- la mise en pratique d'une mesure différentielle qui permet d'éliminer les dérives issues de phénomènes communs à un site ISFET et un site REFET,

il s'avère qu'en pratique, la meilleure solution consiste à connaître l'expression analytique de cette dérive pour la corriger numériquement.

Nous avons alors modélisé, via le logiciel Matlab, les dérives mesurées et ainsi extrait les paramètres propres aux couches de nitrure de silicium Si_3N_4 (Figure 27), suivant l'équation proposée par la littérature (cf. équation 21).

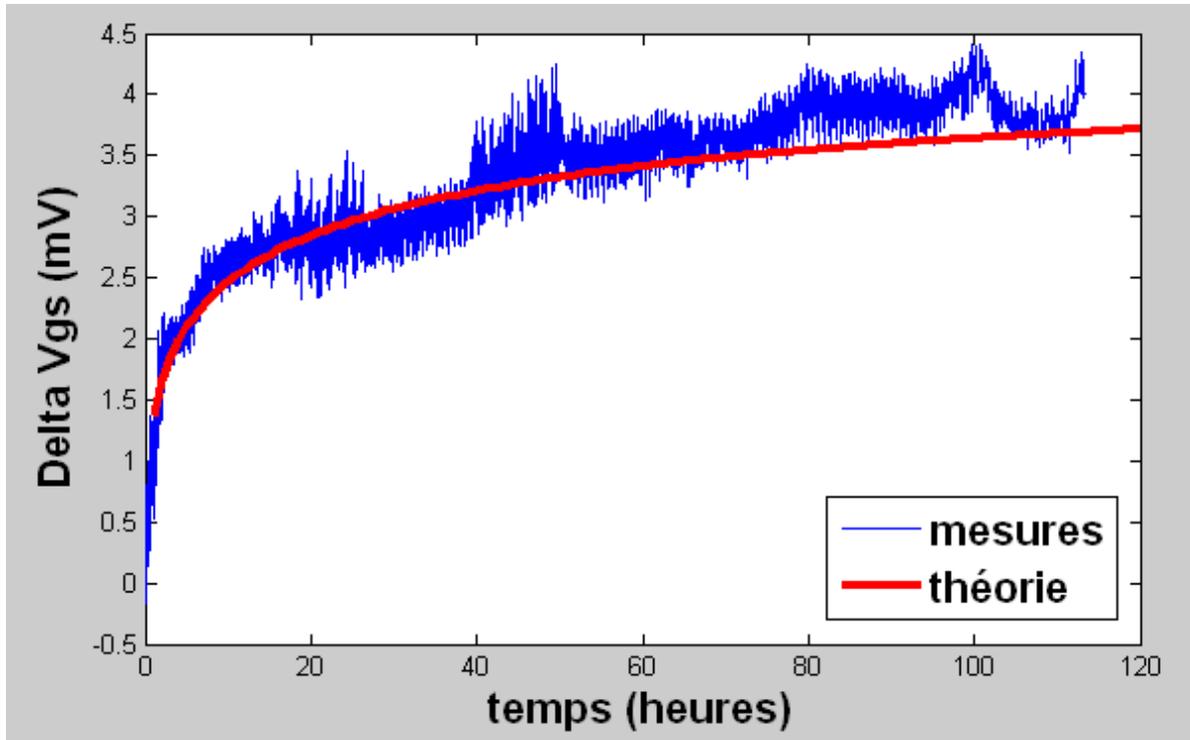


Figure 27: Modélisation de la dérive

Cependant, suite à la nature chronophage de ces manipulations (caractérisations effectuées pendant 5 jours), nous n'avons pu, faute de temps, analyser un nombre assez conséquent de mesures et ainsi comparer les paramètres entre capteurs. Cependant, les paramètres de modélisation sont représentatifs des couches sensibles et donc du processus technologique utilisé pour leur fabrication. Il serait alors possible de déterminer ces paramètres pour un même lot de capteurs.

Dès lors que le composant ISFET a été caractérisé dans son ensemble, nous avons pu intégrer, sur la partie sensible, des couches fines en polymère dans le but de modifier les propriétés de détection du composant et de le rendre ainsi sensible à l'ion sodium

II. Intégration des couches sensibles aux ions sodium Na⁺

Comme cela a été stipulé en fin de premier chapitre, nos travaux ont porté sur le développement de couches sensibles aux ions sodium Na⁺, déposées par des techniques de jet d'encre, en vue de la fabrication industrielle de capteurs pNa-ISFET. Cette méthodologie de dépôt constitue un procédé industrialisable qui garantit une reproductibilité optimale. Nous avons en premier lieu vérifié la validité du principe de fonctionnement en mettant au point la formulation des membranes. Les premières membranes réalisées, basées sur du polychlorure de vinyle (PVC), ont été déposées à la micropipette, manuellement (drop-coating), afin d'évaluer rapidement les performances des capteurs avant d'aller plus loin.

Les interactions chimiques en surface du film polymère sensible à l'ion sodium sont basées sur les mêmes hypothèses que la démonstration développée avec les couches en nitrure de silicium (Si₃N₄) (cf. § I.1.D). La démonstration complète est donnée dans l'annexe 2.

II.1. Dépôt de polychlorure de vinyle (PVC)

Le PVC est le polymère précurseur dans la confection de membranes sensibles ioniques dédiées à la détection de cations alcalins (principalement sodium et potassium) [21-22]. Nous l'avons utilisé logiquement dans un premier temps en tant que matrice. Le but était de s'assurer de la fonctionnalité du principe de mesure. Les ionophores utilisés dans la préparation de ce type de membrane adoptent une structure non-cyclique comportant des groupements amides aux extrémités. Commercialement dénommés ETH 2120 (N, N, N', N'-Tétracyclohexyl-1,2-phenylenedioxydiacetamide), ils montrent des performances satisfaisantes en vue de la détection des ions sodium [23].

II.1.A. Formulation des membranes PVC

Les membranes sont formulées de manière classique [24], à savoir: 100 mg de PVC, 200 mg de plastifiant (DOS (Bis-(2-ethylhexal) sebacate)) et 7 mg d'ionophores spécifiques au sodium (ETH 2120: N, N, N', N'-Tétracyclohexyl-1,2-phenylenedioxydiacetamide). Tous ces composés

sont dissouts dans 3 mL de THF (Tétrahydrofurane). La solution obtenue est finalement plongée dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes pour en parfaire l'homogénéité.

II.1.B. Intégration des membranes PVC

Une goutte d'environ 10 μL est déposée manuellement par micropipette sur la partie sensible de l'ISFET. La réticulation a lieu à température ambiante en 72 heures. Ensuite, les capteurs sont hydratés pendant 12 heures dans une solution de chlorure de sodium NaCl concentrée à 0,1 M avant mesure. Cette étape de conditionnement permet de diminuer la dérive initiale (cf. § I.4.C.b.ii).

II.1.C. Caractérisations des membranes PVC

Une première série de mesures a été effectuée dans le but de déterminer si le système complet (ISFET-mètre + capteur) était fonctionnel dans la gamme de détection de l'ion sodium. Pour ce faire, nous avons utilisé des solutions de NaCl à des concentrations différentes contenant également de l'acétate de lithium (CH_3COOLi - 0,1M) qui permet de fixer la force ionique des solutions. L'électrode Ag/AgCl commerciale est utilisée en guise de référence. Les résultats sont présentés dans les courbes suivantes (Figures 28 et 29):

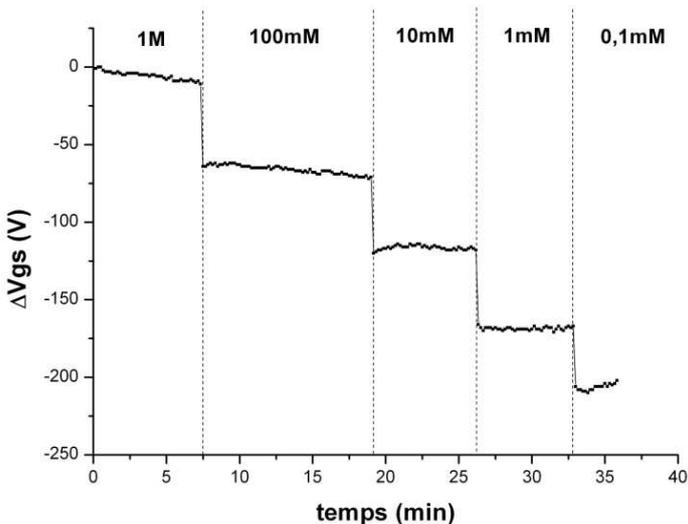


Figure 29: Signal temporel issu de l'ISFET-mètre (cf. § I.3.B) en fonction de la concentration en NaCl

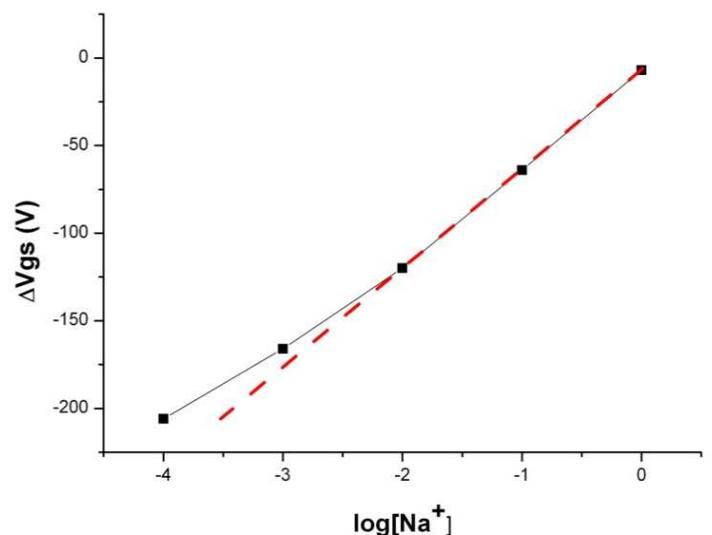


Figure 28: sensibilité du pNa-ISFET

Le principe de mesure est fonctionnel, bien qu'une optimisation s'avère nécessaire. Une déviation de la droite pseudo-nernstienne (50 mV/pNa) apparaît pour des concentrations inférieures à 10 mM. Nous considérons donc que la limite de détection basse est égale à 10 mM, ce qui correspond à des performances de détection relativement faibles par rapport à la littérature [25]. De plus, le signal est quelque peu instable, bien que les capteurs aient été préalablement hydratés. De surcroît, dans une optique d'intégration industrielle de couches sensibles à base de PVC, les phénomènes liés à l'évaporation quasi-instantanée du solvant (THF) à l'air libre posent de gros problèmes pratiques lors du dépôt des gouttes. En effet, à cause de la présence du plastifiant, la matrice PVC devient rapidement trop visqueuse pour pouvoir être déposée par des techniques de jet d'encre et ne permet pas d'assurer une intégration reproductible. De plus, l'accroche de la matrice sur la puce n'est pas optimale car elle ne confère aux capteurs qu'une durée de vie de l'ordre de 3 jours [26-28]. Cette caractéristique ne rend pas possible l'utilisation de ce capteur pour des mesures longues (supérieures à une semaine), mais autorise une application à usage unique.

II.1.D. Conclusion

L'usage de plastifiant, nécessaire à la formulation de membranes PVC afin d'abaisser la température de transition vitreuse du polymère, confère à la matrice des propriétés physicochimiques qui garantissent des performances de détection. Néanmoins, les problèmes qui en découlent ne nous permettent pas d'envisager une intégration de ce type de membranes par jet d'encre. C'est pourquoi nous avons évalué les performances d'une autre famille de matrices polymères qui ne nécessite pas l'utilisation d'un plastifiant: les polysiloxanes [29]. Ces polymères ont la particularité de posséder une température de transition vitreuse plus faible que celle du PVC, et présentent des caractéristiques similaires à température ambiante. Simultanément, nous avons optimisé la formulation de ces prochaines membranes par des ionophores plus performants dans le but d'améliorer la sensibilité.

II.2. Dépôt de polysiloxane (PSX)

Dans l'optique d'améliorer les performances électrochimiques des capteurs (sensibilité, sélectivité, limite de détection et durée de vie) et de s'affranchir des problèmes liés à la nature des membranes en PVC précédemment décrites, la formulation des membranes a été optimisée pour permettre l'intégration de ces couches sensibles par des techniques de jet d'encre. Les ionophores non-cycliques ont été remplacés par des calixarènes, bénéficiant d'une synthèse plus récente entraînant une forte affinité chimique envers l'ion ciblé (cf. chapitre 1, § IV.2.B), en l'occurrence l'ion sodium Na^+ . Ils permettent, par conséquent, d'obtenir des performances électrochimiques supérieures (notamment en termes de sensibilité et de sélectivité [30]). La matrice PVC a en parallèle été remplacée par une matrice en polysiloxane (PSX), plus précisément en polydiméthylsiloxane à terminaisons silanol (PDMS-silanol terminated) [31]. Sa structure est illustrée ci-dessous (Figure 30):

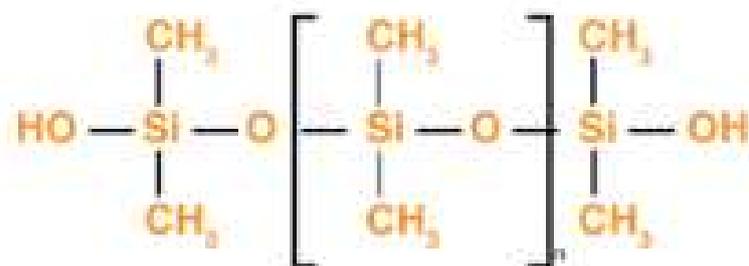


Figure 30: Structure du polydiméthylsiloxane à terminaisons silanol

Ce polymère est caractérisé par une faible température de transition vitreuse et ne nécessite donc pas l'usage de plastifiants. La formation de liaisons entre les groupements silanols de l'oxyde natif formé à la surface du nitrure de silicium Si_3N_4 et ceux du polymère permet une excellente accroche de la membrane sur le capteur [32]. Des additifs ioniques, dérivés de phenylborates, permettant d'accroître la sélectivité de la membrane obtenue mais également d'abaisser sa résistance électrique (ayant pour conséquence une réponse plus rapide), ont été incorporés à la formulation de ces dernières membranes [33].

II.2.A. Formulation des membranes PSX

La formulation des membranes à base de polysiloxane est la suivante [34-35]: 170 mg de siloprène K-1000 (Polydimethylsiloxane), 20 mg d'agent réticulant K-11, 14 mg d'ionophores sodium (sodium ionophore X: 4-tert-Butylcalix[4]arene-tetraacetic acid tetraethyl ester) et 7 mg d'additifs ioniques (Sodium tetrakis [3,5-bis(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-methoxy-2-propyl)phenyl]borate trihydrate). Ces composés sont dissouts dans 3 mL de THF et plongés dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes, pour les mêmes raisons évoquées lors de la formulation des précédentes membranes PVC (*cf.* § II.1.A).

II.2.B. Intégration des membranes PSX

Ces membranes ont été déposées de la même manière que les membranes précédentes en PVC (*cf.* II.1.A). Après réticulation à température ambiante (72 heures), les capteurs sont conditionnés pendant 12 heures (avant mesure) dans une solution concentrée à 100 mM en NaCl, afin de s'affranchir de la dérive initiale (*cf.* § II.1.B).

II.2.C. Caractérisations des membranes PSX

Nous avons effectué une série de caractérisations en reprenant les mêmes conditions que pour la précédente étude. En premier lieu, nous avons déterminé la limite de détection de ces nouvelles membranes. Nous avons employé une électrode de référence identique aux précédentes expériences (*cf.* § I.4.C et § II.1.C).

II.2.C.a. Limite de détection

Les solutions utilisées sont composées de (respectivement): 10^{-5} , 10^{-4} , 10^{-3} , 10^{-2} , 10^{-1} et 10^0 M de NaCl. Chacune d'elles contient également 0,1 M de CH_3COOLi (*cf.* § II.1.C) afin de stabiliser la force ionique. La courbe montre le logarithme de la concentration en ions sodium en fonction de la tension de sortie. La réponse du capteur est représentée dans la figure ci-dessous (Figure 31).

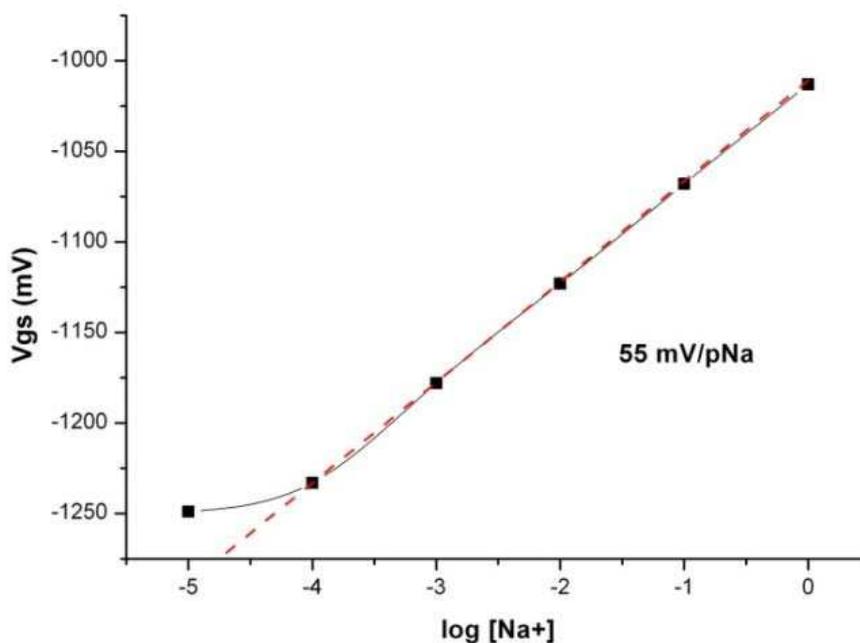


Figure 31: Réponse du capteur en fonction du logarithme de la concentration en sodium

De prime abord, ces nouveaux capteurs montrent une sensibilité linéaire de 55 mV/pNa sur la gamme de concentration en ions sodium située entre 10^{-4} et 10^0 M. Même si cette valeur est inférieure à celle prévue par la loi de Nernst (59 mV/pNa), elle reste néanmoins acceptable. La sensibilité obtenue ici est supérieure de 5 mV par rapport à la sensibilité obtenue via des membranes en PVC (cf. § II.1.C). Pour affiner les mesures de sensibilité, nous avons choisi de rétrécir la gamme de concentration en ions sodium, c'est-à-dire entre 10^{-2} et 10^{-1} M, ce qui correspond grossièrement à la gamme de concentration en sodium dans la sueur [36], afin de vérifier la concordance des performances des capteurs ainsi réalisés avec l'application envisagée.

II.2.C.b. Sensibilité

Les solutions utilisées contiennent chacune de l'acétate de lithium (0,1 M) (cf. § II.1.C) ainsi que du chlorure de sodium (à des concentrations de 10, 20, 30, 50, 80 et 100 mM). La mesure de la sensibilité du capteur sur une gamme comprise entre 10 et 100 mM est reportée dans les figures 32 et 33.

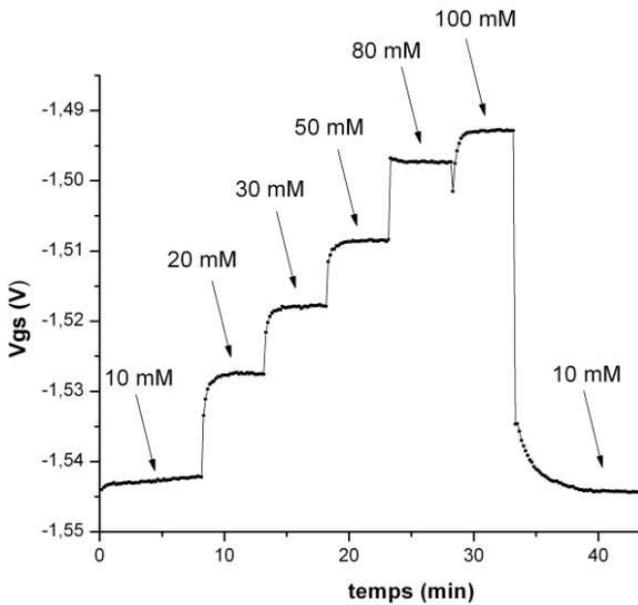


Figure 33: Signal temporel issu de l'ISFET-mètre en fonction de différentes concentrations de NaCl

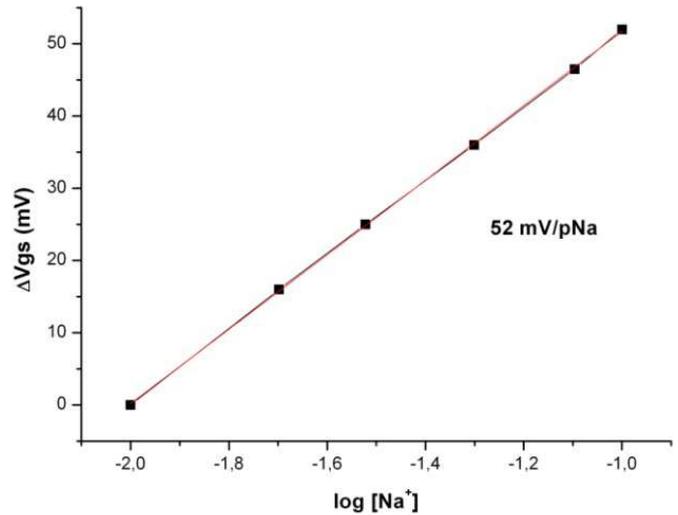


Figure 32: Réponse du capteur en fonction du logarithme de la concentration molaire

Bien que ce capteur présente une bonne linéarité sur la gamme de mesure [10^{-2} - 10^{-1} M], la valeur de sensibilité (52 mV/pNa) est légèrement inférieure à la valeur obtenue pour la caractérisation précédente, lors de la détermination de la limite de détection basse (55 mV/pNa). Cette observation soulève un problème de reproductibilité, inhérent à la méthode d'intégration (*cf.* § II.2.B), car ces deux dernières caractérisations (limite de détection et sensibilité) n'ont pas été effectuées avec le même capteur. La reproductibilité étant un facteur dépendant de la technique de dépôt des membranes, nous reprendrons ce point plus en détail (*cf.* § II.2.C.f). A ce stade des caractérisations, nous avons jugé plus pertinent de poursuivre l'étude des performances électrochimiques, et notamment de la sélectivité.

II.2.C.c. Sélectivité

Même si ce capteur, comme nous venons de le voir, présente une bonne réponse à la concentration des ions ciblés, il est important de s'assurer de sa sélectivité, critère déterminant pour la mesure d'un fluide complexe. Il permet d'évaluer la capacité du capteur à mesurer l'ion ciblé en présence d'ions interférents dans une même solution d'analyse. Dans le cadre de cette thèse, et, comme nous le verrons dans le prochain chapitre, dans le cas de l'analyse de l'ion sodium dans un fluide biologique tel que la sueur (donc plus

précisément dans un fluide extracellulaire), la littérature propose un coefficient de sélectivité envers le potassium de telle sorte que [37]:

$$\log K_{Na^+/K^+} < -0,6 \quad \text{Équation 22}$$

Nous avons focalisé les mesures de sélectivité sur l'ion potassium, car il est le cation interférent majoritaire dans la sueur (valeur moyenne de l'ion sodium: 38 mmol.l⁻¹, valeur moyenne de l'ion potassium: 4,5 mmol.l⁻¹) [38]. La méthode choisie pour caractériser cette sélectivité est la méthode à interférence fixe (FIM, cf. Chapitre 1, § V.3). Elle présente l'avantage de ne pas à avoir à changer le capteur de solution, ce qui est bénéfique du point de vue manipulation. La concentration en ions sodium augmente alors que la concentration en ions interférents (potassium) reste constante, en l'occurrence 100 mM. Les variations de potentiel issues du capteur sont retracées en fonction du logarithme de la concentration molaire en ions sodium. L'intersection de l'interpolation de la partie linéaire (nernstienne) de ce graphe avec l'axe des abscisses indique un coefficient, noté c_i . Le rapport de ce coefficient avec le coefficient c_j , lié à la concentration en ions interférents, à savoir en ions potassium, est noté K , et le logarithme s'écrit:

$$\log K_{Na^+/K^+} = \log \frac{c_i}{c_j} \quad \text{Équation 23}$$

Les mesures ont été effectuées dans des solutions contenant de l'acétate de lithium à une concentration de 0,1 M, afin de garder la force ionique constante (cf. § II.1.C). L'augmentation de la concentration en ions sodium à été gérée par des doseurs automatiques (Metrohm DOSIMAT 765). Les mesures sont reportées figure 34.

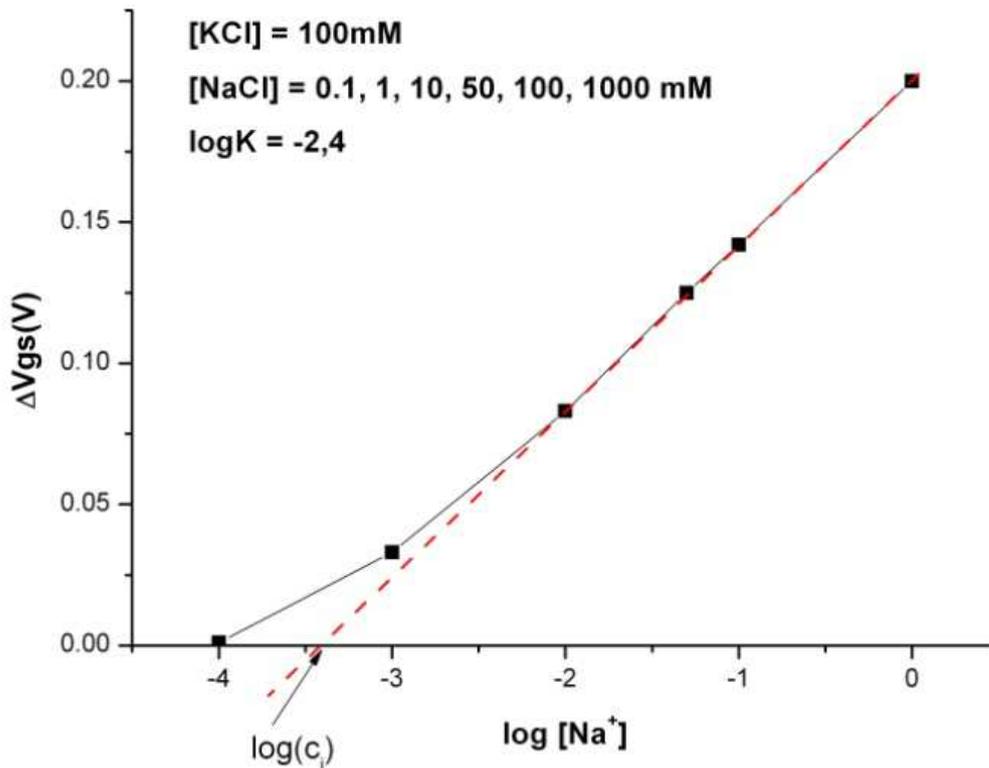


Figure 34: Courbe de sélectivité

D'après ces résultats, nous pouvons calculer le coefficient de sélectivité obtenu pour ce type de membranes:

$$\log K_{Na^+/K^+} = \log \frac{c_i}{c_j} = \log \frac{10^{-3,4}}{0,1} = -2,4 \quad \text{Équation 24}$$

Ce coefficient est bien inférieur à -0,6, il remplit donc largement les conditions de sélectivité nécessaires à la mesure du sodium dans un fluide biologique.

Pour compléter l'étude des interférences, nous avons estimé l'influence du pH sur la réponse du capteur. Le pH d'une solution, variant de 2 à 12 tout en conservant une concentration en ions sodium constante (100 mM) a été mesuré par un même capteur comportant une puce fonctionnalisée avec ces dernières membranes (site 1), et une puce vierge, sensible au pH (site 2). Des solutions identiques à celles ayant permis la mesure de la sensibilité de l'ISFET au pH ont été utilisées: HCl et TMAH (cf. § I.4.C.b.i). Ces mesures sont décrites dans la figure 35.

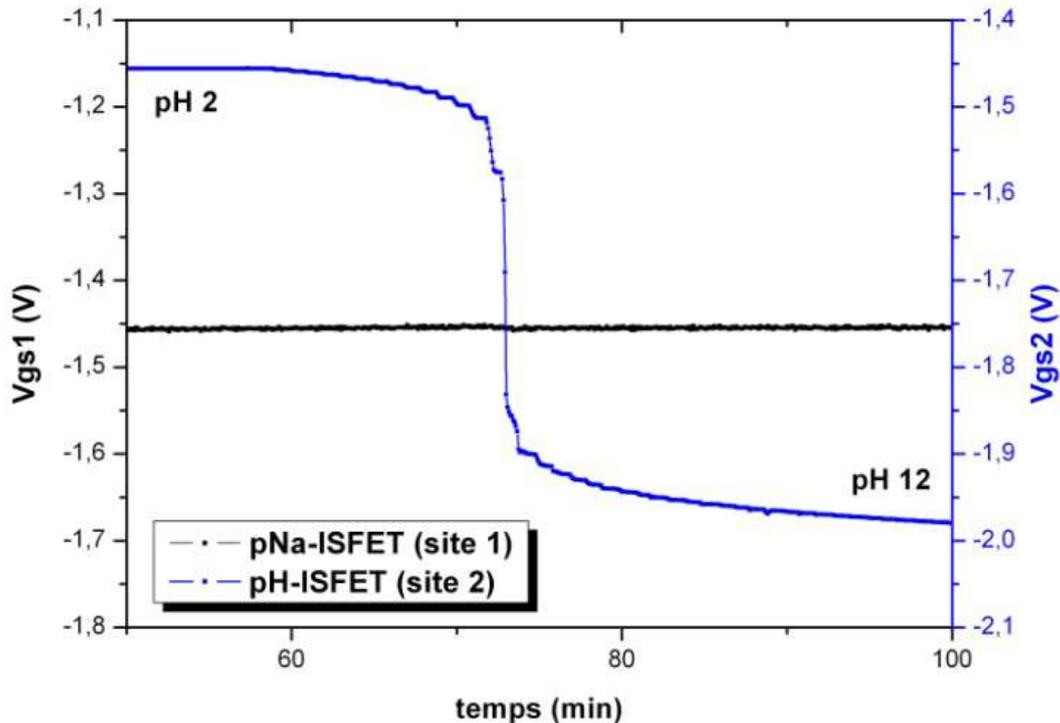


Figure 35: Réponse du pNa-ISFET et du pH-ISFET à une variation de pH de 2 à 12, à concentration en sodium constante (0,1M)

Le site pH-ISFET présente une sensibilité linéaire en pH sur toute la gamme mesurée (pH [2-12]), identique aux caractérisations précédentes (*cf.* § I.4.C.b.i), à savoir 52mV/pH. Le site fonctionnalisé par la membrane sélective au sodium présente une très faible variation due au pH. Nous constatons une augmentation de la tension de seuil de ce site pNa-ISFET de 3 mV, correspondant à une sensibilité de 0,3 mV/pH. Ces résultats démontrent que la dépendance des capteurs pNa-ISFETs aux variations de pH sont négligeables devant la sensibilité au sodium (l'erreur maximale engendrée par les variations de pH est de 0,5% par rapport à la valeur de la concentration en ions sodium mesurée) et peuvent donc concrètement être utilisés en vue de la détection de l'ion sodium Na^+ .

Au total, les performances électrochimiques de ces membranes s'avèrent être satisfaisantes dans le cadre de l'analyse de l'ion sodium dans le fluide biologique qu'est la sueur, grâce à:

- une sensibilité linéaire dans la gamme de détection envisagée (10^{-2} à 10^{-1} M, *cf.* § II.2.C.b),
- un faible coefficient de sélectivité vis-à-vis de l'ion potassium, traduisant une interférence négligeable ($\log K = -2,4$, *cf.* § II.2.C.c),

- une indépendance quasi-totale envers le pH (0,3 mV/pH).

Finalement, bien que les résultats obtenus satisfassent les conditions de mesures in-vitro, nous avons poussé l'étude de ces capteurs au niveau de leur mise en œuvre pratique, tant d'un point de vue utilisation que fabrication. Concernant l'utilisation, les études précédentes s'appuyaient sur des mesures réalisées après conditionnement préalable des capteurs (*cf.* § II.1.B), qui étaient hydratés dans des solutions contenant du chlorure de sodium. Ceci rend compte d'un dispositif engendrant des contraintes de fabrication trop fortes. Nous avons donc effectué des mesures sur des capteurs non conditionnés (directement sortis d'assemblage) pour étudier leurs comportements (*cf.* § II.2.C.d). Les critères métrologiques fondamentaux de tout capteur (répétabilité, reproductibilité) sont inhérents à leur technique de fabrication. En l'occurrence, la méthode de dépôt des membranes sensibles a été prise en compte (*cf.* § II.2.C.e et § II.2.C.f).

II.2.C.d. Dérive temporelle

Lors de mesures effectuées sans conditionnement préalable, un temps de stabilisation important est observé (Figure 36).

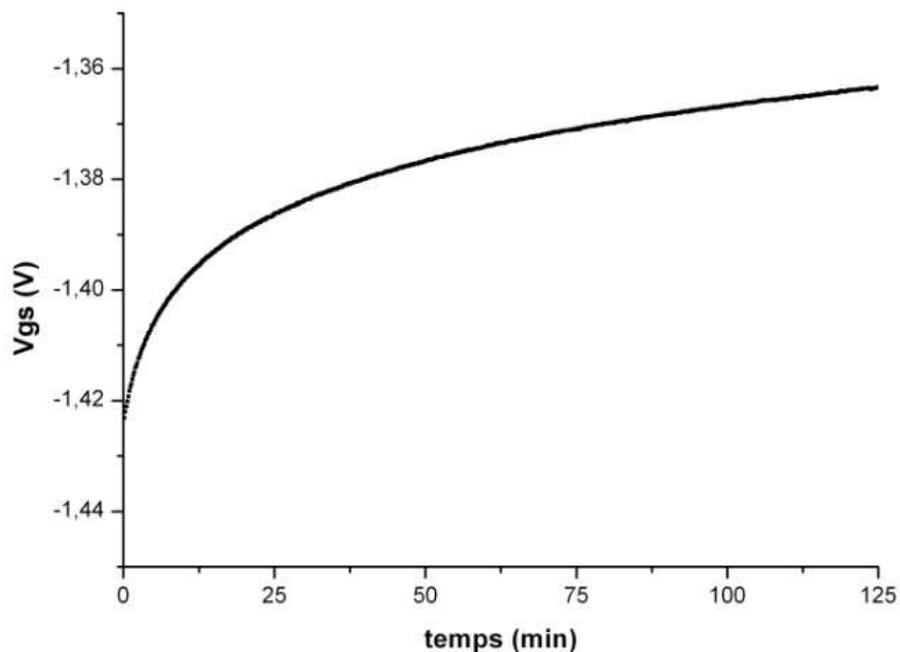


Figure 36: Hydratation d'un capteur

Cette constatation est problématique car ce cas de figure correspond à une utilisation réaliste du capteur par un usager potentiel. Lorsque ce temps de "stabilisation" est atteint (environ 2 heures), le signal dérive d'environ 1 mV par heure. Toutefois, l'ordre de grandeur de la dérive est acceptable. De plus, elle est quasi-linéaire et peut être facilement compensée par un traitement électronique. Le temps de stabilisation est lié à la grande résistivité de la membrane, qui, associée à la capacité totale du dispositif ChemFET, introduit dans un système bouclé une constante de temps élevée. La première idée pour palier à ce problème d'hydratation serait de pré-conditionner le capteur dans une solution aqueuse (*cf.* § I.4.C.b.ii). D'une part, cette solution entraîne des difficultés industrielles de fabrication et n'est donc pas envisageable dans une optique d'industrialisation à faible coût. D'autre part, comme les capteurs ChemFET sont des dispositifs actifs dont le fonctionnement est étroitement lié à l'instrumentation qui leur est dédiée, une immersion passive dans une solution ne suffirait pas à s'affranchir de ces phénomènes d'hydratation.

En parallèle des problèmes liés à l'utilisation des capteurs, nous avons déterminé les performances métrologiques telles que la répétabilité et la reproductibilité avant de s'orienter vers un quelconque axe d'amélioration.

II.2.C.e. Répétabilité

Critère métrologique essentiel, la répétabilité rend compte de l'étroitesse de l'accord de mesures successives du même mesurande pour des conditions expérimentales similaires [39]. En l'occurrence, nous avons mesuré successivement et par trois fois la réponse d'un capteur immergé dans des solutions de chlorure de sodium, dont les concentrations respectives sont de 10, 50 et 100 mM. Les résultats relatifs à cette expérimentation sont illustrés dans la Figure 37.

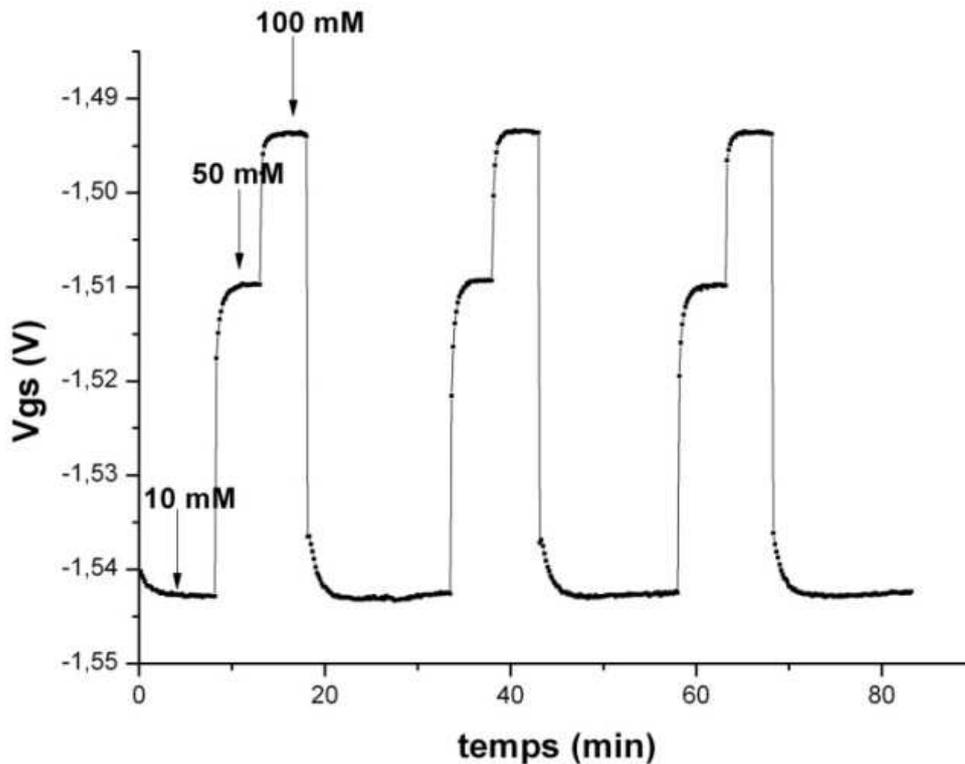


Figure 37: Evaluation de la répétabilité du capteur

Les potentiels de source issus du capteur sont regroupés dans le tableau 2 en fonction du mesurande (concentration molaire en ions sodium).

Mesurande	Mesures (mV)			Ecart-type
	1	2	3	
10 mM	1542,7	1542,5	1542,4	0,15275252
50 mM	1509,7	1509,3	1509,8	0,26457513
100 mM	1493,6	1493,5	1493,6	0,05773503

Tableau 2: Réponses du capteur en fonction de différents mesurandes

La déviation maximale entre la valeur vraie et la valeur mesurée correspond à la précision de mesure. Sur la gamme de mesure étudiée [10-100mM], la précision de mesure minimale est égale à $\pm 0,005\text{pNa}$ ($\pm 0,5\%$). Pour des valeurs extrêmes, cela correspond à une erreur de mesure de $\pm 0,5\text{mM}$ pour une valeur mesurée de 100mM, et de $\pm 0,05\text{mM}$ pour une valeur mesurée de 10mM. Cette précision est du même ordre de grandeur que pour les électrodes en verre commerciales. Les résultats sont donc conformes aux attentes.

II.2.C.f. Reproductibilité

La reproductibilité diffère de la répétabilité dans le sens où elle est liée à une variabilité inter-capteurs. Industriellement, c'est une notion déterminante qui est étroitement associée à la qualité des processus de fabrication des capteurs. Dans le cas présent, c'est la technique de dépôt des membranes qui est le facteur principal caractérisant la reproductibilité. Les réponses de trois capteurs (fonctionnalisés par des méthodes de dépôt de gouttes manuels (cf. § II.2.B)) à trois solutions de chlorure de sodium NaCl (concentrations de 10, 50 et 100 mM) ont été mesurées et sont présentées dans la Figure 38.

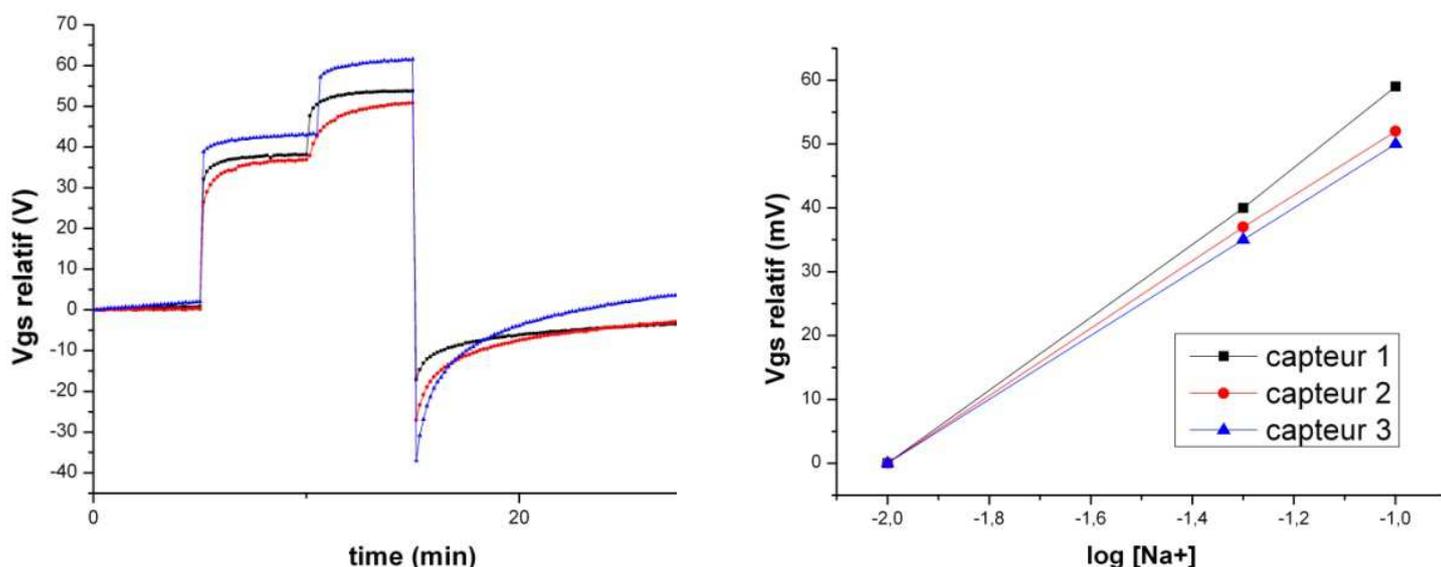


Figure 38: Evaluation de la reproductibilité

Des variations de sensibilité (50 à 59 mV/pNa) ainsi que de temps de réponse sont observées. Elles sont dues aux différences d'épaisseur des membranes. Cette non-uniformité des valeurs de sensibilité est un obstacle majeur à la commercialisation des capteurs: une caractérisation "usine" afin d'extraire les paramètres de sensibilité propres à chaque capteur s'avèrerait nécessaire. Cependant, cette solution occasionnerait des contraintes de fabrication et de mise en œuvre inappropriées par rapport aux objectifs de ce projet. Comme les conditions de dépôt de la couche sensible en polymère ne présentent pas de performances satisfaisantes en terme de reproductibilité, il est préférable d'optimiser le

procédé de dépôt au sein de la phase de fabrication des capteurs, en vue d'une intégration industrielle. Toutefois, une calibration avant l'utilisation du capteur reste une option envisageable.

II.2.D. Conclusion

Le développement de matrices polymère à base de polysiloxane a permis, en premier lieu, d'améliorer les performances électrochimiques des dispositifs réalisés (sensibilité et sélectivité accrues) par rapport aux précédentes membranes constituées de PVC. De plus, utilisables sans plastifiant, ces polysiloxanes autorisent une intégration par jet d'encre, chose qui était auparavant impossible (*cf.* § II.1.C). Toutefois, deux problèmes majeurs demeurent. D'une part, la structure moléculaire confère aux couches sensibles obtenues une résistivité électrique trop importante pour afficher des performances optimales au sein d'un système bouclé, car elle augmente le temps de stabilisation (*cf.* chapitre 1, § VI.2.D). D'autre part, la technique de dépôt manuel à effectivement mis en relief un problème de reproductibilité ne permettant pas d'obtenir des membranes dont l'épaisseur est maîtrisée. Nous avons donc décidé d'optimiser la formulation des couches sensibles par le développement d'un autre type de polysiloxane: le fluoropolysiloxane, qui présente une résistance électrique plus faible (*cf.* chapitre 1, § VI.2.A) puis de développer un système de dispense par jet d'encre afin de solutionner les problèmes de reproductibilité, intrinsèques à la topologie des membranes.

II.3. Dépôt de fluoropolysiloxane (FPSX)

Ces dernières membranes sont formulées à partir d'un adhésif fluorosilicone (DOW CORNING® 730), qui procure une accroche similaire à un polysiloxane classique, tout en diminuant sa résistivité électrique par rapport à ce dernier. Alors que le polysiloxane possède une constante diélectrique située entre 2,5 et 3, l'ajout de groupes chargés négativement (groupes cyanopropyl ou trifluoropropyl) permet l'augmentation de cette constante jusqu'à 15. Ainsi, d'après la littérature, un polymère dont la constante diélectrique

se situe entre 4 et 15 favorisera les phénomènes réversibles à l'interface (dissociations de paires d'ions) et offrira des performances électrochimiques optimales [40].

II.3.A. Formulation des membranes FPSX

Ces membranes sont formulées de la manière suivante [41]: 300 mg de fluoropolysiloxane (Dow Corning 730) sont dissouts dans 1,5 mL de THF *cf.* § II.1.A). Cette préparation, est ensuite centrifugée dans le but de séparer le polymère du durcisseur, sans quoi, le fonctionnement de la membrane ne serait pas optimal. 10 mg d' ionophores sodium (sodium ionophore X: 4-tert-Butylcalix[4]arene-tetraacetic acid tetraethyl ester) et 5 mg d'additifs ioniques (Sodium tetrakis [3,5-bis(1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-methoxy-2-propyl)phenyl]borate trihydrate sont incorporés au polymère précédemment extrait. La préparation est ensuite plongée dans un bain à ultrasons pendant 30 minutes afin d'assurer l'homogénéité de la solution.

II.3.B. Intégration des membranes FPSX

Dans une optique d'intégration industrielle et pour solutionner les problèmes de reproductibilité inhérents aux techniques de dépôt manuel, nous avons développé un prototype de dispense par jet d'encre qui permettra le dépôt de couches sensibles de manière reproductible.

II.3.B.a. Réalisation du prototype de jet d'encre

Le prototype repose sur un kit de dispense "IKTX0322000AC" fourni par la société LEE Company. Ce kit prévoit une électrovanne dédiée aux systèmes de micro-dispense ainsi qu'un dispositif de commande intégrant une protection électronique et des tubulures spécifiques. Les électrovannes classiques disponibles étant composées de chambres en polymères, il était évident qu'un liquide principalement composé d'un solvant organique

(THF) les détruirait littéralement. Nous avons donc travaillé sur un modèle de vanne développé par la société LEE Company qui est composé de chambres en céramique et a ainsi permis de déposer des membranes à base de THF avec succès, comme nous le verrons par la suite. L'électrovanne est composée d'une partie mobile qui, sous l'action d'un champ magnétique créé par un solénoïde, va autoriser le passage d'un fluide mis sous pression (Figure 39).

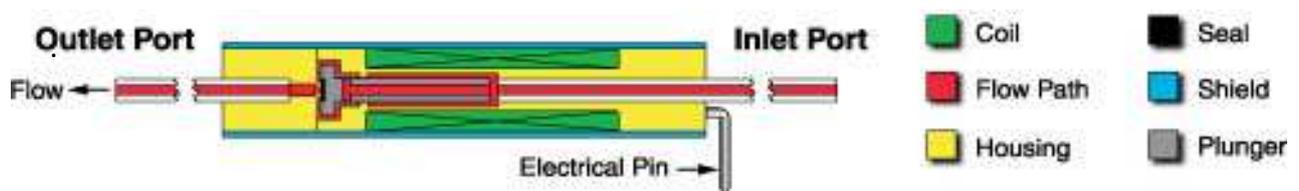


Figure 39: Coupe transversale d'une électrovanne [42]

Le prototype de dispense réalisé est basé suivant le schéma architectural suivant (Figure 40):

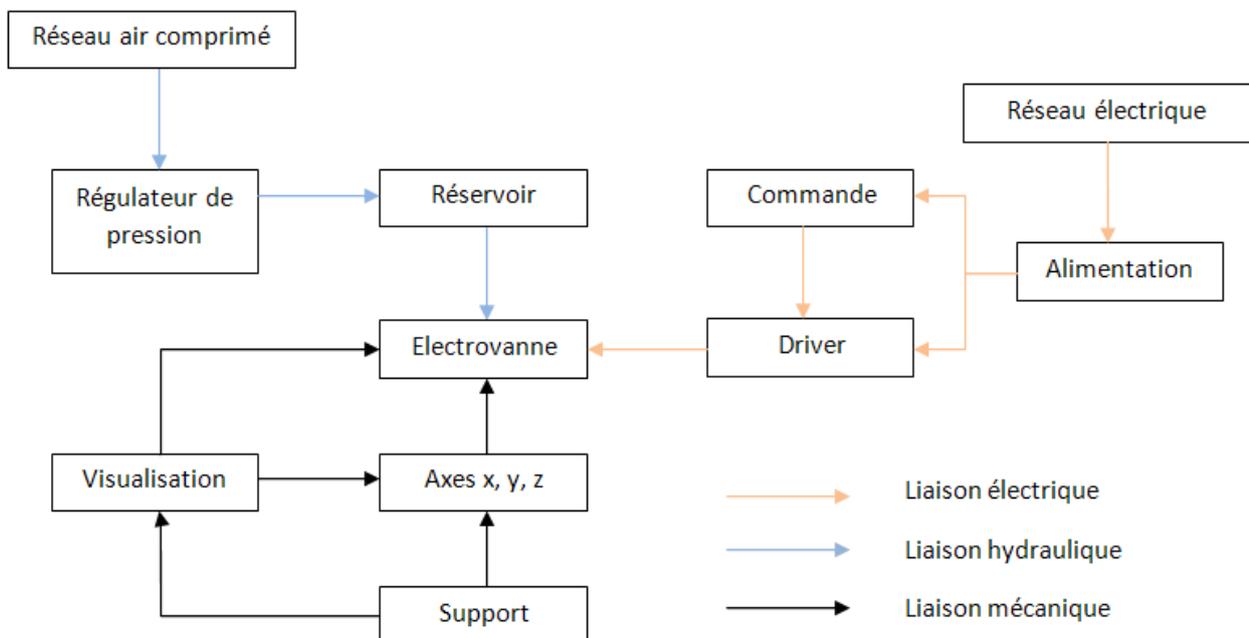


Figure 40: Schéma architectural du prototype de dispense

Une carte électronique, dédiée au contrôle du signal de commande qui gère l'ouverture et la fermeture de l'électrovanne a été développée par mes soins. Le cœur de cette carte est basé sur un microcontrôleur (MICROCHIP PIC24®). Les photographies ci-dessous présentent le prototype réalisé (Figures 41 et 42):



Figure 41: Prototype de dispense, vue de face

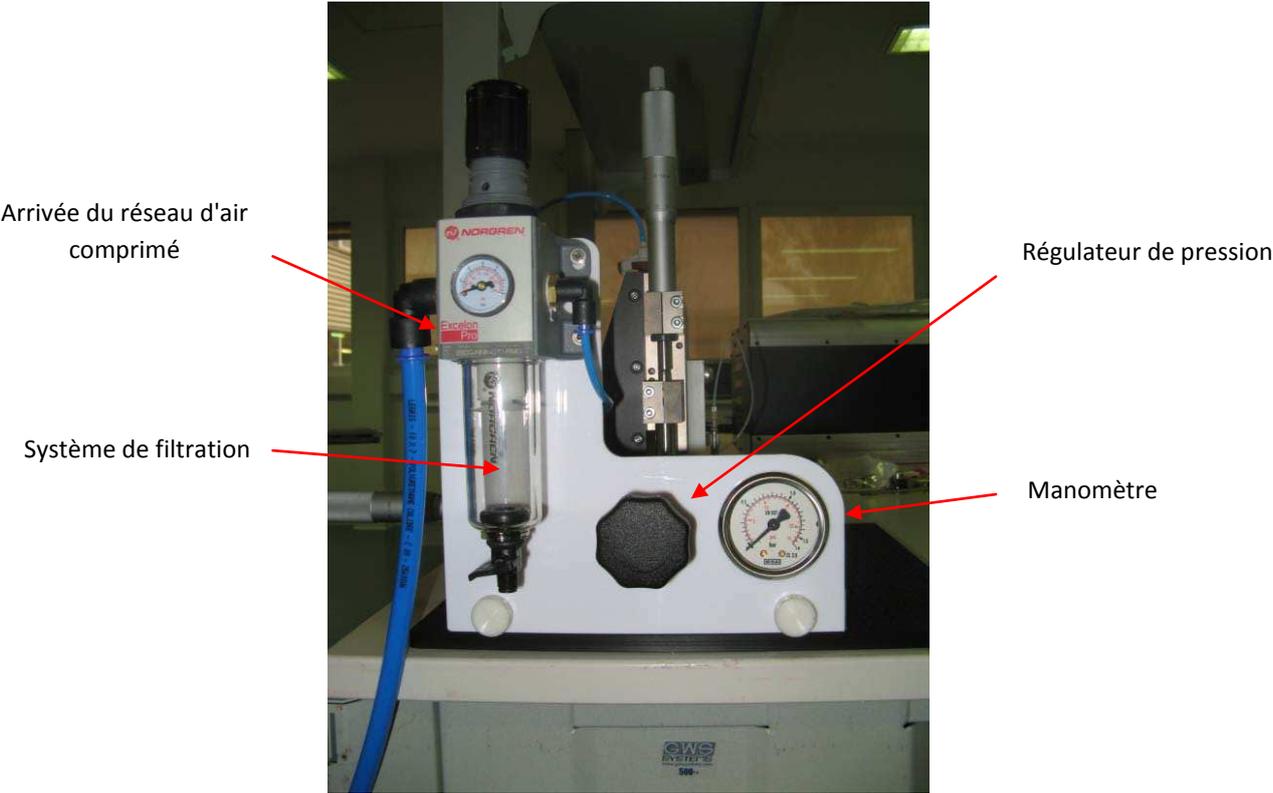


Figure 42: Prototype de dispense, vue de côté

II.3.B.b. Etude du procédé de dépôt par jet d'encre

Le volume de la goutte déposée à l'aide du prototype développé dépend de plusieurs facteurs:

- pression du fluide,
- temps d'éjection (ouverture de l'électrovanne),
- diamètre de la buse d'éjection,
- viscosité du polymère.

Chaque paramètre a été déterminé expérimentalement afin d'obtenir la topologie de membrane désirée. Nous avons décidé d'utiliser une buse d'éjection classique (127 μm de diamètre). D'après les contraintes géométriques de la surface de grille du ChemFET, la membrane devra recouvrir entièrement une surface rectangulaire de 0,256 mm^2 . Ainsi, d'après calculs, le diamètre minimum d'une telle goutte est de 750 μm . Le diamètre maximum ne devra pas dépasser 1 mm, auquel cas la membrane risque de se déposer de manière incontrôlée sur les flancs de la puce. Pour parvenir à contrôler le dépôt d'une goutte satisfaisant cette condition, nous avons étudié l'influence des divers paramètres d'éjection en considérant la topologie des membranes déposées sur un substrat de borosilicate (PIREX®). Ce type de support possède des propriétés de surface adéquats pour effectuer des mesures par profilométrie.

Dans un premier temps, la fiabilité du système a été estimée et vérifiée par le dépôt de 19 membranes selon des conditions identiques (temps d'éjection = 1ms, pression = 5 PSI (34,47379 KPa)). Les membranes ont été mesurées après réticulation complète (72 heures) à l'aide d'un profilomètre à contact (KLA TENCOR P15). La transparence du polymère déposé n'a pas permis l'utilisation d'un profilomètre optique. Les difficultés liées à la technique de caractérisation par profilométrie à contact (le diamètre et l'épaisseur des membranes étant mesurés via une coupe transversale, Figures 43 et 44) ont pu entraîner des erreurs de mesure du fait de mesurer une tranche transversale passant précisément par le centre de la goutte. Ces incertitudes de mesure ne sont pas amputables à la reproductibilité du système de dépôt.

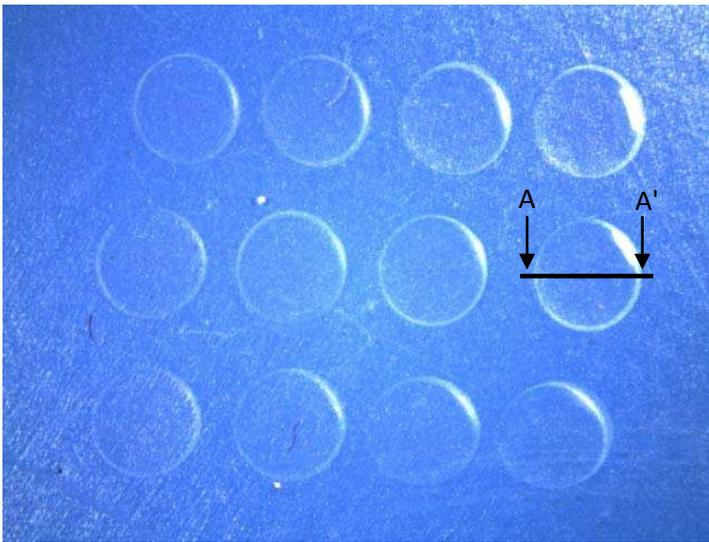


Figure 43: Matrice de membranes déposées sur substrat PYREX

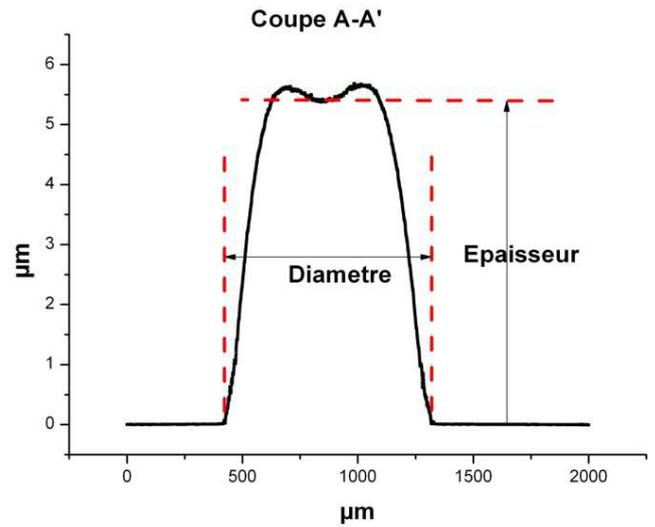


Figure 44: Coupe transversale d'une membrane

Ainsi, sur 19 membranes mesurées, le diamètre est de $930 \mu\text{m}$ ($\pm 30 \mu\text{m}$) et l'épaisseur de $5,4 \mu\text{m}$ ($\pm 0,25 \mu\text{m}$). Ces résultats montrent une forte reproductibilité des membranes obtenues et confirment la viabilité d'un tel système (Figure 45).

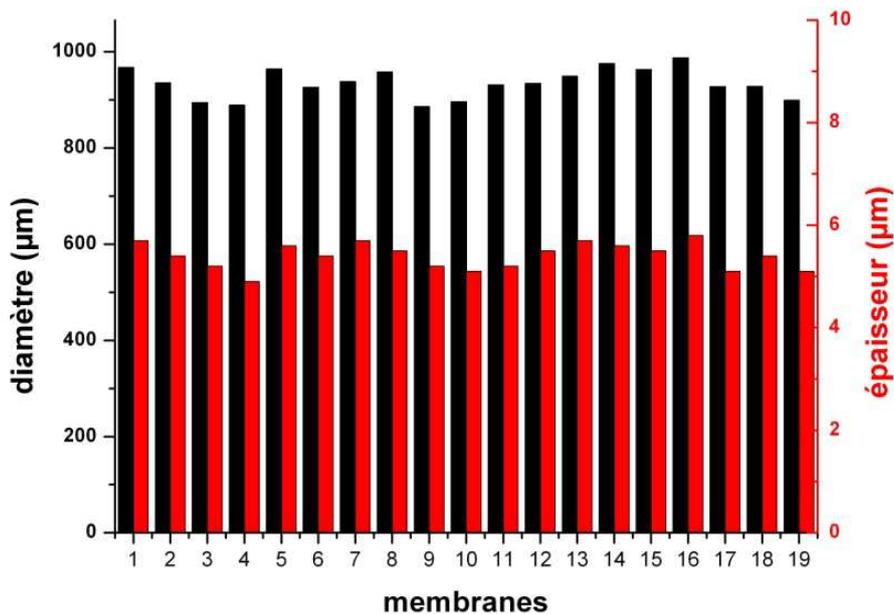


Figure 45: Diamètres et épaisseurs des différentes membranes déposées

Par la suite, l'influence du temps d'ouverture de l'électrovanne (temps d'éjection) sur le volume éjecté a été étudiée et mise en relation grâce à la loi de Poiseuille, qui décrit l'écoulement d'un liquide newtonien dans un capillaire:

$$D = \frac{\pi a^4}{8\mu l} (\Delta P) \quad \text{Équation 25}$$

Avec D le débit volumique ($\text{m}^3 \cdot \text{s}^{-1}$), a et l le rayon et la longueur du capillaire (m), μ la viscosité du fluide éjecté (Pa.s) et ΔP la différence de pression de part et d'autre du capillaire. Le volume éjecté est donné par la relation suivante:

$$V = Dt \quad \text{Équation 26}$$

Où t est le temps d'éjection. Finalement, l'expression du volume déposé est liée au temps d'éjection de la manière suivante:

$$V = \frac{\pi a^4}{8\mu l} (\Delta P) t \quad \text{Équation 27}$$

Comme la mesure du volume de la goutte déposée n'est pas directe (seules les mesures du diamètre et de l'épaisseur sont directement accessibles, ainsi que l'évaluation du profil géométrique, cf. Figures 43 et 44), une goutte a été "quadrillée" afin d'être reconstituée numériquement pour pouvoir évaluer son volume précisément. Le "quadrillage" est effectué par une succession de coupes transversales recouvrant toute la surface, et espacées de 25 μm . Le volume calculé (grâce au logiciel MATLAB) d'après la reconstitution tridimensionnelle d'une goutte mesurée après réticulation (pour $t = 1\text{ms}$ et $\Delta P = 5\text{PSI} = 34,47\text{ KPa}$) est égal à 2,77 nL (Figure 46).

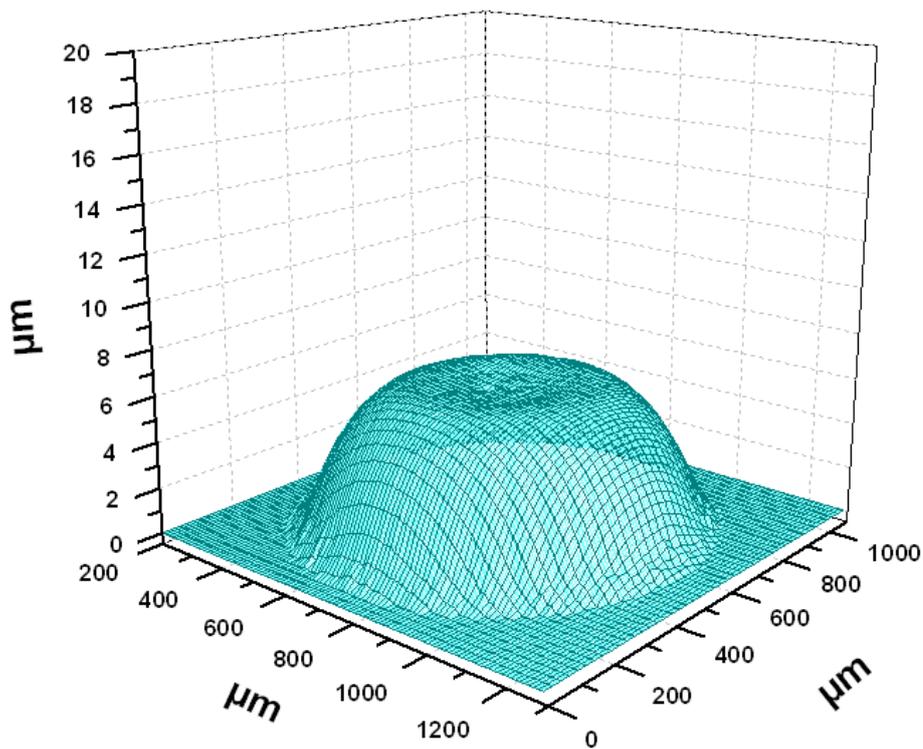
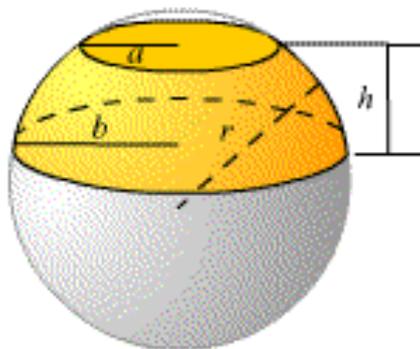


Figure 46: Reconstitution tridimensionnelle d'une membrane

Le quadrillage d'une goutte ainsi que sa reconstitution constituent des étapes de caractérisation excessivement chronophages. Il nous est alors apparu plus efficace d'assimiler leur forme géométrique à un segment sphérique (Figure 47).



$$V = \frac{\pi h}{6} (3a^2 + 3b^2 + h^2) \quad \text{Équation 28}$$

Figure 47: Vue d'un segment sphérique

Ainsi, grâce aux valeurs du rayon supérieur a et du rayon inférieur b accessibles par les mesures issues du profilomètre à contact, il est possible d'approximer la valeur du volume réticulé de chaque membrane sans avoir à la reconstituer numériquement. Le volume calculé par la formule du volume du segment sphérique de la goutte précédente est de 2,65

nL. L'erreur effectuée par rapport à la valeur obtenue par les calculs numériques est inférieure à 5 % et est considérée comme faible. L'assimilation d'une goutte réticulée par un segment sphérique est donc une manière simple et précise pour connaître son volume réel. Il apparaît également une relation entre le rayon supérieur et inférieur de chaque goutte, indépendamment du temps d'éjection. Le rapport entre a et b est constant et égal à 0,4 ($\pm 0,02$). Le calcul du volume réel d'une goutte est alors possible en connaissant simplement le rayon inférieur et l'épaisseur de celle-ci. Nous constatons d'autre part que le rapport entre la hauteur h et les rayons (inférieur et supérieur) est également constant. Nous sommes donc en présence de gouttes homothétiques. Dix membranes ont été déposées suivant un temps d'éjection variant de 1 à 10 ms sous une contrainte de pression de 7 PSI (48,26 KPa). Les mesures sont répertoriées dans le Tableau 3:

Temps d'éjection (ms)	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Diamètre inférieur b (μm)	575	665	730	775	840	900	965	1005	1055	1075
Diamètre supérieur a (μm)	220	270	280	325	360	375	400	405	435	475
Épaisseur h (μm)	7,5	9,9	11,2	11,6	12,8	14	15,1	15,6	16,7	17,2
$\alpha = a/b$	0,38	0,40	0,38	0,41	0,42	0,41	0,41	0,40	0,41	0,44
Volume calculé (nL)	4,4	8	10,8	12,9	16,8	20,8	25,9	28,7	34,3	37,4
Volume calculé (nL) ($\alpha = 0,4$)	4,5	8,0	10,9	12,7	16,4	20,5	25,6	28,6	34	36,2

Tableau 3: Mesures de diamètre et calculs des volumes des 10 membranes

Les valeurs de diamètre, d'épaisseur et de volume en fonction du temps d'éjection sont illustrées dans les Figures 48 et 49:

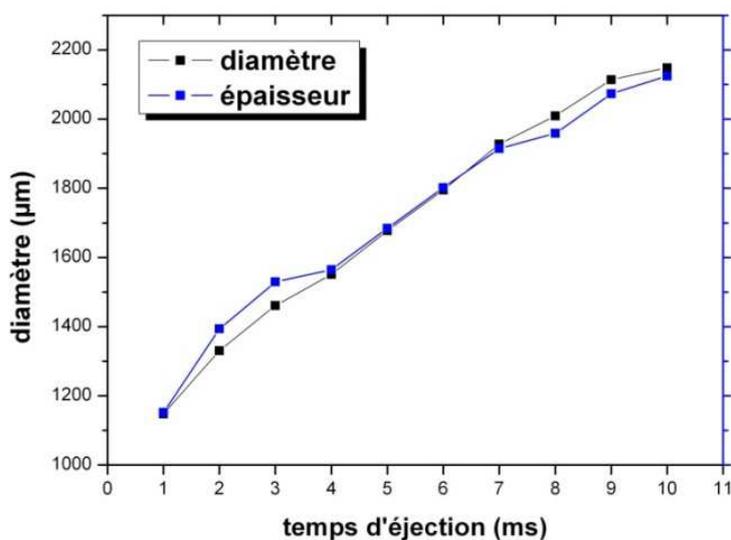


Figure 49: Diamètres et épaisseurs en fonction du temps d'éjection

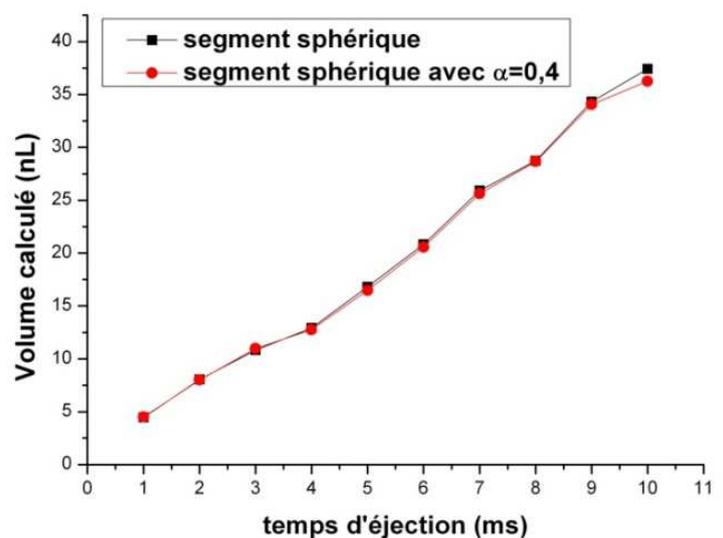


Figure 48: Calcul du volume déposé en fonction du temps d'éjection, avec et sans approximation due au α (α)

Finalement, d'après la loi de Poiseuille (cf. équation 27), il ne reste plus qu'à connaître la viscosité du fluide déposé pour pouvoir calculer le volume réel déposé avant la réticulation du polymère. Ces mesures ont été effectuées à l'aide d'un viscosimètre (AMVn, société Anton Paar). La viscosité du polymère déposé est égale à 3,65 mP.s à 25°C (conditions de dépôt) (Figure 50).

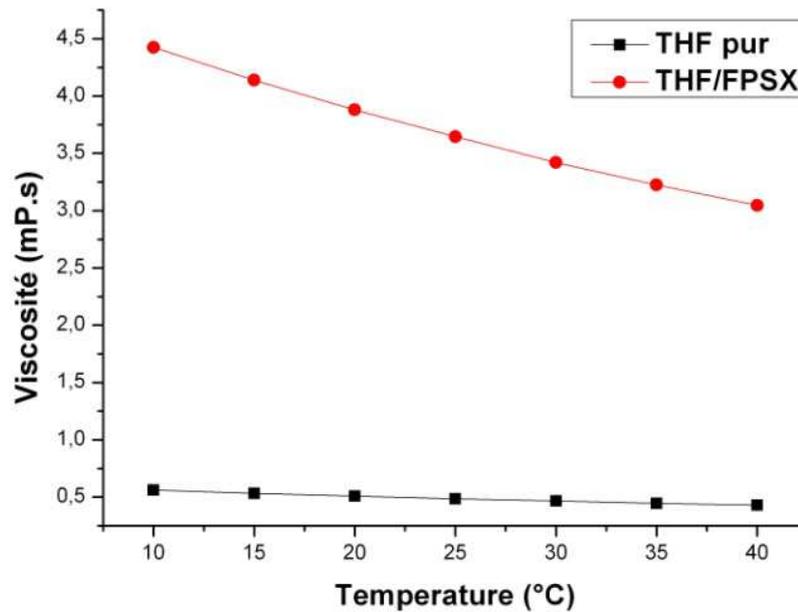


Figure 50: Mesures de viscosité du polymère déposé et du solvant pur

En définitive, la comparaison entre les volumes calculés issus des mesures de diamètre et d'épaisseur des membranes réticulées et les volumes prédits par la loi de Poiseuille permet d'estimer la perte volumique due à la réticulation du polymère et à l'évaporation du solvant (Figure 51).

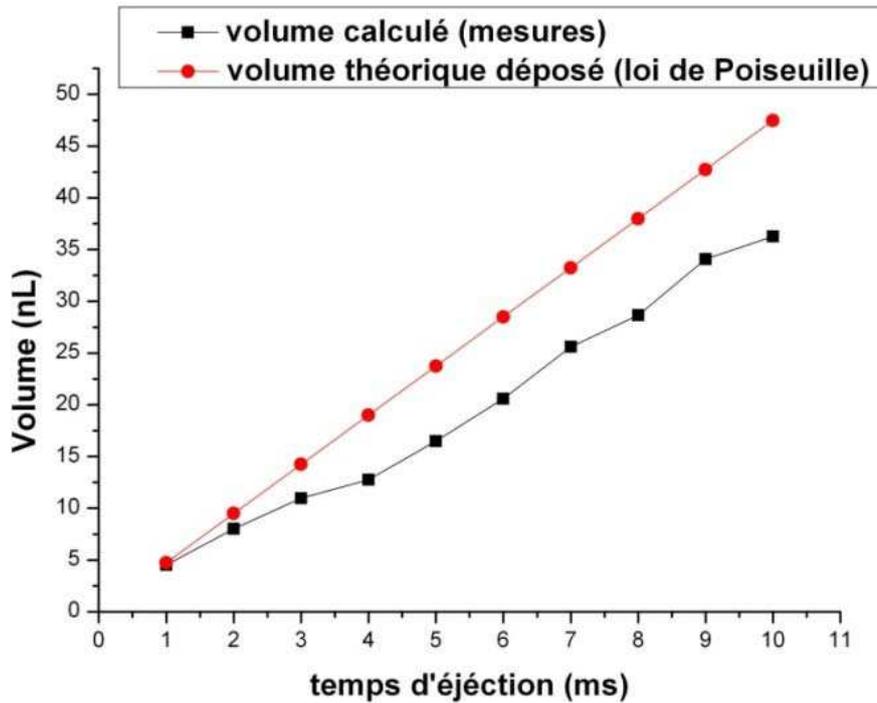


Figure 51: Comparaison entre les volumes éjectés et les volumes mesurés après réticulation du polymère

Il apparaît que plus le volume éjecté est important, plus la perte volumique relative est grande. Ce phénomène serait lié à la surface de la membrane qui permettrait une certaine évaporation du solvant au contact de l'air. Pour des conditions de pression de 5 PSI et de temps d'éjection de 1 ms, la perte volumique est estimée à 18,5 %.

Dès lors que le procédé de dépôt par jet d'encre a été maîtrisé, nous avons fonctionnalisé des composants ISFET avec des membranes à base de fluoropolysiloxane (FPSX), suivant les paramètres de dépôt optimisés: pression de 5 PSI, temps d'éjection de 1 ms, diamètre de l'orifice du capillaire d'éjection de 127 μm et viscosité du polymère déposé de 3,65 mP.s , à température ambiante (Figure 52).

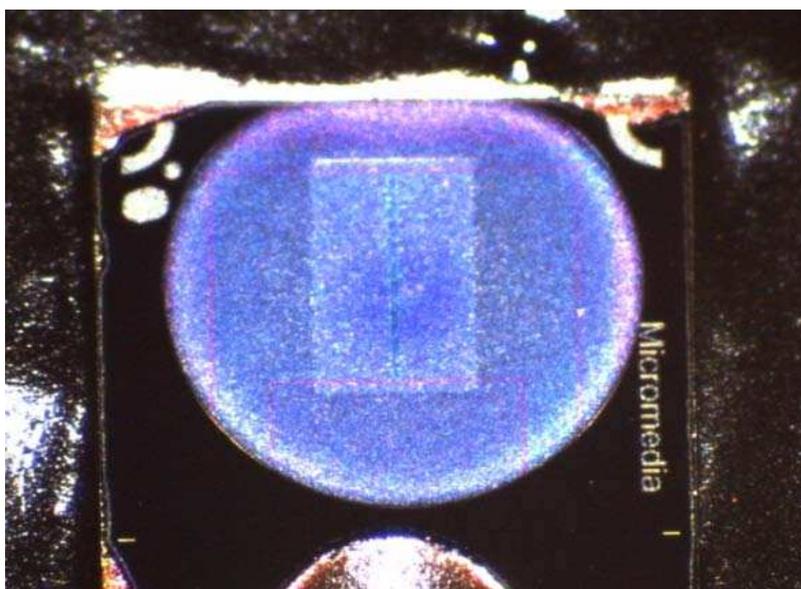


Figure 52: Photo d'une membrane déposée par jet d'encre

Comme pour les précédentes membranes confectionnées à base de PVC et de PSX, nous avons par la suite étudié les performances électrochimiques des capteurs obtenus avec ce nouveau polymère et cette méthode d'intégration. Ensuite, nous avons évalué l'apport de cette technique de fonctionnalisation par jet d'encre sur la reproductibilité des capteurs fonctionnalisés.

II.3.A. Caractérisations des membranes FPSX

Les caractérisations des membranes FPSX ont porté sur des spécificités similaires aux précédentes membranes en PSX (limite de détection, sensibilité, sélectivité, dérive temporelle, répétabilité et reproductibilité). De cette façon, nous avons pu comparer leurs performances et en apprécier les améliorations. Mais avant toute chose, nous avons observé l'influence de chaque composé chimique constituant la membrane (polymère, additifs ioniques et ionophores) sur l'hydrophobicité des couches réalisées. L'hydrophobie de la couche sensible est nécessaire pour s'assurer d'une durée de vie satisfaisante ainsi que d'une réponse nernstienne (cf. Chapitre 1, § VI.2.D).

II.3.A.a. Hydrophobicité

Le caractère hydrophobe de la couche sensible a été déterminé par la mesure de l'angle de contact entre une goutte d'eau désionisée et la surface de ces mêmes couches. Pour vérifier l'influence des additifs ioniques et des ionophores, nous avons comparé cet angle de contact entre deux membranes, une avec et l'autre sans ces composés chimiques (Figure 53b et c). En guise de référence, le substrat PIREX au caractère hydrophile est utilisé (Figure 53 a), et permet d'évaluer l'impact du polymère ainsi que des agents chimiques sur la membrane. Nous constatons, d'une part, que le polymère à lui seul (fluoropolysiloxane) possède un caractère hydrophobe (angle de 110°), et que les ionophores et les additifs ioniques (tetraphenylborates) participent sensiblement à l'hydrophobie de la couche (angle de 115°).

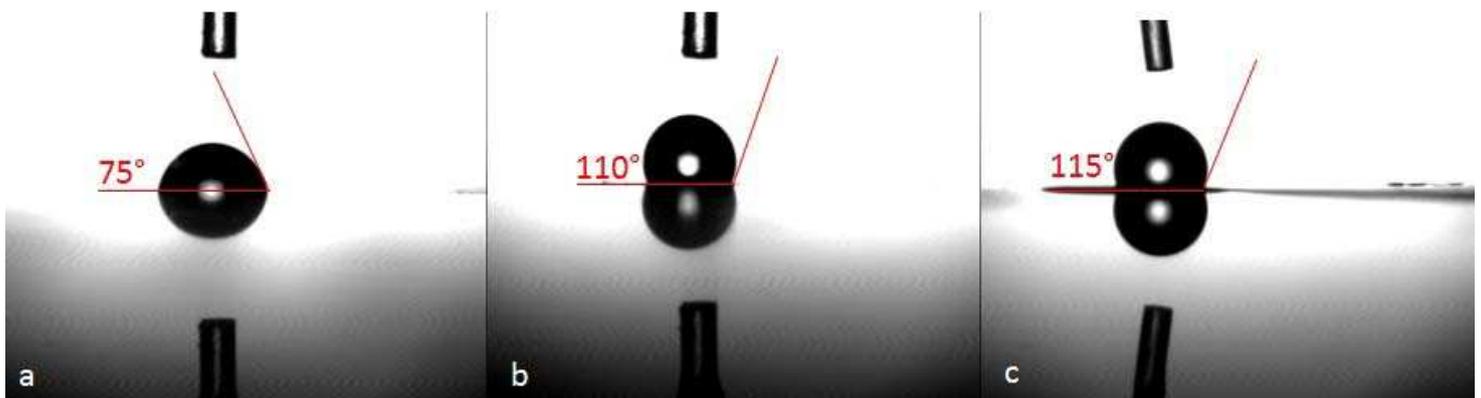


Figure 53: Angle de contact entre la surface d'un substrat PYREX (a), d'une couche de fluoropolysiloxane (b), d'une couche de fluoropolysiloxane dopée de ionophores et d'additifs ioniques (c)

II.3.A.b. Limite de détection

L'expérience effectuée en vue de la détermination de la limite de détection des membranes en PSX (cf. § II.2.C.a) a été réitérée pour évaluer celle des membranes en FPSX (Figure 54).

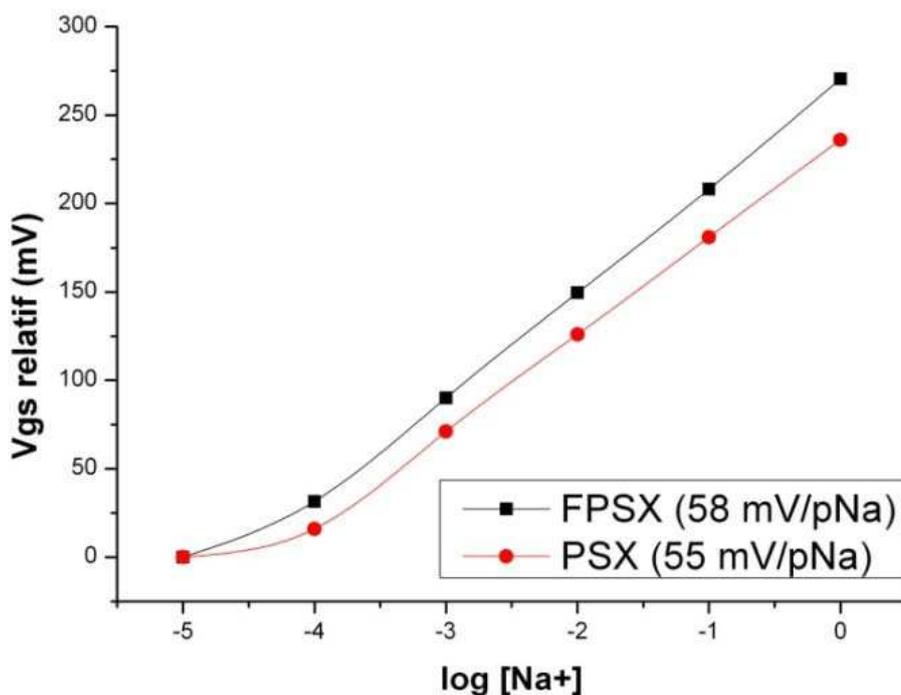


Figure 54: Comparaison entre la réponse des membranes PSX et FPSX à une large gamme de pNa [10⁻⁵-100]

La déviation de la droite pseudo-nerstienne (58 mV/pNa pour le FPSX et 55 mV/pNa pour le PSX) est effective en deçà d'une concentration en ions sodium de 10⁻⁴ M et correspond à la limite de détection. L'utilisation du FPSX n'a pas permis d'améliorer significativement ce paramètre par rapport au PSX. Cependant, la sensibilité est légèrement supérieure et se rapproche de la valeur théorique, dictée par la loi de Nernst (59,2 mV/pNa à température ambiante). Nous avons par la suite restreint la gamme de mesure afin de se focaliser sur la concentration en ions sodium dans la sueur.

II.3.A.c. Sensibilité

Les conditions portant sur cette expérience sont identiques aux caractérisations de sensibilité des membranes en PSX (*cf.* § II.2.C.b). Le signal analytique issu de cette mesure (Figure 55) montre, en plus d'un très faible bruit (0,3 mV) et d'une très bonne stabilité, une sensibilité de 58 mV/pNa. Le capteur mesuré ici, bien que différent de celui issu de l'expérience précédente (*cf.* § II.3.A.b) possède donc la même sensibilité. Cette observation

réconforte davantage encore l'idée de l'amélioration apportée par la technique de fonctionnalisation par jet d'encre.

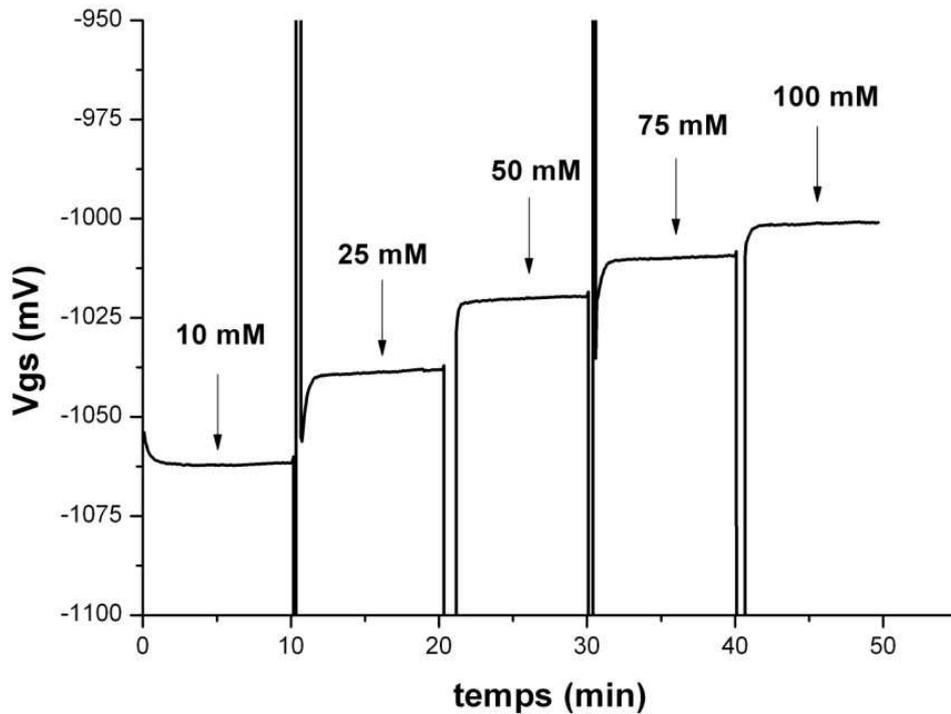


Figure 55: Signal analytique du pNa-ISFET/FPSX

L'étude de l'impact de cette méthode de dépôt sur la reproductibilité inter-capteurs est décrite plus en détail dans un futur chapitre (*cf.* § II.3.A.f), en considérant un nombre plus important de données. A ce stade du développement, nous avons décidé de continuer les caractérisations d'ordre électrochimique.

II.3.A.d. Sélectivité

En progressant dans la même logique, nous avons étudié la sélectivité de ces dernières membranes par rapport à l'ion potassium, en conservant les mêmes conditions que les études précédentes portant sur la sélectivité des membranes PSX, par souci comparatif (*cf.* § II.2.C.c). Cela dit, cette fois-ci, nous avons fait varier la concentration en ions interférents (potassium) de $5 \cdot 10^{-3}$ à 10^0 M (Figure 56) en rajoutant aux solutions de calibration du

chlorure de potassium KCl, alors que l'expérience concernant la sélectivité des membranes PSX avait été effectuée pour une concentration unique en ions potassium de 10^{-1} M.

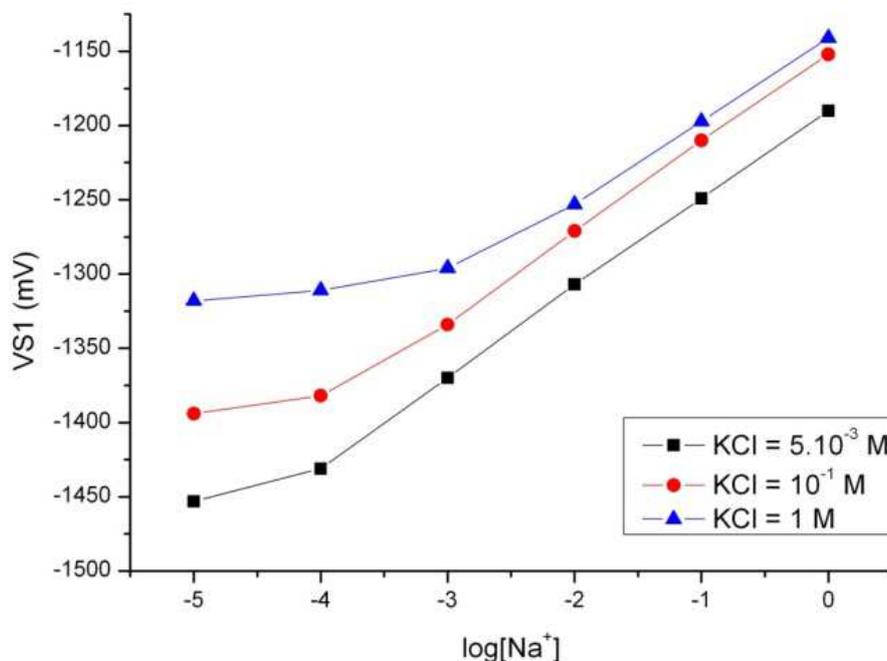


Figure 56: Courbes de calibration pour des concentrations de potassium variant de 5.10^{-3} à 1 M

D'après la méthode de détermination de la sélectivité (FIM en l'occurrence), le coefficient de sélectivité est identique pour les trois valeurs de concentration en ion potassium ($\log K_{Na^+/K^+} = -3$). Cette matrice FPSX présente donc des performances de sélectivité supérieures à celles en PSX ($\log K_{Na^+/K^+} = -2,4$), et est largement en accord avec l'analyse de l'ion sodium dans la sueur. Les prélèvements effectués par le CRSSA ont permis d'estimer la concentration en ions potassium dans la sueur dont la valeur moyenne est de $6 \text{ mmol.l}^{-1} \pm 3$, qui est bien corrélée avec les valeurs retrouvées dans la littérature ($4,5 \text{ mmol.l}^{-1}$, cf. § II.2.C.c). Ces faibles concentrations d'ions potassium par rapport aux valeurs de concentrations en ions sodium mesurées, couplées au fort coefficient de sélectivité des membranes obtenues, devra permettre de s'affranchir en intégralité de l'interférence de cet ion.

L'influence du pH a été également étudiée, conformément aux études ultérieures correspondantes aux membranes PSX (Figure 57). Le pNa-ISFET est caractérisé par une réponse constante dans la gamme de pH [2-9] (sensibilité ≈ 0 mV/pH) et d'une variation de 20 mV dans la gamme de pH [9-12] (sensibilité ≈ 7 mV/pH). Une telle sensibilité aux pH basiques est attribuée à la présence des groupes silanol dans la matrice fluoropolysiloxane [43]. Cependant, une telle interférence au pH est relativement faible par rapport à la sensibilité envers l'ion sodium et peut être négligée vis-à-vis de l'application visée (le pH de la sueur varie entre 5 et 7,5) [44].

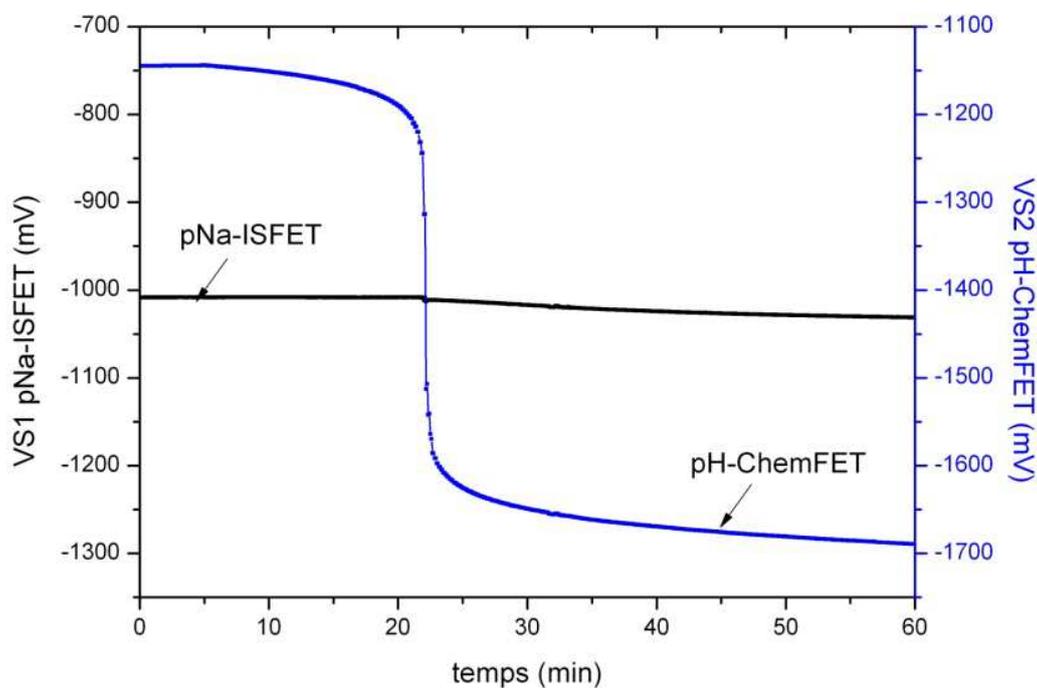


Figure 57: Réponse du pNa-ISFET et du pH-ISFET à une variation de pH de 2 à 12, à concentration en sodium constante (0,1M)

II.3.A.e. Dérive temporelle

Un des inconvénients majeurs des précédentes membranes PSX résidait dans leur temps d'hydratation relativement long (environ 2 heures, cf. § II.2.C.d). L'utilisation du fluoropolysiloxane comme nouvelle matrice polymère est une solution envisagée pour palier à ce problème. La résistance électrique de la membrane est abaissée par les groupes

fluors présents au sein du polymère, ce qui a pour effet de diminuer le temps de réponse des capteurs fonctionnalisés de la sorte, et plus particulièrement lorsque le capteur n'a pas été conditionné au préalable (Figure 58). En complément, des mesures ont été effectuées sur le même capteur préalablement hydraté (24 heures), en vue d'évaluer l'influence d'un éventuel conditionnement (Figure 59). Une de ces deux solutions d'hydratation (conditionnement) est composée d'eau pure, alors que l'autre contient du NaCl (10 mM). Ainsi, nous avons pu apprécier l'impact de l'ion sodium contenu dans la solution de conditionnement sur le comportement du capteur.

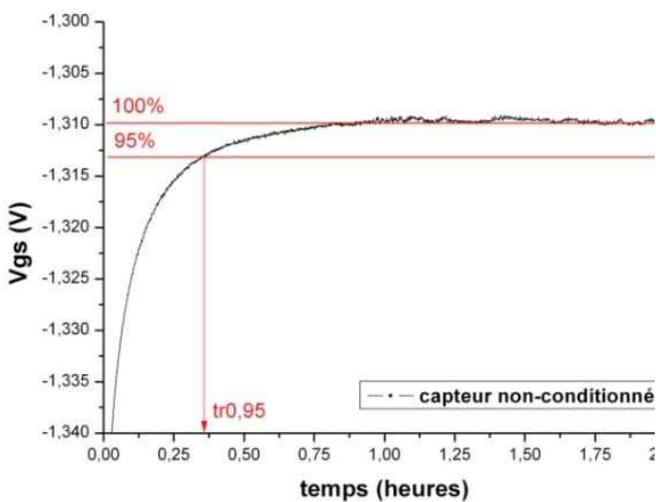


Figure 59: Temps d'hydratation pour un capteur non conditionné

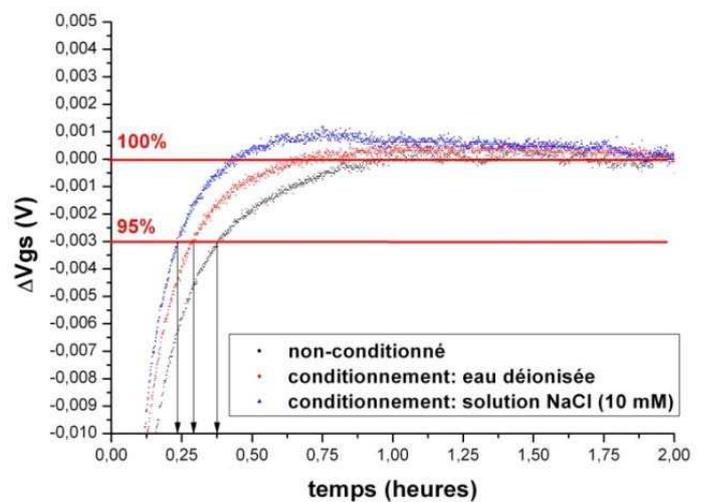


Figure 58: Influence du conditionnement sur le temps d'hydratation

Par rapport aux membranes PSX précédentes, ces résultats montrent une large amélioration du temps nécessaire à la stabilisation lorsque les capteurs ne sont pas préalablement conditionnés. Lorsque le capteur est conditionné dans une solution contenant du chlorure de sodium, la matrice FPSX a permis de diminuer le temps d'hydratation d'environ 2 heures à une vingtaine de minutes, soit d'un facteur 6. Nous observons cependant une légère diminution de ce temps de stabilisation lorsque le capteur est conditionné dans une solution contenant des ions sodium (temps de stabilisation sans conditionnement = 20 mn, temps de stabilisation avec conditionnement eau desionisée = 17 mn, temps de stabilisation avec conditionnement solution NaCl (10mM) = 13 mn). Toutefois, les bénéfices d'un conditionnement sont relativement faibles par rapport à la mise en œuvre d'un tel procédé, et ne justifie donc pas sa mise place. Lorsque ce temps d'hydratation est atteint, la dérive

linéaire reste faible et est de l'ordre de 0,5 mV/h, soit deux fois moins que pour les membranes PSX.

L'utilisation du FPSX en tant que matrice polymérique a permis d'améliorer les performances électrochimiques vis-à-vis de la détection du sodium. Les caractéristiques obtenues avec les précédentes membranes en PSX, déjà satisfaisantes dans le cadre de la détection de l'ion sodium dans la sueur (*cf.* II.2.C.c), ont donc été optimisées si bien que ces derniers capteurs présentent les caractéristiques suivantes:

- sensibilité de 58 mV/pNa sur une large gamme de 10^{-4} à 10^0 M,
- coefficient de sélectivité $\log K = -3$,
- dépendance aux pH basiques (7 mV/pH) entre pH9 et pH12,
- hydratation sans conditionnement préalable rapide (20 mn),
- dérive faible (0,5 mV/heure),
- bonne durée de vie (de l'ordre de 1 mois).

D'après ces dernières caractérisations, la formulation chimique de la membrane sensible à l'ion sodium est optimale. Dès lors, nous avons pu évaluer l'impact de la méthode d'intégration sur les critères métrologiques tels que la répétabilité et la reproductibilité, ces dernière étant un verrou à l'industrialisation des capteurs.

II.3.A.f. Répétabilité

Les caractérisations concernant la répétabilité des couches en fluoropolysiloxane ont été effectuées de la même manière que pour celles en polysiloxane classique. Ces couches présentent des performances strictement similaires aux couches précédentes (*cf.* § II.2.C.e), et ne seront donc pas présentées ici, afin d'éviter de surcharger inutilement le manuscrit.

II.3.A.g. Reproductibilité

Nous avons fonctionnalisé 8 capteurs selon les paramètres de dépôt déterminés précédemment (*cf.* § II.3.B.b) (pression de 5 PSI (34,47 KPa), et temps d'éjection de 1 ms). Trois solutions de calibration ont été préparées pour les calibrations. Ces solutions

contiennent, respectivement: 10, 50 et 100 mM de NaCl ($\log[\text{Na}^+] = -2, -1,3$ et -1) ainsi qu'une concentration constante d'acétate de lithium ($\text{CH}_3\text{COOLi} \cdot 10^{-1}$ M). Les capteurs sont en premier lieu immergés pendant 30 mn dans la solution de calibration contenant 10 mM de NaCl (20 minutes d'hydratation, et 10 minutes de mesure), puis sont immergés 10 minutes dans chacune des deux autres solutions (Figure 60).

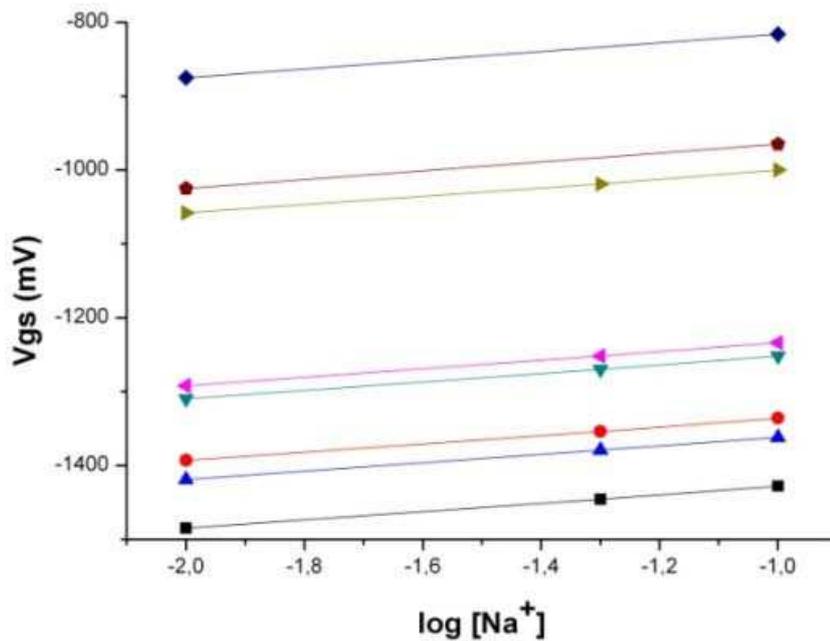


Figure 60: Tensions de seuil en fonction de la concentration en ions sodium pour 8 capteurs différents

Nous constatons des disparités au niveau des valeurs absolues de tensions de seuil. Ceci est dû aux charges piégées dans le matériau de grille (nitrure de silicium Si_3N_4) durant la phase de stockage en atmosphère oxydante (il s'est écoulé quelques mois entre les caractérisations des ISFET vierges, et des ISFET fonctionnalisés par des membranes sensibles à l'ion sodium). Nous avons apporté par la suite une solution à ce problème. Elle consiste à irradier les composants par des rayons UV, ce qui a pour conséquence d'effacer ces charges piégées responsables des tensions de seuil disparates, par des phénomènes de recombinaison aux interfaces isolant/oxyde. Ainsi, nous retrouvons des tensions de seuil homogènes (cf. § I.4.A), de l'ordre de $1,5 \text{ V} \pm 0,1 \text{ V}$. Cependant, ces disparités ne sont pas dommageables quant au fonctionnement même des composants car elles ne modifient pas la sensibilité. Nous

nous intéressons aux variations de tensions de seuil, et non pas aux valeurs absolues. Lorsque nous normalisons les valeurs de sensibilité (Figure 61), nous obtenons un faisceau de courbes bien homogène, ce qui traduit une forte reproductibilité des membranes: sensibilité moyenne de 57,8 mV/pNa \pm 0,8 mV.

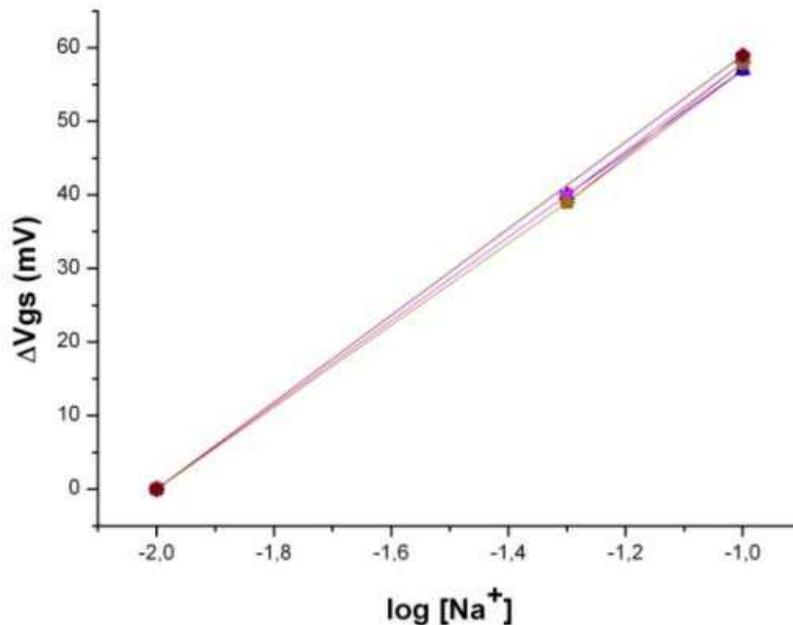


Figure 61: Variations de tensions de seuil en fonction de la concentration en ions sodium pour 8 capteurs différents

III. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons présenté le déroulement des travaux ayant permis l'optimisation de la formulation de membranes polymériques sensibles aux ions sodium Na^+ . *In-fine*, ces membranes seront intégrées dans un bandeau physiologique afin de mesurer en continu la concentration de l'ion sodium dans la sueur. Le premier polymère utilisé, le polychlorure de vinyle (PVC) a permis de confirmer la validité du principe de détection potentiométrique grâce à la fonctionnalisation de composants ISFET par des membranes organiques. Un tel polymère nécessite l'utilisation d'un plastifiant, qui, lorsque qu'il

s'évapore au contact de l'air, confère à la matrice une forte viscosité ne permettant pas son intégration par des méthodes de jet d'encre. Un autre type de polymère, le polysiloxane (PSX), a alors été utilisé car sa structure garantit des performances électrochimiques vis-à-vis de l'ion sodium satisfaisantes, et ce, sans la présence de plastifiants. Bien que cette matrice polymère soit alors sujette à intégration par jet d'encre en vue d'obtenir un dépôt reproductible autorisant l'industrialisation de ces mêmes capteurs, les performances obtenues (notamment un long temps d'hydratation) n'étaient pas en accord avec l'application visée. C'est pourquoi nous avons opté pour l'utilisation d'un nouveau type de polysiloxane, le fluoropolysiloxane (FPSX), qui a montré des performances de détection optimales lors des caractérisations in-vitro. Par la suite, des membranes à base de ce même polymère ont donc été intégrées par des techniques de jet d'encre sur des composants ISFET. Pour ce faire, nous avons développé un prototype de dispense automatisable pour notre application. Après l'étude des divers paramètres influents sur la topologie des gouttes obtenues, nous avons déposé des membranes sensibles à l'ion sodium de manière reproductible. Le prototype mis au point a finalement permis de mettre en place un procédé d'intégration industriel.

Ces travaux ont montré des résultats concluants dans le cadre de caractérisations in-vitro, et ont permis d'utiliser ces capteurs dans la suite du projet. Les différentes étapes concernant l'intégration d'un tel capteur dans un bandeau physiologique, et les problématiques liées à l'analyse d'un fluide biologique complexe tel que la sueur seront décrites dans le prochain chapitre.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J-M. Chovelon: "Préparation de couches minces d'oxy-nitride de silicium par PECVD en vue d'un greffage chimique. Application à un ISFET pH", *Thèse de l'école centrale de Lyon*, 1991
- [2] C. Hawkins and J. Segura: "Introduction to digital Electronics", 2010
- [3] L. Bousse: "Single electrode potentials related to flat-band voltage measurements on EOS and MOS structures", *J. Chem. Phys.*, 76 (1982) 5128-5133
- [4] M. W. Shinwari: "Study of the electrolyte-insulator-semiconductor field-effect transistor (EISFET) with applications in biosensor design", *Microelectronics Reliability*, 47 (2007) 2025-2057
- [5] J. R. Sandifer: "Theory of Interfacial Potential Differences: Effects of Adsorption onto Hydrated (Gel) and Nonhydrated Surfaces", *Analytical Chemistry*, 60 (1988) 1553-1582
- [6] C. D. Fung: "A Generalized Theory of an Electrolyte-Insulator-Semiconductor Field-Effect Transistor", *IEEE Transactions on electron device*, 33-1 (1986) 8-18
- [7] L. Bousse: "Operation of Chemically Sensitive Field-Effect Sensors as a Function of the Insulator-Electrolyte Interface", *Transactions on electron devices*, 30 (1983) 1263-1270
- [8] S. H. Berhens and D. G. Grier: "The charge of glass and silica surfaces", *The journal of chemical Physics*, 115-14 (2001) 7-14
- [9] R. Kuhnhold: "Modeling the pH response of silicon nitride ISFET devices", *Sensors and Actuators B*, 68 (2000) 307-312
- [10] B. Premanode, N. Silawan, W. P. Chan, C. Toumazou: "A composite ISFET readout circuit employing current feedback", *Sensors and actuators B*, 127 (2007) 486-490
- [11] <http://www.edn.com>
- [12] W. Sant: "Développement des micro-capteurs chimiques CHEMFETs pour des applications à l'hémodialyse", *Thèse de l'université Paul Sabatier*, 2004

- [13] D. Tomaszewski, C-M. Yang, B. Jaroszewicz, M. Zaborowski, P. Grabiec and D. G. Pijanowska: "Electrical characterization of ISFETs", *Journal of telecommunications and information technology*, 3 (2007)
- [14] J.J. Liou, A. Otiz-Conde and F. Garcia Sanchez: "Extraction of the threshold voltage of MOSFETs: an overview", *Electron Device Proceedings*, 1997
- [15] V. K. Khanna: "Critical issues, processes and solutions in ISFET packaging", *Microelectronics international*, 25-2 (2008) 23-30
- [16] Y. G. Vlasov, Y. A. Tarantov and P. Bobrov: "Analytical characteristics and sensitivity mechanism of electrolyte-insulator-semiconductor system-based chemical sensors – a critical review", *Anal. Bioanal. Chem.*, 376 (2003) 788-796
- [17] B. Torbiero: "Développement de microcapteurs électrochimiques pour l'analyse en phase liquide", *Thèse de l'INSA de Toulouse*, 2006
- [18] B. Hajji: "pH, pK and pNa detection properties of SiO₂/Si₃N₄ ISFET chemical sensors", *Microelectronics Reliability*, 40 (2000) 783-786
- [19] S. Jamasb: "A physical model for threshold voltage instability in Si₃N₄-Gate H⁺-Sensitive FET's (pH ISFET's)", *IEEE Transactions on electron devices*, 40 (1998) 1239-1245
- [20] S. Jamasb: "An analytical technique for counteracting drift in ion-selective Field Effect Transistors (ISFETs)", *IEEE Sensors Journal*, 4 (2004) 795-801
- [21] A. K. Covington: "Recent Advances in Microelectronic Ion-sensitive Devices (ISFETs)", *J. Chem. SOC., Faraday Trans.*, 1 82 (1986) 1209-1215
- [22] S. D. Moss, J. Janata and C. C. Jonhson: "Potassium ion-sensitive field effect transistor", *Anal. Chem.*, 47 (1975) 2238-2243
- [23] S. J.Harris: "Chemically modified field effect transistors; a sodium ion selective sensor based on calix[4]arene receptor molecules", *Analytica chimica acta*, 254 (1991) 75-80
- [24] T. Maruizumi, D. Wegmann, G. Suter, D. Ammann, W. Simon: "Neutral carrier-based Na⁺-selective electrode for application in blood serum", *Microchimica Acta*, 08-88 (1986) 331-336

- [25] J. A. J. Brunink, J. R. Haak, J. G. Bomer and David N. Reinhoudt: "Chemically modified field effect transistors; a sodium ion selective sensor based on calyx[4]arene receptor molecules", *Analytica Chimica Acta*, 254 (1991) 75-80
- [26] Z. Brzozka: "Durable NH_4^+ sensitive CHEMFET", *Sensors and Actuators B*, 44 (1997) 527-531
- [27] E. Malinowska: "Enhanced electrochemical performance of solid-state ion sensors based on silicone rubber membranes", *Sensors and Actuators B*, 33 (1996) 161-167
- [28] I. Humenyuk: "Développement des microcapteurs chimiques chemFETs pour l'analyse de l'eau", *Thèse de l'INSA de Toulouse*, 2005
- [29] L. Y. Heng: "Producing "Self-Plasticizing" Ion-Selective Membranes", *Anal. Chem.*, 72 (2000) 42-51
- [30] H. J. Lee, H. J. Oh, G. Cui, G. S. Cha and H. Nam: "All solid state sodium selective electrodes based on room temperature vulcanizing type silicone rubber matrix", *Analytical sciences*, 13 (1997) 289-294
- [31] <https://www.xiameter.com>
- [32] P. Van Der Wal: "New membrane materials for potassium selective ion sensitive field effect transistors", *Anal. Chim. Acta*, 231 (1990) 41-52
- [33] R. Eugster: "Selectivity-Modifying Influence of Anionic Sites in Neutral-Carrier-Based Membrane Electrodes", *Anal. Chem.*, 63 (1991) 2285-2289
- [34] W. Wróblewski: " NH_4^+ sensitive chemically modified field effect transistors based on siloxane membranes for flow-cell applications", *Analytica Chimica Acta*, 401 (1999) 105-110
- [35] J. A. J. Brunink: "The design of durable Na^+ selective CHEMFETs based on polysiloxane membranes", *Journal of electroanalytical chemistry*, 378 (1994) 185-200.
- [36] M. G. Bulmer and G. D. Forwell: "The concentration of sodium in thermal sweat", *J. Physiol.*, 132 (1956) 115-122

- [37] U. Oesch, D. Ammann and W. Simon: "Ion-selective membrane electrodes for clinical use", *Clin. Chem.*, 32/8 (1986) 1448-1459
- [38] M. J. Patterson, S. D. R. Galloway and M. A. Nimmo: "Variations in regional sweat composition in normal human males", *Exp. Physiol.*, 85-6 (2000) 869-875
- [39] "Guide métrologie", Radiometer analytical
- [40] C. Dumschat, S. Alazard, S. Adam, M. Knoll and K. Cammann: "Filled fluorosilicone as matrix material for Ion-selective membranes", *Analyst*, 121 (1996) 527-529
- [41] G. Hogg: "Novel membrane material for ion-selective field-effect transistors with extended lifetime and improved selectivity", *Analytica Chimica Acta*, 335 (1996) 103-109
- [42] <http://www.theleeco.com>
- [43] I.J. Yoon, D.K. Lee, H. Nam, G.S. Cha, T.D. Strong and R.B. Brown: "Ion sensors using one-component room temperature vulcanized silicone rubber matrices", *Journal of Electroanalytical Chemistry*, 464 (1999) 135-142
- [44] D. Kaiser, R. Songo-Williams and E. Drack: "Hydrogen ion and electrolyte excretion of the single human sweat gland", *Pflügers Arch.*, 349 (1974) 63-72

Chapitre 3:

*Intégration de la technologie
pNa-ISFET dans un bandeau
physiologique en vue
d'améliorer la sécurité des
primo-intervenants*

Chapitre 3: Intégration de la technologie pNa-ISFET dans un bandeau physiologique en vue d'améliorer la sécurité des primo-intervenants

Nous avons présenté dans le second chapitre les capteurs mis au point en vue de la détection de l'ion sodium. Ces capteurs ont par la suite été caractérisés en laboratoire et ont montré, comme nous l'avons décrit précédemment, des performances de détection satisfaisantes.

Ce chapitre expose les travaux relatifs à l'intégration de ces capteurs dans un bandeau physiologique. Nous décrivons les étapes liées à la fabrication des dits-bandeaux, puis les essais de validation, réalisés au CRSSA sur un panel de dix individus, dans des conditions d'utilisation réelles. Auparavant, le début de ce chapitre est consacré à la description des expérimentations effectuées en vue de mettre en évidence une relation entre la concentration en ions sodium dans la sueur et un état hyperthermique chez un individu soumis à des contraintes simulant une situation d'intervention.

I. Lien physiologique du sodium dans la sueur

I.1. Description de l'expérimentation menée au CRSSA

A la suite de l'acceptation du protocole de l'expérimentation par le CPP (Comité de Protection des Personnes), une première campagne de mesure a été réalisée sur 25 sujets sains entre octobre 2010 et avril 2011. Elle a permis de collecter des échantillons de sueur et d'enregistrer l'évolution de certains paramètres physiologiques (température interne, température de peau, rythme cardiaque, débit de sudation...) suivant trois types de contraintes thermiques:

Le test standard de sudation (SWT), qui rend possible l'évaluation de la fonction thermorégulatrice lors d'une exposition passive à la chaleur en permettant à la thermolyse d'être efficace (air chaud et sec). Le sujet est placé allongé et au repos dans une chambre

climatique et exposé à une ambiance chaude et sèche (température ambiante T_a de 45 °C et humidité relative HR de 10 %), afin d'optimiser l'évaporation sudorale et d'atteindre rapidement un équilibre thermique.

Le test d'hyperthermie contrôlée passive (HTCP), qui impose une contrainte thermique non compensée aboutissant à une hyperthermie passive, le but étant d'obtenir une température interne (rectale) de 39°C en 90 minutes sans aucun exercice physique. Le sujet est également placé en position allongée, au repos, dans une ambiance chaude mais humide cette fois-ci ($T_a = 45-50$ °C et HR = 80 %). L'atmosphère chargée en eau n'autorise pas l'évaporation de la sueur, malgré une forte sollicitation de la fonction sudorale. La charge thermique n'est pas compensable et aboutit à une hyperthermie.

Le test d'hyperthermie contrôlée active (HTCA), impose la combinaison d'une contrainte thermique externe à une charge thermique interne due à un exercice physique, contrainte thermique non compensée aboutissant à une hyperthermie, le but étant d'obtenir ici aussi une température rectale à 39°C en 90 minutes. Le sujet est placé sur un tapis roulant (4 km/h à 4% de pente) et porte une combinaison de protection NRBC étanche qui empêche la sueur de s'évaporer et donc d'assurer sa fonction de thermolyse. De plus, l'ambiance de la chambre climatique est relativement chaude ($T_a = 30$ °C et HR compris entre 20 % et 80 %). Cette situation expérimentale modélise l'activité moyenne d'un primo-intervenant.

Chaque test dure 90 minutes, durant lesquels quatre prélèvements sont effectués à intervalles fixes de 20 minutes, 35 minutes après le début de la mesure (t_0).

Le but de cette expérimentation était de recueillir des données afin de mener une étude poussée sur la sueur en condition d'hyperthermie. En ce qui nous concerne, l'objectif était de vérifier qu'il existe un lien entre la variation de la concentration en ions sodium dans la sueur et la température interne.

I.2. Analyse globale

Le CRSSA dispose d'un automate de laboratoire (Hitachi) qui a permis de mesurer les concentrations en ions sodium des échantillons recueillis au cours des expériences. Les

valeurs moyennées en fonction des quatre prélèvements de sueur pour les trois types de test sont regroupées dans le graphe suivant (Figure 1):

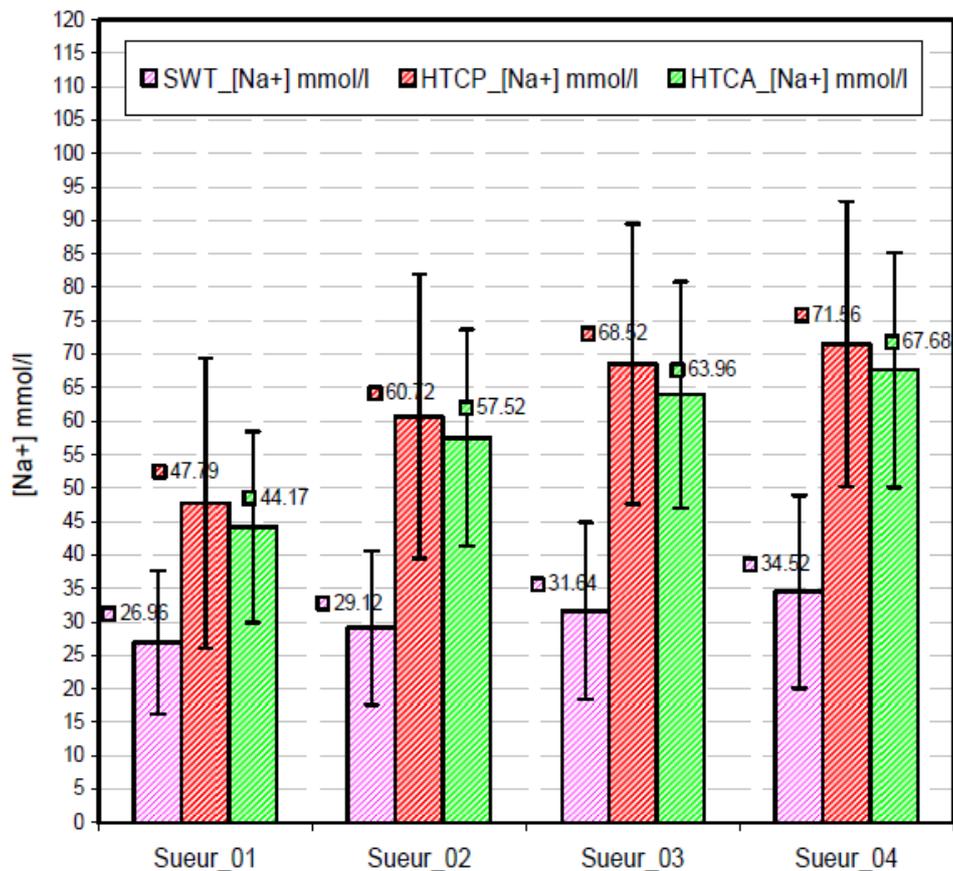


Figure 1: Concentrations de Na⁺ dans la sueur prélevée au cours des tests SWT, HTCP et HTCA lors des 4 prélèvements de sueur à 35, 55, 75 et 90 min

Il apparait clairement que pour le test SWT, la concentration en sodium augmente très peu (de 27 à 34,5 mM). Cette situation correspond à un équilibre thermique où la fonction sudorale permet une régulation correcte de la température interne. A contrario, lorsqu'il y a déséquilibre au niveau de la régulation (HTCP et HTCA) se traduisant par une hyperthermie, la concentration en sodium augmente significativement (de 48 à 71,5 mM pour HTCP et de 44 à 67,5 mM pour HTCA). Bien que similaires, les valeurs obtenues pour HTCP sont sensiblement supérieures et présentent une plus grande variabilité que pour celles obtenues avec HTCA. Cela pourrait s'expliquer par la contrainte thermique ambiante plus importante pour HTCP (l'enveloppe cutanée étant chauffée). Cette première analyse met en évidence une augmentation significative du sodium dans la sueur en situation d'hyperthermie.

Les valeurs moyennées de la température interne (rectale) ont, de la même manière, été regroupées dans le graphe suivant (Figure 2):

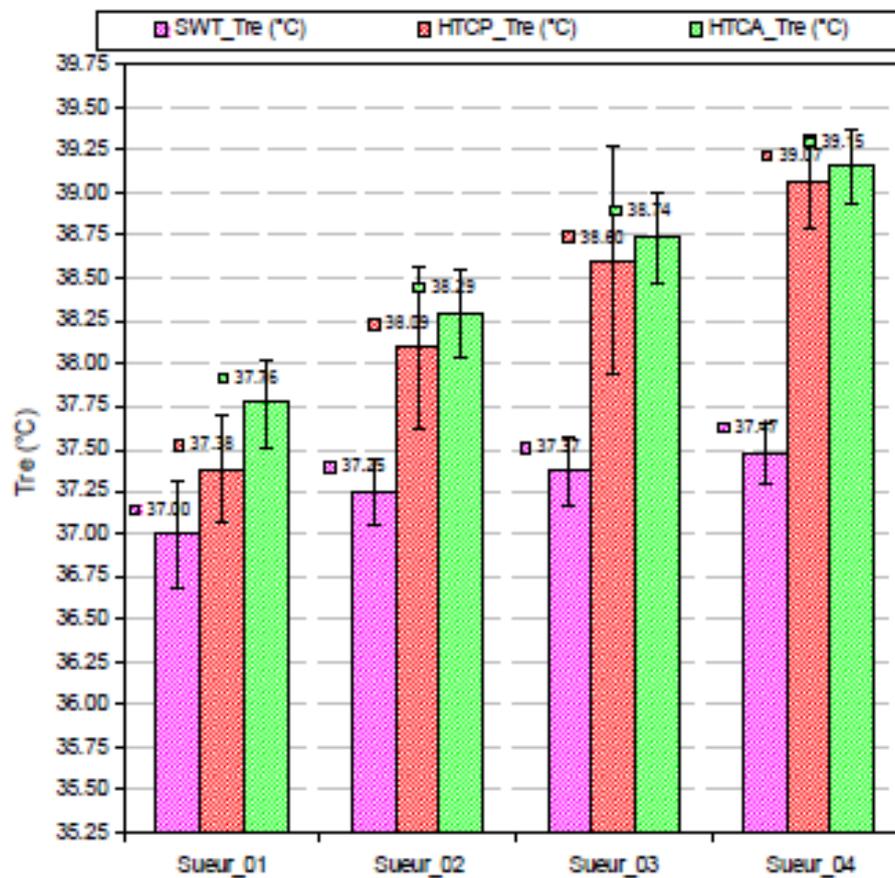


Figure 2: Valeurs moyennées de la température rectale T_{re} (°C) au cours des tests SWT, HTCP et HTCA lors des 4 prélèvements de sueur à 35, 55, 75 et 90 min

Au cours du test SWT, la température rectale T_{re} n'augmente quasiment pas (+ 0,47 °C), car les mécanismes de thermolyse sont efficaces et permettent à l'organisme de réguler correctement sa température. Dans le cas des deux autres tests, HTCP et HTCA, l'indicateur hyperthermique fondamental qu'est la température rectale augmente régulièrement jusqu'à atteindre la valeur cible de 39 °C.

Une corrélation entre la concentration en sodium dans la sueur et la température interne en fonction d'un état hyperthermique semble exister. Nous avons, pour chaque test, retracé les valeurs de concentration en sodium en fonction de la température interne, dans les figures suivantes (Figure 3a, b et c):

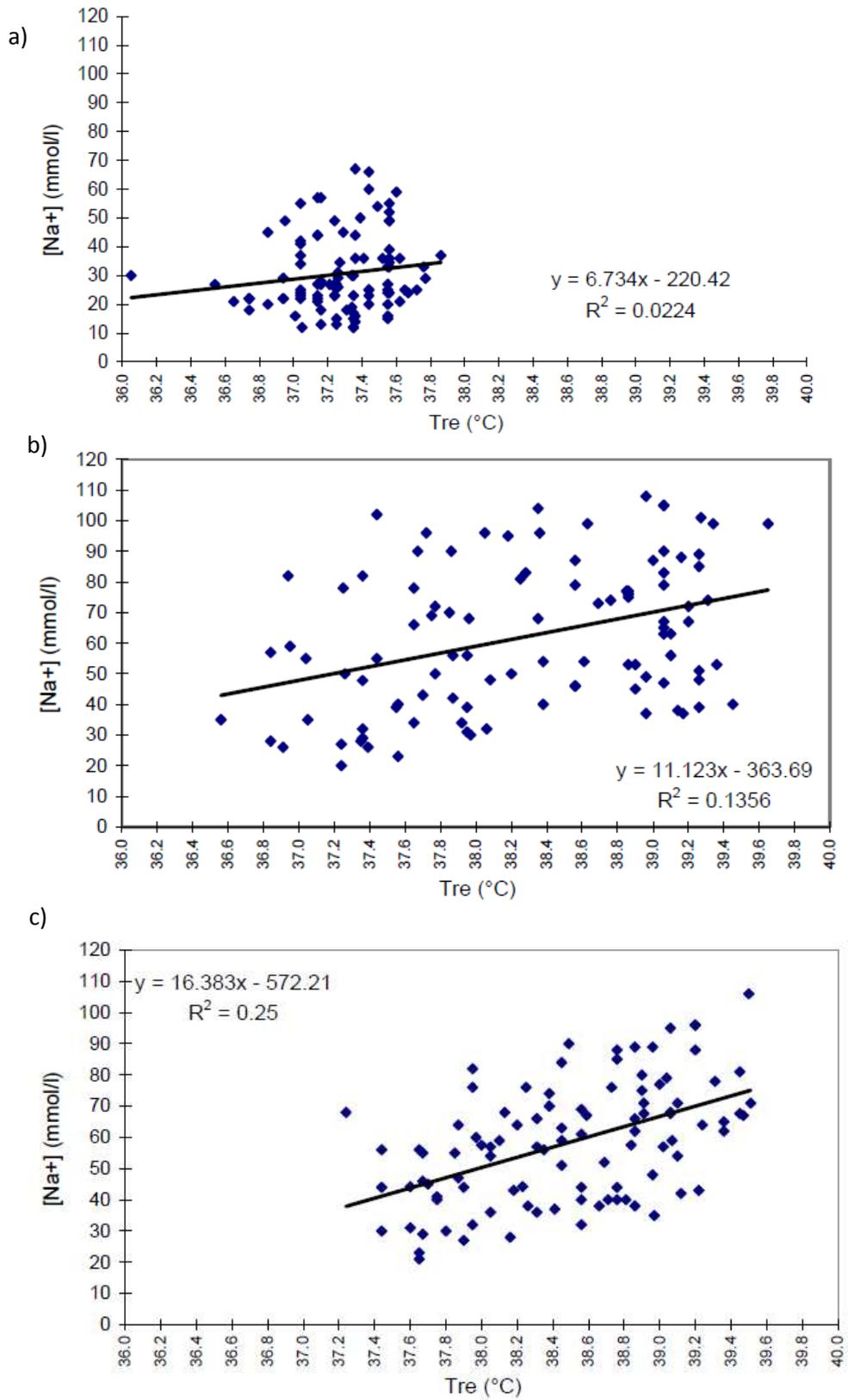


Figure 3: Relation entre [Na+] sudoral et Tre (°C) au cours des 3 tests a) SWT, b) HTCP, et c) HTCA

D'une manière générale, il n'apparaît pas de relation entre la concentration en ion sodium dans la sueur et la température rectale. Cette concentration est très variable d'un individu à l'autre mais aussi d'un test à l'autre pour pouvoir tirer quelque conclusion, si ce n'est que l'on constate une augmentation en Na^+ dans la sueur au cours du temps particulièrement lorsque la contrainte thermique combine une charge thermique interne (exercice physique) et une charge thermique externe (combinaison), autrement dit, dans le cas du test HTCA. Cette situation étant caractéristique des conditions d'intervention des primo intervenants, nous avons décidé de poursuivre l'étude de ces résultats individuellement, dans le cadre d'une contrainte induite par un test HTCA.

I.3. Analyse individuelle

Lorsque l'on étudie les données individuelles issues du test HTCA, une relation globalement linéaire apparaît entre la concentration en sodium dans la sueur et la température interne. Cependant, la concentration en Na^+ initiale, au temps t_1 (1^{er} prélèvement de sueur) ainsi que l'augmentation de cette concentration au cours du temps sont très variables d'un individu à l'autre. L'étude individuelle a porté sur 23 patients, car les données de deux patients (sur 25) étaient inexploitable. Quatre courbes sont présentées ci-dessous (Figure 4), les autres étant situées dans l'annexe 3

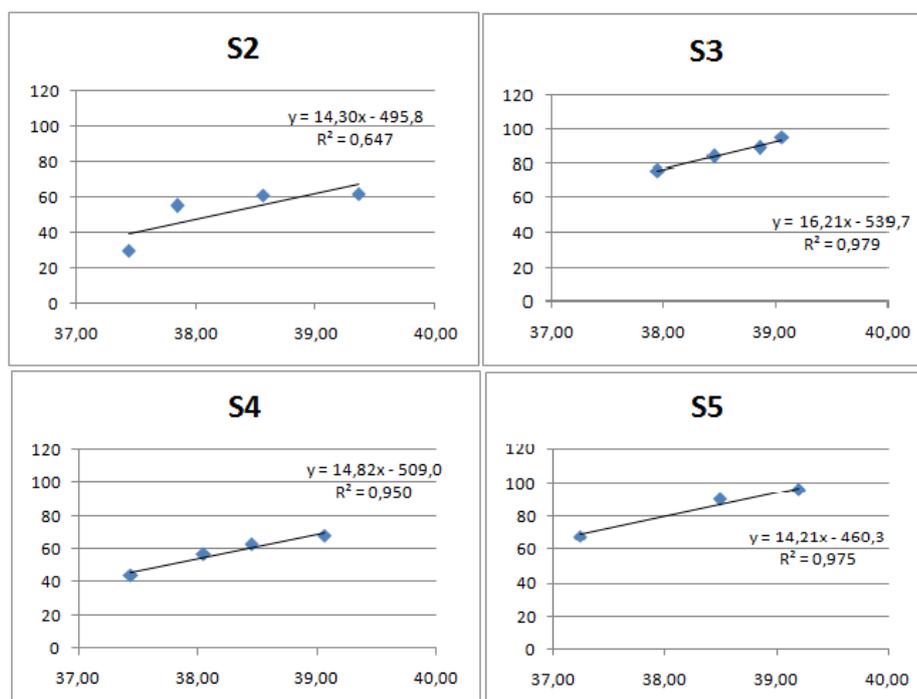


Figure 4: Relations individuelles entre $[\text{Na}^+]_{\text{sudoral}}$ (mM) et T_{re} (°C)

Nous avons analysé en détail les données recueillies et montré qu'en dépit d'une forte disparité inter-individuelle, une relation linéaire du type $[Na^+] = aT_{re} + b$ apparaît pour chaque sujet. Si l'on trace l'opposé de l'ordonnée à l'origine ($-b$) en fonction du coefficient directeur (a) pour chaque individu, nous obtenons une relation, qui met en relief un lien général (Figure 5):

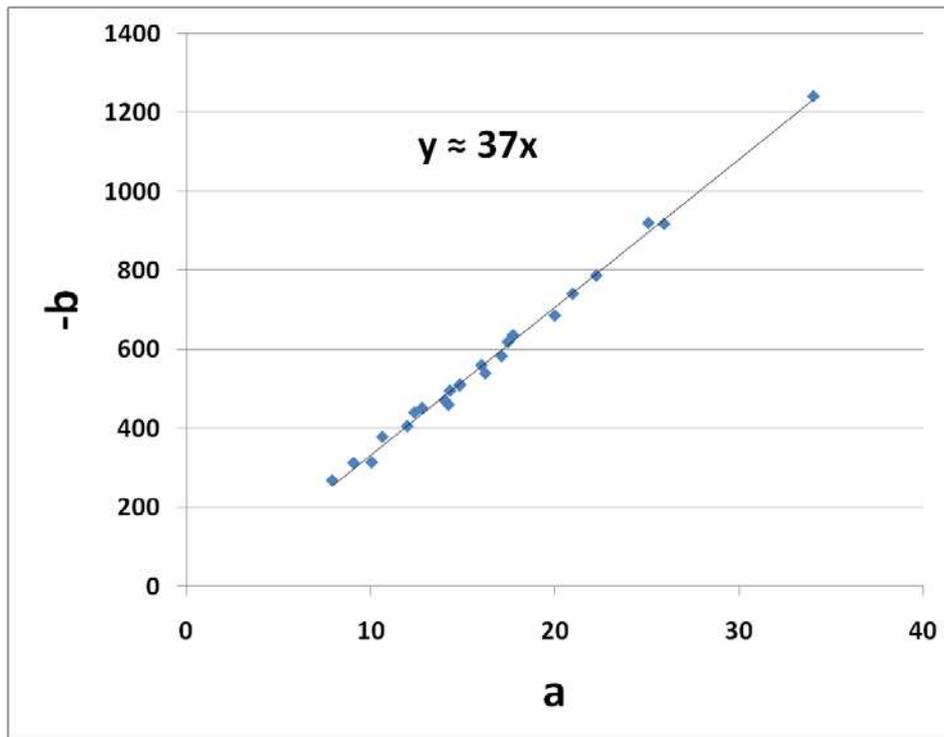


Figure 5: Relation entre a et b pour tous les individus confondus

Cette équation empirique s'écrit finalement:

$$-b \simeq aT^* \quad \text{Équation 1}$$

Avec $T^* \approx 37^\circ\text{C}$

A partir des figures 4 et 5, on se rend compte qu'il est possible d'écrire quel que soit le sujet:

$$\begin{cases} [Na^+] = aT + b & \text{Équation 2} \\ -b \simeq aT^* & \text{Équation 3} \end{cases}$$

Ainsi, nous obtenons une relation simple entre la concentration en sodium dans la sueur $[Na^+]$ et la température interne T:

$$[Na^+] = a(T - T^*) \quad \text{Équation 4}$$

Si la mesure du premier échantillon de sueur ($[Na^+]_1, T_1$) est considérée, il est possible d'écrire:

$$[Na^+]_1 = a(T_1 - T^*) \quad \text{Équation 5}$$

Soit:

$$a = \frac{[Na^+]_1}{T_1 - T^*} \quad \text{Équation 6}$$

En combinant les équations 4 et 6, l'expression de la concentration en sodium est alors fonction de la température interne par tel que:

$$[Na^+] = [Na^+]_1 \frac{(T - T^*)}{(T_1 - T^*)} \quad \text{Équation 7}$$

De la même manière, la température interne est liée à la concentration en sodium tel que:

$$T = T^* + \frac{[Na^+]}{[Na^+]_1} (T_1 - T^*) \quad \text{Équation 8}$$

D'après la réponse potentiométrique du capteur sodium (loi de Nernst):

$$V = s_0 \log[Na^+] + V_{cal} \quad \text{Équation 9}$$

$$V = s_0 \log[Na^+]_1 + s_0 \log \frac{(T - T^*)}{(T_1 - T^*)} + V_{cal} \quad \text{Équation 10}$$

$$V - V_1 = \Delta V = s_0 \log \frac{(T - T^*)}{(T_1 - T^*)} \quad \text{Équation 11}$$

Avec $V_1 = s_0 \log[Na^+]_1 + V_{cal}$

D'une manière générale, la température interne est fonction de l'augmentation de la concentration en ion sodium dans la sueur tel que:

$$T = T^* + (T_1 - T^*)10^{\left(\frac{\Delta V}{s_0}\right)} \quad \text{Équation 12}$$

Ou T_1 est la température de début de sudation et à été estimée à $37,5 \text{ °C} \pm 0,2$ d'après les mesures précédemment effectuée ; et T^* une constante de l'ordre de 37°C (telle que estimée précédemment). Il apparait ainsi que l'utilisation d'un capteur potentiométrique pour la mesure de la natrémie dans la sueur est particulièrement bien adaptée à la mesure indirecte de la température interne.

II. Intégration du pNa-ChemFET dans un outil d'analyse de la sueur

Ce paragraphe décrit l'intégration de la technologie pNa-ISFET (dont le développement est exposé dans le chapitre précédent) dans un outil d'analyse de la sueur qui a pour fonction de caractériser l'état physiologique des personnels d'intervention par l'analyse et la surveillance de la concentration de l'ion sodium dans la sueur en temps réel. D'après le modèle mathématique mis en place dans le paragraphe précédent, il est possible d'obtenir une information sur l'état physiologique d'un sujet en condition d'intervention lié à une hyperthermie.

Cet outil d'analyse de la sueur se doit d'être non-invasif et autonome en énergie. Afin de satisfaire ces contraintes "ergonomiques", il a été décidé, suivant les conclusions d'une analyse fonctionnelle menée avec les principaux intéressés (pompiers militaires), d'opter pour une structure en bandeau thoracique, qui viendra se placer sur la partie inférieure du sternum. Ce bandeau sera équipé d'une liaison sans fil pour transmettre les données sur un terminal externe déporté. Le dispositif possèdera une autonomie supérieure à 12 heures (temps d'intervention maximal).

II.1. Description du bandeau physiologique

La fabrication des parties plastiques du bandeau à été prise en charge par la société Paul Boyé Technologie. Les phases de conceptions ont été le fruit de la collaboration entre les sociétés Hémodia, Paul Boyé Technologie et le laboratoire CEA-LETI. Le design du bandeau

thoracique est inspiré des cardiofréquence-mètres actuels et son encombrement est similaire (Figure 6).



Figure 7: Bandeau physiologique



Figure 6: Coque semi-rigide (au-dessus) et boîtier amovible (en-dessous)

Le dispositif est composé de deux parties distinctes (Figure 7), à savoir:

- une coque semi-rigide liée de part et d'autre par un élastique, qui accueille les cartes électroniques et les accumulateurs,
- un boîtier amovible destiné à recevoir la pompe à sueur et les capteurs intégrés sur un support flexible.

La coque amovible est potentiellement un consommable à usage unique remplacé à chaque utilisation, de la même manière que l'on branche la façade d'un autoradio. Les différents éléments du bandeau (la carte électronique, la pompe à sueur et les capteurs intégrés sur le support souple (flex)) sont respectivement détaillés dans les trois prochains paragraphes.

II.1.A. Electronique embarquée

La fabrication de la carte électronique embarquée a été assurée par le CEA-LETI. Cette carte est constituée d'une architecture système classique (Figure 8). Elle est constituée de quatre blocs principaux: un bloc analogique, qui permet de polariser les capteurs et de mettre en forme les signaux numérisés par le bloc constitué du microcontrôleur faible consommation MSP430 (Texas Instruments®), un bloc assurant l'alimentation symétrique des différents composants actifs (+3V et -3V), et un bloc de communication équipé d'une liaison Bluetooth.

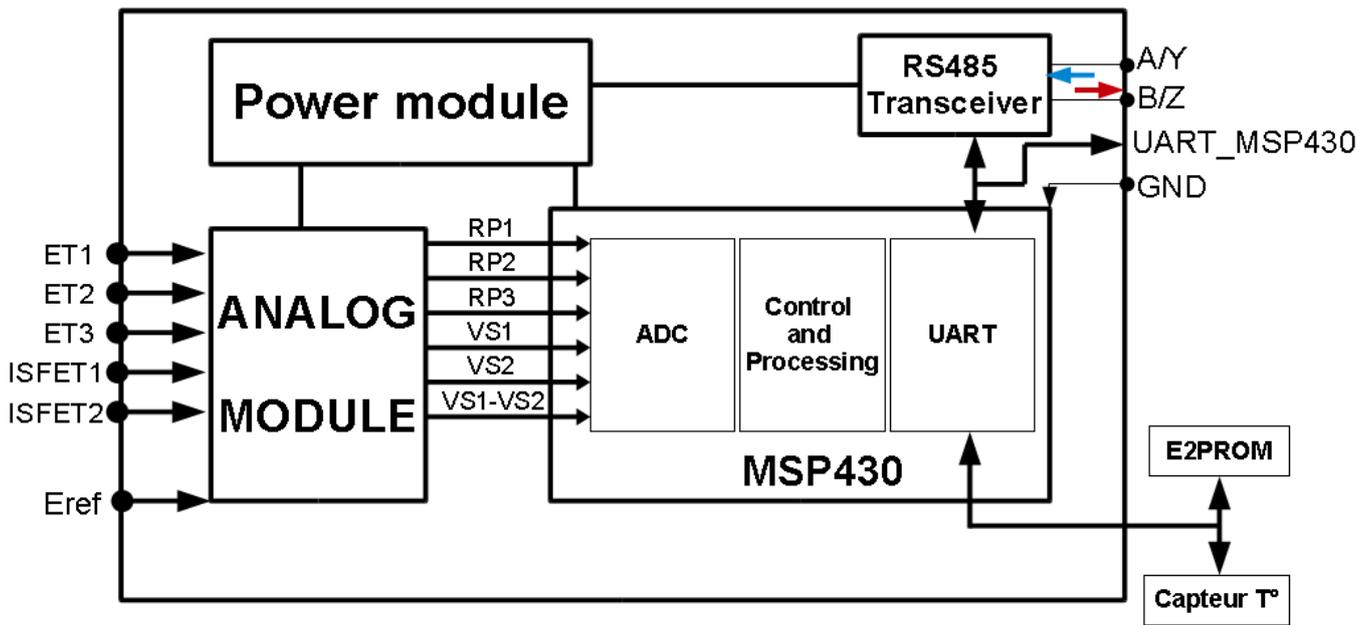


Figure 8: Architecture de la carte électronique embarquée

Une des missions qui m'a été confiée fut d'assurer la conception de la partie analogique en vue de polariser les pNa-ISFET, dans un souci de forte intégration ainsi que de faible consommation, de par les contraintes définies précédemment. Je me suis inspiré de la carte d'acquisition développée au sein de la société HEMODIA (cf. Chapitre 2, § 1.3) pour concevoir cette carte "source-drain follower" embarqué (Figure 9).

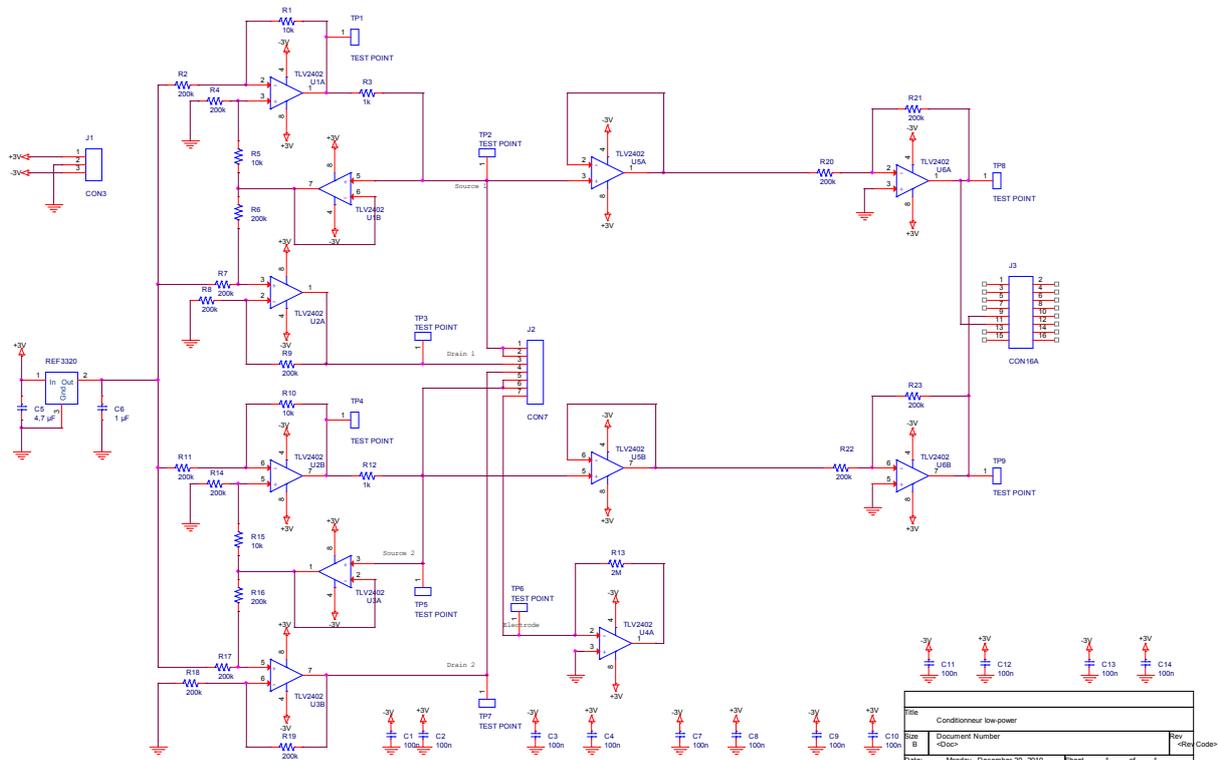


Figure 9: Schéma électronique du "source-drain" follower embarqué

Les amplis d'instrumentation régulant le courant de drain et le potentiel drain-source ont été remplacés par des amplificateurs opérationnels faible consommation, en montage différentiel. Le principe du circuit reste similaire à la carte d'acquisition présentée dans le chapitre précédent (cf. Chapitre 2, § 1.3). A l'aide d'une station d'acquisition (Fluke Hydra) nous avons caractérisé les performances de ce conditionneur en condition de mesure pendant 12 heures (temps maximal d'intervention) afin de vérifier la stabilité des courants de drain (Figure 10), des potentiels drain-source (Figure 11) et du potentiel de l'électrode de référence par rapport à celui de la masse du circuit (Figure 12).

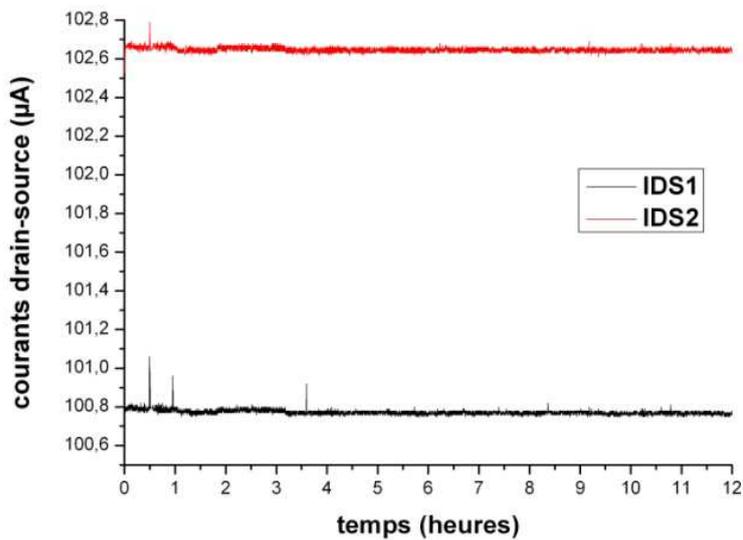


Figure 11: courants de drain

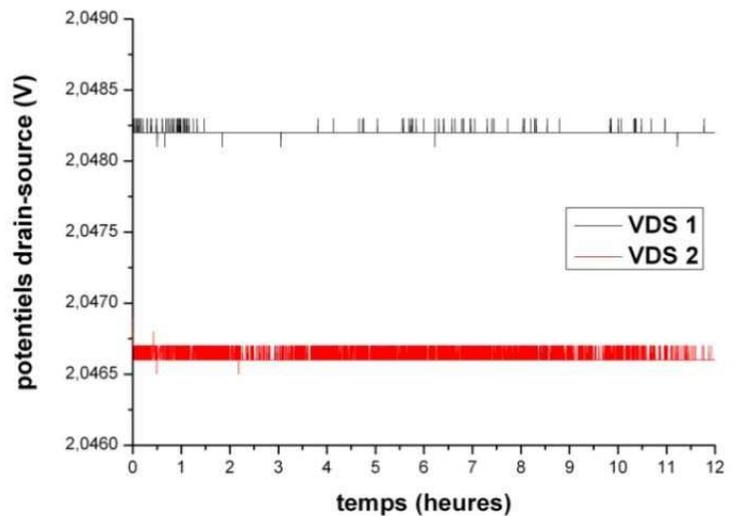


Figure 10: potentiels drain-source

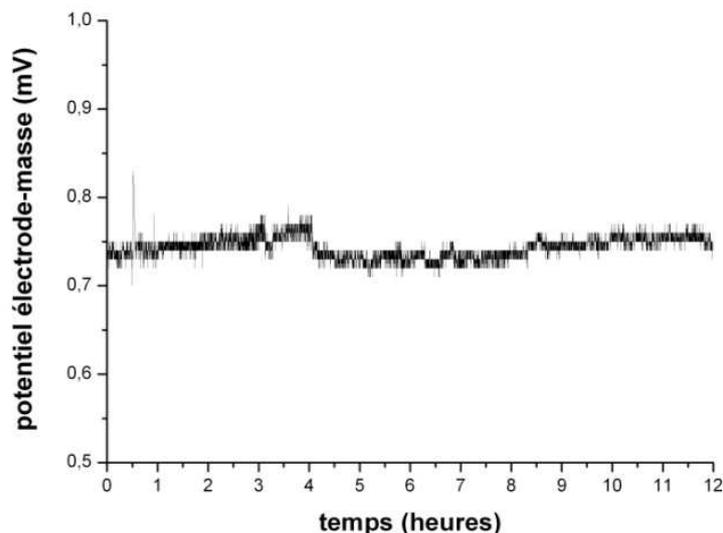


Figure 12: Potentiel électrode-masse

Théoriquement, la valeur des courants de drain est égale à $100 \mu\text{A}$, et la valeur des potentiels drain-source est égale à 2V . Cependant, bien que nous ayons utilisé des résistances de précision dont la tolérance est de 1% , nous observons un faible écart entre la valeur théorique et la valeur mesurée, mais cet écart reste dérisoire et n'est d'aucune importance vis-à-vis du bon fonctionnement de l'ensemble électronique/capteur. Les courants drain-source sont régulés à leurs valeurs respectives $\pm 0,1 \mu\text{A}$, les potentiels drain-source à $\pm 0,1 \text{mV}$, et le potentiel de l'électrode de référence à $\pm 50 \mu\text{V}$. Ces performances nous assurent du bon fonctionnement du conditionneur et valide ainsi sa phase de conception. Finalement, l'encombrement de l'électronique a été réduit par la réalisation d'une carte de deuxième génération, réalisée par le CEA-LETI (Figure 13), qui a pu être intégrée dans le bandeau thoracique.

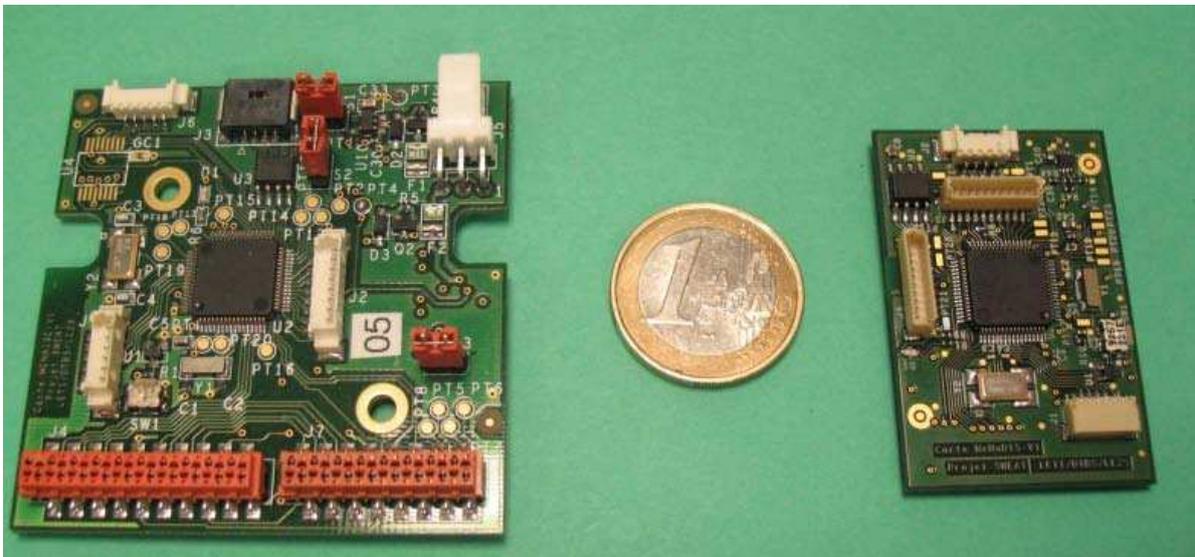


Figure 13: Carte première (à gauche) et deuxième (à droite) génération

II.1.B. Pompe à sueur

La pompe à sueur est l'élément qui permet d'acheminer la sueur vers les parties sensibles des capteurs par des phénomènes de capillarité. Son développement a été assuré par la société Paul Boyé Technologie. Elle est constituée de trois zones textiles distinctes (Figure 14):

- une première zone, la zone de prélèvement, qui sera directement en contact avec la peau du sujet, permet d'acheminer la sueur grâce à un matériau hydrophile caractérisé par une forte capacité de transfert d'humidité,
- une zone intermédiaire, le canal, possède les mêmes caractéristiques que la zone précédente, et draine la sueur sur les capteurs intégrés sur un substrat flexible,
- une troisième zone, la zone de stockage, permet de créer un phénomène de pompage favorisant ainsi la circulation de la sueur au niveau du canal. Cette zone assure également le stockage de la sueur grâce à sa forte capacité d'absorption.

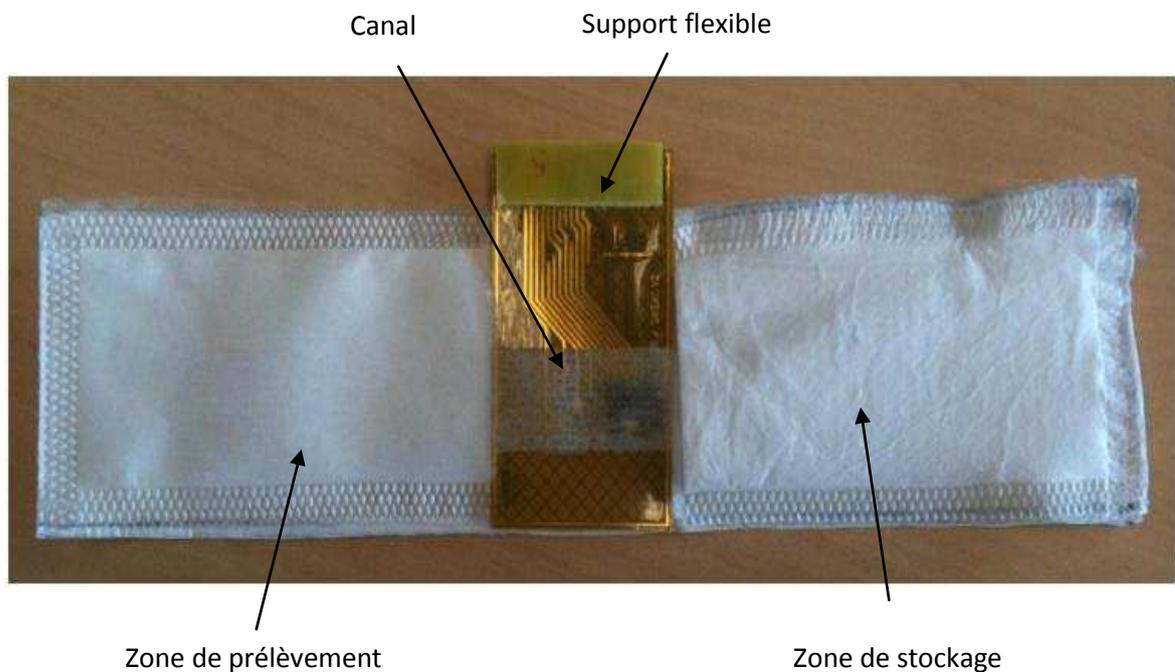


Figure 14: Pompe à sueur dépliée

Cette pompe à sueur est destinée à un usage unique et sera repliée sur elle-même afin de limiter les contraintes d'encombrement avant d'être intégrée dans le boîtier amovible.

II.1.C. Substrat flexible

Le substrat flexible est la plateforme commune aux capteurs électrochimiques. Ce support est destiné à accueillir deux technologies distinctes en vue de la mesure de l'ion sodium: les pNa-ISFET, technologie active développée par la société HEMODIA et décrite dans le chapitre précédent, et les électrodes sensibles au sodium (Na-ISE), technologie passive développée par le laboratoire CEA-LETI. La mise en parallèle de ces deux types de capteurs sélectifs permettra de comparer leurs performances en vue de l'intégration future de la technologie la plus adaptée à cette application. L'intégration de ces capteurs a constitué une étape clé dans le déroulement du projet, que j'ai choisi de décrire plus en détail dans le prochain paragraphe. Le design du substrat flexible a été conçu par la société HEMODIA et le laboratoire CEA-LETI, ce dernier ayant pris en charge sa réalisation.

II.2. Intégration du module de détection

En vue de l'intégration de la technologie pNa-ISFET mise au point dans le chapitre 2, nous nous sommes appuyés sur une solution d'encapsulation/conditionnement ou "packaging" précédemment développée par la société HEMODIA, dans le but de mutualiser la filière ISFET et d'utiliser les outils de production disponibles à HEMODIA [1]. Ce module de détection générique sera par la suite reporté sur le substrat flexible, dénommé "patch", aux côtés des électrodes développées par le CEA-LETI.

II.2.A. Description du module

Cette solution consiste à intégrer sur un support souple, appelé "module de détection", deux puces ISFET et une électrode de référence (Figure 15). Une seule puce a été rendue sensible à l'élément à détecter, l'ion sodium en l'occurrence, par des techniques de jet d'encre (*cf.* Chapitre 2), alors que l'autre puce, permettra soit d'effectuer une mesure différentielle, soit de fournir une information relative au pH. Un contact spécifique (Or) est situé sur la partie supérieure du module, à égale distance des deux puces en prévision de l'intégration de

l'électrode de référence, qui, constituant la problématique majeure à ce stade du développement, est détaillée dans le paragraphe suivant.

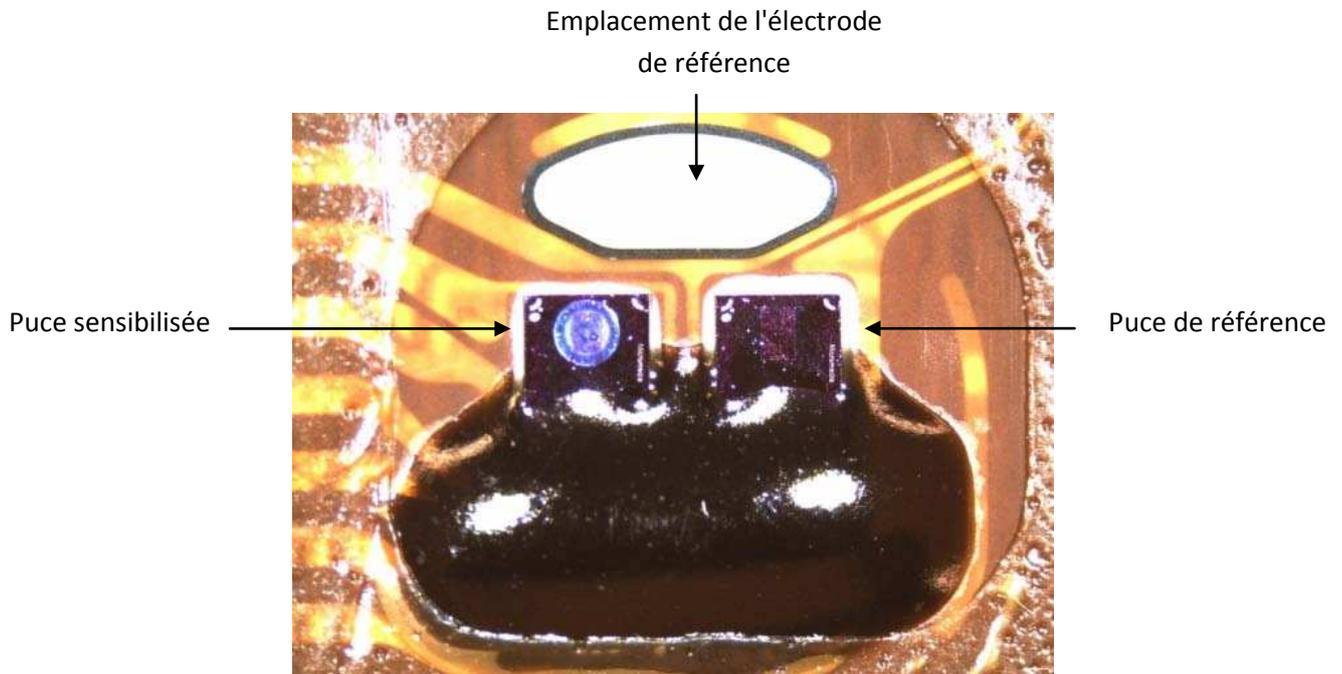


Figure 15: Module de détection

II.2.B. Intégration de l'électrode de référence sur le module de détection

Le contact en or dédié à l'électrode de référence ne présente pas, à lui seul, les caractéristiques nécessaires pour assurer un potentiel électrochimique stable. C'est pourquoi nous avons déposé sur la surface de ce contact de l'encre Ag/AgCl afin de garantir des performances électrochimiques optimales. En effet, comme nous l'avons vu dans le chapitre premier, le couple rédox Ag/AgCl est soumis à la réaction réversible suivante:



Ainsi, le potentiel d'abandon en phase liquide d'une électrode constituée de ce matériau par rapport à une électrode normale à hydrogène obéit à la loi de Nernst, à température ambiante tel que :

$$E_{Ag/AgCl} = E_{0(Ag/AgCl)} - S_{Nernst} \log[Cl^-] \quad \text{Équation 14}$$

$$\text{Avec } S_{Nernst} = \frac{kT}{q} \approx 59,2 \text{ mV}$$

Où $E_{Ag/AgCl}$ est le potentiel d'abandon de l'électrode (potentiel en circuit ouvert), $E_{0(Ag/AgCl)}$ la différence de potentiel par rapport à une électrode normale à hydrogène et $[Cl^-]$ la concentration molaire des ions chlorures en solution.

Nous avons déposé à l'aide d'une micropipette l'équivalent de 5 mg d'encre Ag/AgCl (constituée d'un rapport Ag-AgCl de 90-10, obtenus via la société GWENT Group) sur le contact en or prévu pour servir d'électrode de référence. L'encre a été finalement stabilisée par recuit thermique à une température de 60 °C pendant 30 minutes.

Afin de valider l'intégration de l'encre Ag/AgCl en tant que matériau constitutif de l'électrode de référence, la mesure de la concentration en ions chlorure $[Cl^-]$ à été étudiée en phase liquide par potentiométrie, en utilisant un potentiostat Metrohm Autolab PGSTAT 30 et une électrode de référence commerciale (Metrohm Ag/AgCl à double jonction de verre, avec compartiments interne et externe contenant un électrolyte constitué de KCl - 3,5 M). Le potentiel de Nernst à l'équilibre a été mesuré dans des solutions constituées d'un électrolyte support (0,1 M CH_3COOLi) ainsi que des concentrations de chlorure de sodium allant de 10^{-2} à 10^{-1} M (cette gamme de concentration correspond au taux d'ions chlorures dans la sueur, qui est d'ailleurs, comme nous le verrons plus loin, quasiment équivalent au taux d'ions sodium dans la sueur). Nous avons de ce fait ainsi étudié les propriétés de détection des ions chlorures Cl^- et la stabilité temporelle de l'électrode de pseudo-référence préalablement fabriquée. Des réponses analytiques typiques ont été obtenues [2] attestant une sensibilité proche de 55 mV/pCl sur la gamme de concentration [0,01 M - 0,1 M] (Figure 16).

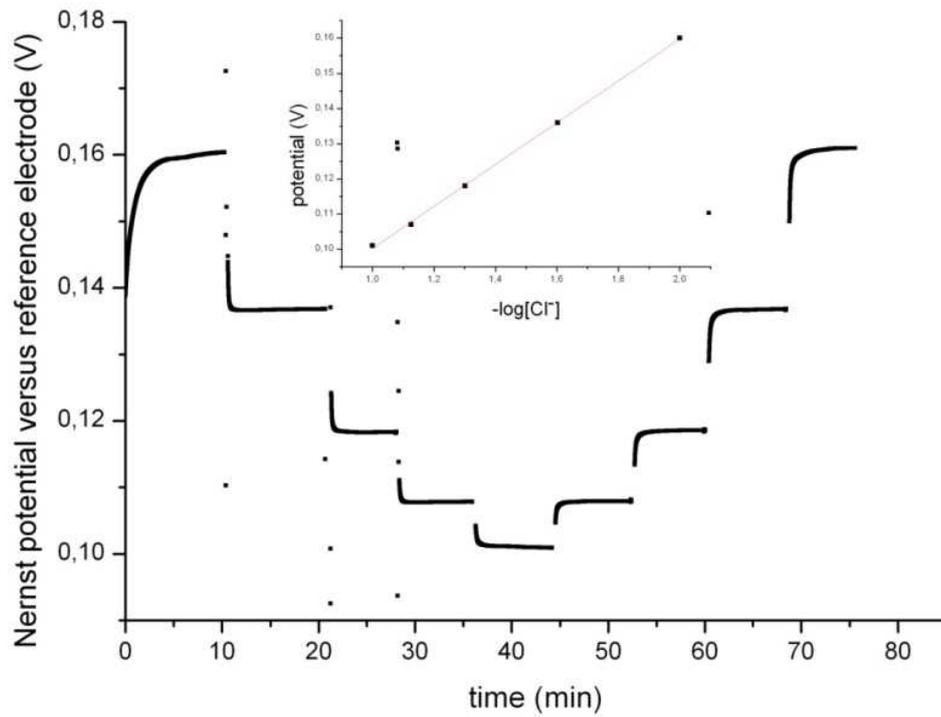


Figure 16: Réponse analytique de l'électrode Ag/AgCl intégrée

Ensuite, sa stabilité a été étudiée dans une solution 0,1 M de NaCl (Figure 17). Après une augmentation initiale d'environ 2 mV pendant la première demi-heure, le potentiel de la microélectrode Ag/AgCl à l'équilibre s'avère être tout à fait stable (environ 0,100 V), attestant une très faible dérive (environ 1 μ V/h) pendant les heures suivantes, en accord avec la littérature [3].

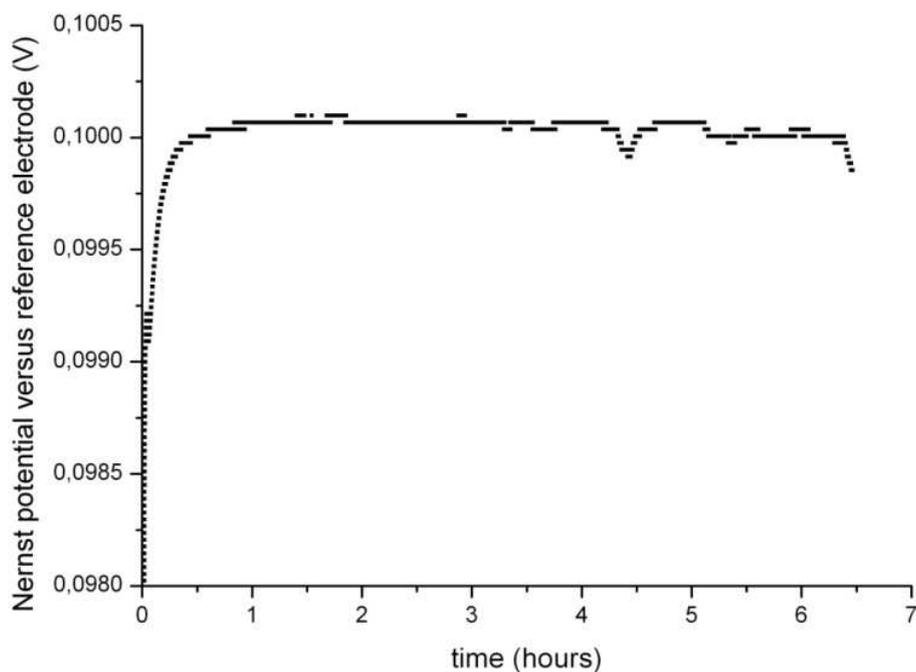


Figure 17: Potentiel de Nerst mesuré dans une solution de NaCl (0,1 M)

Ces performances sont satisfaisantes, et le module de détection est prêt à être intégré sur le substrat flexible, que nous dénommerons par la suite "patch".

II.2.C. Report du module de détection sur le "patch"

La phase finale d'assemblage consiste à reporter ce module de détection désormais équipé d'un site sensible aux ions sodium, d'un site secondaire sensible au pH, et d'une pseudo électrode de référence, sensible aux ions chlorures, sur le support flexible accueillant également les électrodes du CEA-LETI. Nous avons utilisé un film conducteur adhésif anisotrope qui permet d'effectuer une connexion électrique suivant un seul axe entre deux supports (référence 7313, société 3M). Ce film est une matrice thermoplastique adhésive chargée de particules conductrices. Ces particules permettent la connexion des conducteurs des deux supports à assembler, au travers de l'épaisseur du conducteur, mais sont assez espacées pour assurer l'isolation électrique dans le plan horizontal de l'adhésif. L'application d'une contrainte en température (140°C) et en pression (15 kg/cm²) provoque un écoulement de la matrice plastique qui permet d'amener les pistes métalliques de part et d'autre de chaque support en contact avec les particules piégées (Figure 18).

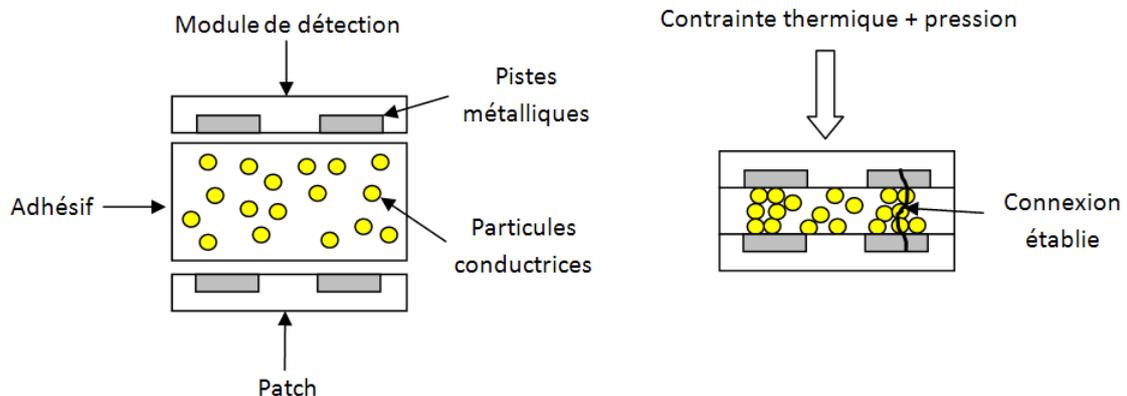


Figure 18: Méthode de report du module de détection sur le "patch"

Cette technique de report à permis d'obtenir des contacts électriques inférieurs à 0,5 ohm, et ceci pour les 7 contacts établis (2 contacts de source, 2 contacts de drain, 2 contacts de grille partielle, et un contact pour l'électrode de référence). Le contour du module de

détection à été étanchéifié, par mesure de précaution par un silicone industriel (référence 5248, société Loctite). Une mise au point du design du substrat final, réalisé en Kapton® (3 versions au total), a été nécessaire en vue d'optimiser l'encombrement. Cette phase a été réalisée grâce à la collaboration de la société HEMODIA et du laboratoire CEA-LETI, responsable de l'intégration des électrodes sensibles (Na-ISE). Ces électrodes sont composées de trois électrodes métalliques (pour une mesure moyennée) surmontées d'une cuve contenant un électrolyte interne (NaCl), isolée de la solution à analyser par une membrane PVC contenant des ionophores. La face arrière du "patch" intègre un capteur de température, permettant de compenser une dérive éventuelle liée à la température, ainsi qu'une EPROM (Figure 19), qui permettra, le cas échéant, d'intégrer des paramètres de calibration spécifiques aux capteurs.

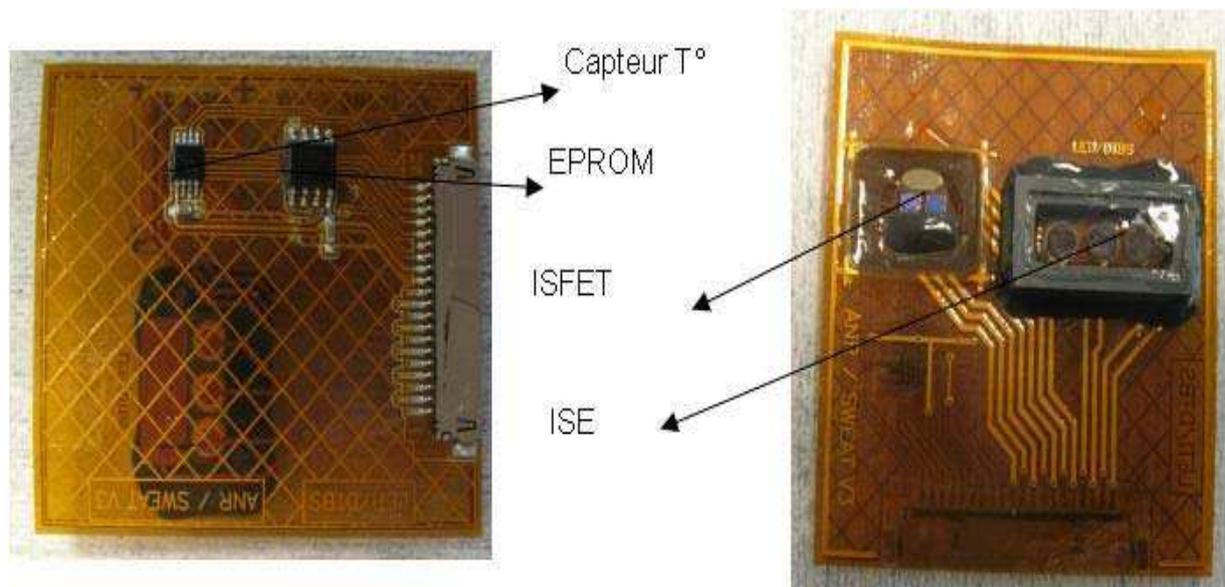


Figure 19: "Patch", face avant (à droite), face arrière (à gauche)

Après la confection des "patches", nous avons procédé à des mesures in-vitro afin de s'assurer, en premier lieu, que les performances des capteurs (notamment des pNa-ISFET) étaient similaires à celles obtenues lors de la phase de mise au point technologique (cf. Chapitre 2), et, en second lieu, que les deux systèmes de détection (pNa-ISFET et pNa-ISE) n'interféraient pas l'un sur l'autre, de part la mise en commun d'une seule et unique électrode de référence. Ces caractérisations sont présentées dans le paragraphe suivant.

II.3. Caractérisations in-vitro

Au préalable, les caractérisations ont été effectuées en immergeant directement le "patch" en solution, en s'affranchissant des contraintes liées à la pompe à sueur, qui sera étudiée plus loin. Les mesures sont réalisées via la carte électronique précédemment décrite, qui vient interroger les capteurs séquentiellement et transmet les données par une liaison sans fil à un PC situé à proximité. Une interface homme-machine, développée par le CEA-LETI pour cette application, permet de visualiser les potentiels en temps réel. Ces potentiels (source-électrode de référence) sont négatifs. Cependant, la plage du convertisseur analogique/numérique dont le rôle est de numériser les signaux en vue de leur traitement et de leur transmission, est positive (0-2,5V). C'est pourquoi ces potentiels de sources sont inversés afin qu'ils soient positifs en entrée du convertisseur. Le logiciel d'acquisition du terminal affichant les données n'intègre pas de fonction inverseuse, comme le faisait l'interface développée au chapitre précédent (*cf.* Chapitre 2, § I.3.C). Ainsi, les potentiels relevés sont inversés par rapport aux précédentes caractérisations: le potentiel diminue alors que la concentration en ions sodium augmente.

II.3.A. Sensibilité du système

Nous avons vérifié les performances électrochimiques sur une large gamme constituée de solutions contenant de l'acétate de lithium ($\text{CH}_3\text{COOLi} - 0,1\text{M}$) et du chlorure de sodium NaCl [10^{-5} - 10^0 M] en se focalisant sur le signal issu du pNa-ISFET (Figure 20).

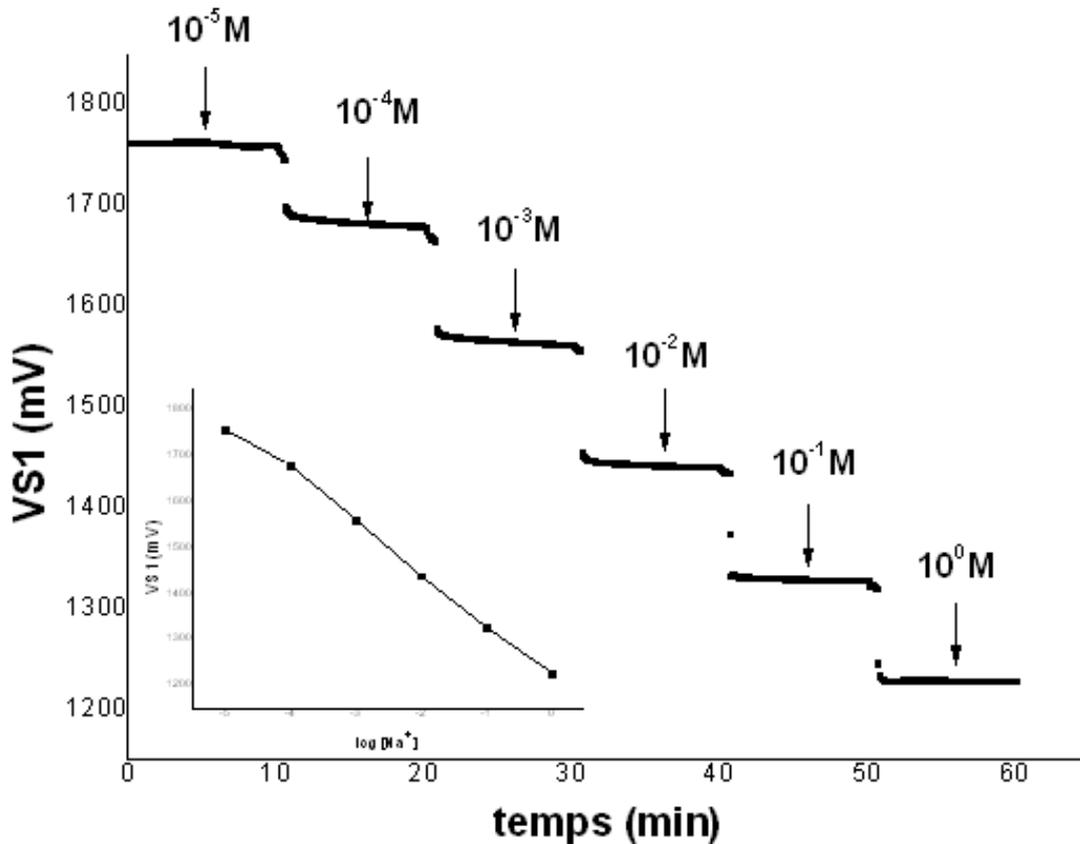


Figure 20: Réponse analytique du pNa-ISFET avec l'électrode Ag/AgCl intégrée et l'électronique portable

La sensibilité mesurée est de l'ordre de 110 mV/pNa. Ce phénomène est lié à la présence de l'électrode Ag/AgCl, qui, comme nous l'avons vu plus tôt (cf. § II.2.B) présente une sensibilité d'environ 55 mV/pCl. Les solutions de calibration utilisées étant composées de chlorure de sodium, l'osmolarité des ions sodium est égale à celle des ions chlorures, d'où une double réponse liée à la membrane sensible aux ions sodium d'une part et à l'électrode sensible aux ions chlorure d'autre part. D'un point de vue théorique, ce phénomène se décrit simplement:

$$V = V_{cal} + s_{pNa-ISFET} \log[Na^+] + s_{Ag/AgCl} \log[Cl^-] \quad \text{Équation 15}$$

$$V = V_{cal} + (s_{pNa-ISFET} + s_{Ag/AgCl}) \log[Na^+] \quad \text{Équation 16}$$

Cette constatation peut poser problème dans le cas de l'analyse de la sueur. Cependant, les prélèvements effectués par le CRRSA (cf. § III) ont montré que les concentrations en sodium

dans la sueur sont quasiment identiques à celle en ions chlorure, et ce, pour chacun des quatre prélèvements effectués sur les 25 sujets confondus (Figure 21).

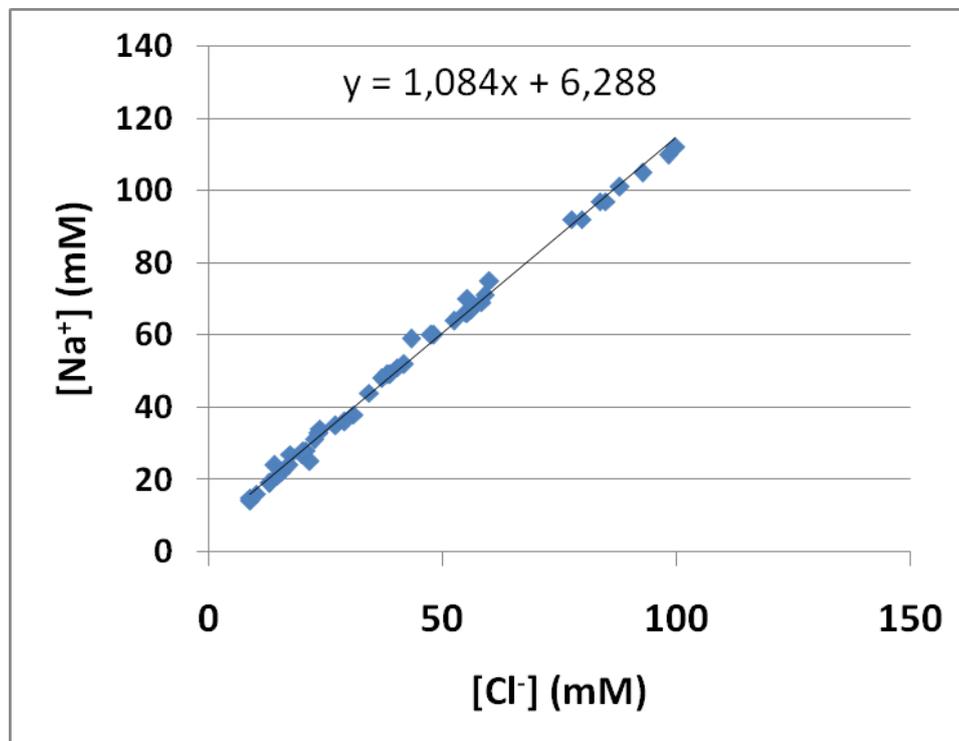


Figure 21: Relation entre la concentration en ions sodium et en ions chlorure dans la sueur pour les prélèvements concernant 25 sujets

Comme le rapport entre la concentration en ions sodium et en ions chlorures (environ égal à 1,09) reste constant tout au long de la mesure, nous pouvons écrire:

$$[Na^+] = 1,09[Cl^-] \quad \text{Équation 17}$$

$$\log[Na^+] = \log(1,09) + \log[Cl^-] \quad \text{Équation 18}$$

La tension en sortie du capteur est alors égale à:

$$V = (V_{cal} - s_{Ag/AgCl} \log(1,09)) + (s_{pNa-ISFET} + s_{Ag/AgCl}) \log[Na^+] \quad \text{Équation 19}$$

Où le terme $V_{cal} - s_{Ag/AgCl} \log(1,09)$ représente une constante influant sur l'offset de la mesure et non sur la dynamique. Finalement, la relation linéaire entre la concentration en ions sodium et en ions chlorure dans la sueur permet l'utilisation, à bon escient, de ce type

d'architecture (pNa-ISFET + électrode Ag/AgCl intégrée) en considérant une sensibilité du dispositif de 110 mV/pNa. Comme nous avons pu le vérifier suite à ces mêmes prélèvements, la concentration en ions sodium varie grossièrement entre 30 et 85 mM en condition HTCA (cf. § I.1). Nous avons alors effectué des mesures en restreignant la gamme de concentration concernant le chlorure de sodium NaCl entre 10 et 100 mM (Figures 22 et 23).

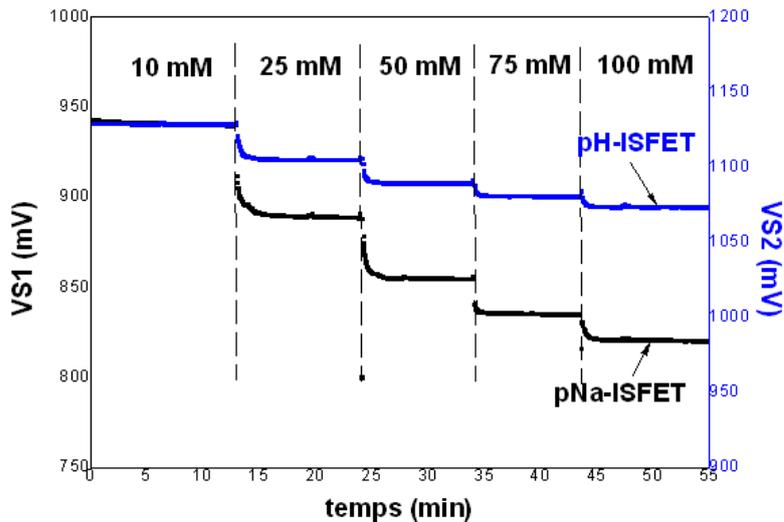


Figure 23: Réponse analytique des sites pNa-ISFET et pH-ISFET avec l'électrode de référence Ag/AgCl intégrée

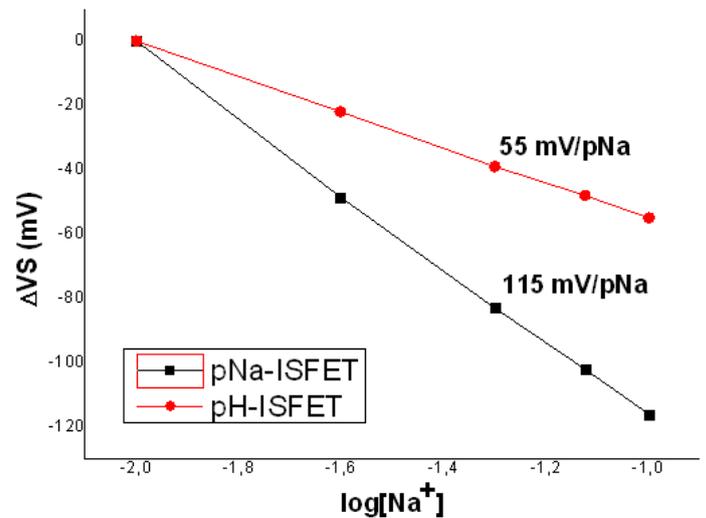


Figure 22: Variations de potentiel en fonction du logarithme de la concentration en ions sodium pour les sites pNa-ISFET et pH-ISFET

Indépendamment de la concentration en chlorure de sodium, la force ionique des solutions de calibration est maintenue constante grâce à la forte concentration en acétate de lithium (0,1 M). Ainsi, les variations observées sur le site pH-ISFET sont finalement dues à l'équilibre rédox de l'électrode Ag/AgCl intégrée. Comme nous l'avons caractérisé précédemment, sa sensibilité envers les ions chlorure est de 55mV/pCl (cf. II.2.B). Le site pNa-ISFET, lui, est caractérisé par une sensibilité envers les ions sodium d'environ 115 mV/pNa, ce qui est proche de la valeur obtenue précédemment (110 mV/pNa). Ces dernières caractérisations démontrent que le comportement des capteurs est tout à fait conforme à celui attendu (cf. Chapitre 2). Par la même occasion, cela confirme que les deux types de capteurs ne se perturbent pas ce qui signifie donc que l'électronique portable permet la mesure séquentielle de ces capteurs sur le même support (Figure 24).

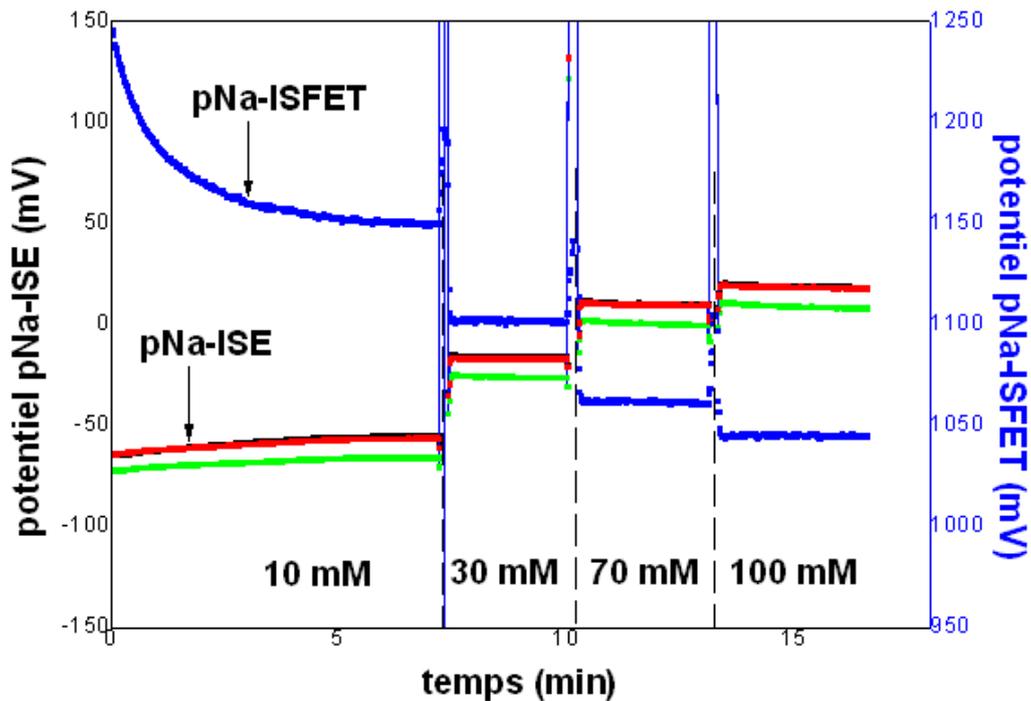


Figure 24: Réponses analytiques des ISE et des pNa-ISFET

II.3.B. Performances de détection sur un échantillon de sueur réel

Nous nous sommes ensuite intéressés à l'analyse de la concentration en ions sodium dans la sueur. Nous avons ainsi récupéré un volume de sueur issu des expérimentations du CRSSA (cf. § I. 1) assez conséquent pour recouvrir en intégralité le module de détection ($\approx 0,5$ mL). La valeur de tension de sortie du pNa-ISFET a été de l'ordre de 870 mV. Cette valeur a été comparée aux résultats de calibration en cinq points (10, 25, 50, 75 et 100 mM) précédemment montrés (cf. Figure 24). La figure 25 regroupe l'intégralité de ces résultats. D'après la réponse potentiométrique du capteur pNa-ISFET, la concentration en Na^+ peut être estimée à :

$$[\text{Na}^+_{\text{sueur}}] = 10^{\left(\frac{1057 - V_{S1_{\text{sueur}}}}{115}\right)} \approx 38,5 \text{ mM} \quad \text{Équation 20}$$

L'échantillon de sueur a en parallèle été envoyé au laboratoire Bio-Pôle (Labège) pour analyse et sa concentration a été estimée à 37 mM. L'écart entre la valeur mesurée par le capteur et l'analyse est relativement faible si l'on prend en compte les éventuelles erreurs

de mesures effectuées en laboratoire. Ceci valide la mesure de la concentration en ions sodium dans la sueur.

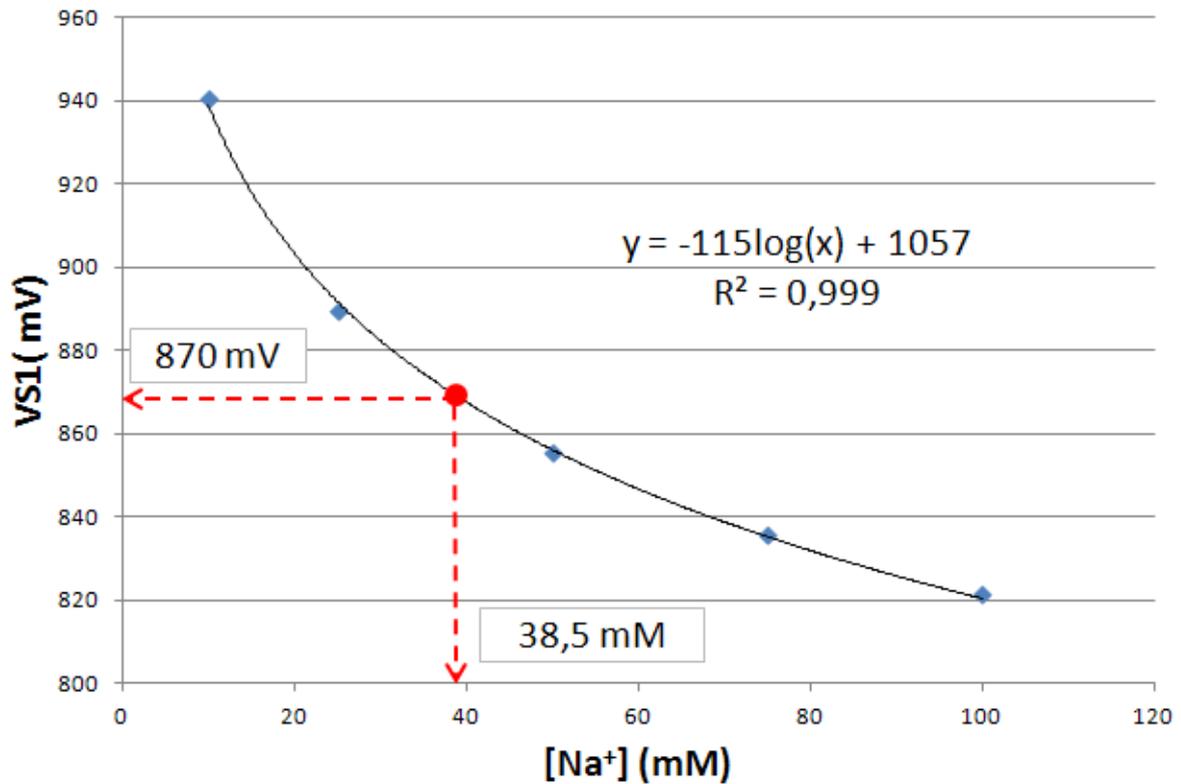


Figure 25: Détermination de la concentration en ions sodium dans un échantillon réel de sueur

II.3.C. Sensibilité du système incluant la pompe à sueur

Pour la première fois nous avons pu mesurer une concentration en ions sodium dans un échantillon de sueur réelle et obtenir des résultats satisfaisants. Les performances du système embarqué (carte électronique et capteurs intégrés) sont prometteuses. A ce stade, il reste à vérifier le bon fonctionnement du dernier point bloquant éventuel que constitue la pompe à sueur. Des essais avec cette pompe à sueur ont donc été effectués en laboratoire dans le but de valider l'ensemble des éléments du bandeau thoracique, avant de passer à des mesures sur individus.

Nous avons déposé sur la partie absorbante de la pompe à sueur une dizaine de millilitres de solutions composées de 0,1 M d'acétate de lithium CH_3COOLi et de, respectivement 10, 25, 50 et 100 mM de chlorure de sodium NaCl . La pompe à sueur est posée à plat, et le "patch" accueillant les capteurs pNa-ISFET et Na-ISE est placé sous le canal (cf. Figure 14). Les résultats obtenus sont présentés ci-dessous (Figures 26 et 27).

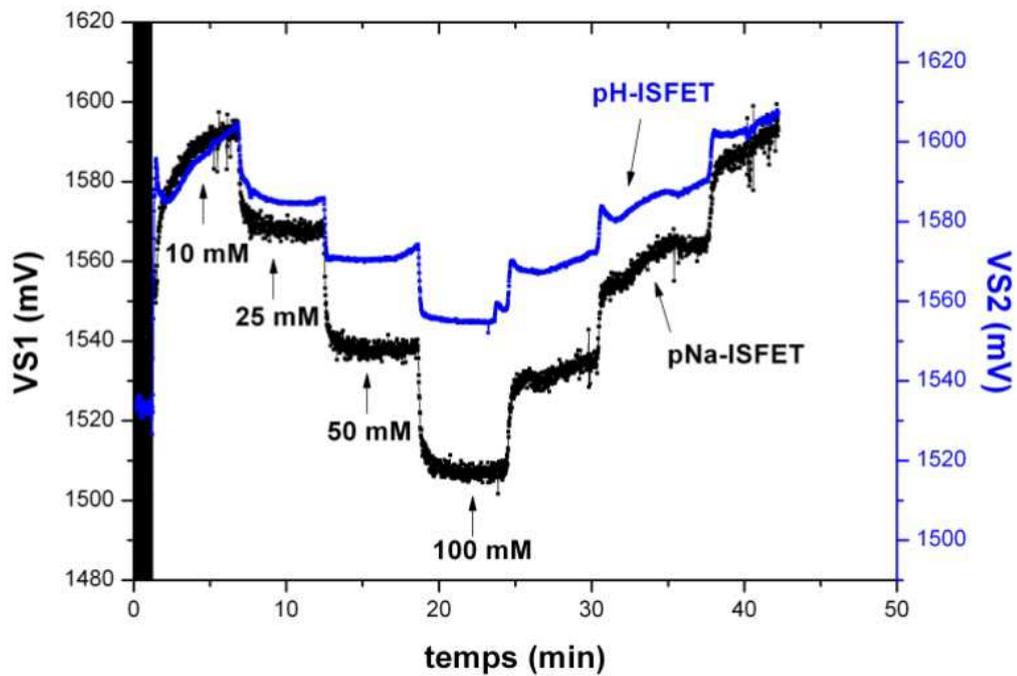


Figure 26: Signaux issus du module de détection

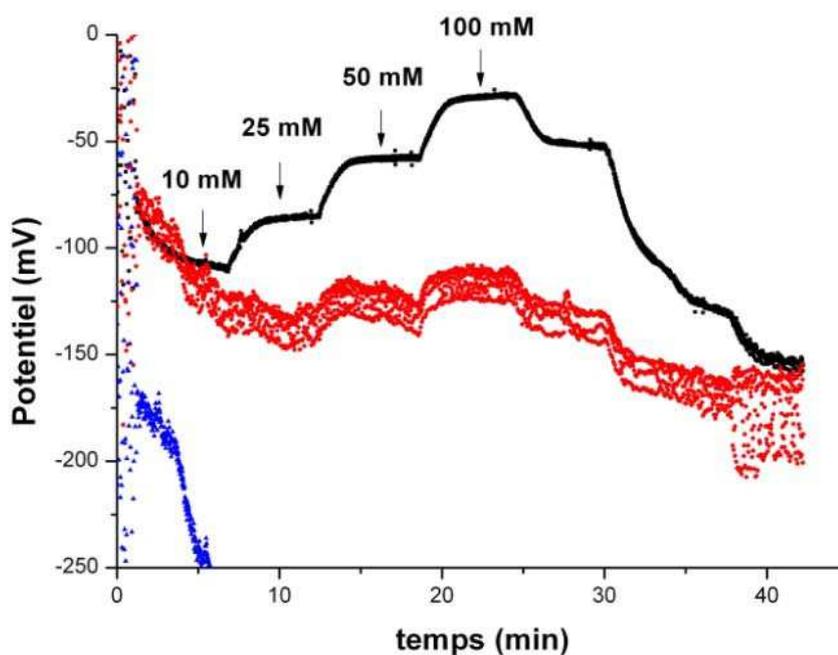


Figure 27: Signaux issus des trois électrodes Na-ISE

Le signal pNa-ISFET présente un bruit d'environ 5mV. Cet effet est dû au faible contact entre la partie sensible du capteur et le matériau textile constituant le canal qui draine la sueur. Cependant, dans le cadre de son intégration finale, la pompe à sueur sera repliée sur elle-même pour être insérée dans le boîtier amovible, ce qui devrait permettre d'améliorer ce contact. Les signaux issus du pNa-ISFET et du pH-ISFET sont corrects ; un seul signal issu des électrodes Na-ISE est satisfaisant. On remarque une "hystérésis" lorsque la concentration en chlorure de sodium diminue, mais ce phénomène semble être uniquement lié à la pompe à sueur dans le sens où il reste un certain volume de la solution précédente dans les fibres du textile lorsque l'on insère la solution de concentration inférieure. De plus, nous nous attendons à observer une augmentation de la concentration en ions sodium dans le cadre de l'application du projet (cf. § 1), et donc, ce phénomène d'hystérésis est de moindre importance. Après nous être intéressés à l'allure des signaux recueillis, nous avons analysé la dynamique de la réponse, qui, fonction de la concentration ionique est présentée dans la figure 28.

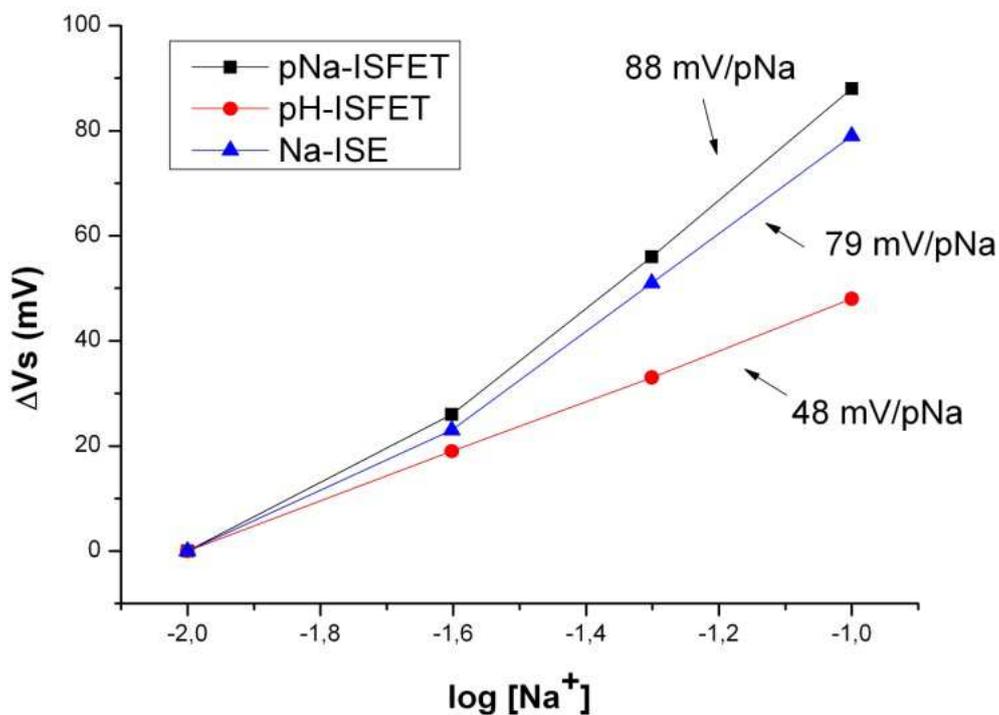


Figure 28: Sensibilité du pNa-ISFET, du pH-ISFET et de la Na-ISE insérés dans la pompe à sueur

Nous constatons une non-linéarité de la réponse des sites pNa-ISFET et Na-ISE. Ce phénomène est lié au trop court temps d'hydratation de la première solution de calibration (10 mM). En effet, le potentiel correspondant à cette même solution n'a pas atteint sa valeur finale avant l'injection de la seconde solution, ce qui provoque un décalage dans la réponse des capteurs. Ce phénomène est donc bien lié à l'hydratation de la membrane, car nous observons pour le site pH-ISFET une réponse linéaire, quoique légèrement en dessous de la valeur attendue (48 mV/pNa au lieu de 55 mV/pNa). Cela signifie que l'électrode de référence se comporte correctement.

Bien qu'il soit nécessaire d'apporter des modifications à ce prototype de pompe, et notamment, en vue d'améliorer les contacts entre la sueur et les parties sensibles des capteurs par un meilleur "plaquage" du canal sur le "patch", le concept de pompe à sueur passive semble fonctionner convenablement. Le liquide est effectivement drainé vers la zone sensible du capteur. Le système passif autorise ainsi une mesure cohérente en temps réel.

Ce dernier paragraphe a montré que les performances de tous les éléments qui composent le bandeau (notamment: la carte électronique embarquée, les technologies pNa-ISFET et Na-ISE intégrées, et la pompe à sueur passive) ainsi que le dispositif complet sont en adéquation avec l'application visée. Dès lors, il a été possible d'effectuer la deuxième session d'expérimentations organisée par le laboratoire du CRSSA. Cette expérimentation s'est focalisée sur des conditions proches des situations d'interventions des primo-intervenants (test HTCA). Le protocole est resté inchangé par rapport à la première session, mais en plus, nous avons pu effectuer des mesures in-vivo grâce aux bandeaux physiologiques réalisés. Le paragraphe suivant décrit la phase finale du projet SWEAT et présente les mesures obtenus sur un panel de dix individus.

III. Mesures in-vivo réalisées au CRSSA

III.1. Descriptif de l'expérimentation

Cette expérimentation concernant la validation du bandeau physiologique à été effectuée par le CRSSA entre le 10 et le 21 octobre 2011. Elle ne comporte qu'un type de test (HTCA) et

inclut dix sujets qui ont également fait partie de la première expérimentation (*cf.* § I). Les objectifs sont de première importance et doivent permettre de:

- compléter l'étude fondamentale (*cf.* § I) par l'analyse de la répétabilité de la mesure pour un même sujet,
- vérifier l'adaptation du prototype du bandeau physiologique réalisé sur un sujet au cours d'une activité comparable à celle d'un primo-intervenant,
- vérifier le bon fonctionnement du bandeau qui consiste à suivre en continu la mesure de la concentration des ions sodium dans la sueur lors d'un exercice en validant la corrélation entre les mesures issues du bandeau avec des mesures effectuées par un appareil de référence (automate de dosages de laboratoire) sur des prélèvements recueillis par une poche à sueur de façon itérative tout au long de l'exercice,
- valider l'utilité d'un tel outil de diagnostic d'un état hyperthermique en démontrant la corrélation entre l'augmentation en ions sodium dans la sueur et l'augmentation de la température interne précédemment définie (*cf.* § I).

Le test est identique au test HTCA (HyperThermie Contrôlée Active) effectué lors de l'étude fondamentale, à savoir, une marche sur tapis roulant à 4 km/h avec 4 % de pente. L'exercice est réalisé dans une chambre climatique qui permet de réguler les paramètres de température afin d'obtenir une ambiance chaude et humide (température sèche entre 30 et 35 °C, température humide entre 35 et 45 °C, taux d'humidité entre 40 et 70 %). Les sujets sont équipés de thermocouples qui permettent d'accéder à la moyenne de la température cutanée en 10 points (selon Colin et al. 1970), mais également à la valeur de la température tympanique (Tty) ainsi que celle de la température rectale (Tre). Ils sont également équipés de trois électrodes dans le but de mesurer la fréquence cardiaque (FC). Deux poches à sueur d'une surface unitaire de 100 cm² sont collées sur l'abdomen de part et d'autre de la ligne médiane, chacune d'elles équipée d'un micro-tuyau se terminant au point le plus bas de la poche pour assurer le recueil itératif de la sueur avec une seringue (Figure 29). Enfin, le sujet est habillé avec la tenue étanche (fournie par Paul Boyé Technologies) (Figure 30).



Figure 29: Photographie d'un sujet équipé d'un bandeau physiologique, de poches à sueur et d'électrodes



Figure 30: Prélèvements de sueur dans une des poches sur un sujet équipé d'une tenue étanche pendant l'exercice

III.2. Analyse globale

Les conditions de ce test sont contrôlées de manière à ce que la température rectale des sujets augmente linéairement et atteigne 39°C au bout d'une heure trente. Ceci est vérifié dans la majorité des cas ($T_{re} = 39,1^{\circ}\text{C} (\pm 0,2^{\circ}\text{C})$ à $t = 90 \text{ min}$) (Figure 31).

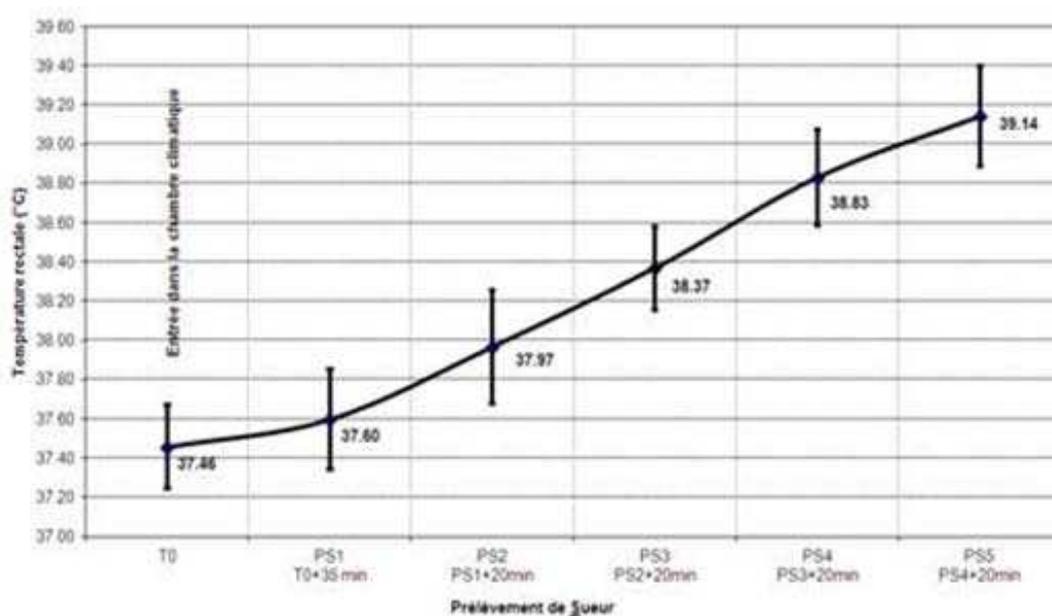


Figure 31: Evolution de la température interne pour les 10 sujets au cours du test HTCA

Le premier prélèvement de sueur dans les poches est effectué lorsque la quantité de sueur paraît être suffisante (environ 1 mL). Pour chaque cas, ce moment s'est avéré être en adéquation temporelle avec l'apparition d'un signal sur le terminal d'acquisition qui recueille les données issues du bandeau physiologique. Le deuxième prélèvement est effectué 35 minutes après le début de l'exercice, et les suivants toute les 20 minutes jusqu'à la fin de l'exercice. Les mesures des volumes de chaque prélèvement, des différentes concentrations ioniques (Na^+ , K^+ , Cl^-) et biochimiques (urée, créatinine, lactate) sont effectuées au CRSSA par un automate de laboratoire (Hitachi). Les valeurs de la concentration en Na^+ de ces prélèvements font office de référence afin de pouvoir juger de la précision des mesures obtenues avec le bandeau. Comme cela a été le cas lors du précédent test HTCA (cf. § I), nous observons une augmentation progressive de la concentration en ions sodium mesurée dans les poches à sueur mais aussi une très grande variabilité inter-individuelle attestée par les écart-types importants des moyennes des dix sujets (Figure 32).

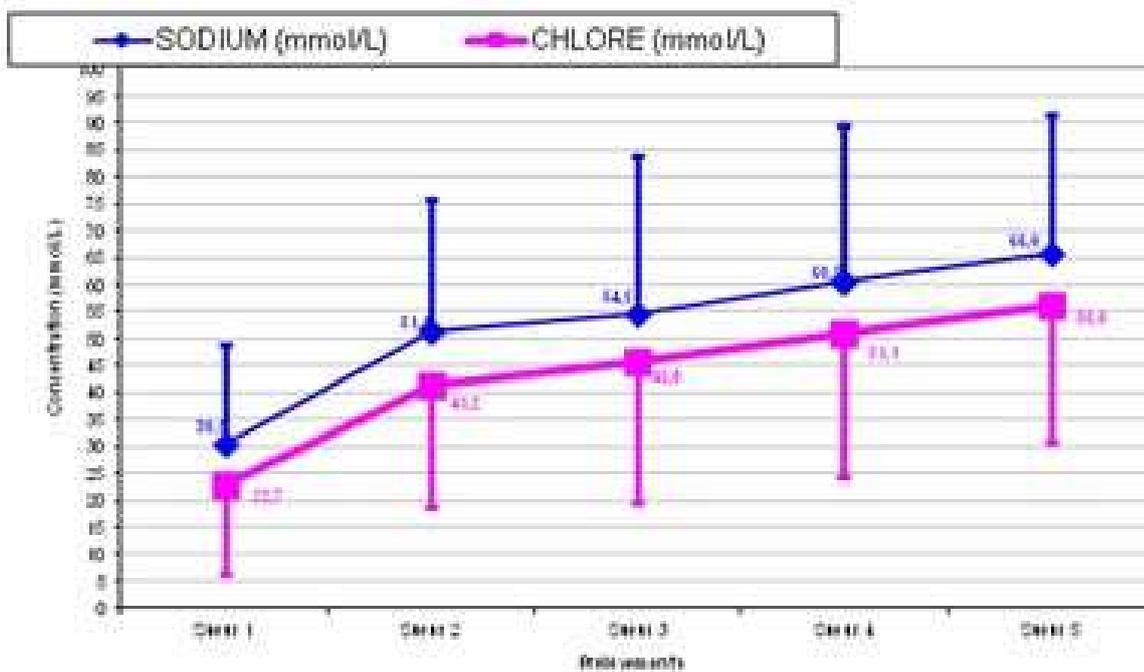


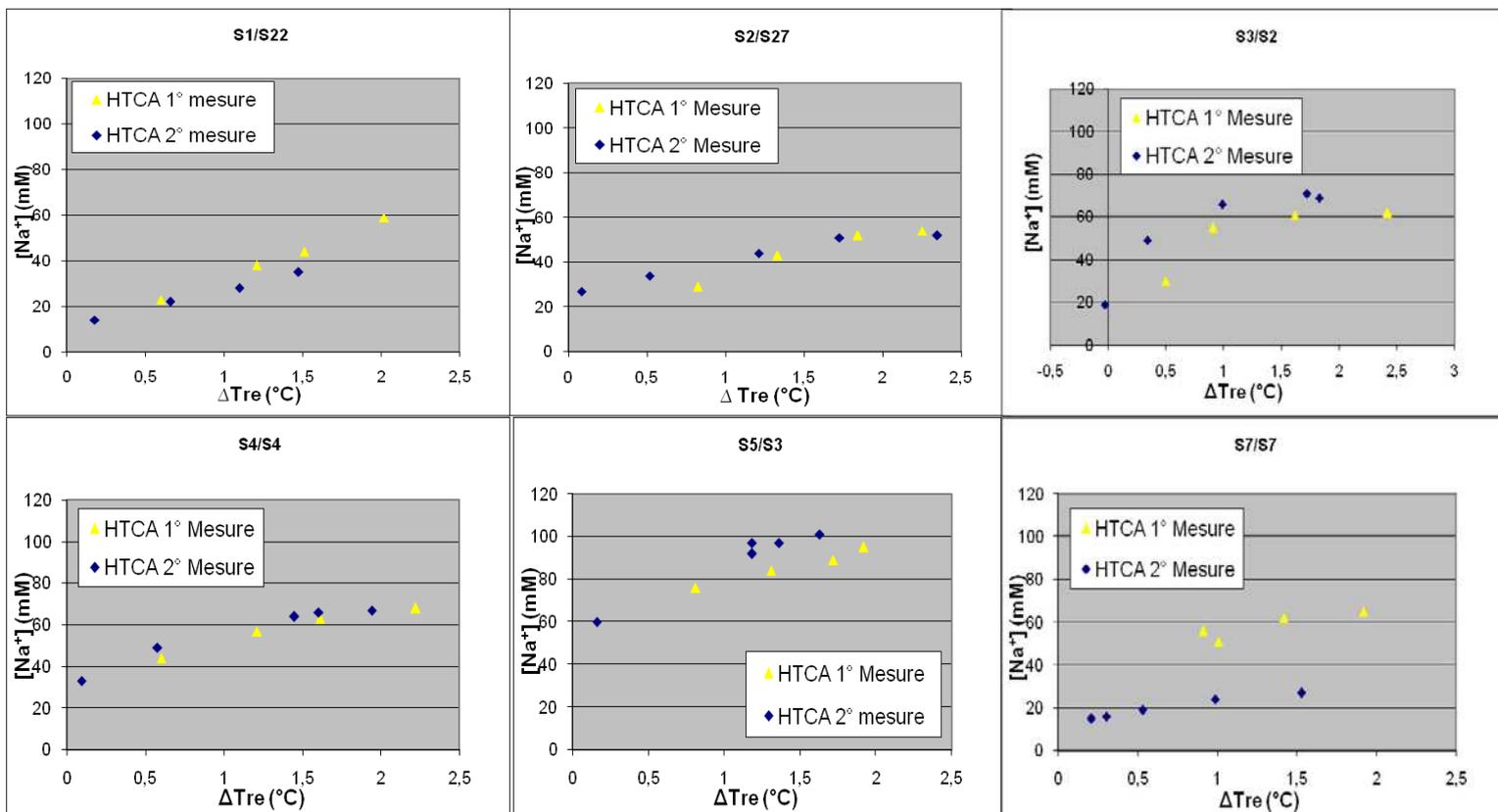
Figure 32: Evolution de la concentration en ions sodium et en ions chlorures dans la sueur recueillie au cours du test HTCA

Comme l'illustre cette dernière figure, et comme nous l'avons remarqué précédemment (cf. § I.3), la variation d'ions chlorures [Cl^-] est similaire à celle des ions sodium [Na^+]. Bien qu'elles ne soient pas strictement égales, leur proportion reste constante tout au long de la

durée du test. La sécrétion d'ions sodium $[Na^+]$ mesurée lors de cette expérimentation est donc légèrement supérieure à celle d'ions chlorure $[Cl^-]$, mais le rapport $[Na^+]/[Cl^-]$ dans la sueur (1,09) est très proche de celui du plasma sanguin (1,29) (valeurs issues de la première série d'expérimentations effectuées par le CRSSA). Finalement, la concentration en $[NaCl]$ est l'image de la mesure issue des capteurs. L'analyse globale des prélèvements de sueur de cette expérimentation est en accord avec la précédente (cf. § I) et confirme la conclusion de l'étude fondamentale. De plus, la comparaison inter-individuelle nous a semblé intéressante pour les perspectives du projet.

III.3. Reproductibilité individuelle

Pour ces dix sujets étudiés, nous avons effectivement observé, comme dans le cas de l'expérimentation précédente, une relation entre l'augmentation en ions sodium dans la sueur et l'augmentation de la température interne. Cette relation est toujours très variable d'un individu à l'autre. Néanmoins, la comparaison entre les deux tests HTCA effectués sur les mêmes personnes à 6 mois d'intervalle doit permettre de savoir si cette relation est reproductible pour un même individu (Figure 33).



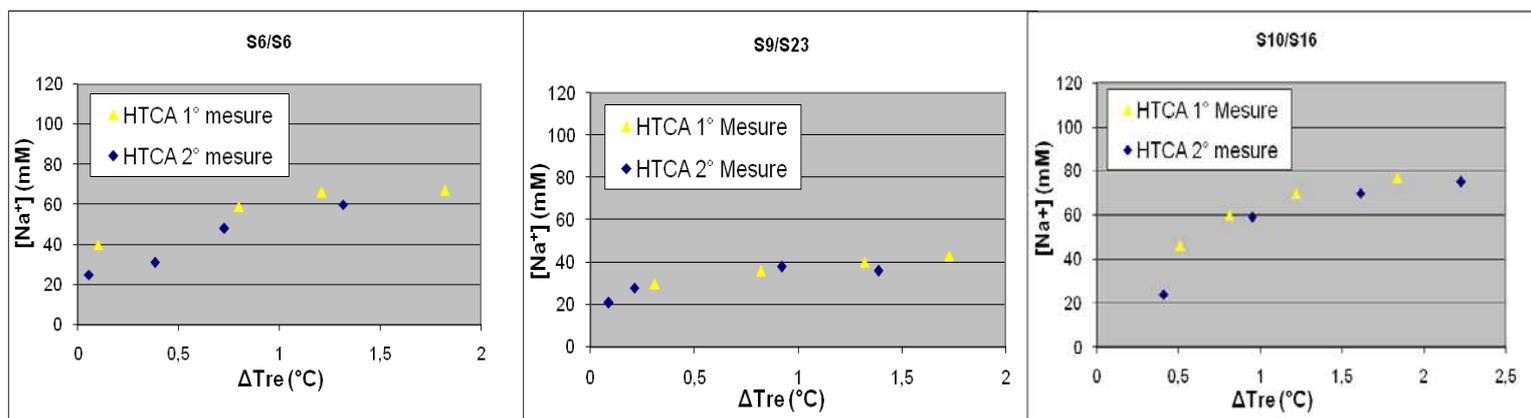


Figure 33: Comparaison des relations entre la concentration en ions sodium dans la sueur et l'élévation de la température interne pour chaque sujet au cours des deux tests HTCA

Nous constatons une bonne reproductibilité de la relation pour l'ensemble des sujets entre les deux séries de test HTCA. L'analyse des courbes montre que la concentration ionique $[Na^+]$ et sa variation durant l'exercice varie peu pour un même sujet à six mois d'intervalle. Une exception apparaît toutefois pour le sujet numéro 7, pour lequel les valeurs de concentration en ions sodium sont relativement disparates d'une expérimentation à l'autre. On peut néanmoins considérer que la variation de la concentration en ions sodium peut être utilisée en tant qu'indicateur de la contrainte thermique qui, éventuellement responsable d'une hyperthermie, est subie par un même individu équipé d'une tenue de protection lors d'un exercice physique effectué en ambiance chaude et humide. Le suivi de la contrainte thermique d'un sujet paraît possible en mesurant la variation d'ions sodium $[Na^+]$ dans la sueur, à condition d'individualiser chaque bandeau en intégrant des paramètres liés à la physiologie, propres à chaque utilisateur. Ceci rend donc possible le suivi personnalisé de l'état de santé d'un primo-intervenant qui, rappelons-le, est l'axe majeur de ce projet. De plus, il paraît imaginable d'utiliser cet outil pour suivre l'entraînement physique des sportifs. Ceci permettrait à ce dispositif de pénétrer des marchés grand public.

III.4. Performances de détection du bandeau physiologique

Parallèlement aux prélèvements de sueur, la mesure de la concentration des ions sodium dans la sueur à été effectuée par le bandeau en temps réel. Ce bandeau physiologique

développé au cours du projet a, d'une manière générale, permis d'obtenir des mesures continues tout au long des expériences pour les dix sujets étudiés. Ceci démontre que le prototype est fiable.

Les capteurs mettent en moyenne 15 à 20 minutes à répondre après le début de l'expérimentation (t_0). Ce temps correspond assez précisément au temps nécessaire à ce que la sudation soit suffisamment abondante pour permettre d'humidifier convenablement le textile en contact avec la peau (cf. § III.2). Une fois le canal humidifié, les capteurs sont en phase "pseudo-liquide" et répondent instantanément en fonction de la concentration en ions sodium (Figure 34). La réponse des ISFET et de ISE sont, dans la plupart des cas, similaires. Il faut noter que pour toutes les mesures relatives aux ISFET présentées par la suite, les signaux ont été inversés afin de comparer facilement la dynamique de la mesure et la variation de sodium (le signal augmente quand la concentration en sodium augmente et vice et versa).

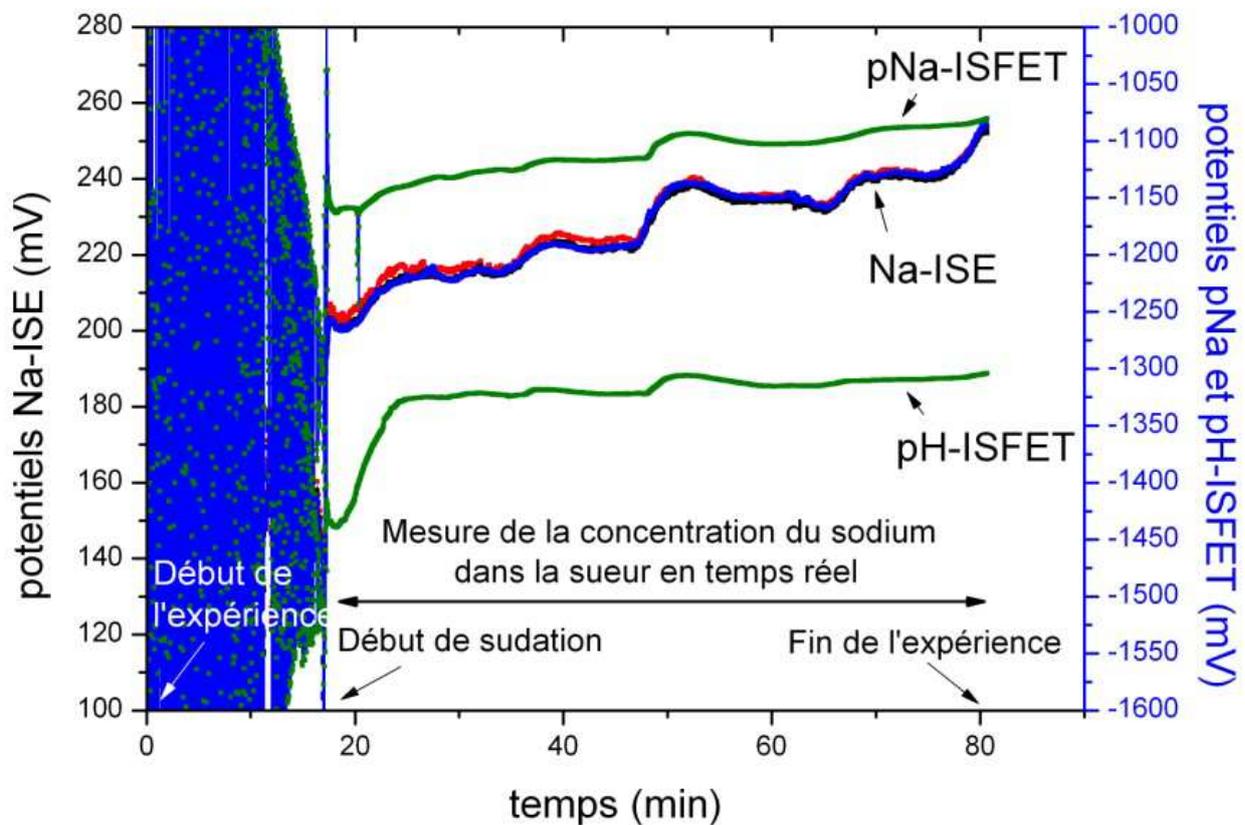


Figure 34: Réponse des capteurs ISE pour la mesure du sujet 9

Sur les dix mesures effectuées, six d'entre elles ne sont pas exploitables et ne coïncident pas avec l'analyse des prélèvements. Nous avons tout d'abord soupçonné des interférences d'ordre électrochimique, qui seraient causées par les protéines présentes dans la sueur. Suite aux prélèvements, la quantité de ces protéines varie en moyenne entre 80 et 270 mg/l. Nous avons donc, à posteriori, évalué la réponse du site sensible au sodium en fonction de la quantité de protéines (BSA: Albumine de sérum bovin), à concentration en ions sodium fixe. Et, nous n'avons pas observé de sensibilité vis-à-vis de cette espèce chimique, et ce, jusqu'à une quantité de BSA de l'ordre de 1g/L. Cette hypothèse ne semblant pas être la cause des perturbations observées, nous avons alors émis un doute sur la manière dont la sueur est acheminée sur les capteurs. En effet, les électrodes ISE sont constituées d'une cuve contenant un électrolyte interne, et adoptent ainsi une architecture miniaturisée similaire à une électrode sélective classique en verre. Cette cuve possède une hauteur de l'ordre de 5 mm. Ainsi, bien que nous ayons prévu une pièce textile dont le rôle est de maintenir une pression sur les capteurs ISFET situés, par rapport au sens du flux de la sueur, juste après les ISE, il serait possible que ce contact entre le textile drainant la sueur et le module de détection ne soit pas optimal. Nous n'avons cependant pas pu vérifier avec certitude cette hypothèse. L'état de l'électrode de référence fait également office d'une autre hypothèse qui pourrait expliquer les mesures erronées.

Toutefois, quatre mesures sur les dix effectuées au total sont exploitables et montrent des résultats conformes aux attentes. Ces dernières mesures sont présentées plus loin. Mais auparavant, le prochain paragraphe décrit la méthode de conversion adoptée pour retranscrire les potentiels mesurés en concentrations.

III.4.A. Méthode de conversion

La méthode de conversion établie s'appuie sur le principe de détection potentiométrique. La réponse du capteur est d'une part issue du site sensible aux ions sodium, et, d'autre part à la contribution de l'électrode solide Ag/AgCl. Ce comportement est régi par l'équation suivante:

$$V_s = s_{Na^+} \times \log[Na^+] + s_{Cl^-} \times \log[Cl^-] + V_{cal} \quad \text{Équation 21}$$

Où V_s correspond au signal recueilli (mV), s_{Na^+} la sensibilité du pNa-ISFET envers les ions sodium (mV/pNa), s_{Cl^-} la sensibilité de l'électrode Ag/AgCl envers les ions chlorure (mV/pCl), $[Na^+]$ la concentration des ions sodium (mM), $[Cl^-]$ la concentration des ions chlorure (mM) et V_{cal} à un paramètre de calibration (offset) propre au capteur (mV).

Comme nous l'avons vu plus tôt, les sensibilités s_{Na^+} et s_{Cl^-} sont sensiblement égales ($s_{Na^+} = s_{Cl^-} = s$) et valent 55 mV/pX. Ainsi l'équation précédente peut s'écrire telle que:

$$Vs = s \times \log ([Na^+] \times [Cl^-]) + V_{cal} \quad \text{Équation 22}$$

Avec $s = 55mV/pX \approx s_{Na^+} \approx s_{Cl^-}$

La concentration en ions chlorure n'étant pas strictement égale à celle des ions sodium, nous recherchons un modèle de la forme:

$$Vs = 2s \times \log [C_{eq}] + V_{cal} \quad \text{Équation 23}$$

Soit:

$$[C_{eq}] = \sqrt{[Na^+] \times [Cl^-]} \quad \text{Équation 24}$$

Finalement, le signal V_s peut être converti en concentration ionique suivant l'équation suivante:

$$[C_{eq}] = 10^{\left(\frac{V_s - V_{cal}}{2s}\right)} \quad \text{Équation 25}$$

La sensibilité S est théoriquement égale à 55 mV/décade, mais, en toute rigueur, sa valeur peut différer légèrement d'un capteur à l'autre, notamment suivant l'état de l'électrode Ag/AgCl. Cette valeur est accessible via une calibration avant mesure. Malheureusement, pour cette campagne, nous n'avons pu effectuer cette phase de calibration préalable aux mesures. C'est pourquoi nous avons considéré, pour tous les capteurs analysés par la suite, que le terme $2s$ était égal à 110 (55mV/pNa pour les ISFET et 55 mV/pCl pour l'électrode). La valeur V_{cal} a été déterminée a posteriori de manière mathématique, en s'appuyant sur les valeurs d'analyse du dernier ou avant dernier échantillon prélevé.

III.4.B. Mesures exploitables

La totalité des mesures ne sera pas présentée, seules les quatre courbes exploitables sont décrites plus bas. Les points verts représentent la concentration équivalente en NaCl ([Ceq]) correspondant aux analyses effectuées sur les échantillons prélevés. La courbe rouge représente la concentration convertie issue des potentiels mesurés par le site pNa-ISFET. Les résultats sont présentés suivant l'ordre de passage chronologique des sujets.

- **Analyse du Sujet 8 (10/10/2011)** (Figure 35):

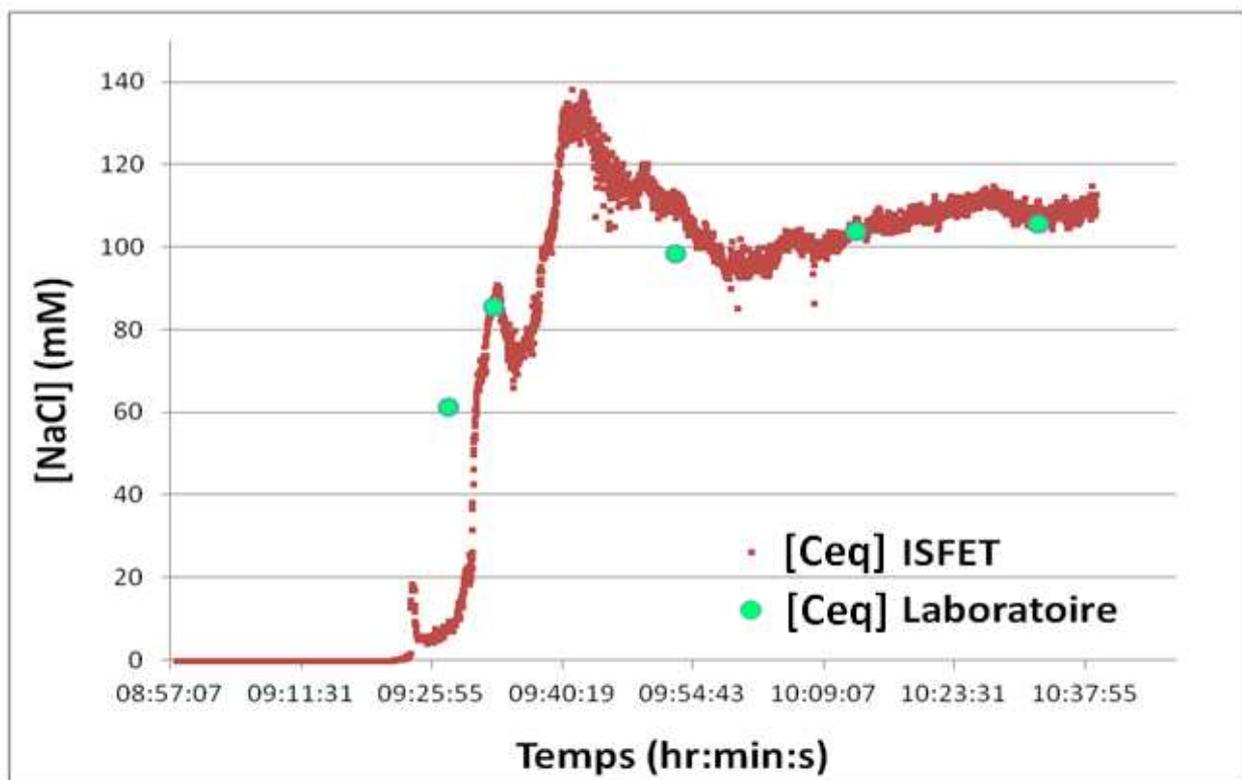


Figure 35: Mesures obtenues pour le sujet 8

Le signal est perturbé en début de mesure, mais par la suite, il est exploitable, bien qu'un bruit non-négligeable soit présent. Pour la dernière moitié de la mesure, l'allure du signal augmente conformément à ce qui est attendu, et la corrélation entre les valeurs mesurées et les analyses des échantillons est bonne.

- **Analyse du Sujet 7 (11/10/2011)** (Figure 36):

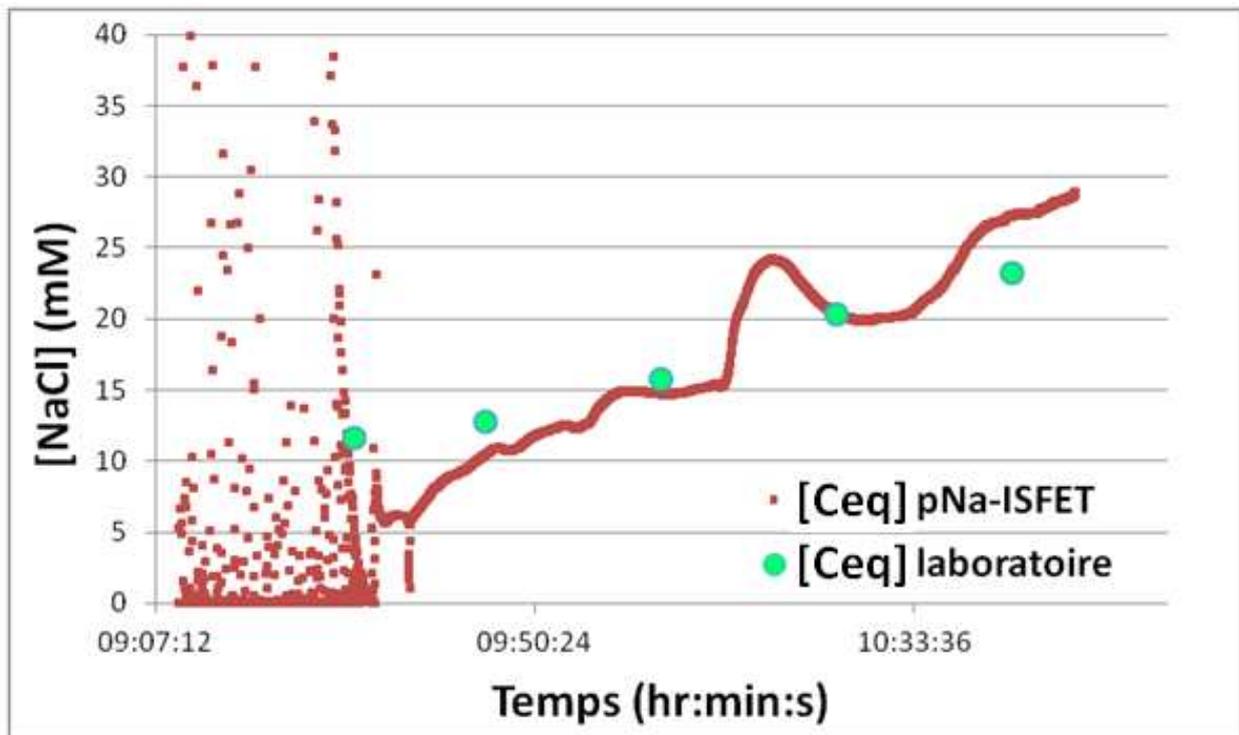


Figure 36: Mesures obtenues pour le Sujet 7

Ici, le signal n'est pas bruité et augmente, tout au long de l'expérience, conformément à la valeur de concentration en NaCl mesurée dans les échantillons. L'apparition du signal est corrélée avec le début de sudation. Notons toutefois une brusque augmentation après le troisième prélèvement. Il est possible que nous observions ici une réelle augmentation ionique, car les valeurs des prélèvements correspondent à des cumuls, ce qui moyenne et lisse les valeurs.

- **Analyse du Sujet 1 (12/10/2011)** (Figure 37):

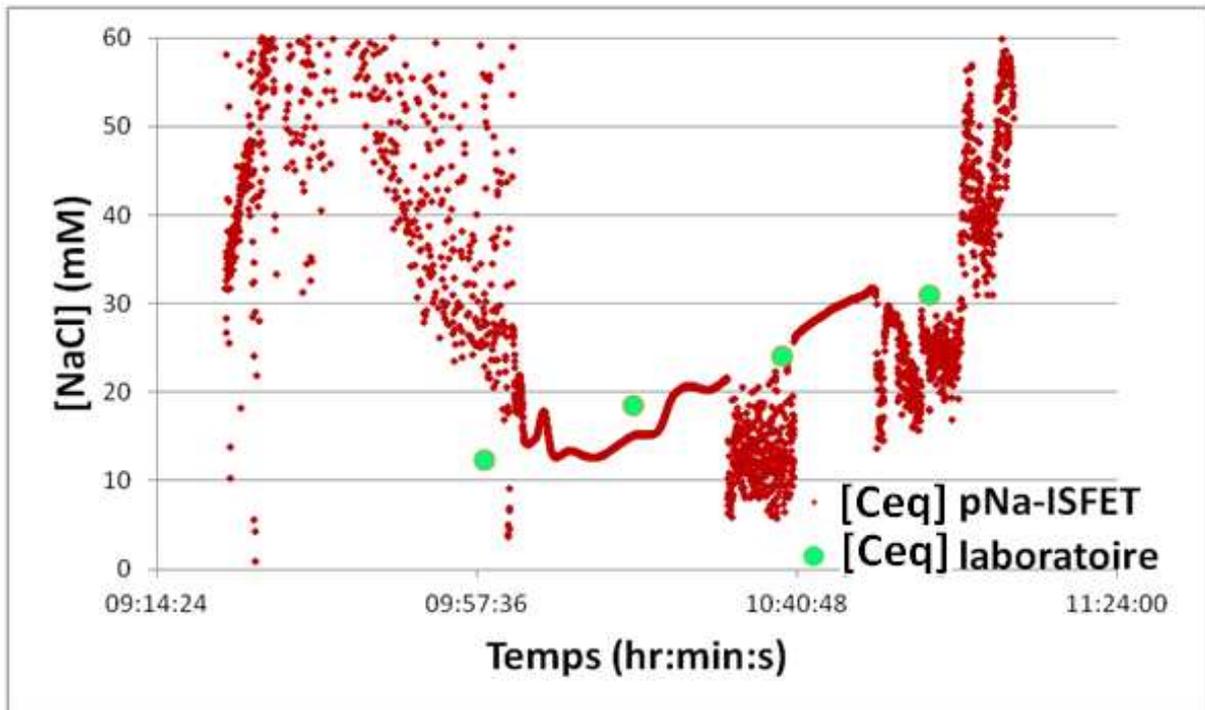


Figure 37: Mesures obtenues avec le Sujet 1

Le capteur délivre un signal simultanément à l'apparition de la sueur, mais il faut cependant quelques minutes avant que le signal se stabilise. Des séquences bruitées apparaissent. Ce phénomène est commun au site pH-ISFET ainsi qu'aux ISE qui partagent la même et unique électrode de référence située sur le module de détection. L'électrode de référence est donc mise en cause, à moins qu'un mauvais contact entre le textile et celle-ci soit responsable. Hormis ces perturbations le signal suit les variations de [NaCl] et la corrélation est bonne.

- **Analyse du Sujet 10 (14/10/2011)** (Figure 38):

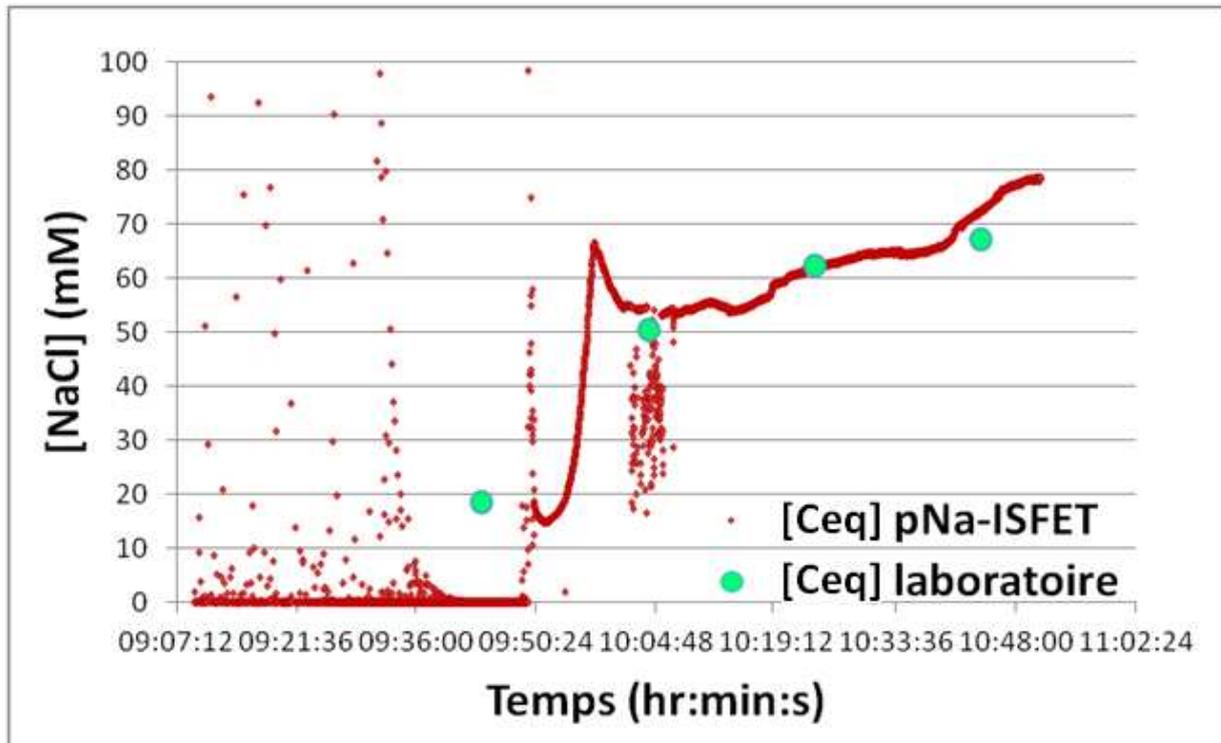


Figure 38: Mesures obtenues pour le Sujet 10

En début de mesure, le signal montre une forte augmentation qui paraît peu probable. Cependant, peu avant le troisième prélèvement, le signal se stabilise et est bien corrélé avec les valeurs des échantillons. Nous observons une séquence bruitée similaire à la mesure précédente (*cf.* Sujet 1). Ce même capteur a servi à une précédente mesure sur un sujet qui s'est avérée inexploitable. Or, ici, pour sa deuxième utilisation, le capteur se comporte de manière conforme. Cette constatation tend à montrer que les causes des problèmes de mesures ne sont pas nécessairement dues aux capteurs.

Notons que les signaux issus du site pH-ISFET n'ont pas fourni d'informations exploitables. En effet, ces signaux reflètent des variations dues au pH de la sueur, qui est un fluide faiblement tamponné, et également, des variations dues à la contribution de la sensibilité de l'électrode de référence Ag/AgCl aux ions chlorure.

Grâce à ces mesures, qui présentent de bonnes corrélations avec les analyses des échantillons, il nous a été possible d'utiliser le modèle mathématique développé, qui retranscrit des concentrations en ions sodium en valeur de température interne. Ce travail est décrit dans le paragraphe suivant.

III.4.C. Evaluation de la température interne par la mesure du sodium dans la sueur

D'après le modèle établi (cf. § I.3), il est possible d'accéder à la valeur de la température interne qui est fonction de la variation du signal potentiométrique issu du capteur (Figure 45), grâce à l'équation 12 que nous reprenons ici:

$$T = T^* + (T_1 - T^*)10^{\left(\frac{\Delta V}{S_0}\right)}$$

Ou, tel qu'estimées précédemment (cf. § I.3), T_1 est la température de début de sudation, de l'ordre de $37,5^\circ\text{C} \pm 0,2$, et T^* une constante de l'ordre de 37°C . Cependant, la valeur de T_1 n'a pu être évaluée que sur un panel de dix individus (2^{ème} série d'expérimentations), et ne garantit donc pas une précision absolue. En outre, la valeur de T^* précédemment définie à 37°C a également été estimée via, la seconde série d'expérimentations. Lorsque nous l'estimons grâce à la première série, qui porte sur 25 individus, sa valeur est de 36°C . Ces variations engendrent des difficultés quand à la détermination d'une constante générique, et entraînent ainsi des erreurs de précision non négligeables. Ici, nous avons converti (Figure 39) les variations de potentiels mesurés lors du test effectué sur le patient 7 (cf. § III.4.B) en valeur de température interne. La constante T^* est fixée à 36°C , et le terme T_1 à $37,7^\circ\text{C}$. Les corrélations entre les valeurs issues du capteur et celles mesurées par la sonde rectale, reflétant la température interne réelle, sont remarquables.

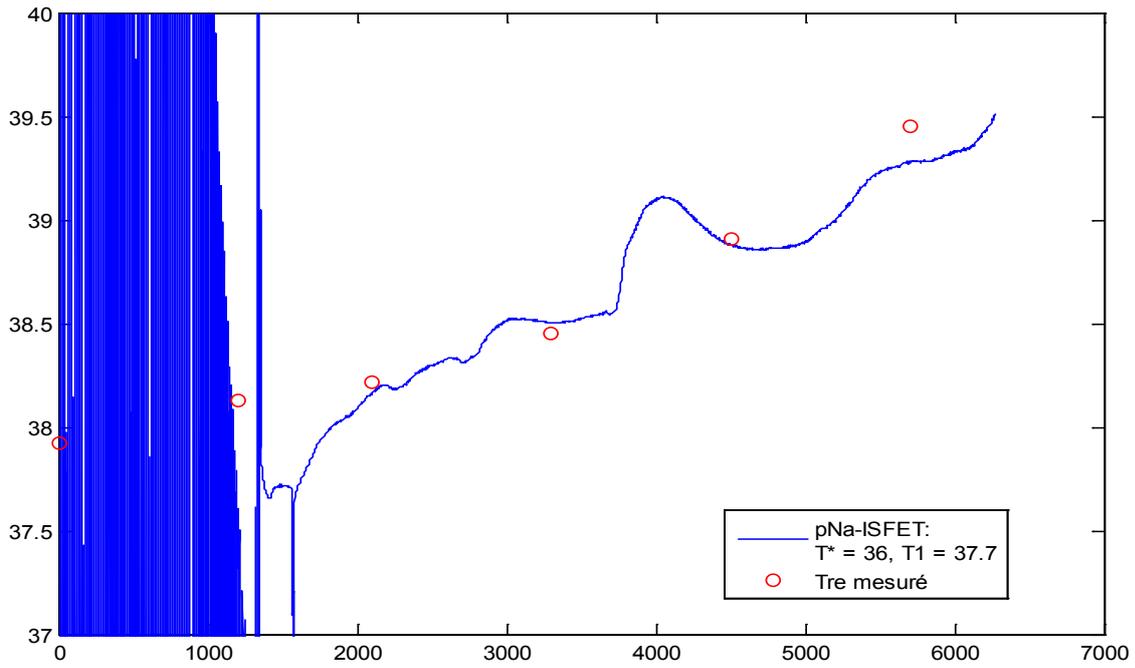


Figure 39: Conversion des signaux issus des capteurs en température interne

En suivant sont présentées les courbes correspondantes aux sujets 1, 8 et 10.

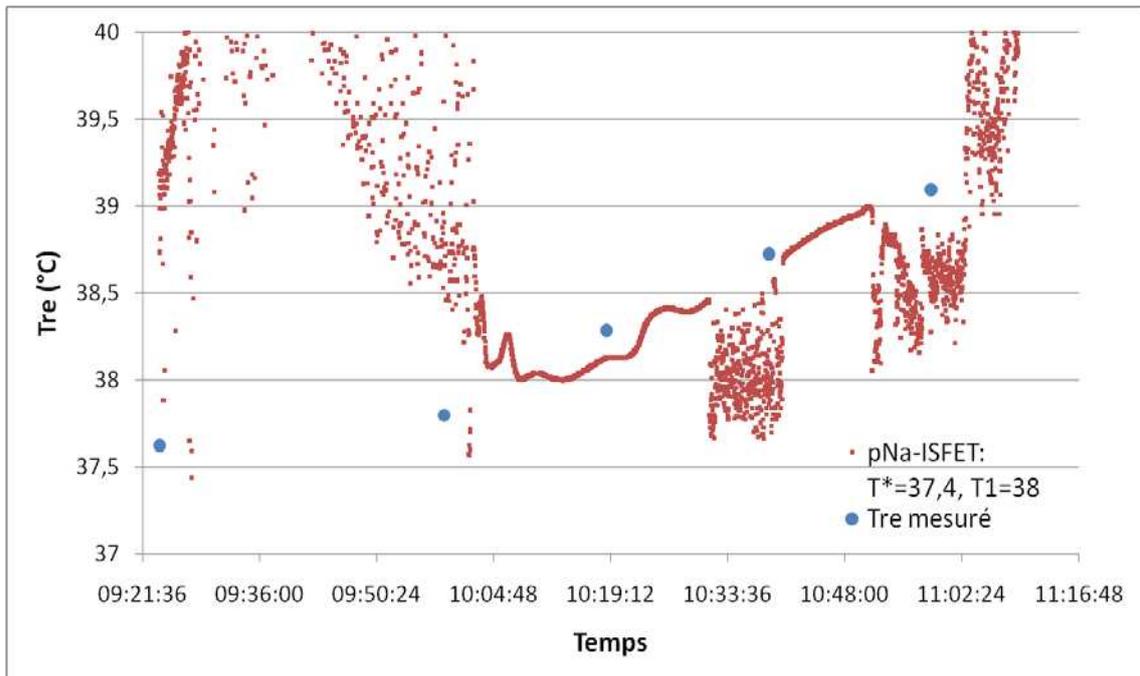


Figure 40 : Conversion des signaux issus des capteurs en température interne (sujet 1)

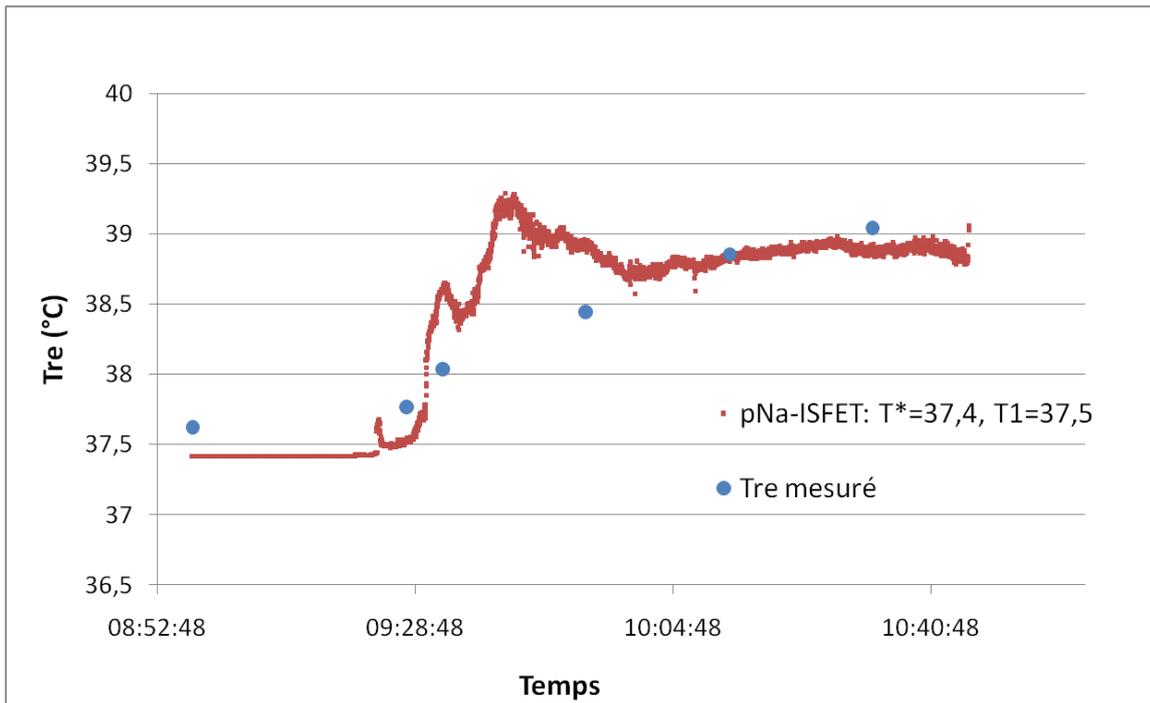


Figure 41 : Conversion des signaux issus des capteurs en température interne (sujet 8)

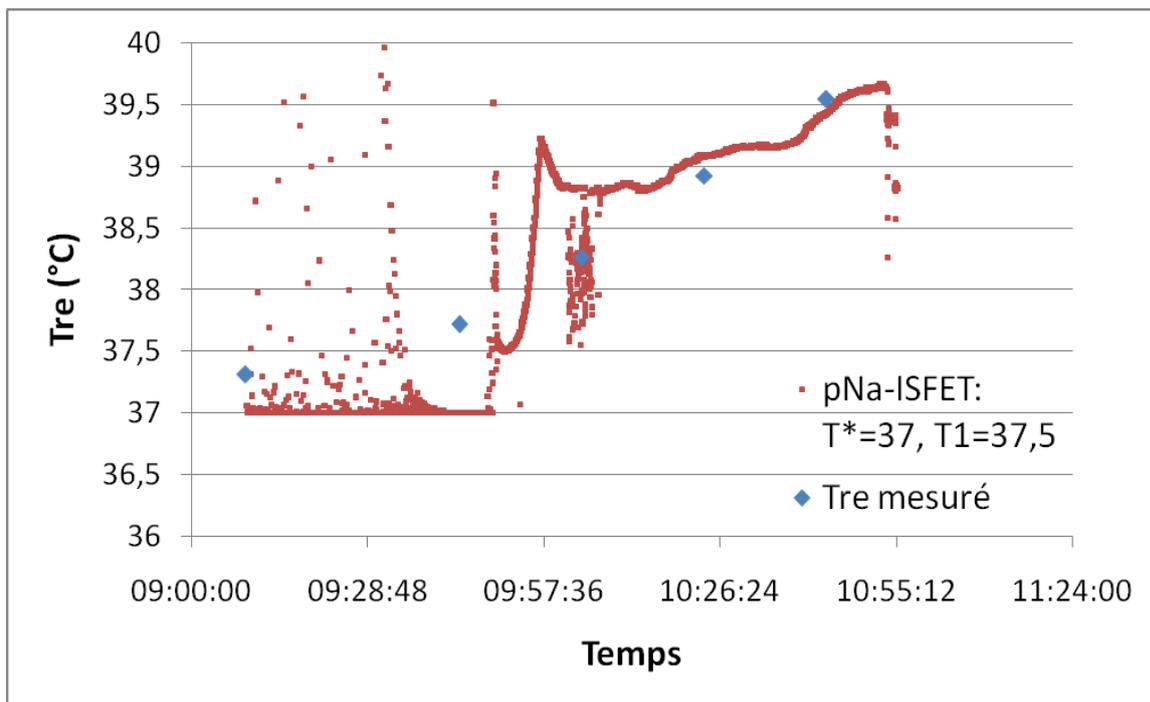


Figure 42 : : Conversion des signaux issus des capteurs en température interne (sujet 10)

Des lors, le système prend toute son utilité, en fournissant, non pas une valeur de concentration ionique, mais une information physiologique, liée à un état hyperthermique, et fait ainsi office d'outil d'aide au diagnostic pour des besoins de sécurité des personnels

d'intervention. Il sera nécessaire d'apporter une amélioration au modèle établi, qui, à l'heure actuelle ne permet pas d'obtenir une mesure fiable et assez précise de la température interne dans le cadre d'une utilisation générique. Par contre, en termes de personnalisation, la définition des paramètres (T^* et T_1) propres à chaque utilisateur s'avère suffisamment précise pour permettre des mesures indirectes de la température interne fiables. Nous repons cette affirmation sur la constatation de la forte reproductibilité individuelle des variations de l'évolution des concentrations d'ions sodium dans la sueur sur une longue durée (cf. § III.3).

IV. Conclusion

Au cours de ce chapitre, nous avons montré, suite à la première campagne de mesures effectuée par le CRSSA, le lien existant entre la variation de concentration en ions sodium dans la sueur et une élévation de la température interne d'un individu. Cette expérimentation a permis de démontrer l'utilité et la pertinence de la mesure du sodium dans la sueur afin de prévenir un état d'hyperthermie dans des conditions similaires à l'intervention d'un primo-intervenant. L'expérimentation simule un exercice physique d'un primo-intervenant équipé d'une tenue de protection, soumis à un environnement extrême (atmosphère chaude et humide).

Par la suite nous avons présenté le développement du bandeau physiologique permettant, *in-fine*, de suivre l'évolution de la température interne par la mesure du sodium dans la sueur, évitant ainsi d'effectuer une mesure intrusive comme c'est le cas actuellement. Ce bandeau intègre deux technologies distinctes, les ISE, développées par le CEA-LETI, et les pNA-ISFET, développés par la société Hémodia, que nous avons décrits au cours du second chapitre. Ce bandeau a permis d'effectuer des mesures de la concentration en ions sodium en temps réel au cours d'une seconde série d'expérimentations, sur un panel de dix individus. Les deux types de capteurs ont fonctionné pour la totalité des mesures réalisées, démontrant ainsi la fiabilité du prototype fabriqué. La corrélation entre les données issues du bandeau et celles issues de l'analyse des prélèvements de sueur effectués en laboratoire n'est pas optimale pour l'intégralité des mesures. Ainsi, la précision et la fiabilité des

mesures effectuées doivent encore être améliorées. Une calibration des capteurs juste avant leur utilisation sera un moyen efficace d'améliorer ce point. Un effort particulier devra être apporté à la fiabilisation de l'électrode de référence qui a généré des dérives importantes pour plusieurs mesures. Il faut toutefois préciser que cette électrode intégrée semble malgré tout prometteuse. Finalement, nous avons pu, grâce au modèle mathématique établi en début de chapitre, convertir les signaux issus du bandeau et obtenir une information sur l'élévation de la température interne. Cependant, en plus de l'amélioration de la précision des mesures, le modèle devra être affiné pour disposer d'une précision suffisante de la température interne, et ainsi obtenir un modèle générique permettant de déterminer un seuil d'alarme pour les primo-intervenants en fonction de la variation de la concentration des ions sodium dans la sueur. Ce seuil, pour des raisons de sécurité, est généralement fixé à une température interne de 39°C (normes ISO/OTAN). Dans le cadre d'un suivi personnalisé et grâce à la bonne reproductibilité des paramètres physiologiques personnels, la difficulté à définir un modèle générique assez précis n'est plus de mise. Ainsi, le bandeau pourrait être doté d'algorithme d'auto-apprentissage dans le but d'affiner, au fur et à mesure des utilisations, le modèle personnel de l'utilisateur. Cet outil serait alors capable de fournir des mesures en temps réel, fiables et précises de la température interne, et ce, de manière non intrusive.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] W. Sant, P. Temple Boyer, E. Chanié, J. Launay, A. Martinez: "On-line monitoring of urea using enzymatic field effect transistors", *Sensors and Actuators B: Chemical*, 160 (2011) 59-64
- [2] L. Tymecki: "Screen-printed reference electrodes for potentiometric measurements", *Analytica Chimica Acta*, 526 (2004) 3-11
- [3] M.W. Shinwari, D. Zhitomirsky, I.A. Deen, P.R. Selvaganapathy, M.J. Deen and D. Landheer: "Microfabricated reference electrodes and their biosensing applications", *Sensors*, 10 (2010) 1679-1715

Conclusion générale

L'essor des capteurs issus des technologies de la microfabrication n'a cessé de croître ces dernières décennies, et ce, dans de nombreux secteurs de pointe. L'avantage de cette filière, qui réside en ses faibles dimensions, confère à ces dispositifs une place de choix pour des applications d'analyses biomédicales. Les capacités d'intégration couplées aux possibilités de production industrielle à grande échelle ont engendré l'arrivée de microcapteurs à faible coût, rivalisant, en termes de performances, avec des techniques d'analyses "lourdes" plus anciennes. Ces nouvelles technologies se positionnent comme une alternative moderne, autorisant l'expansion des champs d'investigations possibles à ce jour.

Mes travaux de thèse ont été consacrés au développement de microcapteurs chimiques dédiés à l'analyse de la sueur en vue du suivi de l'état physiologique des primo-intervenants. Les dispositifs actuels de surveillance intégrés, basés sur des mesures physiques, ne suffisent pas à assurer la sécurité de personnels d'intervention en situation d'urgence. C'est pourquoi, d'après la littérature, l'analyse de la composition chimique de la sueur, et en particulier, sa concentration en ions sodium apparaît comme une source d'information primordiale afin de suivre l'état physiologique de la personne. Tout au long de cette thèse, nous nous sommes appuyés sur la technologie ISFET (Ion Sensitive Field effect Transistor). Cette technologie, initialement dédiée à l'analyse du pH, peut être adaptée à d'autres cibles chimiques grâce à l'intégration de membranes organiques. Nous avons alors mis au point un procédé industriel d'intégration de couches ionosensibles en vue de la détection de l'ion sodium en phase liquide. Les premières membranes mises au point étaient composées d'une matrice en polychlorure de vinyle (PVC). Cependant, la structure de ce polymère n'a pas permis d'obtenir des dépôts industrialisables. C'est pourquoi nous avons optimisé la formulation des membranes par l'utilisation de polysiloxanes (PSX) en un second temps, puis par l'utilisation de fluoropolysiloxanes (FPSX) en un troisième temps. Ce dernier polymère, grâce à des techniques de dépôt par jet d'encre, nous a permis d'obtenir des membranes industrialisables et reproductibles. Par la suite, nous avons adapté la technologie pNa-ISFET sur une structure souple intégrant une électrode de référence Ag/AgCl. Ce module de détection a montré des performances de détection in-vitro optimales: une sensibilité, quasi-nernstienne, de 58 mV/pNa pour une large gamme de détection (de 10^{-4} à 10^0 M de $[Na^+]$), une sélectivité importante vis-à-vis de l'ion interférent majoritaire de la sueur, le potassium, ($\log K = -3$), et enfin, une dérive inférieure à 1 mV/heure.

Parallèlement au travail portant sur le développement des capteurs, nous avons étudié les relations existantes entre la variation de la concentration en ions sodium dans la sueur, et l'augmentation de la température interne d'un individu. Cette étude a été rendue possible suite à une première campagne d'expérimentations, menée par le CRSSA, portant sur un panel de 25 individus soumis à des contraintes physiologiques simulant des conditions d'intervention extrêmes. En plus d'une meilleure compréhension des phénomènes physiologiques liés à une hyperthermie, ce travail nous a permis d'élaborer un modèle mathématique adapté aux capteurs potentiométriques. Ce modèle permet de retranscrire la valeur de la température interne et, le cas échéant, de déclencher un seuil d'alerte qui témoigne d'un stress physiologique extrême, se traduisant par une température interne trop élevée. Cette relation confirme la pertinence d'un tel dispositif de suivi biomédical. En dernier lieu, nous avons intégré le module de détection dans un bandeau physiologique, autonome en énergie. Ce dispositif a pu être testé in-vivo, grâce à une deuxième série d'expérimentations, toujours menées par le CRSSA. Cette étude, portant sur un panel de dix individus, a confirmé la fiabilité du dispositif. Cependant, pour certains cas, la précision des mesures reste à améliorer.

L'utilisation de l'électrode de référence intégrée et le système de pompe à sueur passive ont permis l'obtention de bons résultats. Toutefois, des travaux sont à prévoir afin d'optimiser la fabrication de l'électrode de référence. La société Paul Boyé Technologie pourrait faire évoluer le système vers une pompe à sueur active. Le modèle lui aussi devra être amélioré afin que ses paramètres génériques confèrent une précision suffisante. Malgré ces quelques déconvenues, le système développé permet aux praticiens de disposer pour la première fois d'un outil de mesure de la concentration en ions sodium dans la sueur en temps réel. Sa fonction première, visant à assurer la sécurité des primo-intervenants reste à optimiser, mais il semble envisageable par la suite d'orienter le dispositif vers un usage grand public, notamment dans le cadre du suivi sportif individuel. Dans ce cas, le modèle générique ne serait plus un obstacle à la précision de la mesure. En effet, nous avons vu, grâce à l'analyse du stress physiologique individuel, que l'évolution de concentrations ioniques dans la sueur pour une même personne est reproductible. Dès lors, dans ce cadre, le système pourrait être doté d'algorithmes d'auto apprentissage lui conférant une précision de plus en plus poussée au fur et à mesure de son utilisation. Finalement, l'analyse de la sueur et la détection

éventuelle de différentes cibles chimiques et/ou biochimiques (autres que l'ion sodium) d'intérêt pour le suivi de l'état physiologique, apparait comme une évolution logique du dispositif. Le caractère générique de la technologie ISFET ainsi que des membranes organiques développées devraient permettre d'élargir le champ de détection des capteurs biochimiques et d'améliorer d'une part la sécurité des personnels d'intervention, et d'autre part, la compréhension de la physiologie humaine.

Annexes

ANNEXES 1:

Modélisation de la réponse de l'ISFET

Un EISFET (Electrolyte-Insulator-Semiconductor Field Effect Transistor) peut être considéré comme un transistor qui, par le biais d'un effet de champ, mesure le phénomène se déroulant à l'interface électrolyte-isolant. Ce phénomène, qui met en jeu les des interactions de nature chimique entre les ions de la solution et la surface de l'isolant (théorie du « site-binding », développée par Yates *et al.* en 1974), est couplé à un mécanisme de nature physique qui décrit la distribution du potentiel créé par ces interactions au travers d'une structure EIS (modèle de Gouy-Chapmann-Stern).

I. Interactions chimiques à l'interface isolant-électrolyte

La démonstration qui suit est en corrélation avec le travail effectué par Bousse *et al.*, en considérant la couche isolante en nitrure de silicium (Si_3N_4), et non pas en oxyde de silicium (SiO_2). La surface du nitrure contient des sites amines, qui ont la capacité d'accepter ou de donner un proton venant de la solution, ce qui conduit à la formation d'un groupe chargé positivement ou négativement en surface, respectivement. Ce mécanisme est illustré par la figure 1.

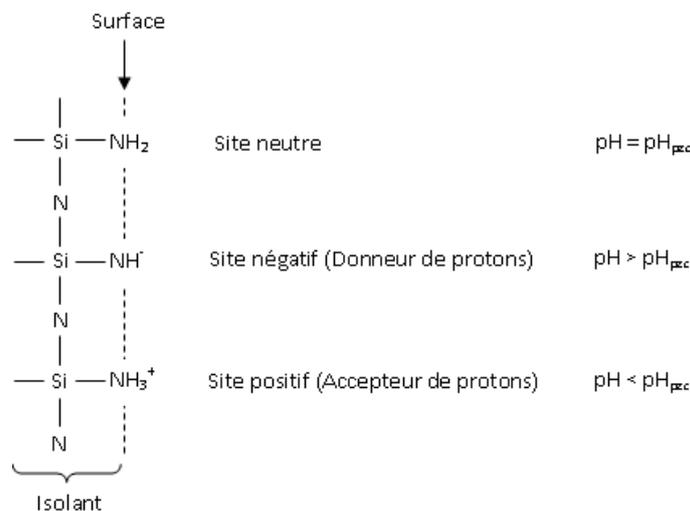


Figure 1: Schématisation des interactions chimiques à la surface du nitrure de silicium

En considérant une surface de nitrure « idéale », les réactions acido-basiques, basées sur le modèle du « site-binding » sont les suivantes :

- Dissociation acide : $SiNH_2 \leftrightarrow SiNH^- + H^+$
- Dissociation basique : $SiNH_2 + H^+ \leftrightarrow SiNH_3^+$

Il en découle les constantes de dissociation acido-basiques suivantes :

$$K_a = \frac{[SiNH^-][H^+]_s}{[SiNH_2]} \quad \text{Équation 1}$$

$$K_b = \frac{[SiNH_3^+]}{[SiNH_2][H^+]_s} \quad \text{Équation 2}$$

Avec $[SiNH^-]$, $[SiNH_2]$, $[SiNH_3^+]$ et $[H^+]_s$, respectivement, concentration en surface de sites négatifs, neutres, positifs, et concentration en surface de protons.

D'après la statistique de Boltzmann, la concentration en protons en surface de l'isolant $[H^+]_s$ est liée à la concentration en protons au sein de la solution $[H^+]_\infty$ tel que :

$$[H^+]_s = [H^+]_\infty \exp\left(-\frac{q\psi_0}{kT}\right) \quad \text{Équation 3}$$

Avec :

- q : Charge élémentaire ($1,6 \cdot 10^{-19}$ Coulombs)
- ψ_0 : Potentiel électrostatique (Volts)
- k : Constante de Boltzmann ($1,381 \cdot 10^{-23}$ J.K⁻¹)
- T : Température (Kelvins)

De plus, la densité totale de sites réactifs en surface est égale à :

$$[SiNH^-] + [SiNH_2] + [SiNH_3^+] = N_s \quad \text{Équation 4}$$

Ce qui génère une densité de charge en surface (en Coulombs par cm⁻²):

$$\sigma_0 = q([SiNH_3^+] - [SiNH^-]) \quad \text{Équation 5}$$

L'équation 4 permet d'écrire :

$$\frac{[SiNH^-]}{N_s} + \frac{[SiNH_2]}{N_s} + \frac{[SiNH_3^+]}{N_s} = 1 \quad \text{Équation 6}$$

Ce qui revient à :

$$\alpha_- + \alpha + \alpha_+ = 1 \quad \text{Équation 7}$$

Avec :

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_- = \frac{[SiNH^-]}{N_s} \end{array} \right. \quad \text{Équation 8}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha = \frac{[SiNH_2]}{N_s} \end{array} \right. \quad \text{Équation 9}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_+ = \frac{[SiNH_3^+]}{N_s} \end{array} \right. \quad \text{Équation 10}$$

Grâce à ces nouvelles notations, l'équation 5 devient :

$$\sigma_0 = qN_s(\alpha_+ - \alpha_-) \quad \text{Équation 11}$$

Ce qui nous mène à :

$$\alpha_+ - \alpha_- = \frac{\sigma_0}{qN_s} = \alpha_0 \quad \text{Équation 12}$$

De plus, le produit et le rapport des constantes d'équilibre acide/basique devient désormais :

$$K_a K_b = \frac{\alpha_- \alpha_+}{\alpha^2} \quad \text{Équation 13}$$

$$\frac{K_a}{K_b} = \frac{\alpha_-}{\alpha_+} [H^+]_s^2 \quad \text{Équation 14}$$

Le nouveau système à résoudre devient :

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_+ + \alpha_- = 1 - \alpha \end{array} \right. \quad \text{Équation 15}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_+ - \alpha_- = \alpha_0 \end{array} \right. \quad \text{Équation 16}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} \alpha_+ \alpha_- = K_a K_b \alpha^2 = \frac{\delta^2}{4} \alpha^2 \end{array} \right. \quad \text{Équation 17}$$

$$\left\{ \begin{array}{l} [H^+]_s = \left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} \left(\frac{\alpha_+}{\alpha_-}\right)^{1/2} \end{array} \right. \quad \text{Équation 18}$$

Avec :

$$\delta = 2(K_a K_b)^{1/2} \quad \text{Équation 19}$$

Ce système à quatre équations doit permettre de résoudre les quatre inconnues (α_+ , α_- , α et $[H^+]_s$) cependant un changement de variable est nécessaire :

$$\begin{cases} u^2 = \alpha_+ \alpha_- & \text{Équation 20} \\ v^2 = \frac{\alpha_+}{\alpha_-} & \text{Équation 21} \end{cases}$$

D'où :

$$\begin{cases} \alpha_+ = uv & \text{Équation 22} \\ \alpha_- = \frac{u}{v} & \text{Équation 23} \end{cases}$$

Le système précédent revient à écrire :

$$\begin{cases} uv + \frac{u}{v} = 1 - \alpha & \text{Équation 24} \\ uv - \frac{u}{v} = \alpha_0 & \text{Équation 25} \\ u^2 = K_a K_b \alpha^2 = \left(\frac{\delta \alpha}{2}\right)^2 & \text{Équation 26} \end{cases}$$

Avec :

$$\alpha = \frac{2}{\delta} u \quad \text{Équation 27}$$

En introduisant l'équation 27 dans l'équation 24 on obtient :

$$uv + \frac{u}{v} = 1 - \frac{2}{\delta} u \quad \text{Équation 28}$$

En sommant l'équation 25 et l'équation 28 on arrive à :

$$2uv = 1 + \alpha_0 - \frac{2}{\delta} u \quad \text{Équation 29}$$

$$u = \frac{1 + \alpha_0}{2\left(v + \frac{1}{\delta}\right)} \quad \text{Équation 30}$$

L'équation 25 peut être remplacée par :

$$uv^2 - u = \alpha_0 v \quad \text{Équation 31}$$

Ainsi, en exprimant l'équation 31 en fonction de v , on obtient :

$$\frac{1 + \alpha_0}{2\left(v + \frac{1}{\delta}\right)} v^2 - \frac{1 + \alpha_0}{2\left(v + \frac{1}{\delta}\right)} = \alpha_0 v \quad \text{Équation 32}$$

Qui revient à une équation du second degré :

$$(1 + \alpha_0)v^2 - \left(\frac{2\alpha_0}{\delta}\right)v - (1 + \alpha_0) = \alpha_0 v \quad \text{Équation 33}$$

Son discriminant vaut :

$$\Delta = 4 \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} (1 - \delta^2) \right] \quad \text{Équation 34}$$

D'où la valeur de v :

$$v = \frac{\frac{\alpha_0}{\delta} + \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} (1 - \delta^2) \right]^{1/2}}{1 - \alpha_0} \quad \text{Équation 35}$$

Qui, d'après le système précédemment posé, équivaut à :

$$v = \left(\frac{\alpha_+}{\alpha_-} \right)^{1/2} \quad \text{Équation 36}$$

En remplaçant la valeur de v dans l'équation 18, on retombe sur :

$$[H^+]_s = \left(\frac{K_a}{K_b} \right)^{1/2} \frac{\frac{\alpha_0}{\delta} + \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} (1 - \delta^2) \right]^{1/2}}{1 - \alpha_0} \quad \text{Équation 37}$$

D'après la relation donnée par l'équation 3, exprimant la concentration en protons à la surface de l'isolant $[H^+]_s$ et celle au sein de la solution $[H^+]_\infty$, nous obtenons une première relation liant le potentiel électrostatique ψ_0 apparaissant à l'interface isolant/électrolyte, la densité de charges surfacique α_0 et la concentration en ion H^+ , donc le pH, dans la solution :

$$[H^+]_\infty = \left(\frac{K_a}{K_b} \right)^{1/2} \exp\left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) \frac{\frac{\alpha_0}{\delta} + \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} (1 - \delta^2) \right]^{1/2}}{1 - \alpha_0} \quad \text{Équation 38}$$

En ce qui concerne les isolants inorganiques, il est possible de considérer $\delta \ll 1$, et donc que $(1 - \delta^2) \approx 1$. Ce qui simplifie l'équation précédente :

$$[H^+]_\infty = \left(\frac{K_a}{K_b} \right)^{1/2} \exp\left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) \frac{\frac{\alpha_0}{\delta} + \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} \right]^{1/2}}{1 - \alpha_0} \quad \text{Équation 39}$$

Cette équation est équivalente à :

$$\ln[H^+]_\infty = \ln\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} + \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \ln\left(\frac{\alpha_0}{\delta} + \left[1 + \frac{\alpha_0^2}{\delta^2} \right]^{1/2}\right) - \ln(1 - \alpha_0) \quad \text{Équation 40}$$

Notons, que, d'après $\ln(x + [1 + x^2]^{1/2}) = \operatorname{argsinh} x$, on peut écrire :

$$\ln[H^+]_{\infty} - \ln\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\frac{\alpha_0}{\delta}\right) - \ln(1 - \alpha_0) \quad \text{Équation 41}$$

D'après l'équation 39, il existe une concentration en protons dans la solution $[H^+]_{\infty}$, donc, une certaine valeur de pH pour laquelle la charge à la surface de l'isolant est nulle ($\alpha_0 = 0$), donc, aucun potentiel électrostatique n'est généré ($\psi_0 = 0$). Cette valeur est notée pH_{pzc} équivaut à une concentration en protons égale à (avec $\alpha_0 = \psi_0 = 0$):

$$[H^+]_{\infty (\alpha_0, \psi_0=0)} = \left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} \quad \text{Équation 42}$$

Qui donne, en valeur de pH :

$$pH_{pzc} = -\log_{10}[H^+]_{\infty} = -\log_{10}\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} \quad \text{Équation 43}$$

Plus simplement, c'est la valeur du pH de la solution pour laquelle $[SiNH_3^+] = [SiNH^-]$.

D'après la relation $\ln(x) = \log_{10}(x)\ln(10)$, il est possible d'écrire l'équation 41 sous une forme logarithmique décimal représentant le pH ($pH = -\log_{10}[H^+]$):

$$\log_{10}[H^+]_{\infty}\ln(10) - \log_{10}\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2}\ln(10) = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\frac{\alpha_0}{\delta}\right) - \ln(1 - \alpha_0) \quad \text{Équation 44}$$

$$\ln(10) \left[\log_{10}[H^+]_{\infty} - \log_{10}\left(\frac{K_a}{K_b}\right)^{1/2} \right] = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\frac{\alpha_0}{\delta}\right) - \ln(1 - \alpha_0) \quad \text{Équation 45}$$

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\frac{\alpha_0}{\delta}\right) - \ln(1 - \alpha_0) \quad \text{Équation 46}$$

D'après l'équation 12, qui exprime le potentiel électrostatique généré par les charges en surface, nous pouvons dire que l'équation 46 revient à :

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\frac{\sigma_0}{qN_s\delta}\right) - \ln\left(1 - \frac{\sigma_0}{qN_s}\right) \quad \text{Équation 47}$$

Cette relation reflète les phénomènes en surface, à la jonction électrolyte-isolant. Cependant, le potentiel induit à cette surface est distribué dans l'électrolyte en suivant des lois physiques, qui sont basées sur les équations de Poisson, et la statistique de Boltzmann. Le comportement physique d'un système EISFET est ainsi décrit par le modèle de Gouy-Chapman-Stern

II. Distribution du potentiel dans une jonction EIS

L'agencement de charges en surface d'une telle jonction donne naissance à une double couche électrique. Dans l'explication décrite par le schéma ci-dessous, nous considérons un électrolyte support de type 1:1 (e.g. NaCl), avec un $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$. D'après la démonstration effectuée en 1), à pH_{pzc} nous avons $[\text{SiNH}_3^+] = [\text{SiNH}^-]$. A $\text{pH} < \text{pH}_{\text{pzc}}$, $[\text{SiNH}_3^+] > [\text{SiNH}^-]$.

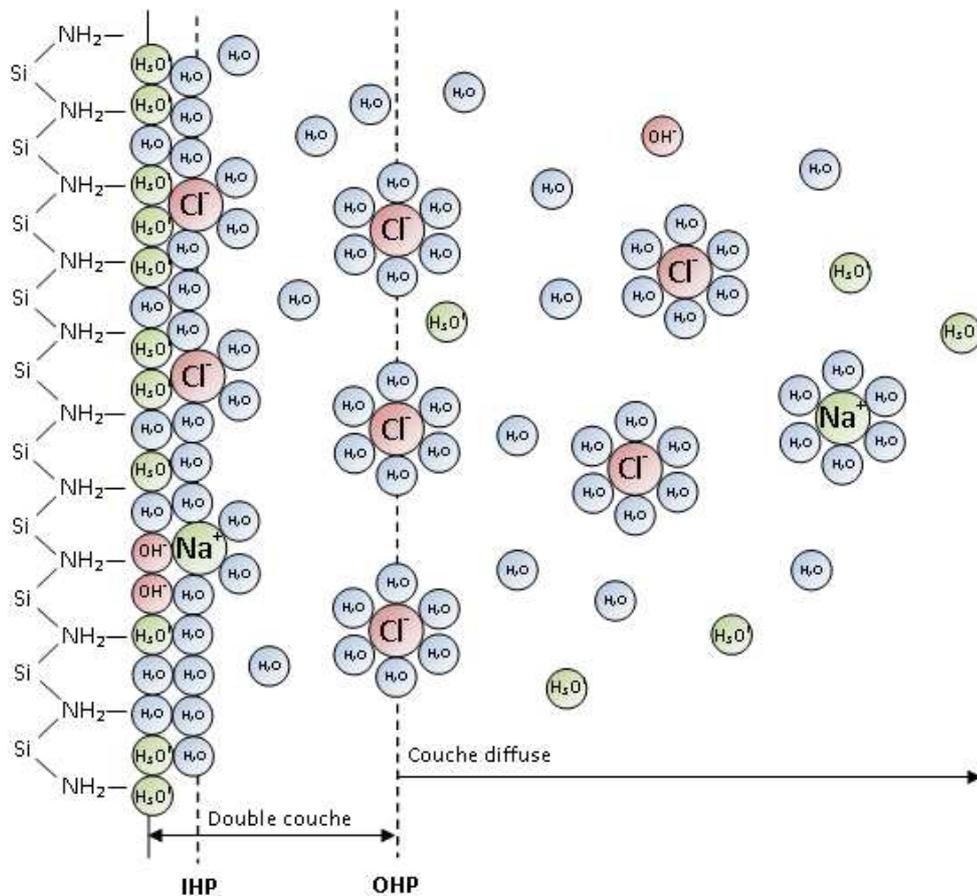


Figure 2 : Répartition des charges à l'interface isolant/analyte

La distribution du potentiel à proximité de l'interface isolant-électrolyte correspond au modèle de Gouy-Chapman-Stern. Ce modèle, décrivant la double couche électrique est composé de deux plans distincts :

Le plan interne d'Helmholtz (IHP) définit la « frontière » de la couche interne. Dans cette région, des ions, à cause de la charge en surface de l'isolant, peuvent se libérer partiellement de leur bouclier hydratant et être adsorbés à la surface. L' IHP est la distance entre le centre

de ces ions et la surface de l'isolant. Le plan externe d'Helmholtz (OHP) est la deuxième région composant la double couche. Elle s'étend de l'IHP jusqu'au centre de la première couche d'ions, totalement hydratés. En effet, de par leur rayon plus important, ils ne peuvent s'approcher plus près de la surface. Au delà de l'OHP, c'est la couche diffuse, où les ions s'organisent suivant la statistique de Boltzmann. Ces deux plans expliquent l'existence d'une capacité à proximité de l'interface isolant-électrolyte, composée de deux capacités en série. Schématiquement, la redistribution des charges et du potentiel équivalent à :

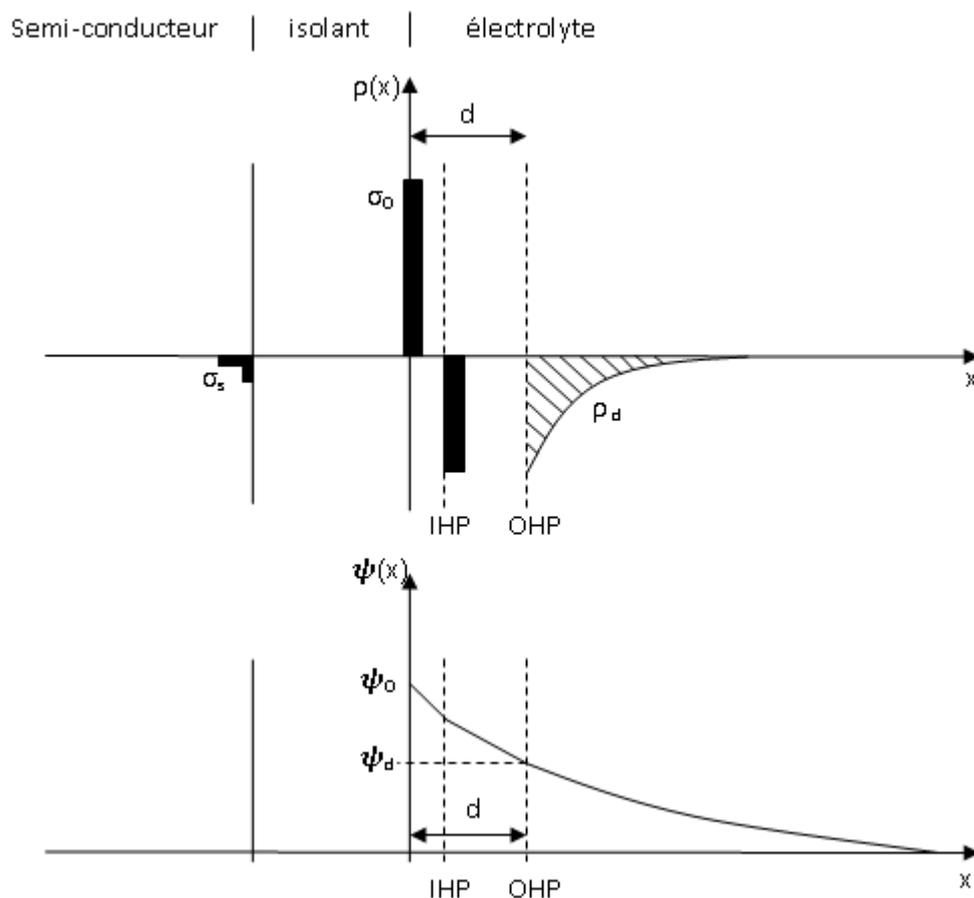


Figure 3: Redistribution des charges à travers la double couche

Il est important de noter que, au vu des dimensions moléculaires de l'IHP, la densité de charges piégées sur l'isolant (σ_0) est considérée comme surfacique, alors que la couche diffuse (ρ_d) est considérée comme volumique. De plus, il est plus aisé de considérer, pour les calculs, la capacité de Stern comme la capacité équivalente de la double couche (sur la

distance d), alors qu'en réalité, elle est composée d'une capacité équivalente à la région interne, en série avec une autre capacité équivalente à la région externe.

Pour la démonstration qui va suivre, on se place dans l'hypothèse suivante :

$\sigma_s \ll \sigma_0, \rho_d$ et, par principe d'électro neutralité, $\sigma_0 + \rho_d = 0$.

Dans la couche diffuse (région qui s'étend de l'OHP jusqu'au sein de l'électrolyte), la relation entre le potentiel (ψ) et la densité volumique de charges (ρ) suivant une distance x relative à l'OHP est décrite suivant l'équation de Poisson :

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} = -\frac{\rho(x)}{\varepsilon} \quad \text{Équation 48}$$

Où ε est la permittivité de l'eau.

De plus, la répartition des ions dans cette couche diffuse est dictée par la statistique de Boltzmann :

$$C(x) = C_\infty \exp\left(-\frac{q\psi(x)}{kT}\right) \quad \text{Équation 49}$$

Où $C(x)$ est la concentration de tout ion à proximité de l'OHP dans la couche diffuse (suivant (x)), et C_∞ sa valeur en solution (quand x tend vers l'infini positif).

Dans un électrolyte symétrique (*e.g.* NaCl) la densité de charges dépend de la concentration des anions et cations (Na^+ et Cl^- étant monovalent) :

$$\rho(x) = qC_q(x) - qC_{-q}(x) \quad \text{Équation 50}$$

D'où :

$$\rho(x) = qC_\infty \left[\exp\left(-\frac{q\psi(x)}{kT}\right) - \exp\left(\frac{q\psi(x)}{kT}\right) \right] \quad \text{Équation 51}$$

Qui, d'après la propriété $\sinh(x) = \frac{e^x - e^{-x}}{2}$, il est possible d'écrire :

$$\rho(x) = -2qC_\infty \sinh\left(\frac{q\psi(x)}{kT}\right) \quad \text{Équation 52}$$

Et, en revenant à l'expression de poisson (équation 48):

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} = \frac{2qC_\infty}{\varepsilon} \sinh\left(\frac{q\psi}{kT}\right) \quad \text{Équation 53}$$

D'après la propriété $\sinh(x) = 2 \sinh\left(\frac{x}{2}\right) \cosh\left(\frac{x}{2}\right)$, la dérivée partielle du potentiel devient :

$$\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2} = \frac{4qC_\infty}{\varepsilon} \sinh\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) \cosh\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) \quad \text{Équation 54}$$

D'où :

$$\underbrace{\frac{\partial^2 \psi}{\partial x^2}} \cdot \underbrace{\frac{\partial \psi}{\partial x}} = \frac{8kTC_\infty}{\varepsilon} \sinh\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) \cosh\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) \cdot \frac{q}{2kT} \frac{\partial \psi}{\partial x} \quad \text{Équation 55}$$

$$\frac{1}{2} \frac{\partial \left(\frac{\partial \psi}{\partial x}\right)^2}{\partial x} = \frac{1}{2} \frac{\partial \sinh^2\left(\frac{q\psi}{2kT}\right)}{\partial x}$$

Ainsi, en intégrant, on obtient :

$$\left(\frac{\partial \psi}{\partial x}\right)^2 = \frac{8kTC_\infty}{\varepsilon} \sinh^2\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) + cte \quad \text{Équation 56}$$

En se plaquant aux conditions en $x = +\infty$:

$$\left\{ \begin{array}{l} \left(\frac{\partial \psi}{\partial x}\right)_{x=+\infty} = 0 \\ \psi_{x=+\infty} = 0 \\ cte = 0 \end{array} \right.$$

On obtient finalement :

$$\frac{\partial \psi}{\partial x} = -\left(\frac{8kTC_\infty}{\varepsilon}\right)^{1/2} \sinh\left(\frac{q\psi}{2kT}\right) \quad \text{Équation 57}$$

D'après la loi de Gauss, au niveau de la capacité de Stern (définie par la distance d , entre la surface de l'isolant et l'OHP), il y a :

$$\left(\frac{\partial \psi}{\partial x}\right)_{x=0} = \left(\frac{\partial \psi}{\partial x}\right)_{x=d} = \frac{\rho_d}{\varepsilon} = -\frac{\sigma_0}{\varepsilon} \quad \text{Équation 58}$$

Ainsi, la relation entre le potentiel ψ_d présent au niveau de l'OHP et la densité de charges σ_0 en surface de l'isolant correspond à :

$$\frac{\sigma_0}{\varepsilon} = \left(\frac{8kTC_\infty}{\varepsilon}\right)^{1/2} \sinh\left(\frac{q\psi_d}{2kT}\right) \quad \text{Équation 59}$$

$$\sigma_0 = (8kT\varepsilon C_\infty)^{1/2} \sinh\left(\frac{q\psi_d}{2kT}\right) \quad \text{Équation 60}$$

$$\psi_d = \frac{2kT}{q} \operatorname{argsinh}\left(\frac{\sigma_0}{(8kT\varepsilon C_\infty)^{1/2}}\right) \quad \text{Équation 61}$$

Nous avons également, au niveau de la capacité de Stern :

$$\psi_0 - \psi_d = \frac{\sigma_0}{C_{stern}} \quad \text{Équation 62}$$

Où C_{stern} est la capacité de Stern par unité de surface.

En remplaçant le terme ψ_d par l'équation 61, on obtient une relation entre le potentiel de surface ψ_0 généré par la densité de charges σ_0 :

$$\psi_0 = \frac{2kT}{q} \operatorname{argsinh} \left(\frac{\sigma_0}{(8kT\varepsilon C_\infty)^{1/2}} \right) + \frac{\sigma_0}{C_{stern}} \quad \text{Équation 63}$$

En approximant au 1^{er} ordre :

$$\psi_0 = \sigma_0 \left(\frac{2kT}{q} \frac{1}{(8kT\varepsilon C_\infty)^{1/2}} + \frac{1}{C_{stern}} \right) \quad \text{Équation 64}$$

Soit :

$$\psi_0 = \frac{\sigma_0}{C_{eq}} \quad \text{Équation 65}$$

Avec :

$$\frac{1}{C_{eq}} = \frac{kT}{q} \frac{1}{(2kT\varepsilon C_\infty)^{1/2}} + \frac{1}{C_{stern}} \quad \text{Équation 66}$$

III. Interaction des différents phénomènes

L'étude des phénomènes chimiques a permis d'effectuer un lien entre le pH de la solution, les charges en surface (σ_0), et le potentiel de surface (ψ_0) (équation 47):

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \left(\frac{q\psi_0}{kT} \right) + \operatorname{argsinh} \left(\frac{\sigma_0}{qN_s\delta} \right) - \ln \left(1 - \frac{\sigma_0}{qN_s} \right)$$

L'étude des phénomènes physiques mis en jeu dans une telle jonction permet de faire le lien entre les charges en surface (σ_0) et le potentiel de surface (ψ_0) (équation 64) :

$$\psi_0 = \sigma_0 \left(\frac{2kT}{q} \frac{1}{(8kT\varepsilon C_\infty)^{1/2}} + \frac{1}{C_{stern}} \right) = \frac{\sigma_0}{C_{eq}}$$

La combinaison de ces deux équations permet de trouver :

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) + \operatorname{argsinh}\left(\psi_0 \frac{C_{eq}}{qN_s\delta}\right) - \ln\left(1 - \psi_0 \frac{C_{eq}}{qN_s}\right) \quad \text{Équation 67}$$

En négligeant le dernier terme et en se plaçant au 1^{er} ordre :

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \frac{q\psi_0}{kT} + \frac{q\psi_0}{kT} \cdot \frac{kTC_{eq}}{q^2N_s\delta} \quad \text{Équation 68}$$

$$\ln(10)[pH_{pzc} - pH] = \frac{q\psi_0}{kT} \left(1 + \frac{1}{\beta}\right) \quad \text{Équation 69}$$

Avec :

$$\beta = \frac{q^2N_s\delta}{kTC_{eq}} \quad \text{Équation 70}$$

$$\delta = 2(K_aK_b)^{1/2} \quad \text{Équation 71}$$

$$\frac{1}{C_{eq}} = \frac{kT}{q} \frac{1}{(2kT\epsilon C_\infty)^{1/2}} + \frac{1}{C_{stern}} \quad \text{Équation 72}$$

Finalement, la relation entre le potentiel de surface et le pH revient à :

$$\psi_0 = \ln(10) \left(\frac{kT}{q}\right) \left(\frac{\beta}{\beta+1}\right) [pH_{pzc} - pH] \quad \text{Équation 73}$$

A température ambiante (T=25°C), $\ln(10) \left(\frac{kT}{q}\right) = 59,2 \text{ mV}$, donc :

$$\psi_0 = 59,2 \left(\frac{\beta}{\beta+1}\right) [pH_{pzc} - pH] \quad [\text{mV}] \quad \text{Équation 74}$$

ANNEXES 2:

Etude des réactions de piégeage d'ions dans le film « surfacique » de polymères

Un modèle, basé sur l'équilibre à l'interface membrane/solution entre les ionophores et les ions primaires (sodium) à été développé, en suivant la logique du modèle de l'ISFET. On considère donc une membrane déposée directement sur le nitrure. Son comportement est de type *membrane à surface active* (cf. §types de comportement). Son épaisseur est négligée bien que, comme il l'est dit plus loin, son épaisseur à une influence sur la sensibilité.

En considérant que les réactions de piégeage d'ions par les ionophores se situent à la surface de la membrane (membranes à surface active), il advient que :



D'après la loi de Boltzmann, la relation entre la concentration en ions sodium à la surface de la membrane et celle au sein de l'électrolyte est égale à :

$$[Na^+]_s = [Na^+]_{\infty} \exp\left(-\frac{q\psi_0}{kT}\right) \quad \text{Équation 2}$$

En supposant qu'il existe une concentration minimale $[Na^+]_0$ pour laquelle la réaction exprimée par l'équation 1 peut effectivement se produire, il est possible d'écrire la constante d'équilibre K :

$$K = \frac{[I]_s([Na^+]_s - [Na^+]_0)}{[INa^+]_s} \quad \text{Équation 3}$$

Avec :

$$\begin{cases} [I]_s + [INa^+]_s = N_s & \text{Équation 4} \\ \sigma_0 = q[INa^+]_s & \text{Équation 5} \end{cases}$$

Ou N_s est le nombre de sites réactifs en surface, σ_0 la densité de charges surfacique.

D'après l'équation 3, la concentration en ions sodium piégés à la surface $[Na^+]_s$ est :

$$[Na^+]_s = [Na^+]_0 + K \frac{[INa^+]_s}{[I]_s} \quad \text{Équation 6}$$

Et, en remplaçant le terme $[INa^+]_s$ par l'équation 5 et le terme $[I]_s$ par l'équation 4, on obtient :

$$[Na^+]_s = [Na^+]_0 + K \frac{\frac{\sigma_0}{q}}{N_s - \frac{\sigma_0}{q}} \quad \text{Équation 7}$$

On pose alors :

$$\alpha_0 = \frac{\sigma_0}{qN_s} \quad \text{Équation 8}$$

Pour obtenir, après remplacement dans l'équation 7 :

$$[Na^+]_s = [Na^+]_0 + K \frac{\alpha_0}{1 - \alpha_0} \quad \text{Équation 9}$$

La concentration des ions sodium au sein de l'électrolyte est alors :

$$[Na^+]_\infty = \left([Na^+]_0 + K \frac{\alpha_0}{1 - \alpha_0} \right) \exp\left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) \quad \text{Équation 10}$$

En factorisant $[Na^+]_0$, on trouve :

$$[Na^+]_\infty = [Na^+]_0 \left(1 + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\alpha_0}{1 - \alpha_0} \right) \exp\left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) \quad \text{Équation 11}$$

$$\ln[Na^+]_\infty = \ln[Na^+]_0 + \ln\left(1 + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\alpha_0}{1 - \alpha_0} \right) + \left(\frac{q\psi_0}{kT}\right) \quad \text{Équation 12}$$

$$\ln[Na^+]_\infty - \ln[Na^+]_0 = \frac{q\psi_0}{kT} + \ln\left(1 + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\alpha_0}{1 - \alpha_0} \right) \quad \text{Équation 13}$$

En faisant l'hypothèse que $\alpha_0 \ll 1$, on se place au 1^{er} ordre, et l'équation précédente devient :

$$\ln[Na^+]_\infty - \ln[Na^+]_0 = \frac{q\psi_0}{kT} + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\alpha_0}{qN_s} \quad \text{Équation 14}$$

En passant en logarithme décimal, on a :

$$\ln_{10}[pNa_0 - pNa] = \frac{q\psi_0}{kT} + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\sigma_0}{qN_s} \quad \text{Équation 15}$$

D'après l'étude de la double couche, on sait que $\psi_0 = \frac{\sigma_0}{C_{eq}}$, donc :

$$\ln 10[pNa_0 - pNa] = \frac{q\psi_0}{kT} + \frac{K}{[Na^+]_0} \frac{\psi_0 C_{eq}}{qN_s} \quad \text{Équation 16}$$

$$\ln 10[pNa_0 - pNa] = \frac{q\psi_0}{kT} \left(1 + \frac{kTC_{eq}K}{q^2N_s[Na^+]_0} \right) \quad \text{Équation 17}$$

En posant :

$$\beta = \frac{q^2N_s[Na^+]_0}{kTC_{eq}K} \quad \text{Équation 18}$$

On obtient :

$$\ln 10[pNa_0 - pNa] = \frac{q\psi_0}{kT} \left(1 + \frac{1}{\beta} \right) \quad \text{Équation 19}$$

Et, finalement :

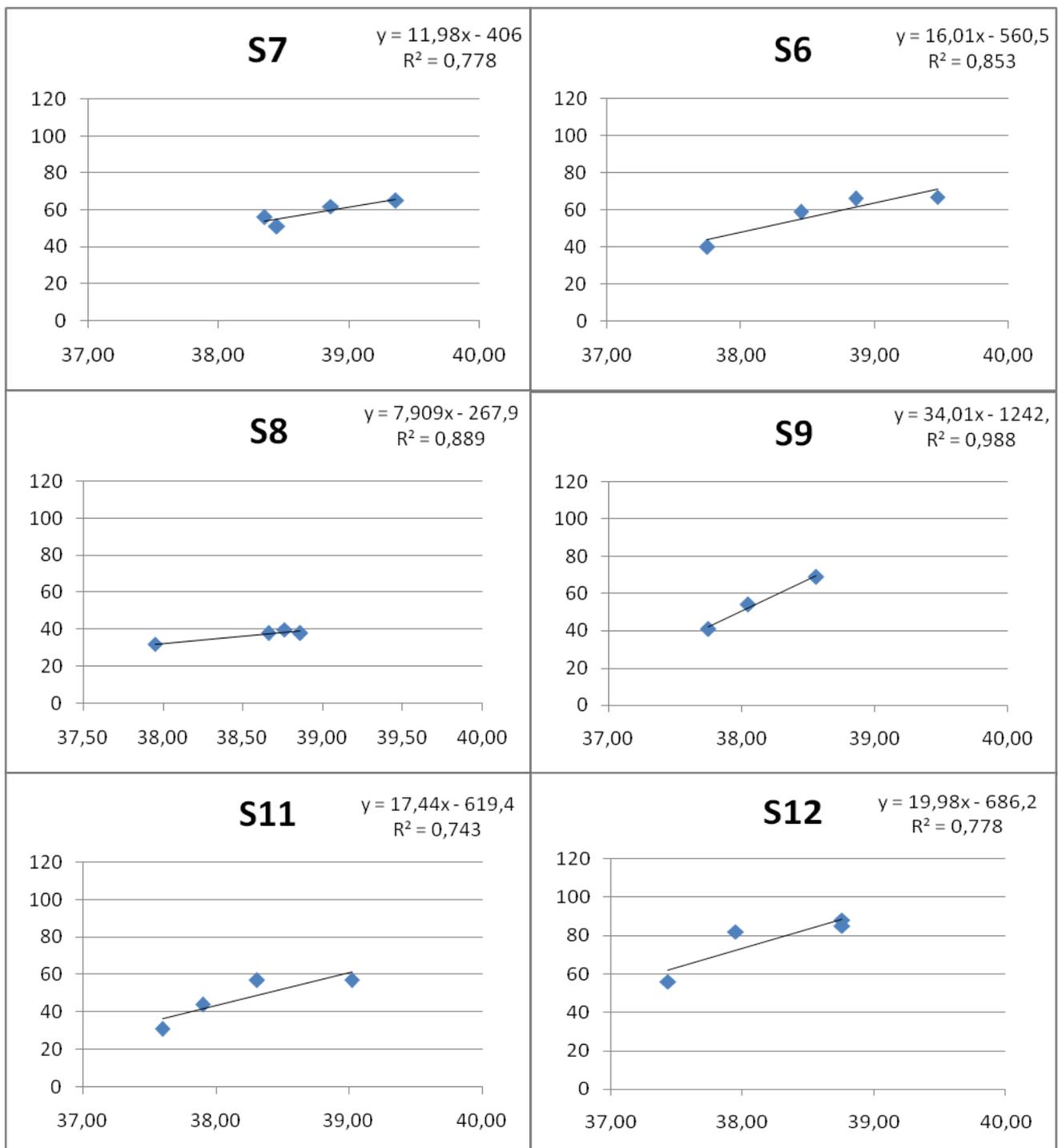
$$\psi_0 = \ln 10 \left(\frac{kT}{q} \right) \left(\frac{\beta}{\beta+1} \right) (pNa_0 - pNa) \quad \text{Équation 20}$$

Qui, à T = 25°C donne :

$$\psi_0 = 59,2 \left(\frac{\beta}{\beta+1} \right) (pNa_0 - pNa) [mV] \quad \text{Équation 21}$$

ANNEXES 3:

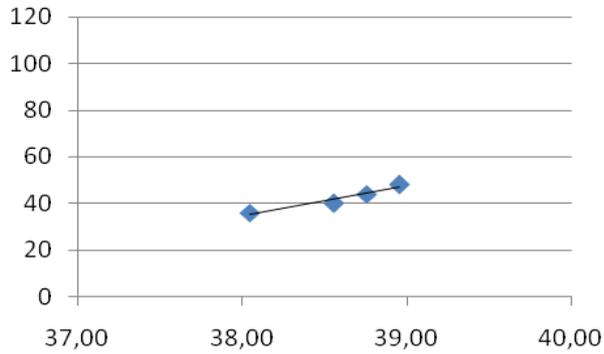
Relations individuelles $[Na^+] = f(T_{re})$



S14

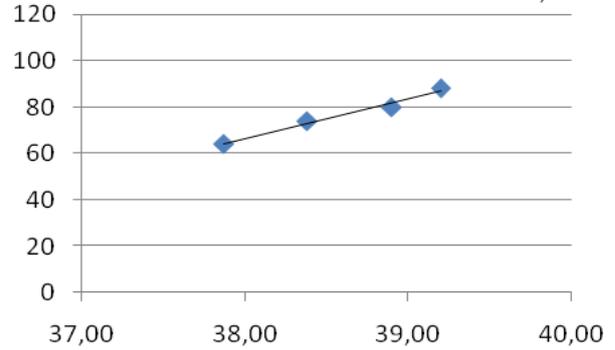
$$y = 12,79x - 451,5$$

$$R^2 = 0,937$$

**S15**

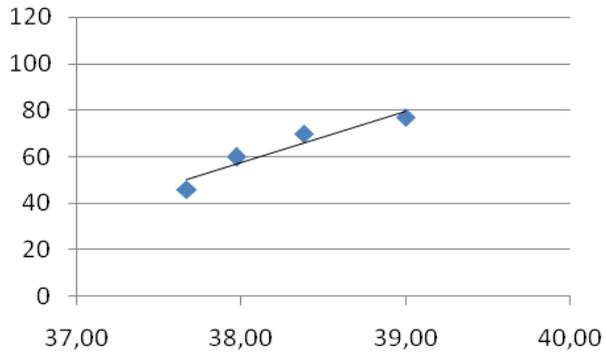
$$y = 17,1x - 583,3$$

$$R^2 = 0,981$$

**S16**

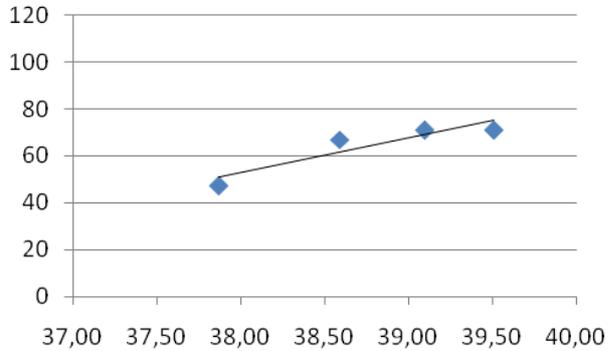
$$y = 22,23x - 787,4$$

$$R^2 = 0,905$$

**S17**

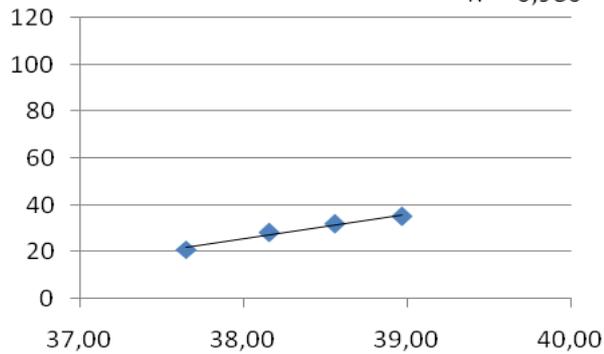
$$y = 14,84x - 511,4$$

$$R^2 = 0,834$$

**S18**

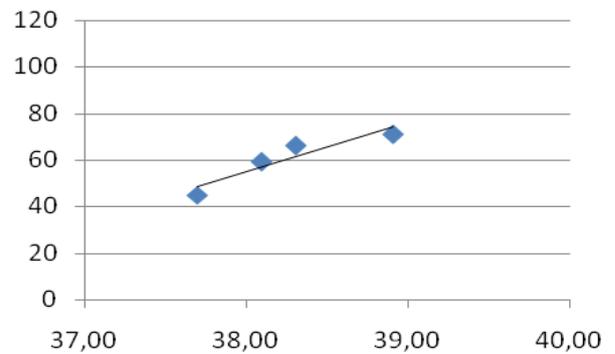
$$y = 10,63x - 378,5$$

$$R^2 = 0,980$$

**S20**

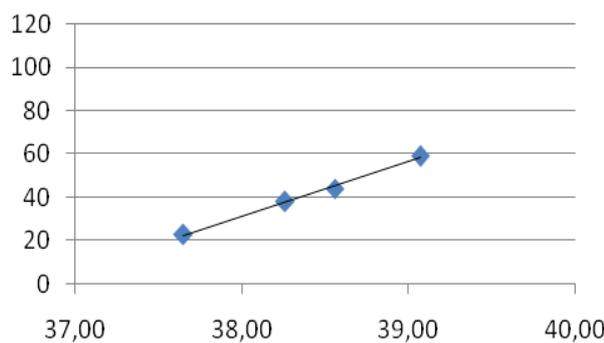
$$y = 20,95x - 741,5$$

$$R^2 = 0,877$$

**S22**

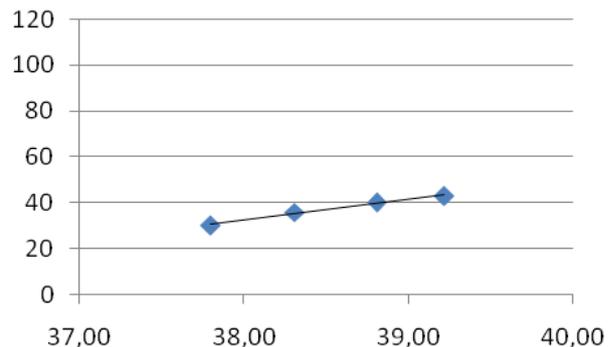
$$y = 25,06x - 921,0$$

$$R^2 = 0,995$$

**S23**

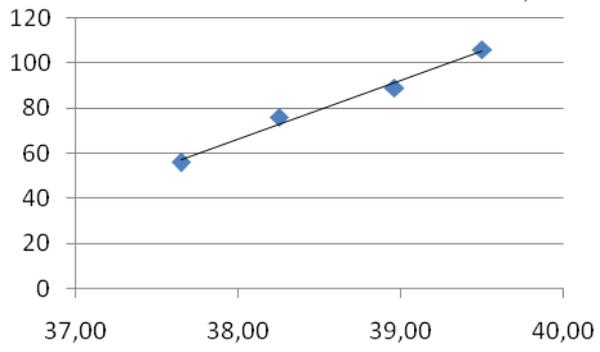
$$y = 9,073x - 312,4$$

$$R^2 = 0,986$$



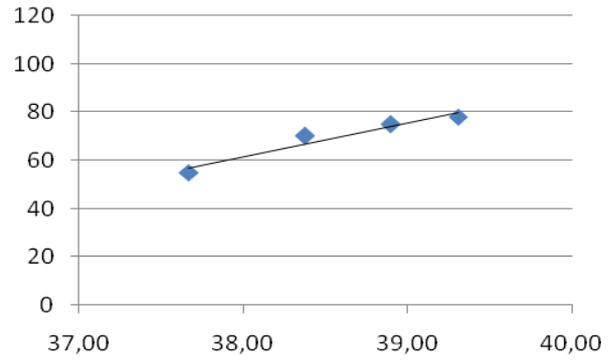
S24

$$y = 25,91x - 918,4$$
$$R^2 = 0,987$$



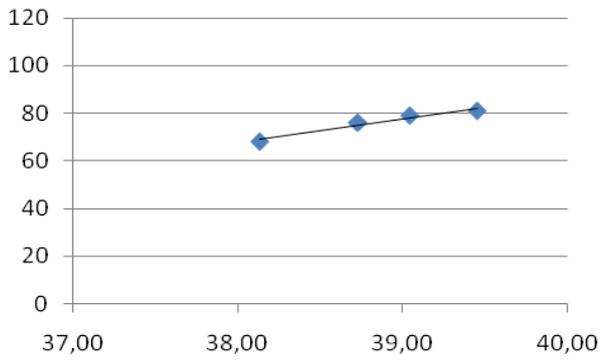
S25

$$y = 14,01x - 471,0$$
$$R^2 = 0,943$$



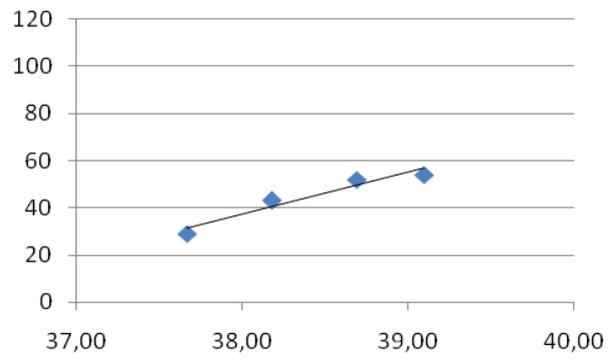
S26

$$y = 10,05x - 314,3$$
$$R^2 = 0,956$$



S27

$$y = 17,72x - 636,2$$
$$R^2 = 0,932$$



Development of integrated chemical microsensors for sodium ion detection in liquid phase : application to the physiological stress monitoring

Summary :

During emergency operations, the first responders (firefighters, civil defense, police or military operation) are subject to significant physiological constraints responsible for serious medical accidents (dehydration, heat stroke ...). In the current state, it is absolutely impossible to get a realistic physiological state emergency personnel via health monitoring systems. The work done in this thesis has been to improve the prevention of first responders in developing an integrated headband physiological biochemical sensors able to analyze and monitor the concentration of sodium in sweat. Experiments have demonstrated a physiological link between body condition and hyperthermic sodium ion concentration in sweat. The integration of technology pNa-ISFET in a physiological band, as well as results from in vivo measurements performed on a panel of ten individuals are presented in this manuscript.

Mots clés :

ISFET sensors, Ink jet printing, ion sensitive layers, sodium ion detection

Développement de microcapteurs chimiques intégrés pour la détection de l'ion sodium en phase liquide: application au suivi du stress physiologique

Arnaud CAZALÉ

Thèse soutenue le 21 Décembre 2012 au LAAS-CNRS, Toulouse

Directeurs de thèse : Pierre TEMPLE-BOYER et William SANT

Résumé :

Lors d'opérations d'urgence, les primo-intervenants (pompiers, protection civile, gendarmerie ou militaires en opération) sont soumis à des contraintes physiologiques importantes responsables d'accidents médicaux graves (déshydratation, coup de chaleur...). Dans l'état actuel, il est absolument impossible d'obtenir un état physiologique réaliste des personnels d'urgence via les systèmes de surveillance de santé. Les travaux réalisés au cours de cette thèse ont eu pour but d'améliorer la prévention des primo-intervenants en développant un bandeau physiologique intégrant des capteurs biochimiques capable d'analyser et de surveiller la concentration en sodium dans la sueur. Des expérimentations ont mis en évidence un lien physiologique entre l'état corporel hyperthermique et la concentration en ions sodium dans la sueur. L'intégration de la technologie pNa-ISFET dans un bandeau physiologique, ainsi que les résultats issus des mesures in-vivo effectuées sur un panel de dix individus sont présentés dans ce manuscrit.

Mots clés :

Capteur ISFET, Dépôt jet d'encre, couches ionosensibles, détection de l'ion sodium

Discipline :

Micro et Nanosytèmes

Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (LAAS-CNRS)

7, avenue du Colonel Roche

BP 54200

31031 Toulouse Cedex 4