



HAL
open science

Biocapteurs hyperfréquences résonants pour l'analyse non-invasive de liquides biologiques

Thomas Chretiennot

► **To cite this version:**

Thomas Chretiennot. Biocapteurs hyperfréquences résonants pour l'analyse non-invasive de liquides biologiques. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2013. Français. NNT: . tel-00903918

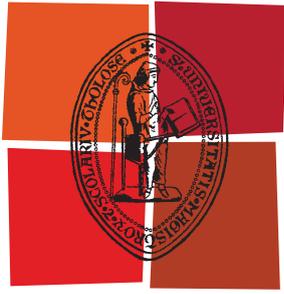
HAL Id: tel-00903918

<https://theses.hal.science/tel-00903918>

Submitted on 13 Nov 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 III Paul Sabatier (UT3 Paul Sabatier)

Discipline ou spécialité :

Micro-ondes, Electromagnétisme et Optoélectronique

Présentée et soutenue par :

Thomas CHRETIENNOT

le : vendredi 20 septembre 2013

Titre :

Biocapteurs hyperfréquences résonants pour l'analyse non-invasive de
liquides biologiques

Ecole doctorale :

Génie Electrique, Electronique et Télécommunications (GEET)

Unité de recherche :

LAAS-CNRS

Directeur(s) de Thèse :

M. David DUBUC, Mme Katia GRENIER

Rapporteurs :

M. Ronan SAULEAU

M. Bertrand BOCQUET

Membre(s) du jury :

M. Ronan SAULEAU, Rapporteur, Professeur des universités, Université Rennes 1 / IETR

M. Bertrand BOCQUET, Rapporteur, Professeur des universités, Université Lille 1 / IEMN

M. Thierry CAMPS, Membre, Professeur des universités, Université Toulouse 3 / LAAS-CNRS

M. Thierry TARIS, Membre, Maître de conférences, Université Bordeaux 1 / IMS

M. David DUBUC, Membre, Maître de conférences, Université Toulouse 3 / LAAS-CNRS

Mme Katia GRENIER, Membre, Chargée de recherche / LAAS-CNRS

Biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants pour l'analyse non invasive de liquides biologiques

Résumé

Nos travaux ont visé le développement de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques pour l'analyse de fluides biologiques et notamment la mesure de glucose en solution aqueuse à des concentrations physiologiques. De nouveaux dispositifs résonants aux capacités améliorées en sensibilité et sélectivité et parallélisables ont été mis au point, fabriqués en centrale de microtechnologie et validés expérimentalement.

Le premier chapitre positionne les motivations de nos travaux vis à vis des besoins en terme de caractérisation précise d'éléments biochimiques variés en milieu liquide, pour des applications en biochimie, pharmacologie, toxicologie et autres et notamment dans le cadre de la mesure de taux de glycémie.

Le second chapitre présente la modélisation du fonctionnement des biocapteurs développés et de l'interaction fluide/champ électrique sous-jacente afin d'en comprendre les mécanismes et d'en optimiser les performances en sensibilité.

Les travaux présentés dans le troisième chapitre se placent dans le contexte de la mesure de la glycémie humaine. Nous avons validé expérimentalement les capacités en sensibilité et fiabilité de nos biocapteurs hyperfréquences microfluidiques pour la mesure de glucose aux concentrations physiologiques. Nous avons de plus démontré que l'ajout de constituants comme du Chlorure de Sodium ne remettait pas en cause les capacités de mesures de fluides complexes (comme le sang) de nos biocapteurs.

Enfin, le dernier chapitre du manuscrit ouvre vers les nouvelles perspectives qu'offrent les dispositifs hyperfréquences microfluidiques : la possibilité de mesurer sur un unique échantillon la concentration de plusieurs solutés (glucose et chlorure de sodium) pointant ainsi le pouvoir sélectif de la technique. Il est enfin démontré la capacité de mesurer simultanément plusieurs échantillons de liquides permettant ainsi la parallélisation de nos biocapteurs.

L'ensemble de nos travaux démontre ainsi les nouvelles perspectives qu'offre la technique hyperfréquence pour l'analyse de fluides biologiques et notamment la mesure de la glycémie humaine. Les caractères non invasif et non destructif des biocapteurs hyperfréquences combinés avec l'approche microfluidique permettent d'envisager leur exploitation au sein de nombreux systèmes d'analyse : des « laboratoires sur puce » jusqu'aux systèmes biomédicaux implantables sur des patients.

Liste des publications

Revues :

"A microwave and microfluidic planar resonator for efficient and accurate complex permittivity characterization of aqueous solutions". T. Chrétiennot, D. Dubuc, K. Grenier, IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, Feb. 2013, vol. 61, n°2, pp. 972-978.

"Recent advances in microwave-based dielectric spectroscopy at the cellular level for cancer investigations". K. Grenier, D. Dubuc, T. Chen, F. Artis, T. Chrétiennot, M. Poupot and J.J. Fournié, IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, May 2013, vol. 61, n°5, pp. 2023-2030. Papier invité.

Conférences internationales :

"Microfluidic on-chip for biomedical applications". K. Grenier, D. Dubuc, T. Chen, T. Chrétiennot, M. Poupot, J.J. Fournié, IEEE Bipolar/BiCMOS circuits and technology meeting, Atlanta (USA), 9 – 11 octobre 2011, pp. 129 – 132, n° 11481. Conférence invitée.

"Microwave biosensors for living cells analysis". K. Grenier, D. Dubuc, T. Chen, T. Chrétiennot, F. Artis, M. Poupot, J.J. Fournié, European microwave week EuMC 2012, Amsterdam (Pays-Bas), 28 octobre au 02 novembre 2012, Workshop 15 : biomedical applications of microwaves, n° 12601. Conférence invitée.

"Optimized electromagnetic interaction microwave resonator/microfluidic channel for enhanced liquid biosensor". T. Chrétiennot, D. Dubuc and K. Grenier, European microwave week EuMC 2013, Nuremberg (Allemagne), 6 – 11 octobre 2013. Papier accepté pour présentation en session orale.

Conférences nationales :

"Biocapteur hyperfréquence miniature pour l'analyse non-invasive de solution aqueuse de glucose". T. Chrétiennot, D. Dubuc et K. Grenier, Journées Nationales Microondes, Paris, 15 – 17 mai 2013. Papier sélectionné pour présentation en session orale.

"Biocapteur hyperfréquence miniature pour la caractérisation de liquides biologiques". T. Chrétiennot, D. Dubuc et K. Grenier, Journées nationales du réseau doctoral en micro et nanotechnologie, Grenoble, 10 – 12 juin 2013. Papier sélectionné pour présentation en session orale.

TABLE DES MATIERES

Chapitre I : Motivations de nos travaux et état de l'art.

Introduction générale.....	11
Chapitre I : Motivations de nos travaux et état de l'art.....	15
I. Introduction	17
II. Techniques usuelles pour le dosage du glucose dans des échantillons de sang	19
II.1. Techniques de laboratoire.....	21
II.1.a. Dosage par l'ion Cu^{2+} (méthode chimique).....	21
II.1.b. Dosage par la O. toluidine (méthode chimique).....	21
II.1.c. Hexokinase / glucose-6-phosphate déshydrogénase (méthode enzymatique)	22
II.2. Techniques implémentées dans les glucomètres	22
II.3 Positionnement de nos travaux de recherche	23
III. Techniques hyperfréquences pour la caractérisation de liquides.....	26
III.1 Techniques de mesure en réflexion	26
III.1.a Câble coaxial.....	26
III.1.b Guide d'onde volumique.....	27
III.2 Techniques de mesure en transmission	28
III.2.a Câble coaxial.....	28
III.2.b Guide d'onde volumique.....	30
III.2.c Guide d'onde miniature	30

III.3 Dispositifs résonants	34
<i>III.3.a Cavité résonantes (modes Transverse Electrique et Transverse Magnétique)</i>	34
<i>III.3.b Résonateurs diélectriques</i>	35
<i>III.3.c Résonateurs miniatures (implémentés en technologie coplanaire ou microstrip)</i>	38
III.4 Synthèse	40
IV. Biocapteurs hyperfréquences pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse	42
IV.1 Dispositif à base de guide d'onde	42
IV.2 Dispositifs à base de cavité résonante	42
IV.3 Dispositifs à base de résonateur diélectrique.....	45
IV.4 Synthèse	49
V. Conclusion.....	51
Bibliographie du chapitre I	53

Chapitre II : Analyse de liquides par résonateur hyperfréquence : principe de fonctionnement, modélisation, fabrication et validation expérimentale.

Chapitre II : Analyse de liquides par résonateur hyperfréquence : principe de fonctionnement, modélisation, fabrication et validation expérimentale.	59
I. Introduction	60
II. Principe de fonctionnement et microfabrication du biocapteur	61
II.1. Permittivité des matériaux	61
II.2. Principe de fonctionnement du biocapteur résonant	63
II.3. Présentation du dispositif hyperfréquence microfluidique	65
II.4. Fabrication du prototype en centrale de microtechnologie	69
II.5 Mesure des indicateurs de sortie	75
<i>II.5.a. Fréquence de résonance</i>	<i>76</i>
<i>II.5.b. Réjection à la résonance</i>	<i>78</i>
III. Modélisation et validation expérimentale	79
III.1. Techniques de simulation du biocapteur	79
III.2. Modélisation du biocapteur	84
III.3. Simplification du modèle dans le cas de mélanges eau/éthanol	87
III.4. Validation expérimentale à partir de mesures sur des mélanges eau/éthanol	88
III.5. Optimisation du couplage fluide/champ	94
IV. Conclusion	110
Bibliographie du chapitre II	111

Chapitre III : Bio-capteur hyperfréquence microfluidique dédié à l'analyse de la glycémie humaine.

Chapitre III : Bio-capteur hyperfréquence microfluidique dédié à l'analyse de la glycémie humaine.115

I. Introduction117

II. Optimisation de l'architecture du biocapteur118

II.1. Présentation des structures 118

II.2. Les résonateurs de la filière TFMS..... 121

II.2.a. Présentation des résonateurs 121

II.2.b. Conception des résonateurs 122

II.2.c. Fabrication en centrale de microtechnologie 127

II.3. Les résonateurs de la filière CPW 134

II.4. Amélioration du protocole de mesure et des indicateurs de sortie 137

II.4.a. Contraste par rapport à une référence..... 137

II.4.b. Mesure des contrastes de réjection à la résonance 138

II.4.c. Troisième indicateur, sur la phase 140

II.4.d. Incertitude de mesure..... 140

II.5. Evaluation des performances des différentes familles de biocapteurs – mesure de mélanges eau/glucose à forte concentration en glucose..... 141

II.5.a. Sur les résonateurs implémentés en technologie « thin film microstrip » (TFMS) 141

II.5.b. Comparaison des trois familles de résonateurs..... 146

III. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse aux concentrations physiologiques150

III.1. Résonateurs TFMS : mesures de mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques 151

III.2. Fiabilité des biocapteurs : abaque d'erreur de Clarke 155

III.2.a. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs TFMS 156

<i>III.2.b. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs CPW.....</i>	<i>157</i>
IV. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse dans des conditions se rapprochant des conditions physiologiques	159
IV.1. Mesures de mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium sur les stubs TFMS	160
IV.2. Changement de liquide de référence	164
IV.3. Exploitation des résonances harmoniques	165
V. Conclusion.....	170
Bibliographie du chapitre III.....	173

Chapitre IV : Analyse hyperfréquence multi-paramétrique de liquides biologiques.

Chapitre IV : Analyse hyperfréquence multi-paramétrique de liquides biologiques.177

I. Introduction	179
II. Techniques de mesures multi-paramétriques.....	180
II.1. Principe de superposition des perturbations	180
II.2. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de régression large bande	183
II.3. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes	189
III. Techniques de mesures multi-échantillons	194
III.1. Présentation de la structure à deux résonateurs.....	194
III.2. Principe et mise en œuvre de la technique de mesure.....	196
<i>III.2.a. Superposition des perturbations</i>	<i>196</i>
<i>III.2.b. Généralisation</i>	<i>198</i>
<i>III.2.c. Protocole de mesures.....</i>	<i>199</i>
III.3. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de régression large bande	201
III.4. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes.....	204
<i>III.4.a. Mise en évidence graphique du principe de superposition des perturbations</i>	<i>204</i>
<i>III.4.b. Détermination des concentrations en glucose par une méthode algébrique</i>	<i>206</i>
<i>III.4.c. Détermination des concentrations en glucose : méthode graphique.....</i>	<i>211</i>
III.5. Vers la généralisation des mesures multi-échantillons : structure à 4 résonateurs.....	214
<i>III.5.a. Présentation de la structure</i>	<i>214</i>
<i>III.5.b. Mesures de solutions eau/glucose</i>	<i>215</i>

IV. Conclusion.....	221
Bibliographie du chapitre IV	224
Conclusion générale	227

Introduction



Introduction générale

Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre large de l'exploration des potentialités de la convergence des techniques d'intégration de microsystèmes hyperfréquences et microfluidiques pour des applications biomédicales. Dans ce contexte nous avons exploité l'interaction des ondes électromagnétiques hyperfréquences avec des liquides biologiques pour réaliser des microcapteurs de glucose en solution aqueuse avec comme application la mesure de la glycémie.

Il s'agit clairement d'une technique novatrice pour l'application envisagée et qui se positionne dans un contexte où de nombreux dispositifs sont commercialisés depuis de nombreuses années. L'originalité de la technique par rapport à l'existant repose sur son intégrabilité sur puce de part des capacités, déjà démontrées, d'intégration des circuits hyperfréquences ainsi que des fonctions fluidiques. Cette aptitude fait de cette technique une solution de choix pour réaliser les fonctions d'analyse au sein des « laboratoires sur puce ». Qui dit *laboratoire*, dit multiples analyses et, là aussi, la capacité de la technique hyperfréquence-fluidique à la non-destruction/non-altération et donc à la réutilisation des échantillons en fait un atout décisif pour ce type d'application. Nous explorerons dans le dernier chapitre de ce manuscrit les capacités de multi-analyses de nos biocapteurs.

En amont de cette exploration du potentiel de rupture de la technique de détection hyperfréquence-fluidique, il fut indispensable de mener des travaux de modélisation du mécanisme d'interaction entre les ondes électromagnétiques hyperfréquences et les fluides à analyser. Ce travail, présenté au chapitre II, a permis l'optimisation d'une des caractéristiques essentielles des biocapteurs pour l'analyse de la glycémie : la sensibilité de détection. Cette performance conditionne en effet la résolution (plus petite variation de glucose détectable) du capteur, dont il est indispensable de démontrer sa cohérence avec l'application envisagée et ceci afin de faire la preuve du concept proposé.

En parallèle et complémentarité du développement de l'architecture de notre biocapteur, nous avons aussi développé les protocoles expérimentaux ainsi que la qualité de nos indicateurs de mesure aboutissant ainsi à des niveaux de résolution et précision de titrage du glucose en solution aqueuse qui, *in fine*, permettent de conclure à la pertinence de la technique utilisée pour l'application de mesure de la glycémie.

Nous avons enfin adressé un des points « durs » de la technique qui est sa non-spécificité à détecter le glucose parmi de nombreuses autres molécules en solution aqueuse. C'est une des caractéristiques clefs des systèmes d'analyse de glucose et de nombreuses techniques souffrent de ce manque de spécificité. Comme il est décrit en fin de chapitre III et au chapitre IV, nous avons non

seulement proposé une piste solutionnant ce problème, mais aussi tirer profit de cette caractéristique pour démontrer expérimentalement l'aptitude de multi-analyse de la technique comme déjà évoquée plus haut.

Ainsi, notre manuscrit est scindé en quatre chapitres :

Le chapitre I dresse un état de l'art des techniques usuelles de mesure de glycémie, ce qui permet de définir, non seulement les potentiels de rupture de la technique hyperfréquence-microfluidique proposée, mais aussi de fixer les objectifs de performances à atteindre pour prouver le bien fondé de tout nouveau concept. Un état de la bibliographie existante sur l'utilisation des systèmes hyperfréquences pour la mesure de liquides est établi, ce qui nous a permis d'orienter certains de nos choix ainsi que de pointer les performances clés à optimiser, définissant ainsi nos travaux de recherches reportés dans les trois chapitres suivants.

Le chapitre II présente les étapes de conception, modélisation et fabrication d'un premier prototype de capteur basé sur un résonateur $\lambda/4$ implémenté dans un guide d'onde coplanaire et équipé de canaux microfluidiques en polymère. Une attention particulière a été portée à définir expérimentalement la validité et la précision du modèle proposé. Une étude de l'optimisation du couplage fluide/champ électromagnétique conclut ce chapitre.

Le chapitre III utilise les résultats du chapitre II pour proposer deux nouvelles familles de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants. Les performances en sensibilité et résolution des trois familles de biocapteurs sont évaluées sur des solutions aqueuses de glucose « fortement » concentrées, puis avec des solutions aux concentrations physiologiques. De façon à approcher les conditions réelles d'utilisation (échantillons de sang humain), les performances des biocapteurs sont évaluées également en présence de chlorure de sodium.

Le chapitre IV montre les potentialités des techniques de mesures hyperfréquences pour l'analyse sur des liquides. Des méthodologies de traitement des données ainsi que de nouveaux dispositifs y sont proposés pour

- la mesure simultanée de la concentration de deux solutés en solution,
- la mesure simultanée de la concentration d'un soluté sur deux puis quatre échantillons fluidiques.

Enfin, la conclusion générale reprendra les différents résultats clés obtenus lors de nos travaux et tirera des perspectives qu'ouvrent nos recherches.

Chapitre I



Chapitre I : Motivations de nos travaux et état de l'art.

Chapitre I : Motivations de nos travaux et état de l'art.....	15
I. Introduction	17
II. Techniques usuelles pour le dosage du glucose dans des échantillons de sang	19
II.1. Techniques de laboratoire.....	21
II.1.a. Dosage par l'ion Cu^{2+} (méthode chimique).....	21
II.1.b. Dosage par la O. toluidine (méthode chimique).....	21
II.1.c. Hexokinase / glucose-6-phosphate déshydrogénase (méthode enzymatique)	22
II.2. Techniques implémentées dans les glucomètres	22
II.3 Positionnement de nos travaux de recherche	23
III. Techniques hyperfréquences pour la caractérisation de liquides.....	26
III.1 Techniques de mesure en réflexion	26
III.1.a Câble coaxial.....	26
III.1.b Guide d'onde volumique.....	27
III.2 Techniques de mesure en transmission.....	28
III.2.a Câble coaxial.....	28
III.2.b Guide d'onde volumique.....	30
III.2.c Guide d'onde miniature	30
III.3 Dispositifs résonants	34
III.3.a Cavité résonantes (modes Transverse Electrique et Transverse Magnétique).....	34
III.3.b Résonateurs diélectriques.....	35
III.3.c Résonateurs miniatures (implémentés en technologie coplanaire ou microstrip)	38
III.4 Synthèse	40

IV. Biocapteurs hyperfréquences pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse	42
IV.1 Dispositif à base de guide d'onde	42
IV.2 Dispositifs à base de cavité résonante	42
IV.3 Dispositifs à base de résonateur diélectrique	45
IV.4 Synthèse	49
V. Conclusion	51
Bibliographie du chapitre I	53

I. Introduction

Le domaine biomédical subit, depuis quelques années, de nombreux bouleversements notamment engendrés par les nouvelles technologies, parmi lesquels on trouve : la télémédecine, les technologies pour le suivi et le maintien à domicile de patient, la médecine personnalisée permettant d'adapter les traitements à chaque patient [1] ... Ces évolutions amènent la nécessité de collecter de plus en plus de données biologiques avec, comme exemple phare, le séquençage de l'ADN et le développement associé de la bio-informatique pour pouvoir traiter de telles masses de données [2].

En complément à la génomique, la protéomique,... et toujours avec l'objectif d'établir des diagnostics et pronostics médicaux basés sur des données multiparamétriques, le développement de systèmes d'analyse et de numération de liquides physiologiques reste très dynamique. Ne serait-ce que si l'on considère le sang, on peut répertorier de très nombreux composés comme les éléments figurés (érythrocytes, leucocytes, plaquettes,...), les biomolécules (glucose, lipides, acides aminés,...), les espèces ioniques (Na^+ , Cl^- , Ca^{2+} , ...) dont les concentrations sont indicatives de l'état de santé de l'individu.

Nos travaux se positionnent dans ce contexte d'analyse de liquide physiologique et, plus précisément, nous avons développé un système d'analyse de liquide biologique qui, contrairement aux technologies usuelles, est non seulement **intégrable sur puce** mais aussi **non destructif pour les échantillons à analyser**. Nos recherches se sont focalisées plus particulièrement sur la mesure de la concentration de glucose en solution aqueuse avec pour contexte applicatif final *la lutte contre le diabète* (le dépistage et le suivi du diabète).

La prévalence du diabète dans la population mondiale croît en effet régulièrement depuis plusieurs années [3] pour atteindre 300 millions de diabétiques en 2025 [4] et amenant l'OMS à parler de pandémie à l'échelle mondiale [5]. Un patient atteint de diabète sucré doit, au quotidien, contrôler sa glycémie (concentration de glucose sanguin) afin de la maintenir dans la fourchette de valeurs dites « normales », qui se situe [6], après un jeûne de huit heures, entre 0.7 et 1.2 g/L pour un individu sain (la valeur dépasse 1.2 g/L pour un individu souffrant de diabète sucré).

Une étude de 1993 [7] a montré qu'un contrôle fréquent de la glycémie (suivi de la régulation éventuellement nécessaire) permet aux patients de mener une vie quasi-normale tout en évitant les complications liées à une telle pathologie. Néanmoins, dans de nombreux cas, des complications surviennent et l'*American Diabetes Association* classe le diabète comme la septième cause de décès aux Etats-Unis.

Le paragraphe suivant répertorie les techniques existantes (techniques de laboratoire et techniques implémentées dans les glucomètres commerciaux) pour le dosage du glucose dans le sang humain. Une synthèse des caractéristiques des lecteurs de glycémie est alors proposée et permet de situer les points de ruptures que doivent apporter de nouvelles technologies, positionnant ainsi le contexte à nos travaux de recherche.

Dans un second paragraphe, un état de l'art des techniques hyperfréquences pour l'analyse de liquides est proposé de façon à dégager les solutions techniques et technologiques les plus aptes à apporter une valeur ajoutée par rapport aux méthodes déjà existantes.

Enfin, un troisième et dernier paragraphe dresse la liste de travaux préliminaires sur des dispositifs hyperfréquences dédiés à la mesure de concentration en glucose, ce qui nous permettra de définir les caractéristiques à optimiser pour en faire des solutions viables pour l'analyse du glucose dans le sang.

C'est sur cet état que furent construits nos travaux de recherche et qu'est articulé notre manuscrit.

II. Techniques usuelles pour le dosage du glucose dans des échantillons de sang

De nombreuses techniques ont été mises au point pour mesurer la concentration en glucose dans des échantillons de sang. Ces techniques peuvent être réparties en deux groupes :

- Les méthodes chimiques

Qui mettent en présence du glucose, un réactif. Les deux composés réagissent selon la cinétique « naturelle ». Un des produits de la réaction est dosé par une méthode chimique, photométriques (détermination de la concentration en glucose par mesure de l'absorbance de la solution à une longueur d'onde donnée) ou ampérométriques (détermination de la concentration en glucose par mesure de micro-courants dus par exemple à un échange d'électrons lors d'une réaction d'oxydoréduction). Une fois la concentration du produit connue, la concentration originale en glucose est déterminée à l'aide de la stœchiométrie de la réaction.

- Les méthodes enzymatiques

Qui fonctionnent sur le même principe que les réactions chimiques à cela près qu'un enzyme est présent en solution et catalyse la réaction entre le glucose et le deuxième réactif. L'enzyme n'est, en général, pas dégradé pendant la réaction. A nouveau, un des produits de la réaction est dosé par une méthode chimique, photométriques ou ampérométriques. Une fois la concentration du produit connue, la concentration originale en glucose est déterminée à l'aide de la stœchiométrie de la réaction.

Ces méthodes de dosage du glucose sont utilisées dans deux contextes différents : les techniques employées en laboratoire (Figure 1 (b)) et les techniques implémentées dans les lecteurs de glycémie portable (Figure 1 (a)).



(a)



(b)

Figure 1: Exemples de systèmes d'analyse du glucose dans le sang (a) portable et (b) de laboratoire

Les lecteurs de glycémie (ou glucomètres) sont de petits appareils portatifs vendus dans le commerce que les patients atteints de diabète conservent avec eux. Ces appareils leur permettent de

contrôler quotidiennement leur glycémie. Une micropiqûre génère une goutte de sang d'environ 1 μL qui est déposée sur une bandelette jetable sur laquelle a lieu la réaction. Selon le modèle de glucomètre, le dosage du glucose est fait par photométrie ou ampérométrie.

Suivant les technologies, les glucomètres présentent des caractéristiques diverses parmi lesquelles:

- La résolution : définit la plus petite variation de glucose détectable. Cette caractéristique est conditionnée à la sensibilité liant le paramètre physique lu par le lecteur à la concentration de glucose.
- La spécificité : cette notion désigne l'aptitude ou non du capteur à réagir à d'autres grandeurs que celle dont on cherche à connaître la valeur. Par exemple, pour les capteurs de glucose traditionnels, on parle de non-spécificité lorsque le capteur réagit à la présence d'autres oses (c'est-à-dire de sucres) en solution. C'est une caractéristique importante des glucomètres car le sang est composé de nombreux constituants dont la concentration peut varier (cf Figure 2).

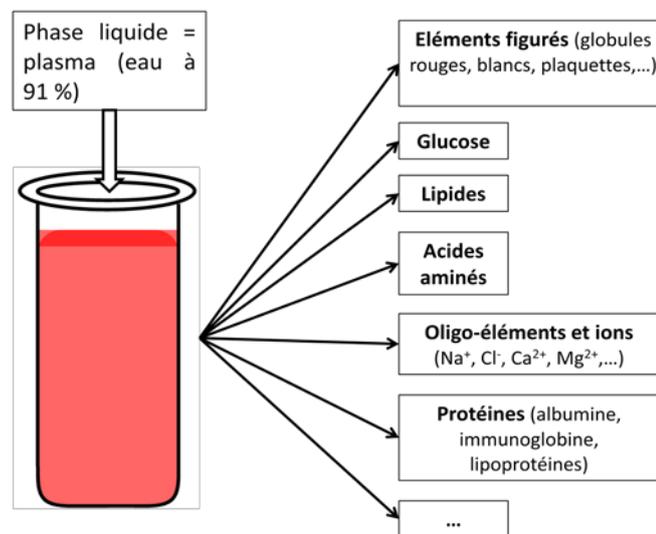


Figure 2: Liste non exhaustive des éléments composants le sang humain.

- L'invasivité pour l'échantillon à analyser : qui définit si l'échantillon de sang à analyser est consommé ou altéré lors de la mesure. C'est une propriété importante car elle autorise ou interdit des analyses en cascade sur un même échantillon.
- L'intégrabilité du système d'analyse. C'est une aptitude indispensable pour un objectif de "laboratoire sur puce".
- La fiabilité de la mesure : qui fait écho à la résolution et qui, avec le prix, va *in fine* définir l'existence ou non d'un segment commercial.

Les deux paragraphes suivants présentent quelques techniques de dosages du glucose utilisées en laboratoire (paragraphe I.1) et implémentées dans les glucomètres commerciaux (paragraphe I.2), permettant ainsi d'établir le contexte à partir duquel la section I.3 positionne nos travaux de recherche.

II.1. Techniques de laboratoire

Ce paragraphe donne quelques exemples de dosage du glucose employés ou ayant été employés en laboratoire.

II.1.a. Dosage par l'ion Cu^{2+} (méthode chimique)

Le glucose est mis en présence de l'ion Cu^{2+} dans une solution tartro-sodique. On provoque alors une réaction d'oxydo-réduction entre le glucose et l'ion Cu^{2+} qui produit, entre autre, un précipité rouge brique d'oxyde de cuivre Cu_2O :



La concentration en glucose est déterminée par dosage de l'oxyde de cuivre Cu_2O selon deux méthodes possibles :

- la méthode de Bertrand qui consiste à réduire l'oxyde de cuivre par un sulfate ferrique. Cette réaction produit un sulfate ferreux dosé par une solution de permanganate de potassium titrée.
- la deuxième méthode consiste à mettre l'oxyde de cuivre en présence de phosphomolybdate. La réaction produit du bleu de molybdène qui est ensuite dosé par photométrie à la longueur d'onde $\lambda=660$ nm. On détermine ainsi la concentration du bleu de molybdène. Connaissant la stœchiométrie des deux réactions chimiques mises en jeu, on peut déterminer la concentration en glucose.

Cette méthode n'est cependant plus utilisée dans le domaine biomédical car non-spécifique. En effet, en tant qu'oxydant, l'ion Cu^{2+} peut réagir avec tous les réducteurs présents dans un échantillon de sang.

II.1.b. Dosage par la O. toluidine (méthode chimique)

En milieu acétique concentré, le glucose est déshydraté en 5-hydroxy-méthyl-furfural qui, en présence de toluidine, donne un produit de couleur bleu-vert. Un dosage photométrique à la longueur d'onde $\lambda=630$ nm permet de déterminer la concentration de ce dernier produit, et donc de celle du glucose.

Le dosage du glucose à la o. toluidine est une méthode simple, fiable et peu coûteuse. Cependant, on n'y a peu recours en pratique car elle est nécessite l'utilisation de :

- Solutions d'acide acétique, milieu fortement corrosif,
- O. toluidine, produit classé dans le groupe des composés Cancérigènes, Mutagènes et Reprotoxiques (CMR).

II.1.c. Hexokinase / glucose-6-phosphate déshydrogénase (méthode enzymatique)

Cette méthode, basée sur l'action conjuguée de l'enzyme hexokinase et de la coenzyme glucose-6-phosphate déshydrogénase, constitue la technique de référence en laboratoire pour la mesure de la concentration en glucose sur des échantillons de sang [8], [9].

L'hexokinase catalyse une première réaction qui transforme le glucose en glucose-6-phosphate ; un deuxième enzyme catalyse une seconde réaction qui transforme le glucose-6-phosphate en 6-phosphogluconolactone, un composé coloré dosé par photométrie à la longueur d'onde $\lambda=340$ nm.

La précision et la fiabilité d'une telle technique de dosage font aujourd'hui autorité pour la détermination de la concentration en glucose dans les échantillons de sang.

II.2. Techniques implémentées dans les glucomètres

Les lecteurs de glycémie fonctionnent tous, exclusivement, sur des méthodes enzymatiques. Un vocabulaire spécifique est employé pour décrire les différentes techniques enzymatiques implémentées pour chaque modèle de glucomètre.

En effet, la réaction sous-jacente est toujours une réaction d'oxydoréduction. Le glucose (réducteur) est mis en présence d'un oxydant, désigné par le terme « médiateur ». Un enzyme (auquel sont parfois adjoints un coenzyme et un enzyme supplémentaire) catalyse(nt) cette réaction d'oxydoréduction. La forme réduite du médiateur diffuse dans la bandelette jetable du dispositif (par capillarité par exemple) vers un indicateur où une nouvelle réaction d'oxydoréduction a lieu, permettant de régénérer la forme oxydante du médiateur.

L'indicateur peut être un composé chimique qui réagit avec la forme réduite du médiateur. Dans ce cas, la réaction de l'indicateur avec la forme réduite du médiateur produit un composé coloré qui est ensuite dosé par photométrie (mesure d'absorbance) à une longueur d'onde donnée. L'indicateur peut également être une électrode métallique. L'échange d'électrons lié à la réaction d'oxydoréduction, qui a lieu entre le médiateur réduit et l'électrode, crée un courant dont l'intensité permet de connaître la concentration originelle en glucose.

La Figure 3 synthétise le principe du dosage du glucose par méthode enzymatique.

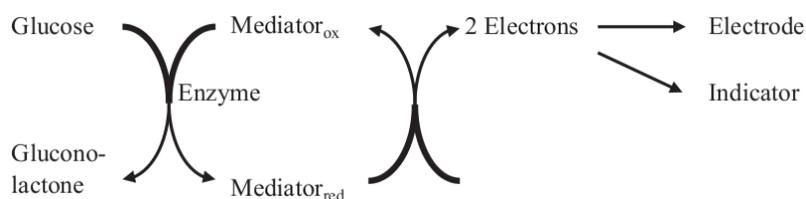


Figure 3 : Représentation synthétique des réactions enzymatiques à la base de la mesure de la concentration en glucose en solution et/ou dans le sang.

Le Tableau 1 dresse une liste (non exhaustive) des principales réactions enzymatiques exploitées dans les lecteurs de glycémie commerciaux [8].

Tableau 1 : Liste de quelques techniques enzymatiques mises au point pour la détermination de la concentration en glucose sur des échantillons de sang. Les 5 premières colonnes donnent les enzymes, médiateurs et indicateurs en jeu pour chaque technique. A noter qu'il s'agit de techniques exploitées dans des glucomètres commerciaux. La dernière colonne donne donc les modèles de lecteurs de glycémie utilisant les techniques présentées ici.

<i>Enzyme</i>	<i>Coenzyme</i>	<i>Additional enzyme</i>	<i>Mediator system</i>	<i>Indicator</i>	<i>Product examples</i>
GOD	FAD	POD	Air oxygen/hydrogen peroxide	Leuco dye	Chemstrip bG, One Touch
GOD	FAD	None	Hexacyanoferrate III/hexacyanoferrate II	Palladium electrode	Accu-Chek Advantage
GOD	FAD	None	Hexacyanoferrate III/Hexacyanoferrate II	Carbon electrode	One Touch Ultra
GDH (GlucDOR)	PQQ	None	Hexacyanoferrate III/hexacyanoferrate II	Palladium electrode	Accu-Chek Advantage (Comfort Curve strip)
GDH (GlucDOR)	PQQ	None	Quinoneimine/phenylendiamine	Phosphomolybdic acid	Accu-Chek Active, Accu-Chek Compact, Accu-Chek Go
GDH (GlucDOR)	PQQ	None	Quinoneimine/phenylendiamine	Gold electrode	Accu-Chek Aviva
GDH (GlucDOR)	PQQ	None	Osmium	Electrode	FreeStyle
GDH	NAD	None	Phenanthroline quinone	Electrode	Precision Xtra
GDH	FAD	None	Hexacyanoferrate III/hexacyanoferrate II	Palladium electrode	Ascensia Microfill

This is not a complete overview. Other combinations have been used and will be used in the future. Glucose oxidase (GOD) was used first. Glucose dehydrogenase (GDH)/flavin adenine dinucleotide (FAD) is the enzyme most recently introduced. GlucDOR, glucose dye oxidoreductase; NAD, nicotinamide adenine dinucleotide; POD, peroxidase/ PQQ, pyrrolo quinoline quinone.

Accu-Chek is a trademark of Roche Diagnostics, Ascensia Microfill of Bayer Healthcare, Chemstrip bG of Boehringer Mannheim, Freestyle and Precision Xtra of Abbott Diabetes Care, and One Touch of LifeScan.

II.3 Positionnement de nos travaux de recherche

Nos travaux de recherche visent à exploiter/explorer l'utilisation du principe d'interaction des ondes électromagnétiques hyperfréquences avec des fluides pour quantifier la concentration de glucose en solution aqueuse. Nous ne nous positionnons pas en concurrence et/ou en remplacement des techniques de mesure employées en laboratoire dont la fiabilité et la précision font aujourd'hui autorité. A titre d'indication, les techniques enzymatiques sont capables de détecter des variations de la concentration en glucose de l'ordre de 20 mg/L pour des solutions dont la concentration en glucose ne dépasse pas le gramme par litre.

En revanche, la technique hyperfréquence-fluidique que nous proposons présente un avantage crucial par rapport aux techniques classiques : elle ne dégrade pas les échantillons fluidiques. En effet, l'analyse de liquides repose sur une interaction onde/matière et ne requiert donc aucun enzyme, aucun réactif, aucun biomarqueur. Chaque échantillon peut alors être mesuré plusieurs fois, pour faire de la redondance, de l'analyse en temps réel [10],... Cette caractéristique, associée à d'autres paramètres comme la dimension des structures (longueur caractéristique de l'ordre du millimètre pour les plus compactes), le volume de fluide nécessaire (de l'ordre du nanolitre au microlitre), la rapidité des mesures hyperfréquences (de l'ordre de quelques secondes à quelques dizaines de secondes), font des techniques hyperfréquences des candidats pertinents pour le développement d'applications de type « laboratoire sur puce ». Comme l'affirment Hönes *et al.* [8] à propos des technologies émergentes pour l'analyse sur les liquides biologiques, les capteurs hyperfréquences n'apparaissent pas comme concurrents des techniques existantes pour la mesure

de concentration en glucose, mais plutôt comme des techniques complémentaires, intéressantes notamment pour la richesse d'informations qu'elles peuvent apporter.

Le Tableau 2 compare les caractéristiques essentielles des lecteurs de glycémie et des techniques d'analyse hyperfréquence sur les liquides. Parmi ces caractéristiques, on retrouve notamment la résolution (liée à la sensibilité), la spécificité et le caractère destructif ou non de la technique d'analyse.

Tableau 2 : Quelques caractéristiques comparées des glucomètres commerciaux et des techniques hyperfréquences pour l'analyse sur les liquides.

	Résolution sur [glucose] (g/L)	Volume des échantillons liquides	Rapidité de la mesure	Spécificité	Impact sur les échantillons
Glucomètres	0.02 à 0.03 g/L	1 µl	Quelques secondes	Bonne (sauf à certains oses)	Destructifs
Techniques hyperfréquences	A EVALUER & OPTIMISER	du nL à plusieurs cL	Quelques secondes	Non spécifique a priori A EVALUER & OPTIMISER	Non destructifs

Ce tableau montre que lecteurs de glycémie et techniques hyperfréquences ont pour points communs les volumes d'échantillons liquides nécessaires pour mener une analyse sur une solution ainsi que le temps nécessaire pour la caractérisation.

En revanche, une première différence notable concerne la spécificité. Les glucomètres ont été développés de façon à ce que le transducteur soit spécifique au glucose. En effet, seul le glucose réagit avec le médiateur utilisé dans le dispositif. La mesure est alors fidèle à la concentration en solution de cet ose. Pour la plupart des lecteurs de glycémie commerciaux, on note une non-spécificité seulement pour quelques autres types d'oses. Par exemple :

- Les glucomètres basés sur l'enzyme GOD sont sensibles au mannose ;
- Les dispositifs basés sur le couple d'enzymes GDH + NAD sont sensibles au xylose ;
- Et ceux basés sur le couple d'enzymes GDH + FAD sont sensibles au maltose, au mannose, au lactose et au galactose.

Ces oses ne sont pas présents dans le sang d'individus sains ou atteints par le diabète. Par contre, il existe certains traitements médicaux qui font apparaître un ou plusieurs de ces oses dans le sang. Dans ce genre de cas particuliers, les lecteurs de glycémie sont à employer avec prudence car la mesure de glycémie peut conduire à un faux-positif dû à la présence d'une de ces espèces.

Les techniques hyperfréquences sont elles aussi non-spécifiques car sensibles à la présence de très nombreux composés présents dans le sang humain. Nous présenterons en fin de chapitre III une piste permettant l'amélioration de la non-spécificité de la technique proposée. Le chapitre IV tirera quant à lui profit de cet inconvénient permettant ainsi d'enrichir les informations issues d'une mesure hyperfréquence.

La deuxième différence notable distinguant glucomètres et techniques hyperfréquences concerne l'impact de la mesure sur l'échantillon. Comme nous l'avons déjà mentionné, les méthodes classiques de détermination de la concentration en glucose reposent sur des techniques chimiques ou enzymatiques. Elles sont donc destructrices pour l'échantillon sous test puisqu'elles mettent le

glucose en présence d'un composé qui réagit avec lui. Ensuite, c'est un des produits de la réaction qui est effectivement dosé. La concentration originale en glucose est calculée connaissant la stœchiométrie de la réaction chimique en jeu.

Les techniques hyperfréquences reposent, quant à elle, sur une interaction onde/matière. Elles possèdent donc l'avantage de laisser intacts les échantillons de liquide sous test (sous réserve d'opérer à basse puissance) permettant ainsi d'envisager des caractérisations en cascade (glucose, lactate, ...) avec un même échantillon.

Ces caractéristiques des techniques hyperfréquences en font des candidates potentiellement intéressantes et complémentaires aux solutions usuelles pour l'analyse de solutions et la mesure de concentration en biomolécules comme le glucose. Les techniques hyperfréquences peuvent ainsi être développées dans une optique « laboratoire sur puce », mettant ainsi à profit :

- la non-destructivité pour opérer des analyses redondantes ou des suivis en temps réel d'échantillons de solutions ;
- l'intégrabilité de la technologie hyperfréquence/fluidique.

Cependant, pour faire migrer ces caractéristiques des techniques hyperfréquences d'avantages potentiels à avantages réels, les dispositifs et capteurs hyperfréquences doivent maintenant faire preuve de leur sensibilité et de leur fiabilité.

Sur la question de la sensibilité, notons que l'eau, et par conséquent les solutions aqueuses, montrent une forte réactivité au champ électromagnétique dans le domaine hyperfréquence, et en particulier entre 10 et 30 GHz. D'un point de vue quantitatif, ce phénomène se traduit par un maximum d'absorption des ondes électromagnétiques dans cette bande de fréquence [11, 12]. Cette propriété justifie l'intérêt des systèmes hyperfréquences pour mener des analyses et caractérisations de liquides.

Le paragraphe suivant dresse un état de l'art des techniques exploitant les ondes électromagnétiques hyperfréquences pour de l'analyse fluidique ou biologique. La section III se focalisera quant à elle sur les biocapteurs hyperfréquences-fluidiques spécifiquement développés pour l'analyse du glucose en solution aqueuse. Nous dégagerons de ces deux paragraphes :

- les points de ruptures des biocapteurs hyperfréquences-fluidiques par rapport aux technologies usuelles (présentées précédemment),
- les différents arguments tirés de la bibliographie et nous permettant d'orienter nos choix techniques et technologiques,
- les caractéristiques des solutions hyperfréquences-fluidiques à optimiser pour en faire des solutions viables pour l'analyse du glucose dans le sang.

III. Techniques hyperfréquences pour la caractérisation de liquides

La conception de circuits et dispositifs radio et hyperfréquences nécessitent la connaissance des propriétés intrinsèques des matériaux, comme la permittivité complexe ϵ^* pour les isolants (ou diélectriques) et semi-conducteurs. En corollaire, des techniques de mesure et détermination de la valeur de ce paramètre, dans la gamme radio et hyperfréquence, ont donc été mis au point. Une erreur sur la détermination de la valeur exacte de la permittivité conduit à des imprécisions et défauts de conception des dispositifs hyperfréquences. La précision des techniques de mesure est donc une caractéristique primordiale.

Originellement développés pour caractériser des matériaux solides servant à la conception de substrats ou de résonateurs diélectriques, les techniques de mesures des propriétés diélectriques de matériaux ont été étendues à la caractérisation de liquides, dans un premier temps pour permettre la modélisation de ces matériaux [13] nécessaire aux simulations de dosimétrie [14, 15], et plus récemment pour le développement de biocapteurs hyperfréquences fluidiques. Ce sont ces différentes techniques que nous présentons dans la suite de ce paragraphe et que nous avons classées en trois catégories :

- les techniques réflectométriques,
- les techniques en transmission,
- les techniques résonantes.

III.1 Techniques de mesure en réflexion

III.1.a Câble coaxial

Les sondes coaxiales sont très largement utilisées pour l'analyse non-invasive de liquides. Cette popularité est due à la simplicité de mise en œuvre de tels dispositifs ainsi qu'à l'existence de solutions commerciales *clefs-en-main*.

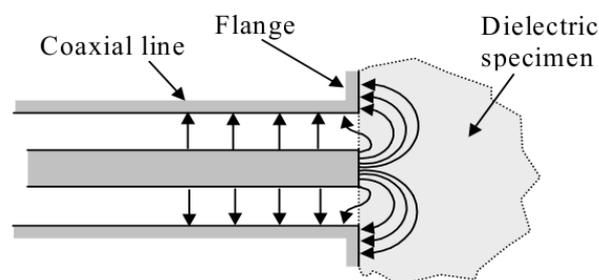


Figure 4 : Lignes de champ électrique se propageant dans un câble coaxial. Représentation des effets de bord à l'extrémité du câble (lignes de champ électrique pénétrant dans le matériau placé en bout de câble).

Ces sondes coaxiales fonctionnent sur le principe suivant : Une onde TEM se propage dans le câble. Elle est réfléchiée à l'extrémité du coaxial (laissée en circuit ouvert) où les lignes de champ

électrique pénètrent dans le matériau présent à l'extrémité du câble (effets de bord). Le coefficient de réflexion Γ dépend donc, entre autres, de la permittivité complexe ε^* dudit matériau. La mesure de la permittivité est faite à partir cette relation.

Pour la caractérisation diélectrique de fluides, une modification de la géométrie de l'extrémité du câble coaxial a été apportée afin de rendre la position du fluide reproductible. Comme le montre la Figure 5, le conducteur extérieur est prolongé de façon à former une sorte de contenant pour les solutions sous test. Une rondelle diélectrique vient obstruer la sortie du coaxial de façon à ce que le liquide ne pénètre pas entre l'âme et le conducteur extérieur du câble coaxial. Ainsi, le liquide est toujours positionné au niveau du plan de calibration et le même volume liquide est soumis au champ électrique. Un prolongement du conducteur intérieur (Figure 5 (b)) permet d'augmenter la valeur de la capacité terminale.

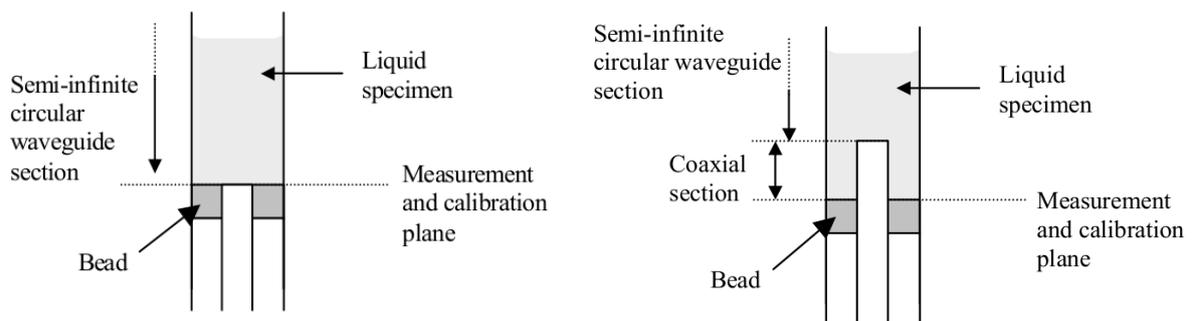


Figure 5 : Variantes des sondes coplanaires en réflexion pour la caractérisation diélectrique de liquides.

Ces techniques ont notamment été utilisées (et en particulier les dispositifs présentés sur la Figure 5) par le National Physics Laboratory (Londres) pour mener des campagnes de caractérisation diélectrique de liquides de référence [16].

Ces sondes coaxiales en réflexion ont de plus été utilisées pour la caractérisation de liquides (solutions de chlorure de sodium, de propan-1-ol, de glycerol,...) et de tissus biologiques dès la fin des années 80 par T.P. Marsland et al. [17]. Les caractérisations menées dans la bande [50 MHz ; 2.6 GHz] ont montré des niveaux d'erreur relative inférieurs à 10 %.

Cependant, malgré les avantages indéniables d'une telle technique de caractérisation (rapidité de mise-en-œuvre ; existence de solutions *clefs-en-main* ; caractérisation large bande), les sondes coaxiales souffrent d'un niveau d'incertitude sur la mesure de la permittivité complexe globalement plus élevé que la plupart des autres techniques décrites dans ce chapitre [16]. En outre, les procédures de calibrage peuvent s'avérer délicates et chronophages. Enfin, la caractérisation diélectrique par sonde coaxiale est une technique clairement incompatible avec une vision « laboratoire sur puce ».

III.1.b Guide d'onde volumique

Une alternative moins courante aux sondes coaxiales consiste en l'utilisation de guide d'onde volumique (guide rectangulaire, par exemple).

R. Jazicek et al. [18] ont par exemple mis au point un banc de mesure pour la caractérisation diélectrique de liquides et de tissus humains à partir d'un guide d'onde rectangulaire utilisé en réflexion. La Figure 6 (a) montre une représentation du dispositif de mesure avec l'analyseur de réseau vectoriel, le câble coaxial, le guide d'onde rectangulaire et le matériau sous test placé à l'extrémité ouverte du guide d'onde. La Figure 6 (b) décrit le principe de mesure avec le guide d'onde rectangulaire et le système d'excitation du champ électromagnétique et, à l'autre extrémité, la réactance et la conductance équivalentes du matériau sous test, perturbant la réflexion au niveau de la sortie en circuit ouvert du guide d'onde.

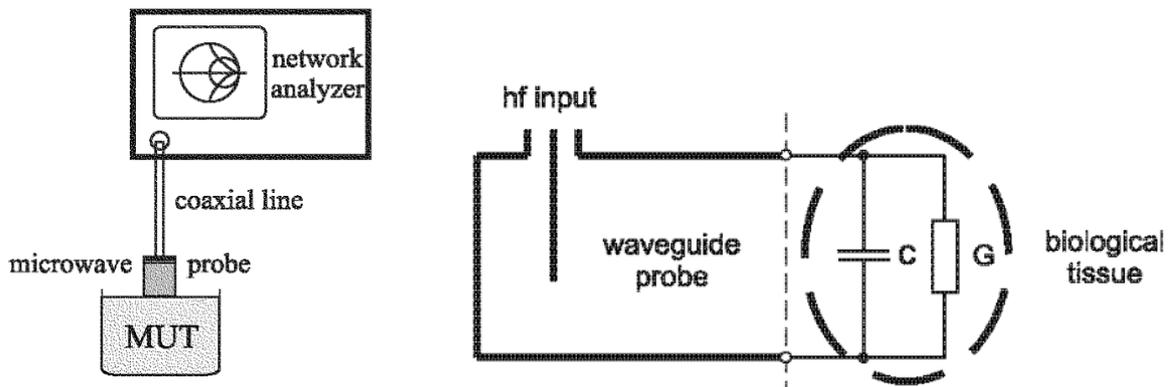


Figure 6 : Présentation du montage expérimental pour la caractérisation de liquides par un guide d'onde rectangulaire utilisé en réflexion. Illustration du principe de mesure : le liquide placé à l'extrémité du guide d'onde volumique modifie la réactance et la conductance terminales.

Les guides d'onde volumiques sont cependant moins utilisés que les lignes coaxiales car ils sont plus limités en largeur de bande fréquentielle et plus volumineux (ce qui requiert des volumes de fluides sous test plus importants).

III.2 Techniques de mesure en transmission

III.2.a Câble coaxial

Une seconde méthode existe pour caractériser des liquides à l'aide de sondes coaxiales. L'idée est, ici, d'opérer en transmission en plaçant le liquide sous test à la place du matériau diélectrique séparant les conducteurs intérieur et extérieur de la ligne coaxiale.

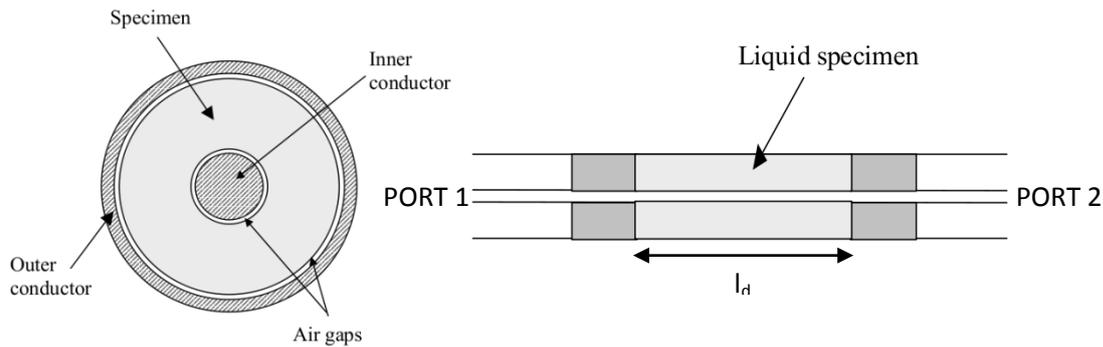


Figure 7 : Illustration du câble coaxial mesuré en transmission pour la caractérisation de liquides. Le diélectrique séparant les conducteurs intérieur et extérieur est remplacé, sur une section de longueur l_d , par le liquide à caractériser.

Le principe de mesure repose simplement sur la caractérisation en transmission d'un câble coaxial dont le diélectrique a été remplacé par le matériau sous test sur une section de longueur l_d .

Les méthodes en transmission ont été mises au point car réputées plus précises que les méthodes par sondes coaxiales utilisées en réflexion, notamment dans la gamme fréquentielle radiofréquence supérieure et hyperfréquence (typiquement $f > 500$ MHz) [16], [19]. Ainsi, Toropaine et al. [19] ont développés une technique de caractérisation de liquides aux propriétés diélectriques proches de certains tissus humains. La Figure 8 montre une représentation du dispositif expérimental avec l'analyseur de réseau vectoriel, la sonde de température et le câble coaxial dont le diélectrique est formé par le liquide sous test.

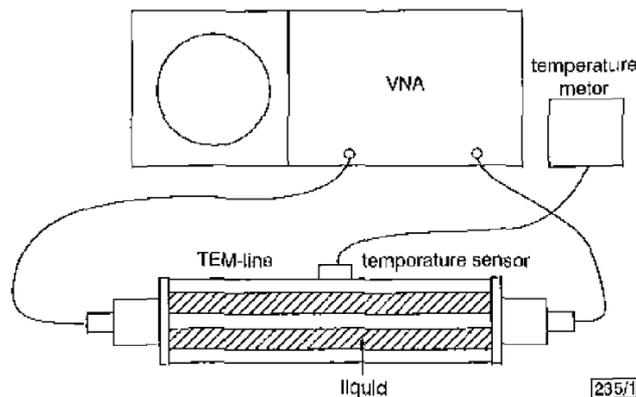


Figure 8 : Illustration du dispositif expérimental mis au point par Toropaine et al. [19] pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides par sonde coaxial en transmission.

Les sondes coaxiales en transmission possèdent néanmoins un inconvénient essentiel par rapport aux sondes coaxiales en réflexion : leur mise en œuvre n'est pas aussi aisée puisqu'elles nécessitent la mise en œuvre de câbles coaxiaux pour lesquels l'espace entre conducteurs intérieur et extérieur doit être rempli/vidé du liquide sous test. En outre, tout comme les sondes coaxiales en réflexion, les sondes coaxiales utilisées en transmission ne sont pas intégrables sur puce.

III.2.b Guide d'onde volumique

Les câbles coaxiaux ne sont pas les seuls guides d'onde utilisés en transmission pour faire de la caractérisation diélectrique.

Citons, par exemple, H. Esteban et al. [20] qui ont mis au point un guide d'onde rectangulaire traversé perpendiculairement par un tube rempli du liquide sous test. Une méthode de caractérisation du dispositif et de traitement numérique des données de mesures a permis d'atteindre un niveau de précision satisfaisant pour la détermination de la permittivité complexe des liquides présents dans le tube. La Figure 9 présente une vue du guide rectangulaire et du cylindre placé dans le guide.

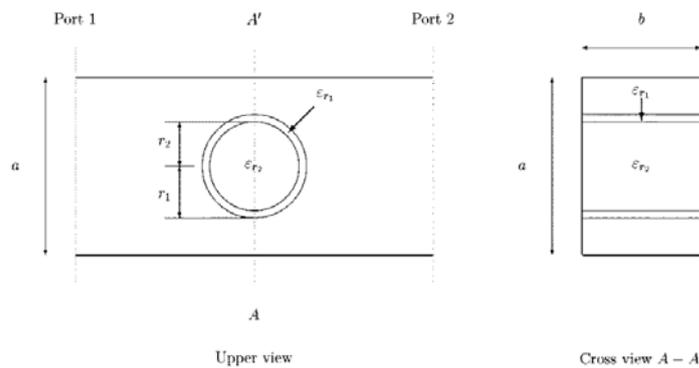


Figure 9 : Illustration du dispositif expérimental mis au point par Esteban et al. [20] pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides à l'aide d'un guide d'onde rectangulaire mesuré en transmission.

Les guides d'onde volumiques possèdent néanmoins des limitations : l'existence de différents modes de propagation restreint leur utilisation à des bandes de fréquence étroites (par exemple, la caractérisation diélectrique proposée par [20] est faite dans la bande [2 ; 3] GHz). De plus, ces dispositifs sont assez encombrants et nécessitent, par conséquent, des volumes de liquide assez importants (quelques millilitres).

Enfin, les guides d'onde volumiques restent des dispositifs encombrants, et donc incompatibles avec des applications de type « laboratoire-sur-puce ».

III.2.c Guide d'onde miniature

Historiquement, les guides d'onde planaires miniatures ont permis de mesurer la permittivité complexe de matériaux qui se présentaient sous forme de « film mince » et destinés à être utilisés comme diélectriques. Cependant, la convergence des techniques de microfabrication hyperfréquence et microfluidiques ont permis de voir l'apparition de microsystèmes intégrant ces deux domaines [21 - 25]. L'utilisation des guides miniatures pour la caractérisation diélectrique a donc pu s'étendre aux liquides.

La Figure 10 (a) montre une ligne coplanaire en perspective cavalière et, en (b), les lignes de champ électrique et magnétique se propageant dans une telle structure. Cette figure montre qu'en plaçant un échantillon fluide sur la face supérieure de la ligne ou dans le volume du diélectrique

(la solution la plus simple techniquement étant la première), la propagation du champ électromagnétique sera perturbée par la présence de l'échantillon fluide, aux propriétés diélectriques différentes de celles de l'air ou du substrat.

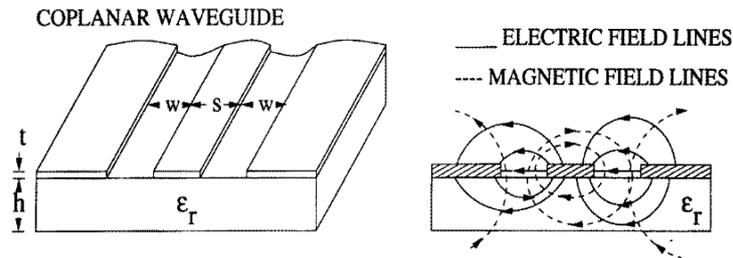


Figure 10 : Perspective cavalière d'un guide d'onde coplanaire miniature. Lignes de champ électrique et magnétique se propageant dans la ligne coplanaire.

S.S. Stuchly et al. [21] ont ainsi montré la possibilité de mesurer la permittivité complexe de liquides à l'aide de sondes miniatures, comme celle présentée sur la Figure 11. On y distingue la ligne coplanaire, dont les deux accès sont connectés aux deux ports de l'analyseur de réseau vectoriel. Une micropiscine est placée sur la face supérieure de la ligne. Le liquide sous test est injecté dans la micropiscine et vient noyer les conducteurs métalliques ainsi que les gaps entre les conducteurs.

Des liquides aux propriétés diélectriques connues (eau déionisée, méthanol et éthanol) ont été caractérisés dans la bande [500 MHz ; 3 GHz] à l'aide de ce type de dispositifs.

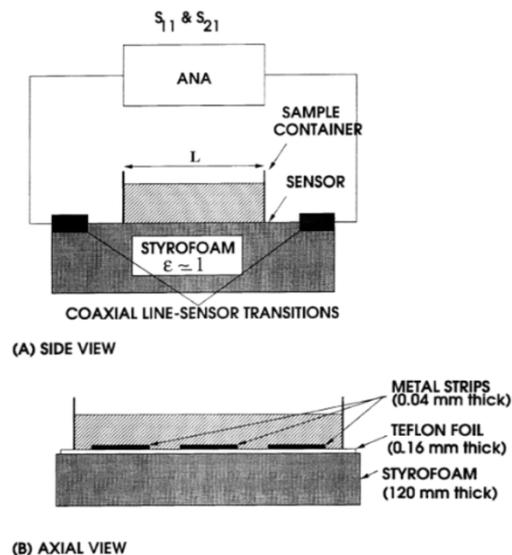


Figure 11 : Dispositif mis au point par S.S. Stuchly et al. [21] pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides sur des lignes coplanaire.

Le dispositif proposé par la Figure 11 n'est pas encore ce qu'on pourrait appeler une structure intégrable, ou compatible avec l'approche « laboratoire-sur-puce », puisque la ligne mesure

30 cm de long. Il montre cependant que l'analyse de liquides peut être faite à l'aide de guide d'onde coplanaire avec des niveaux de précisions équivalents aux guides volumiques.

Etant donnés les avantages inhérents aux guides miniatures pour la caractérisation diélectrique sur des liquides, d'autres dispositifs et techniques de mesure ont été proposés.

Mentionnons par exemple J. Roelvink et al. [22] qui ont proposé une méthode de caractérisation diélectrique de liquides à l'aide de guides coplanaires par la méthode des lignes multiples [26]. Le dispositif est représenté symboliquement sur la Figure 12 (a), et la Figure 12 (b) montre deux photographies du prototype fabriqué par l'équipe. Deux piscines microfluidiques de longueur différente sont placées sur la face supérieure de deux lignes coplanaires. La technique des lignes multiples permet de déterminer la constante de propagation et donc la permittivité complexe du fluide présent dans les micropiscines.

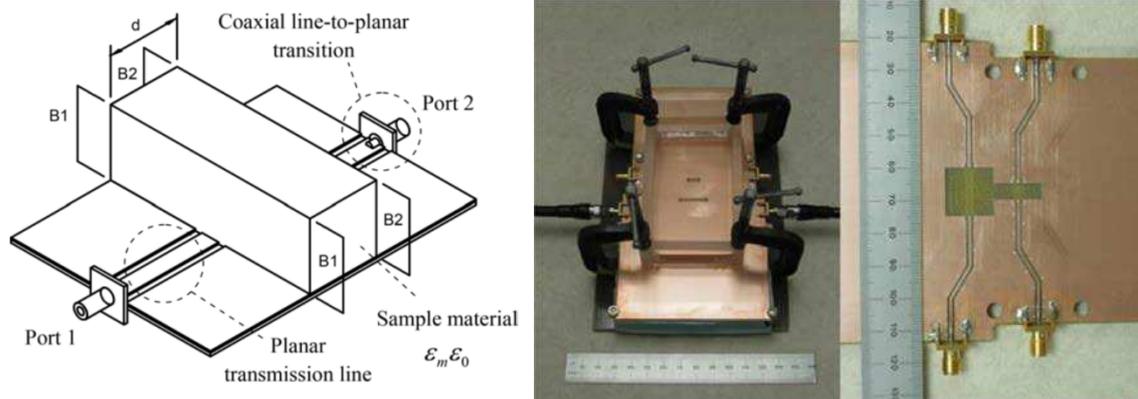


Figure 12 : Dispositif proposé par Roelvink et al.[22] pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides par la méthode des lignes multiples.

J. Roelvink et al ont caractérisé des mélanges eau/éthanol de différentes fractions volumiques en éthanol et ont montré que les résultats étaient équivalents, en termes de précision, que ceux obtenus par une ligne coaxiale en transmission.

G.R. Facer et al. [23] ont développé un dispositif similaire basé sur une ligne coplanaire. Une piscine microfluidique dont les parois ont été fabriquées en PolyDiMéthylSiloxane (PDMS – un polymère) est placée sur la face supérieure du guide coplanaire et destinée à contenir les échantillons liquides sous test. La Figure 13 montre une vue symbolique du dispositif.

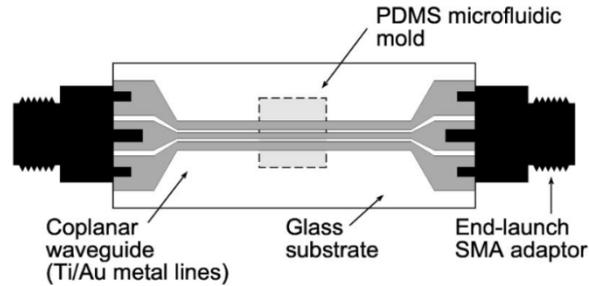


Figure 13 : Dispositif proposé par G.R. Facer et al. [23] pour l'analyseur hyperfréquence sur des liquides et basé sur une ligne coplanaire munie d'une piscine microfluidique.

Des analyses dans la bande [40 Hz ; 26.5 GHz] ont été menées sur des échantillons biologiques (hémoglobine ; suspension de bactéries *E. coli*) et montrent la possibilité de caractériser des échantillons biologiques à l'aide de structures hyperfréquences microfluidiques miniatures.

Enfin, dernier exemple de guide d'onde miniature développé pour mener des analyses sur des échantillons fluidiques, nous citons ici les travaux de T. Chen et al. [27], un ancien doctorant de l'équipe MH2F du LAAS-CNRS. Le dispositif, présenté sur la Figure 14, est constitué d'un guide d'onde coplanaire et d'une capacité inter-digitée en série. Un canal microfluidique en polymère permet de guider le fluide sous test sur la capacité inter-digitée, là où le champ électrique est le plus intense. La Figure 14 montre un exemple d'un tel dispositif, fabriqué en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS.

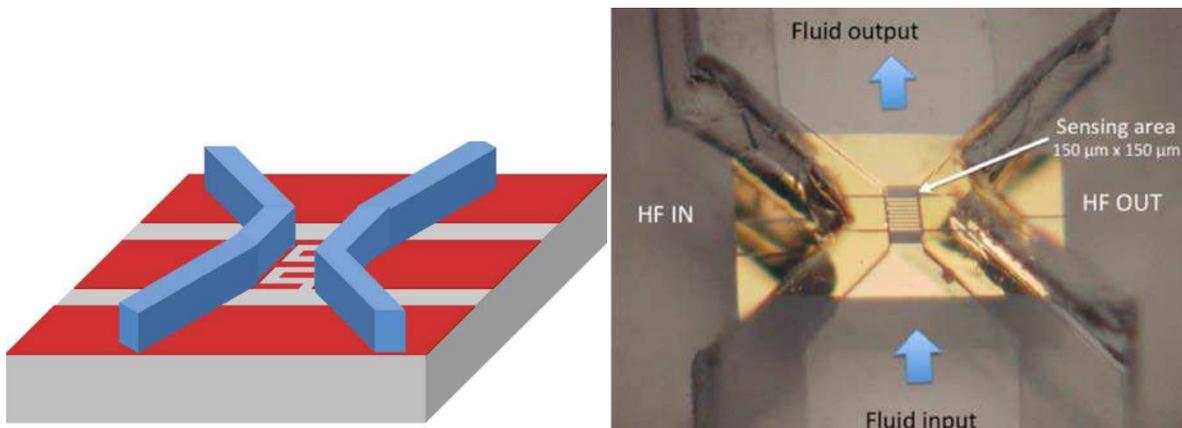


Figure 14 : Exemple de ligne coplanaire et de canaux microfluidiques développés par l'équipe MH2F pour l'analyse hyperfréquence de liquides biologiques.

Les mesures ont montré les capacités d'un tel dispositif pour discriminer de faibles concentrations en éthanol (jusqu'à 110 ppm) dans des mélanges eau/éthanol, ainsi que de faibles concentrations en sérum de veau fœtal (5 % en volume) en solution aqueuse. Des caractérisations ont été entreprises sur des lignées de cellules de lymphomes B (cellules cancéreuses du système lymphatique) en suspension dans leur milieu de vie et ont montré que la réponse du dispositif était

proportionnelle à la concentration en lymphomes en solution (tendance valable pour les « faibles » concentrations). De tels résultats démontrent les capacités des dispositifs hyperfréquences microfluidiques miniatures pour mener des analyses biomoléculaires et cellulaires de solutions biologiques.

III.3 Dispositifs résonants

Globalement, les structures hyperfréquences résonantes sont réputées plus sensibles que les dispositifs large bande pour la caractérisation diélectrique de matériaux en général, et pour la caractérisation de liquides en particulier. La contrepartie à la sensibilité tient au fait que les dispositifs résonants ne peuvent déterminer la permittivité complexe du matériau sous test qu'à la fréquence de résonance de la structure (ainsi qu'aux éventuelles fréquences harmoniques) ; contrairement aux guides d'onde qui permettent de caractériser les matériaux dans une bande de fréquence complète. Les paragraphes suivants décrivent les principaux dispositifs résonants utilisés pour la caractérisation hyperfréquences de liquides.

III.3.a Cavité résonantes (modes Transverse Electrique - TE - et Transverse Magnétique - TM)

Les cavités résonantes sont constituées de cylindres aux parois métalliques permettant de confiner le champ électromagnétique à l'intérieur du volume de la cavité. Deux accès placés sur le flanc du cylindre permettent d'exciter le champ électromagnétique dans la structure. Différents modes peuvent exister dans une cavité résonante : modes TM_{0n0} (n est un entier), modes TE,...

La Figure 15 montre un exemple de cavité résonante dans laquelle se propage un mode TM_{010} .

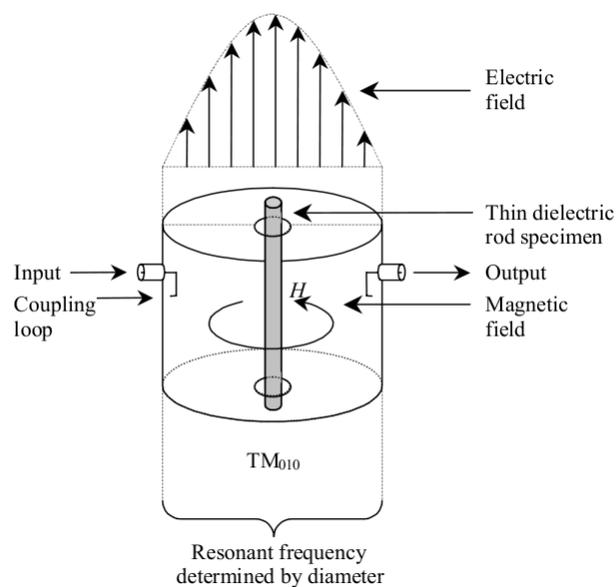


Figure 15 : Cavité résonante dans laquelle se propage un mode transverse magnétique TM_{010} pour l'analyse hyperfréquence de liquides. L'échantillon de fluide sous test est placé dans un tube au centre de la cavité.

Les liquides sous test sont, en général, placés dans un logement au centre du cylindre. La méthode des perturbations demeure l'outil théorique le plus fréquemment utilisé avec ce type de structures pour la caractérisation diélectrique. La précision de mesure est alors relativement bonne.

H. Kawabata et al. [28] ont proposé une cavité résonante dans laquelle est excité le mode TM_{010} . La permittivité complexe de mélanges eau/éthanol à différentes fractions volumiques en éthanol ainsi que la permittivité complexe d'échantillons de lait à différentes concentrations en lipide ont été mesurées sur le dispositif à partir de la méthode des perturbations améliorée de l'algorithme de correction d'erreur de Ritz-Galerkin. La Figure 16 (a) montre une représentation symbolique de la cavité résonante ; la Figure 16 (b) est une photographie du dispositif expérimental.

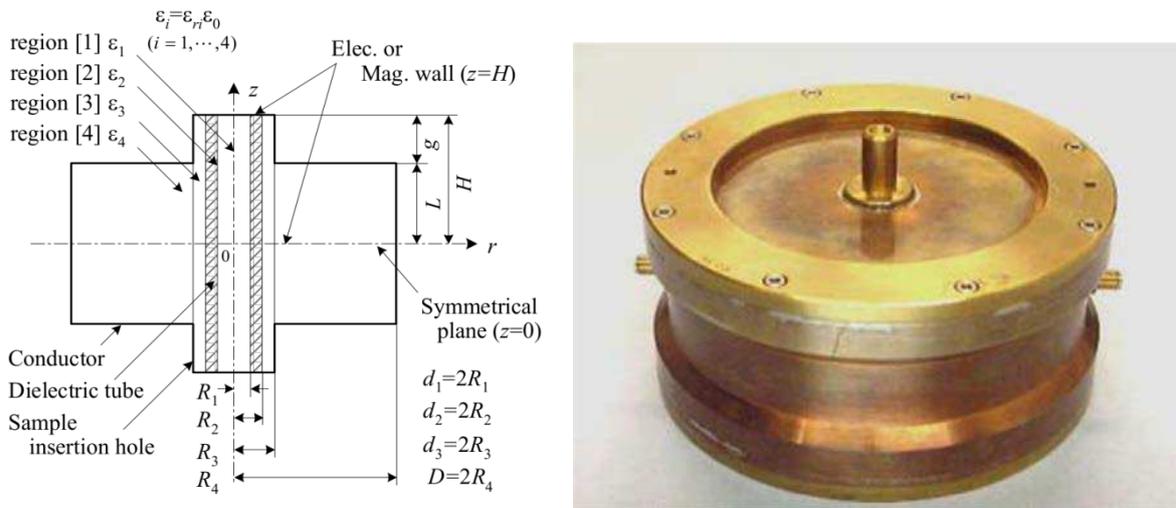


Figure 16 : Exemple de cavité résonante développée par H. Kawabata et al. [28] pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides. Les échantillons fluidiques sous test sont placés dans un tube au centre de la cavité résonante.

Si la précision de mesure reste satisfaisante avec de tels dispositifs hyperfréquences, leur encombrement en fait des dispositifs non compatibles avec une vision « laboratoire sur puce ».

III.3.b Résonateurs diélectriques

Les résonateurs diélectriques constituent la deuxième grande famille de structures hyperfréquences résonantes utilisées pour la caractérisation diélectrique et l'analyse, en règle générale, de liquides. Tout comme les cavités résonantes présentées au paragraphe précédent, les résonateurs diélectriques sont caractérisés par des valeurs de facteur de qualité très élevées (de quelques centaines à quelques milliers), rendant la détermination de la fréquence de résonance bien plus précise que dans le cas de résonateurs implémentés dans des guides miniatures (dont les facteurs de qualité valent de quelques unités à quelques dizaines).

Il existe principalement deux façons d'exciter les champs électromagnétiques dans un résonateur diélectrique :

- la première consiste à exciter les modes $TE_{01\delta}$ se propageant dans le diélectrique,

- la deuxième consiste à exciter les modes de galeries (« whispering-gallery modes ») intervenant généralement à plus haute fréquence.

Notons que dans le cas des modes $TE_{01\delta}$, le résonateur diélectrique doit être placé dans une cellule aux parois métalliques de façon à ce que le facteur de qualité du résonateur ne soit pas dégradé par les pertes radiatives. Il existe deux types de cellules pour confiner un résonateur diélectrique :

- La cellule de Hakki-Coleman (ou cellule à plans parallèles), Figure 17 (a). Dans cette configuration, le résonateur diélectrique est placé entre deux plans métalliques parallèles et séparés d'une distance inférieure à $\lambda/2$. L'excitation des modes est assurée par couplage capacitif. La cellule de Hakki-Coleman a l'avantage d'offrir un accès (pour les fluides) rapide et direct au résonateur diélectrique, avec contrôle visuel possible. Cependant, les deux plans métalliques parallèles doivent être positionnés avec soin ; leur parallélisme doit être réglé avec précision. Le contrôle en température de la cellule de Haki-Coleman est également moins évident puisque le résonateur est en contact direct avec l'ambient.
- Le deuxième type de cellule utilisée est la cavité métallique (Figure 17 (b)) qui enferme complètement le résonateur diélectrique entre ses six parois conductrices. Le dimensionnement de la cellule est moins critique que dans le cas de la cellule de Haki-Coleman ; le contrôle en température est également plus évident mais la cavité métallique complète empêche tout contrôle visuel du résonateur et de l'échantillon fluide. L'accès au résonateur n'est plus aussi direct qu'avec la cellule à plans parallèles.

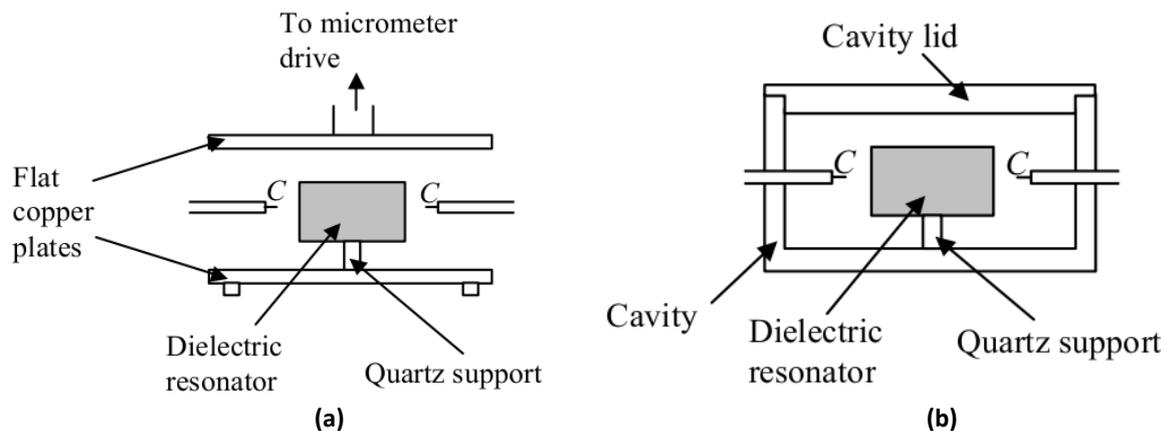


Figure 17 : Résonateur diélectrique implémenté dans une cellule de Hakki-Coleman (a) et dans une cavité métallique (b) pour la caractérisation diélectrique hyperfréquence de liquides par perturbation de la propagation de mode transverses électriques $TE_{01\delta}$ dans le résonateur.

Les modes de galeries sont des modes de résonance d'ordre supérieur qui se propagent autour de l'axe de rotation principal du résonateur diélectrique. Le champ électromagnétique est confiné à l'intérieur du disque diélectrique et l'énergie électromagnétique est concentrée

principalement dans une couronne dont le grand diamètre est égal au diamètre du résonateur diélectrique. La résonance intervient lorsque l'onde retombe en phase sur son « point de départ ».

L'avantage des modes de galeries tient au fait que les pertes radiatives sont bien plus faibles qu'avec les modes $TE_{01\delta}$. Il n'est donc pas nécessaire d'enfermer le résonateur dans une cavité métallique pour préserver les fortes valeurs de facteur de qualité. On retrouve alors les avantages des résonateurs diélectriques et des cellules de Hakki-Coleman (accès aisé au résonateur, contrôle visuel).

La Figure 18 montre un exemple de résonateur diélectrique pour lequel les modes de galeries sont excités par couplage magnétique à l'aide d'un guide diélectrique.

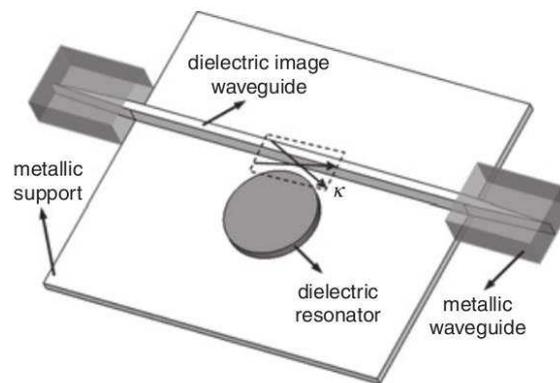


Figure 18 : Résonateur diélectrique pour lequel les modes de galerie sont excités par couplage magnétique à l'aide d'un guide d'onde diélectrique. Les modes de galerie sont des modes d'ordre supérieur se propageant circulairement dans les résonateurs diélectriques et pouvant être exploités pour l'analyse hyperfréquence de liquides.

De nombreuses méthodes ont été explorées pour réaliser le couplage fluide/champ électromagnétique avec des résonateurs diélectriques.

Qu'il s'agisse des modes transverses électriques ou des modes de galerie, il existe, pour ces deux configurations, un champ électromagnétique évanescent en surface du résonateur. La solution la plus simple techniquement pour réaliser le couplage fluide/champ électromagnétique reste donc de déposer une goutte de liquide sous test sur la face supérieure du résonateur. Cette proposition a été utilisée par [29]. Bien que simple techniquement, cette possibilité souffre d'inconvénients de taille :

- Le manque de reproductibilité dans le positionnement de l'échantillon fluide sur le résonateur
- La présence de phénomènes d'évaporation (dans le cas de solutions aqueuses)

Ces deux éléments constituent une source d'erreur significative pour la caractérisation de liquides à l'aide de résonateurs diélectriques.

Des solutions plus originales ont été proposées par A. Babajanyan et al. [30], K. Lee et al. [31] et J. Kim et al. [32] pour optimiser le couplage fluide/champ électromagnétique. Ces trois techniques seront présentées au paragraphe III.3 car elles ont été développées pour des applications de mesure de concentration en glucose en solution aqueuse.

Ce paragraphe montre que les résonateurs diélectriques offrent une grande variété de solutions technologiques pour l'analyse de liquides dans la gamme hyperfréquence.

De manière générale, les résonateurs diélectriques sont à la base des méthodes les plus précises en termes de spectroscopie diélectrique hyperfréquence (incertitude de l'ordre de 0.5 % pour la mesure de ϵ'). Cependant, les résonateurs diélectriques sont des dispositifs volumiques et trop encombrants pour être implémentés dans des applications de type « laboratoire-sur-puce ».

III.3.c Résonateurs miniatures (implémentés en technologie coplanaire ou microstrip)

La dernière famille de dispositifs hyperfréquences utilisés pour la caractérisation diélectrique rassemble les résonateurs implémentés dans des guides d'onde miniatures (coplanaires ou microstrips).

La Figure 19 montre un exemple de résonateur « patch » mis au point par A.K. Verma et al. [33] pour déterminer la permittivité de matériaux sous forme de film mince, de pâte ou de liquide. La Figure 19 (a) montre quatre configurations possibles du résonateur « patch » implémentés à l'aide d'un seul ou deux matériaux différents. L'indice « sam » désigne le matériau sous test (c'est-à-dire celui dont on cherche à connaître la permittivité) ; l'indice « base » désigne un matériau aux propriétés diélectriques connues et servant de substrat. En fonction de l'état du matériau sous test (film, pâte ou liquide), une ou plusieurs des quatre configuration(s) sera(ont) plus appropriée(s). La caractérisation de liquides fera, par exemple, plutôt appel à la configuration (b) pour laquelle le matériau sous test est placé sur la face supérieure d'une structure microruban classique.

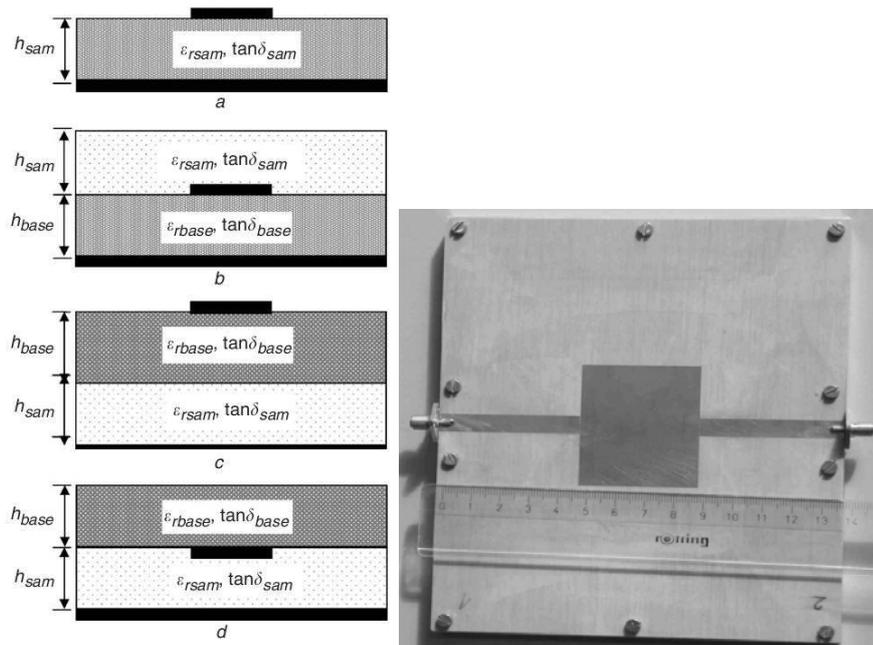


Figure 19 : Exemples de résonateurs « patch » développés par A.K. Verma et al. [33] pour l'analyse diélectrique de matériaux sous forme de « feuillets », pâtes et liquides.

A.K. Verma et al. [33] ont réussi à mesurer les constantes diélectriques de liquides peu communs comme des carburants (essence, kérosène,...) à la fréquence $f=2$ GHz avec une incertitude de 2 % sur la partie réelle de la permittivité et de 1 millième sur la valeur de tangente d'angle de pertes.

W. Withayachumnankul et al. [34] ont, quant à eux, proposé un résonateur de type « split ring » implémenté en technologie microruban. A la fréquence de résonance, le champ électrique est maximal au niveau du gap capacitif de l'anneau. Les échantillons fluidiques sous test sont ainsi placés dans cette zone pour l'analyse. La Figure 20 (a) montre une vue schématique (de dessus) du résonateur (« split ring ») excité par couplage magnétique via une ligne microruban. La Figure 20 (b) montre une photographie du dispositif expérimental avec les deux câbles coaxiaux connectés aux deux ports de l'analyseur de réseau, les connecteurs SMA, la ligne microruban et le « split ring » équipé du canal microfluidique et du système de vidage/remplissage.

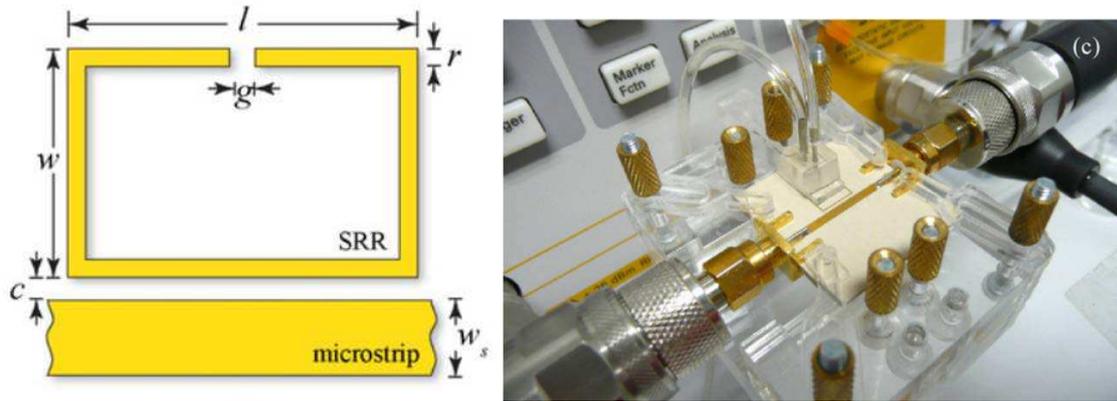


Figure 20 : Résonateur de type « split ring » excité par couplage magnétique via une ligne microruban et développé par W. Withayachumnankul et al. [34] pour l'analyse hyperfréquences de liquides.

W. Withayachumnankul et al. [34] ont ainsi montré la possibilité de discriminer différents mélanges eau/éthanol à différentes fractions volumiques en éthanol à partir d'une telle structure. Un modèle empirique a, en outre, été développé de façon à déterminer les écarts de permittivité complexe entre les différents fluides à partir de la mesure d'écarts de fréquence de résonance et de facteur de qualité en charge.

Ces quelques exemples montrent que les dispositifs résonants miniatures sont tout à fait compatibles pour faire de l'analyse sur des liquides. La précision de mesure reste satisfaisante, notamment pour les liquides à pertes [16]. En outre, ils permettent de fabriquer des dispositifs intégrables sur puce.

III.4 Synthèse

Les trois paragraphes précédents ont permis de passer en revue les différents dispositifs hyperfréquences existants pour l'analyse sur les liquides. Le Tableau 3 rassemble les particularités de ces familles de dispositifs suivant plusieurs critères dont la précision et l'encombrement. Nous avons déjà mis en lumière l'importance de ces 2 critères pour nos travaux : le premier étant un point critique qu'il s'agira d'optimiser et le second étant un point de rupture que peuvent apporter les solutions hyperfréquences-fluidiques (miniaturisables).

En ce qui concerne la précision des techniques de mesure de fluide par ondes hyperfréquences, il apparaît clairement que les solutions résonantes (à bande étroite) prédominent les solutions large bande. Cette remarque pointe le compromis : *précision de mesure/richesse d'informations recueillies* qui est associé à celui entre caractérisations *bande étroite/large bande*. Dans le contexte dans lequel nous nous sommes placés, un biocapteur résonant en transmission semble donc indispensable pour aboutir au niveau de précision exigée par l'application envisagée.

Tableau 3 : Etat de l'art et synthèse des différentes techniques d'analyse radio et hyperfréquences sur les liquides

Techniques	Précision (sur ϵ^* , concentrations)	Encombrement	Volume de fluide nécessaire	Placement de fluide	Bande étroite / bande large	Remarques
Câble coaxial en réflexion	Faible (gap entre câble et échantillon)	Modéré (non intégrable)	# 1 mL	A l'extrémité du câble	Bande large	Technique très connue (solutions clef-en-main disponibles). Calibrage délicat
Guides d'onde en réflexion	Faible (gap entre guide et échantillon)	Volumineux	Quelques millilitres	A l'extrémité du guide	Bande étroite	
Câble coaxial en transmission	Bonne	Modéré (non intégrable)	< 1 mL	A la place du diélectrique du câble	Bande large	Intégration du liquide dans le câble délicate
Guide d'onde en transmission	Bonne	Volumineux	# 1 mL	A l'intérieur du guide	Bande étroite	Placement du fluide plus simple qu'avec un coaxial
Guides miniatures (CPW, microruban)	Bonne	Miniature (intégrable)	Quelques nanolitres	Face supérieure (nécessite structures microfluidiques)	Bande large	Développements technologiques nécessaires pour les fluides
Cavité résonante (modes TM)	Très bonne	Volumineux	# 1 mL	Dans un tube au centre de la cavité	Bande étroite	Théorie des perturbations introduit incertitude pour la mesure de ϵ
Cavité résonante (modes TE)	Très bonne (surtout pour liquides faibles pertes)	Volumineux	# 1 mL		Bande étroite	
Résonateurs diélectriques	Excellente pour ϵ' ; moins adapté pour ϵ'' (surtout pour liquides fortes pertes)	Volumineux	# 1 μ L	Nombreuses techniques (gouttes en surface ; microtrou dans le matériau...)	Bande étroite	
Résonateurs miniatures (CPW ; microruban)	Très bonne et adaptés aux liquides à pertes	Miniature (intégrable)	Quelques nanolitres	Face supérieure (nécessite structures microfluidiques)	Bande étroite	Développements technologiques nécessaires pour les fluides

Enfin, les dernières lignes du Tableau 3 montrent que la miniaturisation de structures hyperfréquences pour l'analyse sur les liquides peut être menée sans compromis catastrophique sur la précision de mesure. Si les structures à base de résonateurs diélectriques ne peuvent être détrônées en termes de précision, leur intégration sur puce reste inenvisageable. Les résonateurs miniatures combinent potentialité d'intégration sur puce et très bon niveau de précision de mesure. Comme nous le rappellerons à la fin de ce chapitre, c'est donc sur de telles structures que notre choix s'est porté pour la conception de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques.

Le chapitre suivant présente un état de l'art des biocapteurs hyperfréquences fluidiques dédié à la mesure du glucose en solution aqueuse, nous permettant ainsi d'établir les performances en sensibilité et résolution des solutions déjà existantes.

IV. Biocapteurs hyperfréquences pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse

IV.1 Dispositif à base de guide d'onde

Le premier dispositif hyperfréquence utilisé pour déterminer la concentration en glucose en solution aqueuse est basé sur une ligne coplanaire à MEMS distribués [35]. Un canal microfluidique en polymère est assemblé perpendiculairement à la ligne coplanaire.

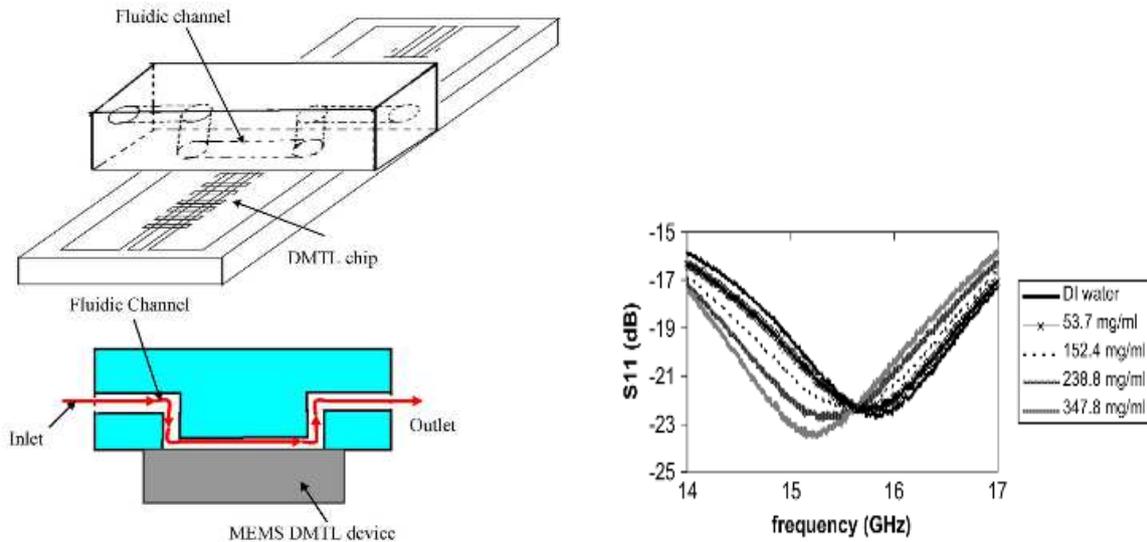


Figure 21 : Ligne coplanaire à MEMS distribués, équipée d'un canal microfluidique en polymère et destinée à la caractérisation de solutions aqueuses de glucose.

Le spectre $|S_{11}|(\text{freq})$ pour une telle structure présente trois « résonances » dans la gamme $[0 ; 20]$ GHz. La circulation d'un fluide dans le microcanal altère la « fréquence de résonance ». C'est ce paramètre qui est utilisé (à la troisième « résonance » à 15.5 GHz) pour estimer la sensibilité du dispositif aux variations de concentrations en glucose des solutions circulant dans le canal microfluidique. Le volume de fluide en interaction avec le champ électromagnétique n'a pas été fourni pas les auteurs.

La Figure 21 (b) montre les spectres $|S_{11}|(\text{freq})$ autour de cette troisième « résonance » pour différentes concentrations en glucose.

La sensibilité du dispositif a été estimée par les auteurs à $1.6 \text{ MHz}/(\text{g.L}^{-1})$ mais la résolution, c'est-à-dire la plus petite variation de concentration en glucose détectable, n'a pas été estimée.

IV.2 Dispositifs à base de cavité résonante

Il existe plusieurs exemples de cavités métalliques utilisées pour déterminer la concentration en glucose en solution aqueuse.

Citons par exemple les travaux de B. Kapilevich et al. [36] qui ont développé une cavité résonante pour laquelle un mode TM_{010} est excité. Les échantillons fluidiques (d'un volume de 3.5 mL environ) sont placés dans tube logé au centre de la cavité (Figure 22 (a)). La fréquence centrale de la cavité se situe à environ 1.9 GHz.

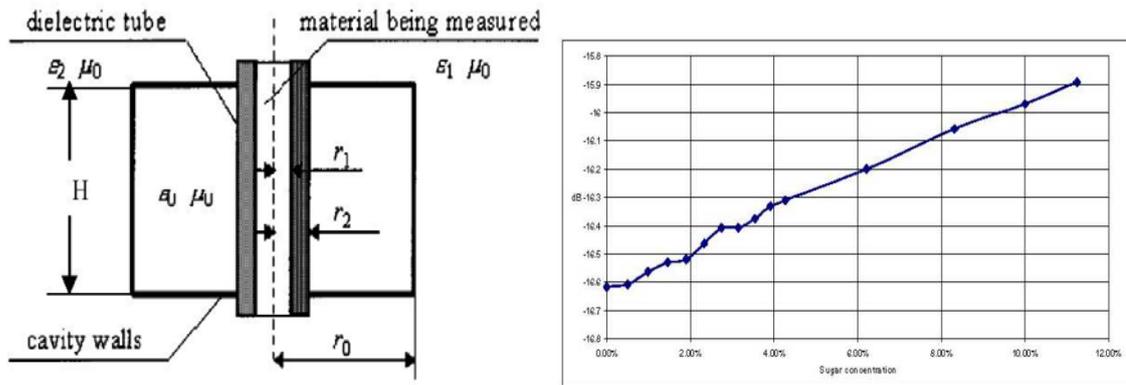


Figure 22 : Cavité résonante développée par B. Kapilevich et al. [36] pour l'analyse de solutions biochimiques et de biomolécules en solution comme le glucose. Les échantillons sous test sont placés dans un tube central.

Plusieurs solutions biochimiques et de biomolécules ont été caractérisées sur ce dispositif : solutions de chlorure de sodium ($Na^+ + Cl^-$), de permanganate de potassium ($K^+ + MnO_4^-$), d'éthanol et enfin de glucose. La résolution d'un tel dispositif n'a pas été estimée par les auteurs mais la sensibilité aux variations de la concentration en glucose, déterminée à partir des variations de l'amplitude du paramètre S11 à la résonance (Figure 22 (b)), a été évaluée à : $\Delta |S_{11}| = 0.0065 \text{ dB}/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$.

La même équipe de recherche a proposé une deuxième cavité résonante [37] supportant des modes TM_{010} (résonance à 1.5 GHz) et des modes TE_{111} . Le fluide sous test se trouve à nouveau logé dans un tube placé sur l'axe de rotation principal de la cavité. Le volume de fluide en interaction avec le champ est cette fois de 0.5 mL.

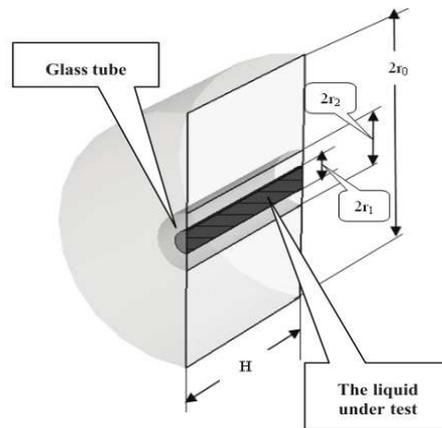


Figure 23 : Autre exemple de cavité résonante développée par B. Kapilevich et al. [37] pour l'analyse de solutions biochimiques et de biomolécules en solution. A nouveau, le liquide à caractériser est placé dans un tube central.

C'est à nouveau la norme du paramètre S11 à la résonance qui est utilisée comme indicateur des variations de concentration en soluté et cette nouvelle version de cavité résonante développée pour la caractérisation de liquides biologiques montre une sensibilité aux variations de concentration en glucose de 0.015 dB/(g.L⁻¹).

Une solution originale a été proposée par G. Gennarelli et al. [38] sous la forme d'une cavité métallique rectangulaire. Deux coupleurs connectés aux deux ports d'un analyseur de réseau vectoriel permettent d'exciter le mode TE₁₀₁ dans la cavité rectangulaire. Le liquide sous test est injecté dans un tube placé au centre de la cavité et perturbe la propagation du champ électromagnétique. La Figure 24 (a) montre un tel dispositif.

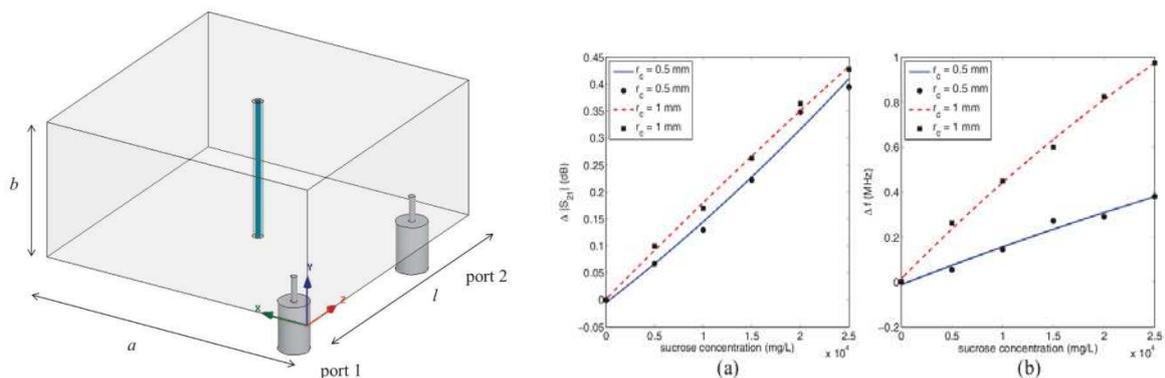


Figure 24 : Cavité métallique rectangulaire dans laquelle est excité un mode TE₁₀₁ pour l'analyse de solutions aqueuses de glucose. L'échantillon de solution est introduit dans un tube placé au centre de la cavité.

Le mode TE₁₀₁ utilisé entre en résonance à 1.9 GHz. La détermination de la concentration en glucose est faite par la mesure d'écarts de fréquence de résonance ΔFr et de variation du taux de réjection à la résonance Δ|S21|(@Fr). Les sensibilités d'un tel capteur ont été estimées (Figure 24 (b)) à 40 kHz/(g.L⁻¹) et 0.018 dB/(g.L⁻¹).

IV.3 Dispositifs à base de résonateur diélectrique

Les deux résonateurs diélectriques des Figure 25 et Figure 26 mettent en œuvre des solutions originales pour optimiser le couplage fluide/champ électromagnétique. Dans les deux cas, un mode TE_{011} est excité dans le résonateur diélectrique.

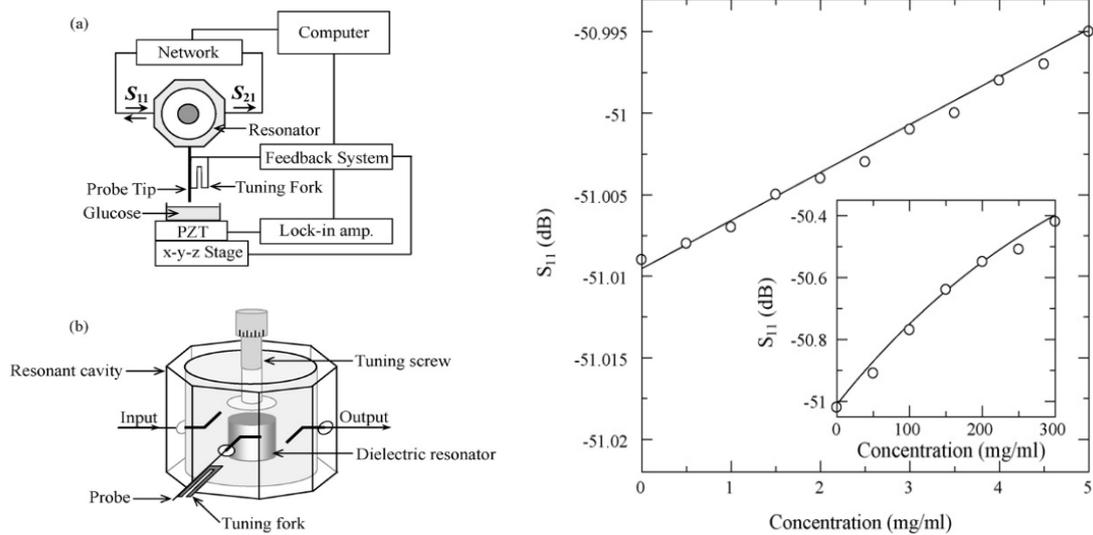


Figure 25 : Résonateur diélectrique développé par K. Lee et al. [31] et implémenté dans une cavité métallique réduisant les pertes radiatives propres à la propagation du mode TE_{011} . Le graphe (b) montre la variation de l'amplitude de S_{11} à la résonance en fonction de la concentration en glucose dans la solution circulant dans le tube.

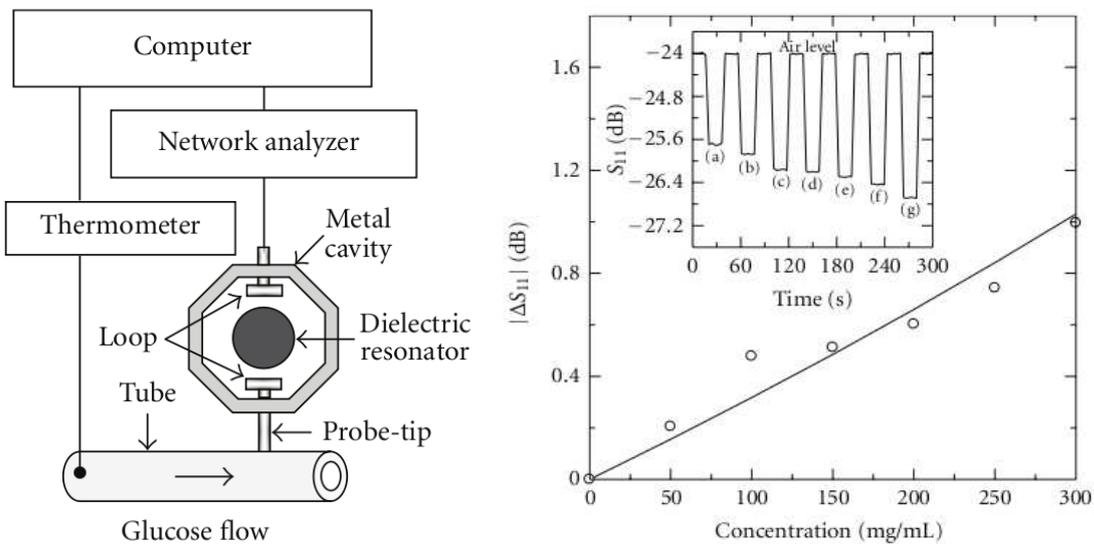


Figure 26 : Résonateur diélectrique développé par A. Babajanyan et al. [30] et implémenté dans une cavité métallique réduisant les pertes radiatives propres à la propagation du mode TE_{011} . Le graphe (b) montre la variation de l'amplitude de S_{11} à la résonance en fonction de la concentration en glucose dans la solution circulant dans le tube. L'insert montre la variation de $|S_{11}|$ (@Fr) en temps réel.

A. Babajanyan et al. [30] ont développé un résonateur (Figure 25 (a)) qui est utilisé en réflexion à 4.5 GHz. Le second port est connecté à un tube (placé à l'extérieur de la cavité) dans lequel circule la solution sous test d'une centaine de microlitres environ. La détermination de la concentration en glucose repose sur la mesure de variation de l'amplitude du paramètre S_{11} à la résonance (Figure 25 (b)). Le capteur montre alors une sensibilité aux variations de concentration en glucose de $0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ pour une résolution finalement estimée par les auteurs à 0.5 g/L .

K. Lee et al. [31] ont utilisé un dispositif similaire (Figure 26) mesuré en transmission autour de 4.5 GHz également. Les paramètres d'intérêt restent l'amplitude de S_{11} à la résonance, et le facteur de qualité mesuré sur le spectre $|S_{11}|$. L'analyseur de réseau est connecté aux deux ports du résonateur diélectrique via deux anneaux de couplage. Un troisième coupleur est placé au voisinage du résonateur diélectrique et est relié via un guide d'onde à une micropiscine contenant les solutions sous test d'une vingtaine de microlitres. Ce troisième coupleur perturbe ainsi la résonance et K. Lee et al. ont montré qu'un tel phénomène peut être mis à profit pour déterminer la concentration en chlorure de sodium et en glucose dans des solutions aqueuses simples. La détermination de la concentration en glucose repose ainsi sur les variations de l'amplitude du paramètre S_{11} à la résonance. Le capteur montre alors une sensibilité aux variations de concentration en glucose de $0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ pour une résolution finalement estimée par les auteurs à 1 g/L .

J. Kim et al. [32] ont proposé une solution plus simple pour palier au problème de reproductibilité de placement du fluide. Un logement a été créé directement dans le volume du diélectrique (cf. Figure 27). Ainsi, le volume de fluide (de seulement $1 \mu\text{L}$) sous test est placé systématiquement dans ce gap. Le résonateur diélectrique est ici de type $\lambda/4$ centré sur 1.68GHz. Le couplage du champ électromagnétique dans le diélectrique est réalisé à l'aide de ligne microstrip. L'introduction d'un fluide dans le gap modifie la longueur électrique, décalant ainsi la fréquence de résonance ; et modifie également l'impédance au niveau du port 1, modifiant de fait l'amplitude du paramètre S_{11} à la résonance.

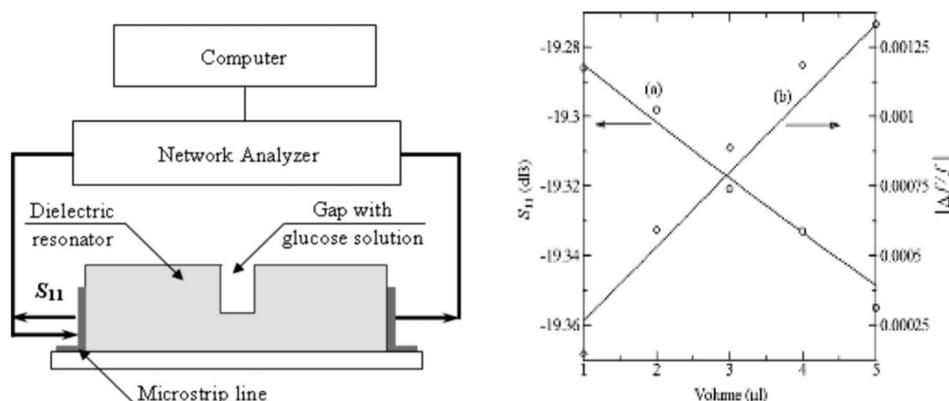


Figure 27 : Résonateur diélectrique $\lambda/4$ développé par J. Kim et al. [32]. Le dispositif est mesuré en réflexion. La présence d'un échantillon de solution dans le logement créé dans le volume du diélectrique perturbe la résonance du mode TE01. Le graphe de droite montre les réponses, $|S_{11}|$ et $\Delta f/f$ du capteur en fonction de la concentration en glucose.

La détermination de la concentration en glucose repose donc sur la mesure d'écart de fréquence de résonance et sur la mesure de variations de l'amplitude du paramètre S_{11} à la résonance. La structure montre des sensibilités de $16.8 \text{ kHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et $0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ pour une résolution finalement estimée à 10 g/L .

Une variante aux dispositifs présentés ci-dessus a été proposée par S. Kim et al. [39]. Le capteur est constitué d'un résonateur diélectrique $\lambda/2$ excité par une ligne microstrip. Le fluide est introduit à l'aide d'un système d'injection dans un logement de 1 mL réalisé directement dans le matériau diélectrique à une distance $\lambda/4$ du port 1 (Figure 28 (a)). Le fluide perturbe ainsi la propagation du champ électromagnétique dans la structure, ce qui se traduit par une variation de l'amplitude du paramètre S_{11} à la résonance.

Le résonateur diélectrique est centré sur 2 GHz .

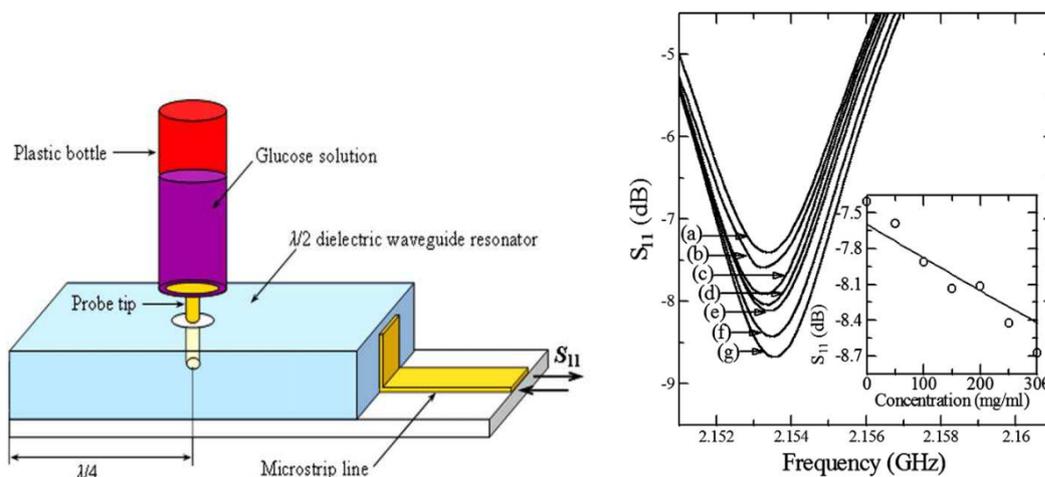


Figure 28 : Résonateur diélectrique $\lambda/2$ développé par S. Kim et al. [39]. Le fonctionnement d'un tel dispositif est assez similaire à celui présenté par la Figure 27. Une ligne microruban excite un mode TE_{01} dans la structure dont la résonance est perturbée par l'introduction d'un fluide dans le volume du diélectrique. Le graphe à droite montre la réponse du dispositif en présence de solutions de glucose à différentes concentrations.

Sur des échantillons de solutions de glucose, la sensibilité du capteur a été estimée à $0.004 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et sa résolution à 0.5 g/L par les auteurs. La Figure 28 (b) montre quelques spectres $|S_{11}|(\text{freq})$ mesuré sur le capteur présenté par la Figure 28 (a) chargé par des solutions aqueuses de glucose dont la concentration en glucose s'élevait à quelques centaines de grammes par litre (50 ; 100 ; 150 ; 200 ; 250 ; 300 g/L).

Comme nous l'avons mentionné au paragraphe précédent, les résonateurs diélectriques sont également utilisés en excitant les modes de galerie. E.N. Shaforost et al. [40] ont exploité ce principe

pour mettre au point un capteur de glucose hyperfréquence. Les échantillons de solutions sont placés dans un logement de $0.4 \mu\text{L}$ créé directement dans le matériau diélectrique afin d'améliorer la reproductibilité de placement des échantillons fluidiques. La Figure 29 (a) montre le résonateur diélectrique à proprement parler, et la Figure 29 (b) montre les lignes de champ électrique correspondant à un mode de galerie se propageant circulairement dans la structure.

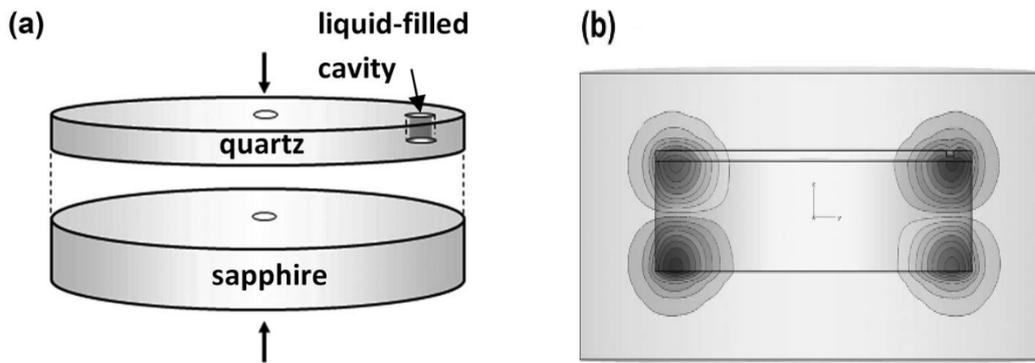


Figure 29 : Résonateur diélectrique par E.N. Shaforost et al. [40] pour l'analyse hyperfréquence de solutions aqueuses de glucose. Le dispositif est utilisé en excitant les modes de galerie. Un logement créé directement dans le volume du diélectrique est utilisé pour rendre reproductible le placement du fluide à caractériser.

Le résonateur diélectrique est centré sur 10 GHz et la détermination de la concentration en glucose est basée sur la mesure des écarts de fréquence de résonance ΔF_r et des variations du niveau de réjection à la résonance ($\Delta |S_{21}|(@F_r)$). Les sensibilités du capteur ont été évaluées à $1.35 \text{ kHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et $0.03 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ par les auteurs. La résolution n'a, quant à elle, pas été évaluée.

Le dernier exemple de capteur de glucose hyperfréquence repose là encore sur l'utilisation d'un résonateur diélectrique excité par des modes de galeries [41]. Le couplage est effectué par deux lignes microruban placées de part et d'autre du résonateur diélectrique. Un canal microfluidique est placé sur la face supérieure du disque diélectrique. Le volume de fluide en interaction avec le champ électromagnétique est inférieur au microlitre. La Figure 30 montre une photographie d'un tel dispositif.

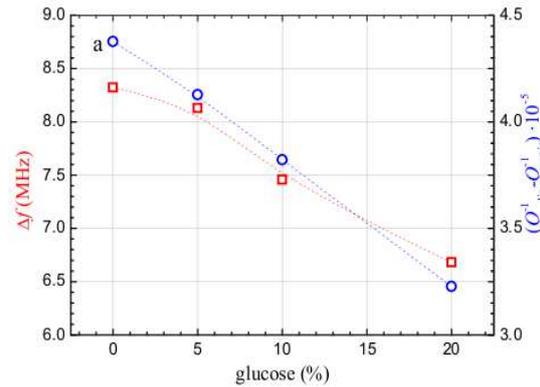
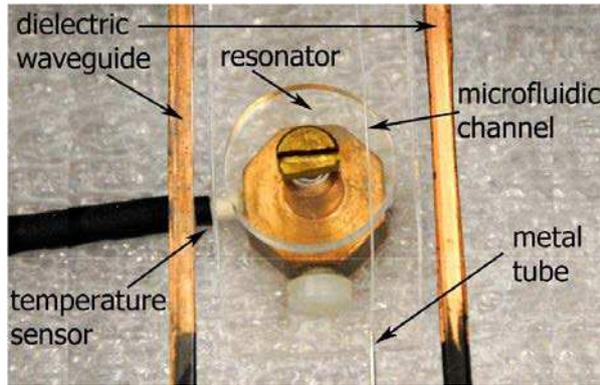


Figure 30 : Résonateur diélectrique équipé d'un canal microfluidique proposé par A.I. Gubin et al. [41]. Deux lignes microruban placées de part et d'autres du résonateur diélectrique permettent d'exciter les modes de galerie dans le diélectrique. Le graphe à droite montre les indicateurs Δf et $\Delta(1/Q_L)$ mesurés sur le dispositif et permettant l'analyse de solutions aqueuses de glucose.

Les auteurs exploitent un mode de galerie résonant à 35.5 GHz dans la structure présentée sur la Figure 30. La détermination de la concentration en glucose est faite par mesure des écarts de fréquence de résonance Δf et des variations de l'inverse du facteur de qualité en charge $\Delta(1/Q_L)$. Les sensibilités du dispositif ont été estimées à $0.1 \text{ MHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et $5.5 \times 10^{-7} (\text{g}/\text{L})^{-1}$. La résolution du capteur n'a, en revanche, pas été estimée.

IV.4 Synthèse

Le Tableau 4 reprend les caractéristiques des dix capteurs hyperfréquences microfluidiques présentés dans les paragraphes précédents.

Tableau 4 : Etat de l'art et synthèse des performances des biocapteurs hyperfréquences résonants

Publication	Dispositif	$\Delta[\text{glucose}]$ min (g/L)	Indicateurs	Δ Indicateurs/ $\Delta[\text{glucose}]$	Freq centrale	Volume liquides
[31]	Résonateur diélectrique	0.5 g/L	$\Delta S_{11} $	$0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	4.5 GHz	# 100 μL
[32]	Résonateur diélectrique	10 g/L	$\Delta S_{11} $ Δf	$0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ $16.8 \text{ kHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	1.68 GHz	1 μL
[39]	Résonateur diélectrique	0.5 g/L	$\Delta S_{11} $	$0.004 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	2 GHz	1 mL
[30]	Résonateur diélectrique	1 g/L	$\Delta S_{11} $	$0.003 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	4.5 GHz	# 20 μL
[36]	Cavité résonante	non estimée	$\Delta S_{11} $	$0.0065 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	1.9 GHz	3.5 mL
[37]	Cavité résonante	non estimée	$\Delta S_{11} $	$0.015 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	1.5 GHz	0.5 mL
[40]	Résonateur diélectrique	non estimée	$\Delta S_{21} $ et Δf	$0.03 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et $1.35 \text{ kHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	10 GHz	0.4 μL
[41]	Résonateur diélectrique	non estimée	$\Delta(1/Q_L)$ et Δf	$5.5 \times 10^{-7} (\text{g}/\text{L})^{-1}$ et $0.1 \text{ MHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	35.5 GHz	< 1 μL
[38]	Cavité résonante	non estimée	$\Delta S_{21} $ et Δf	$0.018 \text{ dB}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$ et $40 \text{ kHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	1.9 GHz	# 20 μL
[35]	MEMS CPW trans. line	non estimée	Δf	$1.6 \text{ MHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$	15.5 GHz	Non fourni

Outre la résolution des biocapteurs (troisième colonne: « $\Delta[\text{glucose}]_{\text{min}}$ »), ce tableau présente la caractéristique électrique à partir de laquelle l'évaluation de la concentration est faite (quatrième colonne : « Indicateurs ») ainsi que la sensibilité de mesure (cinquième colonne : « $\Delta\text{Indicateurs}/\Delta[\text{glucose}]$ »).

Il ressort de cette analyse que les biocapteurs hyperfréquences-fluidiques sont capables d'atteindre des niveaux de résolution aussi faibles que 0.5 g/L [31], [39]. Même si l'on est une décade en deçà des meilleurs glucomètres actuels, cette résolution est proche des 0.1 g/L, résolution généralement employée en médecine. Cette dernière remarque pointe ainsi que :

1. potentiellement, les techniques hyperfréquences peuvent atteindre des résolutions de titrage du glucose en solution aqueuse compatible avec des applications de mesure de glycémie,
2. mais c'est une caractéristique essentielle pour ce type d'application qu'il faut encore optimiser. Une part importante des travaux a ainsi porté sur la modélisation et l'optimisation de cette propriété.

La dernière ligne du Tableau 4 reporte un dispositif miniaturisé pour lequel un fort niveau de sensibilité est atteint. Si on fait le parallèle avec les performances de la référence [32], dix fois moins sensible, on peut s'attendre à une résolution de 1 g/L pour le biocapteur miniature présenté dans [35]. Ce constat permet de réaffirmer que la miniaturisation des biocapteurs hyperfréquences ne se fait pas forcément au détriment de leur précision.

Enfin, la revue des différentes approches hyperfréquences pour la mesure de glucose en solution aqueuse permet de pointer la diversité d'indicateurs possibles : fréquence de résonance, coefficient de qualité et modules des coefficients de réflexion ou de transmission. Nous verrons ainsi dans ce manuscrit une évolution dans le choix des indicateurs électriques retenus aux grés des différentes évolutions tant techniques que technologiques suivies par nos biocapteurs.

V. Conclusion

Ce chapitre a été consacré à l'état de l'art des techniques de mesure de la concentration en glucose en solution aqueuse avec comme application la détermination de la glycémie.

Il ressort ainsi qu'un point de rupture de la technologie hyperfréquence-fluidique par rapport à l'existant réside dans son intégrabilité au sein de laboratoire sur puce. Cette aptitude repose sur deux propriétés caractéristiques de la technique proposée :

- sa **forte intégrabilité**. Grace aux technologies d'intégration RF-MEMS et microfluidique, il est en effet possible de réaliser des systèmes hyperfréquences-microfluidiques fortement miniaturisés (100 μ m à 1mm).
- sa **non-invasivité** pour l'échantillon à analyser. Cette aptitude à la **non-destruction, non-altération** du fluide à caractériser, permet ainsi d'envisager plusieurs analyses sur un même échantillon, d'où la notion de **laboratoire** sur puce. Un autre avantage réside dans la capacité de mener des analyses redondantes sur un même échantillon afin d'améliorer la fiabilité de mesure.

L'étude bibliographique nous a, de plus, conduit à :

- orienter notre choix de structure vers une **biocapteur résonant** en transmission avec lequel les niveaux de résolution et de précision de mesure peuvent potentiellement être en cohérence avec l'application envisagée.
- définir les caractéristiques clefs à optimiser lors de nos travaux de recherche : la sensibilité, la résolution, la spécificité et la fiabilité de mesure.

Ce sont les études et optimisations de ces quatre caractéristiques qui ont jalonnées notre étude et qui ponctuent notre manuscrit :

- l'optimisation de la **sensibilité** de nos biocapteurs a été étudiée et modélisée au chapitre II et le chapitre III reporte le fruit de ces optimisations,
- le chapitre III présente un grand nombre de données expérimentales permettant de jauger **résolution** et **fiabilité** de mesure. Des protocoles expérimentaux ont été mis au point afin d'optimiser ces caractéristiques,
- la **non-spécificité** de la mesure hyperfréquence-fluidique est clairement un point dur (a priori) lié au principe même de détection. Les techniques hyperfréquences sont, en effet, sensibles à la présence de très nombreux composés présents dans le sang humain. Nous présenterons en fin de chapitre III une piste permettant l'amélioration de la spécificité de la technique proposée. Le chapitre IV tirera quant à lui profit de cet inconvénient permettant ainsi d'enrichir les informations issues d'une mesure hyperfréquence.

Les chapitres II, III et IV de ce manuscrit retracent ainsi les étapes de modélisation, conception, micro-fabrication et caractérisation de biocapteurs hyperfréquences résonants microfluidiques pour l'analyse de solutions aqueuses de glucose.

Bibliographie du chapitre I

- [1] Rapport de la direction générale de la compétitivité de l'industrie et des services
"Les technologies clés 2015" section "Santé, Agriculture et Agroalimentaire"
<http://www.dgcis.gouv.fr/politique-et-enjeux/technologies-cles-2015-mars-2011>
- [2] E. Shapiro, T. Bienzuner, S. Linnarsson
"Single-cell sequencing-based technologies will revolutionize whole-organism science"
Nature Reviews Genetics, 30 Juillet 2013
- [3] A. Fagot-Campagna, I. Romon, S. Fosse et C. Roudier
"Prévalence et incidence du diabète, et mortalité liée au diabète. Synthèse épidémiologique"
Institut de Veille Sanitaire, novembre 2010
- [4] International Diabetes Federation
www.idf.org
- [5] Association Française des Diabétiques
www.afd.asso.fr
- [6] Dictionnaire de l'académie de médecine
Diabète sucré : <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=diab%C3%A8te+sucre%C3%A9>
Glycémie : <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=glyc%C3%A9mie>
- [7] The diabetes control and complications trial research group
"The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus"
The New England Journal of Medicine, n° 329, pp.977-986, 1993
- [8] J. Hönes, P. Müller et N. Surridge
"The technology behind glucose meters : test strips"
Diabetes Technology & Therapeutics, vol. 10, supplement 1, 2008.
- [9] Yassine Ben Lahlou
"Détermination du glucose dans les milieu biologiques et variations physiopathologiques"
Laboratoire de chimie de l'hôpital militaire Mohammed V, avril 2010
- [10] A. Abbas, A. Treizebre, P. Supiot, N.E. Bourzgui, D. Guillochon, D. Vercaigne-Marko et B. Bocquet
"Cold plasma functionalized terahertz bioMEMS for enzyme reaction analysis"
Biosensors and Bioelectronics, vol. 25, pp.154-160, 2009
- [11] U. Kaatze
"Complex permittivity of water as a function of frequency and temperature"
Journal of Chemical & Engineering Data, vol. 34, pp.371-374, 1989

- [12] V. Komarov, S. Wang et J. Tang
"Permittivity and measurement"
Encyclopedia of RF and Microwave Engineering, avril 2005
- [13] M. Zhadobov, R. Augustine, R. Sauleau, S. Alekseev, A. Di Paola, C. Le Quément, Y. Soubere Mahamoud et Y. Le Dréan
"Complex permittivity of representative biological solutions in the 2 – 67 GHz range"
Bioelectromagnetics, vol. 33, pp.346-355, 2012
- [14] M. Zhadobov, N. Chahat, R. Sauleau, C. Le Quément et Y. Le Dréan
"Millimeter-wave interactions with the human body : state of knowledge and recent advances"
International Journal of Microwave and Wireless Technologies, vol. 3, n°2, pp.237-247, mars 2011
- [15] M. Zhadobov, R. Sauleau, R. Augustine, C. Le Quément, Y. Le Dréan et D. Thouroude
"Near-field dosimetry for in-vitro exposure of human cells at 60 GHz"
Bioelectromagnetics, vol. 33, pp.55-64, 2012
- [16] National Physical Laboratory
"A guide to characterisation of dielectric materials at RF and microwave frequencies",
Londres, 2003.
- [17] T.P. Marsland et S. Evans
"Dielectric measurements with an open-ended coaxial probe"
IEEE Proceedings, vol. 134, n°4, pp.341-349, 1987
- [18] R. Zajicek, T. Smejkal, L. Oppl et J. Vrba
"Waveguide probes for complex permittivity measurement"
14th Conference on Microwave Techniques, 2008
- [19] A. Toropainen, P. Vainikainen et A. Drossos
"Method for accurate measurement of complex permittivity of tissue equivalent liquids"
Electronic Letters, vol. 36, n°1, pp.32-34, janvier 2000
- [20] H. Esteban, J.M. Catal-Civera, S. Cogollos et V.E. Boria
"Characterization of complex permittivity properties of materials in rectangular waveguides using a hybrid iterative method"
IEEE Microwave and Guided Wave Letters, vol. 10, n°5, pp.186-188, mai 2000
- [21] S.S. Stuchly et C.E. Bassey
"Microwave coplanar sensors for dielectric measurements"
Measurement Science Technology, vol. 9, pp.1324-1329, 1998
- [22] J. Roelvink, S. Trabelsi et S.O. Nelson

"A planar transmission-line sensor for measuring the microwave permittivity of liquid and semisolid biological materials"

IEEE Transactions on Instrumentation and Measurements, article accepted for inclusion in a future issue of this journal, à paraître en 2013

[23] G.R. Facer, D.A. Notterman et L.L. Sohn

"Dielectric spectroscopy for bioanalysis : from 40 Hz to 26.5 GHz in a microfabricated wave guide"
Applied Physics Letters, vol. 78, n° 7, pp.906-908, février 2001

[24] S. Laurette, A. Treizebre, F. Affouard et B. Bocquet

"Subterahertz characterization of ethanol hydration layers by microfluidic system"
Applied Physics Letters, vol. 97, n°11, septembre 2010

[25] K. Grenier, D. Dubuc, P.E. Poleni, M. Kumemura, H. Toshiyoshi, T. Fujii et H. Fujita

"Integrated broadband microwave and microfluidic sensor dedicated to bioengineering"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 57, n°12, 2009

[26] A. Raj, W.S. Holmes et S.R. Judah

"Wide bandwidth measurement of complex permittivity of liquids using coplanar lines"
IEEE Transactions on Instrumentation and Measurement, vol. 50, n°4, pp.905-909, août 2001

[27] T. Chen, D. Dubuc, M. Poupot, J.J. Fournié et K. Grenier

"Accurate nanoliter liquid characterization up to 40 GHz for biomedical applications : toward noninvasive living cells monitoring"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 60, n° 12, pp.4171-4177, décembre 2012

[28] H. Kawabata et Y. Kobayashi

"Accurate measurements of complex permittivity of liquid based on a TM₀₁₀ mode cylindrical cavity method"
European Microwave Conference, 2005.

[29] A. Taeb, S. Gigoyan, G. Rafi, S. Safavi-Naeini et M. Neshat

"A low cost and sensitive sensor based on the whispering gallery mode at D-band"
European Microwave Conference, 2011

[30] A. Babajanyan, H. Melikyan, S. Kim, J. Kim, K. Lee et B. Friedman

"Real-time noninvasive measurement of glucose concentration using a microwave biosensor"
Journal of Sensors, vol. 2010, 452163, 2010

[31] K. Lee, A. Babajanyan, C. Kim, S. Kim et B. Friedman

"Glucose aqueous solution sensing by a near-field microwave microprobe"
Sensors And Actuators, vol. 148, n°1, pp.28-32, 2008

[32] J. Kim, A. Babajanyan, A. Hovsepyan, K. Lee et B. Friedman

"Microwave dielectric resonator biosensor for aqueous glucose solution"
Review of Scientific Instruments, vol. 79, n°8, pp.086107-086110, 2008

[33] A.K. Verma, N. Nasimuddin et A.S. Omar

"Microstrip resonator sensors for determination of complex permittivity of materials in sheet, liquid and paste forms"

IEEE Proceedings – Microwave Antennas and Propagation, vol. 152, n°1, février 2005

[34] W. Withayachumnankul, K. Jaruwongrungssee, A. Tuantranont, C. Fumeaux et D. Abbott

"Metamaterial-based microfluidic sensor for dielectric characterization"

Sensors And Actuators, vol. 189, pp.233-237, 2013

[35] L. Li et D. Uttamchandani

"A microwave dielectric biosensor based on suspended distributed MEMS transmission lines"

IEEE Sensors Journal, vol. 9, n°12, décembre 2009

[36] B. Kapilevich et B. Litvak

"Microwave sensor for accurate measurements of water solution concentrations"

Asia-Pacific Microwave Conference, 2007

[37] B. Kapilevich, A. Yahalom, B. Litvak et D. Mihaeli

"Microwave diagnostics of some bio-medical solutions using cylindrical resonator"

Eurocon, 2009

[38] G. Gennarelli, S. Romeo, M. Rosaria Scarfi et F. Soldovieri

"A microwave resonant sensor for concentration measurements of liquid solutions"

IEEE Sensors Journal, vol.13, n°5, mai 2013

[39] S. Kim, J. Kim, A. Babajanyan, K. Lee et B. Friedman

"Noncontact characterization of glucose by a waveguide microwave probe"

Current Applied Physics, vol. 9, n°4, pp.856-860, 2009

[40] E.N. Shaforost, N. Klein, S. Vitusevich, A.A. Barannik et N.T. Cherpak

"High sensitivity microwave characterization of organic molecule solutions of nanoliter volume"

Applied Physics Letters, vol. 94, n°11, 2009

[41] A.I. Gubin, A.A. Barannik, N.T. Cherpak, S. Vitusevich, A. Offenhaeusser and N. Klein

"Whispering gallery mode resonator technique for characterization of small volumes of biochemical liquids in microfluidic channel"

41st European Microwave Conference, 2011

Chapitre II



Chapitre II : Analyse de liquides par résonateur hyperfréquence : principe de fonctionnement, modélisation, fabrication et validation expérimentale.

Chapitre II : Analyse de liquides par résonateur hyperfréquence : principe de fonctionnement, modélisation, fabrication et validation expérimentale.	59
I. Introduction	60
II. Principe de fonctionnement et microfabrication du biocapteur	61
II.1. Permittivité des matériaux	61
II.2. Principe de fonctionnement du biocapteur résonant	63
II.3. Présentation du dispositif hyperfréquence microfluidique	65
II.4. Fabrication du prototype en centrale de microtechnologie	69
II.5 Mesure des indicateurs de sortie	75
II.5.a. Fréquence de résonance	76
II.5.b. Réjection à la résonance	78
III. Modélisation et validation expérimentale	79
III.1. Techniques de simulation du biocapteur	79
III.2. Modélisation du biocapteur	84
III.3. Simplification du modèle dans le cas de mélanges eau/éthanol	87
III.4. Validation expérimentale à partir de mesures sur des mélanges eau/éthanol	88
III.5. Optimisation du couplage fluide/champ	94
IV. Conclusion	110
Bibliographie du chapitre II	111

I. Introduction

Le chapitre précédent nous a orientés vers les biocapteurs hyperfréquences résonants microfluidiques. Le développement de tels dispositifs pour l'analyse de liquides nécessite tout d'abord de mieux comprendre (donc de modéliser) les mécanismes qui déterminent la sensibilité de ces biocapteurs, et en particulier l'interaction fluide/champ électromagnétique.

Dans cette optique, nous avons mené la conception, microfabrication et caractérisation d'un biocapteur prototype constitué d'un résonateur quart d'onde hyperfréquence implémenté en technologie coplanaire et muni d'un canal microfluidique. Sur la base de la théorie des perturbations appliquée à des dispositifs miniatures ouverts, ainsi que sur des simulations électromagnétiques 3D, nous avons construit un modèle liant les propriétés diélectriques du fluide aux réponses électriques du dispositif. La validation expérimentale du modèle fut conduite à partir de mélanges eau/éthanol.

La modélisation proposée et ainsi validée nous a permis de conduire l'amélioration de la sensibilité du biocapteur par l'optimisation du couplage fluide/champ électromagnétique. Cette question est régulièrement abordée lors de la conception de résonateurs hyperfréquences dédiés à la mesure de liquides.

Dans le cas des résonateurs diélectriques et des cavités métalliques par exemple, la stratégie que l'on rencontre le plus souvent dans la littérature est de réduire le couplage fluide/champ de façon à ne pas fortement dégrader le facteur de qualité. La précision de mesure de la fréquence de résonance reste alors très élevée, permettant de mesurer de très faibles écarts de fréquence de résonance [1], [2]. Cette stratégie se justifie dans le cas de ce type de résonateurs hyperfréquences, caractérisés par des facteurs de qualité de très fortes valeurs (variables, de quelques centaines à quelques milliers [3, 4]). Cependant, les résonateurs miniatures implémentés dans des guides d'onde de type coplanaire ou microstrip sont caractérisés par des facteurs de qualité beaucoup plus faibles, de l'ordre de quelques unités. La pertinence de la stratégie utilisée par les résonateurs diélectriques et les cavités métalliques n'est donc plus évidente pour les résonateurs coplanaires ou microstrips.

Ce chapitre apporte une réponse expérimentale à cette question en évaluant les performances de sept biocapteurs pour lesquels le couplage fluide/champ électromagnétique est différent.

II. Principe de fonctionnement et microfabrication du biocapteur

La permittivité des matériaux, et en particulier des liquides ici, est un paramètre essentiel pour la compréhension des mécanismes de couplage fluide/champ électromagnétique qui ont cours dans les biocapteurs hyperfréquences microfluidiques. Ainsi, un paragraphe de rappel à propos de la permittivité complexe des matériaux est proposé ici en introduction de ce chapitre.

II.1. Permittivité des matériaux

Définition

La permittivité est la grandeur qui décrit la réponse d'un milieu donné à un champ électrique appliqué. Cette grandeur est notée $\epsilon_{absolue}^*$. La permittivité relative (notée ϵ_r^*) est obtenue en divisant $\epsilon_{absolue}^*$ par la permittivité du vide $\epsilon_0 = 8.85 \times 10^{-12}$ F/m. Pour alléger le texte, on omettra volontairement l'indice « r » dans la définition de la permittivité complexe relative des matériaux. ϵ^* est une caractéristique du matériau, sans dimension :

$$\epsilon_r^* = \epsilon^* = \epsilon' - j * \epsilon'' \quad (1)$$

Les parties réelle ϵ' et imaginaire ϵ'' ne sont en général pas constantes. Elles peuvent dépendre de la fréquence, mais aussi de la température, de l'humidité [1], [5].

Sens physique

Si on considère que le matériau de permittivité $\epsilon' - j*\epsilon''$ est placé entre deux armatures planes de façon à former un condensateur (voir Figure 1), on forme alors un dipôle d'admittance Y.

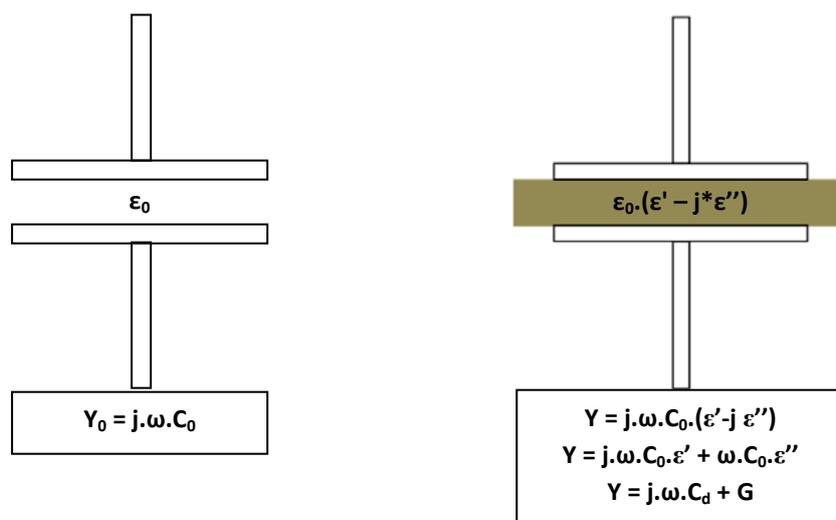


Figure 1 : Capacité d'admittance Y_0 formée par deux armatures et l'air comme diélectrique. Capacité d'admittance Y formée par deux armatures et un diélectrique de permittivité relative $\epsilon' - j*\epsilon''$.

La partie réelle de la permittivité ϵ' détermine la partie capacitive de l'admittance Y tandis que et la partie imaginaire de la permittivité ϵ'' détermine la partie conductive (pertes) de Y .

A titre indicatif, on définit également la tangente d'angle de pertes, notée $\tan(\delta)$, égale au rapport de la partie imaginaire de la permittivité complexe sur la partie réelle :

$\tan(\delta) = \frac{Re(Y)}{Im(Y)} = \frac{\omega \cdot C_0 \cdot \epsilon''}{\omega \cdot C_0 \cdot \epsilon'} = \frac{\epsilon''}{\epsilon'}$	(2)
--	-----

Permittivité des fluides aqueux dans le domaine hyperfréquence

La Figure 2 montre des mesures dans la bande [0 ; 40] GHz de la permittivité complexe l'eau déionisée (DI). Les mesures ont été effectuées par une technique de caractérisation bande large sur des lignes coplanaires développée au sein de l'équipe MH2F du LAAS-CNRS [6].

Ces spectres montrent une propriété intéressante : les fluides aqueux réagissent fortement au champ électrique dans la gamme hyperfréquence, et particulièrement entre 10 et 30 GHz. En effet, les spectres de la partie imaginaire de la permittivité de l'eau (et donc des solutions aqueuses) présentent dans cette gamme des contrastes maximum par rapport à l'air ($\epsilon''=0$), se traduisant ainsi un impact maximal sur le fonctionnement des biocapteurs hyperfréquences.

C'est cette propriété qui justifie l'intérêt des biocapteurs hyperfréquences pour les liquides biologiques. Si on doit choisir une fréquence de fonctionnement pour investiguer les propriétés des fluides aqueux, on doit se situer dans la gamme [10 ; 30] GHz, gamme de fréquence dans laquelle les fluides réagissent le plus fortement au champ électrique.

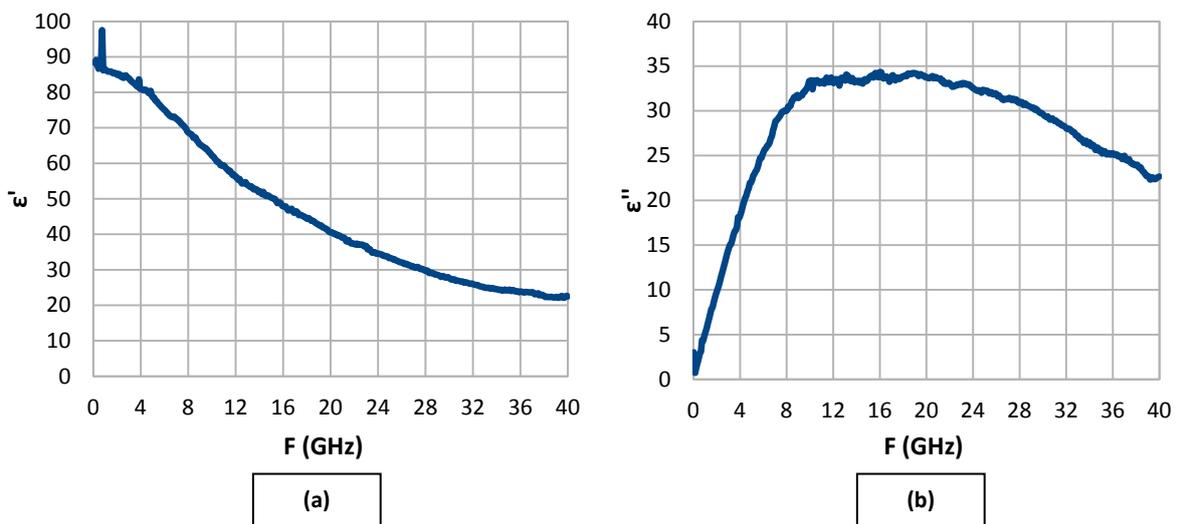


Figure 2 : Partie réelle ϵ' (a) et partie imaginaire ϵ'' (b) de la permittivité complexe de l'eau déionisée dans la bande [0 ; 40] GHz

II.2. Principe de fonctionnement du biocapteur résonant

Le fonctionnement d'un biocapteur hyperfréquence microfluidique résonant repose sur l'interaction entre l'échantillon de fluide sous test et le champ électrique à la fréquence de résonance de la structure. L'insertion d'un fluide dans la structure résonante modifie localement la permittivité complexe, modifiant en conséquence la réponse électrique du résonateur.

Un résonateur non idéal (c'est-à-dire présentant des pertes) est caractérisé par une fréquence de résonance complexe, notée f^* :

$$f^* = f_0 - j \times f_B = f_0 - j \times \frac{f_0}{Q_L} \quad (3)$$

où f_0 est la fréquence centrale (fréquence correspondant un minimum/maximum de transmission dans le cas d'un résonateur de type coupe-bande/passe-bande) et f_B , la bande passante à -3 dB. La Figure 3 illustre les grandeurs f_0 et f_B sur la réponse en transmission ($S_{21}(\text{freq})$) d'un stub coplanaire. Dans le langage usuel, f_0 est souvent appelée fréquence de résonance et f_B bande passante à -3 dB / bande rejetée à -3 dB pour des résonateurs de type passe-bande/coupe-bande respectivement.

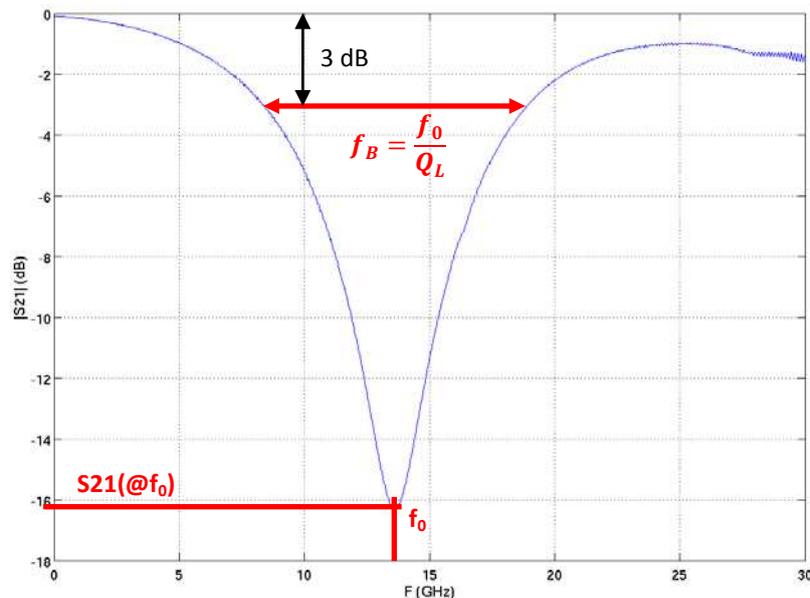


Figure 3 : Réponse en transmission d'un résonateur de type coupe-bande. Illustration des grandeurs f_0 et f_B .

La méthode des perturbations [7] permet d'établir une relation entre les écarts relatifs de fréquence de résonance complexe et les variations de permittivité complexe dues à l'introduction dans la structure résonante de deux fluides de nature différente. Le premier fluide constitue une référence, connue en termes de permittivité. Le deuxième est le fluide à évaluer. Il introduit une perturbation par rapport à l'état de référence. On note $\Delta\varepsilon^*$ l'écart de permittivité complexe entre le liquide de référence et le liquide à évaluer. La théorie des perturbations donne l'écart relatif de

fréquence de résonance complexe $\frac{\Delta f^*}{f^*}$ en fonction de l'écart de permittivité complexe $\Delta \varepsilon^*$ entre les deux fluides et les champs électrique et magnétique dans les volumes de la structure :

$$\frac{\Delta f^*}{f^*} = \frac{\iiint_{V_f} \Delta \varepsilon^* \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 d\tau}{\iiint_{V_t} (\varepsilon^* \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 + \mu_0 |\vec{H}|^2) d\tau} \quad (4)$$

V_t désigne le volume total du résonateur, c'est-à-dire le volume occupé par le champ électrique. Pour un résonateur fermé (ex : cavité résonante), V_t est naturellement le volume du résonateur. Pour un résonateur ouvert (ex : résonateurs implémentés dans des guides d'ondes coplanaires ou microstrips), le volume est choisi suffisamment grand pour que la norme du champ électrique à l'extérieur de V_t soit négligeable devant la norme maximale du champ électrique dans la structure résonante. En procédant ainsi, la méthode des perturbations peut être appliquée à des résonateurs ouverts sans perte significative de précision. V_f désigne quant à lui le volume du fluide sous test. ε_0 et μ_0 désignent respectivement la permittivité et la perméabilité du vide (à noter qu'on ne considère ici que des matériaux non magnétiques ; la perméabilité des matériaux est donc égale à μ_0) ; \vec{E} et \vec{H} désignent les champs électrique et magnétique en présence du liquide de référence. Dans le cadre de la théorie des perturbations, on fait en effet l'hypothèse que la perturbation introduite par le liquide à tester est suffisamment faible pour ne modifier que l'énergie stockée dans la structure et non les champs \vec{E} et \vec{H} . ε^* et f^* désignent respectivement la permittivité complexe du liquide de référence et la fréquence de résonance complexe lorsque le résonateur est chargé par ce fluide de référence.

En faisant l'hypothèse que $\Delta \varepsilon^*$ est constant dans tout le volume de fluide,

$$\frac{\Delta f^*}{f^*} \approx \Delta \varepsilon^* \cdot \frac{\varepsilon_0 \cdot V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{\iiint_{V_t} (\varepsilon' \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 + \mu_0 |\vec{H}|^2) d\tau - j \cdot \iiint_{V_t} \varepsilon'' \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 d\tau} \quad (5)$$

où :

- $\iiint_{V_t} (\varepsilon' \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 + \mu_0 |\vec{H}|^2) d\tau$ représente l'énergie électromagnétique totale dans le résonateur (terme noté E_{em} dans la suite) en présence du liquide de référence, et
- $\iiint_{V_t} \varepsilon'' \varepsilon_0 |\vec{E}|^2 d\tau$ représente les pertes totales (pertes dans le résonateur ; pertes dans le fluide ; terme noté P dans la suite) en présence du liquide de référence.
- $|\vec{E}|_{moy}^2$ est la moyenne dans le volume du fluide du carré de la norme du champ électrique.

En notant :

$$K = \frac{\varepsilon_0 \cdot V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em} - j \cdot P} \quad (6)$$

On a ainsi :

$$\frac{\Delta f^*}{f^*} = K \cdot \Delta \varepsilon^* \quad (7)$$

En négligeant P devant E_{em} , on a :

$$K \approx \frac{\varepsilon_0 \cdot V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}} \quad (8)$$

De plus :

$$\frac{\Delta f^*}{f^*} = \frac{\Delta f_0}{f_0} - j\Delta\left(\frac{1}{Q_L}\right) \quad (9)$$

En égalisant les parties réelles et imaginaires des équations (7) et (9), on obtient les deux égalités suivantes :

$$\frac{\Delta f_0}{f_0} = K \cdot \Delta \varepsilon' = \varepsilon_0 \cdot \Delta \varepsilon' \cdot \frac{V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}} \quad (10)$$

Et :

$$\Delta\left(\frac{1}{Q_L}\right) = K \cdot \Delta \varepsilon'' = \varepsilon_0 \cdot \Delta \varepsilon'' \cdot \frac{V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}} \quad (11)$$

Ces deux équations montrent que pour maximiser la sensibilité du capteur, il faut :

- Placer les liquides en zone de champ électrique maximal : ce qui a pour effet d'augmenter $|\vec{E}|_{moy}^2$ mais diminuera Q_L .
- Augmenter, proportionnellement au volume du résonateur, le volume de fluide en interaction avec le champ électrique : ce qui a pour effet d'augmenter ce qu'on pourrait appeler un facteur de remplissage : $K = \frac{\varepsilon_0 \cdot V_f \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}}$. Ce facteur K juge la part d'énergie électromagnétique dans le liquide à caractériser sur l'énergie totale dans le résonateur, d'où le terme de « remplissage de l'énergie électromagnétique dans le microcanal ».

Le paragraphe suivant présente le dispositif développé pour exploiter les deux principes énoncés ci-dessus et mener des analyses sur des fluides aqueux par ondes hyperfréquences.

II.3. Présentation du dispositif hyperfréquence microfluidique

Afin d'exploiter le principe de fonctionnement décrit dans le paragraphe précédent, un capteur hyperfréquence microfluidique miniature résonant a été conçu, modélisé et fabriqué [8]. En plus de permettre le couplage entre le champ électromagnétique et l'échantillon de fluide sous test, le dispositif devait répondre aux contraintes suivantes :

Pour le résonateur hyperfréquence :

- Résonance à vide de l'ordre de 20 GHz. La fréquence de résonance du capteur chargé par des fluides aqueux doit ainsi se situer autour de 15 à 18 GHz, gamme de fréquence dans laquelle les fluides aqueux réagissent fortement au champ électrique (cf. paragraphe II.1. Permittivité).
- Les dimensions du circuit doivent être compatibles avec d'éventuelles applications « lab-on-a-chip ». Cette contrainte exclut ainsi les résonateurs 3D de type « résonateur diélectrique » et « cavité résonante » pour leur préférer des résonateurs planaires (technologies coplanaire ou microruban) quasi-2D et de dimensions peu encombrantes (quelques millimètres carrés).

Pour les structures microfluidiques :

- Le placement du fluide doit être contrôlable et reproductible pour éviter toutes variations de résultats de mesures dues à des variations de position du fluide en interaction avec le champ.
- Le volume du fluide en interaction avec le champ électromagnétique doit être également reproductible afin d'éviter toutes variations de résultats de mesures dus simplement à des variations de volume d'un même fluide sous test.
- Le dispositif doit permettre d'éviter au maximum les phénomènes d'évaporation de fluide pendant la mesure.

L'architecture du détecteur est donc constituée d'un résonateur de type quart d'onde implémenté dans un guide d'onde coplanaire. Le substrat est en quartz (matériau à très faibles pertes diélectriques). Les conducteurs sont en or ; métal ne s'oxydant pas et présentant une bonne conductivité. La structure microfluidique est constituée d'un microcanal en polymère (PDMS – PolyDiMéthylSiloxane) assemblé sur la face supérieure du dispositif, perpendiculairement au guide d'onde hyperfréquence. Bien qu'originellement exclusivement utilisé en microfluidique, il a été démontré que les propriétés diélectriques du PDMS sont compatibles avec son utilisation dans des dispositifs hyperfréquences [9, 10]. Une telle structure permet ainsi de guider le fluide sous test vers la zone de détection. Le positionnement du fluide, ainsi que son volume, sont ainsi totalement maîtrisés. Le microcanal est, en outre, quasiment fermé (à part aux entrées et sorties fluidiques), réduisant ainsi l'évaporation des fluides sous test. La Figure 4 montre une représentation symbolique de l'architecture du biocapteur.

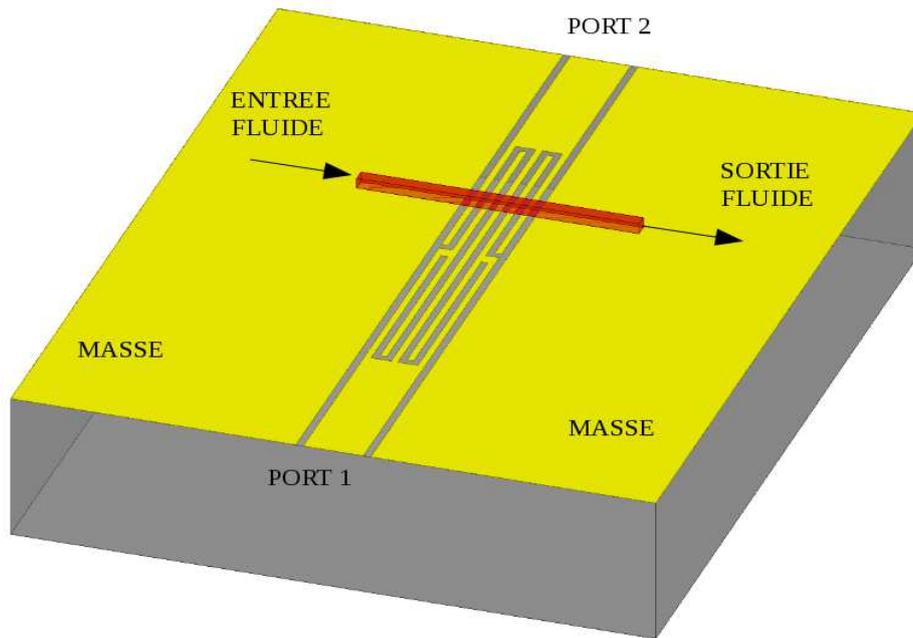


Figure 4 : Vue schématique du biocapteur.

La Figure 5 montre les dimensions principales du résonateur hyperfréquence.

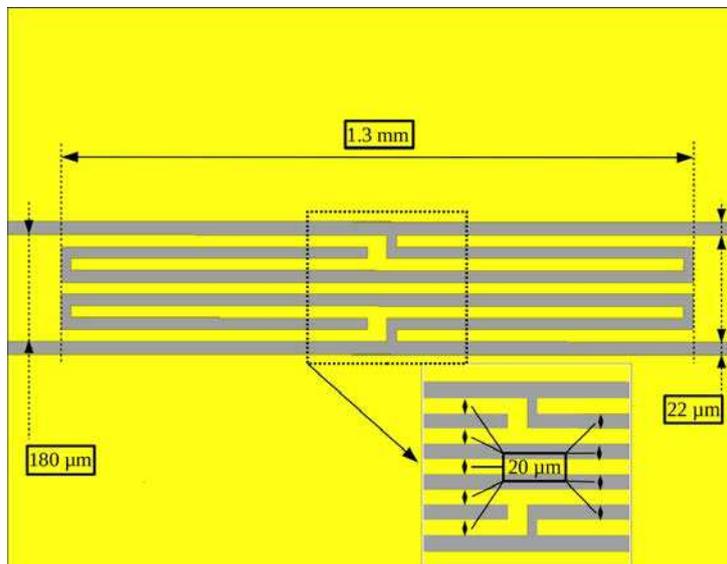


Figure 5 : Vue de dessus du résonateur hyperfréquence avec dimensions principales.

Un tel dispositif hyperfréquence présente une zone où le champ électrique atteint une intensité élevée à la fréquence de résonance. Ce phénomène est illustré sur la Figure 6 où un code couleur permet d'évaluer la norme du champ électrique. Les zones en rouge sont les zones de plus forte intensité du champ électrique.

Le fonctionnement du dispositif repose sur l'interaction entre le champ électrique et l'échantillon du fluide sous test. C'est donc dans la zone de « champ fort » que le canal microfluidique est placé, comme le montre également la Figure 6.

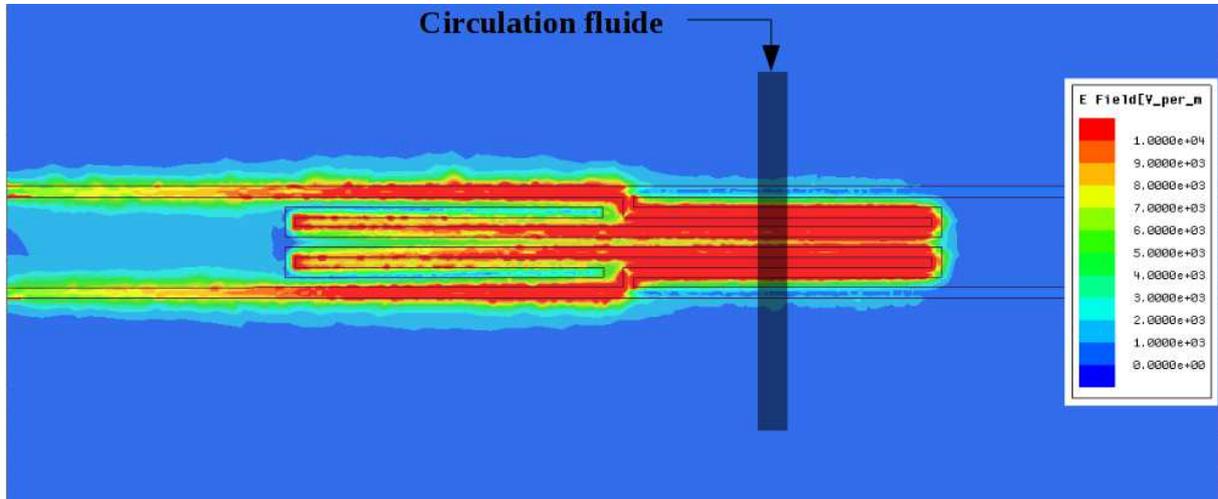


Figure 6 : Simulation de la norme du champ électrique à la fréquence de résonance avec représentation symbolique du canal microfluidique.

L'introduction de deux fluides de nature différente dans le microcanal (l'un servant de fluide de référence ; l'autre étant le fluide à caractériser) vient perturber la permittivité complexe du volume intérieur du microcanal. Ces variations des caractéristiques électriques du milieu de propagation se traduisent par une modification de la réponse en transmission (spectre $S_{21}(\text{freq})$) du résonateur. La Figure 7 montre ces variations pour deux fluides standards : l'air et l'eau déionisée (eau DI).

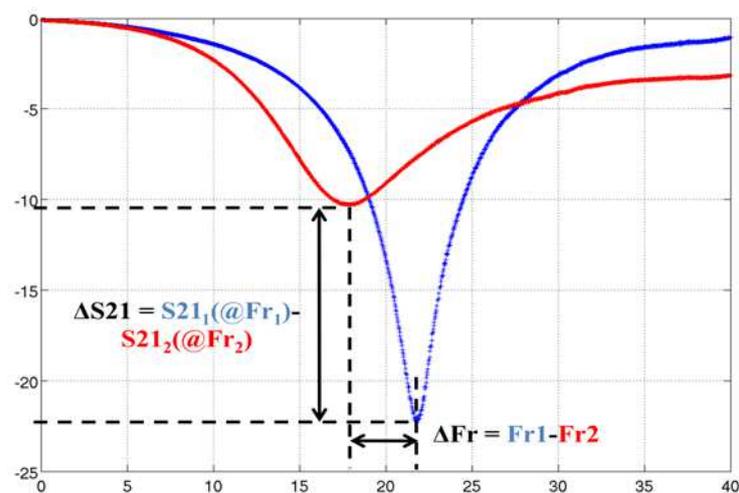


Figure 7 : Réponse en transmission du résonateur dans la bande [0 ; 40] GHz pour deux fluides : air (courbe bleue « vide ») et eau DI (courbe rouge « eau DI »).

La courbe bleue décrit la réponse en transmission du résonateur lorsque le microcanal est vide (c'est-à-dire rempli d'air). Le résonateur est alors caractérisé par une fréquence de résonance Fr_1 et une réjection à la fréquence de résonance $S21_1(@Fr_1)$. La courbe rouge donne la réponse en transmission du même résonateur lorsque le canal microfluidique est rempli d'eau DI. Le dispositif est alors caractérisé par une nouvelle fréquence de résonance Fr_2 et une nouvelle réjection à la résonance $S21_2(@Fr_2)$.

Deux fluides de nature différente, présentant donc des écarts de permittivité complexe $\Delta\epsilon^* = \Delta\epsilon' - j.\Delta\epsilon''$ induisent des variations $\Delta Fr = Fr_2 - Fr_1$ (écart de fréquence de résonance), $\Delta S21 = S21_2(@Fr_2) - S21_1(@Fr_1)$ (écart de réjection à la résonance) sur la réponse du biocapteur hyperfréquence. L'objectif de l'étude présentée dans le paragraphe III est ainsi d'établir un lien entre les indicateurs ΔFr , $|\Delta S21|$ (caractéristiques du biocapteur) et les écarts de permittivité complexe $\Delta\epsilon^*$ (caractéristiques des fluides), de façon à investiguer la nature des différents liquides sous test.

La Figure 8 résume le principe de fonctionnement du biocapteur et son emploi pour l'analyse de liquides :

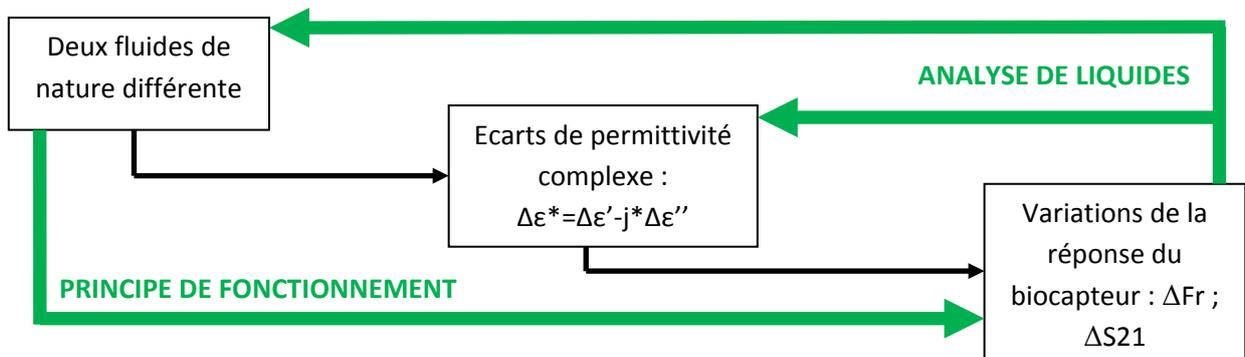


Figure 8 : Description du principe de fonctionnement du biocapteur hyperfréquence microfluidique.

II.4. Fabrication du prototype en centrale de microtechnologie

Un prototype du biocapteur présenté dans le paragraphe précédent a été fabriqué en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS.

La fabrication du prototype se découpe en deux phases distinctes. Les circuits hyperfréquences (résonateurs) et les structures microfluidiques sont fabriqués séparément. Le procédé de fabrication des résonateurs hyperfréquences est basé sur un lift-off d'une couche or de 300 nm.

Après nettoyage d'un wafer de quartz dans un mélange RT2 (mélange sulfochromique) puis à l'aide d'un plasma oxygène intense (a), un promoteur d'adhérence et une résine de type ECI 3012 (épaisseur = 2.5 μm) sont enduits sur la plaque. La résine est ensuite insolée puis révélée (b). Une couche de titane (10 nm) et une couche d'or (300 nm) sont ensuite évaporées en pleine plaque par CVD (c). Le titane permet une meilleure adhérence de la couche d'or sur le substrat en quartz. Les zones métallisées indésirables sont ensuite éliminées par lift-off dans un bain d'acétone (d). L'utilisation d'ultrasons peut aider à faciliter le lift-off.

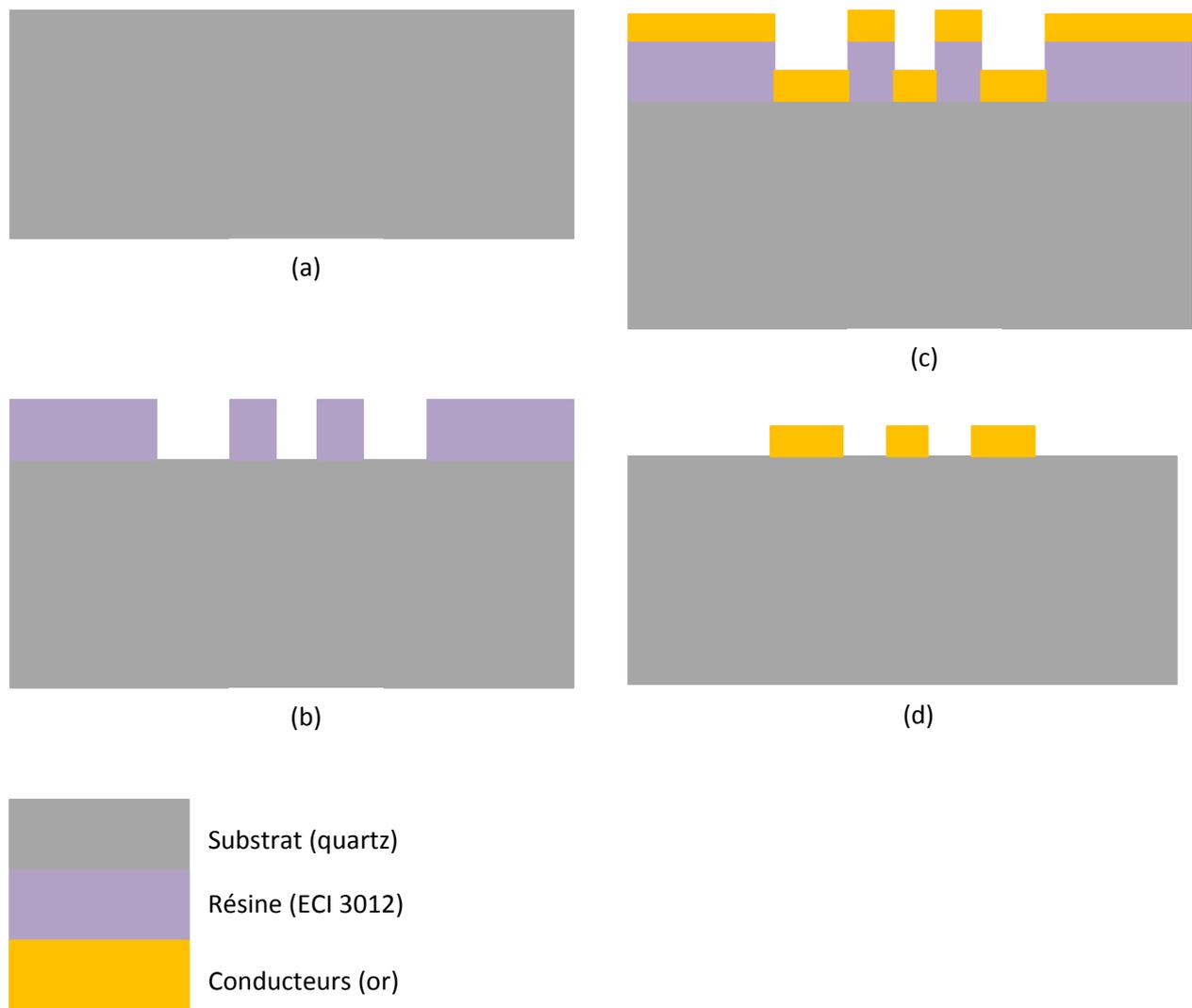


Figure 9 : Illustration des différentes étapes de fabrication des résonateurs hyperfréquences.

La Figure 9 illustre les différentes étapes de la fabrication des résonateurs hyperfréquences.

Il existe ensuite deux méthodes différentes pour la fabrication des structures microfluidiques. La première consiste à fabriquer les microcanaux en PDMS (PolyDiMéthylSiloxane) par moulage dans une matrice en silicium. Dans ce cas, les structures microfluidiques sont fabriquées indépendamment des résonateurs hyperfréquences et peuvent être assemblées une par une sur les résonateurs hyperfréquences, en fonction du besoin. On peut ainsi tester des dispositifs un par un, en ajustant éventuellement le placement des canaux microfluidiques. Cette technique présente néanmoins un inconvénient : les structures étant assemblées à la main, le placement est précis à quelques micromètres près sur les résonateurs.

La deuxième méthode consiste à fabriquer les structures en SU8 par un procédé photolithographique classique avec alignement sur la couche métallique inférieure. Cette technique permet d'obtenir une bien meilleure précision. Cependant, tous les canaux microfluidiques sont

fabriqués en une seule étape. Cette méthode est utilisée lorsque tous les tests préalables ont été effectués.

Procédé de fabrication des structures microfluidiques en PDMS

La première étape consiste à fabriquer le moule en silicium.

Après nettoyages successifs dans un mélange à 50 % en volume d'eau oxygénée H_2O_2 et 50 % d'acide sulfurique H_2SO_4 puis dans une solution tampon d'acide fluorhydrique, la plaque de silicium est passée dans un plasma oxygène à 800 watts pendant 15 minutes puis dans une étuve de déshydratation pendant 15 minutes supplémentaires (a). Un promoteur d'adhérence (HMDS) est ensuite enduit sur la plaquette, suivi par l'enduction d'une couche de 20 μm de résine AZ40XT. La plaque est ensuite insolée puis révélée (b). Les empreintes des structures microfluidiques dans le substrat de silicium sont ensuite réalisées par gravure DRIE (Deep Reactive Ion Etching) (c). Les résidus de résine sur le moule sont ensuite éliminés par délaquage à l'aide d'un plasma oxygène à forte puissance (800 watts sans cage de Faraday dans l'enceinte plasma) pendant une quinzaine de minutes. La dernière étape de préparation du moule en silicium consiste à rendre la surface hydrophobe afin de faciliter ensuite le démoulage des structures microfluidiques en polymère. Pour ce faire, la plaque de silicium est plongée une dizaine de minutes dans un bain de trichloroéthylène auquel sont ajoutés quelques millilitres d'OTS (OctadécylTrichloroSilane, un composé organométallique) (ratio 10 :1 en volume). Après rinçage et séchage, le moule de silicium est opérationnel.

Les structures microfluidiques sont fabriquées en réalisant un mélange de PDMS et d'agent polymérisant, déposé ensuite sur le moule de silicium. La polymérisation est favorisée en plaçant le tout dans une étuve à 75 °C pendant 50 minutes (d). Les structures microfluidiques en PDMS sont ensuite séparées (e) du moule en silicium et assemblées (f) sur les résonateurs hyperfréquences à l'aide de plasmas oxygène d'activation.

Cette dernière étape clôt la fabrication des biocapteurs hyperfréquences microfluidiques. La Figure 10 illustre les différentes étapes de la fabrication des structures microfluidiques jusqu'à l'assemblage sur les structures hyperfréquences.

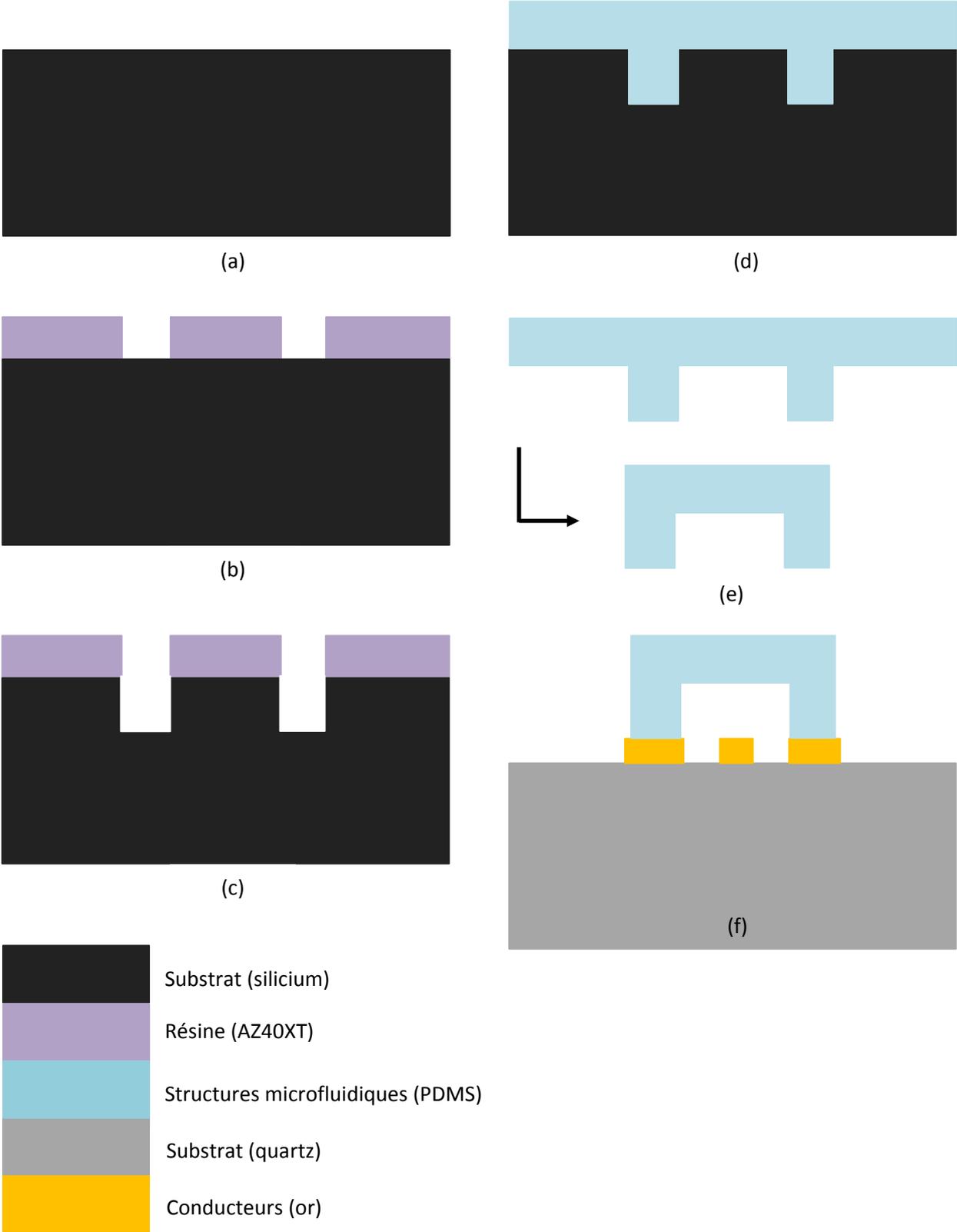


Figure 10 : Illustration des différentes étapes de fabrication des structures microfluidiques jusqu'à l'assemblage sur les circuits hyperfréquences.

Procédé de fabrication des structures microfluidiques en SU8

Les structures microfluidiques en SU8 sont réalisées par photolithographie directement sur les structures hyperfréquences. On reprend alors une plaque qui a suivi toutes les étapes de fabrication décrites dans le paragraphe II.4. et repérées de a) à d).

La surface de la plaque est préparée par plasma oxygène à faible puissance (200 watts pendant 2 min). La plaque est ensuite passée dans une étuve de déshydratation. L'élimination des molécules d'eau en surface améliore l'adhérence de la SU8.

La SU8 de type 3050 est utilisée pour réaliser les parois des structures microfluidiques. L'enduction et le pré-recuit sont réalisés sur une machine d'enduction et de développement automatique (EVG 120) (a). La couche de SU8 est ensuite insolée à la longueur d'onde $\lambda = 365$ nm. Cette étape doit être immédiatement suivie d'une étape de recuit post-insolation (PEB – Post-Exposure Bake). La résine SU8 ne supportant pas les brusques variations de température, le recuit est réalisé sur une plaque chauffante automatique permettant de programmer des rampes de montée en température contrôlées. La Figure 11 montre le profil en température optimal pour réaliser cette étape de recuit post-insolation : soit une montée en température de 10 °C/min, un plateau fonction de l'épaisseur de SU8 déposée et du type de recuit (PEB ou hardbake) et une descente en température progressive pour revenir à la température ambiante.

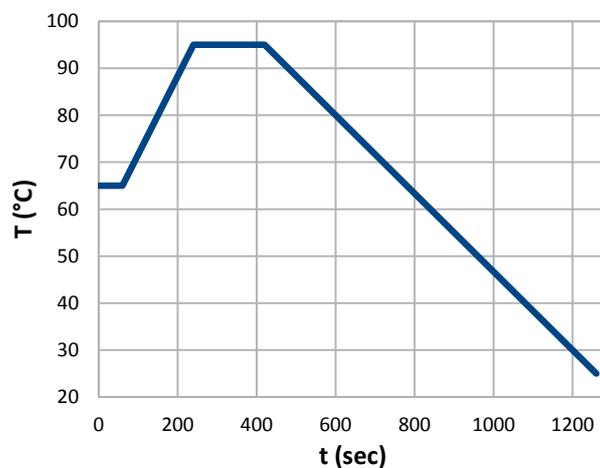


Figure 11 : Profil de température optimal pour réaliser le recuit post-insolation

La révélation est faite à l'aide du solvant « SU8 developer ». Un temps de développement de 15 minutes minimum est nécessaire mais pas critique, la SU8 n'est pas une résine sensible au sur-développement (b). Le rinçage se fait ensuite à l'isopropanol. Un recuit final est ensuite nécessaire. A nouveau, des rampes en température contrôlées sont incontournables. Le recuit est donc fait sur des plaques chauffantes automatiques. Le profil en température nécessaire est donné par la Figure 12.

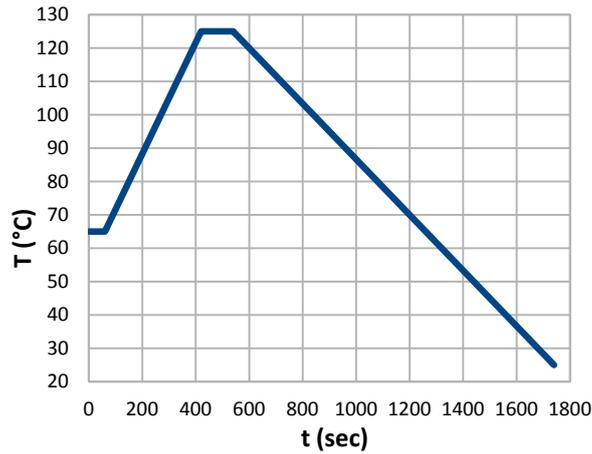


Figure 12 : Profil de température optimal pour réaliser le recuit final (hard-bake)

La Figure 13 illustre les différentes étapes de la fabrication des structures microfluidiques en SU8 par photolithographie.

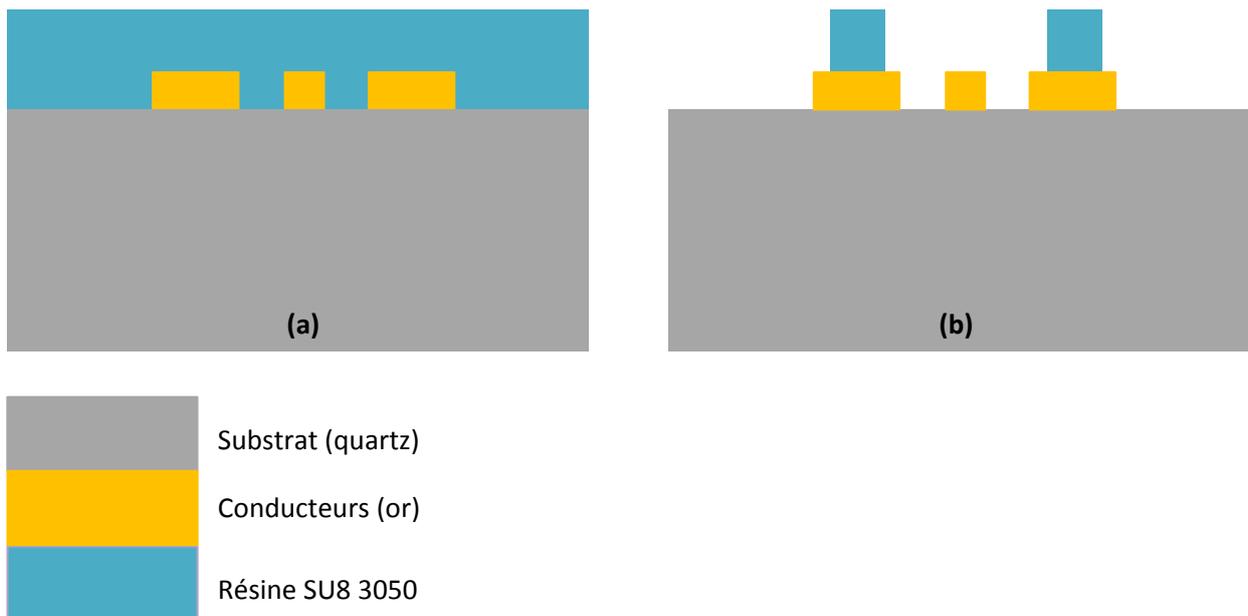


Figure 13 : Illustration des étapes de fabrication des structures microfluidiques en SU8.

La Figure 16 montre une vue d'ensemble d'un biocapteur fabriqué selon ce procédé.

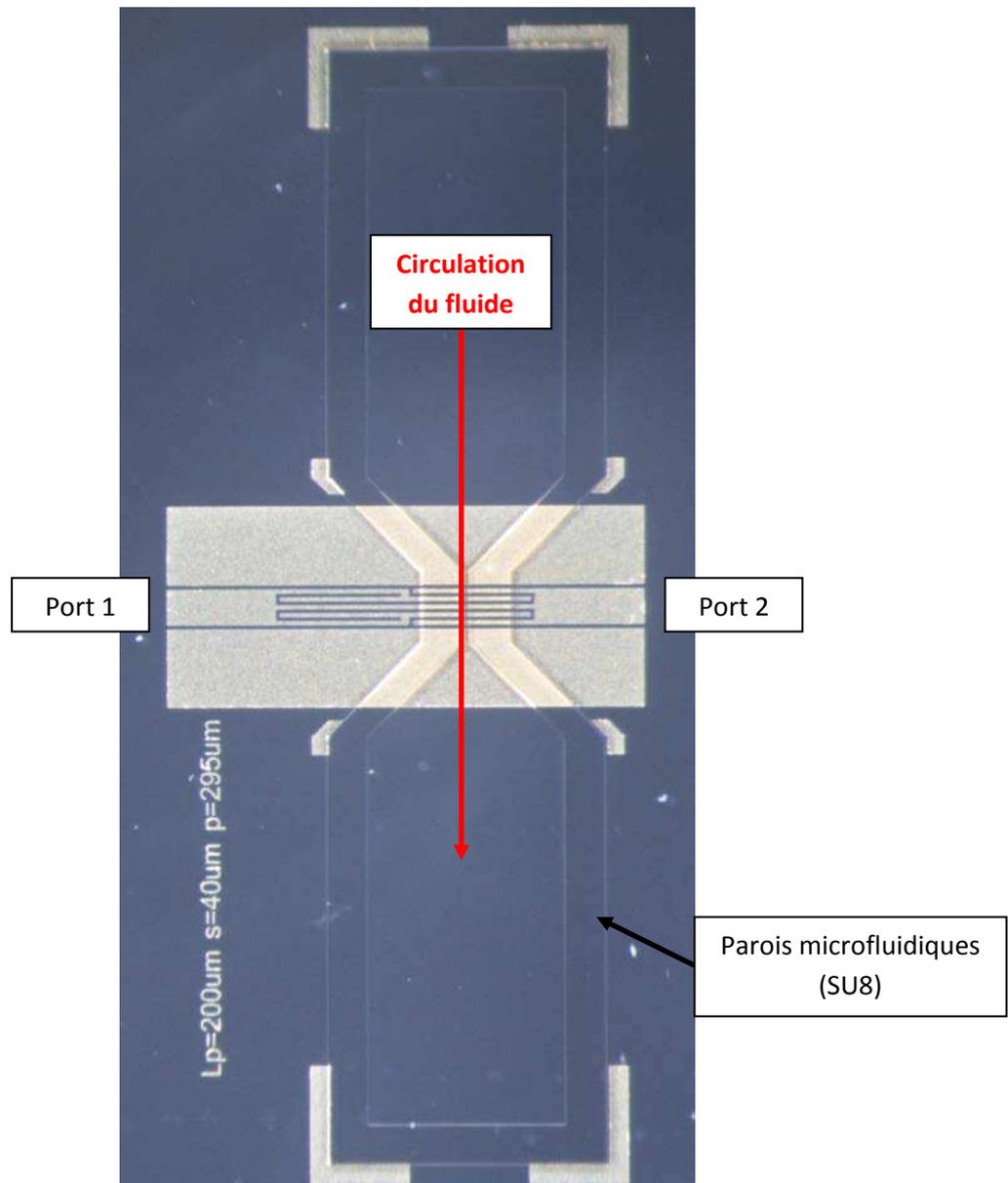


Figure 14 : Photographie du prototype du biocapteur hyperfréquence microfluidique fabriqué en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS.

II.5 Mesure des indicateurs de sortie

Comme la montre la Figure 15, les spectres mesurés sur les biocapteurs hyperfréquences résonants sont entachés d'un certain niveau de bruit. Une méthodologie de détermination des indicateurs de sortie (fréquence de résonance, réjection à la résonance), doit être développée de façon à être robuste face à la présence de ce bruit.

II.5.a. Fréquence de résonance

La détermination de la fréquence de résonance peut être faite en sélectionnant le point « médian » à partir de l'ensemble des points de mesure constituant le pic de résonance. Ce principe est illustré sur la Figure 15.

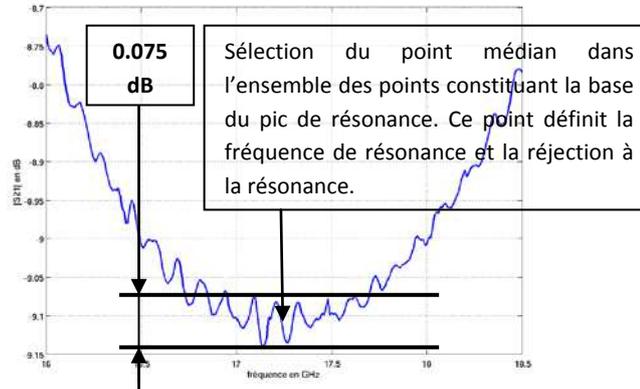


Figure 15 : Détermination de la fréquence de résonance et de la réjection à la résonance à partir du point médian dans l'ensemble des points constituant la base du pic de résonance.

Ce principe présente néanmoins un inconvénient : il nécessite un grand nombre de points de mesure autour de la fréquence de résonance pour rendre sa détermination aussi précise que possible. Les dispositifs présentés dans ce chapitre ont montré des sensibilités de l'ordre de 4 MHz/(g/L) sur des mélanges eau/glucose dont la concentration variait dans la gamme 0.5 – 50 g/L. L'objectif étant de mesurer des concentrations en glucose de l'ordre de la glycémie humaine, un tel niveau de sensibilité requiert un pas fréquentiel en mesure de l'ordre du mégahertz. Si l'on souhaite mener des mesures en bande large (typiquement 0 – 40 GHz), 40 000 points sont alors nécessaires. Le matériel utilisé (analyseur de réseau vectoriel) ne permet pas de procéder avec autant de points, et même si c'était possible, le temps de balayage serait beaucoup trop long.

Afin d'éviter tout compromis entre le nombre de points de mesure et la largeur de la bande de fréquence, la détermination de la fréquence de résonance peut être effectuée par régression sur les spectres mesurés. La fonction servant de modèle à la régression est la forme canonique de la fonction de transfert d'un réjecteur d'ordre 2 :

$$H(f) = \left| \frac{1 + j * \frac{f}{f_0 * Q_0} - \frac{f^2}{f_0^2}}{1 + j * \frac{f}{f_0 * Q_L} - \frac{f^2}{f_0^2}} \right| \quad (12)$$

où f_0 désigne la fréquence de résonance du réjecteur, Q_0 est le facteur de qualité hors charge (facteur de qualité hors circuit du résonateur) et Q_L est le facteur de qualité du réjecteur en charge. Une méthode par régression permet de déterminer la fréquence de résonance avec précision même avec un nombre réduit de points de mesures. La bande de fréquence peut alors être élargie à la gamme complète permise par l'analyseur de réseau et ainsi exploiter l'information présente sur tout le spectre (en particulier aux harmoniques de la fréquence de résonance fondamentale).

La Figure 16 montre la fréquence de résonance renvoyée par l’algorithme du « point médian » et la fréquence de résonance renvoyée par optimisation sur 30 fichiers de mesure (il s’agit du biocapteur présenté sur la Figure 16 et chargé par de l’eau déionisée). Le pas fréquentiel est de 12 MHz.

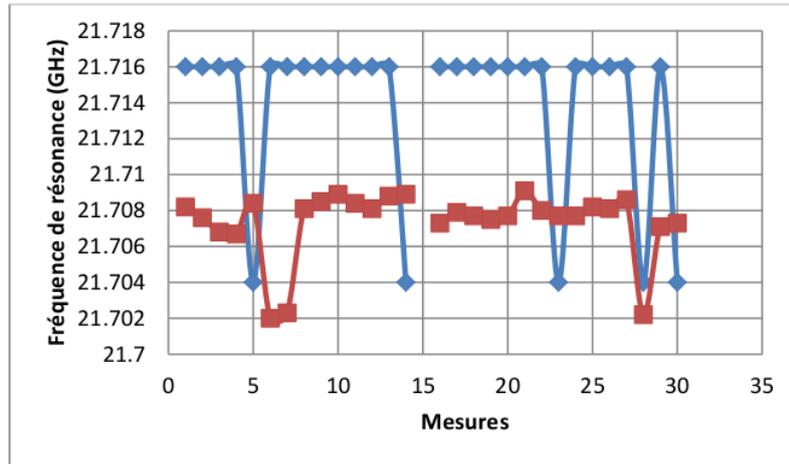
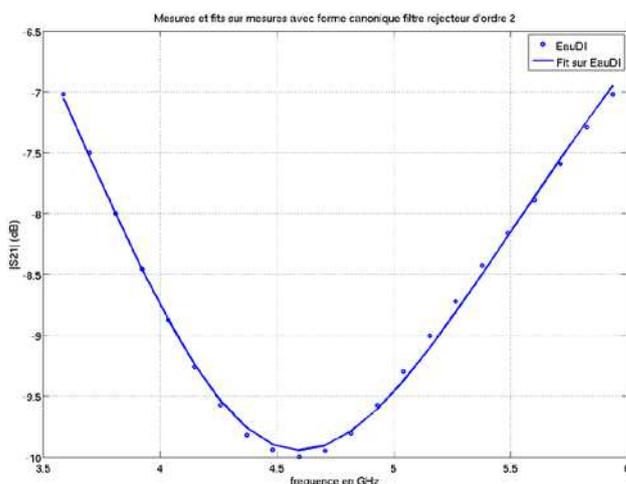


Figure 16 : Fréquence de résonance déterminée par l’algorithme retournant un point médian (diamants bleus) et par fit (points rouges) sur 30 mesures de 30 échantillons d’eau DI.

La Figure 16 montre l’algorithme du « point médian » renvoie une fréquence de résonance qui correspond à un point de mesure et accroche tour à tour deux fréquences séparées d’un pas fréquentiel. L’écart de fréquence de résonance minimum mesurable est donc de 12 MHz. La méthode par régression renvoie quant à elle des valeurs de fréquences de résonance intermédiaires entre les différents de points de mesure. Elle permet ainsi de conserver une certaine précision de mesure même avec un nombre plus réduit de points dans les spectres. C’est donc cette approche qui sera privilégiée dans la suite des mesures. A titre d’exemple, la Figure 17 donne un exemple de spectre S21 mesuré sur un biocapteur chargé par de l’eau déionisé et l’optimisation réalisée sur ce spectre à partir de la forme canonique du réjecteur d’ordre 2.



Fr (GHz)	4.6
S21 (@Fr) (dB)	-9.94
Q0	2.2
QL	0.7

Figure 17 : Exemple d’optimisation réalisée sur le spectre en transmission (S21) d’un biocapteur chargé par de l’eau déionisée. Les disques représentent le spectre mesuré ; le fit apparaît en trait continu.

II.5.b. Réjection à la résonance

Dans le cadre de la théorie des perturbations, les deux indicateurs « naturels » pour mesurer des variations de permittivité complexe sont la fréquence de résonance et le facteur de qualité. Cependant, le facteur de qualité n'est pas une grandeur aussi directe à mesurer que la fréquence de résonance. En effet, la fréquence de résonance correspond à un point dans un spectre alors que le facteur de qualité correspond à une forme de courbe. Sa mesure directe est même parfois impossible lorsque les pertes d'insertion sont supérieures à -3 dB (ce qui n'est pas rare pour des résonateurs chargés par des fluides à pertes comme les solutions aqueuses). La détermination du facteur de qualité se fait donc à l'aide de la régression décrite dans la section précédente.

Afin d'utiliser un deuxième indicateur aussi direct à mesurer que la fréquence de résonance, on propose dans la suite d'utiliser la norme (échelle linéaire) de la réjection à la fréquence de résonance $|S_{21}|(@Fr)$ (notée plus simplement S_{21} dans la suite du chapitre) à la place du facteur de qualité. On montre ci-dessous que les variations de la norme de la réjection à la résonance sont égales aux variations du facteur de qualité, à une constante multiplicative près, et peut donc être substituée à $\Delta\left(\frac{1}{Q_L}\right)$ dans la théorie des perturbations pour déterminer $\Delta\varepsilon''$.

En effet, pour un filtre réjecteur, on a :

$$S_{21} = \frac{Q_L}{Q_0} \quad (13)$$

Ainsi :

$$\frac{1}{Q_L} = \frac{1}{S_{21} \cdot Q_0} \quad (14)$$

Et donc :

$$\Delta\left(\frac{1}{Q_L}\right) = \frac{1}{S_{21}^2 \cdot Q_0} \Delta(S_{21}) \quad (15)$$

On obtient les variations de S_{21} liées proportionnellement aux variations de $1/Q_L$:

$$\Delta(S_{21}) = S_{21}^2 \cdot Q_0 \cdot \Delta\left(\frac{1}{Q_L}\right) \quad (16)$$

Et d'après la théorie des perturbations développée au paragraphe II.2, on peut donc lier les variations de réjection à la résonance (échelle naturelle) avec les variations de la partie imaginaire de la permittivité complexe des fluides sous test :

$$\Delta(S_{21}) = S_{21}^2 \cdot Q_0 \cdot K \cdot \Delta\varepsilon'' \quad (17)$$

où K est le facteur de remplissage défini par l'équation (8).

III. Modélisation et validation expérimentale

III.1. Techniques de simulation du biocapteur

Le travail de modélisation du comportement du biocapteur hyperfréquence en fonction de la permittivité complexe des liquides a, dans un premier temps, été mené en simulation. Ce travail a été réalisé avec Ansys® HFSS™, un simulateur électromagnétique 3D.

La Figure 18 montre la modélisation géométrique du biocapteur :

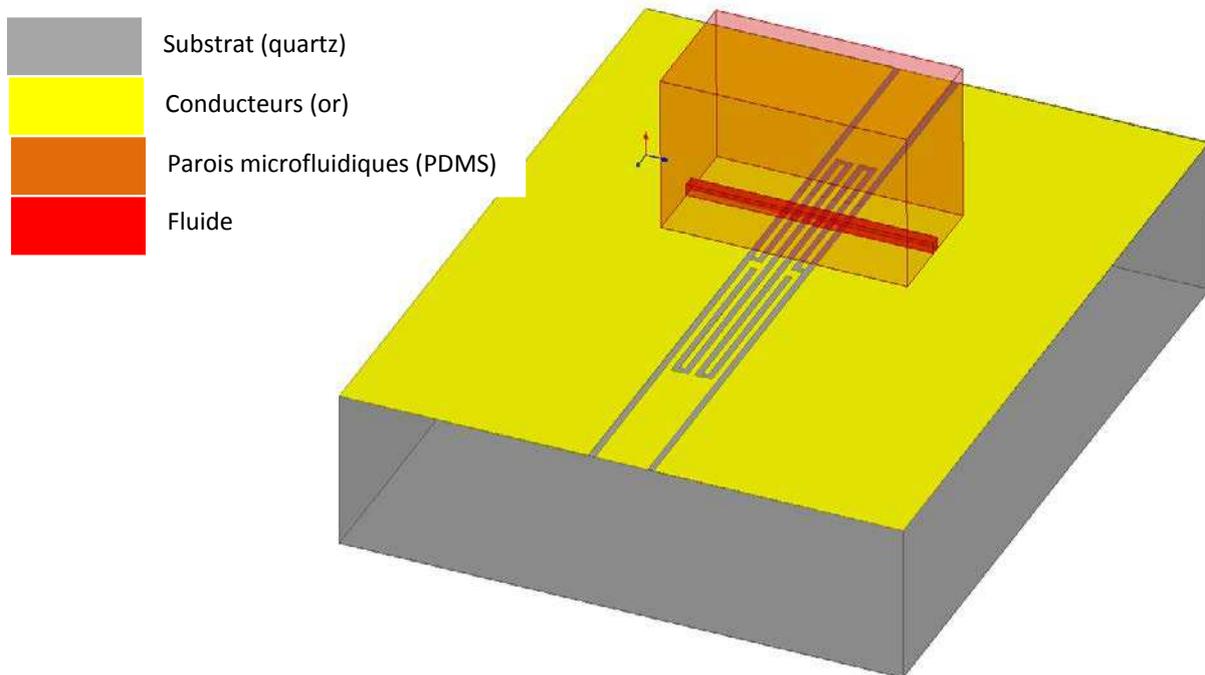


Figure 18 : Modélisation géométrique du biocapteur sous Ansys HFSS©.

La qualité et la précision des simulations réalisées sur un solveur tel qu'Ansys® HFSS™ dépendent du bon ajustement de nombreux paramètres. On peut répartir ces paramètres en deux classes :

- Les paramètres physiques réels : dimensions des différents éléments (résonateur quart d'onde, canal microfluidique, épaisseur réelle des conducteurs...), position exacte du canal microfluidique, permittivité diélectrique des matériaux,...
- Les paramètres propres au simulateur : dimensions des ports, fréquences auxquelles sont résolues les équations de Maxwell, choix des algorithmes de résolution des équations, conditions aux limites,....

Les paramètres physiques réels peuvent être évalués « facilement » en mesurant leur valeur directement sur les prototypes fabriqués. Pour ce qui est des paramètres propres au simulateur, il existe de nombreux guides fournis par Ansys® HFSS™ [11] pour les ajuster et ainsi optimiser les

simulations. Ces méthodes d'optimisation sont génériques à tout circuit hyperfréquence simulé sous Ansys® HFSS™ et nous ne nous proposons pas de les discuter dans le cadre de ce manuscrit.

Seules deux questions, propres à la simulation de dispositifs hyperfréquences microfluidiques, sont adressées dans ce paragraphe :

- *La prise en compte des pertes volumiques dans les conducteurs.*
En effet, dans le cas de circuits hyperfréquences microfluidiques pour lesquels l'épaisseur de métallisation est fine (quelques centaines de nanomètres), les pertes métalliques peuvent s'avérer non négligeables (notamment devant les pertes diélectriques introduites par les fluides) et non triviales à simuler. Cette question sera tranchée en comparant une mesure du dispositif chargé par de l'eau déionisée avec deux simulations du même dispositif : la première pour laquelle le maillage n'est réalisé que sur la surface des conducteurs (le courant surfacique étant ensuite considéré comme uniforme sur une épaisseur égale à l'épaisseur de peau δ) ; et la deuxième en considérant des conducteurs réels.
- *La prise en compte du caractère dispersif de la permittivité des fluides aqueux.*
En effet, la permittivité des fluides aqueux varie avec la fréquence (cf. Figure 2). Pour simuler un fluide, on peut donc envisager deux approches. La première consiste à négliger ce phénomène en modélisant le fluide par un volume dont la permittivité est constante. La deuxième approche exige de tenir compte de ce phénomène en définissant, fréquence par fréquence, la valeur de la permittivité complexe du fluide à l'aide d'un fichier de données lié à la simulation. De façon analogue, ces deux approches seront évaluées en comparant les résultats de simulation avec une mesure du dispositif chargé par de l'eau DI.

Conducteurs infiniment fins / conducteurs réels :

Par défaut, HFSS considère que la conduction dans les métaux est uniformément répartie dans le volume des conducteurs, sur une épaisseur appelée épaisseur de peau et notée δ :

$$\delta = \sqrt{\frac{2}{\omega \cdot \mu \cdot \sigma}} \quad (18)$$

où ω désigne la pulsation du courant en radians par seconde, μ la perméabilité du métal en henrys par mètre et σ sa conductivité en siemens par mètre.

Dans ce cas, HFSS ne maille pas le volume des conducteurs et considère une conduction surfacique. Le calcul des pertes dans les conducteurs est fait en utilisant la résistance de surface $R = \frac{1}{\sigma \delta}$.

Dans le cas de notre biocapteur, l'épaisseur de peau à 20 GHz est de l'ordre de :

$\delta = \sqrt{\frac{2}{2 * \pi * 20.10^9 * 4 * \pi.10^{-7} * 4.1.10^7}} \# 600 \text{ nm}$	(19)
--	------

Or, l'épaisseur des conducteurs pour nos biocapteurs est de l'ordre de 300 nm. La conduction a donc lieu dans tout le volume des conducteurs. Pour évaluer correctement les pertes métalliques, il est donc nécessaire de simuler les dispositifs en maillant le volume des conducteurs. La nécessité de prendre en compte ces pertes métalliques face aux pertes diélectriques introduites par les fluides aqueux, est évaluée de la façon suivante :

Deux simulations du dispositif chargé par de l'eau DI sont réalisées. La première est faite en considérant que la conduction est uniforme sur une épaisseur égale à δ (approche A - courbe rouge sur la Figure 19). La deuxième maille le volume des conducteurs (approche B - courbe verte sur la Figure 19). Ces deux simulations sont comparées à une mesure du même dispositif chargé par de l'eau déionisée (courbe bleue sur la Figure 19).

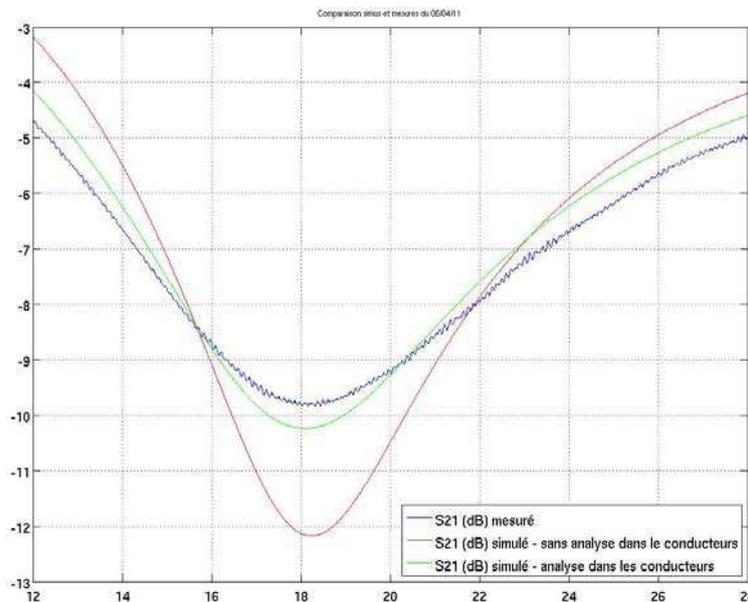


Figure 19 : Mesure (courbe bleue) et rétro-simulation du biocapteur présenté en Figure 16 en considérant une conduction surfacique (courbe rouge) et des conducteurs réels (courbe verte).

Le Tableau 1 compare la validité des deux méthodes de simulation en termes de précision sur la fréquence de résonance (F_r), la réjection à la fréquence de résonance ($|S_{21}(@F_r)|$) et les facteurs de qualité hors charge (Q_0) et en charge (Q_L).

Tableau 1 : Fiabilité des techniques de simulation A et B (approches A et B). Comparaison des fréquences de résonance, réjections à la résonance et facteurs de qualité hors et en charge simulés et mesurés.

Paramètres	Mesure	Approche A	Ecart relatif	Approche B	Ecart relatif
Fr (GHz)	18.18	18.25	0.39%	18.15	0.17%
S21(@Fr) (dB)	-9.84	-12.18	23.80%	-10.28	4.50%
Q0	2.23	4.02	80.30%	2.67	19.70%
QL	0.72	0.99	37.50%	0.82	13.90%

Cette étude montre qu'il est indispensable de mailler le volume des conducteurs, même en présence de liquides à fortes pertes diélectriques, si on souhaite simuler avec précision le facteur de qualité et la réjection à la fréquence de résonance du biocapteur hyperfréquence microfluidique.

Permittivité constante / permittivité dépendante de la fréquence.

La permittivité diélectrique complexe des fluides aqueux varie avec la fréquence (cf. paragraphe II.1). La Figure 2 montre, par exemple, que la partie réelle de la permittivité de l'eau déionisée varie de 48 à 40 sur la bande de fréquence [16 ; 20] GHz. Il est donc légitime de s'interroger sur la nécessité de prendre en compte cette propriété pour simuler le biocapteur chargé par un fluide aqueux.

Afin d'adresser cette question, deux approches ont été évaluées pour simuler le biocapteur chargé par de l'eau déionisée :

- La première consiste à modéliser l'eau DI par un volume de permittivité diélectrique constante, fixée à $\epsilon' - j*\epsilon'' = 44.2 - j*33.9$ (permittivité de l'eau DI à la fréquence de résonance du prototype chargé par ce même fluide). **Approche 1** (identique à l'approche notée B dans le paragraphe précédent).
- La deuxième consiste à attribuer au volume modélisant le fluide une permittivité complexe dépendante de la fréquence et définie, fréquence par fréquence, à l'aide d'un fichier de mesure. **Approche 2.**

La Figure 20 montre les spectres en transmission dans la bande [16 ; 19.5] GHz du dispositif mesuré (courbe rouge sur la Figure 20), du même dispositif simulé selon l'approche 1 (courbe verte sur la Figure 20) et enfin du dispositif simulé selon l'approche 2 (courbe bleue sur la Figure 20).

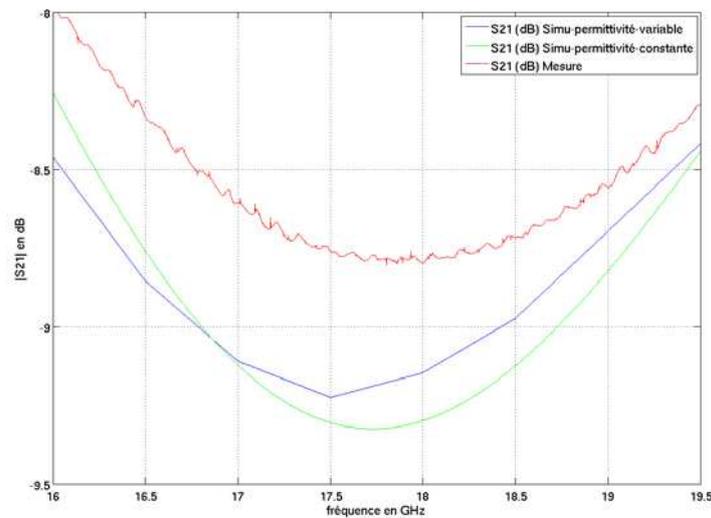


Figure 20 : Réponse en transmission du biocapteur mesuré avec de l’eau DI (courbe rouge), du biocapteur en simulation avec l’eau DI modélisée par un volume dont la permittivité est constante fixée à $44.2 - j*33.9$ (courbe verte) et du biocapteur en simulation avec l’eau DI modélisée par un volume dont la permittivité est « réelle » (définie fréquence par fréquence par un fichier de mesure).

Le Tableau 2 évalue la validité des approches 1 et 2 en comparant les résultats de simulation en termes de précision sur la fréquence de résonance (F_r), la réjection à la fréquence de résonance ($|S_{21}(@F_r)|$) et les facteurs de qualité hors charge (Q_0) et en charge (Q_L).

Tableau 2 : Fiabilité des techniques de simulation 1 et 2 (approches 1 et 2). Comparaison des fréquences de résonance, réjections à la résonance et facteurs de qualité hors et en charge simulés et mesurés. Dans chaque cas, les écarts relatifs sont calculés par rapport à la mesure de l’eau DI sur le biocapteur. Les temps de simulation sont donnés à titre indicatif pour une machine sous Linux/CentOS à 16 Go de RAM.

Paramètres	Mesure	Approche 1	Ecarts relatifs	Approche 2	Ecarts relatifs
Fr (GHz)	17.9	17.74	0.90%	17.6	1.68%
 S₂₁(@Fr) (dB)	-8.79	-9.32	6.00%	-9.22	4.90%
Q₀	2.21	2.74	24.00%	2.4	8.60%
Q_L	0.8	0.94	17.50%	0.83	3.75%
Temps de simu	-	# 30 minutes		# 2 heures 15	

Le Tableau 2 montre qu’il est nécessaire de considérer la dépendance en fréquence de la permittivité complexe des fluides pour simuler avec précision les facteurs de qualité Q_0 et Q_L du biocapteur. En revanche, la simulation de la fréquence de résonance et de la réjection à la résonance peut être réalisée en considérant que la permittivité des fluides est constante dans la bande de simulation. En outre, simuler des matériaux dont la permittivité dépend de la fréquence augmente significativement le temps de simulation (les équations de Maxwell étant résolues par le solveur à chaque nouvelle valeur de fréquence).

Ces deux dernières raisons nous ont conduits à réaliser les simulations selon **l'approche B1** (conducteurs réels ; permittivité des fluides constante). La précision de simulation du facteur de qualité est alors légèrement dégradée, au profit d'un temps de simulation plus raisonnable. Cette technique de simulation a notamment été utilisée au cours de l'étape de modélisation du biocapteur, décrite dans le paragraphe suivant.

III.2. Modélisation du biocapteur

L'objectif de l'étape de modélisation du biocapteur est d'établir un lien entre les écarts de permittivité complexe $\Delta\epsilon^*$ des différents fluides sous test et les variations des caractéristiques du résonateur ΔFr et $\Delta|S_{21}|(@Fr)$ (cf. Figure 8). Ce travail de modélisation a été mené à l'aide du solveur électromagnétique 3D, Ansys® HFSS™.

Les fréquences de résonance et réjections à la résonance ont été simulées pour plusieurs couples de valeurs (ϵ', ϵ'') en partant de (40 ; 40) (valeurs standards de la permittivité complexe de l'eau DI à 20 GHz [12]) et en décroissant jusqu'à (20 ; 24). Cinq valeurs réparties de façon homogène dans l'intervalle [20 ; 40] ont été retenues pour ϵ' : 40, 36, 32, 24 et 20. De façon analogue, quatre valeurs ont été retenues pour ϵ'' : 40, 36, 32 et 24. Vingt simulations ont ainsi été exécutées, permettant d'obtenir les Figure 21 et Figure 22.

La Figure 21 montre la fréquence de résonance Fr en fonction de ϵ' et ϵ'' . La Figure 22 montre la réjection à la résonance $|S_{21}|(@Fr)$ en fonction des mêmes paramètres.

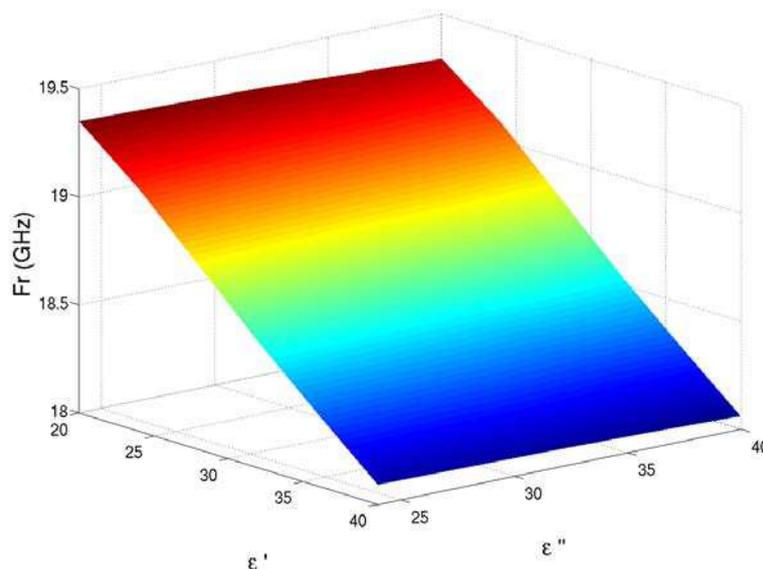


Figure 21 : Fréquence de résonance simulée en fonction des parties réelle et imaginaire ϵ' , ϵ'' de la permittivité complexe du fluide.

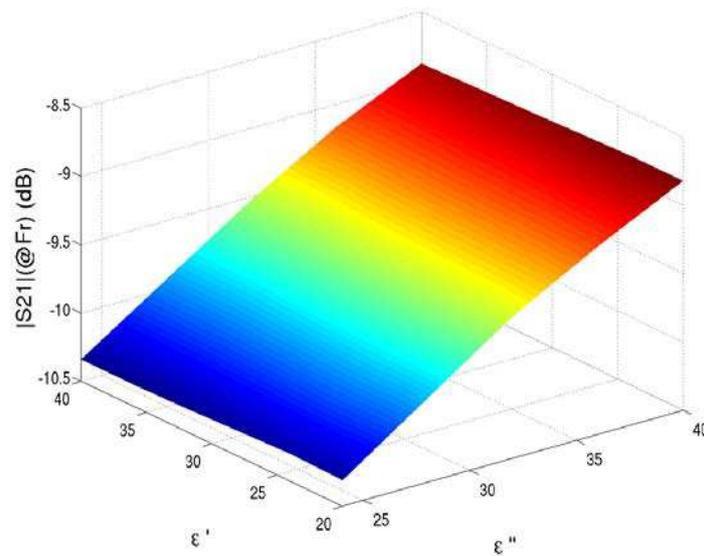


Figure 22 : Réjection à la résonance $|S21(@Fr)|$ simulée en fonction des parties réelle et imaginaire ϵ' , ϵ'' de la permittivité complexe du fluide.

Les Figures 21 et 24 montrent clairement que ce sont les variations $\Delta\epsilon'$ de la partie réelle de la permittivité qui impactent le plus la fréquence de résonance du résonateur, alors que les variations $\Delta\epsilon''$ de la partie imaginaire n'ont qu'une influence minime. Pour ce qui est de la réjection à la résonance $|S21(@Fr)|$, on observe le phénomène dual, avec cette fois $\Delta\epsilon''$ qui influence le plus fortement les variations $\Delta|S21(@Fr)|$ alors que les variations $\Delta\epsilon'$ ont un impact faible.

Un tel comportement a été modélisé par un système linéaire du premier ordre :

$\Delta Fr = \frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon'} \Delta \epsilon' + \frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon''} \Delta \epsilon''$	(20)
---	------

$\Delta S21 = \frac{\Delta S21}{\Delta \epsilon'} \Delta \epsilon' + \frac{\Delta S21}{\Delta \epsilon''} \Delta \epsilon''$	(21)
--	------

Quatre coefficients de sensibilité ont été définis :

$K_1 = \frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon'} ; K_3 = \frac{\Delta S21(@Fr) }{\Delta \epsilon'} \text{ (avec } \epsilon'' \text{ constante)}$	(22)
--	------

$K_2 = \frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon''} ; K_4 = \frac{\Delta S21(@Fr) }{\Delta \epsilon''} \text{ (avec } \epsilon' \text{ constante)}$	(23)
---	------

K_1 (respectivement K_2) décrit l'impact de la partie réelle ϵ' (partie imaginaire ϵ'') de la permittivité complexe du fluide sur la fréquence de résonance lorsque ϵ'' (ϵ') est maintenue

constante. De manière analogue, K_3 (respectivement K_4) décrit l'impact de la partie réelle ε' (partie imaginaire ε'') de la permittivité complexe du fluide sur la réjection à la résonance $|S_{21}(@F_r)|$ lorsque ε'' (ε') est maintenue constante.

Les valeurs ε' et ε'' choisies en simulation ont permis d'obtenir quatre valeurs pour les coefficients de sensibilité K_1 et K_3 et cinq valeurs pour K_2 et K_4 . Toutes ces valeurs ont été reportées dans les Tableau 3 et 4 avec les valeurs moyennes $\langle K_1 \rangle$ à $\langle K_4 \rangle$ et les écarts-relatifs σ_1 et σ_4 associés.

Tableau 3 : Coefficients de sensibilité K_1 et K_3 obtenus en simulations

ε''	K_1 (MHz)	K_3
24	-63.8	-0.07×10^{-3}
32	-63.1	-0.12×10^{-3}
36	-63.1	-0.08×10^{-3}
40	-62.5	-0.13×10^{-3}
	$\langle K_1 \rangle = -63.1$ MHz	$\langle K_3 \rangle = -0.10 \times 10^{-3}$
	$\sigma_1 = 0.53$ MHz	$\sigma_3 = -0.028 \times 10^{-3}$

Tableau 4 : Coefficients de sensibilité K_2 et K_4 obtenus en simulations

ε'	K_2 (MHz)	K_4
20	-3.7	3.6×10^{-3}
24	-1.9	3.6×10^{-3}
32	-2.1	3.6×10^{-3}
36	-2.3	3.5×10^{-3}
40	-2.4	3.5×10^{-3}
	$\langle K_2 \rangle = -2.5$ MHz	$\langle K_4 \rangle = 3.56 \times 10^{-3}$
	$\sigma_2 = 0.7$ MHz	$\sigma_4 = 0.055 \times 10^{-3}$

Les deux séries de valeurs étant caractérisées par de faibles écarts-relatifs, le modèle décrivant les variations des caractéristiques du résonateur ΔF_r et $\Delta |S_{21}(@F_r)|$ en fonction des variations de permittivité complexe du fluide peut être défini en termes de valeurs moyennes. Ainsi, il vient :

$\Delta F_r = K_1 \Delta \varepsilon' + K_2 \Delta \varepsilon'' = -63.1 \Delta \varepsilon' - 2.5 \Delta \varepsilon'' \text{ (MHz)}$	(24)
$\Delta S_{21}(@F_r) = K_3 \Delta \varepsilon' + K_4 \Delta \varepsilon'' = -0.1 \times 10^{-3} \Delta \varepsilon' + 3.56 \times 10^{-3} \Delta \varepsilon''$	(25)

Les équations (24) et (25) établissent une relation linéaire entre les variations ΔF_r et $\Delta |S_{21}(@F_r)|$ des caractéristiques du résonateur et les variations $\Delta \varepsilon'$ et $\Delta \varepsilon''$ des parties réelle et

imaginaire de la permittivité complexe des fluides. Ces relations rendent possible la détermination des propriétés des fluides sous test à partir des paramètres S, à condition que :

- Les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe des fluides soient comprises dans l'intervalle [20 ; 40] (le modèle ayant été établi dans cet intervalle)
- Un liquide de référence aux propriétés connues soit mesuré au cours de l'étude.

Le paragraphe suivant traite de la validation expérimentale du modèle décrit précédemment à partir de mesures sur des mélanges eau/éthanol. De plus, une simplification du modèle présenté ci-avant a été proposée.

III.3. Simplification du modèle dans le cas de mélanges eau/éthanol

La validation expérimentale du modèle présenté au paragraphe III.2. Modélisation du biocapteur a été réalisée avec des mélanges eau/éthanol de différentes fractions volumiques en éthanol. Ce choix a été motivé par le fait que les mélanges eau/éthanol sont des liquides déjà bien connus du point de vue de leurs propriétés diélectriques [13]. En outre, les mélanges eau/éthanol permettent de proposer une simplification du modèle. La volonté de simplifier le modèle est basée sur le constat suivant :

La contribution des variations de ϵ' sur la fréquence de résonance est environ 25 fois supérieure à celle de ϵ'' . En effet :

$\frac{\langle K_1 \rangle}{\langle K_2 \rangle} \approx 25$	(26)
--	------

De même, la contribution des variations de ϵ'' sur la réjection à la résonance est environ 35 fois supérieure à celle de ϵ' . En effet :

$\frac{\langle K_4 \rangle}{\langle K_3 \rangle} \approx -35$	(27)
---	------

Afin d'évaluer complètement la contribution des termes $\langle K_i \rangle \Delta \epsilon'$ et $\langle K_j \rangle \Delta \epsilon''$ dans le cas des mélanges eau/éthanol, la permittivité de ces fluides a été mesurée à l'aide d'une technique large bande ([0 ; 40] GHz) [6]. Cette technique ayant déjà fait ses preuves, elle sert de mesures de référence dans cette étude. Le Tableau 5 donne les valeurs de permittivité complexe pour deux liquides : l'eau déionisée pure et un mélange eau DI/éthanol à 20% en éthanol (fraction volumique fv).

Tableau 5 : Permittivité complexe de l'eau DI et d'un mélange eau DI/éthanol à 20 % d'éthanol en volume à 20 GHz

Mélange	ϵ' (20 GHz)	ϵ'' (20 GHz)	$\Delta\epsilon'$	$\Delta\epsilon''$
eau DI	40.6	33.7		
eau DI/éthanol (fv=20%)	19.7	23.2	20.9	10.5

Le Tableau 5 montre qu'il n'est pas possible de maintenir constante la partie réelle ou la partie imaginaire de la permittivité complexe d'un mélange eau/éthanol lorsque la fraction volumique en éthanol est modifiée. En conséquence, les écarts ΔF_r et $\Delta|S_{21}(@F_r)|$ mesurés seront dus aux variations simultanées de ϵ' et ϵ'' . En outre, il est à noter qu'en limitant la fraction volumique en éthanol à 20 %, la permittivité des mélanges eau/éthanol reste dans la gamme de permittivité choisie en simulations.

A partir des valeurs fournies dans le Tableau 5 et des équations (26) et (27), on peut estimer la contribution relative des différents termes des équations :

$\frac{\langle K_2 \rangle \Delta\epsilon''}{\langle K_1 \rangle \Delta\epsilon'} \approx 2.0 \%$	(28)
---	------

$\frac{\langle K_3 \rangle \Delta\epsilon'}{\langle K_4 \rangle \Delta\epsilon''} \approx 6.4 \%$	(29)
---	------

Les équations (28) et (29) confirment que dans le cas de mélanges eau/éthanol dont la fraction volumique n'excède pas 20 %, les contributions de $\Delta\epsilon''$ sur ΔF_r et de $\Delta\epsilon'$ sur $\Delta|S_{21}(@F_r)|$ sont négligeables. Partant de ce constat, le modèle présenté en paragraphe III.2. Modélisation du biocapteur est alors simplifié :

$\Delta F_r = K_1 \Delta\epsilon' = -63.1 \Delta\epsilon' \text{ (MHz)}$	(30)
$\Delta S_{21}(@F_r) = K_4 \Delta\epsilon'' = 3.56 \times 10^{-3} \Delta\epsilon''$	(31)

Afin de valider ce modèle, des mélanges eau DI/éthanol de différentes fractions volumiques ont été mesurés sur le prototype du biocapteur hyperfréquence.

III.4. Validation expérimentale à partir de mesures sur des mélanges eau/éthanol

Les mesures de mélanges eau/éthanol sur le biocapteur hyperfréquence ont été menées sur une station sous pointes. Des pointes RF GSG (pitch de 150 μm) ont été utilisées pour connecter le résonateur à l'analyseur de réseaux vectoriel ANRITSU 37369C. Afin d'éviter les variations de

permittivité des fluides aqueux avec la température [5], le chuck de la station sous pointes est thermostaté à $20\text{ °C} \pm 0.1\text{ °C}$.

Les fluides sont injectés un à un dans le canal microfluidique. Une fois que le fluide est stabilisé, une acquisition des paramètres S est lancée. Le banc de mesure est équipé d'un microscope permettant de contrôler visuellement la stabilisation du fluide dans le microcanal et l'absence de bulles. Une routine Matlab® permet de déterminer fréquence de résonance F_r et réjection à la résonance $|S_{21}(@F_r)|$. Le fluide est ensuite évacué. L'opération est renouvelée autant de fois qu'il y a de fluides à mesurer.

Les mesures ont été précédées d'un calibrage complet de type SOLT (Short Open Load Thru) à partir d'un kit de calibrage SUSS MicroTec |Z| probe CSR8. La bande de fréquence a été réduite à [16 ; 21] GHz et la puissance du signal à l'entrée du résonateur à -7 dBm.

Le résonateur a, dans un premier temps, été caractérisé à vide dans la bande [19 ; 27] GHz. La Figure 23 montre la réponse en transmission à vide du dispositif simulé et du prototype mesuré. Le Tableau 6 montre les caractéristiques tirées des paramètres S21.

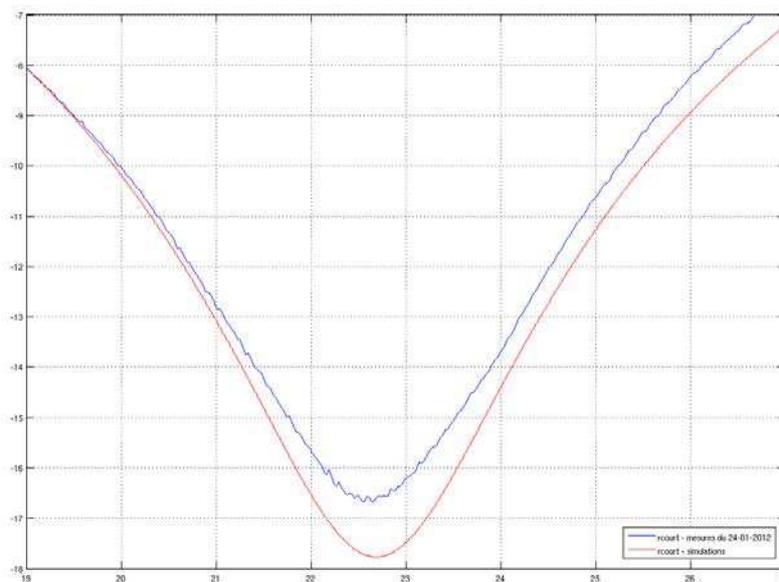


Figure 23 : Réponse en transmission à vide du biocapteur vide en simulation (courbe rouge) et en mesure (courbe bleue).

Tableau 6 et Figure 23 montrent le bon accord entre simulations et mesures, validant le fonctionnement du biocapteur.

Tableau 6 : Caractéristiques du biocapteur à vide - simulations et mesures

	Fr (GHz)	S21(@Fr) (dB)	Q0	QL
Simulations	22.69	-17.77	9.6	1.2
Mesures	22.62	-16.58	8.8	1.3

Ensuite, 5 mélanges eau DI/éthanol ont été mesurés :

- eau DI pure ;
- mélange M1 avec fraction volumique en éthanol $f_v=1/20$;
- mélange M2, $f_v=1/10$;
- mélange M3, $f_v=1/7$;
- mélange M4, $f_v=1/5$.

Les cinq fluides ont été préparés simultanément et mesurés un à un sur le biocapteur. La Figure 24 présentent les spectres $|S21(freq)|$ pour les 5 mélanges ci-dessus. La figure montre clairement que lorsque la fraction volumique en éthanol augmente, la fréquence de résonance se décale vers les hautes fréquences passant de 17.90 GHz dans le cas de l'eau DI à 19.34 GHz avec 20 % d'éthanol. Dans le même temps, la réjection à la fréquence de résonance s'accroît passant de -8.78 dB dans le cas de l'eau DI à -9.67 dB avec 20 % d'éthanol.

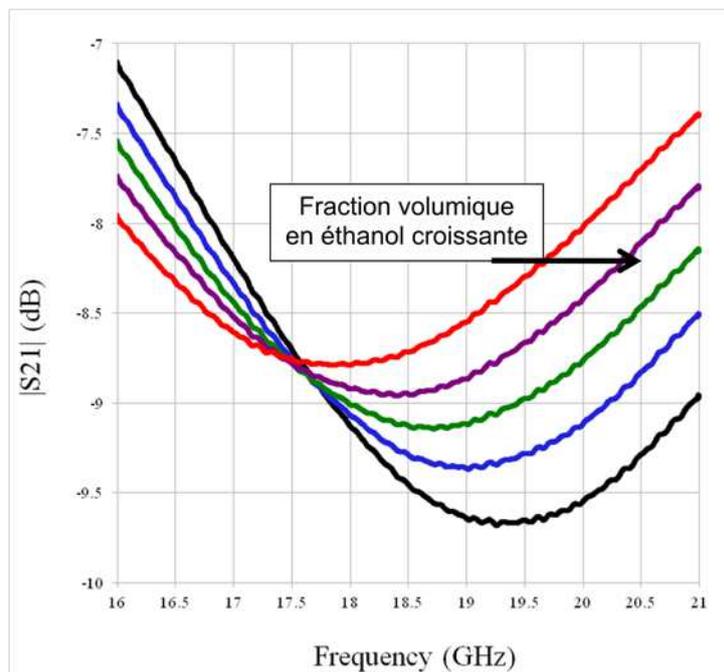


Figure 24 : Spectres $|S21|$ (dB) pour 5 mélanges eau DI/éthanol dont la fraction volumique est égale à 1/5 ; 1/7 ; 1/10 ; 1/20 ; 0 (eau DI pure)

Les fréquences de résonance et réjections à la résonance ont été extraites de ces 5 courbes à l'aide d'une routine implémentée sous Matlab© et ont été rassemblées dans le Tableau 7. De plus, les valeurs de permittivité complexe des mélanges aux fréquences de résonance ont été déterminées

à l'aide de la technique de mesure large bande [6]. Ces valeurs de permittivité complexe ont été ajoutées également dans le Tableau 7.

Tableau 7 : Permittivité complexe des mélanges eau DI/éthanol aux fréquences de résonance respectives.

Mélanges	fv	Fr (GHz)	S21(@Fr)	ϵ'	ϵ''
eau DI	0	17.90	0.3638	44.7	33.8
M1	0.05	18.39	0.3561	37.1	33.4
M2	0.10	18.69	0.3495	30.5	29.5
M3	0.14	18.98	0.3409	26.0	27.4
M4	0.20	19.34	0.3286	20.6	23.7

Afin de valider le modèle proposé aux paragraphes III.2. Modélisation du biocapteur et III.3. Simplification du modèle dans le cas de mélanges eau/éthanol, l'eau DI sert de liquide de référence dans cette étude. Ainsi, tous les écarts ΔF_r et $\Delta|S21(@F_r)|$ sont définis de la façon suivante :

$\Delta F_{r_{Mi}} = F_{r_{Mi}} - F_{r_{H_2O}}$	(32)
$\Delta S21 _{Mi} = S21 _{Mi} - S21 _{H_2O}$	(33)

où $F_{r_{Mi}}$, $F_{r_{H_2O}}$, $|S21|_{Mi}$ et $|S21|_{H_2O}$ désignent respectivement la fréquence de résonance et la réjection mesurées dans le cas du mélange M_i ($i = 1$ à 4) et dans le cas de l'eau DI.

De manière analogue, les écarts de permittivité complexe sont définis de la façon suivante :

$\Delta\epsilon'_{Mi} = \epsilon'_{Mi} - \epsilon'_{H_2O}$	(34)
$\Delta\epsilon''_{Mi} = \epsilon''_{Mi} - \epsilon''_{H_2O}$	(35)

où ϵ'_{Mi} et ϵ''_{Mi} désignent les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe du mélange M_i à la fréquence $F_{r_{Mi}}$; ϵ'_{H_2O} et ϵ''_{H_2O} désignent les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe de l'eau DI à la fréquence $F_{r_{H_2O}}$.

Les Figures 25 (a) et (b) représentent (carrés rouges) les écarts mesurés $\Delta F_{r_{Mi}}$ et $\Delta|S21|_{Mi}$ en fonction des écarts de permittivité complexe $\Delta\epsilon'_{Mi}$ et $\Delta\epsilon''_{Mi}$. Afin de confronter ces données de mesures avec le modèle, les écarts de fréquence de résonance et de réjection prédictibles par le modèle sont calculés de la façon suivante :

$\Delta F_{r_{Mi}}^{MOD} = K_1 \times \Delta\epsilon'_{Mi}$	(36)
$\Delta S21 _{Mi}^{MOD} = K_4 \times \Delta\epsilon''_{Mi}$	(37)

Les écarts $\Delta F_{r_{Mi}}^{MOD}$ et $\Delta|S21|_{Mi}^{MOD}$ prédictibles par le modèle simplifié ont été ajoutés aux Figure 25 (a) et (b) respectivement. Ces deux graphes montrent ainsi la validité du modèle présenté aux paragraphes III.2. Modélisation du biocapteur et III.3. Simplification du modèle dans le cas de mélanges eau/éthanol; validité assurée au moins pour la gamme de valeurs de permittivité en jeu

dans cette étude (ϵ' et ϵ'' variant de 20 à 44 environ). Par exemple, on notera les écarts de fréquence de résonance mesurés pour les 4 mélanges M1 à M4 : 0.46 GHz, 0.86 GHz, 1.13 GHz et 1.46 GHz respectivement. Pour ces mêmes mélanges, les écarts de fréquence de résonance prédictibles par le modèle sont de : 0.48 GHz, 0.90 GHz, 1.18 GHz et 1.52 GHz.

Pour ce qui est des écarts de réjection à la résonance, les mesures ont permis d'obtenir les données suivantes : -0.0077, -0.0143, -0.0229 et -0.0352 pour les mélanges M1 à M4 respectivement. Pour ces mêmes mélanges, les écarts de réjection à la résonance prédits par le modèle sont de -0.0014, -0.0153, -0.0228 et -0.0359.

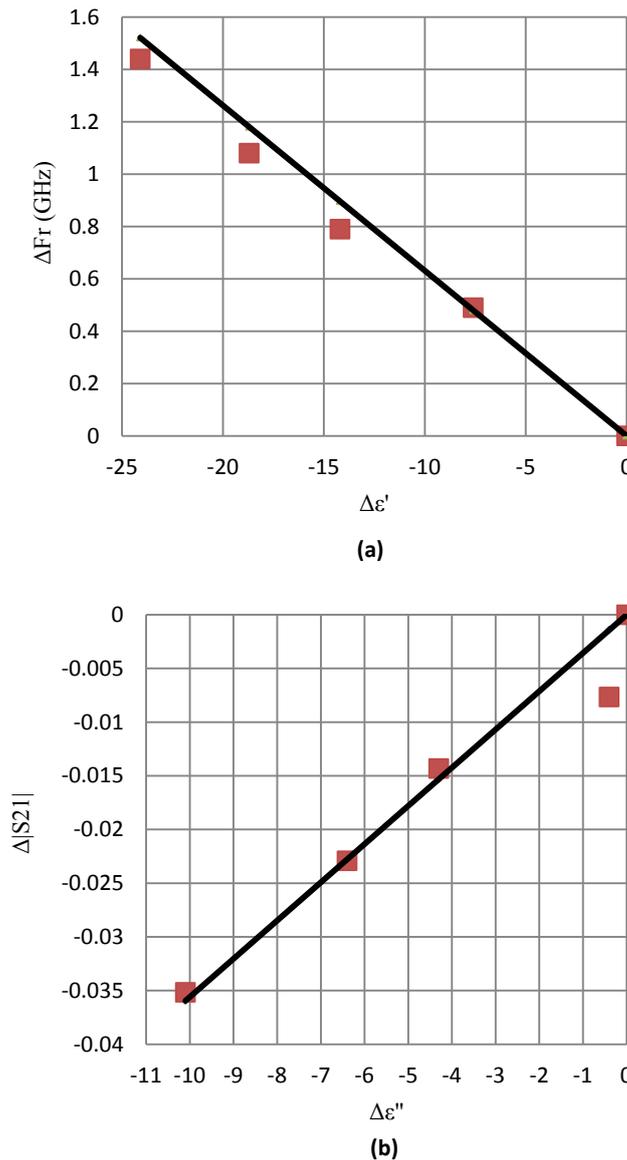


Figure 25 : (a) Ecarts de fréquence de résonance prédictibles (droite) et mesurés (carrés rouges) par rapport au liquide de référence. (b) Ecarts de réjection à la résonance prédictibles (droite) et mesurés (carrés rouges) par rapport au liquide de référence. L'origine (0 ; 0) correspond à l'eau DI (référence)

Afin de quantifier la validité du modèle, les écarts quadratiques moyens entre les valeurs théoriques et les valeurs mesurées ont été estimés de la façon suivante :

$$std(\Delta Fr) = \sqrt{\frac{1}{4} \sum_{i=1}^4 (\Delta F_{r_{Mi}} - \Delta F_{r_{Mi}}^{MOD})^2} \quad (38)$$

$$std(\Delta |S21|) = \sqrt{\frac{1}{4} \sum_{i=1}^4 (\Delta |S21|_{Mi} - \Delta |S21|_{Mi}^{MOD})^2} \quad (39)$$

où $\Delta F_{r_{Mi}}$, $\Delta F_{r_{Mi}}^{MOD}$, $\Delta |S21|_{Mi}$ et $\Delta |S21|_{Mi}^{MOD}$ ont été définis respectivement dans les équations (32), (36), (33) et (37).

Les applications numériques donnent $std(\Delta Fr) = 0.083$ GHz et $std(\Delta |S21|) = 0.0032$ dB.

On peut ensuite estimer l'erreur relative sur la détermination de la fréquence de résonance (dans le cas du mélange M1, cas le plus défavorable) :

$$\frac{std(\Delta Fr)}{Fr} = \frac{0.083}{18.4} = 0.5 \% \quad (40)$$

On peut ainsi calculer l'erreur relative sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe du fluide (dans le cas le plus défavorable, mélange M4) :

$$\frac{\delta \varepsilon'}{\varepsilon'} = \frac{std(\Delta Fr) / \langle K_1 \rangle}{\varepsilon'} = \frac{0.083 / 0.0631}{20.6} = 6.4 \% \quad (41)$$

De même, on peut estimer l'erreur relative sur la détermination de la réjection à la résonance (dans le cas du mélange M4, cas le plus défavorable).

$$\frac{std(\Delta |S21|)}{|S21|} = \frac{0.0032}{0.3286} = 1 \% \quad (42)$$

Et l'erreur relative sur la détermination de la partie imaginaire de la permittivité complexe du fluide est estimée à (dans le cas le plus défavorable, mélange M4) :

$$\frac{\delta \varepsilon''}{\varepsilon''} = \frac{std(\Delta |S21|) / \langle K_4 \rangle}{\varepsilon''} = \frac{0.0032 / 3.56 \times 10^{-3}}{23.7} = 3.8 \% \quad (43)$$

Les valeurs $\delta \varepsilon' / \varepsilon'$ et $\delta \varepsilon'' / \varepsilon''$ valident expérimentalement les relations liant les variations de la réponse du biocapteur hyperfréquence microfluidique ΔF_r et $\Delta |S21|(@F_r)$ et les écarts de permittivité complexe des fluides mesurés.

Le dispositif mis au point et la méthodologie associée rendent ainsi possible la détermination des propriétés des fluides de manière simple et directe, puisque le principe de mesure repose uniquement sur la mesure de paramètres directement accessibles : ΔF_r et $\Delta |S_{21}(@F_r)|$. La précision sur la détermination des écarts de permittivité complexe atteint le niveau de l'état de l'art avec un biocapteur fonctionnant en bande Ka [14], [15], [16].

Ces travaux ont fait l'objet d'une publication dans la revue « Transactions on Microwave Theory and Techniques » [17].

III.5. Optimisation du couplage fluide/champ

L'optimisation du couplage fluide/champ électromagnétique est une question délicate lors de la conception de biocapteurs hyperfréquences fluidiques. Il existe en effet deux approches radicalement opposées pour y répondre.

La première consiste à positionner le liquide sous test de telle sorte que le couplage fluide/champ soit très faible. La sensibilité du biocapteur est certes minimisée, mais le facteur de qualité n'est pas dégradé par l'introduction d'un fluide. La détection de la fréquence de résonance reste alors précise ; d'autant plus que le facteur de qualité est élevé. Cette approche est souvent celle qui est suivie pour la conception de biocapteurs hyperfréquences fluidiques basés sur des cavités résonantes [2].

La deuxième approche privilégie la sensibilité du biocapteur, au détriment de la valeur du facteur de qualité. Le liquide à caractériser est alors placé dans la zone telle que le couplage fluide/champ électromagnétique soit maximal. La dégradation du facteur de qualité rend moins précise la détection de la fréquence de résonance mais cet inconvénient peut être compensé par la forte sensibilité du biocapteur.

Afin d'optimiser le couplage fluide/champ électromagnétique dans le but d'augmenter la résolution de nos biocapteurs hyperfréquences, plusieurs positions du canal microfluidique le long d'un résonateur hyperfréquence ont été testées.

La Figure 26 montre une photographie du résonateur hyperfréquence fabriqué en centrale de microtechnologie et utilisé pour cette étude.

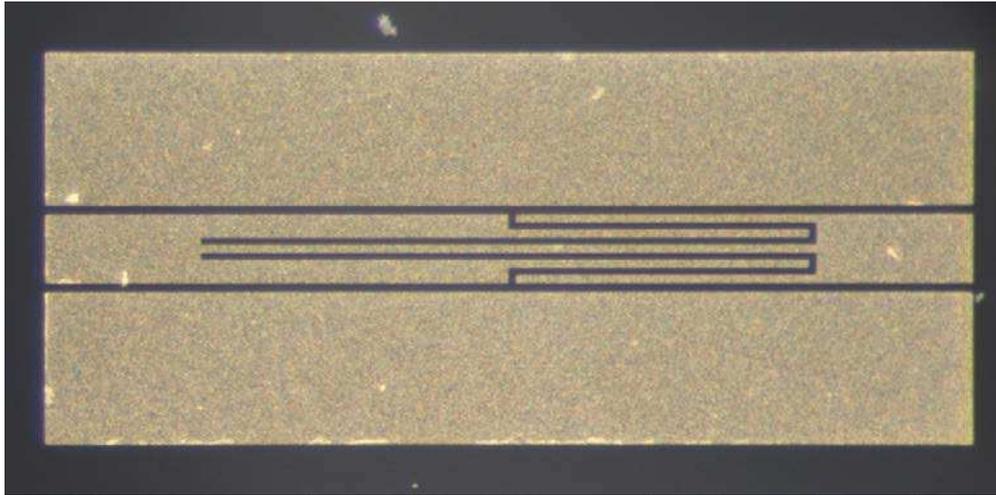


Figure 26 : Vue de dessus du résonateur hyperfréquence utilisé pour cette étude et fabriqué en salle de microtechnologie au LAAS-CNRS

Il s'agit d'un résonateur quart d'onde très similaire à celui utilisé pour l'étude paragraphe III.4. Cette structure résonante est inspirée de celles présentées ici [8]. Des simulations sous HFSS ont permis d'obtenir l'intensité du champ électrique à la résonance (cf. Figure 27).

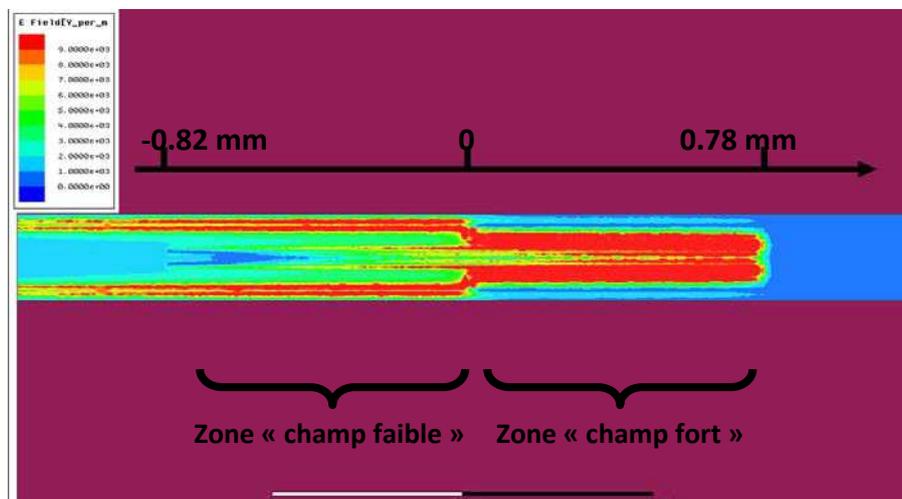


Figure 27 : Simulation de l'intensité du champ électrique E à la résonance. Identification des zones de champ électrique « fort » et « faible ».

Ces simulations ont permis d'identifier les zones où le champ électrique est maximal à la fréquence de résonance (« zone champ fort ») et les zones où le champ électrique est minimal à la fréquence de résonance (« zone champ faible »). Dans la zone de « champ fort » qui s'étend de 0 à 0.78 mm, l'intensité du champ électrique est maximale et à peu près constante. Dans la zone de « champ faible », l'intensité du champ électrique décroît environ d'une décade de 0 à -0.82 mm. Six positions du canal microfluidique, trois dans la zone « champ fort » et trois dans la zone « champ

faible », ont été simulées et mesurées. La Figure 28 montre symboliquement les positions du canal microfluidique pour les 6 biocapteurs testés ; les 6 positions étant notées A à F.

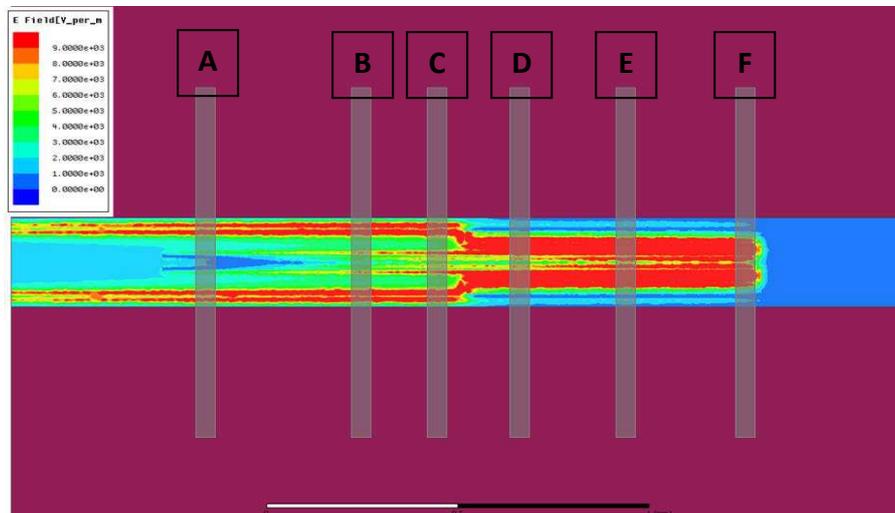


Figure 28 : Identification des six différentes positions du canal microfluidique.

La Figure 29 montre les 6 biocapteurs hyperfréquences microfluidiques fabriqués. Les 6 dispositifs ne diffèrent que par la position du canal microfluidique.

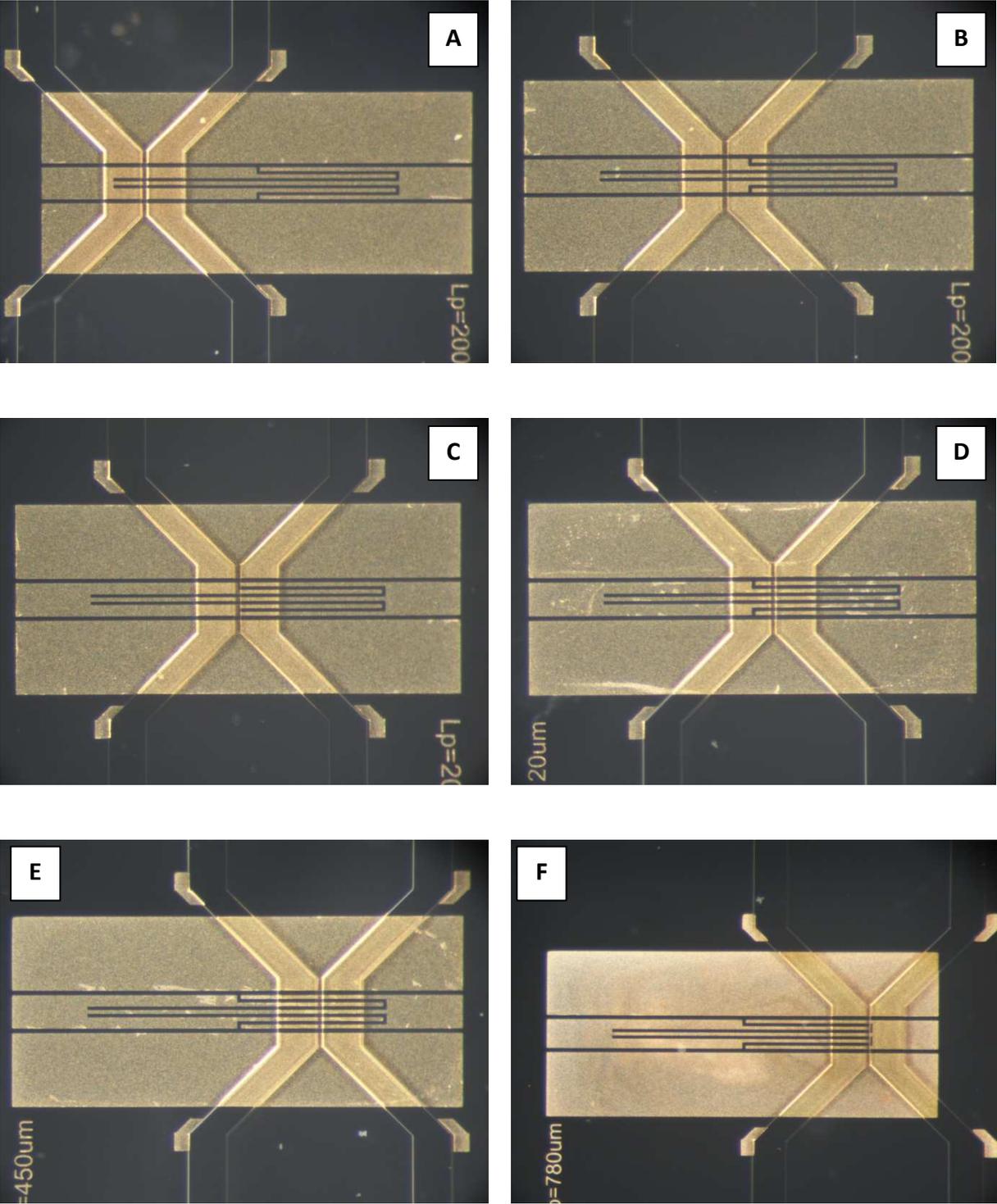


Figure 29 : Photographies (vues de dessus) des 6 biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants. Les 6 dispositifs diffèrent uniquement par la position du canal microfluidique.

Les six dispositifs ont été mesurés à l'aide de deux fluides : eau déionisée pure et un mélange eau/éthanol dont la fraction volumique en éthanol a été fixée à 20 %. L'eau déionisée sert de liquide de référence dans cette étude. Les écarts de fréquence de résonance et de réjection à la résonance sont donc calculés par rapport à cette référence. Le mélange eau/éthanol permet d'obtenir un écart de permittivité $\Delta\epsilon' - j\Delta\epsilon''$ par rapport à l'eau DI.

L'impact du fluide sur la réponse du biocapteur est quantifié dans un premier temps par les écarts de fréquence de résonance (Figure 30) et dans un second temps par les variations du facteur de qualité hors charge Q_0 (Figure 32). Les Tableau 8 et Tableau 9 rassemblent toutes ces données :

Tableau 8 : Ensemble des paramètres (position du canal microfluidique, fréquences de résonance et réjection à la résonance en présence d'eau DI et du mélange eau/éthanol à 20 % en éthanol, écart de partie réelle de permittivité aux fréquences de résonance entre eau DI et le mélange eau/éthanol) pour les 6 biocapteurs présentés sur la Figure 29

Dispositif	X canal (mm)	$\Delta\epsilon'$	Fr - eau DI (GHz)	Fr - eau 80%/eth 20% (GHz)	ΔFr (GHz)	S21 - eau DI	S21 - eau 80%/eth 20%	$\Delta S21$
A	-0.568	18.8	22.32	22.35	0.031	0.128	0.130	0.002
B	-0.222	19.5	21.72	21.89	0.166	0.170	0.164	-0.006
C	-0.116	19.7	21.12	21.31	0.189	0.191	0.185	-0.006
D	0.050	23.6	18.17	19.09	0.929	0.319	0.308	-0.010
E	0.349	24.2	17.49	18.43	0.946	0.338	0.325	-0.013
F	0.581	24.4	17.25	18.22	0.964	0.351	0.339	-0.011

Tableau 9 : Deuxième partie des paramètres (position du canal microfluidique, facteurs de qualité hors et en charge en présence d'eau DI et du mélange eau/éthanol à 20 % en éthanol, écart de partie réelle de permittivité aux fréquences de résonance entre eau DI et le mélange eau/éthanol) pour les 6 biocapteurs présentés sur la Figure 29

Dispositif	X canal (mm)	$\Delta\epsilon'$	Q0 - eau DI	Q0 - eau 80%/eth 20%	$\Delta Q0$	QL - eau DI	QL - eau 80%/eth 20%	ΔQL
A	-0.568	18.8	8.2	8.2	0.02	1.04	1.06	0.02
B	-0.222	19.5	5.3	5.9	0.61	0.90	0.97	0.07
C	-0.116	19.7	4.4	4.6	0.24	0.83	0.85	0.02
D	0.050	23.6	2.3	2.4	0.11	0.73	0.74	0.01
E	0.349	24.2	2.2	2.3	0.15	0.74	0.76	0.02
F	0.581	24.4	2.1	2.2	0.10	0.74	0.75	0.01

La Figure 30 présente les fréquences de résonance en présence d'eau DI et du mélange eau/éthanol pour les 6 biocapteurs.

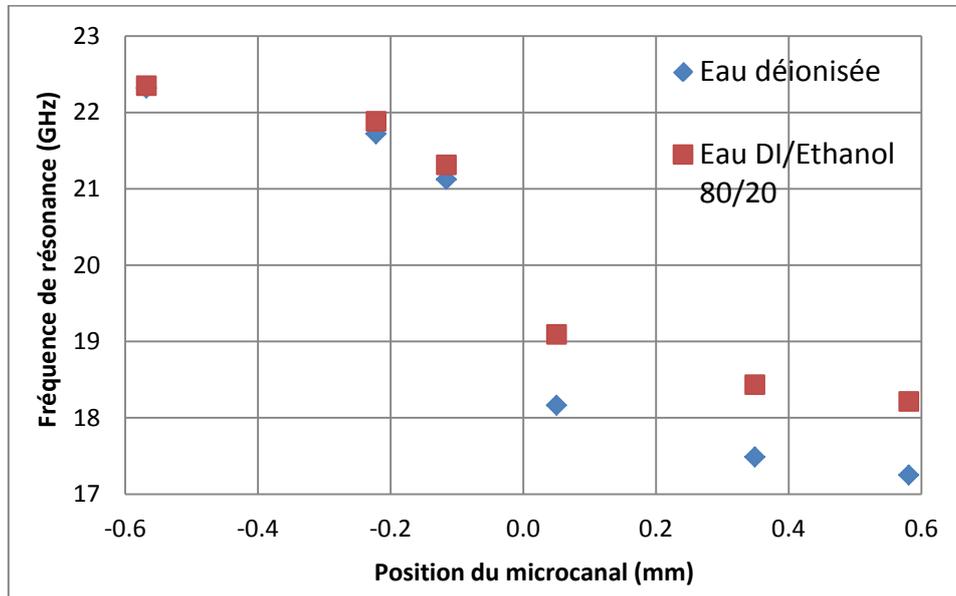


Figure 30 : Fréquence de résonance en fonction de la position du microcanal dans le cas de l'eau déionisée et d'un mélange eau/éthanol à 20% en volume d'éthanol.

Les écarts de fréquence de résonance ΔFr entre l'eau déionisée et le mélange eau/éthanol sont simplement calculés en faisant la différence entre les carrés rouges (eau DI/éthanol) et les diamants bleus (eau déionisée). La figure montre ce paramètre en fonction de la position du microcanal (échelle à gauche) ainsi que le coefficient de sensibilité $\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ (échelle à droite).

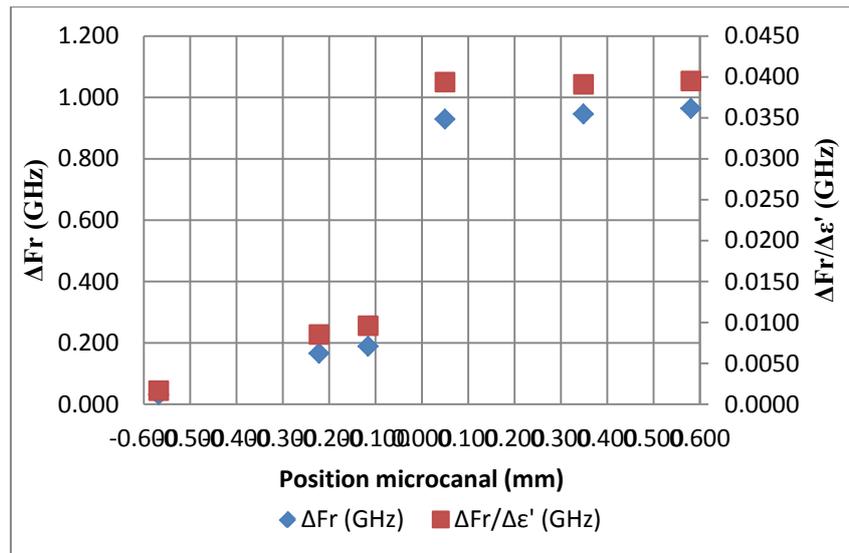


Figure 31 : Écarts de fréquence de résonance et écarts de fréquence de résonance normalisés par les écarts de partie réelle de permittivité en fonction de la position du microcanal fluide.

Les trois dispositifs pour lesquels le couplage fluide/champ électromagnétique est privilégié (zone « champ fort », comprise entre 0 et 0.6 mm) montrent une sensibilité très élevée (ΔFr de l'ordre de 1 GHz et de l'ordre de 40 MHz pour $\Delta \epsilon' = 1$). Le facteur de qualité hors charge est quant à lui fortement dégradé : $Q_0 \# 2$ (cf. Figure 32). Les trois autres dispositifs (zone « champ faible », comprise entre -0.6 et 0 mm) sont caractérisés par un faible couplage fluide/champ électromagnétique. En conséquence, les écarts de fréquence de résonance sont au minimum cinq fois moins élevés et ne dépassent pas 0.2 GHz. La sensibilité $\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ de ces mêmes dispositifs est quant à elle réduite d'un facteur 4 au minimum et ne dépasse pas ainsi les 10 MHz. Pour ce qui est du facteur de qualité hors charge, il est d'autant plus élevé que le couplage fluide/champ EM est faible, et vaut environ 4.5 pour le biocapteur C et 8 pour le biocapteur A (cf. Figure 32).

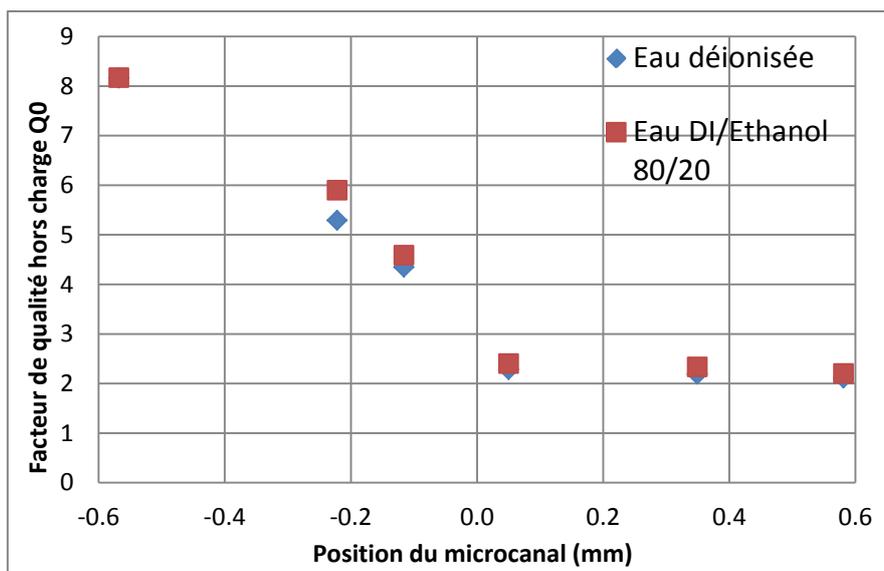


Figure 32 : Facteur de qualité hors charge Q_0 en fonction de la position du canal microfluidique dans le cas de l'eau déionisée et d'un mélange eau DI/éthanol à 20 % en volume d'éthanol.

Afin de compléter cette étude de l'optimisation du couplage fluide/champ électromagnétique, un septième dispositif a été ajouté. Il s'agit d'un dispositif pour lequel le canal microfluidique est placé à la même cote que celui du biocapteur D, mais la largeur du microcanal est cette fois de 100 μm , au lieu des 40 μm pour le dispositif D. La hauteur du microcanal est maintenue à 40 μm . Ce septième dispositif sera noté D' dans la suite de l'étude. Augmenter la largeur du microcanal permet de favoriser encore le couplage fluide/champ électromagnétique. La Figure 33 montre les dispositifs D et D'.

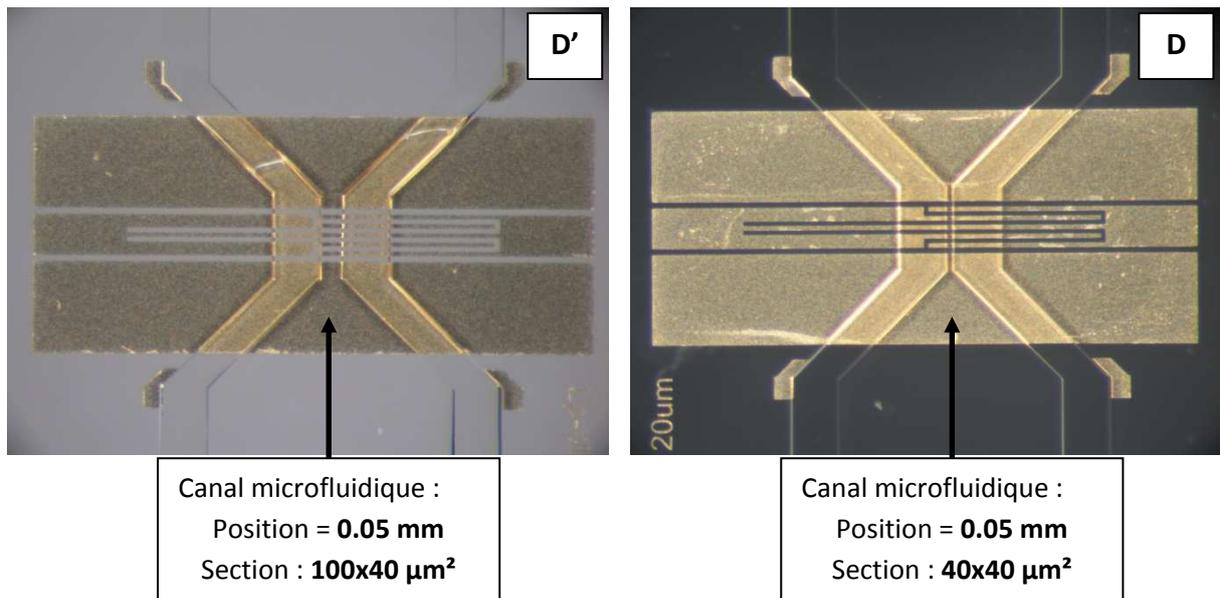


Figure 33 : Dispositifs D' et D. La position du canal microfluidique est identique dans les deux cas. La section du microcanal est de 100x40 μm^2 pour la structure D' et de 40x40 μm^2 pour la structure D.

Chargé par de l'eau déionisée, le dispositif D' est caractérisé par une fréquence de résonance de 14.38 GHz et un facteur de qualité hors charge Q_0 de 1.12. Avec le mélange eau DI/éthanol à 20 %, la fréquence de résonance du biocapteur est de 17.36 GHz et le facteur de qualité hors charge est de 1.39.

La Figure 34 montre les écarts de fréquence de résonance ΔFr (en GHz) en fonction du facteur de qualité hors charge Q_0 dans le cas de l'eau déionisée.

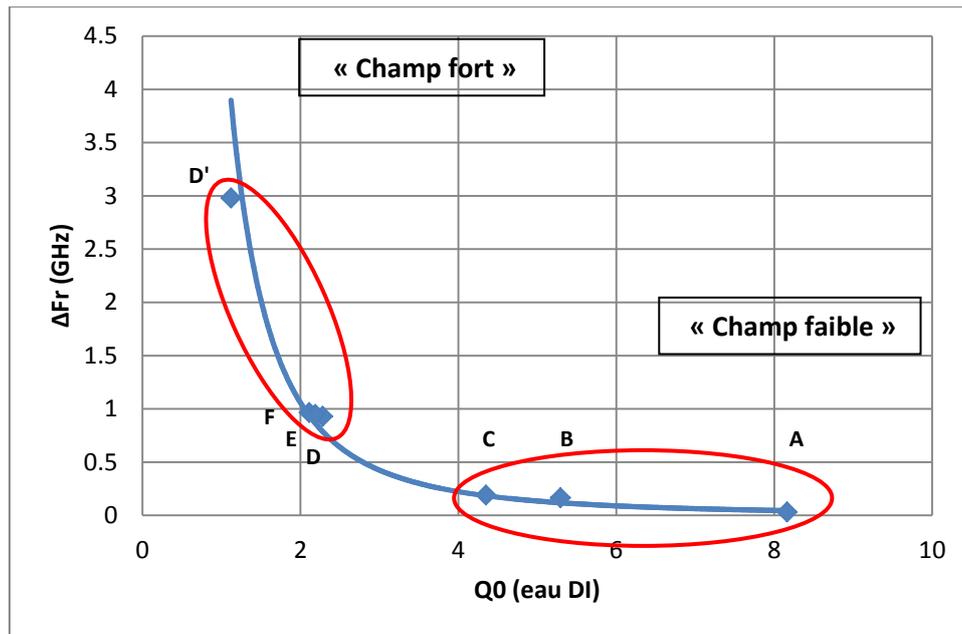
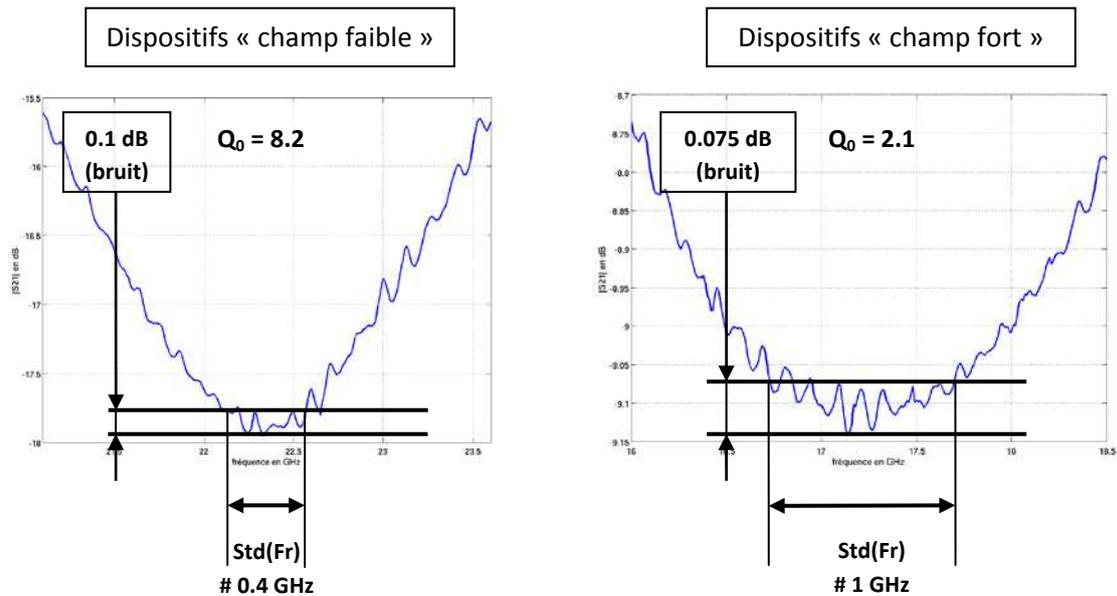


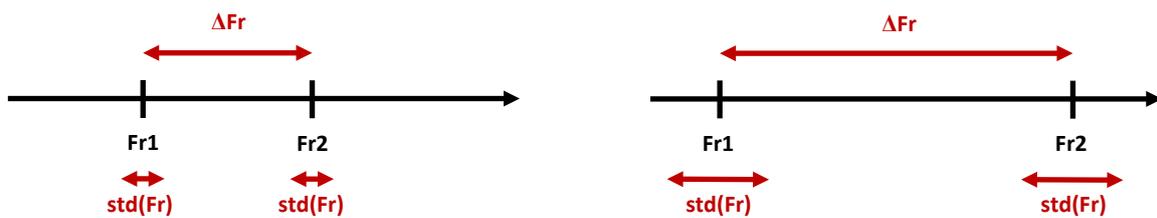
Figure 34 : Ecarts de fréquence de résonance ΔFr entre l'eau DI et le mélange eau/éthanol en fonction du facteur de qualité hors charge Q_0 mesuré dans le cas de l'eau déionisée.

La Figure 34 illustre les résultats prédictibles par la théorie des perturbations. Les dispositifs dits « champ fort », c'est-à-dire ceux pour lesquels le paramètre $|\vec{E}|_{moy}^2$ est maximal, présentent une sensibilité plus élevée que les dispositifs dits « champ faible ». En outre, le dispositif D' en maximisant le rapport $\frac{V_f |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}}$ (en augmentant le volume de fluide en interaction tout en le laissant dans la zone de « champ fort »), on arrive à un dispositif présentant la sensibilité la plus élevée.

Cependant, un dispositif présentant la sensibilité la plus élevée n'est pas forcément un dispositif pour lequel la résolution sur la détermination de la permittivité complexe ou de la concentration en un soluté donné sera la meilleure. En effet, les dispositifs placés en zone de champ fort sont caractérisés par de faibles valeurs du facteur de qualité. Or, comme l'illustre qualitativement la Figure 35, un facteur de qualité faible se traduit par une plus grande incertitude $std(Fr)$ de mesure de la fréquence de résonance.



Visualisation des écarts de fréquence de résonance ΔFr et des incertitudes de mesure associées ($std(Fr)$) pour les dispositifs dits « champ faible » (à gauche) et « champ fort » (à droite).



Les dispositifs placés en zone de « champ faible » sont caractérisés par de faibles écarts de fréquence de résonance. Le facteur de qualité étant relativement élevé, la précision de mesure de Fr n'est pas trop dégradée.

Les dispositifs placés en zone de « champ fort » sont caractérisés par de forts écarts de fréquence de résonance. Mais le facteur de qualité étant faible, la précision de mesure de Fr est dégradée.

Figure 35 : Mise en évidence du lien entre facteur de qualité et incertitude sur la mesure de la fréquence de résonance.

Afin de déterminer expérimentalement une relation analytique entre l'incertitude de mesure de la fréquence de résonance $std(Fr)$ en fonction du facteur de qualité hors charge Q_0 , une étude a été menée tour à tour sur chacun des dispositifs B, D et D' de la façon suivante :

- Un premier échantillon d'eau DI est introduit dans le canal microfluidique. 5 mesures successives sont enregistrées. L'échantillon est ensuite évacué puis remplacé par un second échantillon. Ce processus est répété pour dix échantillons d'eau DI différents.
- Les fichiers de mesure sont ensuite traités. On obtient alors 50 valeurs de fréquence de résonance toutes relatives à un même fluide : l'eau DI. On peut ensuite estimer l'étendue

de la série (différence entre la plus grande et la plus petite valeur de fréquence de résonance), la fréquence de résonance moyenne et, enfin, l'écart-type caractéristique de la série.

La Figure 36 montre, à titre d'exemple, la fréquence de résonance obtenue pour les 50 mesures faites sur le dispositif B :

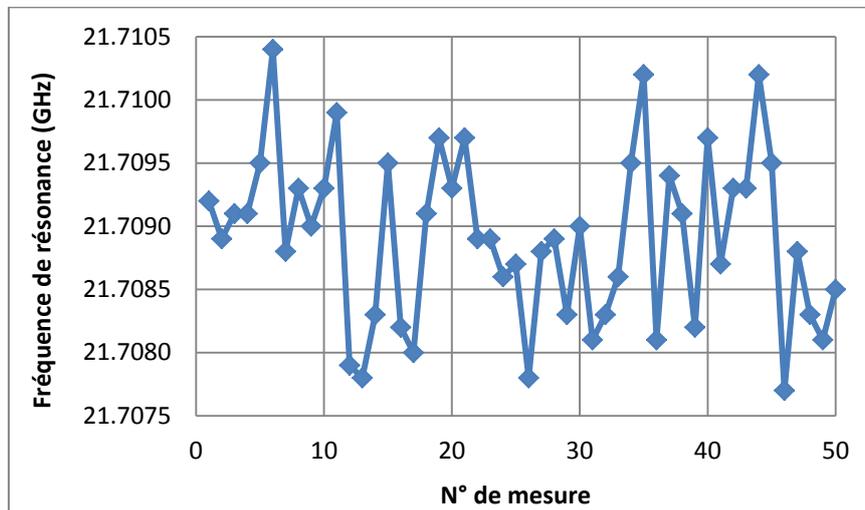


Figure 36 : Fréquence de résonance mesurée sur le dispositif B pour 10 échantillons différents d'eau déionisée (5 mesures par échantillon).

Le Tableau 10 montre les résultats de cette étude. Q_0 est le facteur de qualité hors du dispositif chargé par de l'eau DI. Le paramètre $\text{std}(Fr)$ désigne l'écart-type sur la mesure de la fréquence de résonance pour un dispositif donné et déterminé à partir de $5 \cdot 10$ mesures.

Tableau 10 : Facteur de qualité hors charge Q_0 et incertitude $\text{std}(Fr)$ sur la détermination de la fréquence de résonance, pour les dispositifs B, D et D'.

Dispositif	Q_0 (eau DI)	$\text{std}(Fr)$
D'	1.5	3.56 MHz
D	2.3	1.50 MHz
B	5.2	0.66 MHz

La Figure 37 montre la relation analytique expérimentale entre le facteur de qualité hors charge Q_0 et l'incertitude de mesure de la fréquence de résonance $\text{std}(Fr)$.

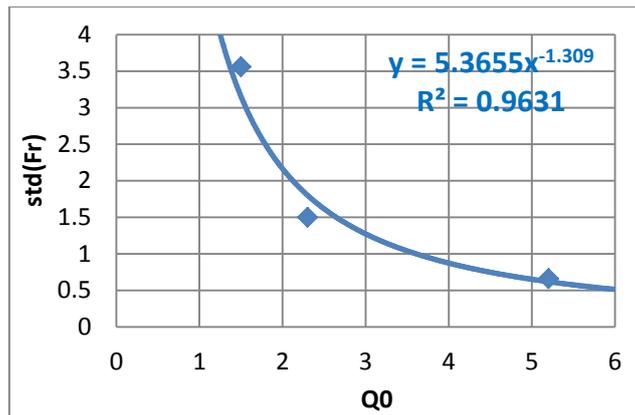


Figure 37 : Relation expérimentale entre l'incertitude de mesure sur la fréquence de résonance et le facteur de qualité hors charge Q_0 .

Les Figure 34 et Figure 37 illustrent les 2 tendances en compétition pour obtenir la meilleure précision possible parmi les 7 dispositifs mesurés.

- Une forte sensibilité aux variations de permittivité, ce qui se traduit par des écarts importants de fréquence de résonance entre deux fluides donnés. Ce phénomène intervient pour les dispositifs qui favorisent le couplage fluide/champ électromagnétique. Dans notre cas, il s'agit des dispositifs D, D', E et F.
- Un facteur de qualité élevé, qui rend la détection de la fréquence de résonance plus précise. Ce mécanisme intervient pour les dispositifs caractérisés par un faible couplage fluide/champ électromagnétique. Dans cette étude, il s'agit des dispositifs A, B et C.

Afin de dégager le phénomène à privilégier (forte sensibilité ou précision de mesure élevée) parmi les deux tendances décrites ci-dessus, on définit un facteur de mérite FoM :

$FoM = \frac{\Delta Fr}{std(Fr)}$	(44)
-----------------------------------	------

La valeur de ce facteur de mérite est donc d'autant plus élevée que les écarts de fréquence de résonance ΔFr sont importants et l'incertitude de mesure $std(Fr)$ est faible. La valeur de ce dernier paramètre est déterminée pour chacun des 7 biocapteurs à l'aide de la relation expérimentale liant Q_0 et $std(Fr)$. Le Tableau 11 rassemble les valeurs de $std(Fr)$, Q_0 et FoM pour les 7 dispositifs.

Tableau 11 : Facteur de qualité hors charge Q_0 , incertitude de mesure de la fréquence de résonance $\text{std}(\text{Fr})$, écart de fréquence de résonance mesurée avec de l'eau déionisée et un mélange eau/éthanol à 20 % en éthanolet facteur de mérite FoM.

Dispositif	Q_0 - eau DI	$\text{std}(\text{Fr})$ (MHz)	ΔFr (GHz)	FoM
A	8.2	0.3	0.031	90
B	5.3	0.6	0.166	274
C	4.4	0.8	0.189	241
D	2.3	1.8	0.929	512
E	2.2	1.9	0.946	492
F	2.1	2.0	0.964	477
D'	1.1	4.7	2.98	629

La Figure 38 montre le facteur de mérite FoM en fonction de la valeur du facteur de qualité Q_0 .

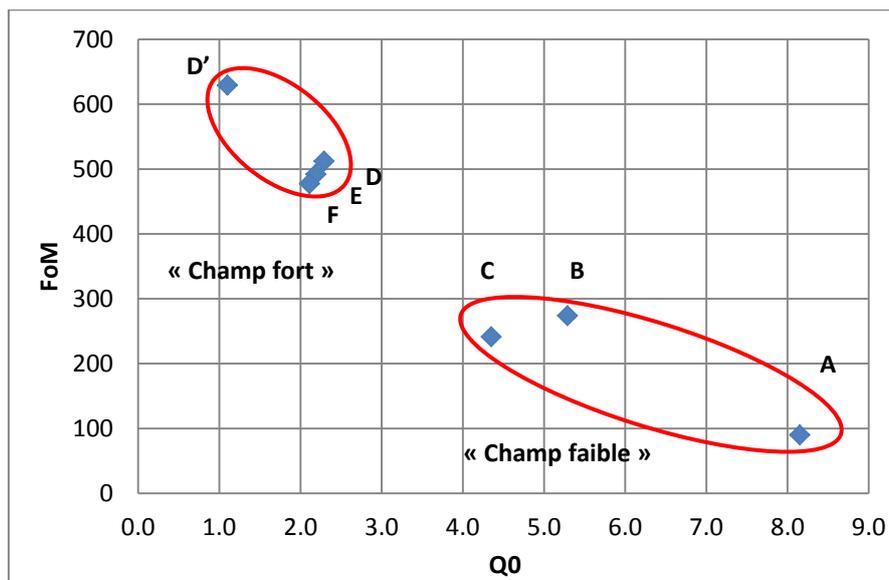


Figure 38 : Facteur de mérite FoM en fonction du facteur de qualité Q_0 pour les 7 biocapteurs.

La Figure 38 montre que les dispositifs « champ fort » sont caractérisés par les plus fortes valeurs du facteur de mérite FoM. La meilleure précision de mesure est donc atteinte pour ces biocapteurs. Les valeurs élevées d'incertitude de mesure $\text{std}(\text{Fr})$ sont donc compensés par de très fortes valeurs de sensibilité ΔFr .

Ce résultat montre que la compétition entre forte sensibilité et bonne précision de mesure tourne en faveur de la maximisation de la sensibilité. Des biocapteurs optimisés en termes de résolution sur la mesure de paramètres comme la permittivité complexe et/ou la concentration en

un soluté donné doivent être conçus en maximisant la taille des échantillons fluidiques à tester et en plaçant ces échantillons dans la zone où l'intensité du champ électrique est maximale.

A l'image de ce qui a été fait dans le paragraphe III, on peut estimer l'erreur relative $std(\epsilon')/\epsilon'$ faite sur la détermination de la partie réelle de la permittivité pour les sept dispositifs. Contrairement à l'étude menée dans le paragraphe III, l'erreur relative est calculée ici dans le cas le plus favorable, c'est-à-dire quand $\epsilon' = \epsilon'_{H_2O}$. L'erreur relative est donnée par :

$$\frac{std(\epsilon')}{\epsilon'} = \frac{std(Fr)}{\Delta Fr} \times \frac{\Delta \epsilon'}{\epsilon'} = \frac{1}{FoM} \times \frac{\Delta \epsilon'}{\epsilon'} \quad (45)$$

Le Tableau 12 montre les facteurs de qualité hors charge Q_0 , facteurs de mérite FoM, écarts de partie réelle de permittivité complexe entre l'eau déionisée et le mélange eau/éthanol à 20 %, partie réelle de la permittivité complexe de l'eau déionisée aux fréquences de résonance respectives des dispositifs, et enfin l'erreur relative $std(\epsilon')/\epsilon'$ sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe calculée dans le cas de l'eau déionisée.

Tableau 12 : Facteurs de qualité hors charge Q_0 , facteurs de mérite FoM, écarts de partie réelle de permittivité complexe entre l'eau déionisée et le mélange eau/éthanol à 20 %, partie réelle de la permittivité complexe de l'eau déionisée aux fréquences de résonance respectives des dispositifs, et enfin erreur relative sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe des fluides calculée dans le cas de l'eau déionisée.

Dispositif	Q_0 - eau DI	FoM	$\Delta \epsilon'$	$\epsilon' (@Fr)$	$std(\epsilon')/\Delta \epsilon'$ (%)
A	8.2	90	18.8	37.1	0.56
B	5.3	274	19.5	37.8	0.19
C	4.4	241	19.7	38.3	0.21
D	2.3	512	23.6	44.4	0.10
E	2.2	492	24.2	45.5	0.11
F	2.1	477	24.4	46.1	0.11
D'	1.1	629	29	51.4	0.09

En conclusion de cette étude, la Figure 39 montre l'erreur relative $std(\epsilon')/\epsilon'$ sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe des fluides en fonction du facteur de qualité.

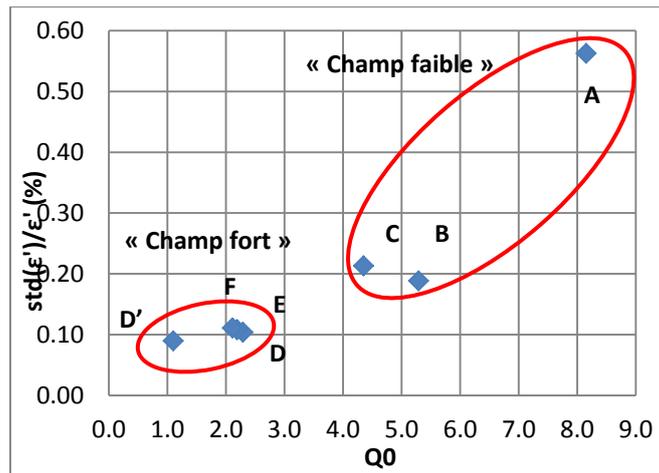


Figure 39 : Erreur relative sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe des liquides en fonction du facteur de qualité hors charge Q_0 .

La Figure 39 montre que l'erreur relative sur la détermination de la partie réelle de la permittivité complexe des liquides est minimale pour les plus faibles valeurs de Q_0 . Le maximum de précision pour la caractérisation de liquides biologiques est donc atteint en favorisant le couplage fluide/champ électromagnétique. La dégradation inhérente du facteur de qualité et donc la perte de précision sur la détermination de la fréquence de résonance est compensée par la maximisation de la sensibilité du biocapteur. Ces travaux ont feront l'objet d'une communication orale lors de la conférence « European Microwave Week » en octobre 2013 [18].

Cette étude permet ainsi de définir une règle de conception pour nos futurs biocapteurs hyperfréquences microfluidiques basés sur des résonateurs planaires :

Le maximum de précision sur la mesure d'écart de fréquence de résonance, et donc sur la détermination des propriétés des fluides sous test, a été atteint avec des dispositifs pour lesquels le couplage fluide/champ électromagnétique a été favorisé.

C'est donc cette « philosophie » que nous nous proposons de suivre pour la conception de nouveaux biocapteurs hyperfréquences microfluidiques basés sur des résonateurs passifs planaires.

Concrètement, favoriser le couplage fluide/champ électromagnétique passe par :

- Positionner systématiquement la structure microfluidique dans la zone où le champ électrique est d'intensité maximale à la résonance.
- Elargir la taille des canaux microfluidiques dans la zone de détection afin d'augmenter la quantité de fluide en interaction avec le champ.

A noter cependant que la section utile du canal microfluidique ne peut pas être augmentée indéfiniment. La Figure 40 montre par exemple une simulation du résonateur D avec un canal microfluidique de section $200 \times 40 \mu\text{m}^2$. La permittivité complexe $\epsilon' - j^*\epsilon''$ du volume modélisant le

fluide est fixée à $44.2 - j*33.9$. La réponse en transmission $S_{21}(\text{freq})$ montre que les pertes introduites par le « fluide » sont telles que le phénomène de résonance n'est plus observable.

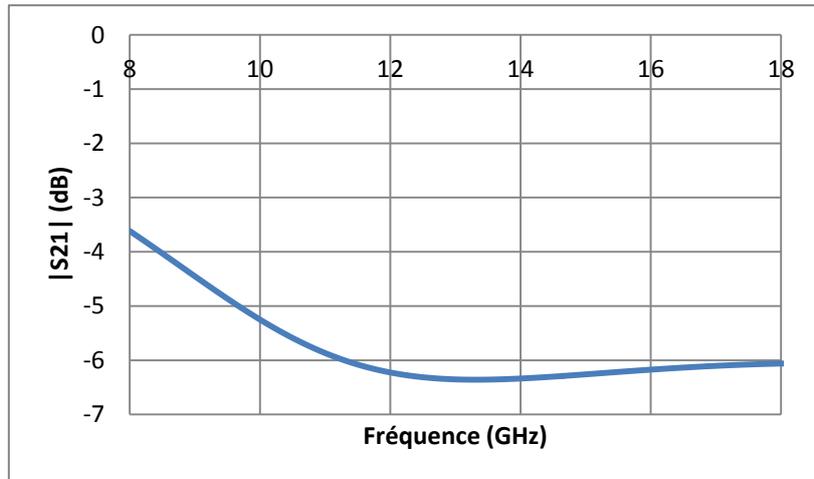


Figure 40 : Réponse en transmission (simulation) du dispositif D avec un microcanal de section $200 \times 40 \mu\text{m}^2$. La permittivité du volume modélisant le fluide est fixée à $44.2 - j*33.9$. Les pertes introduites par le fluide sont telles que le phénomène de résonance est devenu quasiment inobservable.

Position et dimensions du canal microfluidique permettent de favoriser le couplage fluide/champ électromagnétique. Cependant, l'augmentation de la taille des structures microfluidiques est limitée par la capacité du résonateur hyperfréquence à fonctionner même en présence de matériaux (en l'occurrence ici des fluides aqueux) introduisant de fortes pertes diélectriques.

IV. Conclusion

Basés sur des travaux menés sur les cavités résonantes utilisées pour la caractérisation diélectrique de liquides [14], [20], ainsi que sur des simulations électromagnétiques 3D, nous avons montré dans ce chapitre que la théorie des perturbations peut servir de base théorique pour la modélisation et la conception de biocapteurs hyperfréquences résonants microfluidiques implémentés dans des guides d'ondes ouverts (coplanaires dans le cadre de ce chapitre, microstrip dans le suivant).

Un premier prototype ainsi modélisé a été conçu, fabriqué en centrale de microtechnologie et caractérisé, ce qui a permis de démontrer la validité et la précision du modèle proposé. Forts de ce modèle, nous avons ainsi démontré notre capacité à prédire les propriétés diélectriques de liquide (relativement à un liquide de référence) à partir des réponses en transmission du dispositif.

Cette modélisation nous a ensuite servi pour l'optimisation de la sensibilité de nos biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants, dont la clef réside dans le couplage fluide/champ électromagnétique. Sept biocapteurs ont été fabriqués, chacun se différenciant des autres par la position ou le volume de l'échantillon fluide sur le résonateur. Les campagnes de mesures menées sur ces biocapteurs ont mis en évidence deux mécanismes en compétition :

- Le premier, en cohérence avec les résultats prédits par la théorie des perturbations, montre que la sensibilité du capteur augmente lorsque le couplage fluide/champ électromagnétique est favorisé (en plaçant l'échantillon fluide dans la zone où le champ électrique est le plus intense et en augmentant le volume de fluide en interaction avec le champ électrique). Ce mécanisme a cependant pour corollaire une forte dégradation du facteur de qualité Q_L .
- Le second montre que la précision de mesure de la fréquence de résonance diminue lorsque le facteur de qualité Q_L est dégradé. Inversement la détermination de la fréquence de résonance est plus précise lorsque le facteur de qualité Q_L est plus élevé. Ce mécanisme a cependant pour corollaire une forte diminution de la sensibilité.

L'estimation de l'incertitude de mesure des dispositifs a permis de trancher entre ces deux mécanismes en montrant que les meilleurs biocapteurs, en termes de résolution de mesure, sont ceux qui privilégient un fort couplage fluide/champ électromagnétique. Nous avons en effet montré que la dégradation de la précision de mesure de la fréquence de résonance est alors compensée par la maximisation de la sensibilité.

Les résultats dégagés dans le cadre de ce chapitre sont exploités dans le chapitre suivant pour concevoir de nouvelles générations de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants optimisées pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse.

Bibliographie du chapitre II

[1] National Physical Laboratory

"A guide to characterisation of dielectric materials at RF and microwave frequencies"
Londres, 2003.

[2] A.P. Gregory et R.N. Clarke

"A review of RF and microwave techniques for dielectric measurements on polar liquids"
IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation, vol. 13, n° 4, pp.727-743, août 2006

[3] K. Leong et J. Mazierska

"Precise measurements of the Q factor of dielectric resonators in the transmission mode – Accounting for noise, crosstalk, delay of uncalibrated lines, coupling loss and coupling reactance"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 50, n°9, pp.2115-2127, septembre 2002

[4] Y. Zhou, E. Li, G. Guo, Y. Gao et T. Yang

"Broadband complex permittivity measurement of low loss materials over large temperature ranges by stripline resonator cavity using segmentation calculation method"
Progress in Electromagnetic Research, vol. 113, pp.143-160, 2011

[5] P. Petong, R. Pottel and U. Kaatze

"Water-ethanol mixtures at different compositions and temperatures. A dielectric relaxation study"
Journal of physical and chemical applications, N° 104, pp. 7420-7428.

[6] K. Grenier, D. Dubuc, P.E. Poleni, M. Kumemura, H. Toshiyoshi, T. Fujii et H. Fujita

"Integrated broadband microwave and microfluidic sensor dedicated to bioengineering"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 57, n°12, pp.3246-3253, décembre 2009

[7] D. M. Pozar

"Microwave Engineering"
Wiley, édition 20xx/20xx, pp.

[8] K. Hettak, N. Dib, A.F. Shetta et S. Toutain

"A class of novel uniplanar series resonators and their implementation in original applications"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 46, n°9, pp.1270-1276, septembre 1998

[9] N. Tiercelin, P. Coquet, R. Sauleau, V. Senez et H. Fujita

"Polydimethylsiloxane membranes for millimeter-wave planar ultra flexible antennas"
Journal of Micromechanics and Microengineering, vol. 16, pp.2389-2395, 2006

[10] S. Hage-Ali, N. Tiercelin, P. Coquet, R. Sauleau, H. Fujita, V. Preobrazhensky et P. Pernod

"A millimeter-wave microstrip antenna array on ultra-flexible micromachined polydimethylsiloxane (PDMS) polymer"

IEEE Antennas and Wireless Propagation Letters, vol. 8, 2009

[11] <http://www.ansys.com>

[12] W.J. Ellison

"Permittivity of pure water at standard atmospheric pressure, over the frequency range 0 – 25 THz and the temperature range 0 – 100 °C"

Journal of physical and chemical reference data, vol. 36, n° 1, pp.1-18, février 2007.

[13] J.Z. Bao, M.L. Swicord et C.C. Davis

"Microwave dielectric characterization of binary mixtures of water, methanol and ethanol"

Journal of Chemical Physics, vol. 104, n°12, pp.4441-4450, mars 1996

[14] H. Kawabata et Y. Kobayashi

"Accurate measurements of complex permittivity of liquid based on a TM_{010} mode cylindrical cavity method"

European Microwave Conference, 2005.

[15] M. Mosalanejad, G. Moradi et A. Abdipour

"An inverted microstrip resonator for complex permittivity measurement of medium loss liquids using 3D-FDTD simulation"

Mediterranean Microwave Symposium, pp.407-410, août 2010

[16] X. Yang et K. Huang

"The empirical formula for calculating the complex permittivity of an aqueous electrolyte solution at microwave frequency"

IEEE Transactions on Geoscience and Remote Sensing, vol. 43, pp.315-320, février 2005

[17] T. Chrétiennot, D. Dubuc et K. Grenier

"A microwave and microfluidic planar resonator for efficient and accurate complex permittivity characterization of aqueous solutions"

IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 61, n°2, pp. 972-978, février 2013

[18] T. Chrétiennot, D. Dubuc et K. Grenier

"Optimized electromagnetic interaction microwave resonator/microfluidic channel for enhanced liquid biosensor"

European microwave week EuMC 2013, Nuremberg (Allemagne), 6 – 11 octobre 2013. Papier accepté pour présentation en session orale.

[20] B.Y. Kapilevich, S.G. Ogourtsov, V.G. Belenky, A.B. Maslenikov et A.S. Omar

"Accurate microwave resonant method for complex permittivity measurements of liquids"

IEEE Transactions Microwave Theory and Techniques, vol. 48, n°11, novembre 2000

Chapitre III



Chapitre III : Bio-capteur hyperfréquence microfluidique dédié à l'analyse de la glycémie humaine.

Chapitre III : Bio-capteur hyperfréquence microfluidique dédié à l'analyse de la glycémie humaine.115

I. Introduction117

II. Optimisation de l'architecture du biocapteur118

II.1. Présentation des structures 118

II.2. Les résonateurs de la filière TFMS..... 121

II.2.a. Présentation des résonateurs..... 121

II.2.b. Conception des résonateurs 122

II.2.c. Fabrication en centrale de microtechnologie 127

II.3. Les résonateurs de la filière CPW 134

II.4. Amélioration du protocole de mesure et des indicateurs de sortie 137

II.4.a. Contraste par rapport à une référence..... 137

II.4.b. Mesure des contrastes de réjection à la résonance 138

II.4.c. Troisième indicateur, sur la phase 140

II.4.d. Incertitude de mesure..... 140

II.5. Evaluation des performances des différentes familles de biocapteurs – mesure de mélanges eau/glucose à forte concentration en glucose..... 141

II.5.a. Sur les résonateurs implémentés en technologie « thin film microstrip » (TFMS) 141

II.5.b. Comparaison des trois familles de résonateurs..... 146

III. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse aux concentrations physiologiques150

III.1. Résonateurs TFMS : mesures de mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques 151

III.2. Fiabilité des biocapteurs : abaque d'erreur de Clarke 155

III.2.a. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs TFMS 156

<i>III.2.b. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs CPW.....</i>	<i>157</i>
IV. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse dans des conditions se rapprochant des conditions physiologiques	159
IV.1. Mesures de mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium sur les stubs TFMS	160
IV.2. Changement de liquide de référence	164
IV.3. Exploitation des résonances harmoniques	165
V. Conclusion.....	170
Bibliographie du chapitre III.....	173

I. Introduction

Les travaux menés dans le cadre du chapitre II ont permis d'une part de valider le fonctionnement des biocapteurs hyperfréquences microfluidiques basés sur des résonateurs miniatures (coplanaires) pour la caractérisation de liquides ; et d'autre part, de dégager des règles de conception pour maximiser la sensibilité et la résolution des dispositifs.

Ainsi, le présent chapitre réutilise les résultats du chapitre précédent pour proposer deux nouvelles familles de résonateurs hyperfréquences pour la conception de biocapteurs microfluidiques. Nous exploitons dans ce chapitre deux géométries de guides d'onde miniatures (coplanaire et « thin film microstrip ») combinées à des éléments à constantes localisées (capacité inter-digitée) afin de mettre au point des dispositifs qui se caractérisent par :

- Une forte concentration spatiale de la zone de champ électrique intense destinée à accueillir les échantillons fluidiques à tester ;
- Des microcanaux fluidiques englobant au maximum la zone de champ intense.

En cohérence avec la théorie des perturbations, ces dispositifs favorisent ainsi le couplage fluide/champ électromagnétique, ce qui a pour conséquence de maximiser la sensibilité des biocapteurs.

Parallèlement à l'optimisation des structures hyperfréquences, ce chapitre propose également une redéfinition des indicateurs de sortie (indicateurs de la concentration en soluté), de façon à les rendre plus robustes aux phénomènes qui parasitent traditionnellement les campagnes de mesure (bruit, dérive de la réponse du biocapteur,...)

Les performances des trois familles de dispositifs sont ensuite évaluées dans une seconde partie sur des solutions aqueuses de glucose dont la concentration s'échelonne de quelques grammes à quelques dizaines de grammes par litre. Les potentialités des dispositifs sont estimées en termes de sensibilité aux variations de la concentration en glucose à l'aide des nouveaux indicateurs.

Enfin, l'objectif à long terme visé étant la détermination de la glycémie humaine, la troisième et dernière partie de ce chapitre montre les performances des biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants dans des conditions se rapprochant petit à petit des conditions réelles (la condition réelle étant le sang humain). Ainsi, les biocapteurs hyperfréquences sont utilisés pour caractériser, dans un premier temps, des solutions aqueuses de glucose aux concentrations physiologiques (environ 1 g/L) ; et dans un second temps, des solutions binaires aqueuses contenant du glucose et du chlorure de sodium (le chlorure de sodium étant une espèce ionique naturellement présente dans le plasma humain). Nous investiguons par cette démarche l'impact d'espèces ioniques sur les capacités de mesure de nos biocapteurs hyperfréquences.

II. Optimisation de l'architecture du biocapteur

L'étude de l'optimisation du couplage fluide/champ électromagnétique réalisée au chapitre II, paragraphe III.5 a montré que les biocapteurs les plus performants en termes de précision sur la détermination des propriétés des liquides (mesures de permittivité complexe, de concentration en soluté,...) étaient ceux pour lesquels l'interaction entre le liquide sous test et le champ électrique est favorisée.

Cette étude a montré en effet que la forte sensibilité de tels dispositifs compensait la perte de précision de mesure due à la diminution du facteur de qualité Q_L .

Les résonateurs hyperfréquences présentent donc une zone de détection optimale. Il s'agit de la zone où le champ électrique est le plus intense à la fréquence de résonance tout en étant suffisamment éloignée des accès pour accueillir une structure microfluidique.

L'amélioration du couplage fluide/champ électrique passera par :

- La conception de nouvelles architectures de résonateurs concentrant le champ électrique à la résonance dans une zone la plus localisée possible (le résonateur du chapitre II distribuait le champ électrique sur une longueur égale à $\lambda/8$ environ).

- L'utilisation de structures microfluidiques englobant au maximum la zone de champ intense, augmentant ainsi le volume de fluide en interaction avec le champ électromagnétique. Le phénomène de résonance devra néanmoins rester visible malgré un couplage fluide/champ électromagnétique intense.

II.1. Présentation des structures

Dans ce chapitre, deux filières technologiques vont être comparées pour la conception de résonateurs à lignes quart d'onde (stubs) : la filière coplanaire (CPW) et celle dite « thin film microstrip » (TFMS).

Pour les dispositifs implémentés en technologie CPW (lignes coplanaires), les structures microfluidiques sont assemblées sur la face supérieure des circuits hyperfréquences. Or, pour ce type de structures, les lignes de champ se répartissent de part et d'autre de la ligne coplanaire, comme le montre la Figure 1.

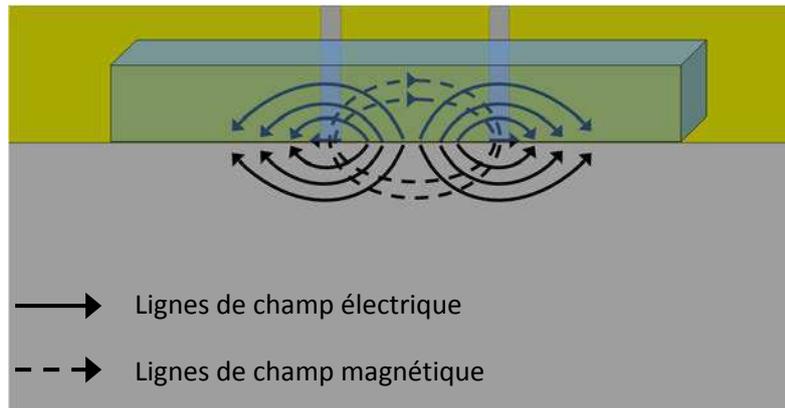


Figure 1 : Lignes de champs électrique et magnétique dans une ligne coplanaire. Mise en évidence du couplage fluide/champ EM.

Pour simplifier, la Figure 1 montre les lignes de champ au niveau de la ligne coplanaire et non de la structure résonante. La répartition du champ obéit cependant au même principe. Avec un substrat imaginaire de permittivité complexe égale à celle de l'air ($\epsilon' - j * \epsilon'' \approx 1 - j * 0$), les lignes de champ se répartiraient pour moitié dans le demi-espace supérieur et dans le demi-espace inférieur. Un fluide placé sur la face supérieure des lignes n'est alors couplé au champ électrique qu'à 50 %. Dans le cas des biocapteurs en technologie coplanaire présentés dans le cadre du chapitre précédent, le substrat utilisé est le quartz (difficilement gravable), de permittivité complexe $\epsilon'_q - j * \epsilon''_q \approx 3.78 - j * 0.002$. Les lignes de champ ont donc tendance à pénétrer plus dans le substrat qu'au-dessus du substrat ; réduisant le couplage fluide/champ électromagnétique en dessous de 50 %.

La géométrie de la filière technologique « thin film microstrip » peut apporter une solution à cette limitation. Ces structures sont constituées d'un premier niveau métallique localisé directement sur le substrat et constituant le plan de masse. Un diélectrique en couche mince (quelques microns à quelques dizaines de microns) est déposé ensuite sur ce premier niveau métallique. Les lignes et structures sont ensuite réalisées sur un deuxième niveau métallique, localisé au-dessus du diélectrique. Comme le montre la Figure 2, les lignes de champ électrique se couplent essentiellement vers la masse (niveau métallique inférieur)

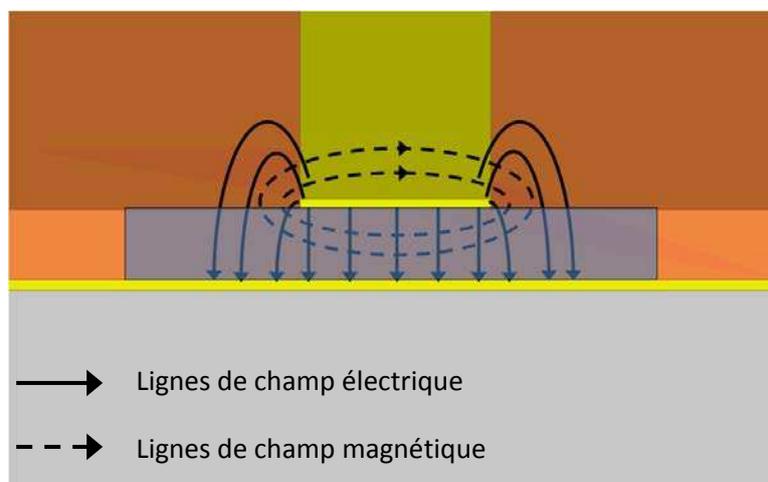


Figure 2 : Lignes de champs électrique et magnétique dans une ligne thin film microstrip. Mise en évidence du couplage fluide/champ EM dans le cas où le canal microfluidique est placé dans la couche diélectrique.

Ainsi, le couplage fluide/champ électromagnétique optimal peut être réalisé en créant les structures microfluidiques directement dans le diélectrique, réalisant ainsi des couplages compris entre 70 et 80 %. Le placement du fluide dans la couche diélectrique est ici envisageable puisque les diélectriques utilisés sont des polymères, aisément gravables (contrairement au quartz pour les structures coplanaires). Technologiquement, une telle étape n'est cependant pas aisée puisqu'elle nécessite l'ajout d'une couche supplémentaire entre le diélectrique et le niveau métallique supérieur. Cette couche doit en particulier servir de paroi supérieure aux canaux microfluidiques tout en supportant les conducteurs placés au-dessus. La technologie devient alors particulièrement complexe.

Afin de mener l'évaluation de cette famille de biocapteurs, la première approche a visé la réalisation de structures hyperfréquences munies de microcanaux en polymère localisés sur la face supérieure des dispositifs, comme le montre la Figure 3.

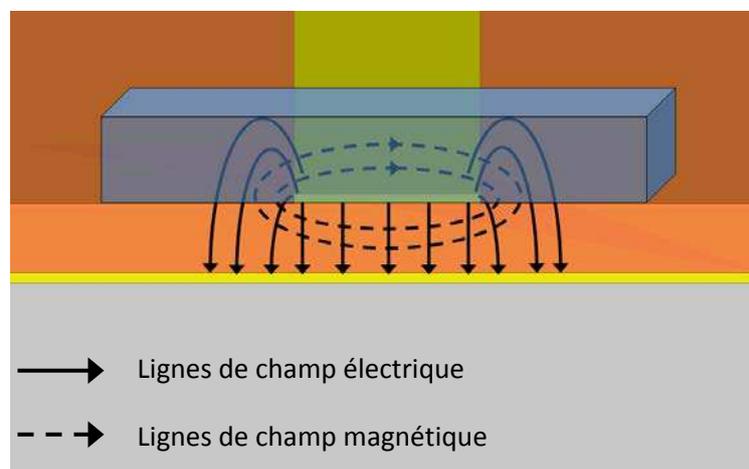


Figure 3 : Lignes de champs électrique et magnétique dans une ligne thin film microstrip. Mise en évidence du couplage fluide/champ EM dans le cas où le canal microfluidique est placé sur la face supérieure des dispositifs.

On réduit ainsi le couplage fluide/champ électromagnétique par rapport à la version des mêmes biocapteurs avec les canaux microfluidiques créés directement dans le diélectrique mais on s'affranchit ainsi d'une étape technologique pour parvenir plus rapidement à la fabrication des premiers prototypes.

Choix des matériaux :

Les conducteurs ont de nouveau été réalisés en or (pour les mêmes raisons déjà invoquées dans le chapitre II). La SU8 est choisie comme diélectrique des lignes TFMS car il s'agit d'un matériau facile à processor en microtechnologie et déjà utilisée dans nos filières pour la réalisation des canaux fluidiques (cf. chapitre II). Cependant, sa valeur élevée de tangente d'angle de pertes ($\tan(\delta) = 0.04$ à 25 GHz [1]) en fait un diélectrique moins adapté à la gamme hyperfréquence de par les pertes qu'elle introduit. Dans le futur, une alternative possible sera l'utilisation du BCB pour le choix du diélectrique. Ce deuxième polymère est plus complexe à intégrer dans notre filière technologique, mais ses propriétés diélectriques (faible tangente d'angle de pertes : $\tan(\delta) = 0.002$ dans la bande 10

– 60 GHz [2]) en font un matériau plus adapté à opérer dans la gamme hyperfréquence. Le choix du matériau pour le substrat est, quant à lui, anecdotique. En effet, le niveau métallique inférieur (plan de masse) isole les circuits hyperfréquences des propriétés électriques du substrat. Le silicium, le verre ou le quartz peuvent être utilisés (le coût de la plaque de quartz écarte néanmoins ce matériau pour des raisons financières).

II.2. Les résonateurs de la filière TFMS

II.2.a. Présentation des résonateurs

Les résonateurs sont constitués de stubs quart d'onde placés en parallèle de lignes de transmission et terminés par des capacités inter-digitées (CID) à l'autre extrémité. La Figure 4 montre un exemple (vue de dessus) de structures hyperfréquences réalisées dans le deuxième niveau métallique.

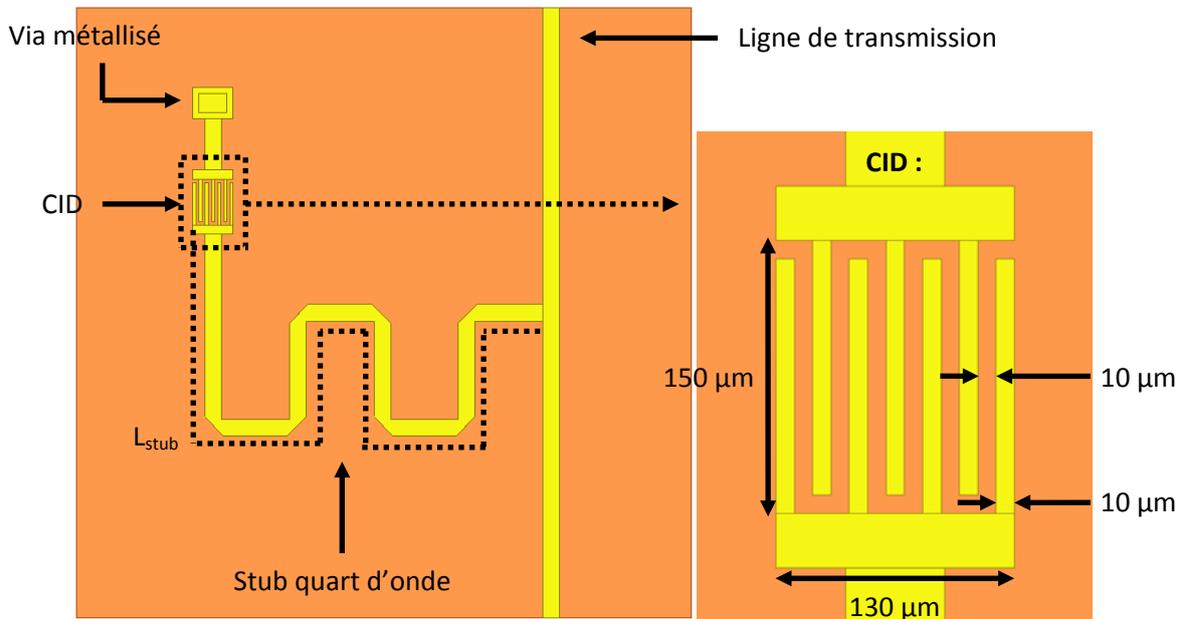


Figure 4 : Vue de dessus d'un stub quart d'onde implémenté en technologie thin film microstrip (TFMS) et vue rapprochée sur la capacité inter-digitée.

On y distingue la ligne microruban, le stub quart d'onde en parallèle de la ligne de transmission, la capacité inter-digitée terminant le stub et le via métallisé connectant la deuxième électrode de la CID au plan de masse (plan métallisé inférieur).

Ces structures hyperfréquences ont un comportement de type stop-bande en transmission. Des simulations sous Ansys® HFSS™ permettent de déterminer l'intensité du champ électrique à la fréquence de résonance.

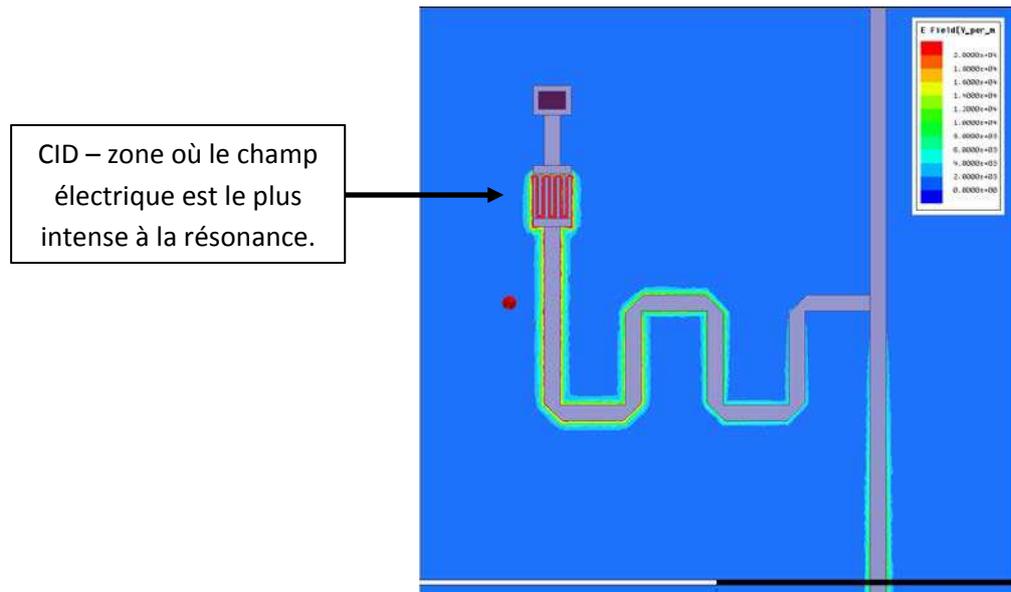


Figure 5 : Norme du champ électrique le long du stub microstrip à la fréquence de résonance. Ces simulations montrent que le champ électrique est maximal au niveau de la CID. Ces simulations désignent de fait l'emplacement des structures microfluidiques.

Comme le montre la Figure 5, à la résonance, le champ électrique est maximal au niveau de la capacité inter-digitée. Le couplage fluide/champ électromagnétique optimal sera donc réalisé en plaçant les structures microfluidiques dans cette zone.

II.2.b. Conception des résonateurs

La conception des lignes et des résonateurs hyperfréquences implémentés en « thin film microstrip » a été menée à l'aide du simulateur électromagnétique 3D Ansys® HFSS™.

Impédance caractéristique :

Les deux premiers paramètres à ajuster sont la hauteur h du diélectrique et la largeur w de la ligne microruban afin d'obtenir une impédance caractéristique Z_0 égale à 50 ohms. Les modèles analytiques donnant l'impédance caractéristique d'une ligne microstrip classique en fonction de sa géométrie (épaisseur h du diélectrique et largeur w de la ligne), de la permittivité relative ϵ_r du diélectrique et de la permittivité effective ϵ_{eff} de la ligne ont été utilisés [3]. Les équations (1) et (2) donnent la permittivité effective et l'impédance caractéristique d'une ligne microstrip.

$$\epsilon_{eff} = \frac{\epsilon_r + 1}{2} + \frac{\epsilon_r - 1}{2} \cdot \left(1 + \frac{12h}{w}\right)^{-1/2} \quad (1)$$

$$Z_C = \frac{120\pi}{\sqrt{\epsilon_{eff}}} \cdot \left(\frac{w}{h} + 1.393 + 0.667 \times \ln\left(\frac{w}{h} + 1.444\right)\right)^{-1} \quad (2)$$

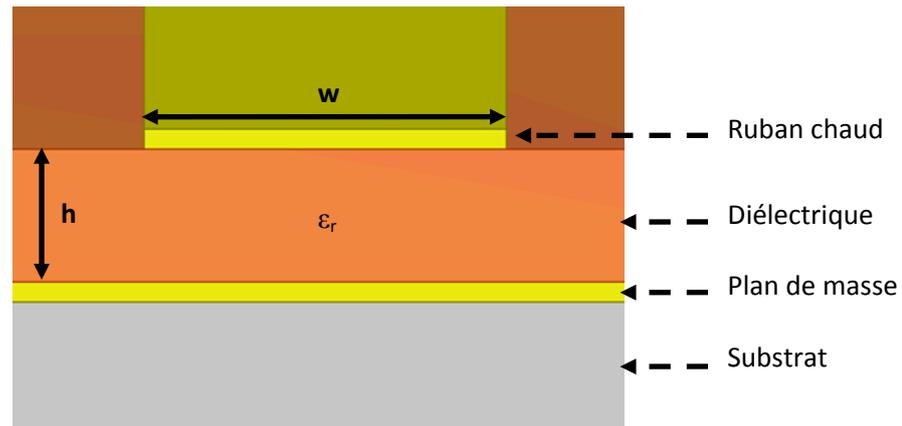


Figure 6 : Paramètres géométriques et électrique déterminant l'impédance caractéristique (au premier ordre) de la ligne thin film microstrip.

La permittivité relative de la SU8 vaut $\epsilon_r = 2.85$. SU8 et BCB ayant environ la même permittivité relative, la géométrie de la ligne peut être adaptée pour une impédance caractéristique donnée (50 ohms) que le diélectrique utilisé soit l'un ou l'autre de ces deux polymères.

La hauteur du diélectrique est, quant à elle, contrainte par trois paramètres :

- La possibilité de réaliser des vias afin d'assurer la connexion électrique entre les couches métalliques 1 et 2. L'ajout de vias permettra de mesurer les structures microstrips à l'aide de pointes RF coplanaires.
- La faisabilité technologique. Cette contrainte est surtout valable pour une compatibilité avec l'utilisation future du BCB. En effet, l'épaisseur maximale envisageable avec ce matériau est de l'ordre de 20 à 30 μm .
- L'interaction fluide/champ EM. L'étude de l'optimisation du couplage a montré que la sensibilité des biocapteurs augmente avec le volume de fluide en interaction. Dans l'optique de réaliser les canaux microfluidiques dans l'épaisseur du diélectrique, plus ce dernier est épais, plus le volume de fluide sous test sera élevé.

La hauteur du diélectrique est donc fixée à $h=20 \mu\text{m}$.

Les modèles analytiques (équation (2)) ont permis ensuite de calculer la largeur w des lignes pour ajuster l'impédance caractéristique à 50 ohms : $w=54 \mu\text{m}$.

Longueur des stubs :

Le deuxième paramètre à ajuster est la longueur des stubs. Les solutions aqueuses réagissent fortement au champ électrique dans une gamme de fréquence s'étendant environ de 10 GHz à 30 GHz (cf. chapitre II, paragraphe II.1). La fréquence centrale des stubs doit donc se situer autour de 20 GHz.

Des simulations sous Ansys® HFSS™ ont permis de déterminer la caractéristique fréquence de résonance F_r à vide en fonction de la longueur du stub (cf. Figure 7).

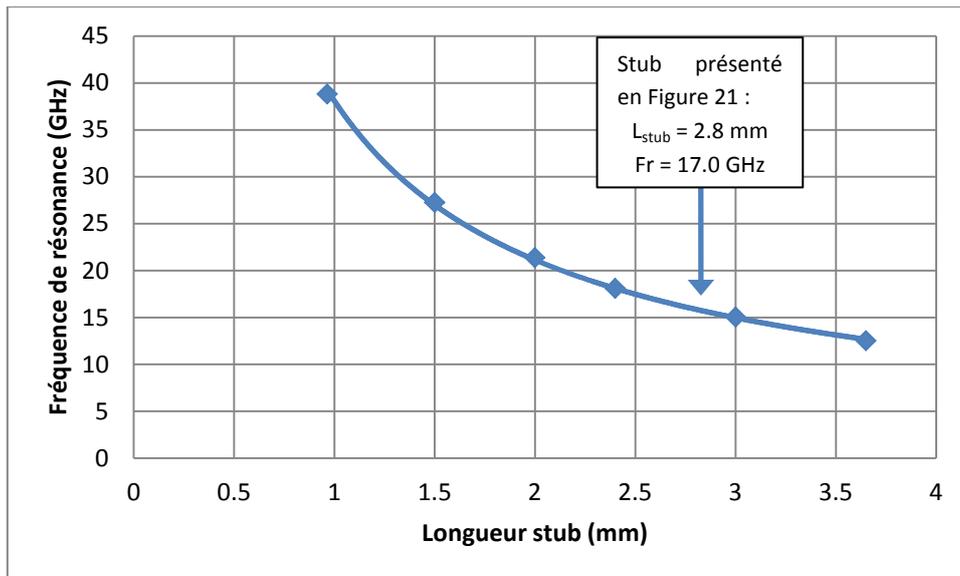


Figure 7 : Fréquence de résonance (GHz) des structures en fonction de la longueur du stub (mm).

Cette courbe permet d'ajuster la longueur du stub en fonction de la fréquence centrale souhaitée pour le dispositif.

Ouverture dans la masse sous la capacité inter-digitée :

Dans leur première version, les stubs en technologie « thin film microstrip » seront chargés par des structures microfluidiques assemblées sur la face supérieure des dispositifs, au niveau de la capacité inter-digitée. Afin de favoriser le couplage champ électromagnétique/fluide au détriment du couplage à la masse, une ouverture dans le plan métallique inférieure est réalisée juste en-dessous de la capacité inter-digitée, comme le montrent la Figure 8.

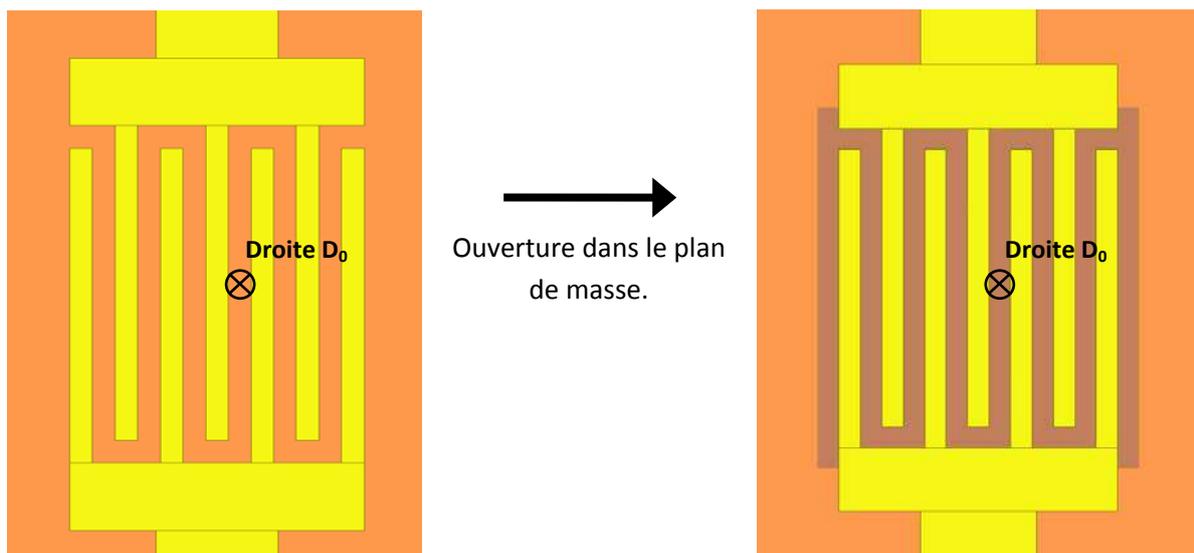


Figure 8 : Illustration de l'ouverture faite dans le plan de masse, juste en-dessous de la capacité inter-digitée.

Cette ouverture permet de « faire remonter » le champ électrique dans le plan supérieur, favorisant ainsi le couplage fluide/champ électromagnétique. La Figure 9 donne la norme du champ électrique selon l'axe D0, droite perpendiculaire aux plans métalliques, dans le cas où le plan métallique est intact (courbe bleue) et dans le cas où le plan métallique présente une ouverture sous la capacité inter-digitée (courbe rouge).

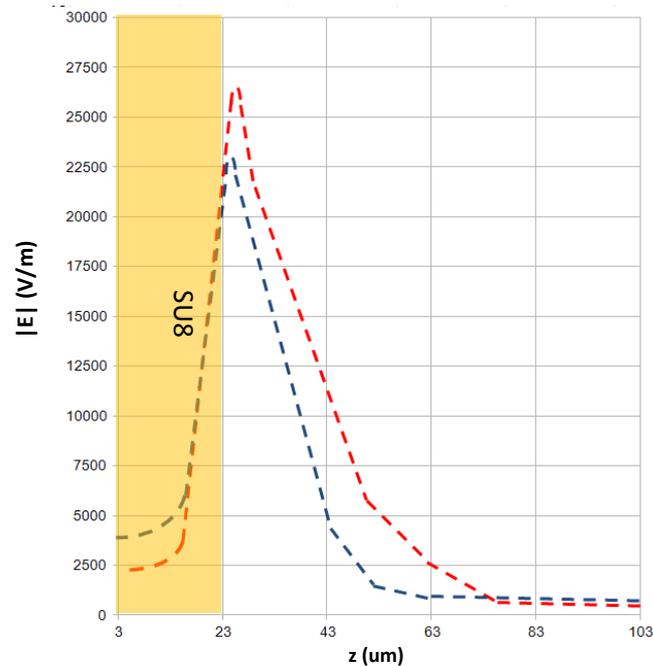


Figure 9 : Norme du champ électrique le long de la droite verticale D0 dans le cas où le plan métallique inférieur est intact et dans le cas où une ouverture a été réalisée dans la masse sous la CID.

La Figure 9 montre que la suppression du plan de masse sous la CID augmente l'intensité du champ électrique dans le demi-espace supérieur (le couplage du champ électrique à la masse étant défavorisé), là où sera placé le canal microfluidique. En réalisant cette ouverture dans le plan métallique inférieur, le couplage fluide/champ électromagnétique est ainsi favorisé d'environ 80 % dans le plan supérieur.

Ouverture dans la masse sous les accès coplanaires

Afin de pouvoir mesurer ces biocapteurs implémentés en technologie « thin film microstrip » à l'aide des pointes RF coplanaires, des accès coplanaires sont réalisés aux 2 ports des lignes microrubans. Ces accès coplanaires sont réalisés en créant deux vias de part et d'autre de la ligne microruban au travers du diélectrique et permettent ainsi de faire remonter le plan de masse inférieur au niveau du plan métallique supérieur.

Des ouvertures dans la masse sont également réalisées sous ces accès coplanaires afin d'éviter un couplage capacitif parasite des accès coplanaires à la masse.

Hauteur des canaux microfluidiques (cas des structures PDMS).

Pour ajuster la hauteur des canaux microfluidiques, la norme du champ électrique est simulée le long d'axes perpendiculaires au plan du circuit hyperfréquence. La norme du champ électrique décroît le long de ces axes à mesure que l'on s'éloigne des conducteurs. La hauteur minimale des microcanaux est celle qui rend optimal le couplage fluide/champ électrique. On retient le critère suivant : la norme du champ électrique au niveau de la paroi supérieure du canal $|\vec{E}|_{ps}$ doit vérifier :

$$|\vec{E}|_{ps} \leq 0.05 * |\vec{E}|_{max} \tag{3}$$

Quatre droites ont été positionnées le long du stub quart d'onde, perpendiculairement au plan défini par les différentes couches et réparties de façon homogène, de la base du stub à la capacité inter-digitée. La norme du champ électrique a été calculée le long de ces quatre droites. Une cinquième droite a été ajoutée au niveau de la ligne microruban. La Figure 10 montre la position de ces cinq droites D0 à D4. La Figure 10 donne également la norme du champ électrique le long de ces droites.

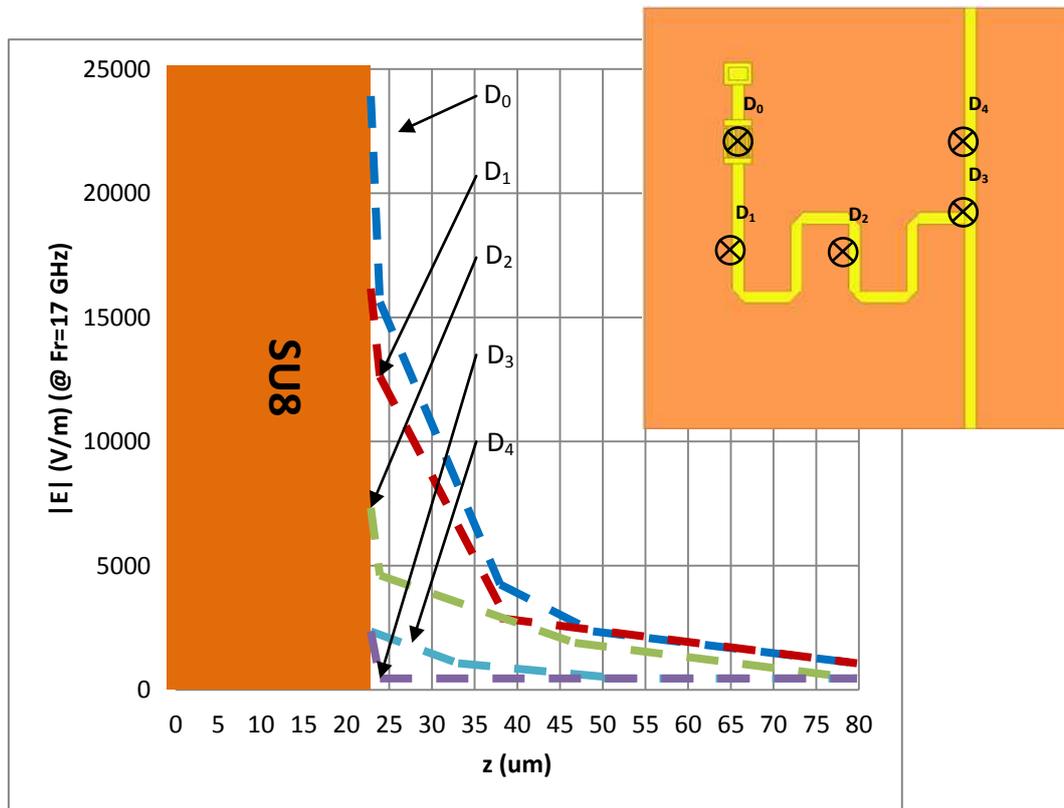


Figure 10 : Norme du champ E le long des 5 droites D0 à D4.

D'après la Figure 10, à une cote de 72 μm (soit 50 μm au-dessus de la couche de SU8), la norme du champ électrique a décré de plus de 95 %. La hauteur minimale des canaux microfluidiques assurant un bon couplage fluide/champ électrique est donc fixée à 50 μm .

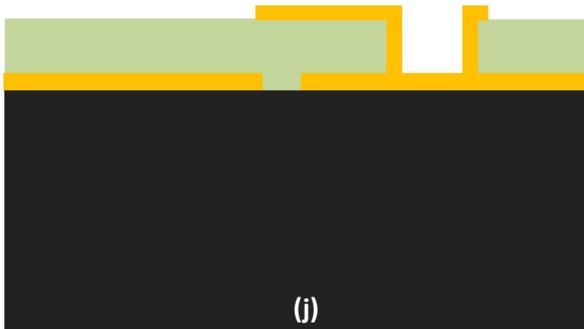
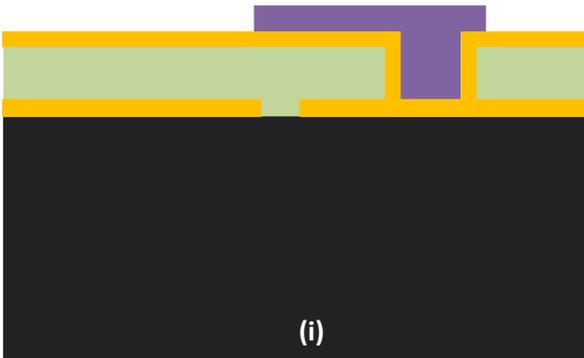
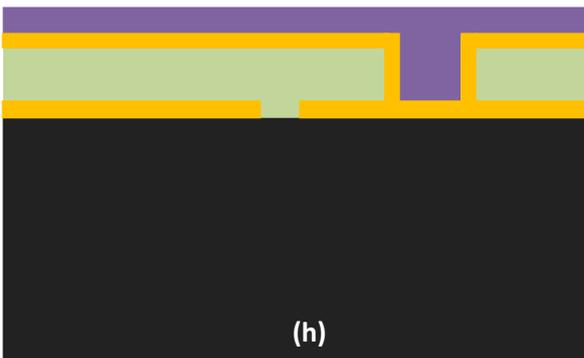
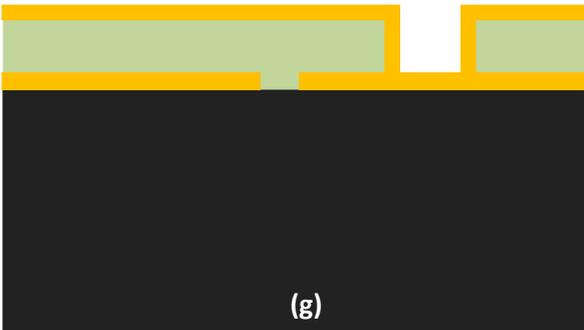
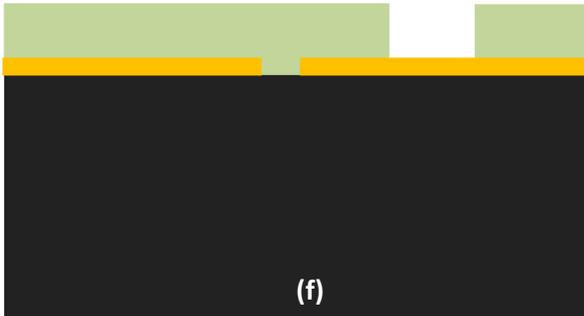
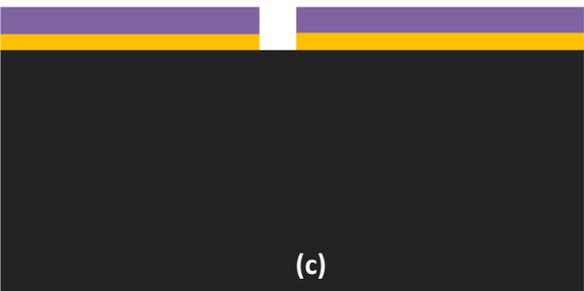
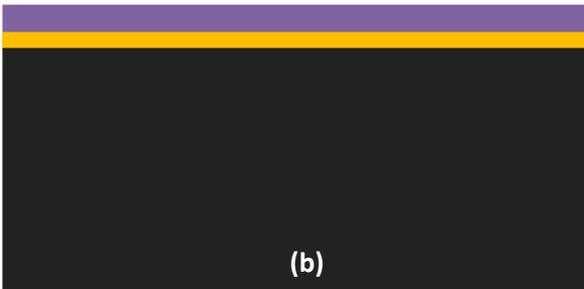
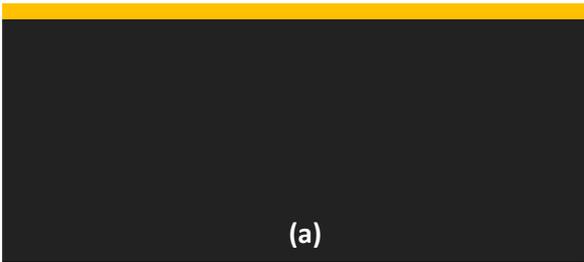
II.2.c. Fabrication en centrale de microtechnologie

Des prototypes de biocapteurs implémentés en technologie « thin film microstrip » ont été fabriqués en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS.

Pour les dispositifs utilisant des structures microfluidiques en PDMS assemblées sur la face supérieure des circuits hyperfréquences, la fabrication des prototypes se découpe en deux phases distinctes :

- La fabrication des canaux microfluidiques par moulage dans une plaque de silicium utilise le même procédé décrit au chapitre II, paragraphe II.4, page 10.
- La fabrication des circuits hyperfréquences est basée sur trois étapes de photolithographie successives avec alignement. Le paragraphe suivant décrit ces différentes étapes.

Si la nature du substrat n'a que peu d'importance en termes de performances RF pour des circuits hyperfréquences « thin film microstrip », elle en a davantage lors de la fabrication des composants. En effet, des paramètres comme la conductivité thermique du matériau peut nécessiter de réajuster la durée de certains recuits. Le procédé de fabrication est décrit dans la suite pour une plaque de silicium. La synthèse les différentes étapes de fabrication des biocapteurs en technologie « thin film microstrip » SU-8.



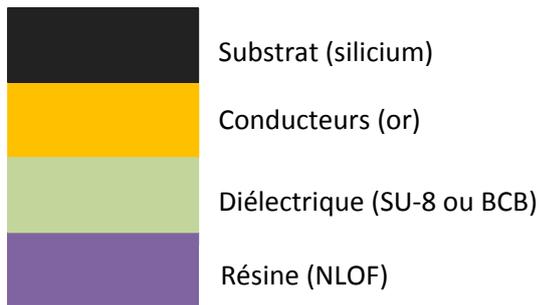


Figure 11 : Synthèse des différentes étapes de fabrication des biocapteurs de la filière « thin film microstrip » sur SU-8, 20 µm.

Préparation du substrat :

Le nettoyage du substrat s'effectue en quatre étapes : la plaque est plongée une première fois pendant 2 minutes dans un mélange de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 (50 % en volume) et d'acide sulfurique H_2SO_4 (50 % en volume). Le mélange H_2O_2/H_2SO_4 permet de piéger dans une fine couche d'oxyde les polluants organiques présents en surface. La plaque est ensuite plongée dans une solution tampon d'acide fluorhydrique HF (mélange d'acides d'attaque) pendant 2 minutes afin d'éliminer cette couche d'oxyde avec tous les contaminants qu'elle contient. Un passage au plasma oxygène pendant 15 min à forte puissance (800 watts), éventuellement précédé d'un deuxième bain H_2O_2/H_2SO_4 pendant 2 minutes permettent de recréer cette couche d'oxyde en surface, améliorant l'adhérence des couches supérieures sur le substrat.

Réalisation du premier niveau métallique :

Après avoir laissé le substrat 10 minutes en déshydratation dans une étuve à 200 °C (l'élimination des molécules d'eau en surface facilite l'accroche des atomes métalliques), le dépôt des couches métalliques est réalisé par évaporation sur toute la surface de la plaque. Une première couche de titane de 100 nm d'épaisseur est déposée pour permettre l'accroche des atomes d'or. La couche or est ensuite évaporée jusqu'à atteindre une épaisseur de 300 nm (Figure 11 – (a)).

Les ouvertures dans ce premier niveau métallique sont réalisées par gravure humide. Une résine de protection (NLOF – 5 µm) est utilisée pour protéger les zones métalliques à conserver. La résine est déposée à la tournette, recuite à 110 °C pendant 1 minute 30 et passée à la photolithographie (Figure 11 – (b)). La résine doit ensuite subir un PEB (Post-Exposure Bake) à 110 °C avant d'être développée. La Figure 12 montre un cliché d'une ouverture dans la résine NLOF avant gravure.

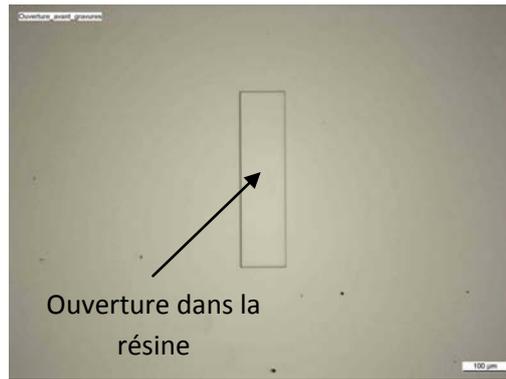


Figure 12 : Ouverture dans la résine NLOF avant gravure des couches Au et Ti.

La couche d'or est gravée dans un bain d'iodure de potassium (KI) et de diode (I_2). La couche de titane est gravée ensuite dans une solution tampon d'acide fluorhydrique (buffer HF) (Figure 11 – (c)). La résine est enfin éliminée par dissolution dans l'acétone (Figure 11 – (d)). La Figure 13 montre une ouverture dans la couche métallique après les étapes de gravure et l'élimination de la résine (ouverture sous les accès coplanaires).

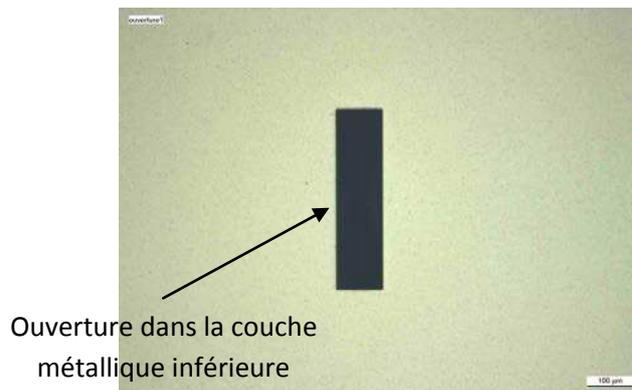


Figure 13 : Ouverture dans la première couche métallique après gravure Au et Ti et élimination de la résine NLOF.

Réalisation de la couche SU8 20 µm

Avant de réaliser la couche de SU8, la plaque est passée au plasma oxygène à forte puissance (800 watts) pendant 5 minutes afin d'éliminer d'éventuels résidus de résine en surface. Elle est passée ensuite quelques minutes en étuve de déshydratation. L'élimination des molécules d'eau en surface permet une meilleure accroche des couches supérieures.

Le dépôt de la couche de SU8 est fait par enduction manuelle. Pour obtenir une épaisseur de 20 µm, la résine SU8 de référence 3025 est utilisée ([4]). L'enduction est faite « en dynamique », c'est-à-dire que la tournette doit être en rotation à vitesse modérée pendant le dépôt de la résine. Un deuxième cycle de rotation à vitesse plus élevée est ensuite programmé pour homogénéiser la couche de SU8 sur toute la plaque et obtenir l'épaisseur visée (Figure 11 – (e)).

La résine doit ensuite subir un recuit (de type « soft bake »). Comme précédemment mentionné dans le chapitre II, la SU8 ne supporte pas les brusques variations de température. Les recuits sont donc opérés sur des plaques chauffantes dédiés à cette résine et permettant de créer

des profils contrôlés en température (voir chapitre II, paragraphe II.4). Dans le cas du « soft bake » typique pour une couche de 20 μm de SU8 3025, le recuit comprend un plateau à 95°C durant 15 min.

Les ouvertures dans la couche de SU8 sont réalisées par photolithographie à $\lambda=365\text{ nm}$. La résine est exposée à une puissance surfacique de 10 mW/cm^2 pendant 7.5 secondes. La couche de SU8 doit ensuite subir un recuit post-insolation (PEB – Post-Exposure Bake) dont le plateau en température est à 95°C pendant 3 minutes.

La couche SU8 est ensuite développée avec son développeur dédié (Figure 11 – (f)). Après rinçage à l'isopropanol, la couche de SU8 doit subir un recuit final (« hard bake ») avec un plateau en température à 125°C afin d'achever la réticulation.

Réalisation du deuxième niveau métallique.

Avant le dépôt du deuxième niveau métallique, la face supérieure de la couche de SU8 doit subir un « descumming » afin d'améliorer l'adhérence de la couche métallique et d'éliminer d'éventuels résidus de résine au fonds des ouvertures. Ce descumming est réalisé par plasma O_2/CF_4 à puissance réduite.

La Figure 14 montre un exemple d'ouverture dans la SU8 avant traitement par plasma O_2/CF_4 .

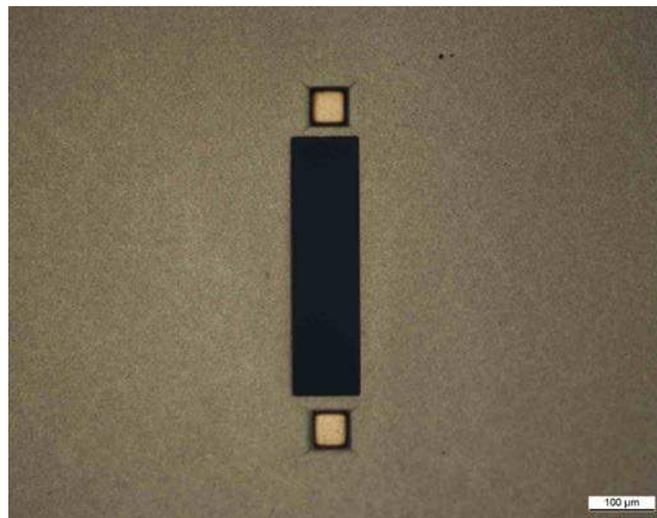


Figure 14 : Ouverture dans la SU8 avant descumming (plasma O_2/CF_4).

Le deuxième niveau métallique doit être réalisé sur un polymère présentant un relief. En effet, des ouvertures ont été faites dans la SU8 afin de créer des vias métallisés, permettant de faire remonter le plan de masse inférieur sur la face supérieure. La Figure 15 montre une vue en coupe de la plaque à ce stade de la fabrication.

Afin d'assurer la connexion entre les niveaux métalliques inférieur et supérieur, une métallisation par pulvérisation (« sputtering ») est privilégiée. La métallisation par évaporation éjecte des atomes métalliques d'une source selon une trajectoire quasi-perpendiculaire à la cible (c'est-à-

dire la plaque à métalliser). La métallisation par pulvérisation repose globalement sur le même principe que la métallisation par évaporation à ceci près que les sources d'atomes et la plaque cible sont enfermées dans une enceinte contenant un plasma à basse pression. Les atomes métalliques éjectés de la source transitent au travers du plasma, percutent différents éléments présents sur leur trajectoire et atteignent la plaque cible avec un angle d'incidence aléatoire, déterminé par la dernière collision. Cette méthode permet donc une métallisation plus efficace des flancs du diélectrique.

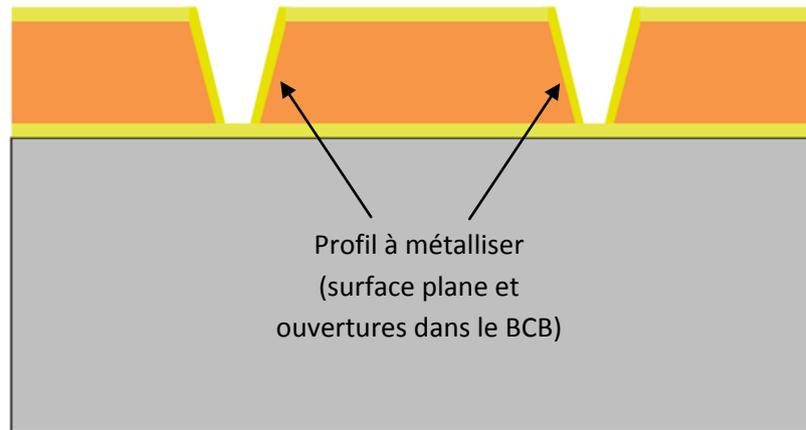


Figure 15 : Vue en coupe de la plaque après évaporation du deuxième niveau métallique. Cette vue montre le profil en relief à métalliser.

Une épaisseur de 100 nm de titane, puis 500 nm d'or sont ainsi déposés par pulvérisation en pleine plaque (Figure 11 – (g)).

La résine NLOF (épaisseur 5 μm) est de nouveau utilisée comme masque de protection pour protéger les zones métalliques (Figure 11 – (h)) à conserver de la gravure humide. Le procédé d'enduction, photolithographie et révélation est strictement identique à celui utilisé pour la réalisation du premier niveau métallique (Figure 11 – (i)). La gravure humide des couches or (solution d'iodure de potassium et de diode) et titane (solution tampon d'acide fluorhydrique) est également faite de la même manière que pour le premier niveau métallique. Les résidus de résine NLOF sont ensuite éliminés par dissolution dans l'acétone (Figure 11 – (j)).

Cette dernière étape clôt la fabrication des structures hyperfréquences. La Figure 16 montre un exemple de stub réalisé selon le procédé décrit ci-dessus.

Réalisation des structures microfluidiques.

La fabrication des structures microfluidiques en PDMS obéit au même procédé déjà décrit dans le paragraphe II.4 du chapitre II (page 4).

L'assemblage des structures microfluidiques est réalisé à l'aide d'un plasma d'activation. Les structures microfluidiques et la plaque sont passées tour à tour dans un plasma oxygène à faible

puissance. Les structures sont ensuite mises en place sur les résonateurs hyperfréquences et l'ensemble est placé ensuite en étuve à 75 °C pendant 1 minute.

Sur la Figure 16, un encart montre une vue rapprochée sur la capacité inter-digitée et la structure microfluidique assemblée par-dessus.

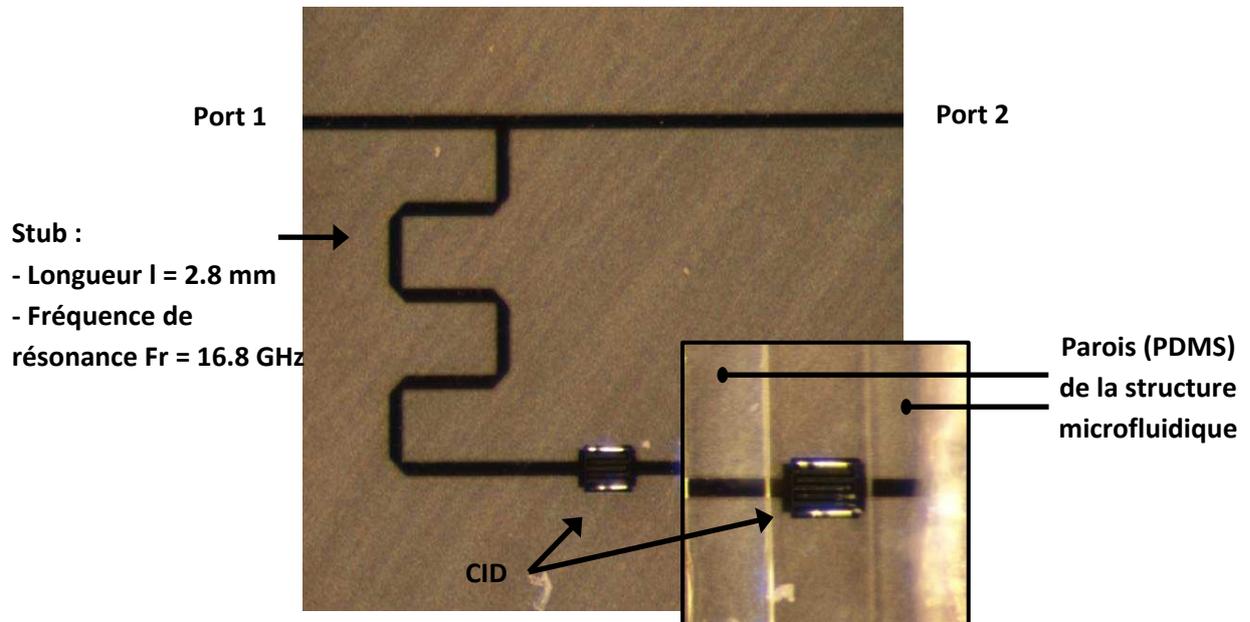


Figure 16 : Stub quart d'onde et CID réalisés en technologie « thin film microstrip ». L'encart en bas à droite montre une vue rapprochée sur la capacité inter-digitée munie de la structure microfluidique en PDMS.

La Figure 17 montre la réponse en transmission du stub présenté sur la Figure 16 en simulation et en mesure. Les caractérisations sous pointes ont été faites entre 0 et 55 GHz. Les simulations ont été faites entre 10 et 24 GHz, afin de minimiser les temps de calculs.

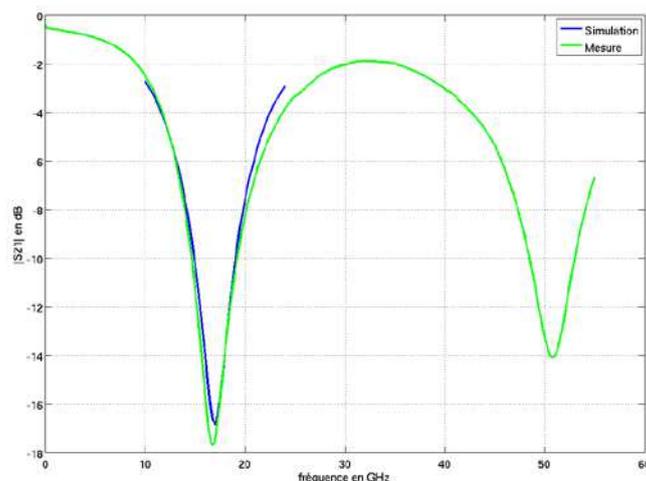


Figure 17 : Caractérisation (en vert) dans la bande 0 – 55 GHz et simulation (en bleu) dans la bande 10 – 24 GHz du stub hyperfréquence présenté sur la Figure 16.

Le bon accord entre simulations et mesures démontre le bon fonctionnement de la structure hyperfréquence. Le Tableau 1 rassemble les fréquences de résonance, réjections à la résonance, facteurs de qualité hors et en charge, en simulation et en mesure du stub présenté par la Figure 16.

Tableau 1 : Fréquence de résonance, réjection à la résonance, facteurs de qualité hors et en charge, en simulation et en mesure, du stub présenté par la Figure 16.

	Simulation	Mesure
Fr1 (GHz)	17	16.8
S21 (@Fr1) (dB)	-16.9	-17.7
Q0	8.4	8.4
QL	1.2	1.1

La Figure 23 montre deux exemples de réalisations d'accès coplanaires pour permettre la mesure de structures implémentées en technologie TFMS à l'aide de sondes coplanaires.

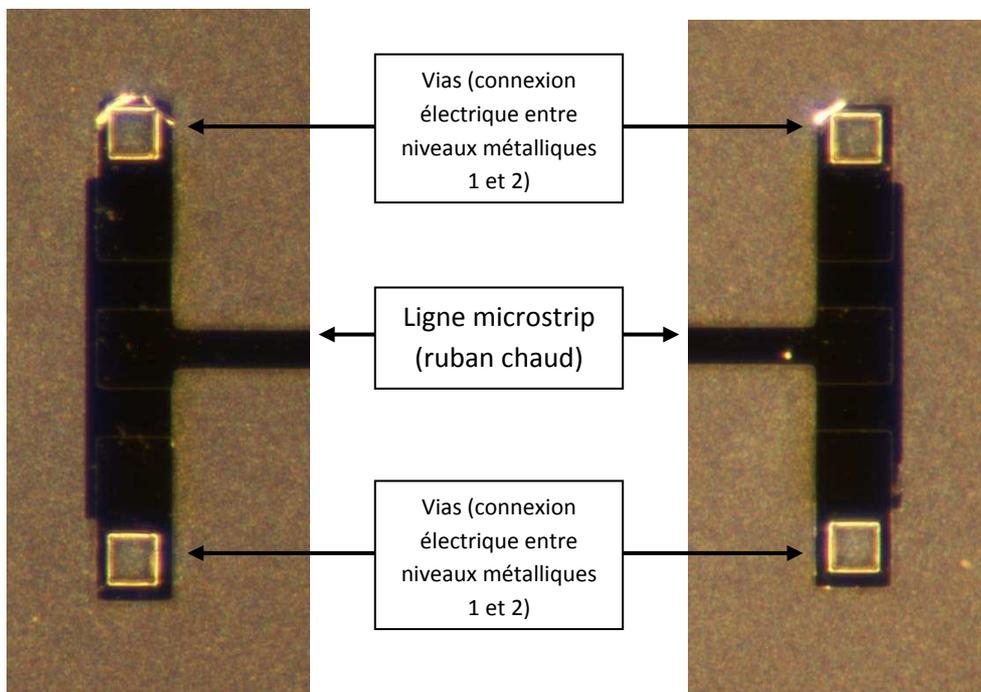


Figure 18 : Exemples d'accès coplanaires permettant la mesure des structures hyperfréquences implémentées en technologie « thin film microstrip » à l'aide de sondes coplanaires.

II.3. Les résonateurs de la filière CPW

L'architecture de ces résonateurs est constituée de stubs quart d'onde placés en parallèle d'une ligne coplanaire et terminés par une capacité inter-digitée (CID) à l'autre extrémité. Des ponts à air permettent d'équilibrer les masses coplanaires au niveau de la connexion du stub. La Figure 19 montre un exemple (vue de dessus) de ces structures hyperfréquences.

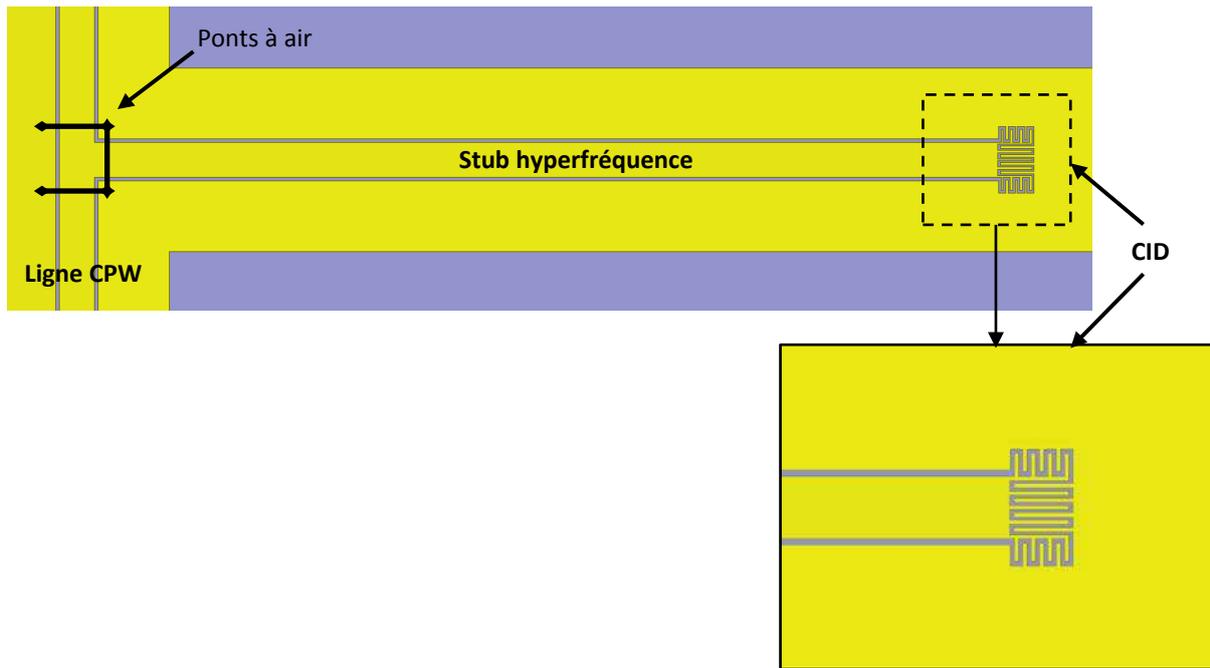


Figure 19 : Vue de dessus d'un stub quart d'onde implémenté en technologie coplanaire (CPW) et vue rapprochée sur la capacité inter-digitée.

On y distingue la ligne coplanaire, le stub quart d'onde en parallèle de la ligne de transmission et la capacité inter-digitée terminant le stub.

Une telle structure présente un comportement de type stop-bande en transmission (S_{21}). A la fréquence de résonance, le champ électrique est très intense au niveau de la CID (cf. Figure 20). Le canal microfluidique est donc placé au niveau de la CID et définit ainsi la zone de détection du biocapteur.

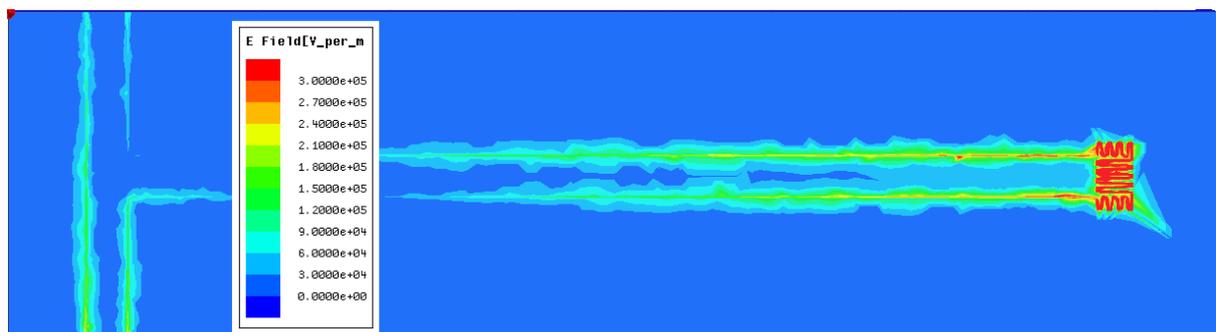


Figure 20 : Norme du champ électrique à la fréquence de résonance dans la structure hyperfréquence. La zone où la norme du champ électrique est le plus intense est clairement la capacité inter-digitée.

La conception des stubs a été faite sous Ansys® HFSS™ et reste identique à celle déjà suivie pour la conception des stubs en technologie thin film microstrip. La géométrie des lignes a été optimisée pour atteindre une impédance caractéristique de 50 ohms. Longueurs des stubs et

hauteurs des canaux microfluidiques ont été déterminées en simulant, respectivement la fréquence de résonance en fonction de la longueur du stub et en simulant la norme du champ électrique le long d'une droite perpendiculaire au plan de métallisation de manière identique à ce qui a été fait pour les structures « thin film microstrip ».

De même, les prototypes ont été fabriqués en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS selon un procédé identique à celui utilisé pour fabriquer les résonateurs CPW utilisés dans le chapitre précédent. A nouveau, les structures microfluidiques ont été fabriquées soit par moulage dans une matrice de silicium (microcanaux en PDMS) puis assemblées sur les structures hyperfréquences ; soit directement par photolithographie avec alignement sur la couche métallique inférieure (microcanaux en SU8). A nouveau, les procédés de fabrication restent strictement identiques à ceux déjà décrits dans le chapitre II, paragraphe II.4.

La Figure 26 montre une vue d'ensemble d'un biocapteur basé sur un stub coplanaire et fabriqué en centrale de microtechnologie au LAAS-CNRS. L'insert montre une vue rapprochée sur la capacité inter-digitée.

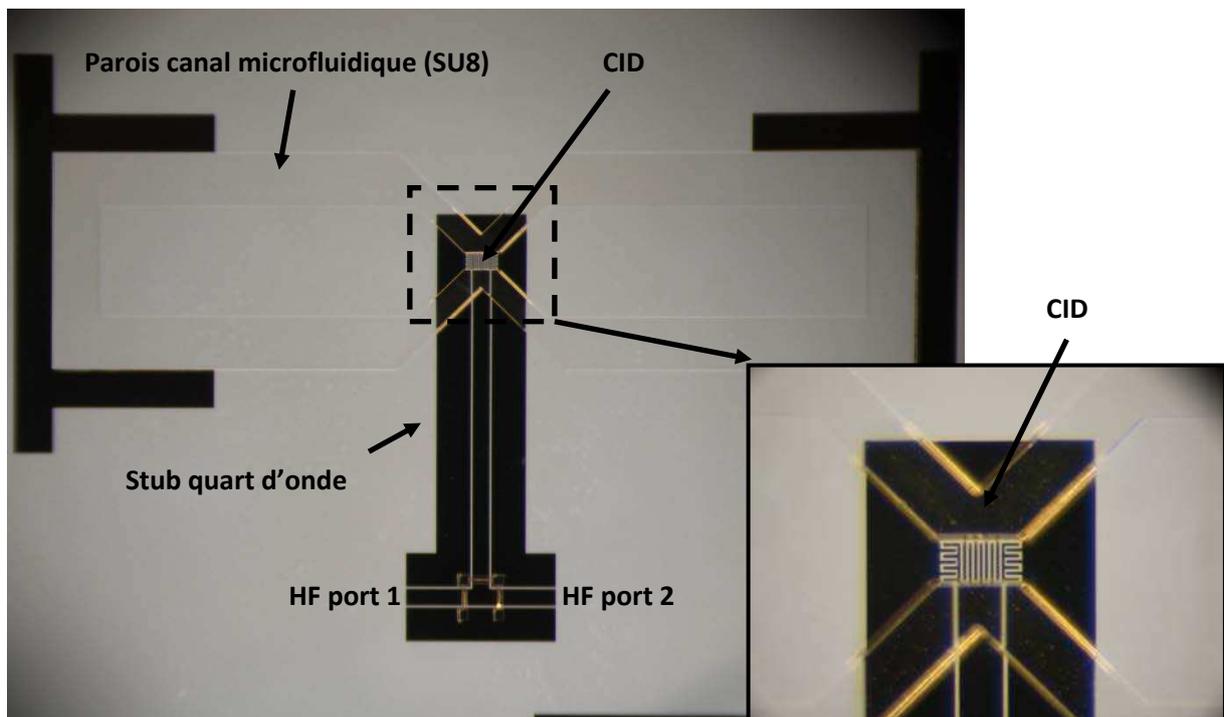


Figure 21 : Vue d'ensemble d'un biocapteur basé sur un stub quart d'onde implémenté en technologie coplanaire et équipé d'un canal microfluidique en SU8. L'insert à droite montre une vue rapprochée sur la capacité inter-digitée.

La Figure 22 montre une mesure du biocapteur présenté sur la Figure 26 dans la bande [0 – 40] GHz et une simulation du même dispositif dans la bande [3 – 17] GHz.

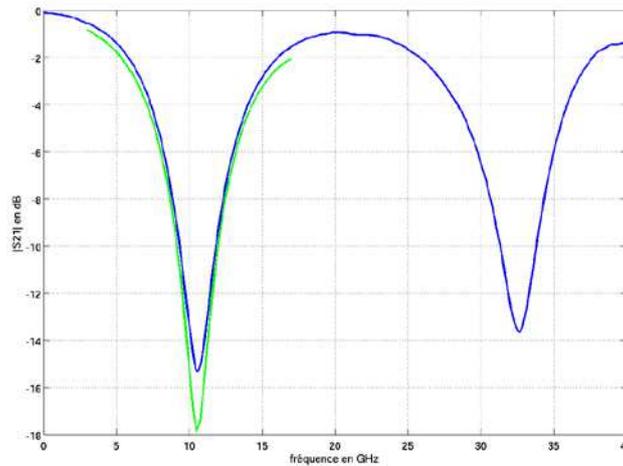


Figure 22 : Caractérisation (en bleu) dans la bande 0 – 55 GHz et simulation (en vert) dans la bande 3 – 17 GHz du stub hyperfréquence présenté sur la Figure 26.

Le bon accord entre simulations et mesures démontre le bon fonctionnement de la structure hyperfréquence. Le Tableau 2 rassemble les fréquences de résonance, réjections à la résonance, facteurs de qualité hors et en charge, en simulation et en mesure du stub présenté par la Figure 26.

Tableau 2 : Fréquence de résonance, réjection à la résonance, facteurs de qualité hors et en charge, en simulation et en mesure, du stub présenté par la Figure 26.

	Simulation	Mesure
Fr1 (GHz)	10.5	10.6
S21 (@Fr1) (dB)	-17.9	-15.3
Q0	8.9	7.1
QL	1.1	1.2

II.4. Amélioration du protocole de mesure et des indicateurs de sortie

II.4.a. Contraste par rapport à une référence

Afin de s'affranchir des phénomènes de dérive (illustration de la dérive de la fréquence de résonance mesuré pour un biocapteur chargé par de l'eau déionisée sur la Figure 28) observés lors de manipulations longues (quelques heures), le protocole de mesure auquel obéissent les mesures présentées dans la suite du chapitre est le suivant : le liquide de référence est mesuré **avant chaque** nouveau liquide à tester. Les écarts de fréquence de résonance et de réjection à la résonance entre le liquide sous test et le liquide de référence sont ainsi calculés par rapport au liquide de référence mesuré immédiatement avant. La Figure 24 résume le nouveau protocole de mesure.

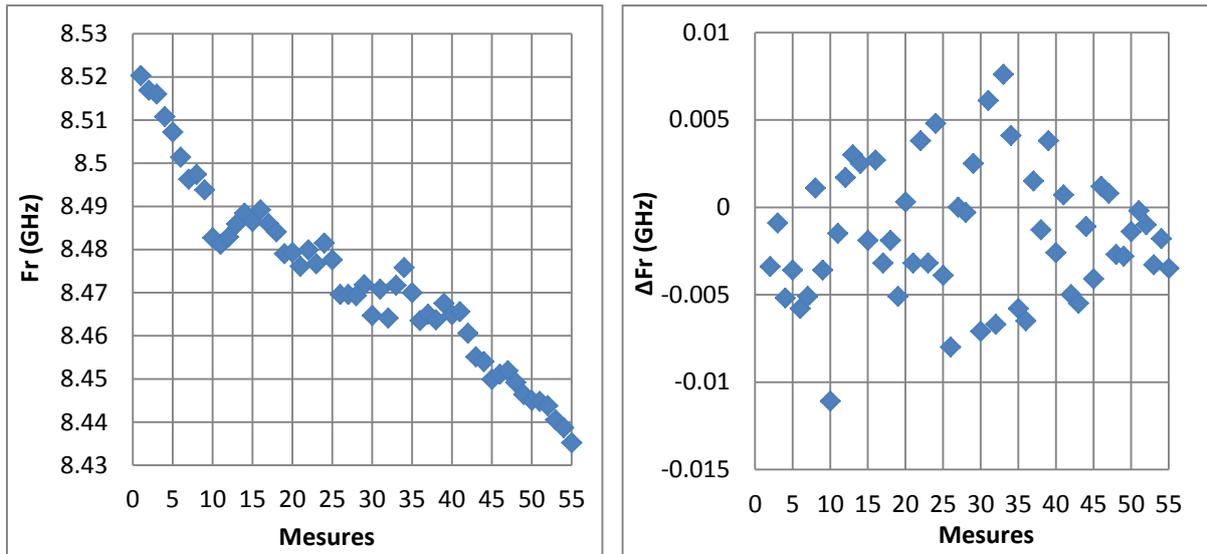


Figure 23 : (à gauche) Mise en évidence de la dérive de la fréquence de résonance lors d'une campagne de mesures ayant nécessité la caractérisation de 55 échantillons d'eau déionisée. La valeur brute de la fréquence de résonance a dérivé de façon monotone, passant de 8.52 GHz à 8.43 GHz environ ; soit presque 100 MHz. (à droite) Ecart deux à deux des valeurs de fréquences de résonance sur les mêmes 55 échantillons d'eau. L'écart moyen entre deux mesures consécutives est inférieur à 3.5 MHz et évolue dans le temps de façon chaotique.

Ce protocole de mesure est répété plusieurs fois pour chaque liquide sous test et autant de fois qu'il y a de liquides à étudier. Les écarts de fréquence de résonance sont déterminés en mesurant tour à tour la fréquence de résonance sur les paramètres $S21_{ref}$ (relatifs au liquide de référence) et $S21_{liqA}$ (relatifs au liquide A).

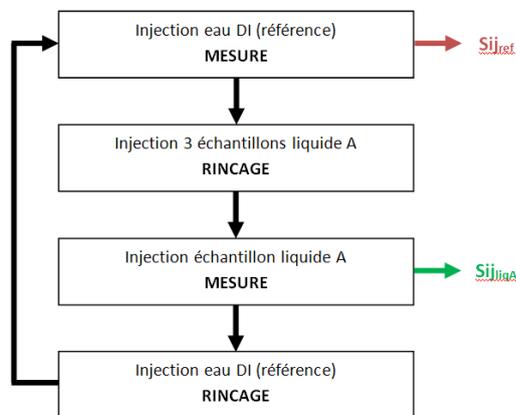


Figure 24 : Protocole expérimental avec mesure du liquide de référence avant chaque mesure du liquide sous test.

II.4.b. Mesure des contrastes de réjection à la résonance

La mesure des écarts de réjection à la résonance est quant à elle, modifiée par rapport à celle utilisée au chapitre II. Elle était la suivante :

$$\Delta|S21|(@Fr) = |S21|_{liqA}(@Fr_{liqA}) - |S21|_{ref}(@Fr_{ref}) \quad (4)$$

Pour les mesures menées sur les deux nouvelles familles de biocapteurs, la mesure des écarts de réjection devient :

$$\Delta|S21|(@Fr_{ref}) = |S21|_{liqA}(@Fr_{ref}) - |S21|_{ref}(@Fr_{ref}) \quad [en \text{ dB}] \quad (5)$$

En d'autres termes, les écarts de réjection sont déterminés à la fréquence de résonance du liquide de référence. Cette nouvelle définition permet d'obtenir un indicateur calculé à une fréquence unique, constante pour tous les mélanges caractérisés lors d'une campagne de mesures. Autre intérêt de cette nouvelle définition, la détermination des écarts de réjection n'est pas faite sur les spectres $S21_{ref}$ et $S21_{liqA}$, mais sur le « spectre normalisé » $S21_{liqA}/S21_{ref}$ (échelle naturelle). En effet :

$$\Delta|S21|(@Fr_{ref})_{dB} = |S21|_{liqA}(@Fr_{ref})_{dB} - |S21|_{ref}(@Fr_{ref})_{dB} = 20 * \log\left(\left|\frac{S21_{liqA}}{S21_{ref}}\right|(@Fr_{ref})\right) \quad (6)$$

Le bruit systématique qui entache les spectres $S21_{ref}$ et $S21_{liqA}$ est alors éliminé mathématiquement, rendant ainsi plus précise la détermination des écarts de réjection à la résonance.

Il est à noter en outre que la norme du paramètre normalisé $S21_{norm} = S21_{liqA}/S21_{ref}$ est mesurée en dB. Passer de l'échelle naturelle à l'échelle dB pour la mesure de la norme des paramètres S reste compatible avec la théorie des perturbations. En effet :

$$S21_{dB} = 20 * \log(S21) = 20 * \frac{\ln(S21)}{\ln(10)} \quad (7)$$

Et donc :

$$\Delta S21_{dB} = \frac{20}{\ln(10)} * \frac{\Delta S21}{S21} \quad (8)$$

Or, nous avons montré, dans le cadre du chapitre précédent, que les prédictions que peut faire la théorie des perturbations sur les variations du facteur de qualité en charge Q_L peuvent être confirmés par la mesure des écarts de réjection à la résonance en échelle naturelle (cf. chapitre II, paragraphe II.5). Nous montrons ici que les écarts de réjection à la résonance peuvent également être mesurés en dB tout en restant compatibles avec les prédictions de la théorie des perturbations. L'équation (8) permet en effet d'aboutir à :

$$\Delta S21_{dB} = \frac{20.S21}{\ln(10).Q_0} . K . \Delta \varepsilon'' \quad (9)$$

II.4.c. Troisième indicateur, sur la phase

De manière complémentaire à l'indicateur précédent, un troisième indicateur a été défini, non plus sur le module, mais sur la phase des paramètres S. Ce paramètre est calculé à nouveau sur les paramètres S normalisés $\frac{S_{21_{liqA}}}{S_{21_{ref}}}$ et est défini comme suit :

$$\Delta \arg(S_{21}) (@Fr_{ref}) = \arg \left(\frac{S_{21_{liqA}}}{S_{21_{ref}}} \right) (@Fr_{ref}) \quad (10)$$

II.4.d. Incertitude de mesure

On évalue l'incertitude sur la mesure des indicateurs ΔFr , $|S_{21norm}|(@Fr_{ref})$ et $\arg(S_{21norm})(@Fr_{ref})$ en procédant à une série de caractérisation sur 40 échantillons d'eau déionisée en utilisant le protocole présenté sur la Figure 24.

On détermine ainsi la valeur des trois indicateurs ΔFr , $|S_{21norm}|(@Fr_{ref})$ et $\arg(S_{21norm})(@Fr_{ref})$ pour chaque couple de deux mesures consécutives d'eau DI. L'incertitude de mesure est ainsi définie comme suit :

$$\delta_{\Delta Fr} = \frac{1}{39} \sum_{i=1}^{39} |\Delta Fr_i| = 3.5 \text{ MHz} \quad (11)$$

$$\delta_{|S_{21n}|} = \frac{1}{39} \sum_{i=1}^{39} \left| |S_{21norm}|(@Fr_{ref}) \right| = 3.0 \times 10^{-3} \text{ dB} \quad (12)$$

$$\delta_{\arg(S_{21n})} = \frac{1}{39} \sum_{i=1}^{39} \left| \arg(S_{21norm}) (@Fr_{ref}) \right| = 0.05 \text{ deg} \quad (13)$$

Le paragraphe suivant présente des résultats de mesures menées sur les trois familles de biocapteurs développées (résonateurs coplanaires, stubs implémentés dans des lignes coplanaires, stubs implémentés en technologie « thin film microstrip »). Les liquides utilisés sont des mélanges eau/glucose dont la concentration en glucose est « élevée » (par rapport à la concentration en glucose dans le sang) : de 1 à 80 g/L.

Les trois familles de biocapteurs seront comparées en termes de sensibilité aux variations de la concentration en glucose à l'aide des trois indicateurs définis ci-avant : écarts de fréquence de résonance par rapport à un liquide de référence ; écarts de réjection à la résonance et déphasage à la fréquence de résonance. Le protocole de mesure de mesure utilisé est à chaque fois celui décrit par la Figure 24. Le liquide de référence est dans tous les cas l'eau déionisée.

II.5. Evaluation des performances des différentes familles de biocapteurs - mesure de mélanges eau/glucose à forte concentration en glucose

II.5.a. Sur les résonateurs implémentés en technologie « thin film microstrip » (TFMS)

Les mesures de mélanges eau/glucose ont été menées sur le dispositif présenté sur la Figure 16. Il s'agit du stub de 2.8 mm de longueur, terminé par une capacité inter-digitée.

Des mélanges eau/glucose dont la concentration en glucose varie de 1.25 g/L à 80 g/L ont été mesurés selon le protocole expérimental décrit au paragraphe I.4 (le liquide de référence étant toujours l'eau déionisée).

La Figure 25 montre les spectres en transmission ($|S_{21}|(\text{freq})$) du dispositif chargé par de l'eau déionisée et les 6 mélanges eau/glucose les plus concentrés (5, 10, 20, 40, 60 et 80 g/L) seulement.

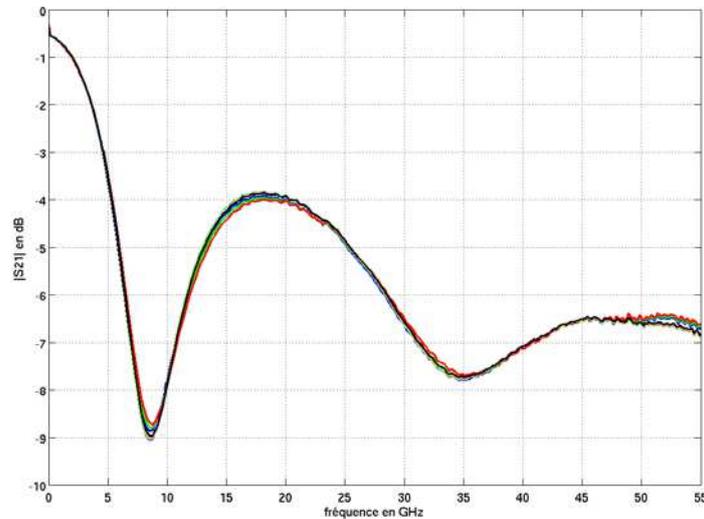


Figure 25 : Spectres $|S_{21}|(\text{freq})$ mesurés sur le biocapteur pour l'eau déionisée et les 6 mélanges eau/glucose de concentration variant de 5 g/L à 80 g/L.

On distingue sur la Figure 25 la première fréquence de résonance à environ 8.5 GHz et la deuxième à environ 35 GHz. En bande large, les 7 spectres ont l'air superposés. Si on observe les spectres autour de la première fréquence de résonance (Figure 26), on constate qu'une augmentation de la concentration en glucose réduit l'intensité de la réjection à la résonance et décale la fréquence de résonance vers les hautes fréquences. Ce dernier phénomène n'apparaît pas clairement sur les spectres mais devient évident après traitement des spectres à l'aide des routines automatisées (voir Figure 31).

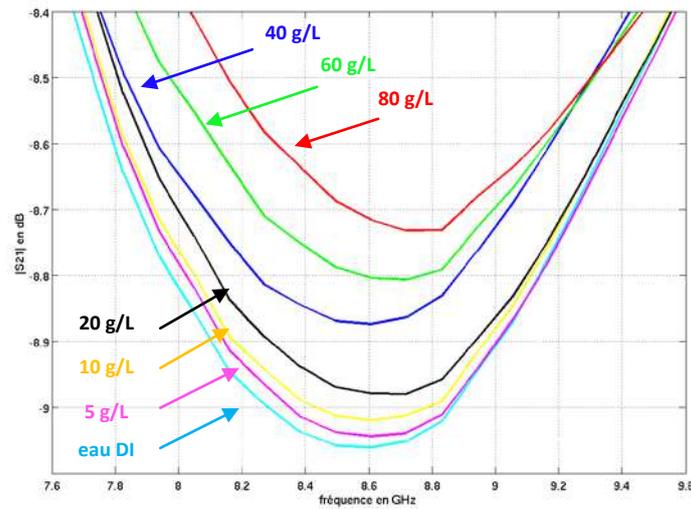


Figure 26 : Spectres $|S_{21}|(freq)$ en bande étroite autour de la première fréquence de résonance (# 8.5 GHz) pour l'eau déionisée et les 6 mélanges eau/glucose à 5 ; 10 ; 20 ; 40 ; 60 et 80 g/L.

De manière analogue, La Figure 27 montre les spectres $arg(S_{21})(freq)$ dans la bande [0 - 55] GHz pour les mêmes mélanges eau/glucose.

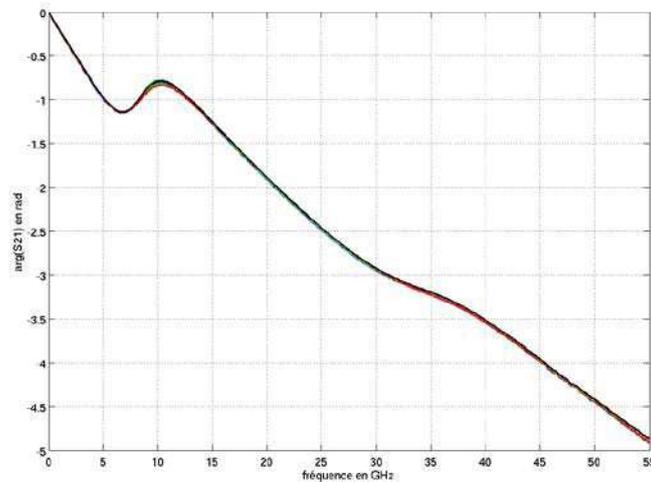


Figure 27 : Spectres $arg(S_{21})(freq)$ mesurés sur le biocapteur pour l'eau déionisée et les 6 mélanges eau/glucose de concentration variant de 5 g/L à 80 g/L.

De même, les 6 fluides ne sont pas distinguables à l'œil nu sur ces spectres en bande large. L'observation des spectres en bande étroite (Figure 28 – bande [7 - 11] GHz) autour de la première fréquence de résonance permet d'illustrer l'influence de la concentration en glucose sur la phase du paramètre S_{21} .

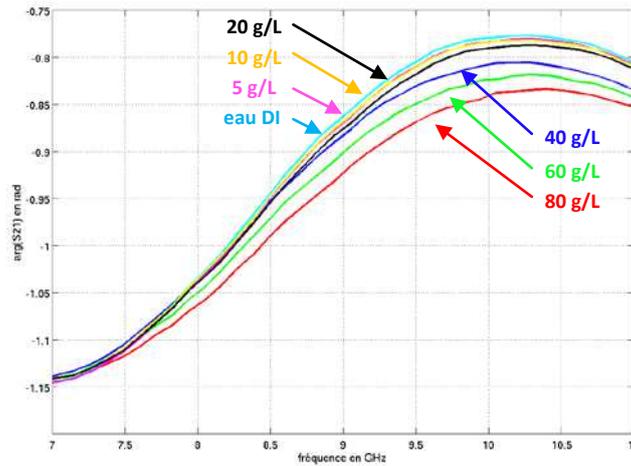


Figure 28 : Spectres $\arg(S_{21})(\text{freq})$ en bande étroite autour de la première fréquence de résonance (# 8.5 GHz) pour l'eau déionisée et les 6 mélanges eau/glucose à 5 ; 10 ; 20 ; 40 ; 60 et 80 g/L.

Un autre moyen pour observer l'impact d'une augmentation de la concentration en glucose est de considérer les spectres normalisés $|S_{21\text{norm}}| = \left| \frac{S_{21\text{glucose}}}{S_{21\text{reference}}} \right|(\text{freq})$ et $\arg(S_{21\text{norm}}) = \arg\left(\frac{S_{21\text{glucose}}}{S_{21\text{reference}}}\right)$. Les spectres $S_{21\text{glucose}}$ correspondant à chacun des mélanges eau/glucose sont normalisés par rapport au spectre correspondant au liquide de référence (eau DI) mesuré immédiatement avant (conformément au protocole expérimental décrit au paragraphe I.3.b).

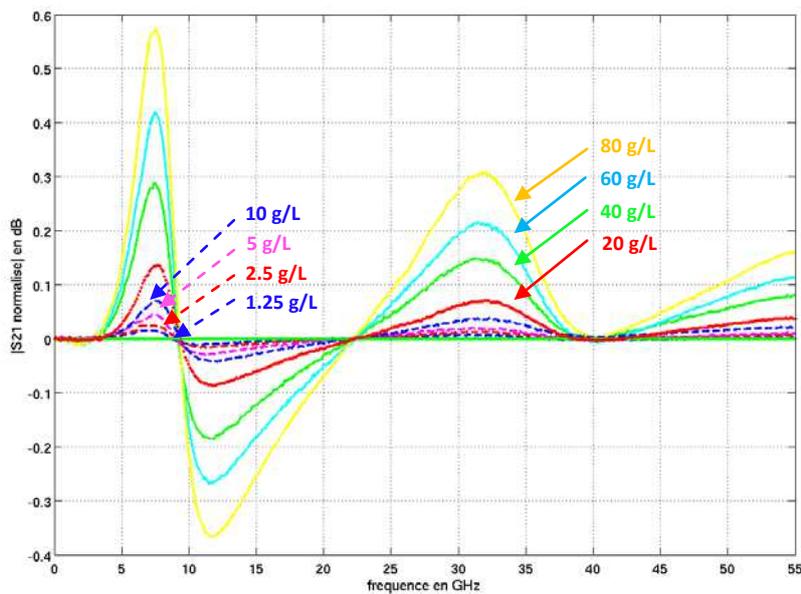


Figure 29 : Spectres $|S_{21\text{norm}}|$ pour tous les mélanges eau/glucose mesurés sur le stub TFMS. Les concentrations en glucose étant fixées à 1.25 ; 2.5 ; 5 ; 10 ; 20 ; 40 ; 60 et 80 g/L.

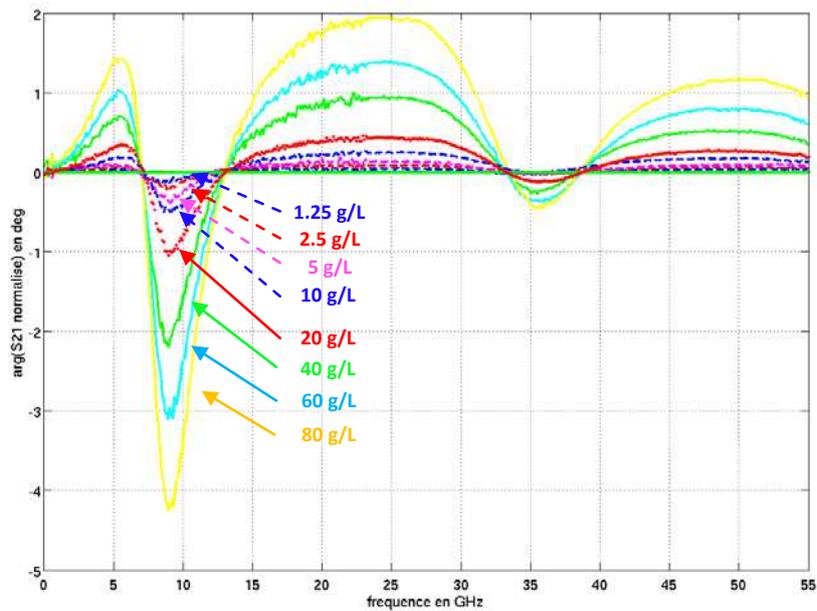


Figure 30 : Spectres $\arg(S_{21} \text{ norm})$ pour tous les mélanges eau/glucose mesurés sur le stub TFMS. Les concentrations en glucose étant fixées à 1.25 ; 2.5 ; 5 ; 10 ; 20 ; 40 ; 60 et 80 g/L.

Les Figure 29 et Figure 30 illustrent l'intérêt des spectres normalisés : la normalisation par rapport à un liquide de référence permet de magnifier les écarts entre les différentes concentrations en glucose. La distinction des différents mélanges est faisable même à l'œil nu sur les spectres $|S_{21} \text{ norm}|$ et $\arg(S_{21} \text{ norm})$.

Le traitement des spectres bruts $|S_{21}|$ et normalisés $|S_{21} \text{ norm}|$ et $\arg(S_{21} \text{ norm})$ permet d'estimer la valeur des indicateurs tels qu'ils ont été définis dans le cadre du paragraphe II.4. Amélioration du protocole de mesure et des indicateurs de sortie: ΔFr ; $\Delta |S_{21}|_{\text{dB}}(@Fr_{\text{ref}})$ et $\Delta \arg(S_{21})(@Fr_{\text{ref}})$.

Les Figure 31, Figure 32 et Figure 33 montrent ces trois indicateurs en fonction de la concentration en glucose.

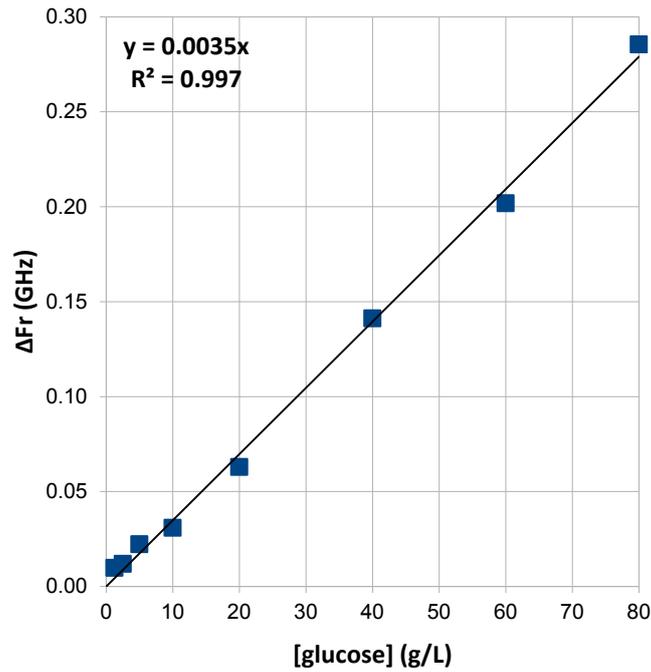


Figure 31 : Ecarts de fréquence de résonance entre les mélanges eau/glucose et le liquide de référence (eau DI) en fonction de la concentration en glucose. Mesures menées sur le biocapteur basé sur un stub quart d'onde en technologie « thin film microstrip ».

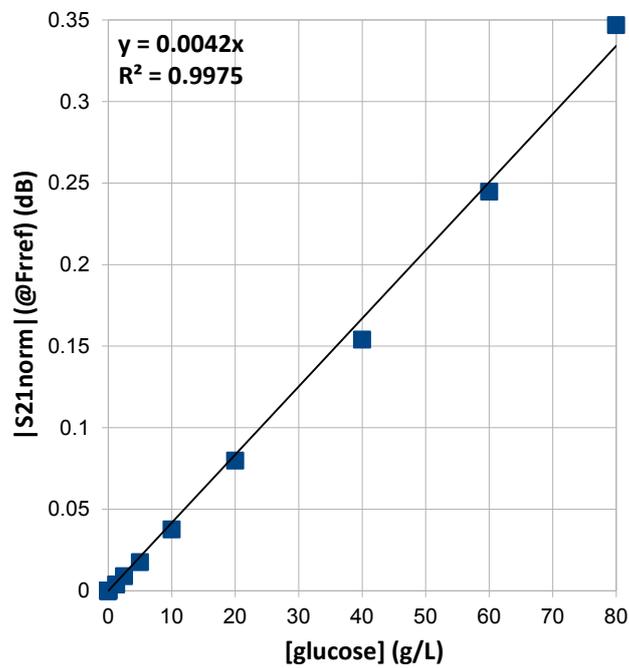


Figure 32 : Norme de $S21_{norm} = S21_{glucose} / S21_{eauDI}$ en fonction de la concentration en glucose. Mesures menées sur le biocapteur basé sur un stub quart d'onde en technologie « thin film microstrip ».

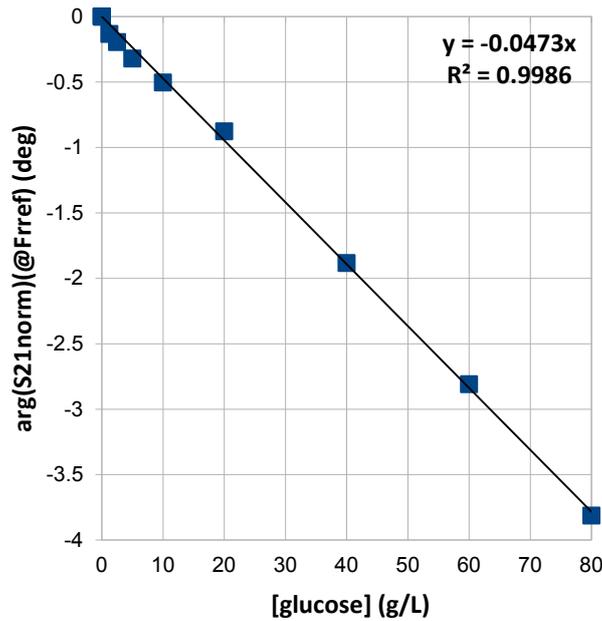


Figure 33 : Phase de $S21_{norm} = S21_{glucose} / S21_{eauDI}$ en fonction de la concentration en glucose. Mesures menées sur le biocapteur basé sur un stub quart d'onde en technologie « thin film microstrip ».

Ces mesures permettent d'estimer la valeur des trois coefficients de sensibilité aux variations de concentration en glucose. Ces trois coefficients sont directement dérivés des trois indicateurs définis dans le paragraphe II.4. Amélioration du protocole de mesure et des indicateurs de sortie :

$$\frac{\Delta Fr}{\Delta [glucose]} = 3.5 \text{ MHz}/(g.L^{-1}) \quad (14)$$

$$\frac{\Delta |S21_{norm}|}{\Delta [glucose]} = 4.2 \times 10^{-3} \text{ dB}/(g.L^{-1}) \quad (15)$$

$$\frac{\Delta \arg(S21_{norm})}{\Delta [glucose]} = -47.3 \times 10^{-3} \text{ deg}/(g.L^{-1}) \quad (16)$$

II.5.b. Comparaison des trois familles de résonateurs

Des mesures similaires sur des mélanges eau/glucose ont été menées sur les deux autres familles de biocapteurs : biocapteurs basés sur des stubs en technologie CPW et les biocapteurs basés sur les résonateurs présentés au chapitre II.

Ces mesures ont permis d'estimer les valeurs des trois coefficients de sensibilité définis $\frac{\Delta Fr}{\Delta [glucose]}$, $\frac{\Delta |S21_{norm}|}{\Delta [glucose]}$ et $\frac{\Delta \arg(S21_{norm})}{\Delta [glucose]}$. Le Tableau 3 rassemble les valeurs de ces trois coefficients de sensibilité pour les trois familles de résonateurs.

Tableau 3 : Valeurs des coefficients de sensibilité pour les trois familles de biocapteurs.

Famille de biocapteurs	$\Delta Fr/\Delta[\text{glucose}]$	$\Delta S_{21} (@Fr_{ref})/\Delta[\text{glucose}]$	$\Delta\arg(S_{21})(@Fr_{ref})/\Delta[\text{glucose}]$
Stubs TFMS	3.5 MHz/(g.L ⁻¹)	4.2×10 ⁻³ dB/(g.L ⁻¹)	-47.3×10 ⁻³ deg/(g.L ⁻¹)
Stubs CPW	1.4 MHz/(g.L ⁻¹)	5.9×10 ⁻³ dB/(g.L ⁻¹)	-44.3×10 ⁻³ deg/(g.L ⁻¹)
"Première génération"	3.8 MHz/(g.L ⁻¹)	-	-38.4×10 ⁻³ deg/(g.L ⁻¹)

Si on compare globalement les indicateurs (par exemple, en les multipliant entre eux) des trois familles de résonateurs, on s'aperçoit de la prédominance, légère mais réelle, de la technologie « thin film microstrip ». Dans le détail, chaque résonateur est optimal suivant un indicateur et il semble difficile de tirer du Tableau 3 une conclusion marquée en termes de choix de technologie. La fin de ce paragraphe va définir un facteur de mérite (FdM) jugeant la sensibilité des biocapteurs résonants et démontrant que les différentes solutions investiguées sont quasiment équivalentes.

Le facteur de mérite que nous proposons d'établir repose sur la méthode des perturbations établie au chapitre II ainsi que sur l'hypothèse de linéarité entre $\Delta[\text{glucose}]$, $\Delta\varepsilon'$ et $\Delta\varepsilon''$ [5]. Les sensibilités précédemment établies peuvent s'exprimer comme suit :

$$\begin{cases} \frac{\Delta Fr}{\Delta[\text{glucose}]} = \frac{\Delta Fr}{\Delta\varepsilon'} \times \frac{\Delta\varepsilon'}{\Delta[\text{glucose}]} \\ \frac{\Delta|S_{21}_{dB}|}{\Delta[\text{glucose}]} = \frac{\Delta|S_{21}_{dB}|}{\Delta\varepsilon''} \times \frac{\Delta\varepsilon''}{\Delta[\text{glucose}]} \end{cases} \quad (17)$$

où $\frac{\Delta\varepsilon'}{\Delta[\text{glucose}]}$ et $\frac{\Delta\varepsilon''}{\Delta[\text{glucose}]}$ sont fonctions du soluté à investiguer et donc indépendants de la structure résonante. Ainsi, les coefficients de sensibilité $\frac{\Delta Fr}{\Delta[\text{glucose}]}$ et $\frac{\Delta|S_{21}_{dB}|}{\Delta[\text{glucose}]}$ sont donc proportionnels aux coefficients $\frac{\Delta Fr}{\Delta\varepsilon'}$ et $\frac{\Delta|S_{21}_{dB}|}{\Delta\varepsilon''}$, qui, eux, ne dépendent que de la structure. C'est donc sur ces deux paramètres que nous allons baser notre facteur de mérite FdM.

Or, la théorie des perturbations développée au chapitre II donne :

$$\begin{cases} \frac{\Delta Fr}{Fr} = K \times \Delta\varepsilon' \Rightarrow \frac{\Delta Fr}{\Delta\varepsilon'} = K \times Fr \\ \Delta\left(\frac{1}{Q_l}\right) = K \times \Delta\varepsilon'' \Rightarrow \frac{\Delta S_{21}_{dB}}{\Delta\varepsilon''} = cste \times K \end{cases} \quad (18)$$

Le coefficient K étant donné par :

$$K \approx \frac{\varepsilon_0 \cdot V_F \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}} \quad (19)$$

Et la constante « cste », dépendante du résonateur :

$$cste = \frac{20 \cdot S_{21}}{\ln(10) \cdot Q_0} \quad (20)$$

On obtient ainsi les nouveaux indicateurs de sortie :

$$\begin{cases} \frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon'} = K \times Fr \\ \frac{\Delta S_{21_{dB}}}{\Delta \epsilon''} = \frac{20 \cdot S_{21}}{\ln(10) \cdot Q_0} \times K \end{cases} \quad (21)$$

Les sensibilités des biocapteurs résonants dépendent donc

- de leur fréquence de résonance de référence (vraie pour $\frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon'}$),
- d'une constante « cste » qui dépend des performances du résonateur à la fréquence de résonance (vraie pour $\frac{\Delta S_{21_{dB}}}{\Delta \epsilon''}$)
- du facteur K qui peut être vu comme un facteur de mérite caractéristique de chaque famille technologique de biocapteurs. C'est par ce paramètre que peuvent être comparés les différents dispositifs hyperfréquences microfluidiques.

Le Tableau 4 rassemble les valeurs d'écarts de partie réelle de la permittivité complexe de quelques mélanges eau/glucose (par rapport à l'eau DI) aux fréquences de résonance de chaque résonateur, les écarts de fréquence de résonance associés et la fréquence de résonance du liquide de référence.

Tableau 4 : Ecarts de partie réelle de la permittivité complexe des différentes solutions de glucose (par rapport à l'eau DI) ; écarts de fréquences de résonance mesurés pour chacune des solutions eau/glucose et sensibilité $\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ pour les 3 types de résonateurs.

[glucose] (g/L)	CPW $\lambda/4$ - Fr = 18.1 GHz			Stubs CPW - Fr = 5.2 GHz			Stubs TFMS - Fr = 8.55 GHz		
	$\Delta \epsilon'$	ΔFr (GHz)	$\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ (GHz)	$\Delta \epsilon'$	ΔFr (GHz)	$\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ (GHz)	$\Delta \epsilon'$	ΔFr (GHz)	$\Delta Fr/\Delta \epsilon'$ (GHz)
1.25				0.07	0.0021	0.0310			
2.5				0.14	0.0043	0.0317			
5	0.22	0.0184	0.0831	0.27	0.0084	0.0310			
10	0.44	0.0387	0.0874	0.54	0.0130	0.0240	0.66	0.0309	0.0472
20							1.31	0.0629	0.0480
40							2.62	0.1412	0.0539
50	2.22	0.2024	0.0914						
60							3.93	0.2018	0.0513

La Figure 34 montre le coefficient $\frac{\Delta Fr}{\Delta \epsilon'}$ en fonction de la fréquence de résonance de référence de chaque résonateur.

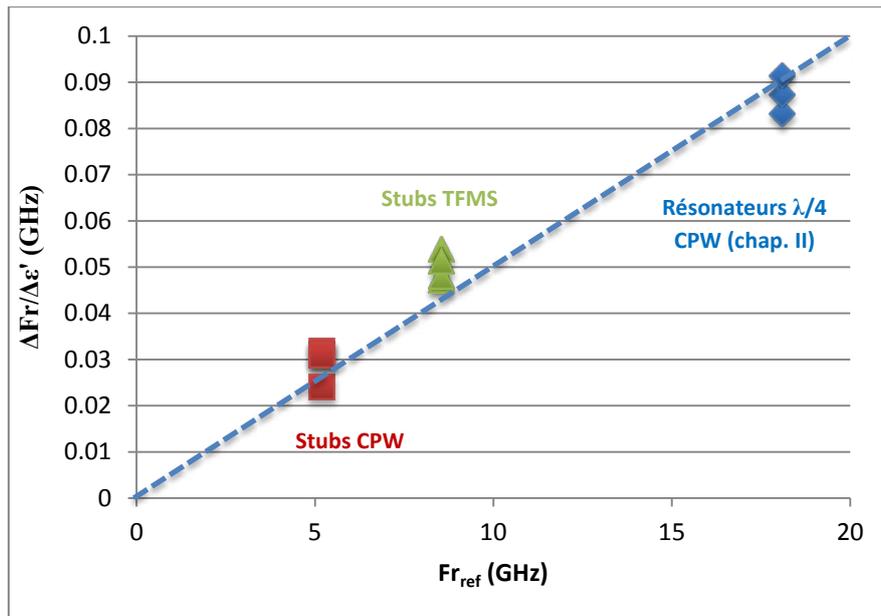


Figure 34 : Caractéristique $\Delta Fr / \Delta \epsilon'$ en fonction de la fréquence de résonance de référence pour chacune des trois familles de résonateurs.

La Figure 34 montre que les trois biocapteurs qui ont été développés sont caractérisés par un même facteur de mérite K (qui n'est autre que le facteur de remplissage K introduit au chapitre II). La valeur de ce coefficient ($K = 5.5 \times 10^{-3}$) est donnée par la pente de la droite en pointillés. Ce coefficient est donc sensiblement constant pour des biocapteurs implémentés en technologie intégrée (filière coplanaire ou thin film microstrip). La meilleure sensibilité $\frac{\Delta Fr}{\Delta [glucose]}$ apparente des dispositifs présentés dans le cadre du chapitre II tient donc au fait que ces dispositifs sont centrés à 18.1 GHz alors que les biocapteurs basés sur des stubs en technologie TFMS et CPW sont centrés à 8.55 GHz et 5.2 GHz respectivement.

III. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse aux concentrations physiologiques

La caractérisation des différentes familles de biocapteurs hyperfréquences résonants en termes de sensibilité a été faite à partir de mélanges eau/glucose dont la concentration en glucose est élevée par rapport à l'ordre de grandeur de la concentration en glucose dans le sang humain. En effet, la concentration en glucose des mélanges mesurés à l'aide des biocapteurs varie environ de 1 g/L à 80 g/L alors que la glycémie d'un individu sain à jeun est comprise entre 0.7 et 1.2 g/L [6].

Les résultats présentés dans le chapitre précédent ont montré également que les biocapteurs basés sur des stubs en technologie « thin film microstrip » présentent globalement les meilleures sensibilités aux variations de concentration en glucose (cf. Tableau 3). Les mesures présentées dans le cadre de ce chapitre montrent ainsi les performances de cette famille de biocapteurs pour la mesure de concentration en glucose sur des mélanges simples eau/glucose dont la concentration en glucose est cette fois du même ordre de grandeur que la glycémie humaine.

On peut considérer dans cette étude qu'on utilise un modèle « idéal » du sang. En effet, comme le montre la Figure 35, le sang est constitué d'une multitude d'éléments (des éléments figurés comme les globules rouges, les globules blancs, les plaquettes ; des biomolécules comme les lipides, le glucose, les acides aminés ; des ions ; etc) baignant dans une phase liquide constituée à plus de 90 % d'eau et appelée plasma [7].

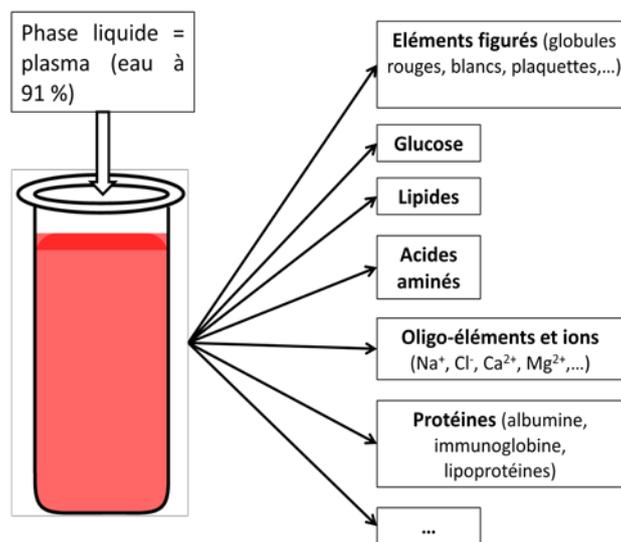


Figure 35 : Liste non exhaustive des différents éléments présents dans le sang humain et baignant dans une phase liquide nommée « plasma ».

Les mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques constituent un « modèle 0 » du sang, pour lequel la phase liquide est constituée à 100 % d'eau dans laquelle n'est présente qu'une seule biomolécule : le glucose.

Le paragraphe suivant montre les résultats de mesures sur les biocapteurs basés sur les stubs en technologie « thin film microstrip ».

III.1. Résonateurs TFMS: mesures de mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques

Les solutions eau/glucose utilisées pour ces mesures ont pour concentration en glucose des valeurs proches de celle de la glycémie humaine. Les concentrations en glucose sont en effet de 5, 2.5, 1.25, 0.625 et 0.3125 g/L.

Le protocole expérimental reste identique à celui présenté dans le cadre du paragraphe I.3.b, avec l'eau déionisée comme liquide de référence.

La Figure 36 montre les spectres $|S_{21_{\text{normalise}}}|$ pour les 5 solutions eau/glucose.

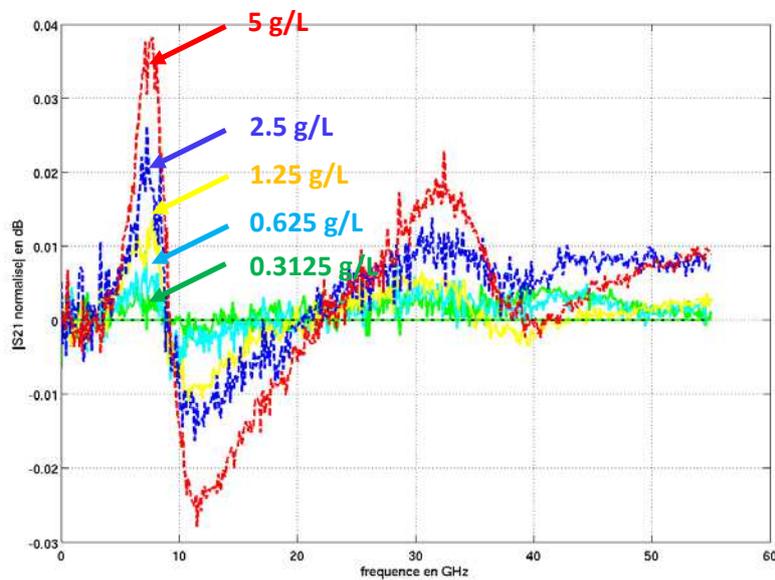


Figure 36 : Spectres $|S_{21_{\text{norm}}}|$ pour les 5 mélanges eau/glucose dont la concentration est égale à 0.3125 ; 0.625 ; 1.25 ; 2.5 et 5 g/L.

La Figure 37 montre les spectres $\arg(S_{21_{\text{norm}}})$ pour les mêmes solutions eau/glucose.

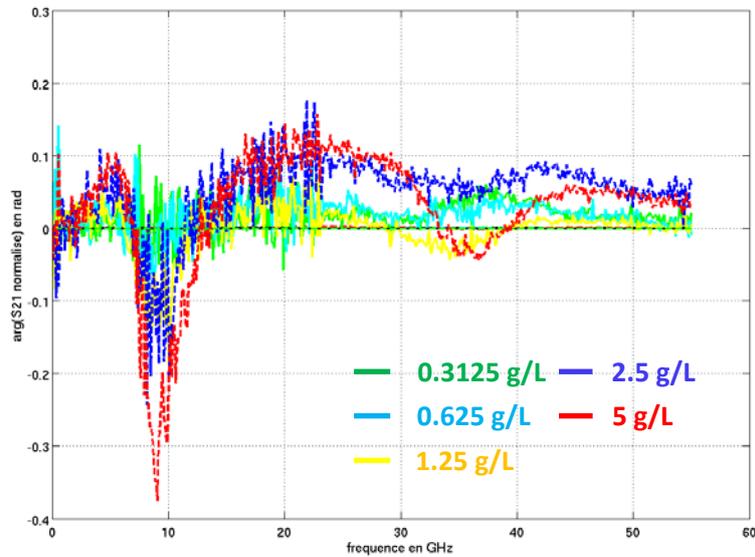


Figure 37 : Spectres $\arg(S_{21_norm})$ pour les 5 mélanges eau/glucose dont la concentration est égale à 0.3125 ; 0.625 ; 1.25 ; 2.5 et 5 g/L.

Les trois indicateurs ΔFr ; $\Delta |S_{21}|_{dB}(@Fr_{ref})$ et $\Delta \arg(S_{21})(@Fr_{ref})$ sont à nouveau extraits des différents spectres (non normalisés pour ΔFr et normalisés pour $\Delta |S_{21}|_{dB}(@Fr_{ref})$ et $\Delta \arg(S_{21})(@Fr_{ref})$). Les Figure 38.a et b présentent les valeurs des indicateurs ΔFr et $\Delta \arg(S_{21})(@Fr_{ref})$ en fonction de la concentration en glucose pour cette série de mesures.

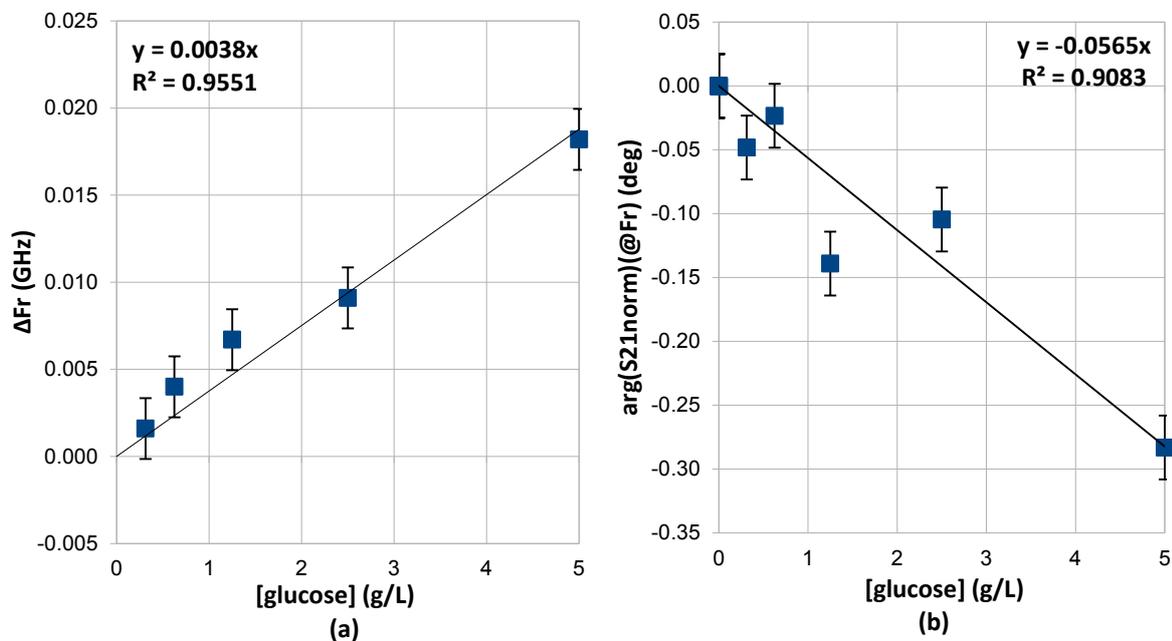


Figure 38 : Écarts de fréquence de résonance (a) et écarts de la phase de S21 à Fr (b) en fonction de la concentration en glucose (mesurés sur un stub TFMS).

Les valeurs de ces deux indicateurs sont données à titre indicatif. En effet, dans la suite de cette étude, nous allons nous concentrer sur l'indicateur basé sur la norme du paramètre S21 normalisé $|S21_{norm}|(@Fr_{ref})$. En effet, les résultats expérimentaux montrent que, dans le cas des mesures sur de solutions de glucose, cet indicateur s'est révélé être le plus robuste (comme le montrent les résultats suivants).

La Figure 39 montre ce dernier indicateur en fonction de la concentration en glucose.

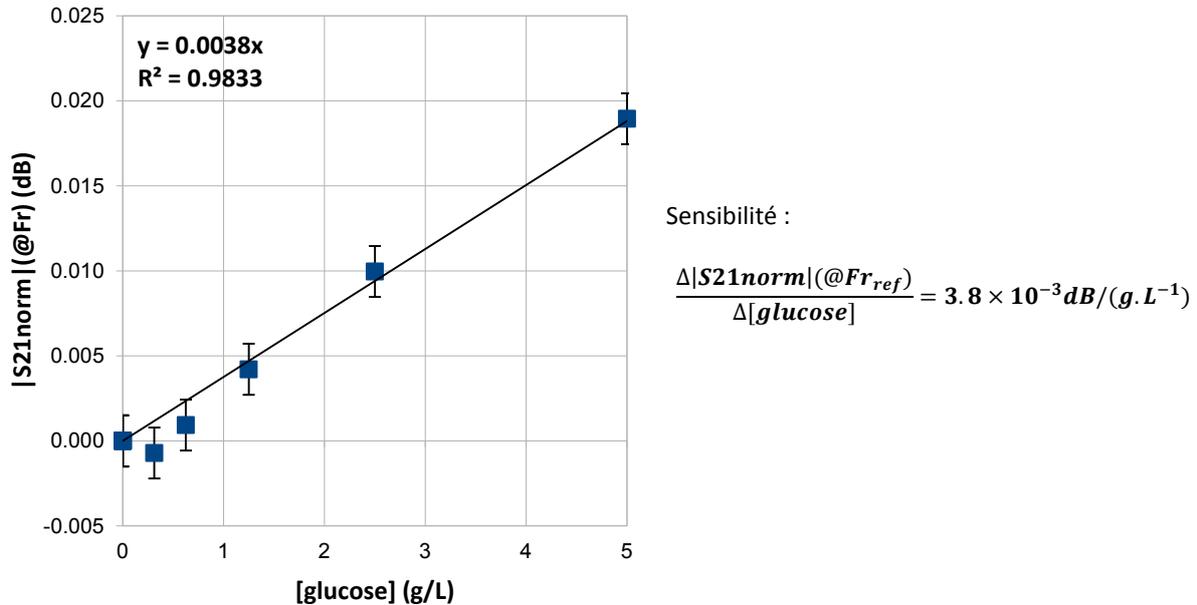


Figure 39 : Ecarts de réjection à la résonance en fonction de la concentration en glucose (mesurés sur un stub TFMS).

Dans ces conditions, les variations de concentration en glucose sont indiquées à partir des écarts d'amplitude à la fréquence de résonance du liquide de référence du paramètre S21 normalisé. L'incertitude sur la détermination de ces paramètres permet d'estimer la résolution de ces biocapteurs pour la mesure de concentration en glucose en solution aqueuse :

$$\frac{\delta_{|S21_n|}}{3.8 \times 10^{-3}} = 0.8 \text{ g/L} \quad (22)$$

Optimisation des indicateurs de sortie

Les écarts d'amplitude du paramètre S21 normalisé sont calculés à la fréquence de résonance du liquide de référence. Or, la fréquence de résonance du biocapteur chargé par de l'eau DI ne correspond pas à la fréquence pour laquelle l'amplitude du paramètre S21norm est maximale, comme le montre la Figure 40.

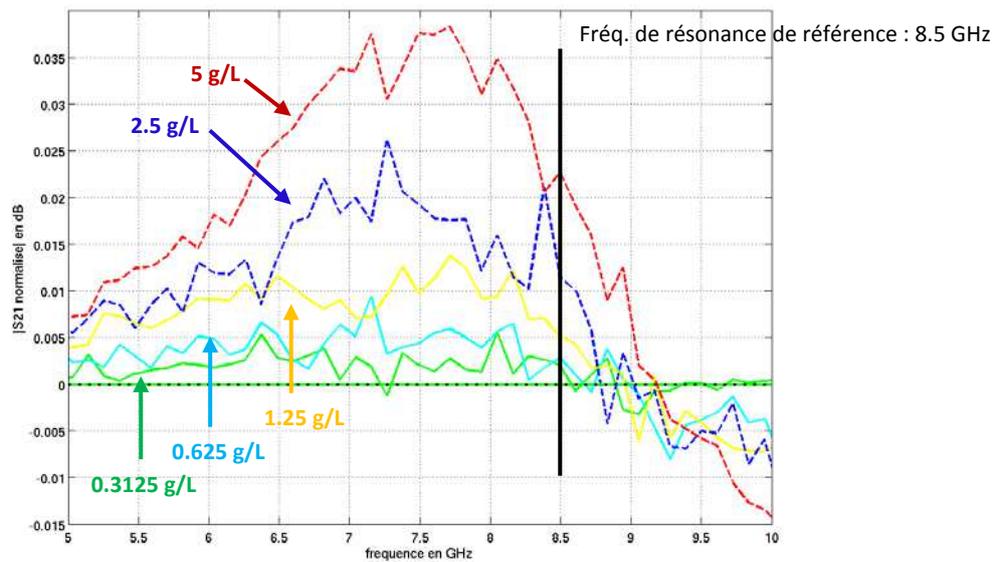


Figure 40 : Spectres $|S21_{norm}|$ dans la bande [5 ; 10] GHz pour les 5 mélanges eau/glucose dont la concentration est égale à 0.3125 ; 0.625 ; 1.25 ; 2.5 et 5 g/L. Le segment vertical marque la fréquence de résonance du liquide de référence (eau DI). Cette droite montre que la fréquence de résonance de référence ne correspond pas à la fréquence pour laquelle les écarts d'amplitude du paramètre S21 normalisé sont maximaux.

La sensibilité des biocapteurs basés sur des stubs TFMS peut ainsi être améliorée en mesurant les écarts d'amplitude de $S21_{norm}$ en fonction de la concentration en glucose à la fréquence correspondant au maximum d'amplitude de $|S21_{norm}|$. Le Figure 41 montre ainsi ces écarts d'amplitude en fonction de la concentration en glucose à la fréquence $F=7.5$ GHz.

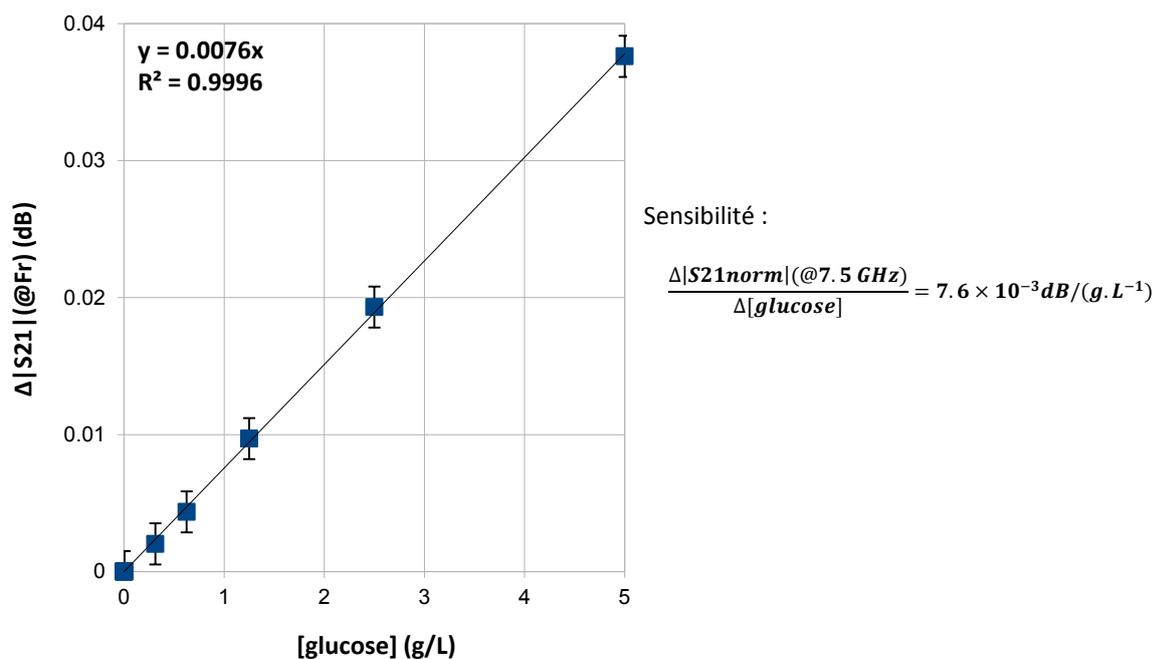


Figure 41 : Ecarts de réjection à 7.5 GHz en fonction de la concentration en glucose (mesurés sur un stub TFMS).

La résolution des biocapteurs sur la détermination de la concentration en glucose à l'aide de ce nouvel indicateur et de l'incertitude de mesure définie par l'équation (12) peut être estimée à :

$$\frac{\delta_{|S21n|}}{7.6 \times 10^{-3}} = 0.4 \text{ g/L} \quad (23)$$

L'optimisation de cet indicateur permet d'améliorer la résolution des biocapteurs pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse. Cependant, tout comme les trois indicateurs originaux pour la détermination des concentrations en glucose, la mesure des écarts maximum d'amplitude de $S21_{norm}$ nécessitent la connaissance d'une valeur de fréquence (fréquence de résonance du liquide à évaluer, fréquence de résonance du liquide de référence, fréquence pour laquelle les écarts d'amplitude du paramètre $S21_{norm}$ sont maximaux). L'automatisation du fonctionnement des biocapteurs devra donc dans tous les cas soit :

- intégrer un système de détection d'extrema sur les spectres (détection de minimum sur les spectres $|S21|$ pour le repérage des fréquences de résonance ; détection de maximum sur les spectres $|S21_{norm}|$ pour le repérage de la fréquence optimale pour laquelle les écarts d'amplitude sont maximums).
- nécessiter un choix *a priori* d'une (ou plusieurs) valeur(s) de fréquence de résonance.

III.2. Fiabilité des biocapteurs : abaque d'erreur de Clarke

L'abaque d'erreur de Clarke a été proposée en 1987 afin de quantifier la précision des lecteurs de glycémie à disponibilité des patients atteints de diabète en comparant les valeurs de concentration en glucose mesurées par ces appareils aux valeurs de référence obtenues à l'aide de techniques de dosage fiables. L'axe des abscisses représente les valeurs réelles (au sens où elles ont été déterminées par une technique de référence faisant autorité) de concentration en glucose dans le sang du patient. L'axe des ordonnées donne les valeurs de concentration en glucose données par le lecteur de glycémie à évaluer.

Si tous les lecteurs de glycémie fonctionnaient idéalement, un point d'abscisse "n" aurait pour ordonnée "n". Ces appareils présentent en réalité des imprécisions et les valeurs de glycémie qu'ils estiment s'étalent autour de la droite "identité" dans l'abaque de Clarke.

Le principe de l'abaque de Clarke est de découper les zones de part et d'autre de la droite "identité" en fonction de la gravité qu'implique une erreur sur la détermination de la glycémie du patient. Cinq zones ont été distinguées :

- Dans la zone A, l'erreur sur la concentration en glucose est inférieure à 20 %. Il s'agit de ce qu'on pourrait appeler la "zone verte". Un point dans cette zone est entaché d'une erreur non préjudiciable pour le suivi et le traitement du patient.
- Dans la zone B, l'erreur est certes supérieure à 20 % mais ne conduit pas à un traitement inapproprié.
- Dans la zone C, l'erreur conduit à un traitement inutile pour le patient.

- Dans la zone D, l'erreur faite sur la concentration en glucose peut conduire à une défaillance dans la détection de l'hypoglycémie ou de l'hyperglycémie.
- Dans la zone E, l'erreur est si élevée qu'elle peut conduire à confondre hyperglycémie et hypoglycémie.

La Figure 42 montre l'abaque d'erreur de Clarke tel qu'il a été publié en 1987.

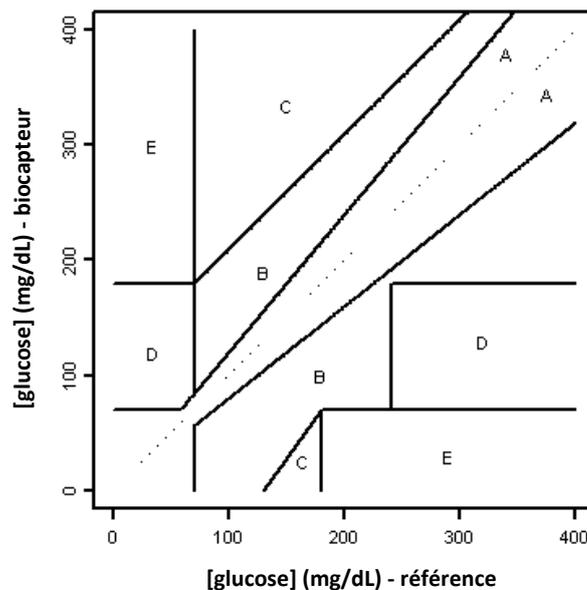


Figure 42 : Diagramme d'erreur de Clarke permettant de quantifier la fiabilité des glucomètres.

Dans la suite de ce paragraphe, la fiabilité des biocapteurs va être quantifiée à partir de l'abaque de Clarke.

III.2.a. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs TFMS

La fiabilité des biocapteurs est quantifiée à partir des mesures sur les mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques (mesures présentées dans le paragraphe III.1. Résonateurs TFMS : mesures de mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques). Les concentrations en glucose déterminées par la mesure des écarts de réjection à la fréquence optimale sont placées dans l'abaque d'erreur de Clarke, ainsi que le montre la Figure 43 :

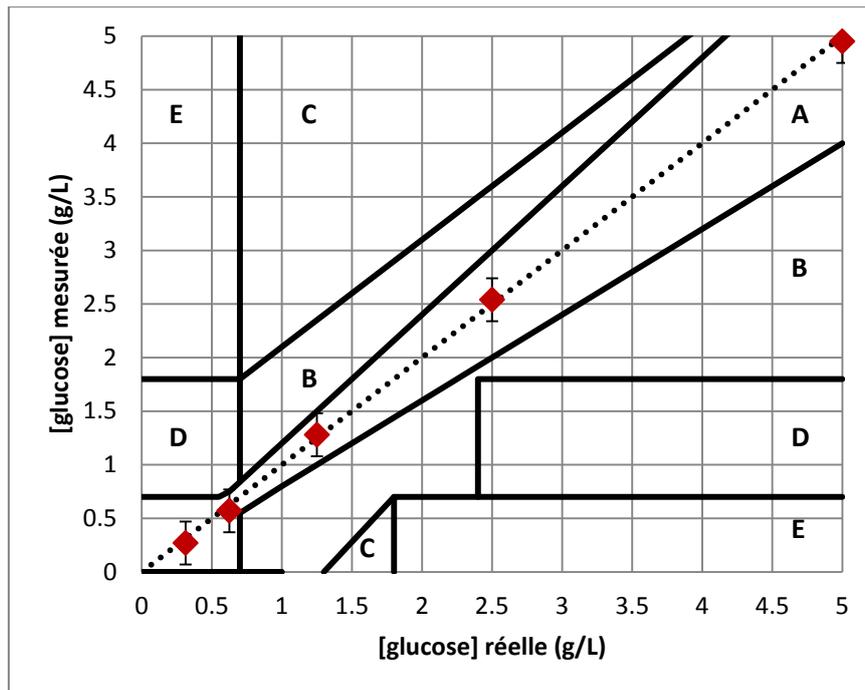


Figure 43 : Concentrations en glucose déterminée à l'aide de la mesure de la norme du paramètre S21norm à la fréquence optimale et placée dans le diagramme d'erreur de Clarke.

Cette figure montre que la sensibilité et la fiabilité des biocapteurs hyperfréquences résonants sont aux portes des exigences minimales pour mener des mesures de glycémie humaine. Le lieu des points de mesure se confine dans la zone A (ou zone verte) sur l'abaque d'erreur de Clarke ; c'est-à-dire dans la zone idéale où l'éventuelle erreur faite sur la détermination de la concentration en glucose est non préjudiciable pour le patient. Pour de plus faibles valeurs de concentrations en glucose (typiquement [0.7 ; 1] g/L), l'erreur propre au fonctionnement de notre biocapteur conduit les points de mesure à s'étaler jusqu'à la zone B. Ils sortent alors de la zone verte mais reste dans une zone où un traitement basé sur une mesure faite par notre biocapteur ne serait pas inapproprié.

L'incertitude caractéristique de 0.4 g/L sur la détermination de la concentration en glucose reste néanmoins à améliorer. En effet, pour de très faibles valeurs de glycémie (typiquement [0.5 ; 0.7] g/L), l'incertitude de mesure est encore suffisamment élevée pour que des points de mesure entre en zone D. Pour cette situation particulière, une erreur de mesure pourrait conduire à passer à côté d'une éventuelle hypoglycémie.

III.2.b. Fiabilité des biocapteurs basés sur des stubs CPW

A titre de comparaison, ce paragraphe propose une étude de la fiabilité des biocapteurs coplanaires, réalisée à partir de mesures sur des mélanges eau/glucose aux concentrations physiologiques. Les concentrations en glucose déterminées par la mesure des écarts de réjection à la fréquence de résonance de référence sont placées dans l'abaque d'erreur de Clarke, ainsi que le montre la Figure 44 :

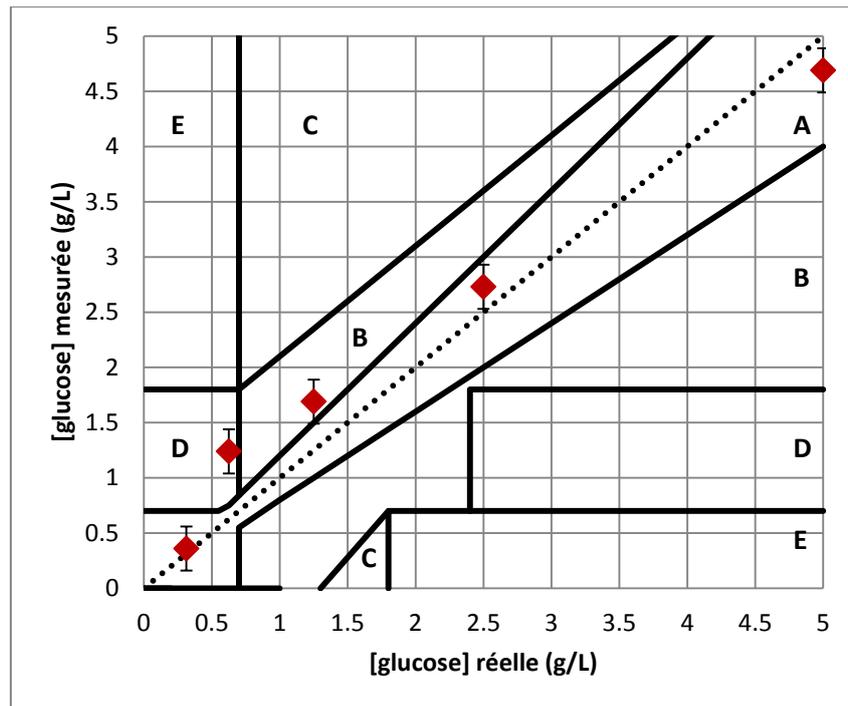


Figure 44 : Concentrations en glucose déterminée à l'aide de la mesure de la norme du paramètre S21norm à la fréquence de résonance de référence et placée dans le diagramme d'erreur de Clarke.

A nouveau, la Figure 44 montre les biocapteurs basés sur des tubs en technologie coplanaire sont aux portes des exigences en termes de résolution sur la concentration en glucose. La majorité des points de mesure se trouvent en zone A ou B ; c'est-à-dire deux zones dans l'abaque d'erreur de Clarke pour lesquelles l'éventuelle erreur de mesure de la concentration en glucose n'est pas préjudiciable pour le patient. Tout comme dans le cas des biocapteurs basés sur les stubs en technologie « thin film microstrip », la résolution des dispositifs doit encore être améliorée de façon à améliorer la précision de mesure sur des mélanges dont la concentration en glucose est inférieure à 0.7 g/L. En effet, pour de telles concentrations, l'incertitude de mesure est encore un peu trop élevée et peut conduire à sous-estimer des cas d'hypoglycémie.

Ces résultats ont fait l'objet d'une communication orale à l'occasion des Journées Nationales Microondes 2013 [8].

IV. Validation expérimentale pour la mesure de glucose en solution aqueuse dans des conditions se rapprochant des conditions physiologiques

Les mesures présentées au paragraphe précédent illustrent les performances des biocapteurs hyperfréquences résonants pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse à des concentrations physiologiques. Cependant, les solutions aqueuses utilisées constituent un cas idéal au sens où seule la biomolécule d'intérêt (le glucose) est présente en solution. Or, la Figure 35 montre que le sang est composé de très nombreux éléments auquel les biocapteurs sont potentiellement sensibles.

Les performances des biocapteurs doivent donc être validées dans des conditions se rapprochant étape par étape des conditions physiologiques. Dans ce but, des mesures ont été menées sur les mêmes biocapteurs avec des mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium. Le chlorure de sodium est une espèce ionique présente dans le sang à une concentration à peu près constante, égale à environ 9 g/L [7]. La concentration en glucose reste la variable à déterminer. Comme le montre la Figure 45, les mélanges eau/glucose/chlorure de sodium constituent un "modèle 1" du sang pour lequel la phase liquide est toujours l'eau pure dans laquelle deux solutés ont été dilués : glucose et chlorure de sodium.

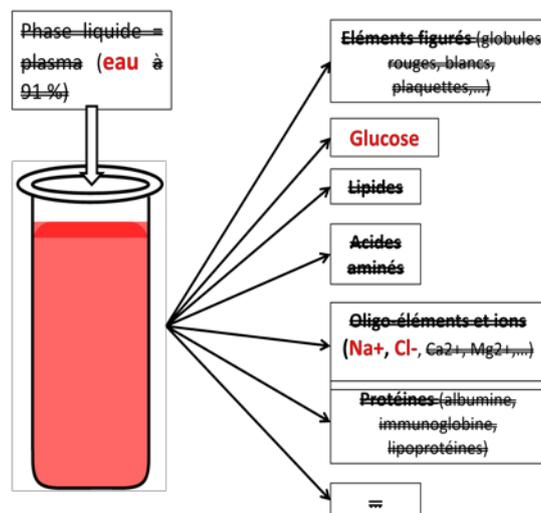


Figure 45 : « Modèle 1 » du sang pour lequel la phase liquide est constituée uniquement d'eau et deux solutés sont présents en solution : glucose et chlorure de sodium.

Le protocole expérimental demeure identique à celui utilisé dans le cadre des mesures précédentes ; l'eau déionisée étant toujours le liquide de référence par rapport auquel tous les écarts sont calculés.

IV.1. Mesures de mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium sur les stubs TFMS

Le tableau liste tous les mélanges binaires eau/glucose/chlorure sodium qui ont été mesurés sur le résonateur TFMS présenté Figure 16.

Tableau 5 : Liste des mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium mesurés sur le stub thin film microstrip présenté sur la Figure 16.

Mélange	[glucose] (g/L)	[nacl] (g/L)
1	20	0
2	40	0
3	60	0
4	80	0
5	0	4.5
6	20	4.5
7	40	4.5
8	60	4.5
9	80	4.5
10	0	9
11	20	9
12	40	9
13	60	9
14	80	9
15	0	13.5
16	20	13.5
17	40	13.5
18	60	13.5
19	80	13.5
20	0	18
21	20	18
22	40	18
23	60	18
24	80	18

La Figure 46 donne un exemple de spectres normalisés $|S_{21}^{\text{norm}}|$ pour les mélanges 10 à 14 (c'est-à-dire ceux pour lesquels $[\text{NaCl}] = 9 \text{ g/L}$).

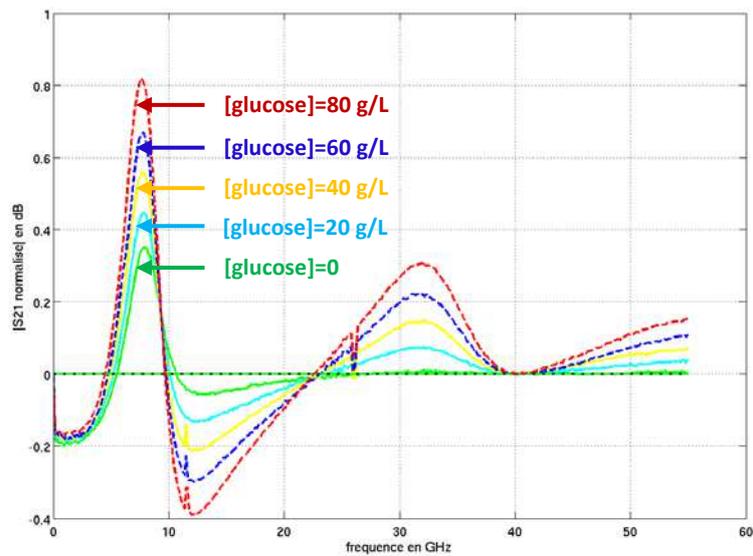


Figure 46 : Spectres normalisés $|S_{21norm}|$ pour les mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium pour lesquels $[NaCl] = 9$ g/L.

La Figure 47 donne un exemple de spectres normalisés $\arg(S_{21norm})$ pour les mélanges 10 à 14 (c'est-à-dire ceux pour lesquels $[NaCl] = 9$ g/L).

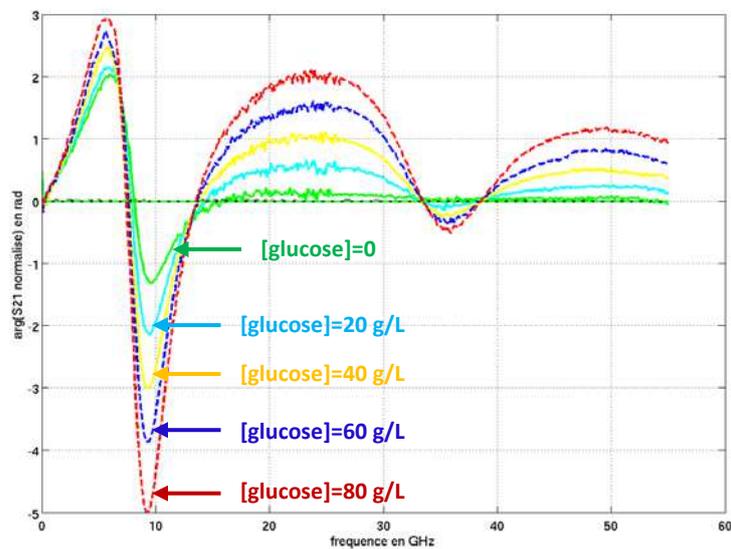


Figure 47 : Spectres normalisés $\arg(S_{21norm})$ pour les mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium pour lesquels $[NaCl] = 9$ g/L.

Les trois indicateurs ΔFr ; $\Delta |S_{21}|_{dB}(@Fr_{ref})$ et $\Delta \arg(S_{21})(@Fr_{ref})$ sont à nouveau utilisés ici et extraits des différents spectres. Les Figure 48, Figure 49 et Figure 50 montrent ces trois indicateurs

en fonction de la concentration en glucose. On distingue sur ces trois figures les différentes concentrations en chlorure de sodium.

La Figure 48 montre les écarts de fréquence de résonance par rapport à un l'eau DI (liquide de référence) en fonction de la concentration en glucose.

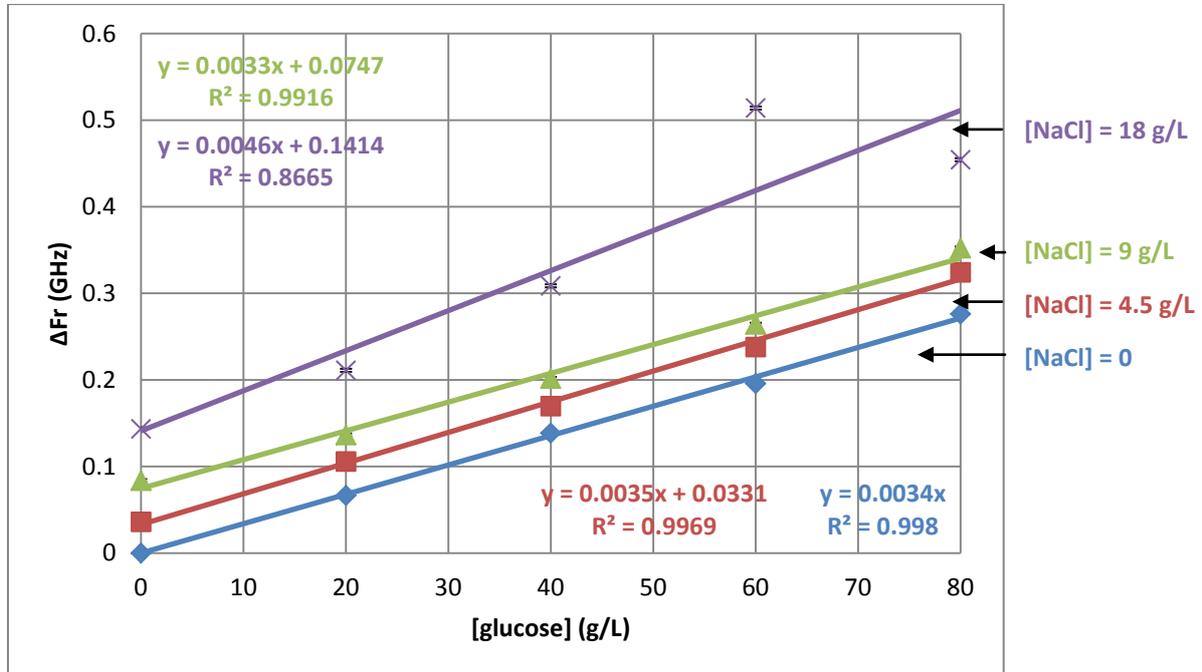


Figure 48 : Ecarts de fréquence de résonance en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations de chlorure de sodium en solution.

La Figure 49 montre le paramètre $|S_{21norm}|(@Fr_{ref})$ en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations en chlorure de sodium.

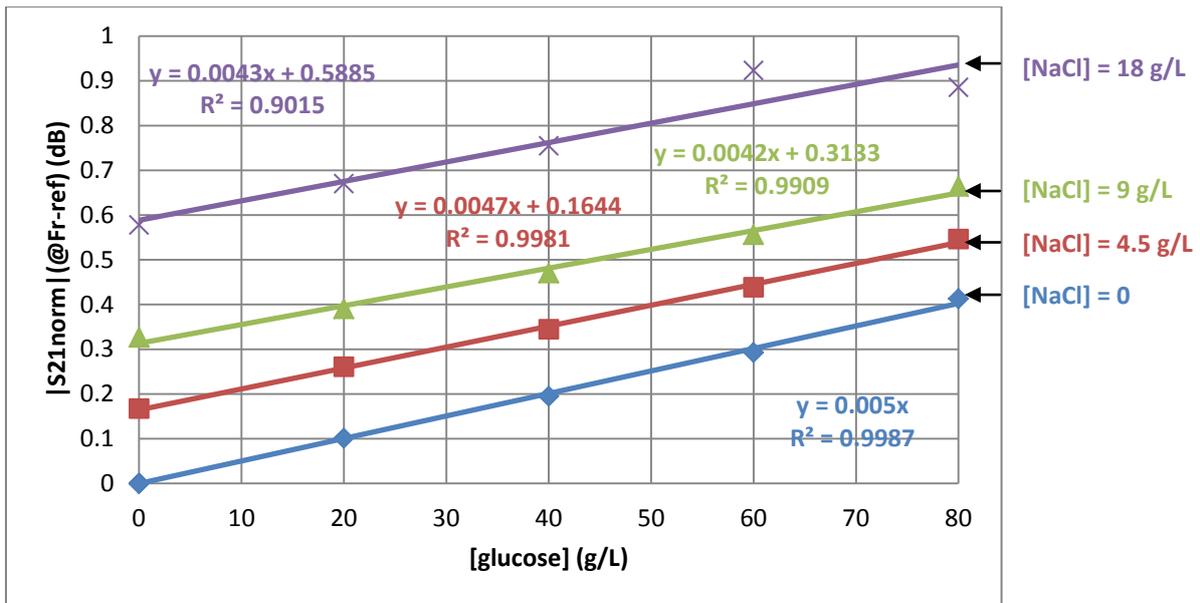


Figure 49 : Paramètre $|S21_{norm}|(@Fr_{ref})$ en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations en chlorure de sodium.

Enfin, la Figure 50 montre le paramètre $\arg(S21_{norm})(@Fr_{ref})$ en fonction de la concentration en glucose et toujours pour plusieurs valeurs de concentration en chlorure de sodium.

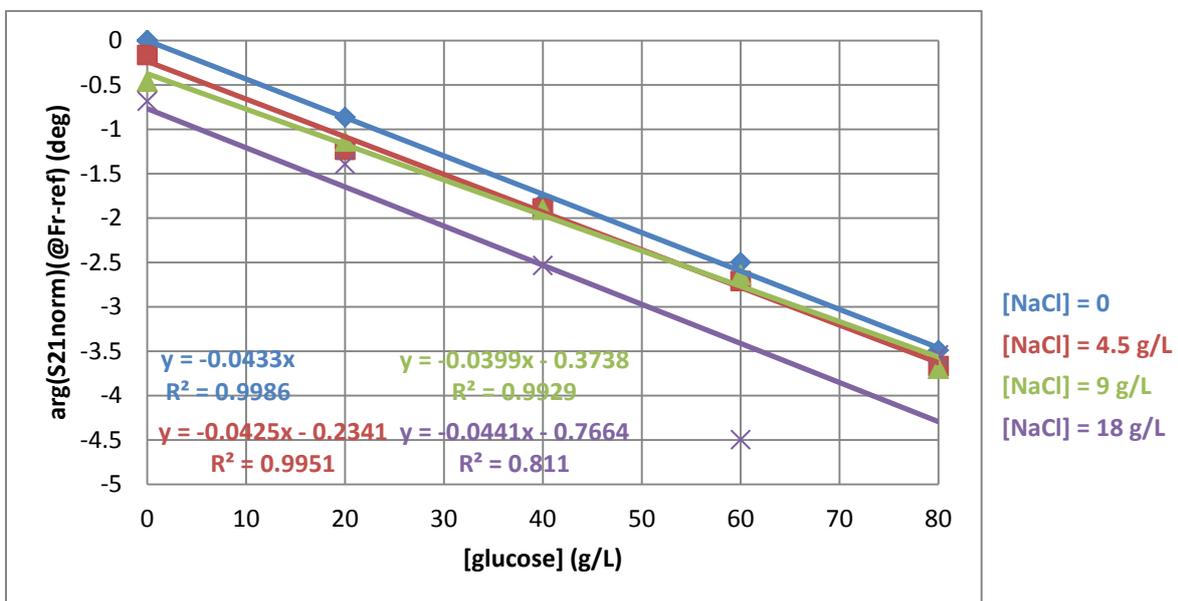


Figure 50 : Paramètre $\arg(S21_{norm})(@Fr_{ref})$ en fonction de la concentration en glucose et pour plusieurs valeurs de concentrations en chlorure de sodium.

Ces résultats montrent que le principe de mesure des concentrations en glucose n'est pas remis en cause par la présence de chlorure de sodium en solution. Des écarts de fréquence de résonance, de norme et de phase du paramètre S21 normalisé sont mesurés et restent significativement plus grands que l'incertitude de mesure.

Par contre, les sensibilités aux variations de concentrations en glucose ($\Delta Fr/\Delta[\text{glucose}]$; $\Delta|S_{21}|_{\text{dB}}(@Fr_{\text{ref}})/\Delta[\text{glucose}]$ et $\Delta\arg(S_{21})(@Fr_{\text{ref}})/\Delta[\text{glucose}]$) varient avec la concentration en chlorure de sodium. Ce soluté a donc une influence sur les caractéristiques $\Delta Fr = f([\text{glucose}])$; $\Delta|S_{21}|_{\text{dB}}(@Fr_{\text{ref}}) = f([\text{glucose}])$ et $\Delta\arg(S_{21})(@Fr_{\text{ref}}) = f([\text{glucose}])$. Par exemple, la pente de la caractéristique $\Delta|S_{21}|_{\text{dB}}(@Fr_{\text{ref}}) = f([\text{glucose}])$ en l'absence de chlorure de sodium s'élève à 5×10^{-3} dB/(g.L⁻¹) alors qu'elle ne vaut plus que 4.2×10^{-3} dB/(g.L⁻¹) avec 9 g/L de chlorure de sodium en solution.

IV.2. Changement de liquide de référence

Les mesures précédentes ont été traitées en utilisant l'eau déionisée comme liquide de référence. L'ajout de glucose et/ou de chlorure de sodium altère, dans ces conditions, les indicateurs de sortie. Les figures 53 à 55 montrent que le chlorure de sodium ajoute une ordonnée à l'origine non nulle aux droites caractéristiques « indicateurs = f([\text{glucose}]) ». Nous pouvons considérer néanmoins que les pentes de ces caractéristiques « indicateurs = f([\text{glucose}]) » restent indépendantes de la concentration en chlorure de sodium (à plus ou moins 10 % environ).

Pour s'affranchir de l'influence du chlorure de sodium sur la réponse électrique du biocapteur, nous proposons ici une première méthode pour déterminer directement la concentration en glucose en opérant un changement de liquide de référence. L'idée consiste à utiliser comme liquide de référence une solution sans glucose, contenant la même quantité de chlorure de sodium que les mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium dont on cherche à connaître la concentration en glucose.

La Figure 51 montre par exemple les écarts de fréquence de résonance en fonction de la concentration en glucose pour tous les mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium. Pour toutes les solutions binaires contenant X g/L de chlorure de sodium, le liquide de référence utilisé est une solution pure de chlorure de sodium à la même concentration, soit X g/L.

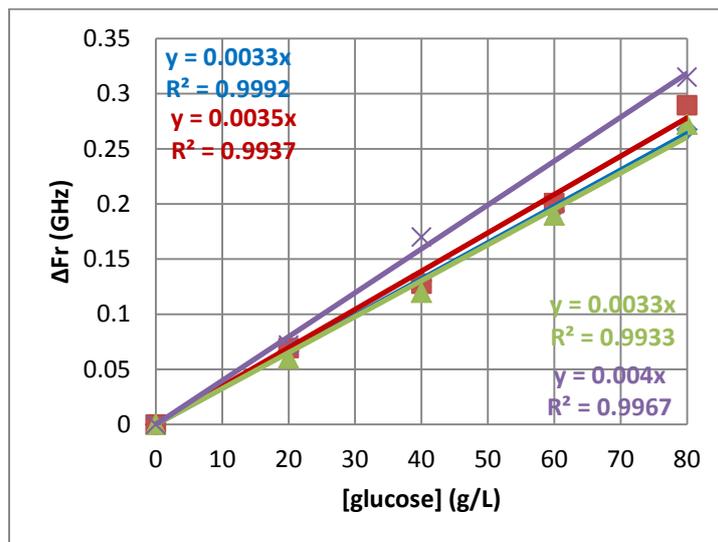


Figure 51 : Ecarts de fréquence de résonance en fonction de la concentration en glucose. Les liquides de référence retenus sont des mélanges eau/chlorure de sodium de même concentration que les mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium sous test.

En procédant ainsi, la Figure 51 montre que la détermination de la concentration en glucose peut être réalisée quelle que soit la concentration en chlorure de sodium. Il n'est même pas nécessaire de connaître la valeur exacte de la concentration en chlorure de sodium, il « suffit » de s'assurer que liquide de référence et solution à évaluer contiennent la même quantité de chlorure de sodium.

IV.3. Exploitation des résonances harmoniques

Ce paragraphe décrit une deuxième solution pour s'affranchir de l'impact du chlorure de sodium sur la réponse électrique du biocapteur. Cette méthode consiste à utiliser la deuxième fréquence de résonance (résonance harmonique) visible sur les spectres $|S_{21}|$ (freq).

Les Figure 52 et Figure 53 montrent les spectres normalisés (par rapport à l'eau DI) $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ pour des solutions de chlorure dont la concentration varie de 4.5 g/L à 36 g/L et mesurées sur le biocapteur basé sur un résonateur implémenté en technologie thin film microstrip.

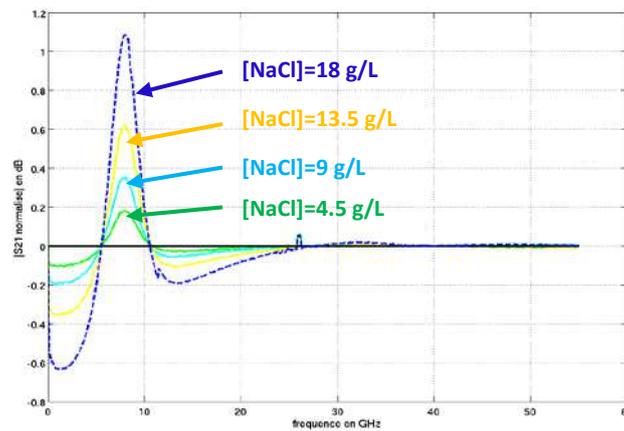


Figure 52 : Spectres normalisés $|S_{21norm}|$ pour des solutions de chlorure de sodium dont la concentration varie de 4.5 g/L à 36 g/L.

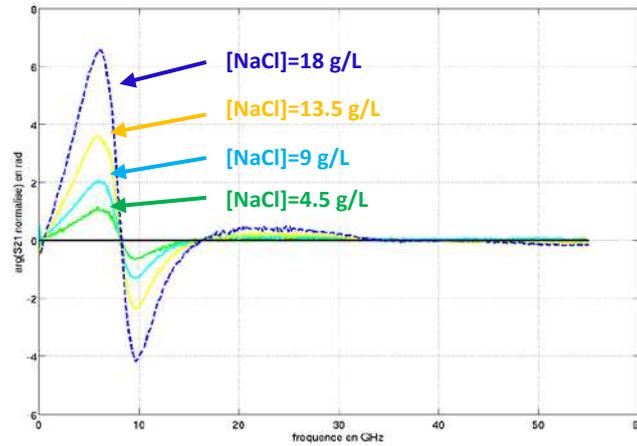


Figure 53 : Spectres normalisés $\arg(S_{21norm})$ pour des solutions de chlorure de sodium dont la concentration varie de 4.5 g/L à 36 g/L.

Les Figure 52 et Figure 53 pointent un phénomène très intéressant : pour des fréquences supérieures à 25 GHz environ, les spectres $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ s'annulent. A ces fréquences, le fonctionnement du biocapteur est alors totalement transparent à la présence d'ions chlorure ou d'ions sodium en solution.

Or, le biocapteur utilisé est basé sur un stub quart d'onde dont la première résonance harmonique apparaît à $f = 35$ GHz environ (cf. Figure 54). A cette fréquence, les Figure 52 et Figure 53 montrent que le biocapteur n'est plus sensible à la présence d'ions sodium et chlorure en solutions. On peut donc utiliser cette fréquence de résonance harmonique pour évaluer les indicateurs ΔFr ; $\Delta|S_{21}|_{dB}(@Fr_{ref2})$ et $\Delta\arg(S_{21})(@Fr_{ref2})$ et donc en déterminer la concentration en glucose.

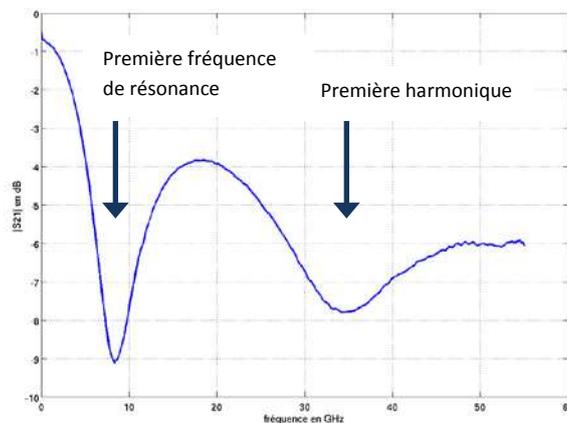


Figure 54 : Spectre $|S_{21}|$ pour le biocapteur basé sur un stub implémenté en technologie thin film microstrip. Mise en évidence des deux premières fréquences de résonance.

La Figure 55 montre par exemple les écarts de fréquence (à 35 GHz) en fonction de la concentration en glucose pour les différentes concentrations en chlorure de sodium.

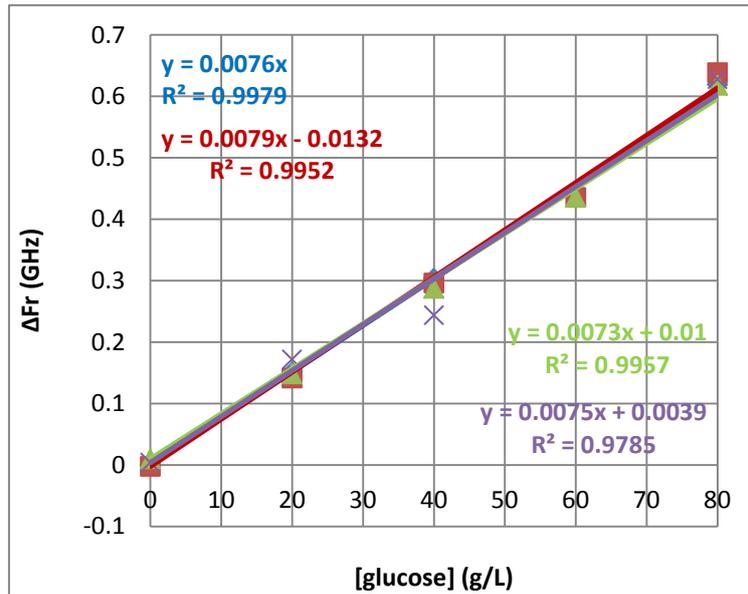


Figure 55 : Ecarts de fréquence de résonance à 35 GHz en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations en chlorure de sodium (0 ; 4.5 ; 9 et 18 g/L).

La Figure 55 montre que la détermination des concentrations en glucose peut être faite en utilisant la résonance à 35 GHz et ce quelle que soit la concentration en chlorure de sodium. La présence de ces ions en solutions est en effet totalement transparente à cette fréquence. En outre, on peut remarquer également que la valeur des pentes est plus élevée à ces fréquences (environ $7.6 \text{ MHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$) que si on se place à la première résonance (environ $3.4 \text{ MHz}/(\text{g}\cdot\text{L}^{-1})$). La sensibilité du biocapteur aux variations de concentration en glucose, en termes d'écarts de fréquence de résonance, est donc meilleure à 35 GHz (première résonance harmonique) qu'à 8.5 GHz (résonance fondamentale).

Un constat identique peut être fait si on utilise l'indicateur basé sur la norme du paramètre $S_{21\text{norm}}$. La Figure 56 montre ce paramètre en fonction de la concentration en glucose, à nouveau pour les quatre valeurs de concentrations en chlorure de sodium (0 ; 4.5 ; 9 et 18 g/L).

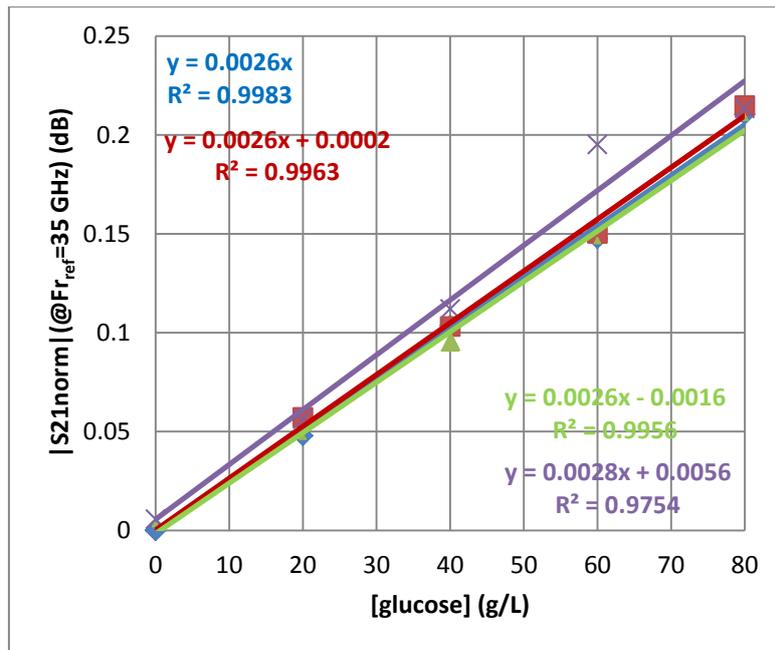


Figure 56 : $|S21_{norm}|(@Fr_{ref}=35 \text{ GHz})$ en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations en chlorure de sodium (0 ; 4.5 ; 9 et 18 g/L).

A nouveau, la concentration en chlorure de sodium n'a plus d'influence à 35 GHz sur la norme du paramètre normalisé $S21_{norm}$. La détermination de la concentration en glucose peut-être faite quelle que soit la concentration en chlorure de sodium. A noter que dans le cas du paramètre $|S21_{norm}|(@Fr_{ref})$, la sensibilité à la concentration en glucose est plus élevée à $Fr_{ref}=8.52 \text{ GHz}$ (environ $4.6 \times 10^{-3} \text{ dB}/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$) qu'à $Fr_{ref2}=35 \text{ GHz}$ (environ $2.6 \times 10^{-3} \text{ dB}/(\text{g} \cdot \text{L}^{-1})$).

Les tendances ne sont pas aussi nettes si on considère l'indicateur sur la phase du paramètre $S21_{norm}$. Même à 35 GHz, les droites $\arg(S21_{norm})(@Fr_{ref}=35 \text{ GHz})=f([\text{glucose}])$ dépendent encore de la concentration en chlorure de sodium et ne peuvent pas être exploitées pour déterminer directement la concentration en glucose, comme en témoigne la Figure 57.

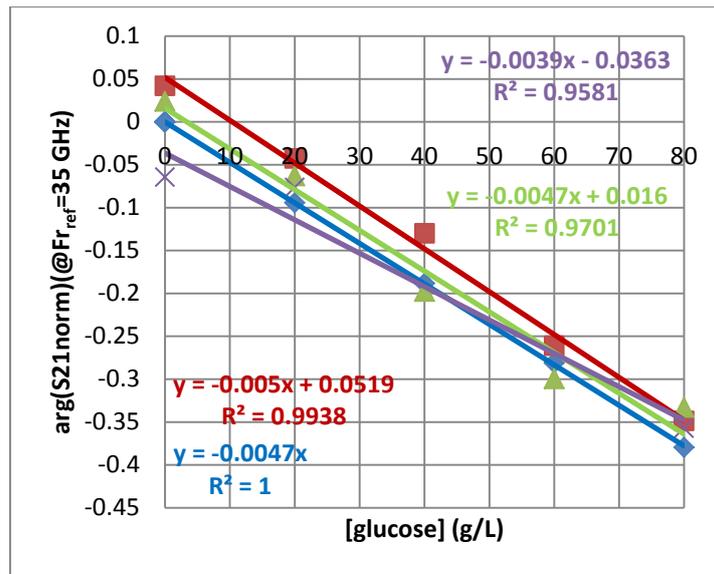


Figure 57 : $\arg(S21_{norm})(@Fr_{ref}=35 \text{ GHz})$ en fonction de la concentration en glucose et pour différentes concentrations en chlorure de sodium (0 ; 4.5 ; 9 et 18 g/L).

Cette série de mesures confirme les potentialités des biocapteurs hyperfréquences résonants pour la détermination de la concentration en glucose même en présence de chlorure de sodium aux concentrations physiologiques. En effet, contrairement aux techniques par impédancemétrie, la présence des ions Na^+ et Cl^- ne remet pas en cause le principe de détermination de la concentration en glucose. En outre, deux techniques sont ici proposées pour s'affranchir de la présence de chlorure de sodium :

- Changer de liquide de référence en utilisant, non plus l'eau déionisée, mais une solution aqueuse contenant la même quantité de chlorure de sodium que les liquides à tester.
- Quand la concentration en chlorure de sodium n'est pas connue, une deuxième solution consiste à utiliser la deuxième fréquence de résonance pour déterminer la valeur des indicateurs ΔFr ; $\Delta |S21|_{dB}(@Fr_{ref})$ et $\Delta \arg(S21)(@Fr_{ref})$; le principe de détermination de la concentration en glucose restant identique. Cette possibilité justifie en outre l'intérêt de réaliser des mesures en bande large même avec des résonateurs.

V. Conclusion

Ce chapitre compare les performances de trois familles de biocapteurs basés sur des résonateurs hyperfréquences (résonateurs $\lambda/4$ implémentés en technologie CPW ; stubs implémentés en technologie CPW ; stubs implémentés en technologie TFMS) pour la détermination de la concentration en glucose en solution aqueuse. Les résultats de mesure ont montré que ces trois familles de biocapteurs, utilisant des résonateurs miniatures implémentés dans des guides d'onde intégrés, sont globalement caractérisés (cf. Figure 34) par le même facteur de mérite K :

$$K \approx \frac{\varepsilon_0 \cdot V_F \cdot |\vec{E}|_{moy}^2}{E_{em}}$$

Ce facteur de mérite K est une grandeur caractéristique d'une famille de dispositifs. Les variations du coefficient $\Delta Fr/\Delta \varepsilon'$ entre les trois familles de dispositifs sont donc principalement dues à la fréquence de résonance centrale. La Figure 58 permet d'évaluer la valeur de ce facteur de mérite K pour les trois dispositifs présentés dans ce chapitre, ainsi que pour trois autres types de biocapteurs hyperfréquences résonants basés sur :

- Un résonateur microstrip basé sur un plan de masse présentant une structure périodique gravée (DGP – Defected Ground Plane [9]) ;
- Un résonateur diélectrique excité par des modes de galerie [10] ;
- Une cavité résonante [11].
-

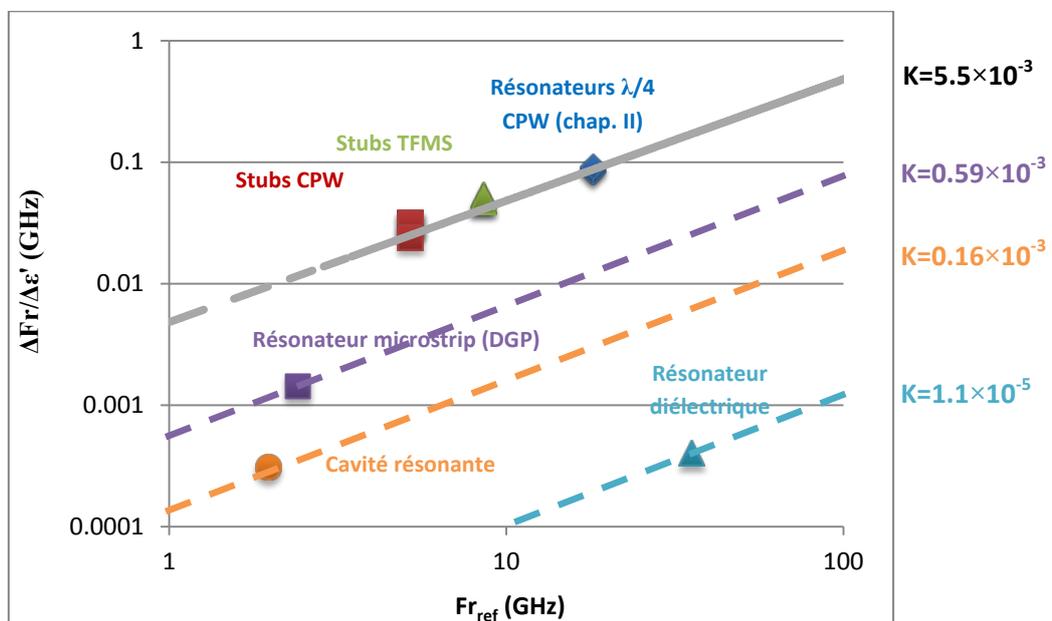


Figure 58 : Caractéristique $\Delta Fr/\Delta \varepsilon'$ en fonction de la fréquence de résonance de référence pour chacune des trois familles de résonateurs présentés dans ce chapitre ainsi que pour trois autres technologies de biocapteurs hyperfréquences présentées dans la littérature : un résonateur microstrip à structure distribuée ; un résonateur diélectrique et une cavité résonante.

Pour des valeurs de fréquence centrale du même ordre grandeur, les biocapteurs que nous avons développés semblent présenter les valeurs de sensibilité les plus élevées. Ces résultats peuvent s'expliquer de la façon suivante :

- Le résonateur microstrip DGP est, tout comme nos dispositifs, une structure miniature à guide d'onde intégré. Cependant, l'utilisation de structure à « defected ground plane (DGP) » distribue le champ électrique à la résonance sur une longueur bien plus grande que $\lambda/4$. Le facteur de remplissage k est donc mécaniquement plus faible qu'avec les résonateurs que nous avons développés.
- Pour ce qui est des résonateurs à base de cavités résonantes ou résonateurs diélectriques, ces dispositifs présentent une sensibilité plus faible que nos biocapteurs tout simplement parce qu'ils obéissent à une stratégie diamétralement opposée à celle que nous avons suivie. En effet, les biocapteurs hyperfréquences basés sur des cavités résonantes ou des résonateurs diélectriques sont conçus en découplant le fluide du champ électromagnétique à la résonance, de façon à préserver les très fortes valeurs de facteurs de qualité caractéristiques de ces dispositifs. La détermination de la fréquence de résonance est faite alors de façon très précise, au détriment du facteur K , qui devient très faible (comme en témoigne la Figure 58).

La deuxième partie de ce chapitre a été consacrée à la mesure de solutions aqueuses de glucose aux concentrations physiologiques. L'amélioration des indicateurs et des protocoles de mesure ont permis d'obtenir une résolution sur la plus petite variation de concentration en glucose détectable à 0.4 g/L (obtenue sur les biocapteurs basés sur des stubs implémentés en technologie thin film microstrip). Cette valeur est au niveau de l'état de l'art pour les biocapteurs hyperfréquences résonants. En effet, des dispositifs basés sur des résonateurs diélectriques ou des cavités résonantes et dédiés à la mesure de la concentration en glucose en solution aqueuse ont montré des résolutions variant de 10 g/L à 0.5 g/L [5, 12 - 14].

En outre, nous avons montré les potentialités de nos biocapteurs hyperfréquences pour la mesure précise de la concentration en glucose à l'aide de l'abaque d'erreur de Clarke [15]. La Figure 59 montre, à gauche, les performances de différents glucomètres commerciaux, et, à droite, les performances des biocapteurs basés sur des stubs TFMS à l'aide de cet abaque.

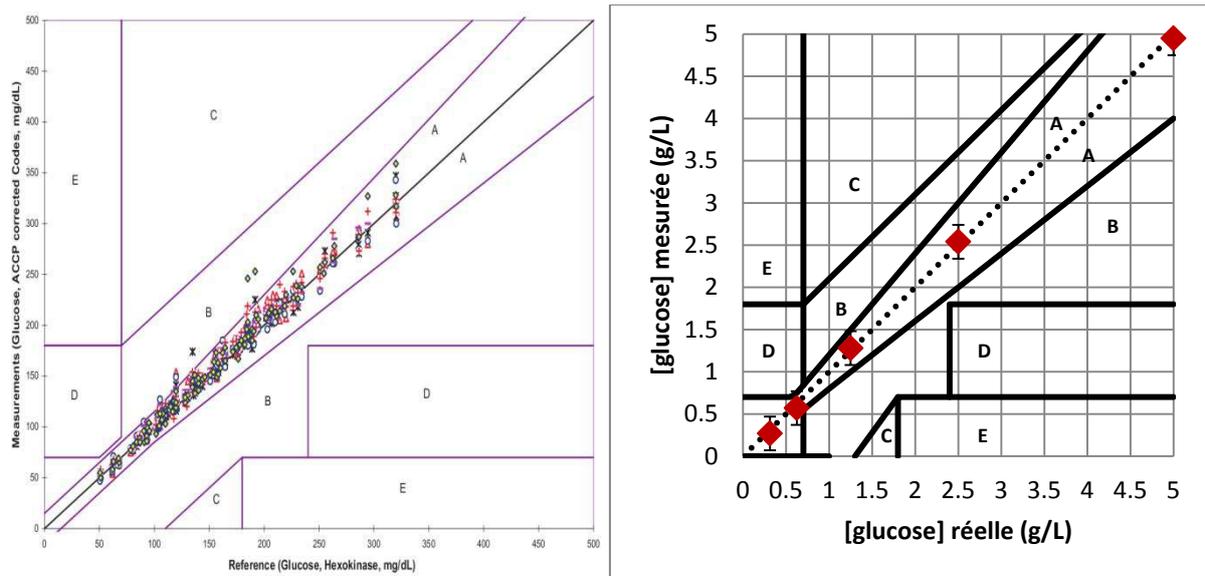


Figure 59 : Performances des lecteurs de glycémie commerciaux sur des échantillons (à gauche) et des biocapteurs hyperfréquences de la filière TFMS sur des solutions eau/glucose évaluées à l'aide de l'abaque d'erreur de Clarke.

La Figure 59 montre que la fiabilité des biocapteurs hyperfréquences que nous avons développés pour la mesure de la concentration en glucose en solution aqueuse approche celle des lecteurs de glycémie commerciaux. Cependant, deux points restent encore à développer :

- La résolution des dispositifs, qui s'élève à 0.4 g/L pour nos biocapteurs hyperfréquences alors que les glucomètres commerciaux affichent une précision de mesure de l'ordre de 0.03 g/L.
- La possibilité de maintenir ces performances sur de véritables échantillons de sang.

Ce dernier point a été abordé dans la troisième partie de ce chapitre. Les biocapteurs hyperfréquences ont été appliqués à la mesure de la concentration en glucose sur des solutions binaires eau/glucose/chlorure de sodium. Les campagnes de mesure ont montré que ce composé ionique avait effectivement une influence sur la réponse des biocapteurs.

Cependant, la sensibilité des dispositifs était relativement peu affectée. Le pire cas enregistré a été une chute de 16 % de la sensibilité aux variations de concentration en glucose par la mesure de l'indicateur $|S_{21}^{norm}| (@Fr_{ref})$ lorsque la concentration en chlorure de sodium passe de 0 à 9 g/L. En outre, deux techniques ont été proposées pour s'affranchir de la présence des ces ions en solution :

- La première consiste à changer de liquide de référence en préférant à l'eau déionisée, une solution dont la concentration en chlorure de sodium est égale à la concentration en chlorure de sodium dans les solutions à caractériser.
- La deuxième consiste à utiliser la première harmonique (à 3.Fr) pour fréquence de résonance centrale. Pour les dispositifs que nous avons utilisés, cette harmonique apparaît à 35 GHz, fréquence à laquelle les ions chlorure et sodium sont totalement transparents au champ électromagnétique excitant la structure.

Bibliographie du chapitre III

- [1] F.D. Mbairi et H. Hesselbom
"High frequency design and characterization of SU-8 based conductor backed coplanar waveguide transmission lines"
International Symposium on Advanced Packaging Materials : Processes, Properties and Interfaces. Proceedings. 2005
- [2] M. Kohno
"Low dielectric constant materials"
Journal of Photopolymer Science and Technology, vol. 12, n°2, pp.189-192, 1999
- [3] F. Schnieder et W. Heinrich
"Model of thin-film microstrip line for circuit design"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 49, n° 1, janvier 2001
- [4] MicroChem
"SU-8 3000 permanent epoxy negative photoresist"
Datasheet fabricant
- [5] A. Babajanyan, H. Melikyan, S. Kim, J. Kim, K. Lee et B. Friedman
"Real-time noninvasive measurement of glucose concentration using a microwave biosensor"
Journal of Sensors, vol. 2010, 452163, 2010
- [6] Dictionnaire de l'académie de médecine
Diabète sucré : <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=diab%C3%A8te+sucre%C3%A9>
Glycémie : <http://dictionnaire.academie-medecine.fr/?q=glyc%C3%A9mie>
- [7] Conseil scientifique des concours de l'internat en pharmacie
"Concours de l'internat en pharmacie – Valeurs biologiques usuelles"
Edition de novembre 2009
- [8] T. Chrétiennot, D. Dubuc et K. Grenier
"Biocapteur hyperfréquence miniature pour l'analyse non-invasive de solution aqueuse de glucose"
Papier sélectionné pour présentation en session orale. Journées Nationales Microondes, Paris, 2013
- [9] C. Liu et Y. Pi
"A microstrip resonator with slotted ground plane for complex permittivity measurements of liquids"
Wireless and Microwave Components Letters, vol. 18, n°4, pp.257 – 259, 2008
- [10] A.I. Gubin, A.A. Barannik, N.T. Cherpak, S. Vitusevich, A. Offenhaeusser et N. Klein
"Whispering gallery mode resonator technique for characterization of small volumes of biochemical liquids in microfluidic channel"
European Microwave Week, pp. 615-618, 2011

[11] H. Kawabata et Y. Kobayashi

"Accurate measurements of complex permittivity of liquid based on a TM_{010} mode cylindrical cavity method"

European Microwave Conference, 2005.

[12] K. Lee, A. Babajanyan, C. Kim, S. Kim et B. Friedman

"Glucose aqueous solution sensing by a near-field microwave microprobe"

Sensors And Actuators, vol. 148, n°1, pp.28-32, 2008

[13] J. Kim, A. Babajanyan, A. Hovsepyan, K. Lee et B. Friedman

"Microwave dielectric resonator biosensor for aqueous glucose solution"

Review of Scientific Instruments, vol. 79, n°8, pp.086107-086110, 2008

[14] S. Kim, J. Kim, A. Babajanyan, K. Lee et B. Friedman

"Noncontact characterization of glucose by a waveguide microwave probe"

Current Applied Physics, vol. 9, n°4, pp.856-860, 2009

[15] W.L. Clarke, D. Cox, L.A. Gonder-Frederick, W. Carter et S.L. Pohl

"Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose"

Diabetes Care, vol. 10, n°5, pp.622-628, septembre 1987

Chapitre IV



Chapitre IV : Analyse hyperfréquence multi-paramétrique de liquides biologiques.

Chapitre IV : Analyse hyperfréquence multi-paramétrique de liquides biologiques.177

I. Introduction	179
II. Techniques de mesures multi-paramétriques.....	180
II.1. Principe de superposition des perturbations	180
II.2. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de régression large bande	183
II.3. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes	189
III. Techniques de mesures multi-échantillons	194
III.1. Présentation de la structure à deux résonateurs.....	194
III.2. Principe et mise en œuvre de la technique de mesure.....	196
<i>III.2.a. Superposition des perturbations</i>	<i>196</i>
<i>III.2.b. Généralisation</i>	<i>198</i>
<i>III.2.c. Protocole de mesures.....</i>	<i>199</i>
III.3. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de régression large bande	201
III.4. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes.....	204
<i>III.4.a. Mise en évidence graphique du principe de superposition des perturbations</i>	<i>204</i>
<i>III.4.b. Détermination des concentrations en glucose par une méthode algébrique</i>	<i>206</i>
<i>III.4.c. Détermination des concentrations en glucose : méthode graphique.....</i>	<i>211</i>
III.5. Vers la généralisation des mesures multi-échantillons : structure à 4 résonateurs.....	214
<i>III.5.a. Présentation de la structure</i>	<i>214</i>
<i>III.5.b. Mesures de solutions eau/glucose</i>	<i>215</i>

IV. Conclusion.....221

Bibliographie du chapitre IV224

I. Introduction

Nos biocapteurs hyperfréquences ont été développés avec comme objectif la mesure de concentration en glucose en solution aqueuse et, à l'avenir, dans le sang. Nous avons ainsi démontré que nos dispositifs résonants sont sensibles à la présence de glucose en solution aqueuse dans des conditions simples et calibrées (modèle 0 du sang, chapitre III, paragraphe II). Cependant, les résultats présentés au chapitre III, paragraphe III, ont montré que les dispositifs sont aussi sensibles à la présence d'autres solutés. Ce phénomène est commun à la plupart des capteurs hyperfréquences dédiés à l'analyse de liquides [1]. De prime abord, cette propriété peut sembler constituer un inconvénient. Le biocapteur est alors qualifié de non-spécifique, au sens où il est sensible aux différentes espèces présentes en solution.

Ce phénomène de non-spécificité a été mis en évidence pour les biocapteurs hyperfréquences résonants que nous développons avec des mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium. Le paragraphe suivant se propose de montrer que ce phénomène peut être tourné à son avantage en utilisant la richesse spectrale des réponses électriques du dispositif pour déterminer simultanément (c'est-à-dire à partir d'une mesure unique), la concentration en glucose et la concentration en chlorure de sodium en solution. On parlera ici de mesures « multi-solutés » [2].

De plus, les travaux menés sur l'exploitation à plusieurs fréquences des réponses électriques des biocapteurs ont débouché sur le développement de techniques de mesures parallélisées de plusieurs échantillons fluidiques. Cet objectif a nécessité le développement de structures hyperfréquences comportant plusieurs résonateurs couplés à une même ligne de transmission. Cet aspect justifie l'utilisation des biocapteurs basés sur les résonateurs de la filière « thin film microstrip » pour le peu de difficulté que requiert l'ajout de stubs supplémentaires à une même ligne. Ainsi, le dernier paragraphe de ce chapitre montre la possibilité de caractériser simultanément (c'est-à-dire par une mesure hyperfréquence unique) deux échantillons fluidiques (avec une structure comportant deux résonateurs), ou quatre échantillons (avec une structure comportant quatre résonateurs). On parlera ici de mesures dites « multi-échantillons ».

Ces mesures dites multi-paramétriques ont nécessité parallèlement le développement de techniques de traitement mathématique des données de mesure pour extraire les concentrations en glucose et chlorure de sodium sur un échantillon fluidique ou les concentrations en glucose sur plusieurs échantillons de solution. Ce chapitre propose deux approches différentes :

- Une approche large bande qui consiste à opérer des régressions linéaires sur les spectres complets $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$.
- Deux approches à des fréquences discrètes, pour lesquelles la lecture des concentrations est directe. La première, dite bifréquentielle et monoparamétrique, consiste à mesurer la valeur d'un paramètre (ex : $|S_{21norm}|(@F_i)$) à deux fréquences différentes choisies de façon pertinente pour déterminer la valeur de deux paramètres ([glucose] et [NaCl] ou [glucose] dans le canal fluidique 1 et [glucose] dans le canal fluidique 2). La deuxième, dite monofréquentielle et biparamétrique, consiste à mesurer la valeur de deux paramètres ($\arg(S_{21norm})(@Fr_{ref})$ et $|S_{21norm}|(@Fr_{ref})$) à une fréquence particulière (Fr_{ref}) pour déterminer la valeur de deux paramètres ([glucose] et [NaCl] ou [glucose] dans le canal fluidique 1 et [glucose] dans le canal fluidique 2).

II. Techniques de mesures multi-paramétriques

II.1. Principe de superposition des perturbations

Ce paragraphe se propose de mettre en évidence le principe de superposition des perturbations (dus à la présence de plusieurs solutés en solution) sur les spectres normalisés $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$. Nous utilisons ici le biocapteur basé sur un stub en technologie TFMS (chapitre III, Figure 21). Des mélanges binaires eau/glucose/chlorure de sodium ont été utilisés.

Notations :

Dans toute la suite, on note $S_{21_{gluA/naclX}}$ le spectre S_{21} mesuré sur le biocapteur chargé par une solution binaire eau/glucose/chlorure de sodium avec $[glucose] = A$; $[nacl] = X$ et $S_{21norm_{gluA/naclX}} = S_{21_{gluA/naclX}}/S_{21_{eauDI}}$, le spectre normalisé relatif à la même solution.

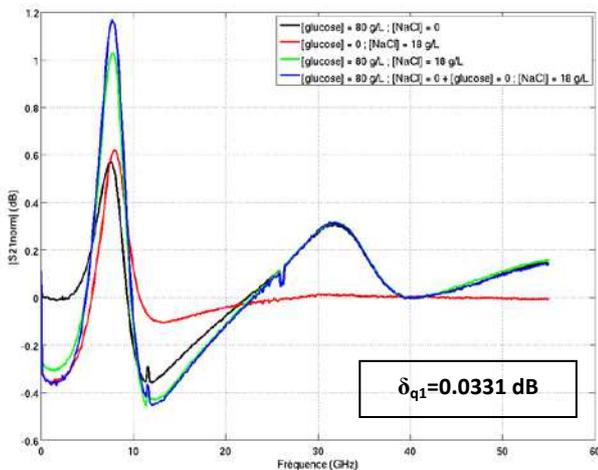
La Figure 1 montre les spectres $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ pour une solution eau/glucose à 80 g/L (noir), pour une solution eau/chlorure de sodium à 18 g/L (rouge) et pour une solution binaire eau/glucose/chlorure de sodium à 80 g/L en glucose et 18 g/L en chlorure de sodium (noir).

On définit ensuite le spectre $|S_{21_{somme}}|$, égal à la somme des spectres normalisés $|S_{21norm_{glu80}}|$ et $|S_{21norm_{nacl18}}|$ (équation (1)). On définit de même le spectre $\arg(S_{21_{somme}})$ comme somme des spectres normalisés $\arg(S_{21norm_{glu80}})$ et $\arg(S_{21norm_{nacl18}})$ (équation (2)) :

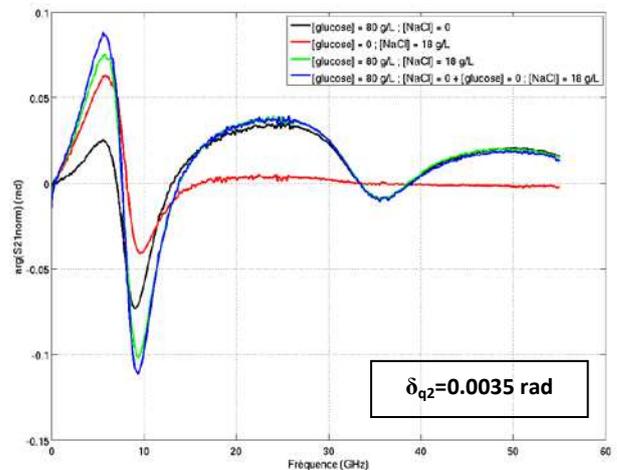
$$|S_{21_{somme}}| = \left| \frac{S_{21_{glu80}}}{S_{21_{eauDI}}} \right| + \left| \frac{S_{21_{NaCl18}}}{S_{21_{eauDI}}} \right| \text{ (en dB)} \quad (1)$$

$$\arg(S_{21_{somme}}) = \arg\left(\frac{S_{21_{glu80}}}{S_{21_{eauDI}}}\right) + \arg\left(\frac{S_{21_{NaCl18}}}{S_{21_{eauDI}}}\right) \quad (2)$$

Les spectres $|S_{21_{somme}}|$ et $\arg(S_{21_{somme}})$ sont également présentés sur les Figure 1 (a) et (b) respectivement.



a - $|S_{21norm}|$



b - $\arg(S_{21norm})$

Figure 1 : Spectres normalisés $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ pour une solution eau/glucose à 80 g/L en glucose (en noir) ; pour une solution eau/chlorure de sodium à 18 g/L en chlorure de sodium (en rouge) et pour une solution binaire eau/glucose/chlorure de sodium à 80 g/L et 18 g/L respectivement (en vert). En bleu sont donnés les spectres $|S21somme|=|S21norm_{glu80}|+|S21norm_{nacl18}|$ et $\arg(S21somme)=\arg(S21norm_{glu80})+\arg(S21norm_{nacl18})$.

Sur la Figure 1, les spectres $|S21norm_{glu80/nacl18}|$ et $\arg(S21norm_{glu80/nacl18})$ se superposent respectivement aux spectres $|S21_{somme}|$ et $\arg(S21_{somme})$. Afin de quantifier la qualité des régressions linéaires sur les spectres normalisés $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$, on estime l'erreur quadratique d'optimisation sur ces spectres $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ (notées respectivement δ_{q1} et δ_{q2}) de la façon suivante :

$$\delta_{q1} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (|S21norm_{gluA/naclX}|(f_i) - |S21_{SOMME}|(f_i))^2} \quad (3)$$

$$\delta_{q2} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\arg(S21norm_{gluA/naclX})(f_i) - \arg(S21_{SOMME})(f_i))^2} \quad (4)$$

où N est la longueur des spectres (nombre de points de fréquences) S21norm. Ainsi la Figure 1 valide les égalités suivantes :

$$|S21norm_{glu80/nacl18}| = |S21norm_{glu80}| + |S21norm_{nacl18}| \quad (\delta_{q1}=0.0331 \text{ dB}) \quad (5)$$

$$\arg(S21norm_{glu80/nacl18}) = \arg(S21norm_{glu80}) + \arg(S21norm_{nacl18}) \quad (\delta_{q2}=0.0035 \text{ rad}) \quad (6)$$

Les spectres normalisés $S21norm_{gluA/naclX} = S21_{gluA/naclX} / S21norm_{eauDI}$ mettent en valeur les perturbations apportées par les solutés (ici glucose et/ou chlorure de sodium) sur la réponse en transmission du biocapteur par rapport à une situation de référence (eau DI). Ce que semblent dire les équations (5) et (6), c'est que les perturbations dues au glucose et celles dues au chlorure de sodium se traduisent, sur les spectres S21norm, de manière indépendante et cumulative. Les perturbations dues à un mélange binaire eau/glucose/chlorure de sodium sur les spectres normalisés $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ apparaissent ainsi comme les sommes des perturbations dues à un mélange eau/glucose et à un mélange eau/chlorure de sodium aux mêmes concentrations.

Les mesures présentées dans le cadre du chapitre précédent ont montré que les paramètres $|S21norm|(@Fr_{ref})$, $|S21norm|(@F_{max})$ et $\arg(S21norm)(@Fr_{ref})$ varient linéairement en fonction de la concentration en glucose et en chlorure de sodium. On peut donc estimer qu'il en est de même pour les spectres complets $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$. On peut ainsi généraliser le principe de superposition des perturbations sur les spectres normalisés de la façon suivante :

$$|S21norm_{gluA/NaClX}| = a * |S21norm_{gluB}| + x * |S21norm_{naclY}| \quad (7)$$

$$\arg(S21norm_{gluA/naclX}) = a * \arg(S21norm_{gluB}) + x * \arg(S21norm_{naclY}) \quad (8)$$

avec $a = \frac{A}{B}$ et $x = \frac{X}{Y}$.

La Figure 2 illustre cette généralisation avec les spectres mesurés sur un mélange eau/glucose à 80 g/L, un mélange eau/chlorure de sodium à 18 g/L et une solution binaire eau/glucose/chlorure de sodium à 20 g/L en glucose et 13.5 g/L en chlorure de sodium. Les spectres correspondant aux sommes :

$$\frac{20}{80} * |S21norm_{glu80}| + \frac{13.5}{18} * |S21norm_{nacl18}| \quad (9)$$

$$\frac{20}{80} * \arg(S21norm_{glu80}) + \frac{13.5}{18} * \arg(S21norm_{nacl18}) \quad (10)$$

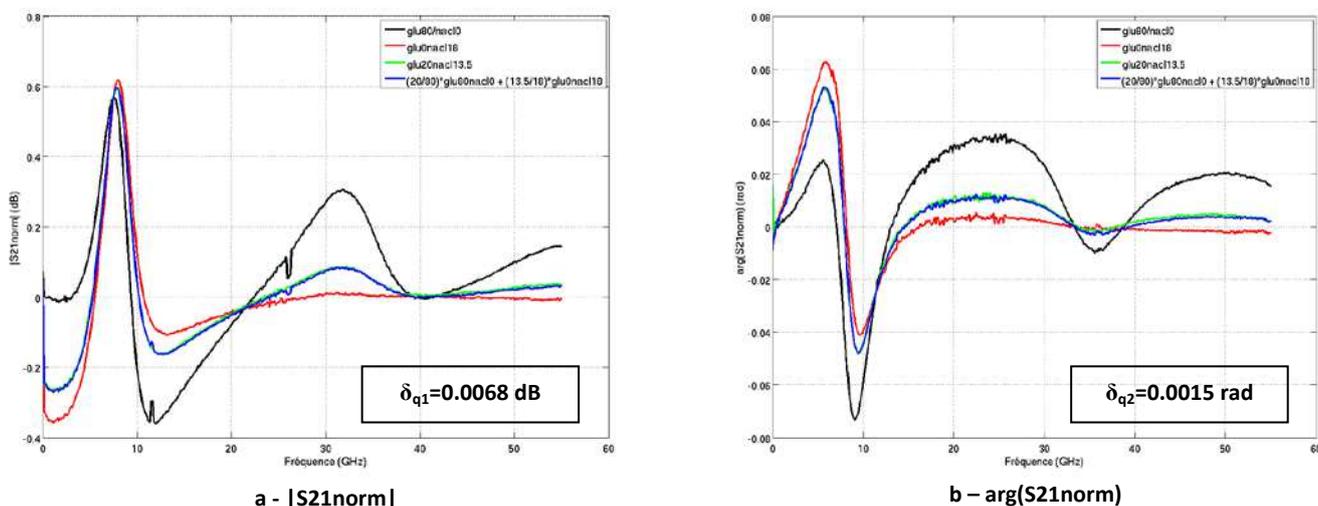


Figure 2 : Spectres normalisés $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ pour une solution eau/glucose à 80 g/L en glucose (en noir) ; pour une solution eau/chlorure de sodium à 18 g/L en chlorure de sodium (en rouge) et pour une solution binaire eau/glucose/chlorure de sodium à 20 g/L et 13.5 g/L respectivement (en vert). En bleu sont donnés les spectres $|S21somme| = (20/80) * |S21norm_{glu80}| + (13.5/18) * |S21norm_{nacl18}|$ et $\arg(S21somme) = (20/80) * \arg(S21norm_{glu80}) + (13.5/18) * \arg(S21norm_{nacl18})$.

La Figure 2 valide ainsi les égalités :

$$|S21norm_{glu20/nacl13.5}| = (20/80) * |S21norm_{glu80}| + (13.5/18) * |S21norm_{nacl18}| \quad (\delta_{q1} = 0.0068 \text{ dB}) \quad (11)$$

$$\arg(S21norm_{glu20/nacl13.5}) = (20/80) * \arg(S21norm_{glu80}) + (13.5/18) * \arg(S21norm_{nacl18}) \quad (\delta_{q2} = 0.0015 \text{ rad}) \quad (12)$$

Le paragraphe suivant montre comment ce phénomène de superposition peut être exploité pour déterminer simultanément la concentration en glucose et en chlorure de sodium par une mesure unique. Une série de solutions binaires eau/glucose/chlorure de sodium ont été mesurées et les concentrations en glucose et en chlorure de sodium ont été déterminées en utilisant ce principe de superposition des perturbations.

II.2. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de régression large bande

Le principe de superposition des perturbations mis en évidence dans le paragraphe précédent a été exploité pour déterminer simultanément la concentration en glucose et en chlorure de sodium d'un mélange aqueux binaire. La détermination des concentrations des deux solutés est faite par régression linéaire sur les spectres $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$.

Pour ce faire, deux solutions, la première, une solution eau/glucose et la deuxième une solution eau/NaCl, de concentration respective égale à 80 g/L et 36 g/L, sont mesurées préalablement. Les paramètres S relatifs à ces deux solutions sont alors normalisés par les paramètres S des échantillons d'eau DI (liquide de référence) mesurés immédiatement avant. Des mélanges binaires eau/glucose/NaCl de concentrations variables en glucose et en chlorure de sodium sont ensuite mesurés, en alternance avec des échantillons d'eau DI. Les paramètres S relatifs aux mélanges binaires sont normalisés par les paramètres S relatifs aux échantillons d'eau mesurés immédiatement avant. Une routine Matlab (« fminsearch ») optimise alors les coefficients a_n , a_p , b_n et b_p tels que soient minimisées les grandeurs suivantes :

$$\sum_{i=1}^N [|S21norm_{gluA/naclX}|(f_i) - a * |S21norm_{glu80}|(f_i) - x * |S21norm_{nacl36}|(f_i)]^2 \quad (13)$$

$$\sum_{i=1}^N [\arg(S21norm_{gluA/naclX})(f_i) - a' * \arg(S21norm_{glu80})(f_i) - x' * \arg(S21norm_{nacl36})(f_i)]^2 \quad (14)$$

où N désigne le nombre de points (c'est-à-dire de fréquences) dans les spectres $S21norm_{gluX/naclY}$, $S21norm_{glu80}$ et $S21norm_{nacl36}$.

Les concentrations A et X en glucose et en chlorure de sodium sont alors données par :

$$\mathbf{A} = 80 * \mathbf{a} \text{ et } \mathbf{X} = 36 * \mathbf{x}$$

Les mélanges binaires eau/glucose/NaCl mesurés sont donnés dans le Tableau 1 :

Tableau 1 : Concentrations en glucose et en chlorure de sodium des mélanges binaires eau/glucose/NaCl mesurés sur le stub TFMS.

Mélange	A = [glucose] (g/L)	X = [NaCl] (g/L)
1	6.67	6
2	13.33	12
3	13.33	24
4	26.67	3
5	20	13.5
6	20	6
7	30	18
8	15	27

La Figure 3 rappelle le protocole expérimental suivi pour cette campagne de mesures.

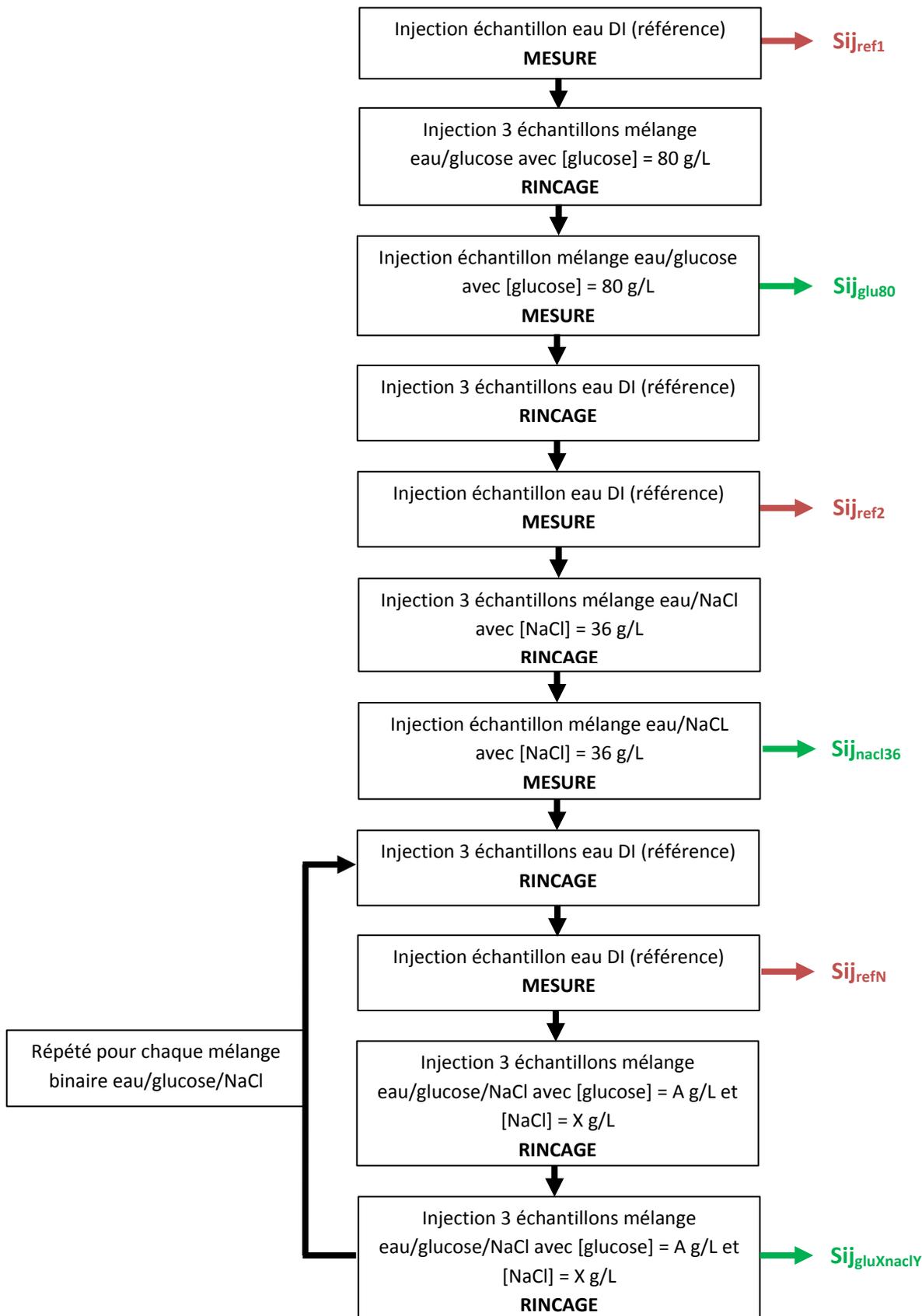


Figure 3 : Protocole de mesures suivi pour la détermination simultanée des concentrations en glucose et en chlorure de sodium sur le stub implémenté en technologie « thin film microstrip ».

La Figure 4 montre un exemple d'optimisation réalisé sous Matlab par minimisation des grandeurs (13) et (14).

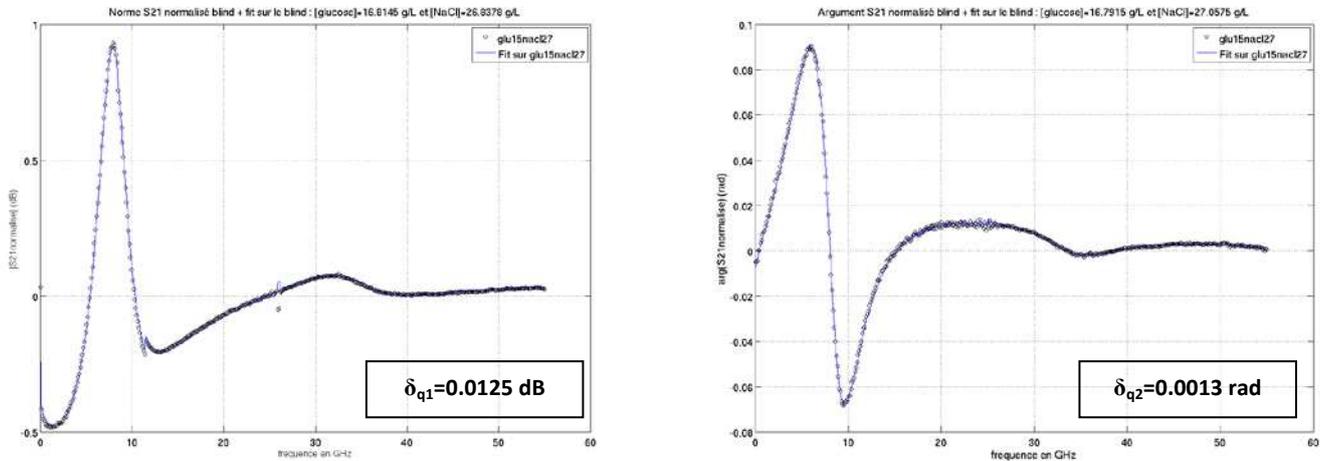


Figure 4 : Régressions (courbes bleues) réalisées sur les spectres normalisés $|S21norm|$ et $arg(S21norm)$ correspondant à la mesure (points noirs) du mélange binaire eau/glucose/NaCl avec $[glucose] = 15$ g/L et $[NaCl] = 27$ g/L. Après optimisation sur les spectres $|S21norm|$ et $arg(S21norm)$, les concentrations retrouvées s'élevèrent à $[glucose]=16.8$ g/L ; $[NaCl]=26.8$ g/L et $[glucose]=16.8$ g/L ; $[NaCl]=27.1$ g/L respectivement.

Cette méthode de détermination des concentrations des deux solutés par régression sur les spectres $|S21norm|$ et $arg(S21norm)$ a été utilisée pour déterminer la concentration sur les 8 solutions binaires mesurées par le biocapteur. Le Tableau 2 liste les concentrations réelles mesurées et les concentrations retrouvées par régression sur les spectres $|S21norm|$.

Tableau 2 : Concentrations réelles en glucose et en chlorure de sodium dans les mélanges binaires eau/glucose/NaCl et concentrations retrouvées par régression sur les spectres $|S21norm|$, accompagnées des erreurs absolues.

Concentrations réelles en mesures		Concentrations retrouvées par régression sur la norme (bases=eau/glu80 et eau/NaCl36)			
[glucose] (g/L)	[NaCl] (g/L)	[glucose] (g/L)	Erreur (g/L)	[NaCl] (g/L)	Erreur (g/L)
6.67	6	6.8	0.1	7.6	1.6
13.33	12	11	2.3	14.6	2.6
13.33	24	11.7	1.6	25.3	1.3
26.67	3	28.3	1.6	3.6	0.6
20	13.5	20.4	0.4	15.0	1.5
20	6	18.5	1.5	7.4	1.4
30	18	30.4	0.4	18.8	0.8
15	27	16.8	1.8	26.8	0.2

Le Tableau 3 liste quant à lui les concentrations réelles mesurées et les concentrations retrouvées par régression linéaire sur les spectres $arg(S21norm)$.

Tableau 3 : Concentrations réelles en glucose et en chlorure de sodium dans les mélanges binaires eau/glucose/NaCl et concentrations retrouvées par régression sur les spectres arg(S21norm), accompagnées des erreurs absolues.

Concentrations réelles en mesures		Concentrations retrouvées par régression sur la phase (bases=eau/glu80 et eau/NaCl36)			
[glucose] (g/L)	[NaCl] (g/L)	[glucose] (g/L)	Erreur (g/L)	[NaCl] (g/L)	Erreur (g/L)
6.67	6	7.7	1.0	7.4	1.4
13.33	12	14.3	1.0	13.8	1.8
13.33	24	12	1.3	25	1.0
26.67	3	28.7	2.0	3.5	0.5
20	13.5	21.2	1.2	14.7	1.2
20	6	19.4	0.6	7.2	1.2
30	18	31.6	1.6	18.3	0.3
15	27	16.8	1.8	27.1	0.1

L'erreur quadratique $\delta_{[soluté]}$ sur la détermination de la concentration en un soluté donné est estimée en calculant l'erreur quadratique moyenne entre concentration réelle et concentration déterminée par optimisation :

$$\delta_{[soluté]} = \sqrt{\frac{1}{S} \sum_{i=1}^S ([soluté]_{reelle} - [soluté]_{determinee})^2} \tag{15}$$

où S est le nombre d'échantillons mesurés.

En utilisant les régressions linéaires sur les spectres |S21norm|, l'erreur quadratique faite sur la détermination des concentrations en glucose et en chlorure de sodium s'élève à 1.4 g/L pour les deux solutés. Si on utilise les régressions linéaires sur les spectres arg(S21norm), l'erreur quadratique faite sur la détermination des concentrations en glucose et en chlorure de sodium s'élève respectivement à 1.4 g/L et 1.1 g/L. De telles incertitudes sont encore trop élevées pour rendre la technique de mesures exploitable sur des solutions dont la concentration en glucose est du même ordre de grandeur que la glycémie humaine (c'est-à-dire, environ 1 g/L), mais cette série de mesures montre la possibilité de déterminer la concentration d'au moins deux solutés simultanément (c'est-à-dire, par une seule mesure).

Les Figure 5.a et b illustrent la précision de la technique de mesure : En abscisse se lit la concentration réelle en soluté. En ordonnée, se lit la concentration retrouvée par régression sur les spectres normalisés |S21norm|. La droite en rouge est la droite identité. Les carrés bleus représentent les concentrations retrouvées en glucose (Figure 5.a) et chlorure de sodium (Figure 5.b) par cette technique d'optimisation. Si cette technique de mesure était idéale, tous les points de mesure (carrés bleus) devraient se trouver sur la droite identité. L'écart entre points de mesure et droite identité montre l'erreur faite sur la détermination des concentrations des différents solutés.

Il est à noter que l'écart entre concentration réelle et concentration mesurée peut être due aussi à une imprécision lors de la réalisation des mélanges : par exemple, une solution à 15 g/L en glucose en théorie peut éventuellement contenir 16 g/L de glucose.

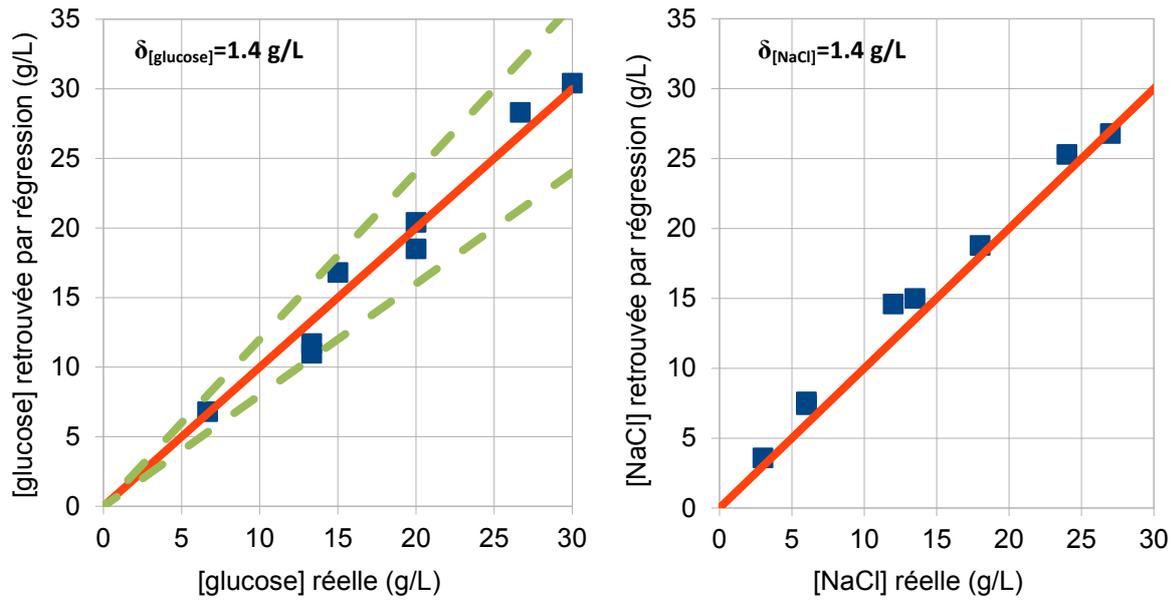


Figure 5 : Concentrations en glucose et en chlorure de sodium retrouvées par optimisation sur les spectres normalisés $|S21_{\text{norm}}|$. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3)

Les droites en pointillés montrent le prolongement des délimitations de la zone A (« zone verte ») dans l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe II.3). La Figure 5 montre que toutes les concentrations en glucose déterminées par régression sur les spectres $|S21_{\text{norm}}|$ se confinent dans la zone A de l'abaque de Clarke.

Les Figures 6.a et b montrent la précision de la technique de mesure basée sur une régression sur les spectres normalisés $\arg(S21_{\text{norm}})$. Ces deux figures sont construites de façon similaire aux Figures 5.a et b.

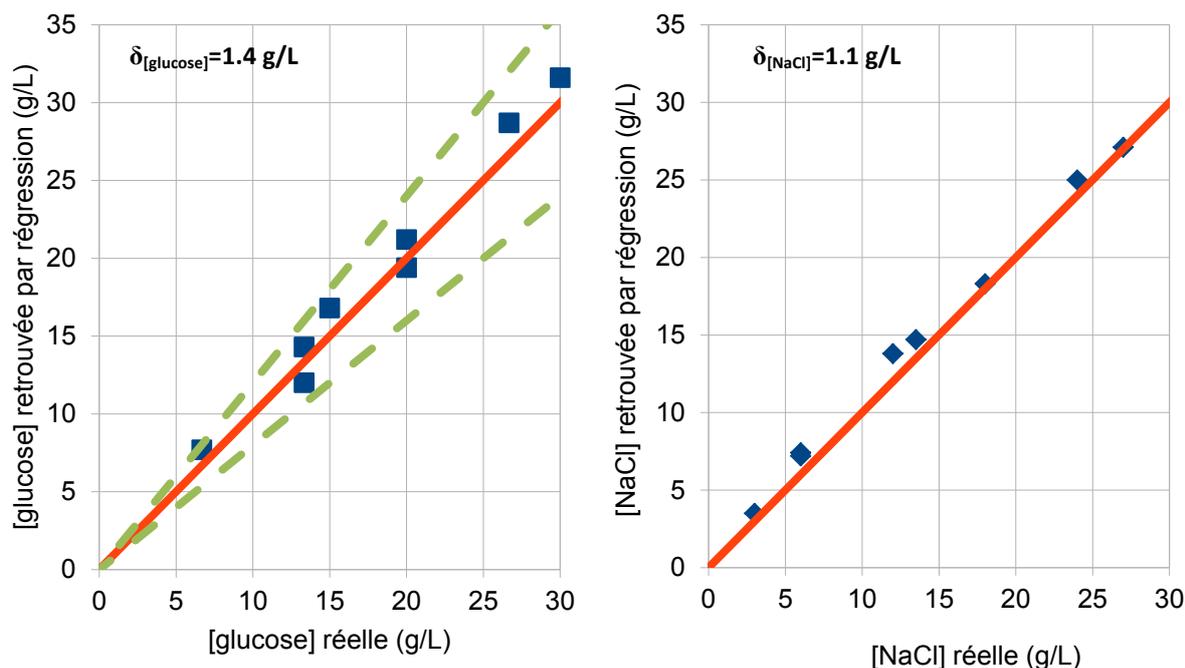


Figure 6 : Concentrations en glucose et en chlorure de sodium retrouvées par optimisation sur les spectres normalisés $\arg(S_{21_{\text{norm}}})$. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

La Figure 6 permet de dresser le même constat que dans le cas de la Figure 5 : les concentrations en glucose déterminées par régression sur les spectres $\arg(S_{21_{\text{norm}}})$ se confinent toutes dans la zone A (en vert) de l'abaque de Clarke.

La capacité de mesure simultanée (c'est-à-dire par une mesure unique) des concentrations d'au moins deux solutés en solution aqueuse constitue un avantage très important des techniques de dosage par résonateurs hyperfréquences. Alors que les techniques classiques reposent sur l'utilisation de réactifs ou d'enzymes qui déterminent de fait la nature du soluté qui est dosé (celui qui réagit avec le réactif ou l'enzyme utilisés), les techniques hyperfréquences sont non spécifiques (les variations de réponse du biocapteur sont dues à différents solutés présents dans les mélanges aqueux) et non destructives, ainsi, le principe de superposition des perturbations sur les spectres normalisés $|S_{21_{\text{norm}}}|$ et $\arg(S_{21_{\text{norm}}})$ peut être utilisé pour mesurer la concentration des solutés pour lesquels ce principe est valable.

Cette étude montre que le principe de superposition des perturbations est valable pour le glucose et le chlorure de sodium. Des études complémentaires sont à mener pour déterminer tous les éléments pour lesquels ce principe est valable (éléments figurés : érythrocytes, leucocytes, plaquettes... ; biomolécules : lipides, acides aminés,... ; ions...); ainsi que le nombre maximal de solutés pouvant être déterminés simultanément sur un unique résonateur hyperfréquence microfluidique.

II.3. Détermination des concentrations des solutés d'un mélange binaire : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes

Les deux paragraphes précédents ont montré le principe de superposition des perturbations sur les spectres complets $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ selon l'égalité suivante :

$$|S21norm_{gluA/naclX}| = a * |S21norm_{gluB/nacl0}| + x * |S21norm_{glu0/naclY}| \quad (16)$$

Or, il existe des fréquences particulières pour lesquelles les spectres $|S21norm_{gluB/nacl0}|$ ou $|S21norm_{glu0/naclY}|$ s'annulent. Ainsi, si on appelle f_1 une fréquence telle que $|S21norm_{gluB/nacl0}|=0$, et f_2 une fréquence telle que $|S21norm_{glu0/naclY}| = 0$ alors :

- à $f = f_1$:

$$|S21norm_{gluA/naclX}| = x * |S21norm_{glu0/naclY}| \quad (17)$$

Et la concentration B en chlorure de sodium se déduit directement de la concentration Y (connue) en chlorure de sodium du mélange de base et du calcul du coefficient $x = \frac{|S21norm_{gluA/naclX}|(@f_1)}{|S21norm_{glu0/naclY}|(@f_1)}$:

$$X = x * Y \quad (18)$$

- à $f = f_2$:

$$|S21norm_{gluA/naclX}| = a * |S21norm_{gluB/nacl0}| \quad (19)$$

Et la concentration A en glucose se déduit directement de la concentration X (connue) en glucose du mélange de base et du calcul du coefficient $a = \frac{|S21norm_{gluA/naclX}|(@f_2)}{|S21norm_{gluB/nacl0}|(@f_2)}$:

$$A = a * B \quad (20)$$

La Figure 7 montre trois spectres $|S21norm|$ pour les solutions « glu80/nacl0 » ([glucose] = 80 g/L ; [nacl] = 0 – solution de référence 1), « glu0/nacl36 » ([glucose] = 0 ; [nacl] = 36 g/L – solution de référence 2) et « glu80/nacl18 » ([glucose] = 80 g/L ; [nacl] = 18 g/L – solution sous test).

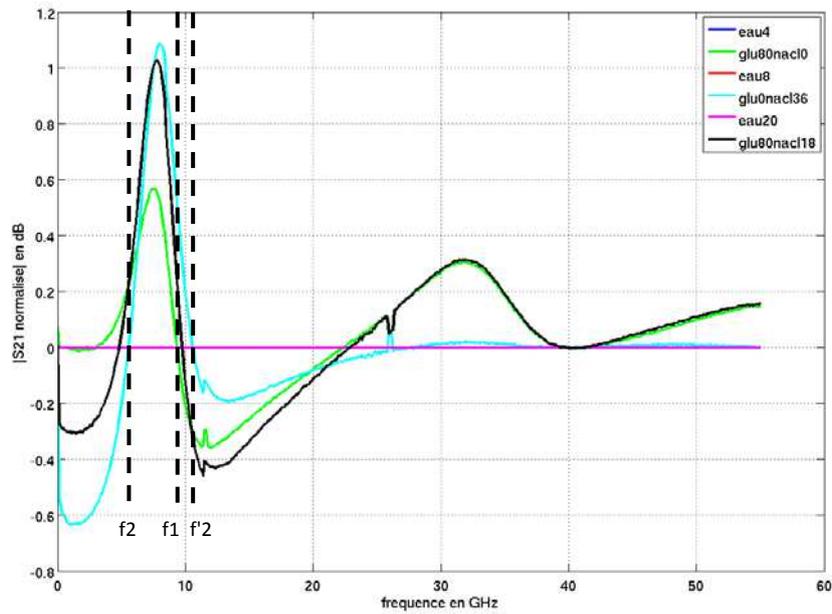


Figure 7 : Illustration des « passages à 0 » des solutions de référence « glu80/nacl0 » et « glu0/nacl36 » pour la détermination des concentrations en glucose et en chlorure de sodium.

La Figure 7 montre qu'à la fréquence $f = f_1$, $|S21norm_{glu80/nacl0}| = 0$, et :

$$|S21norm_{glu80/nacl18}| = 0.5 * |S21norm_{glu0/nacl36}| \quad (21)$$

De même, aux fréquences f_2 et f'_2 , $|S21norm_{glu0/nacl36}| = 0$, et :

$$|S21norm_{glu80/nacl18}| = |S21norm_{glu80/nacl0}| \quad (22)$$

Ces égalités ((21) et (22)) illustrent ainsi la possibilité de déterminer les concentrations en glucose et en chlorure de sodium en utilisant ces fréquences particulières pour lesquelles les spectres normalisés $|S21norm|$ des solutions de référence s'annulent.

On procède ainsi pour les solutions binaires eau/glucose/chlorure de sodium. Les Tableau 4 et Tableau 5 fournissent les valeurs de $|S21norm_{gluA/naclB}|$ aux fréquences f_1 , f_2 et f'_2 .

Tableau 4 : Concentration en chlorure de sodium déterminée à la fréquence $f_1=9.3$ GHz pour laquelle $|S_{21norm_{glu80/nacl0}}|=0$.

Concentrations réelles (g/L)		S21norm (dB) à f_1 # 9.3 GHz	[nacl] retrouvée (g/L)	Erreur (g/L)
[glucose]	[nacl]			
80	0	0	référence	
0	36	0.5552	référence	
6.67	6	0.1178	7.6	1.6
13.33	12	0.2163	14.0	2.0
13.33	24	0.3733	24.2	0.2
26.67	3	0.0490	3.2	0.2
20	13.5	0.2479	16.1	2.6
20	6	0.1208	7.8	1.8
30	18	0.3041	19.7	1.7
15	27	0.3973	25.8	1.2

Tableau 5 : Concentrations en glucose déterminée aux fréquences $f_2=5.59$ GHz et $f_2=10.51$ GHz pour lesquelles $|S_{21norm_{glu0/nacl36}}|=0$. La dernière colonne donne la valeur moyenne des concentrations en glucose déterminées aux fréquences f_2 et f_2 .

Concentrations réelles (g/L)		S21norm (dB) à f_2 # 5.59 GHz	S21norm (dB) à f_2 # 10.51 GHz	[glucose] mesurée (g/L) @ f_2	[glucose] mesurée (g/L) @ f_2	[glucose] moyenne mesurée (g/L)	Erreur (g/L)
[glucose]	[nacl]						
80	0	0.2259	-0.2985	référence	référence	référence	
0	36	0	0	référence	référence	référence	
6.67	6	0.0225	-0.0159	8.0	4.3	6.1	0.6
13.33	12	0.0296	-0.0390	10.5	10.4	10.5	2.9
13.33	24	0.0406	-0.0476	14.4	12.8	13.6	0.2
26.67	3	0.0937	-0.1105	33.2	29.6	31.4	4.7
20	13.5	0.0760	-0.0593	26.9	15.9	21.4	1.4
20	6	0.0554	-0.0605	19.6	16.2	17.9	2.1
30	18	0.1131	-0.0917	40.1	24.6	32.3	2.3
15	27	0.06758	-0.07014	23.9	18.8	21.4	6.4

La fiabilité d'une telle technique de mesure peut à nouveau être appréciée à l'aide des Figure 8.a et b qui présentent les écarts entre concentrations réelles (en glucose et chlorure de sodium) et les concentrations mesurées par cette technique dite des « passages à zero ».

L'axe des abscisses donne la concentration réelle en soluté ; l'axe des ordonnées donne la valeur mesurée.

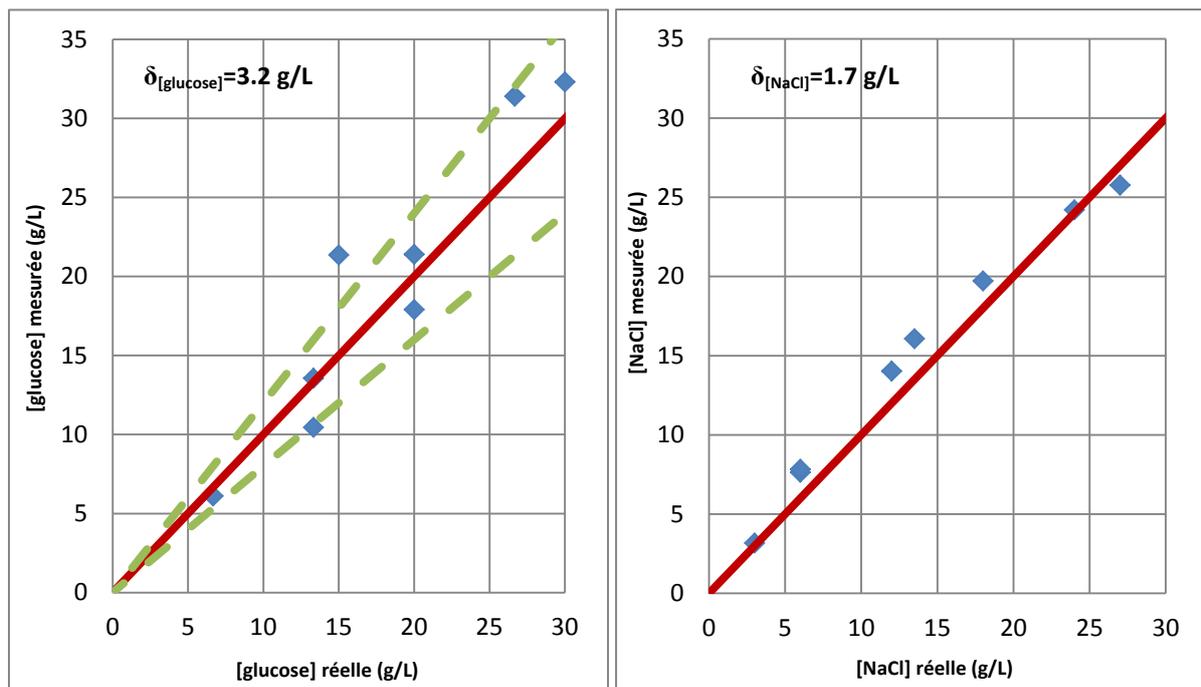


Figure 8 : Concentrations en chlorure de sodium et glucose déterminée par une unique mesure et basée sur la technique dite des « passages à zéro » (à f_1 pour le chlorure de sodium et moyennées à f_2 et f'_2 pour le glucose). Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

L'erreur quadratique sur la mesure des concentrations en glucose et chlorure de sodium est estimée à nouveau à partir de l'équation (15). Ainsi, l'erreur moyenne sur la concentration en glucose s'élève à environ 3.2 g/L. Pour des solutions dont la concentration en glucose s'échelonne de 6.7 à 30 g/L, cette erreur reste relativement élevée. Dans le cas du chlorure de sodium, l'erreur moyenne sur la concentration s'avère relativement faible puisqu'elle ne dépasse pas 1.7 g/L pour des mélanges dont la concentration en chlorure de sodium varie de 3 à 27 g/L.

Même si l'erreur quadratique sur la détermination des concentrations en soluté demeure encore trop élevée pour appliquer une telle technique de mesure à des solutions aux concentrations physiologiques (environ 1 g/L pour le glucose ; environ 9 g/L pour le chlorure de sodium), les résultats présentés dans ce paragraphe montrent la possibilité de déterminer simultanément – c'est-à-dire par une unique mesure – les concentrations de plusieurs solutés présents dans les échantillons sous test par des mesures à des fréquences discrètes (5.59 GHz ; 9.3 GHz ; 10.51 GHz). L'erreur sur la concentration en glucose est plus élevée que dans le cas des techniques d'optimisation sur des spectres complets. Les concentrations déterminées ici à des fréquences discrètes restent néanmoins quasiment toutes confinées dans la zone A de l'abaque de Clarke. L'erreur sur la concentration en chlorure de sodium est, quant à elle, du même ordre de grandeur que dans le cas des techniques d'optimisation sur des spectres complets.

Tout comme dans le cas des techniques d'optimisation sur les spectres complets $|S_{21\text{norm}}|$ et $\arg(S_{21\text{norm}})$, l'amélioration de la précision de mesure peut se faire dès la phase expérimentale en répétant plusieurs fois (c'est-à-dire sur plusieurs échantillons) la mesure d'une même solution eau/glucose/chlorure de sodium.

Un autre avantage qu'offrent les techniques de dosage par résonateurs hyperfréquences est la possibilité de coupler à un même guide d'onde (coplanaire, microruban) plusieurs résonateurs ; chacun étant muni d'une structure microfluidique. Ainsi, plusieurs échantillons de solutions peuvent être mesurés simultanément. Cette technique de mesure multi-échantillons est décrite dans le cadre du paragraphe suivant.

III. Techniques de mesures multi-échantillons

La convergence des techniques de mesures hyperfréquences et des techniques microfluidiques rendent les biocapteurs compatibles avec les technologies « lab-on-chip ». Dans cette optique, une des applications possibles de ces biocapteurs hyperfréquences est le criblage biologique à haut débit. En effet, plusieurs résonateurs peuvent être couplés à une même ligne [3], chaque résonateur étant chargé par un échantillon fluide/biologique distinct [4, 5]. Plusieurs échantillons de liquides peuvent alors être mesurés simultanément. Une méthode d'analyse est alors à mettre en place de façon à mesurer la concentration en soluté de chaque échantillon.

Pour la première fois à notre connaissance, cette technique a été mise au point sur les résonateurs implémentés en technologie « thin film microstrip », chaque résonateur étant muni d'une structure microfluidique. La Figure 9 montre un exemple de structure à deux résonateurs (deux stubs de longueurs $l_\alpha=2.8$ mm - $Fr_\alpha=16.3$ GHz et $l_\chi=1.8$ mm - $Fr_\chi=24.3$ GHz) placés en parallèle d'une ligne microstrip. Chaque stub est terminé par une capacité inter-digitée court-circuitée à la masse. Deux structures microfluidiques viennent charger indépendamment chacun des deux stubs, rendant possible l'analyse simultanée de deux échantillons d'une même solution (analyse redondante) ou de deux solutions différentes (criblage en parallèle).

III.1. Présentation de la structure à deux résonateurs

La Figure 9 montre la structure hyperfréquence à deux stubs terminés par deux capacités en court-circuit.

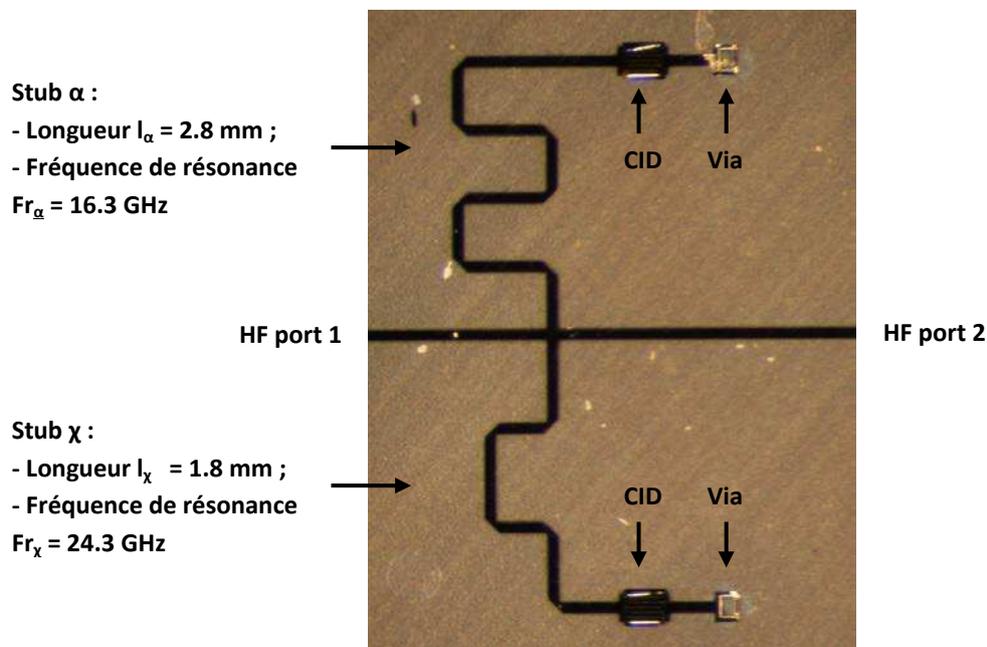


Figure 9 : Structure hyperfréquence à deux stubs terminés par une capacité inter-digitée court-circuitée à la masse.

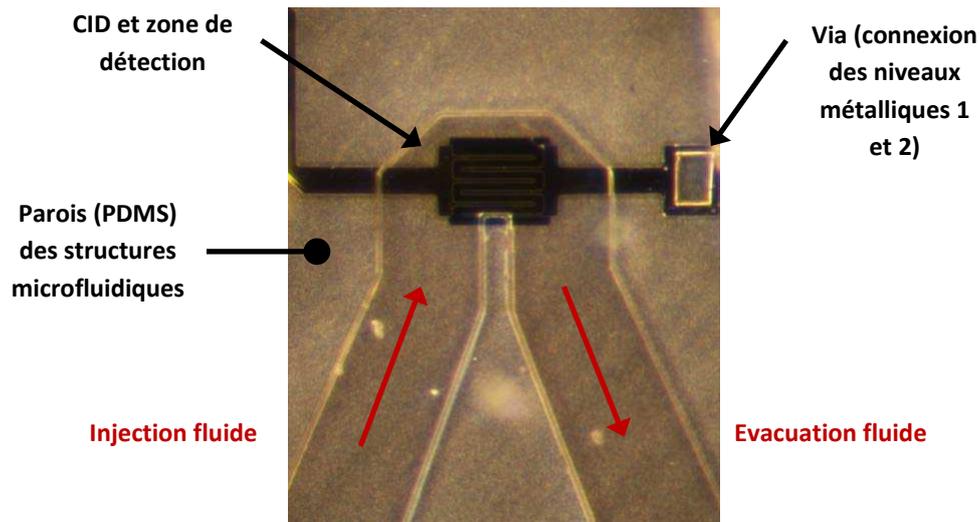


Figure 10 : Vue rapprochée sur une capacité inter-digitée terminant un stub et sur le canal microfluidique venant charger la structure.

La Figure 11 montre la réponse en transmission à vide en mesure et en simulations sous Ansys HFSS de la structure présentée ci-dessus. Les deux résonances apparaissent clairement à 16.3 GHz (stub α) et 24.3 GHz (stub χ).

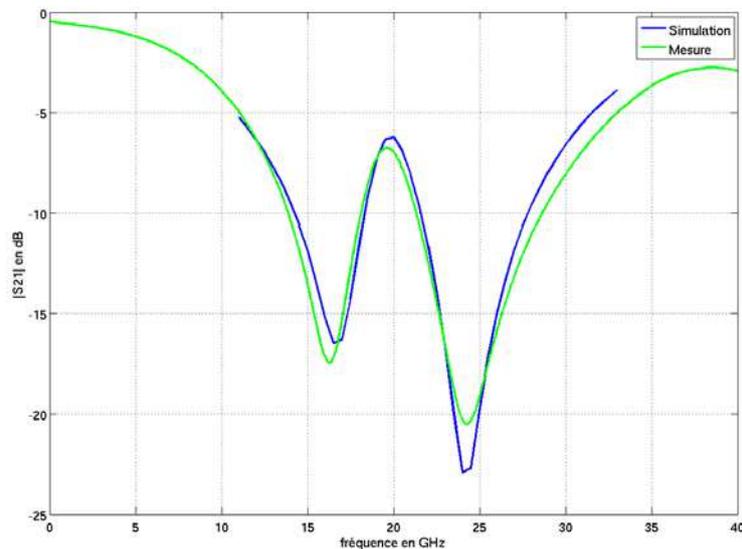


Figure 11 : Réponse en transmission (S_{21}) de la structure à deux résonateurs en mesure (dans le bande 0 – 40 GHz) et en simulation (dans la bande 11 – 33 GHz). La bande de simulation est limitée à 11 – 33 GHz afin d'éviter des temps de calculs trop longs.

Le bon accord entre mesures et simulations valide le bon fonctionnement de la structure hyperfréquence. Le Tableau 6 rassemble les fréquences de résonance, réjection à la résonance,

facteurs de qualité à vide et en charge, en simulation et en mesure, pour les deux résonances, et confirme ainsi numériquement le bon fonctionnement de la structure à deux résonateurs.

Tableau 6 : Fréquences de résonance, réjection à la résonance, facteurs de qualité à vide et en charge, en simulation et en mesure et pour les deux phénomènes de résonance de la structure à deux résonateurs.

	Simulation	Mesure
Stub α - Fr (GHz)	16.5	16.3
S21 (@Fr) (dB)	-16.6	-17.5
Q0	8.0	8.4
QL	1.2	1.1
Stub χ - Fr (GHz)	24.3	24.3
S21 (@Fr) (dB)	-23.5	-20.5
Q0	18.5	10.6
QL	1.2	1.0

III.2. Principe et mise en œuvre de la technique de mesure

III.2.a. Superposition des perturbations

Le principe de mesure multi-échantillons repose sur une constatation similaire à celle déjà faite dans le cas des mesures « multi-solutés ». On utilise toujours l'eau DI comme liquide de référence et on appelle perturbation toute solution aqueuse de glucose mesurée sur une ou deux structures microfluidiques. On observe alors de nouveau une superposition des perturbations sur les spectres normalisés $|S21_{norm}|$ et $\arg(S21_{norm})$.

Notations :

On note gluA/gluX la combinaison de deux solutions aqueuses de glucose de concentration [glucose] = A g/L dans le canal microfluidique α et [glucose] = X g/L dans le canal microfluidique χ . Les paramètres S mesurés lorsque les deux structures microfluidiques sont chargés par la combinaison des deux solutions gluA/gluX sont ainsi notés : $S_{ij_{gluA/gluX}}$; et les paramètres S normalisés : $S_{ij_{norm_{gluA/gluX}}} = S_{ij_{gluA/gluX}}/S_{ij_{eauDI}}$.

La Figure 12 montre les paramètres S21 normalisés mesurés pour les trois combinaisons de fluides suivantes : « eauDI/glu80 » ; « glu80/eauDI » et « glu80/glu80 ». On définit de plus (tout comme dans le cas des mesures de concentrations de plusieurs présentées dans le cadre du chapitre précédent), deux paramètres $|S21_{somme}|$ et $\arg(S21_{somme})$ de la façon suivante :

$$|S21_{somme}| = |S21_{norm_{eauDI/glu80}}| + |S21_{norm_{glu80/eauDI}}| \quad (23)$$

$$\arg(S21_{somme}) = \arg(S21_{norm_{eauDI/glu80}}) + \arg(S21_{norm_{glu80/eauDI}}) \quad (24)$$

On constate alors (illustration sur la Figure 12) que les spectres $|S21_{norm_{glu80/glu80}}|$ et $\arg(S21_{norm_{glu80/glu80}})$ se superposent aux spectres $|S21_{somme}|$ et $\arg(S21_{somme})$ respectivement. On a alors une illustration des égalités suivantes :

$$|S21_{somme}| = |S21_{norm_{glu80/glu80}}| \quad (25)$$

$$\arg(S21_{\text{somme}}) = \arg(S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{glu80}}) \quad (26)$$

Etant donnée la définition des paramètres $|S21_{\text{somme}}|$ et $\arg(S21_{\text{somme}})$, on a alors les égalités suivantes :

$$|S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{glu80}}| = |S21_{\text{norm}}_{\text{eauDI}/\text{glu80}}| + |S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{eauDI}}| \quad (\delta_{q1}=0.0104 \text{ dB}) \quad (27)$$

$$\arg(S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{glu80}}) = \arg(S21_{\text{norm}}_{\text{eauDI}/\text{glu80}}) + \arg(S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{eauDI}}) \quad (\delta_{q2}=0.0016 \text{ rad}) \quad (28)$$

De façon similaire au principe de superposition des perturbations dues à la présence de plusieurs solutés en solution, on estime la qualité des régressions linéaires sur les spectres $|S21_{\text{norm}}|$ et $\arg(S21_{\text{norm}})$ en calculant les erreurs quadratiques moyennes d'optimisation (δ_{q1} pour les spectres $|S21_{\text{norm}}|$ et δ_{q2} pour les spectres $\arg(S21_{\text{norm}})$) de la façon suivante :

$$\delta_{q1} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (|S21_{\text{norm}}_{\text{gluA}/\text{gluX}}(f_i) - |S21_{\text{SOMME}}(f_i)|)^2} \quad (29)$$

$$\delta_{q2} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (\arg(S21_{\text{norm}}_{\text{gluA}/\text{gluX}}(f_i) - \arg(S21_{\text{SOMME}}(f_i)))^2} \quad (30)$$

où N est la longueur des spectres (nombre de points de fréquences) S21norm. La valeur des erreurs quadratiques d'optimisation est donnée directement sur les spectres.

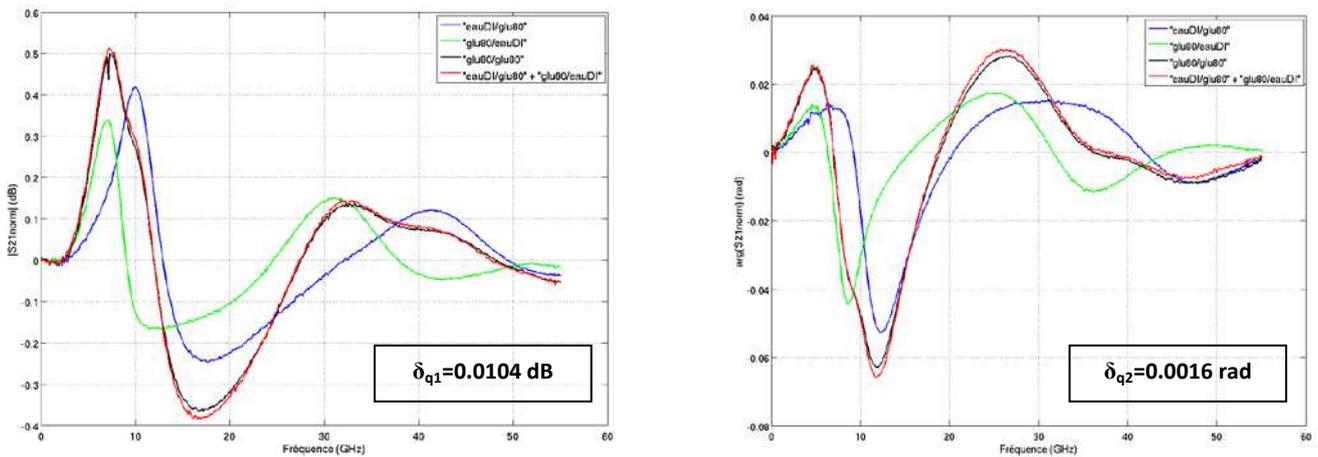


Figure 12 : Spectres normalisés $|S21_{\text{norm}}|$ et $\arg(S21_{\text{norm}})$ pour la combinaison « eauDI/glu80 » (en bleu) ; pour la combinaison « glu80/eauDI » (vert) et pour la combinaison « glu80/glu80 » (en noir) mesurées sur la structure hyperfréquence à deux stubs. En rouge, sont donnés les spectres $|S21_{\text{somme}}|$ et $\arg(S21_{\text{somme}})$. Ces spectres valident les égalités $|S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{glu80}}| = |S21_{\text{norm}}_{\text{eauDI}/\text{glu80}}| + |S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{eauDI}}|$ et $\arg(S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{glu80}}) = \arg(S21_{\text{norm}}_{\text{eauDI}/\text{glu80}}) + \arg(S21_{\text{norm}}_{\text{glu80}/\text{eauDI}})$.

III.2.b. Généralisation

Tout comme dans le cas des mesures dites « multi-solutés », le principe de superposition des perturbations sur les spectres normalisés $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ peut être généralisée de la façon suivante :

$$|S_{21norm_{gluA/gluX}}| = a * |S_{21norm_{gluB/eauDI}}| + x * |S_{21norm_{eauDI/gluY}}| \quad (31)$$

$$\arg(S_{21norm_{gluA/gluX}}) = a * \arg(S_{21norm_{gluB/eauDI}}) + x * \arg(S_{21norm_{eauDI/gluY}}) \quad (32)$$

avec :

$$a = A/B \text{ et } x = X/Y \quad (33)$$

La Figure 13 illustre les égalités (31) et (32) respectivement avec les combinaisons de référence « eauDI/glu80 » et « glu80/eauDI » ; et la combinaison de deux solutions aqueuses de glucose « glu40/glu71 ». Les norme et argument du paramètre $S_{21_{somme}}$ sont définis comme suit :

$$|S_{21_{somme}}| = (40/80) * |S_{21norm_{glu80/eauDI}}| + (71/80) * |S_{21norm_{eauDI/glu80}}| \quad (34)$$

$$\arg(S_{21_{somme}}) = (40/80) * \arg(S_{21norm_{glu80/eauDI}}) + (71/80) * \arg(S_{21norm_{eauDI/glu80}}) \quad (35)$$

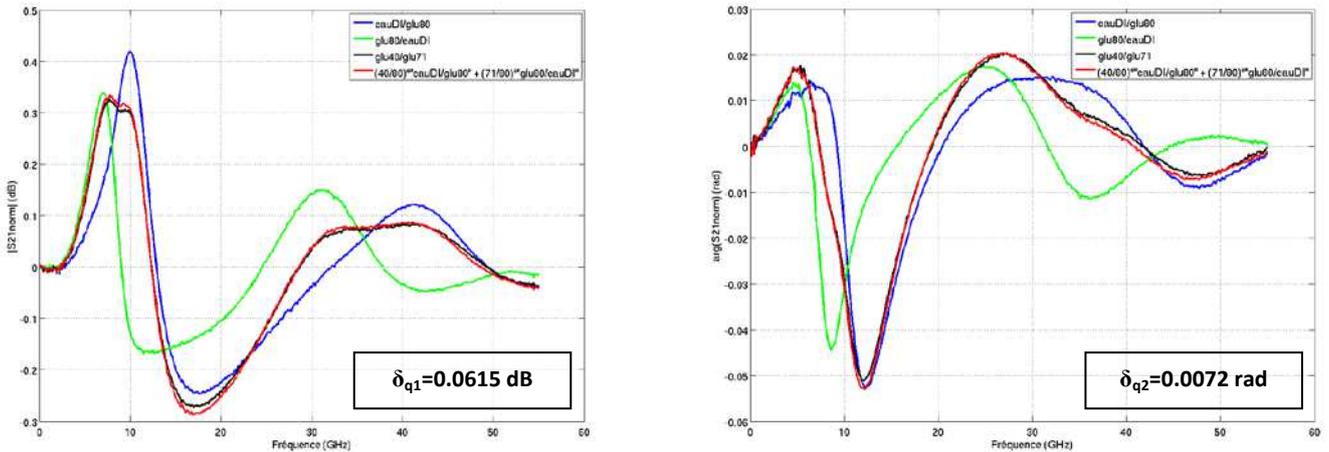


Figure 13 : Spectres normalisés $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ pour la combinaison « eauDI/glu80 » (en bleu) ; pour la combinaison « glu80/eauDI » (vert) et pour la combinaison « glu40/glu71 » (en noir) mesurées sur la structure hyperfréquence à deux stubs. En rouge, sont donnés les spectres $|S_{21_{somme}}|$ et $\arg(S_{21_{somme}})$.

La Figure 13 illustre les égalités suivantes :

$$|S_{21norm_{glu40/glu71}}| = (40/80) * |S_{21norm_{glu80/eauDI}}| + (71/80) * |S_{21norm_{eauDI/glu80}}| \quad (\delta_{q1}=0.0615 \text{ rad}) \quad (36)$$

$$\arg(S_{21norm_{glu40/glu71}}) = (40/80) * \arg(S_{21norm_{glu80/eauDI}}) + (71/80) * \arg(S_{21norm_{eauDI/glu80}}) \quad (\delta_{q2}=0.0072 \text{ rad}) \quad (37)$$

Le paragraphe suivant montre comment ce phénomène peut être exploité pour déterminer simultanément la concentration en glucose sur deux échantillons de solutions par une mesure unique sur une structure à deux résonateurs hyperfréquences et munis chacun d'un canal microfluidique. Une série de solutions aqueuses de glucose ont été mesurées deux par deux sur cette

structure et les concentrations en glucose ont été déterminées en utilisant ce principe de superposition des perturbations.

III.2.c. Protocole de mesures

L'objectif de ce paragraphe III est la détermination des concentrations en glucose de deux échantillons de solution en une seule mesure électrique (la caractérisation des deux couples de deux liquides servant de référence étant faite une fois pour toute au début d'une série de mesures). La détermination des concentrations est faite par régression linéaire sur les $|S_{21norm}|$ et $arg(S_{21norm})$.

Pour ce faire, deux combinaisons de deux solutions, la première « glu80/eauDI » pour laquelle une solution aqueuse de glucose à 80 g/L est placée dans le canal α et un échantillon d'eau DI est placé dans le canal χ ; la deuxième « eauDI/glu80 » pour laquelle un échantillon d'eau DI est placé dans le canal α et une solution aqueuse de glucose à 80 g/L est placée dans le canal χ sont mesurées préalablement. Les paramètres S relatifs à ces deux combinaisons sont alors normalisés par les paramètres S mesurés lorsque les deux canaux sont chargés par de l'eau déionisée (liquide de référence - combinaison « eauDI/eauDI » mesurée directement avant). Des échantillons de solutions de glucose de concentrations diverses sont ensuite mesurés deux par deux en alternance avec des échantillons d'eau DI (« eauDI/eauDI »). Les paramètres S relatifs à un couple de deux solutions de glucose sont normalisés par les paramètres S relatifs aux combinaisons « eauDI/eauDI » mesurés directement avant. Pour chaque combinaison de deux solutions de glucose, une routine optimisée alors les coefficients a , a' , x et x' tels que soient minimisées les grandeurs suivantes :

$$\sum_{i=1}^N [|S_{21norm_{gluA/gluX}}(f_i) - a * |S_{21norm_{glu80/eauDI}}(f_i) - x * |S_{21norm_{eauDI/glu80}}(f_i) |^2 \quad (38)$$

$$\sum_{i=1}^N [arg(S_{21norm_{gluA/gluX}}(f_i) - a' * arg(S_{21norm_{glu80/eauDI}}(f_i) - x' * arg(S_{21norm_{eauDI/glu80}}(f_i))^2 \quad (39)$$

où N désigne le nombre de points (c'est-à-dire de fréquences) dans les spectres $S_{21norm_{gluA/gluX}}$, $S_{21norm_{glu80/eauDI}}$ et $S_{21norm_{eauDI/glu80}}$.

Les concentrations A et X en glucose dans les canaux α et χ respectivement sont alors données par :

- $A = 80 * a$ (glucose dans le canal α)
- $X = 80 * x$ (glucose dans le canal χ).

La Figure 14 synthétise le protocole utilisé pour mesurer une série de combinaisons de 2 échantillons de solutions aqueuses de glucose de différentes concentrations. La liste des combinaisons est donnée par le Tableau 7.

III.3. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de régression large bande

Une série de combinaisons de 2 échantillons de solutions de glucose sont caractérisées sur le biocapteur présenté sur la Figure 9. Le Tableau 7 dresse la liste de ces combinaisons.

Tableau 7 : Concentrations en g/L des solutions de glucose mesurées sur la structure présentée par la Figure 9.

Combinaison	[glucose] (g/L) (canal α)	[glucose] (g/L) (canal χ)
1	40	40
2	80	80
3	28	15.5
4	31	44
5	64	31
6	40	71
7	71	64

Les mesures sont faites selon le protocole décrit par la Figure 14. Les concentrations en glucose sont déterminées dans un premier temps par régression sur les spectres normalisés $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$.

La Figure 15 montre un exemple de régression réalisé sur un spectre normalisé $|S_{21norm}|$. Il s'agit du spectre $|S_{21norm}|$ de la combinaison n°5 pour laquelle les deux solutions de glucose sont concentrées à 64 et 31 g/L. La méthode de détermination des concentrations par décomposition linéaire sur les spectres normalisés $|S_{21norm}|$ des deux combinaisons de « base » permet d'estimer les concentrations en glucose des deux mélanges respectivement à 62.0 et 29.0 g/L (régression sur $|S_{21norm}|$) et 62.2 et 28.9 g/L (régression sur $\arg(S_{21norm})$).

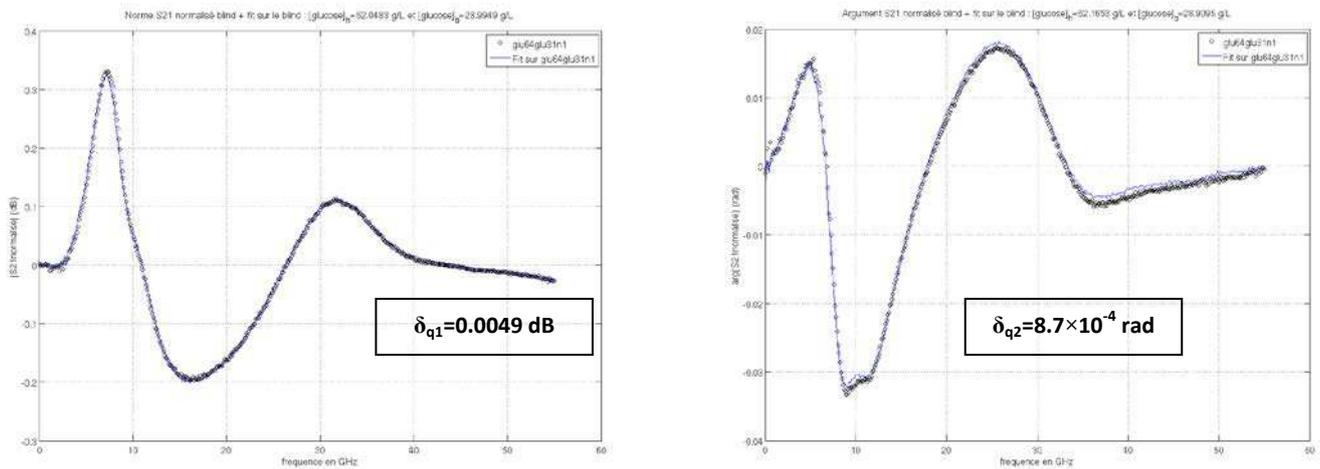


Figure 15 : Optimisations réalisées sur les spectres normalisés $|S_{21norm}|$ et $\arg(S_{21norm})$ correspondant à la combinaison 64 g.L⁻¹/31 g.L⁻¹. Les concentrations en glucose des deux solutions déterminées par optimisation sur le spectre $|S_{21norm}|$ s'élèvent respectivement à 62.0 g.L⁻¹ et 29.0 g.L⁻¹. Les concentrations en glucose des deux solutions déterminées par optimisation sur le spectre $\arg(S_{21norm})$ s'élèvent respectivement à 62.2 g.L⁻¹ et 28.9 g.L⁻¹.

Ce procédé a été répété pour toutes les combinaisons de deux solutions aqueuses de glucose. Le Tableau 8 répertorie les concentrations en glucose retrouvées par décomposition linéaire des spectres $|S_{21norm}|$ sur les spectres des deux combinaisons de base.

Tableau 8 : Concentrations réelles en glucose et concentrations retrouvées par régression sur les spectres |S21norm|, accompagnées des erreurs absolues, pour les deux canaux microfluidiques équipant le biocapteur présenté en Figure 9.

Concentrations (g/L) réelles des mélanges mesurés		Concentrations (g/L) retrouvées par régression sur les spectres S21norm (bases : "eauDI/glu80" et "glu80/eauDI")			
[glucose] (canal α)	[glucose] (canal χ)	[glucose] (canal α)	Erreur (g/L)	[glucose] (canal χ)	Erreur (g/L)
40	40	36.8	3.2	36.8	3.2
80	80	76.3	3.7	76.8	3.2
28	15.5	30.4	2.4	20.4	4.9
31	44	33.8	2.8	46	2
64	31	62	2	29	2
40	71	37.3	2.7	69	2
71	64	76	5	60.2	3.8

Le Tableau 9 liste les concentrations retrouvées par décomposition linéaire des spectres $\arg(S21norm)$ sur les spectres des deux combinaisons de base.

Tableau 9 : Concentrations réelles en glucose et concentrations retrouvées par régression sur les spectres $\arg(S21norm)$, accompagnées des erreurs absolues, pour les deux canaux microfluidiques équipant le biocapteur présenté en Figure 9.

Concentrations (g/L) réelles des mélanges mesurés		Concentrations (g/L) retrouvées par régression sur les spectres $\arg(S21norm)$ (bases : "eauDI/glu80" et "glu80/eauDI")			
[glucose] (canal α)	[glucose] (canal χ)	[glucose] (canal α)	Erreur (g/L)	[glucose] (canal χ)	Erreur (g/L)
40	40	36.9	3.1	37	3
80	80	76.7	3.3	77.3	2.7
28	15.5	29.8	1.8	20.7	5.2
31	44	33.8	2.8	46.3	2.3
64	31	62.2	1.8	28.9	2.1
40	71	37.2	2.8	69.5	1.5
71	64	76.5	5.5	60.3	3.7

Les Figures 16.a et b rassemblent les données présentes dans le Tableau 8. Ces figures sont construites de façon similaires aux Figures 5 : en abscisse se lit la concentration réelle en glucose des solutions injectées dans les deux canaux microfluidiques ; en ordonnée, est donnée la concentration en glucose déterminée par optimisation sur les spectres |S21norm|. La courbe en rouge est la droite identité. L'alignement des diamants bleus sur la droite rouge permet d'estimer la précision de la détermination des concentrations en glucose dans les deux structures microfluidiques.

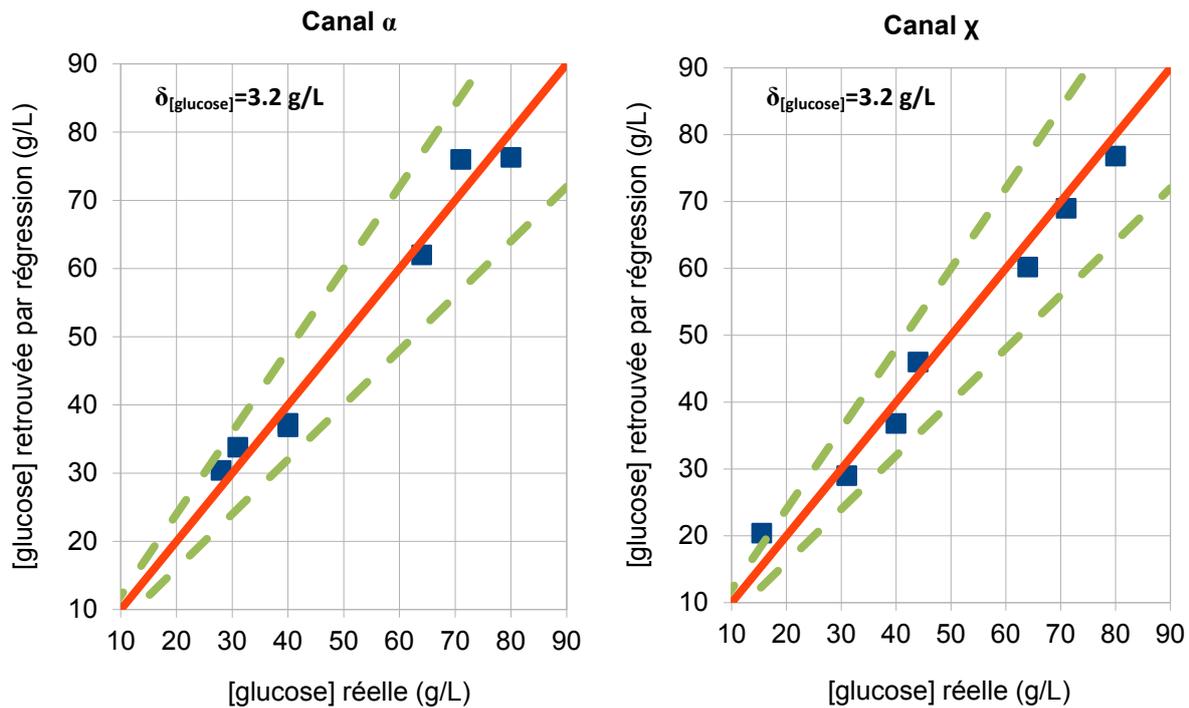


Figure 16 : Fiabilité de la mesure de la concentration en glucose par additivité des spectres [S21norm]. La concentration réelle en glucose est donnée en abscisse ; la concentration mesurée est donnée en ordonnée. La courbe rouge représente la droite identité. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

Les Figures 17.a et b rassemblent les données présentées dans le Tableau 9. Ces figures sont construites de façon similaire aux Figure 6.a et b et montrent la précision de la technique de détermination des concentrations en glucose par régression sur les spectres normalisés $\arg(S21norm)$.

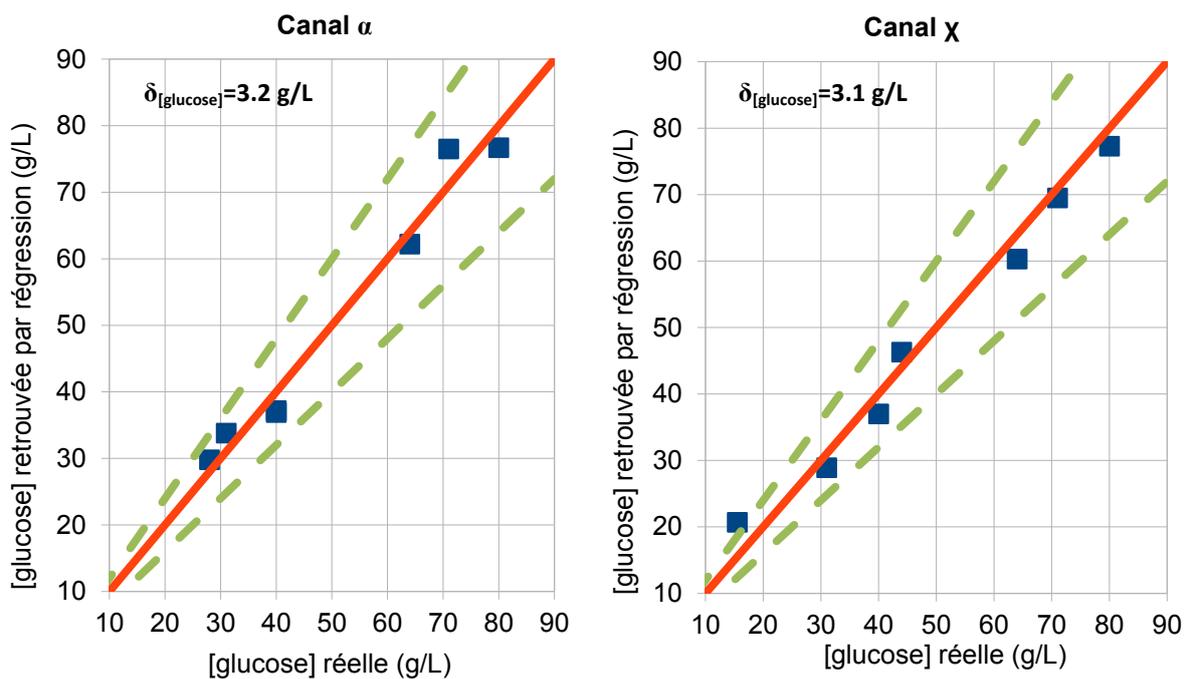


Figure 17 : Fiabilité de la mesure de la concentration en glucose par additivité des spectres $\arg(S21_{norm})$. La concentration réelle en glucose est donnée en abscisse ; la concentration mesurée est donnée en ordonnée. La courbe rouge représente la droite identité. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

L'erreur quadratique $\delta_{[glu]}$ sur la détermination de la concentration en glucose est estimée en calculant l'erreur quadratique moyenne entre concentration réelle et concentration déterminée par optimisation :

$$\delta_{[glu]} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N ([glucose]_{reelle} - [glucose]_{determinee})^2} \quad (40)$$

où N est le nombre d'échantillons mesurés dans une structure microfluidique donnée.

Ainsi, l'erreur quadratique sur la détermination de la concentration en glucose par régression sur les spectres normalisés $|S21_{norm}|$ est respectivement de 3.2 g/L pour le canal α , et de 3.2 g/L pour le canal χ .

En utilisant les spectres $\arg(S21_{norm})$, l'erreur moyenne sur la concentration en glucose est respectivement de 3.2 g/L pour le canal α , et de 3.1 g/L pour le canal χ .

Cette étude démontre la possibilité de mesurer la concentration en glucose sur deux échantillons de solution simultanément en couplant à un même guide d'onde deux structures résonantes munies chacune d'un canal microfluidique. Pour les concentrations en glucose utilisées lors de cette campagne de mesures (plusieurs dizaines de grammes par litre), l'erreur relative sur la détermination de la concentration en glucose est en général inférieure à 10 %.

Il reste néanmoins à améliorer cette incertitude de mesure afin de pouvoir utiliser cette technique de mesure sur des échantillons de solutions de glucose aux concentrations physiologiques (aux alentours de 1 g/L). Un des leviers d'amélioration envisageables est de procéder à des « mesures statistiques » en répétant plusieurs fois (5 à 10 fois) la mesure d'une même combinaison de deux échantillons. Cette technique a montré son efficacité pour parvenir à mesurer de très faibles concentrations en glucose (mesures présentées dans le cadre du chapitre III).

III.4. Détermination des concentrations en glucose sur deux échantillons fluidiques : techniques de lecture directe sur fréquences discrètes

III.4.a. Mise en évidence graphique du principe de superposition des perturbations

A l'issue d'une campagne de mesures sur le biocapteur à deux résonateurs, les spectres normalisés $|S21_{norm}| = |S21_{gluA/gluX} / S21_{eauDI}|$ et $\arg(S21_{norm}) = \arg(S21_{gluA/gluX} / S21_{eauDI})$ peuvent être créés. Les indicateurs de sortie utilisés, dans le cadre du chapitre III, sur les spectres normalisés sont :

- $|S21_{norm}|(@Fr_{ref})$
- $\text{Arg}(S21_{norm})(@Fr_{ref})$

Le paramètre Fr_{ref} correspond à la « fréquence de résonance » de la structure lorsque les deux microcanaux sont chargés par de l'eau déionisée. Il est à noter que ce paramètre est unique. En effet, lorsque les deux structures microfluidiques sont chargées par de l'eau déionisée, les fréquences de résonance propres aux deux stubs à vide dérivent toutes deux vers les basses fréquences microondes et sont indissociables, comme le montre la Figure 18. Le spectre $|S21_{eauDI/eauDI}|$ ne montre ainsi qu'une seule fréquence de résonance apparente, rendant les paramètres $|S21norm|(@Fr_{ref})$ et $arg(S21norm)(@Fr_{ref})$ définis de façon unique.

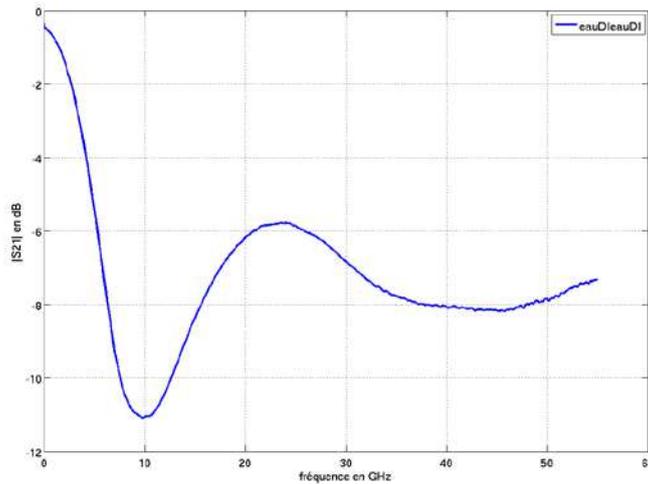


Figure 18 : Spectre $|S21_{eauDI/eauDI}|$ mesuré sur la structure à double résonateur avec les deux canaux microfluidiques chargés par de l'eau déionisée.

Or, le chapitre III paragraphe I.4 montre que les spectres normalisés $|S21norm|$ et $arg(S21norm)$ s'additionnent de façon proportionnelle aux concentrations en glucose des solutions qui chargent les deux structures microfluidiques. On associe alors à ce premier paramètre, un deuxième paramètre additif : la concentration totale en glucose qui correspond à la somme des concentrations en glucose des deux solutions chargeant les deux structures microfluidiques. Par exemple, lorsqu'on mesure la combinaison « glu80/glu80 », on associe à $|S21norm_{glu80/glu80}|(@Fr_{ref})$, la concentration totale en glucose égale à : $[glucose]_{totale} = 80 + 80 = 160$ g/L.

En procédant ainsi, on construit la Figure 19 avec en abscisse la concentration totale en glucose et en ordonnée le paramètre $|S21norm_{gluA/gluX}|(@Fr_{ref})$.

Cette figure illustre par une méthode graphique le principe de superposition des perturbations des spectres $|S21norm|$ à une fréquence précise : la fréquence de résonance du liquide de référence. En choisissant par exemple l'origine du plan au point ($[glucose]_{totale} = 0$; $|S21norm|(@Fr_{ref}) = 0$), on peut associer à chaque combinaison mesurée « gluA/gluX » ($[glucose]_{\alpha} = A$; $[glucose]_{\chi} = X$) un vecteur $\overrightarrow{gluA/gluX}$ et montrer que l'égalité vectorielle :

$$\overrightarrow{gluA/gluX} = \overrightarrow{gluA/eauDI} + \overrightarrow{eauDI/gluX} \quad (41)$$

est vérifiée. Cette égalité vectorielle est mise en évidence sur la Figure 19 dans le cas simple des combinaisons « eauDI/glu80 », « glu80/eauDI » et « glu80/glu80 ».

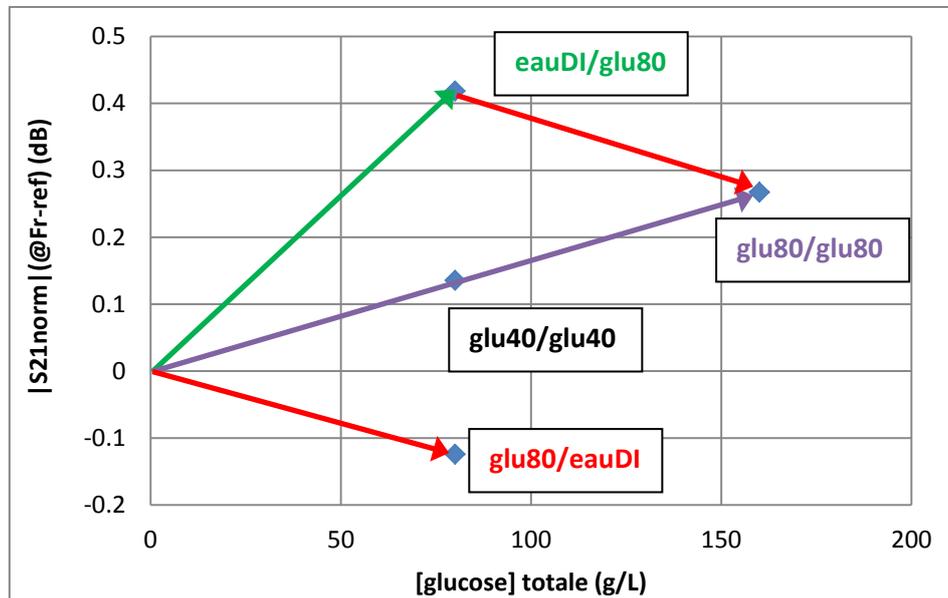


Figure 19 : Plan $([glucose]_{totale} ; |S21norm|(@Fr_{ref}))$ illustrant graphiquement le principe de superposition des perturbations sur les spectres normalisés $|S21norm|$ à une fréquence particulière : la fréquence de résonance de la référence.

La Figure 19 illustre le principe de superposition des perturbations. Cependant, cette figure ne peut être construite avec des solutions aqueuses dont la concentration en glucose est réellement inconnue, puisqu'elle nécessite la connaissance du paramètre « concentration totale en glucose ».

La construction d'un tel plan peut néanmoins être réalisée avec un autre couple de paramètres « additifs » : $|S21norm|(@Fr_{ref})$ et $\arg(S21norm)(@Fr_{ref})$. Ces deux paramètres sont mesurés directement sur les spectres normalisés $|S21norm|$ et $\arg(S21norm)$ et rendent ainsi possible la construction d'un plan $(\arg(S21norm)(@Fr_{ref}) ; |S21norm|(@Fr_{ref}))$ même en l'absence totale d'information sur les différentes concentrations en glucose mesurées. Le paragraphe suivant montre que la construction d'un tel plan conduit à une constellation régulière de points permettant ensuite la détermination des concentrations en glucose par une méthode algébrique.

III.4.b. Détermination des concentrations en glucose par une méthode algébrique

A partir des mesures réalisées sur le biocapteur à double stub, un plan $(\arg(S21norm)(@Fr_{ref}) ; |S21norm|(@Fr_{ref}))$ a été construit en associant à chaque combinaison de deux solutions aqueuses de glucose mesurées, un point d'abscisse égale à $\arg(S21norm)(@Fr_{ref})$ et d'ordonnée égale à $|S21norm|(@Fr_{ref})$. La Figure 20 montre ce plan.

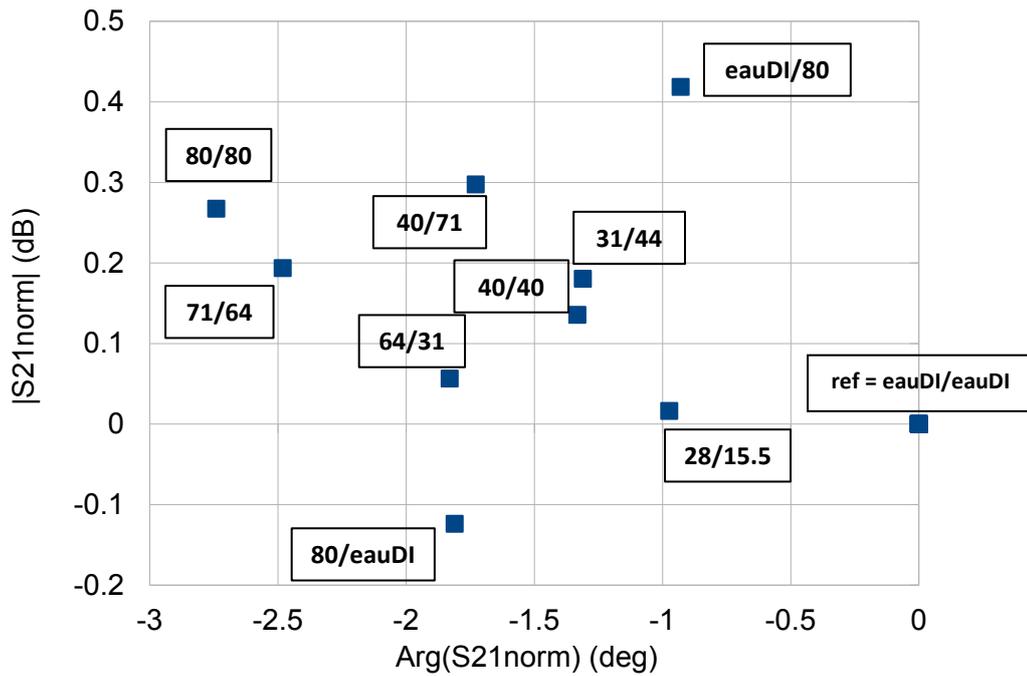


Figure 20 : Plan $(\arg(S_{21norm})(@Fr_{ref}) ; |S_{21norm}|(@Fr_{ref}))$ illustrant l'organisation régulière des points associés à la mesure de chaque combinaison de deux solutions aqueuses de glucose.

En utilisant les combinaisons eauDI/glu80 et glu80/eauDI comme vecteurs de base, on peut déterminer géométriquement la concentration en glucose dans les deux canaux microfluidiques par projection sur ces vecteurs de base ; ainsi que l'illustre la Figure 21 sur trois exemples particuliers.

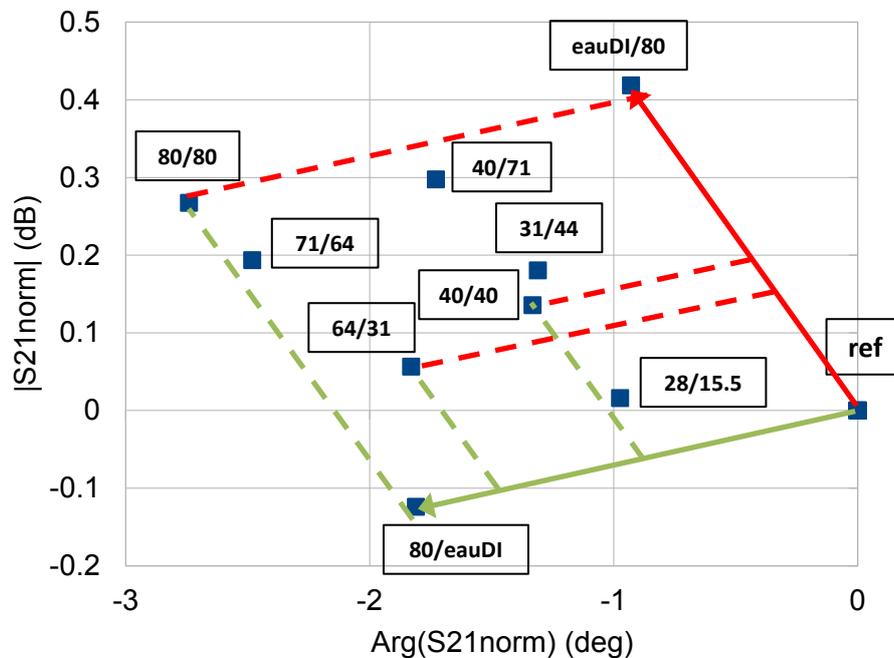


Figure 21 : Plan $(\arg(S_{21norm})(@Fr_{ref}) ; |S_{21norm}|(@Fr_{ref}))$ illustrant la détermination des concentrations en glucose par projection sur les vecteurs associés aux combinaisons de base « eauDI/glu80 » et « glu80/eauDI ».

Ce travail réalisé « à la règle et au compas », peut être rendu « automatique » par une méthode algébrique d'orthonormalisation.

La Figure 21 montre qu'à chaque combinaison de deux solutions aqueuses de glucose « gluA/gluX » est associé un point de coordonnées $(\arg(S21_{norm_{gluA/gluX}})(@Fr_{ref}); |S21_{norm_{gluA/gluX}}|(@Fr_{ref}))$ dans un plan muni de la base $(e_1; e_2)$, avec :

$$e_1 = \begin{pmatrix} \arg(S21_{norm})(@Fr_{ref}) \\ 0 \end{pmatrix} \quad (42)$$

$$e_2 = \begin{pmatrix} 0 \\ |S21_{norm}|(@Fr_{ref}) \end{pmatrix} \quad (43)$$

L'objectif est de placer ces points dans un repère muni de la base $(u; v)$ avec :

$$u = \begin{pmatrix} \arg(S21_{norm_{eauDI/glu1}})(@Fr_{ref}) \\ |S21_{norm_{eauDI/glu1}}|(@Fr_{ref}) \end{pmatrix} \quad (44)$$

$$v = \begin{pmatrix} \arg(S21_{norm_{glu1/eauDI}})(@Fr_{ref}) \\ |S21_{norm_{glu1/eauDI}}|(@Fr_{ref}) \end{pmatrix} \quad (45)$$

Si on appelle $Y_{gluA/gluX}$ le point correspondant à la mesure de la combinaison « gluA/gluX » dans un repère muni de la base $(u; v)$, alors $Y_{gluA/gluX}$ peut s'exprimer comme combinaison linéaire de u et v :

$$Y_{gluA/gluX} = x * u + a * v \quad (46)$$

où x et a sont égaux aux concentrations en glucose dans les canaux microfluidiques χ et α respectivement.

Les vecteurs u et v sont obtenus à partir des mesures des combinaisons « eauDI/glu80 » et « glu80/eauDI » :

$$u = \frac{1}{80} * \begin{pmatrix} \arg(S21_{norm_{eauDI/glu80}})(@Fr_{ref}) \\ |S21_{norm_{eauDI/glu80}}|(@Fr_{ref}) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} u_x \\ u_y \end{pmatrix} \quad (47)$$

$$v = \frac{1}{80} * \begin{pmatrix} \arg(S21_{norm_{glu80/eauDI}})(@Fr_{ref}) \\ |S21_{norm_{glu80/eauDI}}|(@Fr_{ref}) \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} v_x \\ v_y \end{pmatrix} \quad (48)$$

La matrice $P = (u \ v)$ est la matrice de passage de la base $(e_1; e_2)$ à la base $(u; v)$. Si on appelle $X_{gluA/gluX}$, le point correspondant à la mesure de la combinaison « gluA/gluX » dans un repère muni de la base $(e_1; e_2)$, alors :

$$Y_{gluA/gluB} = P^{-1} * X_{gluA/gluB} \tag{49}$$

où P^{-1} désigne la matrice inverse de P :

$$P^{-1} = \frac{1}{\det(P)} * \begin{pmatrix} v_y & -v_x \\ -u_y & u_x \end{pmatrix} \tag{50}$$

où $\det(P)$ désigne le déterminant de la matrice P.

En utilisant l'équation (49), la concentration en glucose des 7 couples de solutions aqueuses mesurées sur la structure à double résonateur ont pu être déterminée. Le Tableau 10 répertorie les 7 combinaisons mesurées avec les concentrations réelles en glucose, leurs coordonnées dans le plan (O ; e_1 ; e_2) ; les concentrations retrouvées par cette méthode algébrique (c'est-à-dire leurs coordonnées dans le plan (O ; u ; v)), ainsi que les erreurs absolues entre concentrations réelles et concentrations retrouvées par « changement de base ».

Tableau 10 : Liste des combinaisons de solutions de glucose mesurées sur la structure à deux résonateurs avec les paramètres $\arg(S21norm)(@Fr_{ref})$ et $|S21norm|(@Fr_{ref})$, les concentrations retrouvées par la méthode algébrique et les erreurs absolues pour chaque solution de glucose.

Concentrations réelles (g/L)		Coordonnées dans le plan (O ; e_1 ; e_2)		Concentrations retrouvées (g/L)		Erreurs absolues (g/L)	
Canal α	Canal χ	$\arg(S21n)(@Fr_{ref})$	$ S21n (@Fr_{ref})$	Canal α	Canal χ	Canal α	Canal χ
0	80	0.41859	-0.92914	0	80	Vecteurs de base	
80	0	-0.12402	-1.8107	80	0		
28	15.5	0.0161	-0.97387	36.0	13.7	8.0	1.8
31	44	0.18037	-1.3107	34.9	44.8	3.9	0.8
40	40	0.13557	-1.3322	39.6	37.6	0.4	2.4
64	31	0.056488	-1.8302	65.4	30.2	1.4	0.8
40	71	0.29746	-1.7287	41.0	69.0	1.0	2.0
71	64	0.1935	-2.4818	78.7	60.3	7.7	3.7
80	80	0.2674	-2.7406	82.3	75.5	2.3	4.5

Ainsi, cette technique de mesure permet de passer :

- du plan (O ; e_1 ; e_2) présenté par la Figure 21 : Plan ($\arg(S21norm)(@Fr_{ref})$; $|S21norm|(@Fr_{ref})$) illustrant la détermination des concentrations en glucose par projection sur les vecteurs associés aux combinaisons de base « eauDI/glu80 » et « glu80/eauDI », issu directement des mesures mais ne permettant pas une lecture directe des concentrations en glucose dans les canaux microfluidiques,
- au plan (O ; u ; v) présenté par la Figure 22 obtenu après changement de base et offrant une détermination directe des concentrations en glucose mesurées (diamants bleus).

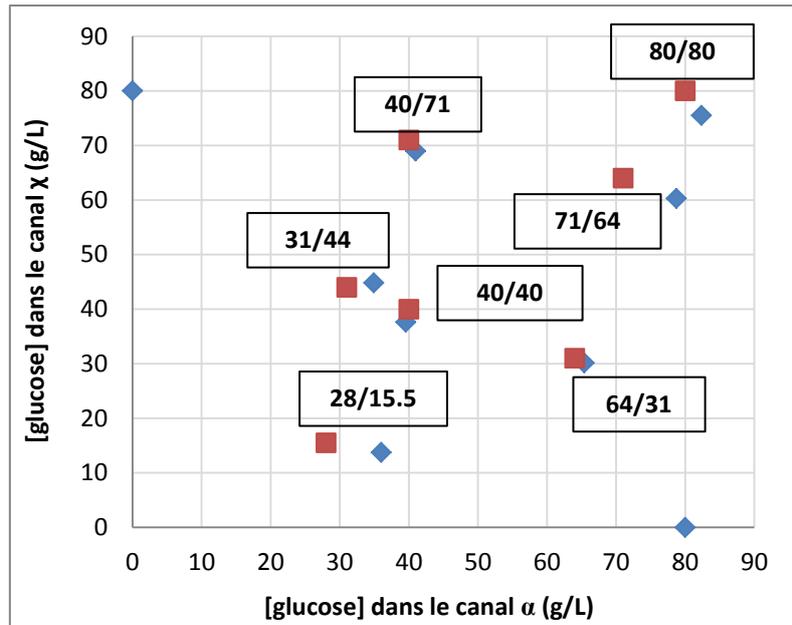


Figure 22 : a. Représentation dans le plan (O ; u ; v) des différentes combinaisons de solutions aqueuses de glucose mesurées. Les carrés rouges marquent les concentrations en glucose réelles ; les diamants bleus marquent les concentrations déterminées par la méthode algébrique.

Dans une construction similaire aux Figure 5, Figure 6, etc..., la Figure 23 montre la précision de la technique de détermination des concentrations en glucose par la méthode algébrique.

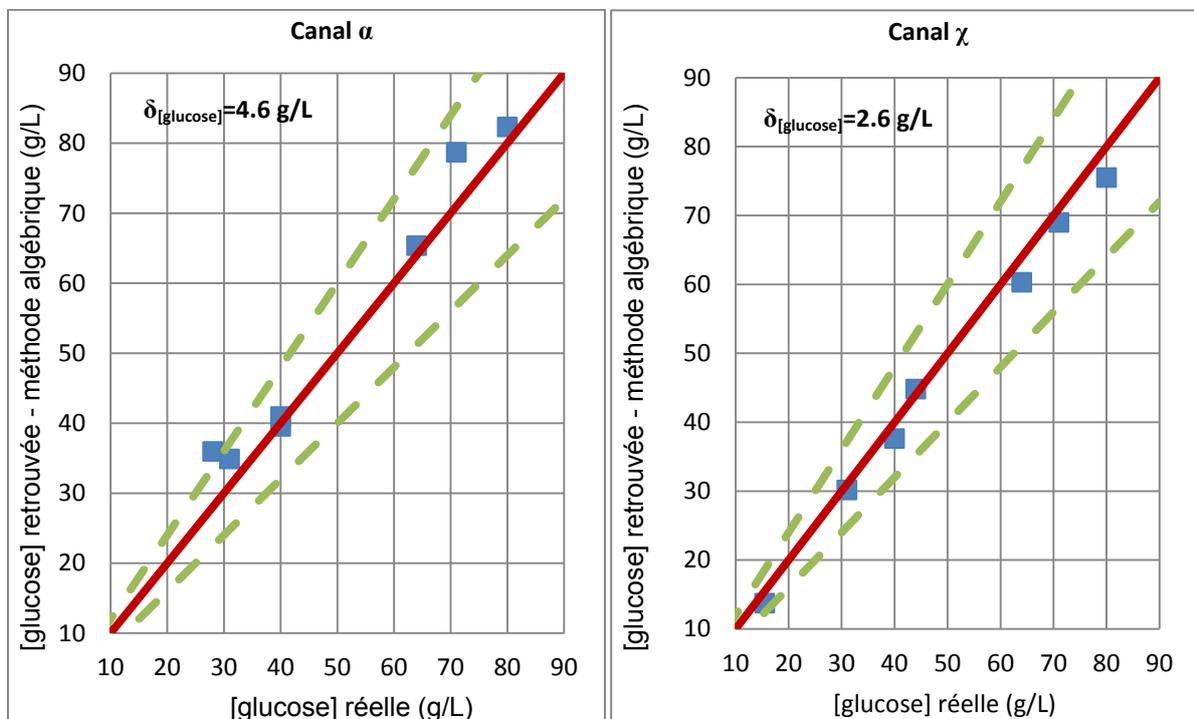


Figure 23 : Fiabilité de la méthode algébrique pour la détermination de la concentration en glucose simultanément sur deux échantillons de solution. La concentration réelle est donnée en abscisse ; la concentration mesurée est donnée en ordonnée. La droite en trait plein rouge représente la droite identité. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

L'estimation de l'erreur quadratique sur la détermination de la concentration en glucose est faite par l'équation (40). Ainsi, cette erreur sur la détermination de la concentration en glucose s'élève à 4.6 g/L pour les échantillons placés dans le canal microfluidique α et à 2.6 g/L pour les échantillons placés dans le microcanal χ .

Ces valeurs montrent que cette technique de détermination des concentrations en glucose, faite à une fréquence unique (f_{ref}), atteint un niveau de précision équivalent aux techniques de détermination des concentrations en glucose réalisées à partir des spectres normalisés complets $|S21norm|(freq)$ et $arg(S21norm)(freq)$.

III.4.c. Détermination des concentrations en glucose : méthode graphique

L'additivité des spectres normalisés $|S21norm|(freq)$ est exprimée par l'équation (51), rappelée ci-dessous :

$$|S21norm_{gluA/gluX}| = \frac{A}{B} * |S21norm_{gluB/eauDI}| + \frac{X}{Y} * |S21norm_{eauDI/gluY}| \quad (51)$$

Or, la Figure 24 montre qu'il existe des fréquences particulières pour lesquelles les spectres $|S21norm_{gluB/eauDI}|$ ou $|S21norm_{eauDI/gluY}|$ s'annulent. Si on appelle f_x , une fréquence telle que $|S21norm_{gluB/eauDI}|=0$ et f_a , une fréquence telle que $|S21norm_{eauDI/gluY}|=0$, alors :

- A $f = f_x$:

$$|S21norm_{gluA/gluX}| = \frac{X}{Y} * |S21norm_{eauDI/gluY}| \quad (52)$$

La concentration en glucose dans le canal χ peut alors être déterminée directement connaissant Y.

- A $f = f_a$:

$$|S21norm_{gluA/gluX}| = \frac{A}{B} * |S21norm_{gluB/eauDI}| \quad (53)$$

La concentration en glucose dans le canal α peut alors être déterminée directement connaissant B.

La Figure 24 met en évidence ces fréquences f_a et f_x .

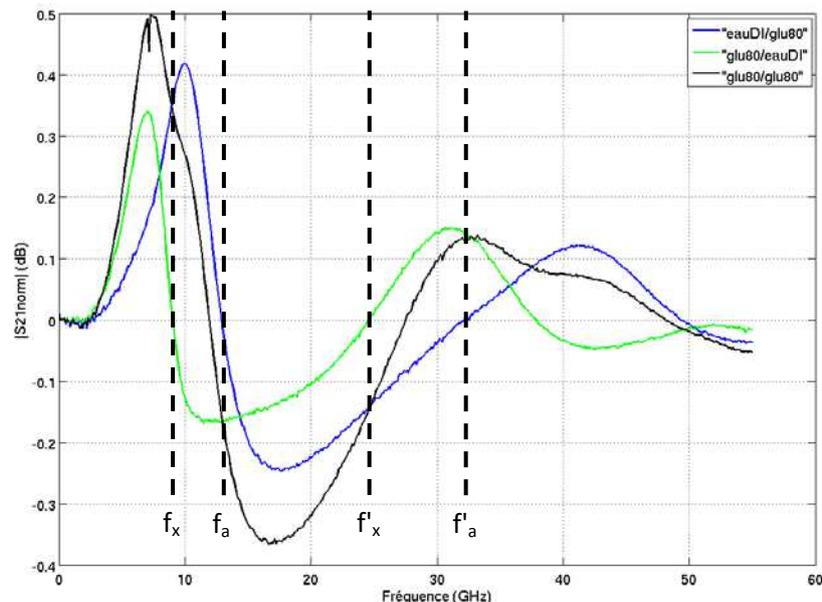


Figure 24 : Illustration des « passages à zéro » des spectres $|S_{21norm}|$ des combinaisons de référence « eauDI/glu80 » et « glu80/eauDI » pour la détermination des concentrations en glucose.

On peut donc utiliser ces fréquences particulières à la place des spectres complets afin de déterminer simplement et directement les concentrations en glucose.

Aux fréquences f_a et f'_a , on a $|S_{21norm_{eauDI/glu80}}| = 0$; le Tableau 11 répertorie ainsi les valeurs de $|S_{21norm_{glu80/eauDI}}|$ et $|S_{21norm_{gluA/gluX}}|$ à ces deux fréquences particulières.

Tableau 11 : Valeurs des paramètres $|S_{21norm}|$ aux fréquences f_1 et f'_1 pour les différentes combinaisons de solutions de glucose.

Combinaison			Passages à 0 de $ S_{21norm_{eau/glu80}} $	
[glucose] canal α	[glucose] canal χ		f_a # 12.894 GHz	f'_a # 32.165 GHz
80	eau	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.1659	0.1420
80	80	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.1577	0.1305
40	40	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.0769	0.0641
28	15.5	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.0728	0.0455
31	44	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.0730	0.0545
64	31	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.1304	0.1095
40	71	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.0753	0.0643
71	64	$ S_{21norm} $ (dB) =	-0.1570	0.1328

Pour une combinaison « gluA/gluX » donnée, la concentration en glucose dans le canal α est donc donnée (en moyennant les résultats sur les deux fréquences f_a et f'_a) par :

$$[glucose]_{\alpha} = 80 \times \frac{1}{2} \times \left(\frac{|S_{21norm_{gluA/gluX}}|(@f_a)}{|S_{21norm_{glu80/eauDI}}|(@f_a)} + \frac{|S_{21norm_{gluA/gluX}}|(@f'_a)}{|S_{21norm_{glu80/eauDI}}|(@f'_a)} \right) \quad (54)$$

Aux fréquences f_x et f'_x , on a $|S_{21norm_{glu80/eauDI}}| = 0$; le Tableau 12 répertorie ainsi les valeurs de $|S_{21norm_{eauDI/glu80}}|$ et $|S_{21norm_{gluA/gluX}}|$ à ces deux fréquences particulières.

Tableau 12 : Valeurs des paramètres $|S_{21norm}|$ aux fréquences f_2 et f'_2 pour les différentes combinaisons de solutions de glucose.

Combinaison			Passages à 0 de $ S_{21norm}_{glu80/eau} $	
[glucose] canal α	[glucose] canal χ		f_x # 9.0 GHz	f'_x # 24.523 GHz
eau	80	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.3524	-0.1462
80	80	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.3434	-0.1500
40	40	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.1702	-0.0682
28	15.5	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.0534	-0.0475
31	44	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.2014	-0.0852
64	31	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.1408	-0.0584
40	71	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.3022	-0.1301
71	64	$ S_{21norm} $ (dB) =	0.2700	-0.1140

Pour une combinaison « gluA/gluX » donnée, la concentration en glucose dans le canal χ est donc donnée (en moyennant les résultats sur les deux fréquences f_x et f'_x) par :

$$[glucose]_{\chi} = 80 \times \frac{1}{2} \times \left(\frac{|S_{21norm}_{gluA/gluX}|(@f_x)}{|S_{21norm}_{eauDI/glu80}|(@f_x)} + \frac{|S_{21norm}_{gluA/gluX}|(@f'_x)}{|S_{21norm}_{eauDI/glu80}|(@f'_x)} \right) \quad (55)$$

Les valeurs des concentrations en glucose sont données directement dans les Figures 25.a et b (pour les microcanaux α et χ respectivement). Ces figures utilisent la même convention : en abscisse, se lit la concentration réelle en glucose ; en ordonnée, se lit la concentration mesurée en glucose.

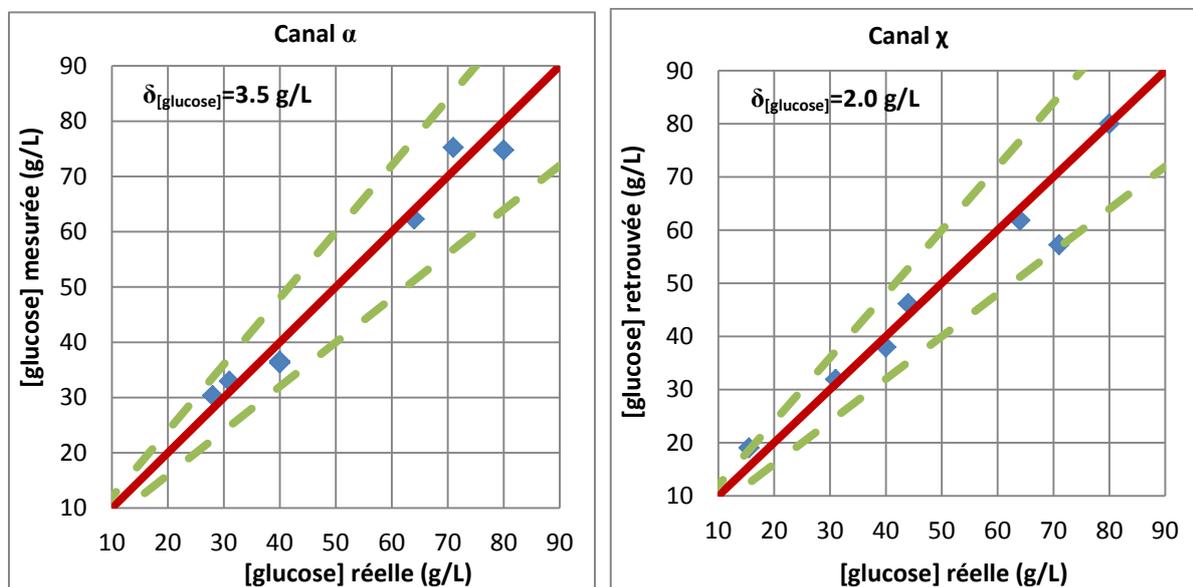


Figure 25 : Fiabilité de la technique des « passages à zero » pour la mesure de la concentration en glucose dans les microcanaux du biocapteur à double résonateur. L'axe des abscisses donne la concentration réelle en glucose. L'axe des ordonnées donne la concentration mesurée. Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

Une estimation de la fiabilité d'une telle technique de mesure des concentrations en glucose a été réalisée en estimant l'erreur quadratique moyenne faite sur la concentration conformément à l'équation (40).

Ainsi, l'erreur moyenne sur la concentration en glucose des échantillons passés dans le canal α s'élève à 3.5 g/L. Elle n'est que de 2.0 g/L pour les échantillons passés dans le canal χ .

Tout comme la technique algébrique présentée dans le paragraphe précédent, cette méthode dite des « passages à zéro » pour l'extraction des concentrations en glucose réalisée à 4 fréquences particulières (réductibles à 2 : f_a et f_x ou f'_a et f'_x sans pertes significatives de précision) atteint un niveau de précision équivalent aux techniques nécessitant l'ensemble des spectres $|S_{21norm}|$ ou $\arg(S_{21norm})$.

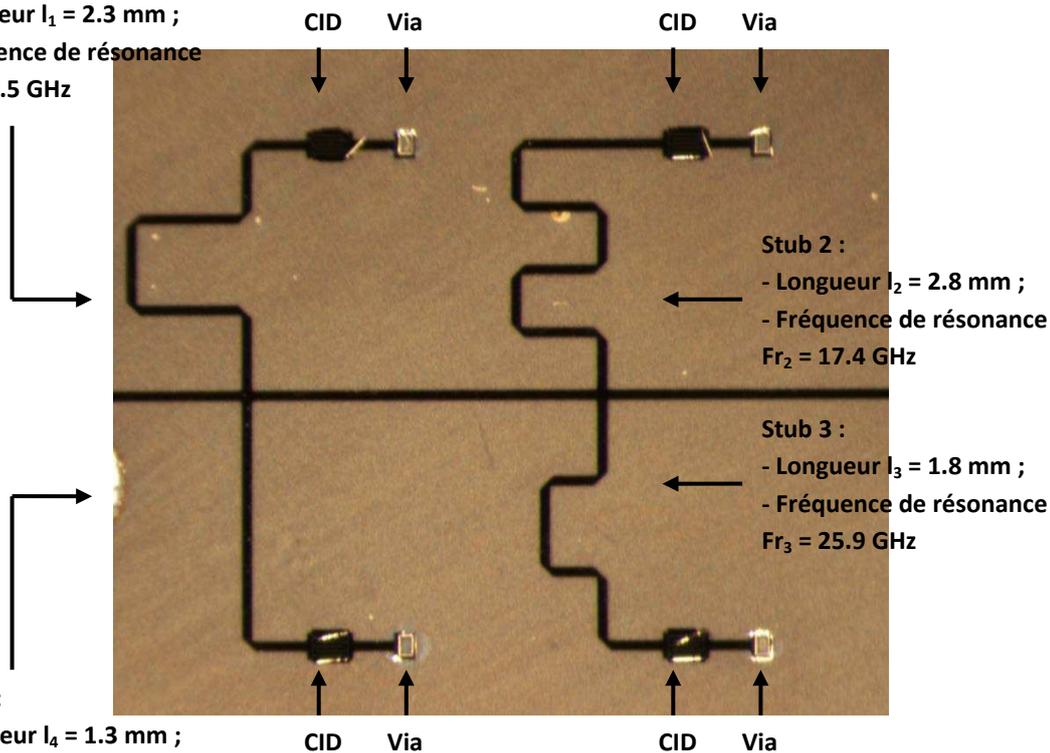
III.5. Vers la généralisation des mesures multi-échantillons : structure à 4 résonateurs

III.5.a. Présentation de la structure

Un biocapteur constitué d'une ligne thin film microstrip sur laquelle sont placés quatre stubs a été conçu et fabriqué afin d'étendre le principe de mesure multi-échantillons à quatre solutions mesurées simultanément. La Figure 26 montre une photographie générale de la structure hyperfréquence.

Stub 1 :

- Longueur $l_1 = 2.3$ mm ;
- Fréquence de résonance $Fr_1 = 19.5$ GHz



- ##### Stub 2 :
- Longueur $l_2 = 2.8$ mm ;
 - Fréquence de résonance $Fr_2 = 17.4$ GHz

- ##### Stub 3 :
- Longueur $l_3 = 1.8$ mm ;
 - Fréquence de résonance $Fr_3 = 25.9$ GHz

Stub 4 :

- Longueur $l_4 = 1.3$ mm ;
- Fréquence de résonance $Fr_4 = 32.3$ GHz

Figure 26 : Vue complète de la structure hyperfréquence constitué de quatre stubs centrés sur quatre fréquences de résonance différentes et placés en parallèle d'une même ligne thin film microstrip. Quatre structures microfluidiques viennent charger indépendamment chacune des CID terminant les stubs.

Les structures microfluidiques chargeant chacune des quatre CID sont similaires aux canaux microfluidiques présentés sur la Figure 9.

III.5.b. Mesures de solutions eau/glucose

Une série de 11 combinaisons de solutions eau/glucose ont été mesurées sur la structure à quatre résonateurs. Le Tableau 13 dresse la liste de ces différentes combinaisons.

Tableau 13 : Liste des solutions aqueuses de glucose mesurées sur la structure à quatre stubs.

Combinaison	[glucose] (g/L) (canal 1)	[glucose] (g/L) (canal 2)	[glucose] (g/L) (canal 3)	[glucose] (g/L) (canal 4)
1	80	0	0	0
2	0	80	0	0
3	0	0	80	0
4	0	0	0	80
5	40	40	40	40
6	80	80	80	80
7	74	49	98	20
8	30	98	80	55
9	60	30	49	88
10	98	20	40	67
11	55	30	80	55

Même si ce n'est pas mentionné dans le Tableau 13, la mesure de chaque combinaison est précédée d'une mesure pour laquelle les quatre structures microfluidiques sont chargées par de l'eau déionisée. Les spectres normalisés $|S21_{norm}|(freq)$ et $arg(S21_{norm})(freq)$ peuvent alors être calculés pour chacune des combinaisons.

Le protocole de mesure utilisé est très similaire à celui présenté par la Figure 14 et mis au point pour les mesures menées sur la structure à deux stubs. La seule différence réside dans le fait que quatre combinaisons de base sont nécessaires pour déterminer la concentration en glucose dans les quatre canaux microfluidiques. Ces combinaisons de base sont celles notées 1 à 4 dans le Tableau 13.

De façon analogue aux notations utilisées pour les spectres mesurés sur la structure à deux stubs, on désigne par $S21_{gluA/gluB/gluC/gluD}$ le spectre $S21$ mesuré sur la structure à quatre stubs chargée par quatre solutions aqueuses de glucose dont la concentration est égale à A, M, P et X pour les échantillons chargeant les canaux 1, 2, 3 et 4, respectivement.

La détermination des concentrations en glucose est donc basée sur la décomposition des spectres normalisés $|S21_{n_{gluA/gluM/gluP/gluX}}|$ et $arg(S21_{n_{gluA/gluM/gluP/gluX}})$ comme combinaison linéaire des quatre spectres normalisés de base :

$$|S21_{n_{gluA/gluM/gluP/gluX}}| = \frac{A}{80} \cdot |S21_{n_{glu80/eauDI/eauDI/eauDI}}| + \frac{M}{80} \cdot |S21_{n_{eauDI/glu80/eauDI/eauDI}}| + \frac{P}{80} \cdot |S21_{n_{eauDI/eauDI/glu80/eauDI}}| + \frac{X}{80} \cdot |S21_{n_{eauDI/eauDI/eauDI/glu80}}| \quad (56)$$

$$arg(S21_{n_{gluA/gluM/gluP/gluX}}) = \frac{A}{80} \cdot arg(S21_{n_{glu80/eauDI/eauDI/eauDI}}) + \frac{M}{80} \cdot arg(S21_{n_{eauDI/glu80/eauDI/eauDI}}) + \frac{P}{80} \cdot arg(S21_{n_{eauDI/eauDI/glu80/eauDI}}) + \frac{X}{80} \cdot arg(S21_{n_{eauDI/eauDI/eauDI/glu80}}) \quad (57)$$

La Figure 27 montre un exemple de principe de superposition sur les spectres normalisés $|S21norm|(freq)$ et $arg(S21norm)(freq)$ sur un exemple simple : la mesure de la combinaison « glu80/glu80/glu80/glu80 ».

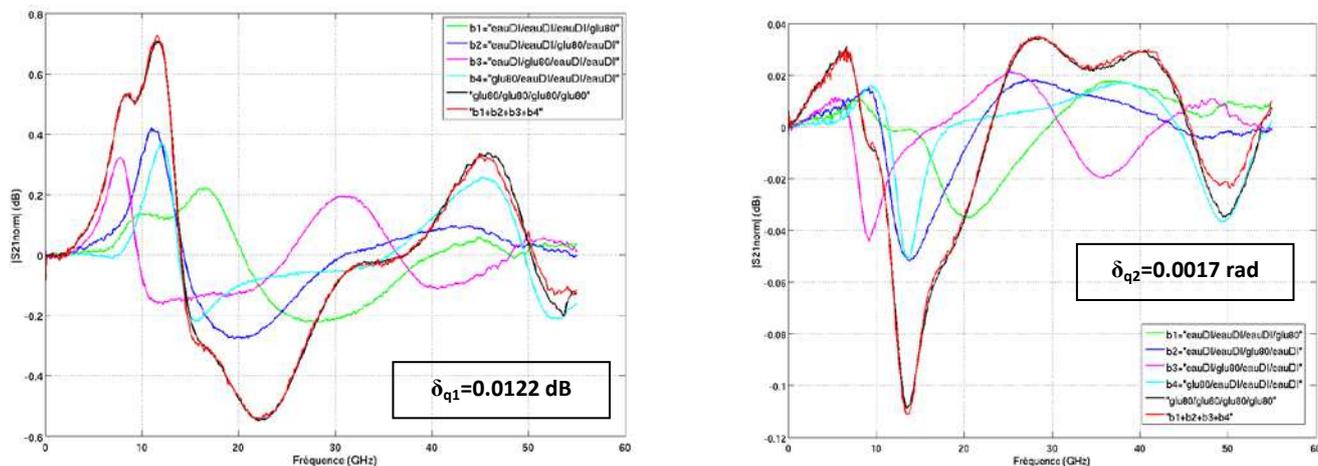


Figure 27 : Principe de superposition des spectres $|S21norm|$ et $arg(S21norm)$ sur la structure hyperfréquence à quatre stubs. Ces spectres illustrent l'égalité donnée par les équations (56) et (57).

La qualité des régressions linéaires est calculée de façon identique au cas des structures à deux stubs. On définit donc les erreurs quadratiques moyennes d'optimisation δ_{q1} (sur les spectres $|S21norm|$) et δ_{q2} (sur les spectres $arg(S21norm)$) de la façon suivante :

$$\delta_{q1} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (|S21norm_{gluA/gluM/gluP/gluX}|(f_i) - |S21_{SOMME}|(f_i))^2} \quad (58)$$

$$\delta_{q2} = \sqrt{\frac{1}{N} \sum_{i=1}^N (arg(S21norm_{gluA/gluM/gluP/gluX})(f_i) - arg(S21_{SOMME})(f_i))^2} \quad (59)$$

où N est la longueur des spectres (nombre de points de fréquences) S21norm. La valeur des erreurs quadratiques d'optimisation est donnée directement sur les spectres.

Le Tableau 14 liste les concentrations en glucose des solutions relatives aux microcanaux 1 et 2 et déterminées par optimisation sur les spectres normalisés $|S21norm|$. Le Tableau 15 liste les concentrations en glucose des solutions relatives aux microcanaux 3 et 4 et déterminées par la même méthode.

Tableau 14 : Concentrations en glucose des solutions chargeant les microcanaux 1 et 2, réelles et déterminées par régression sur les spectres normalisés |S21norm|. Les erreurs absolues associées sont également données.

Combinaison	Concentrations réelles en glucose dans les canaux 1 et 2 (g/L)		Concentrations en glucose (g/L) retrouvées par fit sur les spectres normalisés S21norm (et erreur absolues associées en g/L)			
	[glucose] (canal 1)	[glucose] (canal 2)	[glucose] (canal 1)	Erreur (canal 1)	[glucose] (canal 2)	Erreur (canal 2)
5	40	40	42.2	2.2	42.4	2.4
6	80	80	88.9	8.9	83	3
7	74	49	63.1	10.9	45.1	3.9
8	30	98	32	2	113.4	15.4
9	60	30	55.9	4.1	31.3	1.3
10	98	20	104.3	6.3	22.7	2.7
11	55	30	47.8	7.2	34.2	4.2

Tableau 15 : Concentrations en glucose des solutions chargeant les microcanaux 3 et 4, réelles et déterminées par régression sur les spectres normalisés |S21norm|. Les erreurs absolues associées sont également données.

Combinaison	Concentrations réelles en glucose dans les canaux 3 et 4 (g/L)		Concentrations en glucose (g/L) retrouvées par fit sur les spectres normalisés S21norm (et erreur absolues associées en g/L)			
	[glucose] (canal 3)	[glucose] (canal 4)	[glucose] (canal 3)	Erreur (canal 3)	[glucose] (canal 4)	Erreur (canal 4)
5	40	40	34.1	5.9	37.9	2.1
6	80	80	73.5	6.5	80.6	0.6
7	98	20	91.5	6.5	20.7	0.7
8	80	55	112.3	32.3	51.6	3.4
9	49	88	36.7	12.3	89.1	1.1
10	40	67	23.6	16.4	65.7	1.3
11	80	55	83.5	3.5	52.3	2.7

De nouveau, on peut rendre compte de la précision de cette technique de mesure à l'aide des Figures 28.a et b et Figures 29.a et b. De manière analogue aux Figures 5.a et b, on place en abscisse les concentrations en glucose réelles des échantillons placés dans les microcanaux ; et en ordonnée se lit la concentration déterminée à l'aide des spectres normalisés |S21norm|.

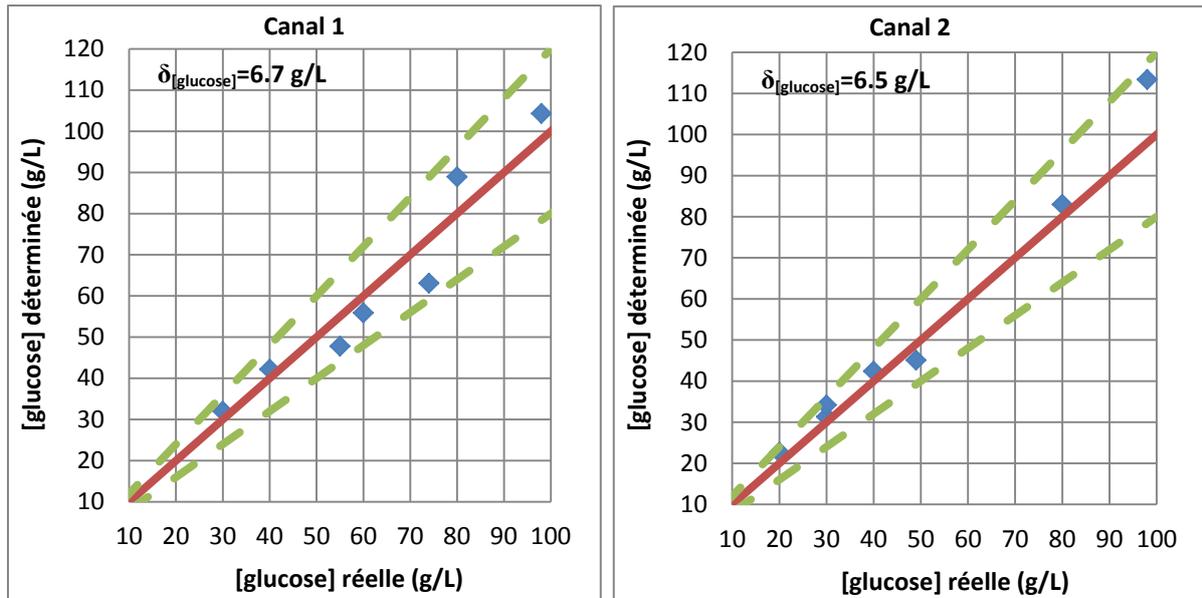


Figure 28 : Concentrations en glucose déterminées par optimisation des spectres normalisés [S21norm] pour les échantillons chargeant les microcanaux 1 et 2 de la structure à 4 résonateurs. La droite rouge représente la droite « identité ». Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

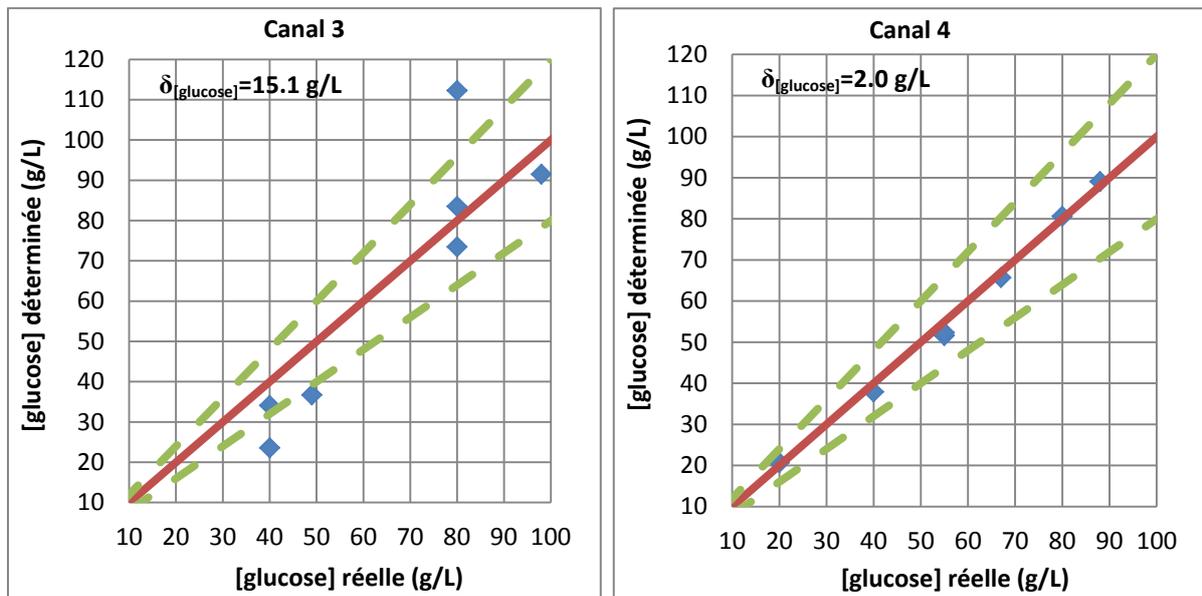


Figure 29 : Concentrations en glucose déterminées par optimisation des spectres normalisés [S21norm] pour les échantillons chargeant les microcanaux 3 et 4 de la structure à 4 résonateurs. La droite rouge représente la droite « identité ». Les droites en pointillés délimitent les prolongements de la zone A de l'abaque de Clarke (cf. chapitre III, paragraphe III.3).

Ces figures montrent que la précision d'une telle technique de mesure semble varier considérablement d'un microcanal à l'autre. En effet, les concentrations des solutions placées dans le microcanal 3 sont entachées d'une erreur relativement élevée. L'erreur quadratique (calculée à l'aide

de l'équation (40)) sur la concentration en glucose des échantillons du microcanal 3 s'élève à 15.1 g/L pour des concentrations variant de 40 à 98 g/L.

La précision des mesures sur les échantillons placés dans les microcanaux 1 et 2 est meilleure. L'erreur quadratique sur la concentration en glucose s'élève respectivement à 6.7 g/L et 6.5 g/L. Les erreurs les plus importantes étant en général faites sur les mélanges les plus fortement concentrés, les erreurs relatives sur la concentration en glucose dépassent rarement 10 % de la valeur réelle.

En ce qui concerne le microcanal 4, la précision de mesure est significativement faible par rapport aux trois autres microcanaux. L'erreur quadratique moyenne s'élève en effet à seulement 2 g/L. L'erreur relative la plus élevée ne dépasse pas, quant à elle, 6.5 %.

Une telle diversité de précision, d'un microcanal à l'autre, ne s'explique pas facilement. La Figure 30 montre la réponse en transmission de la structure hyperfréquence à quatre résonateurs ; les quatre structures microfluidiques étant vides. Deux stubs sont accordés sur deux fréquences de résonance très proches.

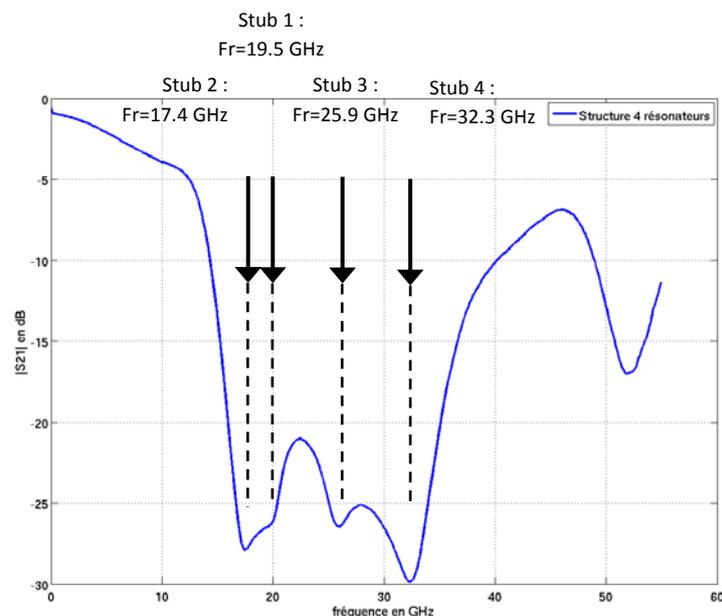


Figure 30 : Réponse en transmission de la structure hyperfréquence à quatre stubs. Chaque stub (cf. numérotation sur la Figure 26) est associé à sa fréquence de résonance propre. On constate ainsi que les deux stubs accordés sur deux fréquences de résonance proches ne sont pas ceux pour lesquels la détermination de la concentration en glucose est entachée de l'erreur la plus élevée.

Cependant, on ne peut imputer à ce fait les valeurs élevées des erreurs faites sur la détermination des concentrations en glucose dans le microcanal 3 puisque ce sont les stubs 1 et 2 qui sont accordés sur ces deux fréquences proches.

Cependant, ces résultats montrent la possibilité de mesurer la concentration en glucose dans des solutions aqueuses simultanément (c'est-à-dire, par une seule mesure hyperfréquence) sur quatre échantillons. Comme toujours, la précision des résultats peut être améliorée en procédant à

des mesures « statistiques », c'est-à-dire en mesurant plusieurs fois un même ensemble de quatre échantillons.

IV. Conclusion

Ce dernier chapitre montre les potentialités des biocapteurs hyperfréquences résonants miniatures que nous avons développés en termes d'analyse multiparamétrique.

La première partie de ce chapitre (paragraphe II) montre que la richesse d'informations contenue dans les spectres en transmission mesurés sur un biocapteur constitué d'un stub et d'un canal microfluidique rend possible la détermination de la concentration d'au moins deux solutés présents en solution par une mesure unique. Une démonstration de cette possibilité a été faite avec des solutions aqueuses contenant du glucose et du chlorure de sodium dont les concentrations variaient de quelques grammes à quelques dizaines de grammes par litre.

La deuxième partie de ce chapitre (paragraphe III) montre, par une approche similaire, que le développement de structures hyperfréquences à plusieurs résonateurs permet de caractériser plusieurs échantillons de solutions par une unique mesure hyperfréquence. Cette technique a été démontrée avec des solutions aqueuses de glucose sur des dispositifs hyperfréquences constitués de deux ou quatre résonateurs (stubs), chacun étant muni d'une structure microfluidique propre. Une approche similaire mais non microfluidique [6] a développé une structure hyperfréquence constituée d'un réseau de 12 résonateurs pour de l'analyse de tissus organiques, démontrant ainsi la possibilité d'au moins décupler la densité d'analyse de nos biocapteurs.

Différentes techniques de détermination des concentrations des solutés ont été proposées, que ce soit dans le cas des mesures multi-solutés ou multi-échantillons. Le Tableau 16 dresse une synthèse de ces différentes techniques avec les valeurs associées d'incertitudes $\delta_{[\text{soluté}]}$ de mesures des concentrations des solutés.

Tableau 16 : Synthèse des différentes techniques de mesures développées dans le cadre des caractérisations multiparamétriques (multi-solutés ou multi-échantillons) menées sur les biocapteurs hyperfréquences résonants microfluidiques.

	Mesures simultanées de la concentration de 2 solutés présents dans un échantillon fluide	Mesures simultanées de [glucose] sur 2 échantillons	Mesures simultanées de [glucose] sur 4 échantillons
Technique d'optimisation large bande des spectres S21norm	$\delta[\text{glucose}]=1.4 \text{ g/L}$; $\delta[\text{NaCl}]=1.4 \text{ g/L}$	$\delta[\text{glucose}]=3.2 \text{ g/L}$	$\delta[\text{glucose}]=2.0 \text{ à } 15.1 \text{ g/L}$
Technique d'optimisation large bande des spectres arg(S21norm)	$\delta[\text{glucose}]=1.4 \text{ g/L}$; $\delta[\text{NaCl}]=1.1 \text{ g/L}$	$\delta[\text{glucose}]=3.2 \text{ g/L}$	Technique applicable (non mise en œuvre au moment de la rédaction)
Technique bifréquentielle mono-paramétrique des "passages à zéro"	$\delta[\text{glucose}]=3.2 \text{ g/L}$; $\delta[\text{NaCl}]=1.7 \text{ g/L}$	$\delta[\text{glucose}]=2.0 \text{ à } 3.5 \text{ g/L}$	Technique inapplicable
Technique monofréquentielle biparamétrique du plan (arg(S21norm)(@Frref) ; S21norm (@Frref))	Technique applicable (non mise en œuvre au moment de la rédaction)	$\delta[\text{glucose}]=2.6 \text{ à } 4.6 \text{ g/L}$	Technique inapplicable

La technique commune aux trois dispositifs utilise la régression linéaire sur les spectres $|S_{21\text{norm}}|$ ou $\arg(S_{21\text{norm}})$ pour déterminer les concentrations des solutés. C'est une technique « lourde » au sens où elle nécessite la mesure de spectres complets large bande et d'outils de traitement numérique des données pour déterminer les concentrations en solutés. Cependant, elle constitue aussi une technique générique, applicable quel que soit le nombre de solutés ou d'échantillons fluidiques sous test.

Deux techniques ont été développées pour mesurer les concentrations des solutés en se passant des spectres complets.

La première, dite technique des « passages à zéro », utilise les fréquences particulières auxquelles les spectres des mélanges de référence s'annulent pour déterminer les concentrations des solutés à partir de la valeur d'un seul paramètre ($|S_{21\text{norm}}|$ ou $\arg(S_{21\text{norm}})$). Cette technique a été mise en place dans le cas des mesures multi-solutés ou des mesures multi-échantillons. Seules deux fréquences distinctes sont nécessaires pour mesurer la concentration de deux solutés dans un mélange ou la concentration d'un soluté dans deux échantillons de solution. On aboutit ainsi à une technique de mesure plus rapide que les techniques large bande, mais aussi plus directe car elle ne nécessite pas de traitement mathématique. Par rapport aux techniques d'optimisation sur les spectres normalisés, la méthode des « passages à zéro » s'est avérée moins précise pour la mesure de deux solutés en solution mais tout aussi satisfaisante pour la mesure de la concentration en glucose simultanément sur deux échantillons.

La deuxième technique utilise la valeur de deux paramètres ($|S_{21\text{norm}}|(@Fr_{\text{ref}})$ et $\arg(S_{21\text{norm}})(@Fr_{\text{ref}})$) calculée à une fréquence unique : Fr_{ref} . Cette technique a été développée dans le cadre des mesures multi-échantillons mais peut très bien être utilisée dans le cadre des mesures multi-solutés. Cette technique repose sur deux stubs centrés sur deux fréquences de résonance différentes (chaque stub étant chargé par un échantillon fluidique) ainsi que sur la relation linéaire liant les paramètres $|S_{21\text{norm}}|(@Fr_{\text{ref}})$, $\arg(S_{21\text{norm}})(@Fr_{\text{ref}})$ et la concentration en glucose. Chaque combinaison de deux solutions aqueuses de glucose a pour image un point dans un plan ($\arg(S_{21\text{norm}})(@Fr_{\text{ref}})$; $|S_{21\text{norm}}|(@Fr_{\text{ref}})$). Les coordonnées de chaque point dans le plan sont proportionnelles aux concentrations en glucose des deux échantillons. Cette technique s'est révélée tout aussi précise que les techniques d'optimisation large bande. Bien qu'elle requière, tout comme ces dernières, un traitement mathématique des données de mesures, elle permet une détermination des concentrations en glucose en solution aqueuse en travaillant à une fréquence unique : Fr_{ref} .

Une batterie de techniques de mesures ont ainsi été développée et permettent de mener des caractérisations multi-paramétriques (multi-solutés ; multi-échantillons) à l'aide de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants. Des techniques simples et directes (opérant à des fréquences uniques et nécessitant peu de traitement mathématiques) autorisent la détermination des concentrations en solutés avec des niveaux de précision satisfaisants. Elles n'en rendent pas obsolètes les techniques de mesures par optimisation sur les spectres normalisés $|S_{21\text{norm}}|$ et $\arg(S_{21\text{norm}})$ qui restent les seules méthodes applicables lorsque le nombre d'échantillons fluidiques sous test est supérieur à 2.

Enfin, les niveaux de précision des différentes techniques de mesures (qu'il s'agisse des techniques d'optimisation large bande ou des techniques implémentées à des fréquences discrètes) sont de l'ordre du gramme ou de quelques grammes par litre. En valeur absolue, ces niveaux de précision ne sont pas suffisants pour mesurer la concentration en glucose ou en chlorure de sodium dans le sang humain. Cependant, une amélioration de ces niveaux de précision est possible en mesurant, comme nous l'avons proposé dans le chapitre III, chaque solution ou combinaison de solutions, plusieurs fois (5 à 10 fois) afin de réduire le bruit de mesure par traitement statistique des données.

Bibliographie du chapitre IV

[1] B. Kapilevich et B. Litvak

"Optimized microwave sensor for online concentration measurements of binary liquid mixtures"
IEEE Sensors Journal, vol. 11, n°10, octobre 2011

[2] L.J. Li

"Simultaneous detection of organic and inorganic substances in a mixed aqueous solution using a microwave dielectric sensor"
Progress in Electromagnetic Research, vol. 14, pp.163-171, 2010

[3] H.J. Lee et J.G. Yook

"Biosensing using split-ring resonators at microwave regime"
Applied Physics Letters, vol. 92, 2008

[4] W. Withayachumnankul, K. Jaruwongrungssee, C. Fumeaux et D. Abbott

"Metamaterial-inspired multichannel thin-film sensor"
IEEE Sensors Journal, vol. 12, n°5, mai 2012

[5] M. Puentes, C. Weiss, M. Schüssler et R. Jakoby

"Sensor array based on split ring resonators for analysis of organic tissues"
International Microwave Symposium, 2011

[6] M. Puentes, M. Maasch, M. Schüssler et R. Jakoby

"Frequency multiplexed 2-dimensional sensor array based on split-ring resonators for organic tissue analysis"
IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 60, n°6, juin 2012

Conclusion



Conclusion générale

Notre travail se place dans le contexte du développement de nouvelles technologies pour la santé et plus précisément de technologies hyperfréquences-microfluidiques pour l'analyse de la glycémie humaine. L'étude bibliographique présentée au **chapitre I** a mis en évidence :

- le potentiel de rupture que l'on peut attendre d'une telle technique : son intégrabilité au sein de laboratoire sur puce,
- que le « point dur » d'une analyse électromagnétique hyperfréquence est sa non-spécificité,
- que la preuve du concept proposé passe par l'optimisation des résolution et précision d'analyse.

Les différents chapitres ont ainsi repris l'ensemble de ces points : modélisation/optimisation des performances de biocapteurs hyperfréquences-microfluidiques, développement de méthode rendant la technique « plus » spécifique et exploration des potentiels de rupture de la technique en termes d'analyses multi-paramétriques.

Nous avons tout d'abord développé une modélisation, présentée au **chapitre II**, décrivant le fonctionnement d'un biocapteur hyperfréquence microfluidique résonant et basée sur des simulations électromagnétique 3D (réalisées sous Ansys HFSS). Ces simulations ont permis d'établir les relations entre les propriétés diélectriques (complexes) des fluides à caractériser et les variations de la réponse électrique du biocapteur (quantifiée par la fréquence de résonance et la réjection à la résonance). Les prédictions issues du modèle sont, en outre, en cohérence avec les résultats prédictibles par la théorie des perturbations, à savoir que :

- Les variations de fréquence de résonance sont essentiellement dues aux écarts de la partie réelle de la permittivité complexe des fluides sous test.
- Les variations de facteur de qualité (et donc de réjection à la résonance) sont, quant à elles, essentiellement dues aux écarts de la partie imaginaire de la permittivité complexe des fluides sous test.
- Une augmentation de la sensibilité des dispositifs passe par la favorisation du couplage fluide/champ électromagnétique (en plaçant les fluides à caractériser dans la zone de champ électrique intense et en augmentant, à géométrie de biocapteur fixée, le volume de fluide en interaction avec ce champ électrique).

Une confirmation de ce modèle théorique a été réalisée expérimentalement en caractérisant une série de solutions aqueuses d'éthanol. Les résultats de mesures ont montré une bonne cohérence entre les écarts de fréquence de résonance et de réjection à la résonance mesurés et prédits par notre modèle. Nous avons ainsi montré que, l'utilisation de notre biocapteur hyperfréquence-microfluidique-miniature, combinée au modèle développé, conduisait à une précision d'extraction de la permittivité inférieure à 7 %.

Nous avons également mis en évidence que le fonctionnement des biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants est soumis à deux mécanismes en compétition :

- l'augmentation de la sensibilité des dispositifs exige de favoriser le couplage fluide/champ électromagnétique ; ce qui a pour conséquence de dégrader le facteur de qualité.
- l'amélioration de la précision de mesure de la fréquence de résonance (par exemple) demande à ce que le facteur de qualité soit le plus élevé possible ; ce qui requiert un couplage faible entre le fluide et le champ électromagnétique.

Afin de dégager le meilleur compromis sensibilité/précision et ceci afin d'aboutir à la meilleure résolution, sept biocapteurs ont été développés de façon à faire varier l'intensité du couplage fluide/champ. Les résultats de cette étude ont montré que les biocapteurs qui bénéficiaient de la meilleure résolution étaient ceux pour lesquels le couplage fluide/champ électromagnétique est privilégié. Ainsi, pour des dispositifs résonants miniatures, la perte de précision sur la mesure de la fréquence de résonance est compensée par l'augmentation significative de la sensibilité due à un couplage optimale entre le liquide sous test et le champ électromagnétique.

Fort des règles de conception dégagées au chapitre II, nous avons développé deux nouvelles architectures de biocapteurs dont la conception, la microfabrication et les caractérisations sont présentées au **chapitre III**. Ces structures sont basées sur des résonateurs constitués de stubs quart d'onde (implémentés en technologie coplanaire et thin film microstrip) et munis de capacité inter-digitées. Ces structures concentrent le champ électrique à la résonance dans un volume restreint et les canaux microfluidiques ont été dimensionnés de façon à englober au maximum ce volume afin de favoriser le couplage fluide/champs électromagnétiques et donc la résolution de mesure.

De façon complémentaire, les protocoles de mesure et les indicateurs de sortie ont été optimisés afin d'améliorer les performances des biocapteurs.

Ainsi, le protocole expérimental intègre désormais une mesure du liquide de référence systématique avant chaque mesure d'un liquide à caractériser. Cette disposition a été mise en place de façon à s'affranchir des phénomènes de dérives de la réponse électrique du biocapteur au cours d'une campagne de mesures de plusieurs heures.

Pour ce qui est des indicateurs de sortie, la mesure d'écart de fréquence de résonance a été conservée intacte. Par contre, la mesure des performances sur les paramètres de dispersion des dispositifs se fait, non plus directement lorsque le liquide à tester charge le résonateur, mais sur les paramètres S normalisés par rapport aux paramètres acquis lorsque le canal est chargé par le liquide de référence (mesuré immédiatement avant, comme déjà évoqué). En opérant ainsi, les indicateurs de sortie tant sur la norme et la phase des paramètres S sont estimés sur des spectres normalisés, ce qui élimine mathématiquement le bruit systématique de mesure et améliore par la même la précision de mesure.

Les trois familles de biocapteurs (celle du chapitre II et les deux du chapitre III) ont ensuite été caractérisées avec des solutions aqueuses de glucose, en cohérence avec les applications visées pour ces dispositifs. Les mesures ont montré une légère prédominance des biocapteurs implémentés en technologie « thin film microstrip » en termes de sensibilité. La suite des travaux a donc été menée préférentiellement sur cette famille de biocapteurs.

Des solutions aqueuses de glucose aux concentrations physiologiques ont ensuite été mesurées sur ces biocapteurs. La fiabilité des dispositifs a été éprouvée à l'aide de l'abaque d'erreur de Clarke (historiquement mis au point pour évaluer les performances des techniques chimiques de mesure de la concentration en glucose). Les capteurs hyperfréquences de la famille « thin film microstrip » ont démontré des performances satisfaisantes en termes de fiabilité puisque toutes les concentrations en glucose ainsi déterminées se retrouvent dans la zone d'opération optimale de l'abaque de Clarke. Le paramètre encore à améliorer pour ces dispositifs concerne l'incertitude de mesure, qui s'élève à 0.4 g/L alors qu'elle n'est que de 0.02 à 0.03 g/L pour les meilleurs glucomètres commerciaux. Sans atteindre, dans un premier temps, un tel niveau de précision, la tolérance à plus ou moins 20 % qui définit la zone optimale de l'abaque Clarke exigerait que la précision des biocapteurs hyperfréquences soit améliorée pour atteindre 0.1 g/L.

Enfin, dans le but de nous approcher des conditions réelles de fonctionnement d'un glucomètre, c'est-à-dire opérant avec des échantillons de sang, nous avons mené une étude des performances des biocapteurs hyperfréquences pour la mesure de concentration en glucose en présence de chlorure de sodium. Ces mesures ont montré que les ions sodium et chlorure avaient bien une influence sur la réponse électrique du dispositif, pointant ainsi la non-spécificité de la technique. En revanche, il n'y a pas d'altération significative de la sensibilité de mesure de glucose (variation des coefficients de sensibilité en générale inférieure à 10 %).

En outre, une méthode a été proposée pour s'affranchir de l'impact de ces ions sur la réponse du biocapteur, qui consiste à utiliser la première résonance harmonique (qui apparaît à environ 35 GHz pour les résonateurs implémentés en « thin film microstrip »). En effet, les spectres bande large ont montré qu'à cette fréquence, les ions chlorure et sodium n'ont qu'une très faible influence sur la réponse électrique du biocapteur et ne perturbe donc en rien la détermination de la concentration en glucose.

Nous avons enfin axé une partie de nos travaux sur l'exploration des ruptures que peuvent apporter les biocapteurs hyperfréquences microfluidiques résonants en termes d'analyse sur les liquides par rapport aux techniques existantes. Ces travaux font l'objet du **chapitre IV**.

Les mesures menées dans le cadre du chapitre III sur des solutions binaires de glucose et de chlorure de sodium ont montré que les deux composés avaient une influence sur la réponse électrique du dispositif mais que la présence de l'un n'affectait pas significativement la détectabilité de l'autre. Ainsi, plutôt que de chercher à éliminer l'impact du chlorure de sodium sur la réponse du biocapteur pour ne s'intéresser qu'à la concentration en glucose (ce que nous avons fait en exploitant une résonance harmonique), l'idée que nous avons développée dans la première partie de ce chapitre est de déterminer simultanément (c'est-à-dire par une mesure unique) la concentration des deux solutés. On parle ici de mesures « multi-solutés », ce qui tire profit de la non-spécificité de la technique hyperfréquence-fluidique.

De même, la possibilité d'ajouter facilement plusieurs résonateurs couplés à une même ligne (ce qui est aisée en technologie microstrip, justifiant ainsi a posteriori le choix de la technologie *thin film microstrip*), nous a permis de démontrer la possibilité de caractériser simultanément plusieurs échantillons fluidiques ; chaque échantillon venant charger un résonateur. On parle ici de mesures « multi-échantillons ».

Des démarches similaires ont été suivies pour ces deux situations de mesures « multi-solutés » et « multi-échantillons » puisqu'un même principe dit « de superposition des

perturbations », a été exploité. Trois méthodes ont été développées afin d'adresser ces caractérisations multi solutés/échantillons.

La première méthode proposée repose sur une régression linéaire des spectres large bande des paramètres S. C'est une technique « lourde » au sens où elle nécessite la mesure de complets ainsi qu'un traitement mathématique d'optimisation. Cependant, il s'agit de la technique la plus fiable et pour laquelle l'incertitude sur la valeur des concentrations s'élève à quelques grammes par litre. Nous avons validé cette technique d'optimisation dans le cas de deux solutés en solution ainsi qu'avec deux puis quatre échantillons à caractériser simultanément.

Afin de permettre une lecture directe des concentrations des solutés, une seconde méthode mise au point consiste à mesurer la valeur d'un paramètre électrique à au moins deux fréquences (méthode mono-paramètre, bi-fréquences). Cette méthode s'avère plus légère que la technique d'optimisation sur les spectres complets puisqu'elle est applicable à partir de caractérisations faites à seulement deux fréquences discrètes et ne requiert aucun traitement mathématique conséquent. La détermination des concentrations par cette méthode s'est avérée tout aussi précise que la technique d'optimisation sur les spectres complets dans le cadre des mesures « multi-échantillons » et un peu moins dans le cadre des mesures dites « multi-solutés ». En revanche, la technique *mono-paramètre, bi-fréquences* n'est applicable simplement que lorsque le problème ne comporte que deux inconnues (la concentration de deux solutés dans un échantillon fluide ; la concentration d'un soluté dans deux échantillons de solution).

La troisième et dernière méthode que nous avons développée consiste à mesurer la valeur de deux paramètres électriques (module et phase de S_{21} par exemple) à une fréquence donnée (méthode bi-paramètres, mono-fréquence). L'application de cette méthode dans le cadre des mesures « multi-échantillons » a montré que l'on pouvait bâtir des constructions graphiques 2D (à partir des deux paramètres) dans lesquelles les acquisitions forment une constellation régulière de point. Une méthode algébrique a été proposée pour en déterminer les concentrations en glucose et s'est révélée équivalente en termes de précision, par rapport à la technique d'optimisation sur les spectres complets. Cependant, cette méthode n'est plus applicable si le nombre d'inconnues du problème dépasse deux.

Nous montrons ainsi dans ce chapitre IV que la richesse d'information contenue dans les spectres combinée à la flexibilité de conception en technologie *thin film microstrip* ont permis de mettre au point des techniques pour la détermination simultanée de la concentration de deux solutés présents dans un échantillon unique (contournant et tirant profit de la non-spécificité du transducteur) ainsi que pour la détermination de la concentration de solutés simultanément localisés dans deux puis quatre canaux fluidiques. Ce chapitre illustre donc le potentiel de rupture de la technique hyperfréquence-microfluidique par rapport aux solutions existantes et permet d'envisager l'aboutissement de nouvelles caractéristiques telles que la parallélisation de multiples analyses au sein d'un système sur puce.

La **conclusion** de notre travail de recherche apportent ainsi la preuve de concept, certes sur des solutions *modèles simples du sang*, que les ondes électromagnétiques hyperfréquences peuvent permettre de réaliser des analyses *relativement* précises de fluides pour des applications de suivi de la glycémie. En outre, elles recèlent du potentiel de rupture par rapport à l'existant en termes d'intégration sur puce, de non altération des échantillons investigués et d'analyses *multi-solutés* et *multi-échantillons*.

La **perspective** de nos travaux repose sur les termes mis en italique dans le paragraphe précédent et doit donc suivre deux axes principaux :

- le premier consiste à atteindre une *résolution de 0.1 g/L* sur la détermination de la concentration en glucose. Il s'agit de la résolution maximale compatible avec le dépistage et le suivi d'une pathologie comme le diabète,
- le deuxième axe consiste à étendre la technique de mesure « *multi-solutés* » de façon à pouvoir déterminer la concentration en glucose, non plus en solution aqueuse simple, mais sur des échantillons de *sang prélevés sur des patients*.

La technique de mesure « *multi-échantillon* » est une des plus-values de rupture des techniques hyperfréquences-fluidiques, mais son exploitation dans le domaine biomédical est conditionnée par le développement des deux points précédents.

Les travaux présentés dans ce manuscrit ont montré que les biocapteurs favorisant le couplage fluide/champ électromagnétique offraient les meilleures performances en résolution. C'est donc essentiellement par ce levier que peut encore être améliorée la précision de nos dispositifs. Pour les trois familles de biocapteurs que nous avons développées, le couplage fluide/champ électromagnétique est réalisé dans une configuration coplanaire (qu'il s'agisse des résonateurs présentés au chapitre II ou des capacités inter-digitées du chapitre III). On peut donc quantifier le couplage fluide/champ électromagnétique à environ 50 %. Pour augmenter cette valeur, la filière technologique « *thin film microstrip* » peut offrir des solutions intéressantes. On peut ainsi envisager la réalisation de stubs quarts d'onde terminés par des capacités dont la première électrode est constituée par le plan de masse inférieure et la seconde est formée par un « *patch* » terminant le stub. Le fluide à caractériser est ensuite placé entre ces deux électrodes, en lieu et place du diélectrique, augmentant ainsi le couplage fluide/champ électromagnétique.

Les techniques de détermination simultanée de la concentration de deux solutés ont été développées en réponse à la non-spécificité du transducteur électromagnétique. Elles constituent un moyen par lequel nos biocapteurs hyperfréquences-fluidiques pourraient être appliqués à la mesure de la glycémie sur du sang. Or, le sang est constitué de dizaines de composés différents qui peuvent avoir un impact sur la réponse électrique du biocapteur. En théorie, la technique de mesure « *multi-soluté* » reste applicable. En pratique, même si on considère que l'optimisation est réalisable avec plusieurs dizaines de variables à ajuster, le protocole expérimental de mesure exige que soient mesurées autant de solutions de base qu'il y a de solutés à doser dans l'échantillon. Une telle démarche peut vite constituer un frein au développement des techniques hyperfréquences-fluidiques. Une des clefs pour contourner un tel verrou réside dans le choix pertinent du liquide de référence. En effet, il existe dans le sang des composés dont la concentration est régulée de façon très précise. On peut donc, en choisissant par exemple le sang du patient à $t = 0$ comme liquide de référence, réaliser un suivi de la concentration du glucose par la technique « *multi-solutés* ». Le nombre de solutés à doser lors du suivi temporel peut être réduit en éliminant de l'étude tous les composés dont la concentration peut être considérée comme constante car régulée de façon très précise par le corps humain.