Conception et caractérisation d'une puce colorimétrique pour la détection des allergènes

Sana Hamdaoui El Idrissi

▶ **To cite this version:**

Sana Hamdaoui El Idrissi. Conception et caractérisation d'une puce colorimétrique pour la détection des allergènes. Electronique. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2015. Français. NNT : 2015PA066033 . tel-01174334

HAL Id: tel-01174334
https://theses.hal.science/tel-01174334

Submitted on 9 Jul 2015

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.

Thèse de Doctorat de l'Université Pierre et Marie Curie

Ecole doctorale de Sciences Mécaniques, Acoustique,
Electronique et Robotique de Paris (SMAER)

Laboratoire d'Electronique et Electromagnétisme (L2E)

Présentée par

Sana Hamdaoui

Pour l'obtention du grade de
DOCTEUR EN ELECTRONIQUE

Conception et caractérisation d'une puce colorimétrique pour la détection des allergènes

---

Soutenue publiquement le 7 Janvier 2015
devant le jury composé de :

Mme. Catherine Algani	Professeur au CNAM	Rapporteur
M. Didier Decoster	Professeur à l'IEMN Lille	Rapporteur
Mme. Stéphanie Descroix	CR au CNRS	Examinatrice
Mme. Sylvie Sautrot	MCF à l'Univ. Paris Diderot	Examinatrice
M. Stéphane Holé	Professeur à l'UPMC	Examinateur
M. Geoffroy Klisnick	MCF à l'UPMC	Examinateur
M. Mohamed Ben Chouikha	MCF à l'UPMC	Examinateur
M. Hamid Kokabi	Professeur à l'UPMC	Directeur de thèse

Sommaire

Glossaire 9
Introduction générale 11
Chapitre I : 15
Etat de l'art 15
I - Etat de l'art 17
1 Contexte de l'analyse biologique 17
1.1 Couple anticorps & antigènes 17
1.2 Antigènes 17
1.3 Immuno-essais 18
1.4 Synthèse 22
2 De la biologie à l'électronique 22
2.1 Méthodes de détection optique 22
2.2 Synthèse 25
3 Contexte de la miniaturisation : système Micro- fluidique 25
3.1 Présentation 26
3.2 Choix du matériau d'un système micro fluidique 27
3.3 Fabrication 27
3.4 Immobiliser des biomolécules sur le support du système micro fluidique 30
3.5 Mélanger les fluides dans les micro-puits 32
3.6 ELISA dans des micro-puits 40
3.7 Synthèse 40
4 Contexte de la micro-électronique 41
4.1 Capteurs optiques 41
4.2 Synthèse 50

5 Monde des biopuces 50
5.1 Test ELISA par pression 51
5.2 Test d'allergènes à l'aide d'un smartphone 51
5.3 Biopuce pour séquencer l'ADN 52
Chapitre II : 53
Architecture et conception de la matrice APS ainsi que son électronique de lecture 53
II - Architecture et conception de la matrice APS ainsi que son électronique de lecture 55
1 Introduction 55
2 Architecture du capteur optique 56
2.1 Technologie CMOS 56
2.2 Présentation de l'architecture générale de la matrice APS 56
2.3 Zoom sur un pixel de la matrice 57
2.4 Conclusion 67
3 Amplification 68
3.1 Source commune 69
3.2 Suiveur NMOS 75
3.3 Synthèse 81
4 Adressage 82
4.1 Interrupteur CMOS 83
4.2 Circuit de commande des interrupteurs 88
4.3 Multiplexeur 92
5 Performances du circuit 94
5.1 Temps de réponse 94
5.2 Amélioration de la consommation 102
5.3 Layout 104
6 Conclusion 110
Chapitre III 113
Caractérisations du circuit électrique 113
III – Caractérisations du circuit 115
1 Caractérisation de la dynamique du détecteur 115
1.1 Caractérisation de la puissance lumineuse en fonction de l'alimentation 115
1.2 Caractérisation de la dynamique du détecteur 117

1.3 Caractérisation électrique du transistor de lecture 122
2 Caractérisation en présence de solution colorée 127
2.1 Préparation des solutions 127
2.2 Banc de test 129
2.3 Résultats des mesures 130
3 Conclusion 133
IV - Conclusions générales et perspectives 134
V - ANNEXES 137
1 FIGURES 137
2 Tableaux 141
VI Références bibliographiques 143

A ma maman, mon papa, mon mari, mes enfants, ma soeur et mon frère ....

Remerciement

Ce travail de thèse n'aurait vu le jour sans l'aide d'un certain nombre de personne que je tiens à remercier.

Je remercie en premier lieu Monsieur Marc Hélier, Ancien Directeur du L2E, pour m'avoir accueilli au sein de son laboratoire et Monsieur Aziz Benlarbi-Delaï, Directeur du laboratoire pour son écoute et son agréable accueil dans son bureau.

Je souhaite exprimer toute ma gratitude aux membres du jury qui ont bien voulu prendre un peu de leur temps pour juger ce travail et tout particulièrement Madame Catherine Algani, Professeur au CNAM et Monsieur Didier Decoster, Professeur à l'IEMN qui m'ont fait l'honneur d'accepter d'être rapporteurs de mon travail de thèse.

Je tiens particulièrement à remercier mon directeur de thèse Monsieur Hamid Kokabi, Professeur à l'UPMC, pour la confiance qu'il m'a accordé et ainsi la possibilité de réaliser ces travaux de thèse, sa disponibilité, et son écoute.

C'est avec beaucoup d'émotions que je remercie mon encadrant, Monsieur Geoffroy klisnick, pour son aide continue et abondant durant toute ma thèse, son humanisme, son écoute et tout ce qui l'a pu m'offrir durant mes années d'études depuis le Master. Merci beaucoup !

Je remercie également mes deux autres encadrants, d'une part Madame Sylvie Sautrot, pour son encadrement, son soutien et ses encouragements, et d'autre part Monsieur Mohamed Ben Chouikha, mon co-directeur de thèse pour tout ce qu'il a pu m'apporter et surtout pour ses motivations.

Je remercie, Monsieur Gérard Sou, pour m'avoir accordé beaucoup de son temps.

Je remercie l'ensemble des personnes avec qui j'ai pu collaborer et échanger au cours de ces deux ans et demi de thèse : Hélène Roussel, Muriel Darces, Victor Fouad Hanna, Inès, Hakeim, Aurélie, Chloé, Annie, Takfarines, Jafari, les deux Nicolas, Amazir, Paul, Tzi, Pascal, Lydia, les deux Amine, Ourouk, Choukri, Lucca, Massimiliano, David, Yves, Marie-France, Zinedine, Salim, pour leur bonne humeur et leur soutien … pour n'en citer que quelques-uns.

Merci aussi à tous ceux que j'ai pu côtoyer et avec qui j'ai pu discuter et échanger.

Enfin, un grand merci à ma famille, en commençant par mes parents plus particulièrement ma maman qui a dû mettre sa vie de côté pour m'assister tous les jours pendant cette dernière année de thèse et pour qu'elle s'occupe de mes filles. Un grand merci à mon papa qui a dû sacrifier ma maman pour m'aider et me soutenir et qui était toujours un refuge quand j'en avais besoin. Un grand merci affectueux à mon mari qui s'est armé de patience afin que je puisse faire ma thèse, auprès de qui je me suis toujours ressourcée d'amour, de quiétude et de motivation. Merci à mes deux filles, Mayssa et Sirine, qui ont subi mon absence cette dernière année. Pour finir un grand merci à mon frère et ma sœur, ma famille, mes amis et toutes les personnes qui m'entouraient.

Glossaire

ADN : acide désoxyribonucléique

APS : Active pixel sensor

ASIC : Application-Specific Integrated Circuit

BDJ : Burried Dubble Junction

CCD : Charge-Coupled Device

CMOS : Complementary Metal Oxide Semiconductor

DEP: Dielectrophoretic

DIL ou DIP : Dual Inline Package

DRC : Design Rules Check

DSP (en bruit) : Densité spectrale de puissance

DSP (traitement de signal): Digital Signal Processing

ELISA : Enzyme Linked immune Sorbent Assay

ERC : Electrical Rule Check

HCG : human chorionic gonadotropin (hormone humaine)

HER2 : proteine

HPLC : high performance liquid chromatography

IgE : immunoglobulines E

LOD (en éléctronique) : Lateral Overflow Drain

LOD (optique) : limit of detectivity

LVS : Layout Versus Schematic

OGM : Organismes Génétiquement Modifiés

OMS : Organisation mondiale de la santé

PCR : Polymerase Chain Reaction

PDMS : PolyDiMéthylSiloxane

PMMA : PolyMéthAcrylate de Méthyle

SU-8 : résine photosensible

UV : ultraviolet

VLSI : Very Large Scale Integration

W.I : Weak inversion

Introduction générale

Le domaine de la bio électronique a connu un développement technologique sans précédent ces dernières années. Nous trouvons aujourd'hui intégrés sur une seule puce, des systèmes fluidiques miniaturisés de tests biologiques, et des systèmes électroniques réalisés auparavant sous forme de cartes. De tels systèmes comportent un nombre toujours croissant de modules pouvant appartenir à des domaines différents : des fonctions numériques, des mémoires et des blocs DSP de traitement du signal (Digital Signal Processing), des fonctions analogiques d'amplification et de filtrage mais aussi des micros tubes contenant des solutions biologiques. Ces dispositifs se sont souvent montrés plus efficaces que les appareils classiques, et ont démontré d'énormes capacités d'analyse. Ils permettent de minimiser les tailles des instruments biologiques ainsi que le nombre de prélèvements, la quantité de l'échantillon ainsi que le réactif nécessaire pour l'analyse et le nombre de tests effectués.

De ce fait, cette thèse traite un des sujets les plus tendances : la conception d'un prototype de micro-capteur biologique pour la détection des anticorps de patients susceptibles d'être allergiques. L'allergie est une réaction anormale et excessive du système immunitaire générée au contact avec une substance généralement étrangère à l'organisme. Une substance déclenchant une réponse immunitaire est appelée antigène, mais l'on parle aussi d'allergène dans le cas de l'allergie. L'allergène est bien toléré par la plupart de la population, toutefois les personnes allergiques déclenchent une réaction inadaptée, excessive et pathologique : c'est l'allergie, qui est l'une des formes de l'hypersensibilité. D'après l'OMS[1] l'allergie est la quatrième maladie dans le monde après le cancer, les pathologies cardiovasculaires et le sida. La prévalence des maladies allergiques (dermatite atopique, asthme, rhinite, conjonctivite et allergie alimentaire) a considérablement augmenté dans les pays industrialisés au cours des 20-30 dernières années. Les études épidémiologiques estiment la prévalence cumulée des maladies allergiques à 25-30 %.

Les allergies peuvent être causées par les pollens, les acariens, les médicaments, les aliments dans la majorité des cas et bien d'autres raisons, il est donc important de les détecter de manière précoce. Dans ce contexte l'allergie alimentaire est devenue une véritable préoccupation dans les pays industrialisés. Elle touche les enfants jusqu'à l'âge de 14 ans et les aliments mis en causes sont variés (lait de vache, œufs…), les symptômes allant de l'asthme à l'eczéma jusqu'aux chocs anaphylactiques entrainant dans certains cas la mort de l'enfant. Entre 15 et 30 ans l'homme est plus sensible aux aéro-allergènes (pollens, acariens) alors que l'allergie alimentaire disparaît. Lorsque les allergènes sont en contact avec l'organisme, celui-ci produit des anticorps, qu'on appelle des immunoglobulines E (IgE). Une substance inoffensive pour certains peut provoquer une réaction allergique chez une personne dite sensibilisée. Les traitements consistant à rendre l'organisme tolérant à la substance sont dits de « désensibilisation ». La prédisposition familiale,

[1] Organisation mondiale de la santé

appelée aussi terrain « atopique » est un facteur aggravant. Le diagnostic des allergies peut être effectué selon deux méthodes :

- Test cutané (in vivo)
- Test in vitro, peut être effectué avec plusieurs méthodes :
  - PCR en temps réel (Polymerase Chain Reaction) (I)
  - Dosages enzymatiques
  - ELISA (Enzyme Linked immune Sorbent Assay) (I)

Ce sujet de thèse fait l'objet d'une miniaturisation de la méthode ELISA en concevant en full-custom, avec une technologie CMOS APS, un capteur colorimétrique.

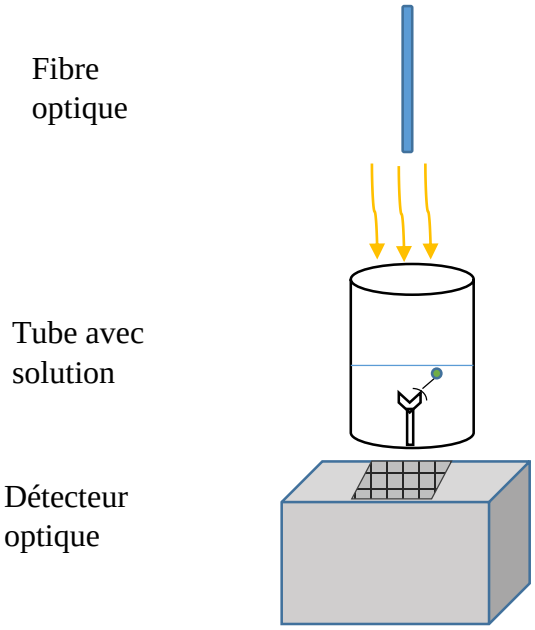


Figure 1 - Principe d'un capteur colorimétrique intégré pour la détection d'allergènes

Sur la figure 1, nous montrons de schéma de principe d'un capteur colorimétrique avec la solution à tester. On illumine le dispositif via une fibre optique. Le détecteur capte la lumière qui a traversé le micro-tube contenant l'échantillon, le courant photonique induit est lié à la concentration de la solution. Le virage colorimétrique de la réaction enzymatique, due à la présence des anticorps dans le sang, et l'évaluation quantitative de la concentration seront déterminée par le capteur. Le capteur contient une matrice de 20x20 pixels de détecteur de couleur ainsi que leur électronique de lecture et de commande. Pour des raisons de coûts, nous allons valider le procédé dans un premier temps à l'aide d'une matrice de 4x4 pixels.

Après cette introduction générale, le manuscrit est composé de trois chapitres. Dans le premier chapitre, nous allons nous intéresser aux concepts théoriques nécessaires à la compréhension de nos travaux:

- ✓ en électronique avec une vue plus détaillée sur la technologie utilisée, le type du capteur et ses avantages pour notre application
- ✓ en biologie avec une définition des principaux acteurs d'allergie et les méthodes de sa détection.
- ✓ en proposant un système miniaturisé, avec les détails de sa conception.
- ✓ pour finir ce chapitre, nous allons définir et détailler la colorimétrie, méthode utilisée par notre capteur pour la détection des allergènes.

Le deuxième chapitre apporte une description des différentes étapes de la conception de la bio puce colorimétrique. Nous mettons en évidence le cheminement qui conduit à la réalisation du micro capteur, à savoir :

- ✓ son schéma électronique qui comporte la partie sensible du capteur ainsi que l'électronique de lecture pour recueillir le courant photonique
- ✓ l'amplification du signal, avec une étude sur le bruit et le temps de réponse
- ✓ la partie numérique qui comporte des fonctions de commande et de lecture
- ✓ et au final le Layout général

Au final, le troisième chapitre qui s'impose est celui de la caractérisation du capteur. Afin de caractériser notre circuit plusieurs mesures ont été effectuées. Nous allons donc décrire dans ce chapitre, les différents bancs de tests et discuter les différents résultats obtenus en les comparant aux résultats de simulations.

Mots-clés:
Capteur optique à double jonction enterrée – Micro puce d'Analyse immunologique Intégrée – Capteur APS – Cadence – Micro fluidique –Flux continu – Test Immunologique – ELISA.

Chapitre I :
Etat de l’art

I - Etat de l'art

1 Contexte de l'analyse biologique

1.1 Couple anticorps & antigènes

1.1.1 Systèmes immunitaires

Le terme « immunitaire » vient du latin *immunis* signifiant « exempt » qui fait référence ici dans le système immunitaire aux agents envahissants. C'est bien ce système immunitaire qui représente la défense et c'est lui qui assure la protection du corps. Il est constitué d'un milliard de globules blancs, de la moelle osseuse, des anticorps, des cytokines et du thymus. Il permet de détecter et de détruire des millions de microbes (bactéries, virus …) pénétrant dans nos organismes ainsi que les cellules qui deviennent génétiquement anormales ou cancéreuses. Il existe deux types de systèmes immunitaires, le premier est inné ou naturel et le second est adaptif ou acquis. Le système naturel est un réflexe qui est programmé à la naissance pour nous protéger et c'est la même réaction quel que soit la nature de l'infection. A titre d'exemple, en cas de coupure une réaction inflammatoire apparait immédiatement, suivie d'un amas de macrophages[2] qui absorbent les bactéries. Le second système est bien plus complexe. Il permet d'adapter une réponse spécifique à chaque envahisseur spécifique, cette réponse sera acquise par la suite par le corps humain.

1.2 Antigènes

Un antigène appelé (Ag), est une macromolécule naturelle ou synthétique qui n'appartient pas à notre organisme. Une fois que cet antigène est reconnu par les anticorps (Ac) ou les cellules du système immunitaire de l'organisme, il est capable de déclencher chez celui-ci une réponse immunitaire. Les antigènes sont généralement des protéines, des polysaccharides et leurs dérivés lipidiques. Des fragments d'antigènes appelés haptènes peuvent aussi induire une allergie.

Les antigènes sont à la base de la réponse immunitaire acquise. L'antigène se compose d'un ou de plusieurs épitopes ou déterminants antigéniques ceux-ci peuvent être identiques ou différents et ainsi induire une réponse immunitaire variée. L'épitope est la partie de l'antigène reconnue par un anticorps ou un récepteur lymphocytaire.

1.2.1 Anticorps

Un anticorps nommé Ac, est une protéine complexe utilisée par le système immunitaire pour détecter et neutraliser les agents pathogènes de manière spécifique. Les anticorps sont sécrétés par des cellules dérivées des lymphocytes B : les plasmocytes. Les anticorps constituent

[2] C'est une grosse cellule arrondie avec un noyau excentré et des vacuoles dans son cytoplasme qui sert à phagocyter les débris cellulaires

l'immunoglobuline principale du sang, parfois on utilise aussi le terme immunoglobuline à la place du mot anticorps, mais cet emploi est abusif.

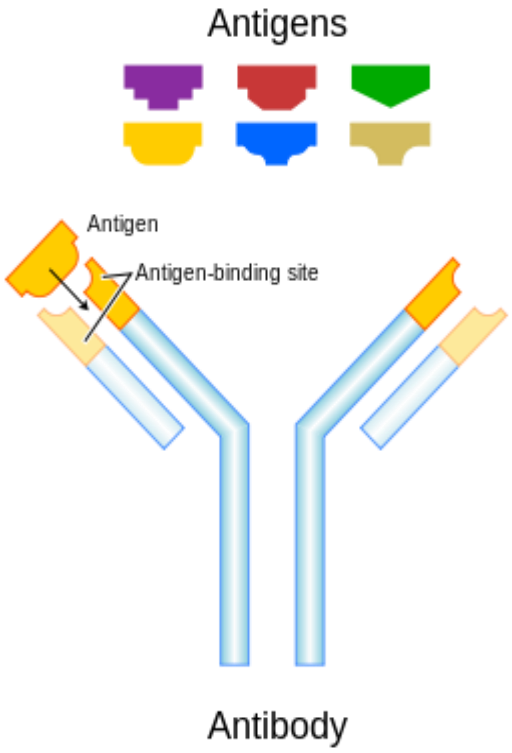


Figure 2 – Système antigène_anticorps

1.3 Immuno-essais

1.3.1 Les tests in vivo

Les tests in vivo sont des tests cutanés. Les plus fréquents sont les prick test, pour leur simplicité et leur aspect indolore. Les pricks tests déterminent la réaction allergique impliquant les immunoglobulines IgE[3]. Les médecins piquent dans l'épiderme des patients et déposent des gouttes de différents allergènes. Après un délai de 8 à 15 min, la manifestation allergique est traduise par prurit[4], un érythème[5], une papule[6] ou l'apparition d'anneau rougeâtre. Mais ce test reste très limité du fait qu'il est contre indiqué chez les enfants, les femmes enceintes, personnes atteints de maladie de peau et les personnes sous traitement. En outre, tous les tests positifs ne signifient pas forcement que la personne est allergique. Ces tests peuvent très dangereux en cas de réaction anaphylactique[7] grave.

[3] Anticorps capable de déclancher des réations de type allergies immunitaires
[4] Symptôme qui recouvre une sensation de démangeaison de la peau
[5] Rougeur congestive de la peau, diffuse ou localisé, s'effaçant à la vitropression
[6] Élément cutané plein d'écoulement liquidien, de couleur rose ou rouge, s"effaçant à la traction de la peau
[7] Réaction très violente qui peut entrainer la mort de la personne

1.3.2 Les tests in vitro

Les tests in vitro consistent à évaluer d'une manière objective, la mesure d'un paramètre sur un échantillon biologique humain. Ces tests sont sans risque sur les patients. Il existe plusieurs tests in vitro et nous en citons quelques-uns [1]:

1.3.2.1 Test PCR

Le test PCR en temps réel (Polymerase Chain Reaction) [2] ou la réaction en chaîne par polymérase en temps réel, est une technique ayant de nombreuses applications, basée sur une réaction enzymologique. La technique PCR multiplie un fragment déterminé d'ADN s'il est présent. Le résultat peut être vu à l'œil nu si les fragments sont déposés sur un gel d'électrophorèse, sinon il existe différents appareils de PCR en temps réel. À chaque cycle d'amplification, la quantité d'ADN total ou d'amplicon[8] est mesurée grâce à un marqueur fluorescent. L'obtention de la cinétique complète de la réaction de polymérisation permet d'obtenir une quantification absolue de la quantité initiale d'ADN cible mais ne donne pas la quantité d'allergènes présents dans l'échantillon.

1.3.2.2 Dosages enzymatiques

Elles consistent à mesurer la variation de la quantité de substrat ou de produit sur une période de temps. Évidemment, on doit mesurer les vitesses initiales (V_0), c'est-à-dire la vitesse où l'enzyme ne catalyse la réaction que dans une seule direction avec un très large excès de substrat. Les quantités de substrats ou de produits sont généralement mesurées par spectrophotométrie et comptage de radioactivité, ou, plus rarement par HPLC (chromatographie à haute pression). Il existe deux approches de base pour mesurer les activités enzymatiques: méthodes à temps fixe et les cinétiques. De plus, des approches spéciales ont été mises au point pour mesurer les réactions très rapides.

1.3.2.3 ELISA

A l'heure actuelle, des immuno-diagnostics in-vitro existent et sont basés sur la détection des IgE anti-allergènes. Cette analyse emploie la méthode ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) qui est largement utilisée depuis 1972. L'ELISA repose sur les interactions spécifiques entre les anticorps et les antigènes. Il existe trois manières différentes d'effectuer les tests ELISA :

- Technique ELISA indirecte :

Les IgE anti-allergènes sont détectés et quantifiés par de seconds anticorps anti-IgE humains, marqués avec une enzyme. La réaction de cette enzyme libère un produit coloré, s'il y a présence d'IgE dans le sang. Cette méthode d'analyse est qualitative et quantitative. Ci- dessous (figure 3) est illustrée la technique de la méthode ELISA indirecte en 4 étapes. Entre chaque étape un lavage

[8] Fragment d'ADN

est nécessaire pour éliminer les résidus de la réaction, qui sera suivi par une réinjection de la solution à tester pour les deuxième et troisième étapes. En revanche pour les quatrième et dernière étapes, c'est une solution révélatrice qui est injectée.

Figure 3 - Schéma de la méthode ELISA

- **Etape 1** : des anticorps spécifiques de l'allergène recherché sont déposés sur un support d'analyse.
- **Etape 2** : la solution contenant les allergènes est déposée sur les anticorps. Les allergènes présents se fixent aux anticorps.
- **Etape 3** : des anticorps de détection liés à une enzyme sont déposés sur le support d'analyse. Ils se fixent sur les complexes allergènes-anticorps formés dans l'étape précédente.
- **Etape 4** : une solution révélatrice contenant un substrat de l'enzyme est déposée sur le support d'analyse. L'apparition d'une coloration indique la présence de l'enzyme et donc de l'allergène. L'intensité de la coloration est proportionnelle à la quantité d'allergène présent.

➢ ELISA compétitive :

L'ELISA compétitive est basée sur un processus de liaison compétitive exécuté par l'antigène d'origine connu et quantifié (antigène de l'échantillon) et antigène ajouté (à détecter). Cette technique a le grand avantage de se pratiquer en directe et en indirecte, aussi bien pour détecter les antigènes que les anticorps.

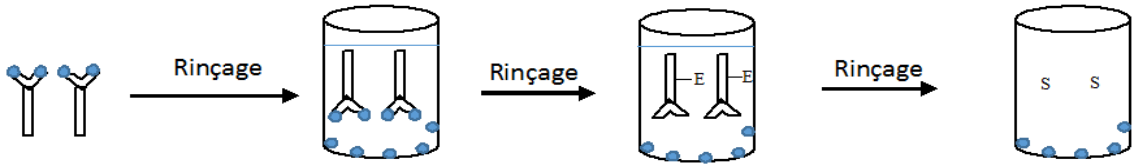


Figure 4 - Schéma d'étapes de la méthode ELISA compétitive

Une méthode simple de l'ELISA compétitive est comme suit :

- **Etape 1 :** Incuber l'anticorps dans l'antigène
- **Etape 2 :** Rinçage
- **Etape 3 :** Ajouter (Ag_Ab) à la cupule couverte d'antigènes
- **Etape 4 :** Rinçage
- **Etape 5 :** Ajouter un anticorps secondaire avec conjugué enzymatique
- **Etape 6 :** Rinçage
- **Etape 7 :** Ajouter un substrat aucune couleur

➢ ELISA en sandwich :

L'ELISA en sandwich est l'une des techniques les moins communes à l'ELISA. Comme son nom l'indique, elle consiste à piéger entre un anticorps de capture et un anticorps de détection l'antigène d'intérêt. Dans cette technique les puits de la microplaque sont tapissés, à l'inverse de l'ELISA indirect, avec des anticorps de captures capables de lier spécifiquement l'antigène recherché. Lors de cette opération, l'anticorps de capture qui assure la spécificité du test se fixe sur les parois des puits par interaction électrostatique. La solution à tester est ensuite déposée dans les puits et en cas de présence de l'antigène recherché, ce dernier va se lier spécifiquement à l'anticorps de capture. Un deuxième anticorps, l'anticorps traceur, capable de se lier à l'antigène capturé est alors ajouté dans le puits et les anticorps traceurs non fixés sont éliminés par rinçage. L'anticorps traceur est couplé à une enzyme catalysant la formation d'un produit coloré. La réaction peut ainsi être quantifiée par colorimétrie à partir d'une courbe d'étalonnage réalisée avec des concentrations connues d'antigène puisque le nombre de molécules d'anticorps traceur fixées dépend du nombre de molécules d'antigènes immobilisées par l'anticorps de capture.

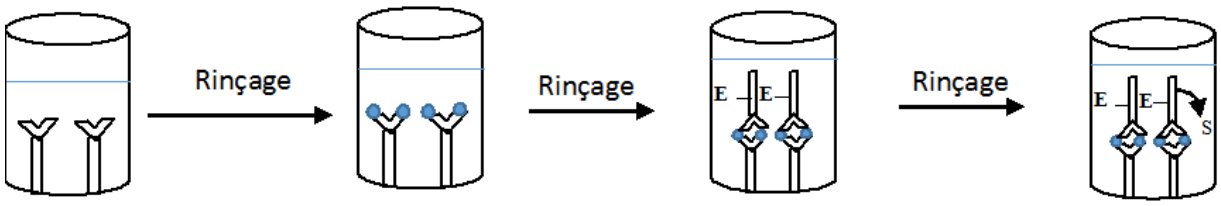


Figure 5 - Schéma d'étapes de la méthode ELISA sandwich

- **Etape 1 :** Puits couverts d'anticorps
- **Etape 2 :** Lavage
- **Etape 3 :** Ajout d'un antigène
- **Etape 4 :** Lavage
- **Etape 5 :** Ajout d'un anticorps secondaire avec conjugué enzymatique
- **Etape 6 :** Lavage
- **Etape 7 :** Ajout d'un substrat et relevé de la couleur

Des améliorations substantielles pourront être obtenues par le remplacement du test macroscopique actuel par l'utilisation d'une bio-puce qui permettrait simultanément une multitude d'opérations dans un environnement miniaturisé. La bio-puce sera constituée d'une matrice de capteurs de couleurs sensibles, précis et faible coût, d'une matrice de micro-puits, et de canaux micro-fluidiques permettant la circulation de sérum.

1.4 Synthèse

Nous avons décrit brièvement dans ce paragraphe le monde de l'immunologie, en mettant en évidence les principaux acteurs du système immunitaire : anticorps et antigènes. Nous avons ensuite montré qu'il existe deux méthodes différentes pour la détection des allergènes à savoir in vivo et in vitro. La méthode in vivo est malheureusement peu fiable et engage le médecin tout le temps de l'analyse qui peut durer longtemps. En revanche les méthodes in vitro sont une bonne alternative pour la méthode in vivo. Il existe bien d'autres méthodes in vitro pour la détection d'allergènes que celles citées précédemment (PCR, Dosages enzymatiques, ELISA), entre autre la méthode plasma. Pour notre application, nous nous basons sur le principe ELISA indirecte expliquée auparavant. Mais pour apporter plus d'amélioration aux méthodes existantes, L'ELISA sera miniaturisée. Cela permettra de réduire le temps d'analyse, la quantité d'échantillon, le coût des tests et le nombre de tests effectué simultanément.

2 De la biologie à l'électronique

Nous avons vu qu'à l'étape finale de la méthode de détection ELISA, nous obtenons une coloration. L'objectif sera donc de détecter cette coloration qui va être proportionnelle à la concentration de l'allergène dans le sérum.

2.1 Méthodes de détection optique

Le principe de la détection optique repose sur la loi de Beer-Lambert. C'est une relation empirique reliant l'absorption de la lumière aux propriétés du milieu qu'elle traverse.

$$\boldsymbol{I(\lambda) = I_0(\lambda) e^{-\propto X}} \qquad \textbf{(I-1)}$$

$\propto$*: Coefficient d'absorption* cm^{-1}
λ: Longueur d'onde
I(λ) : intensité de la lumière sortante
$I_0(\lambda)$: intensité de la lumière incidente

$$\boldsymbol{A_\lambda = \varepsilon_\lambda . X . C} \qquad \textbf{(I-2)}$$

$\boldsymbol{A_\lambda}$: Absorbance en fonction de la longueur d'onde
ε_λ : Absorptivité molaire $l.mol^{-1}.cm^{-1}$
C : Concentration molaire $mol.l^{-1}$
X : longueur du trajet optique en cm

Nous avons ainsi une relation directe entre l'intensité lumineuse et l'absorbance. C'est le principe utilisé dans le spectromètre.

2.1.1 Luminescence

La luminescence est définie comme une émission « froide » de lumière, à l'opposé de l'incandescence qui est dite émission « chaude ».
Nous distinguons plusieurs types de luminescence selon la source de l'excitation, notamment :

- La cristalloluminescence, peut arriver lors de la cristallisation de la solution.
- La chimiluminescence, qui est due à la réaction chimique ayant pour conséquence la production de la lumière.
- l'électroluminescence, qui se produit lors de l'application d'un champ électrique,
- la bioluminescence, qui correspond à la production ou l'émission de lumière par un organisme vivant lors d'une réaction chimique où l'énergie chimique est convertie en énergie lumineuse.

Figure 6 - Effet luminescence

2.1.2 Fluorescence

La fluorescence est une émission lumineuse provoquée par l'excitation d'une molécule. Ce phénomène peut servir à caractériser un matériau. La lumière renvoyée par la molécule excitée lors de la fluorescence peut être de même longueur d'onde ou de longueur d'onde plus grande, ou plus petite. La fluorescence est la méthode la plus fréquente pour les bio-puces à détection optique. Cela est dû à la sensibilité de la méthode.

Toutefois, le plus grand inconvénient des techniques de détection par fluorescence est qu'elles nécessitent un appareillage complexe et coûteux pour l'excitation et la détection du signal émis. Par ailleurs, la fluorescence intrinsèque du support peut poser problème lors de l'acquisition du signal.

2.1.3 Chimiluminescence

La chimiluminescence est une lumière émise suite à l'oxydation du luminol[9] en présence de peroxyde d'hydrogène. Pendant la réaction chimiluminescence, l'ion est à l'état excité, c'est son retour à l'état fondamental qui s'accompagne de l'émission d'une onde électromagnétique.

Cette une méthode bien utilisée dans la détection biologique à l'aide d'un photo détecteur avec un meilleur rendu que la fluorescence [4].

2.1.4 Colorimétrie

La détection optique de l'interaction biologique peut également se faire grâce par l'intermédiaire d'un signal colorimétrique (coloration dans le domaine du visible : 400 – 800 nm). La colorimétrie a pour objectif de caractériser la nature physique des couleurs et de permettre une identification précise de chacune d'entre elles [5]. Avant de rentrer dans les détails de cette science, il est important de bien comprendre la notion de la couleur qui peut être décomposée en trois étapes :

- L'œil reçoit une quantité de lumière dépendante de la couleur de l'objet. La stimulation lumineuse captée par l'œil est appelée stimulus physique.
- L'œil transforme par la suite ce stimulus en informations interprétables par le cerveau. L'œil est ici le capteur ou le récepteur.
- Le cerveau à son tour interprète cette information en fonction de données identiques associées à un ou plusieurs termes descriptifs : vert, rouge, clair, sombre, etc. [5]

Tous ces paramètres font que l'interprétation d'une couleur est subjective et très sensible d'où l'intérêt de concevoir des instruments permettant de mieux détecter la variation colorimétrique.

[9] Solide cristallin, blanc à légèrement jaune, soluble dans la plupart des solvants organiques polaires. Il est insoluble dans l'eau.

2.1.4.1 Paramètres caractéristiques d'une couleur

Trois paramètres définissent une couleur : la teinte, la pureté et l'intensité [5]. Comme indiqué plus haut, la coloration d'une solution obtenue par la méthode ELISA dépend de la concentration du sérum en allergènes. Le but sera donc de déterminer cette concentration en passant par une mesure de la couleur.

2.1.4.2 Méthodes de mesure

Les deux techniques de mesure de la couleur, mesure trichromatique et mesure spectrale, peuvent être utilisées pour la détermination de la concentration.

2.1.4.2.1 Mesure trichromatique

L'origine de la génération trichromatique réside dans la présence dans notre rétine de trois familles de cellules photo réceptrices [6] dites cônes. La sensibilité spectrale de ces cônes diffèrent et couvrent une large étendue du spectre visible. Pour les courtes longueurs d'onde (437nm), elles sont culminées par les cônes (Blue). Les cônes (Green) couvrent les moyennes longueurs (533nm) d'onde et celle des cônes (Red) dominent les grandes longueurs d'onde (564nm).

2.1.4.2.2 Mesure Spectrale

La méthode de mesure spectrale utilise un spectro-colorimètre qui est un appareil constitué d'un système optique pour disperser la lumière et d'une barrette de photo-détecteur pour mesurer la puissance lumineuse à plusieurs longueurs d'ondes. La couleur du stimulus est calculée à partir du spectre donné par l'appareil. Cela nous permet dans le cadre de notre application de déterminer la concentration de la solution sous test.

2.2 Synthèse

Il existe deux méthodes de détection optique : luminescence et colorimétrie. Nous allons préférer une méthode à une autre selon l'application. Pour notre bio puce la méthode optique de détection adoptée est la colorimétrie car c'est la plus adaptée à notre capteur double jonctions enterrées présenté ultérieurement.

3 Contexte de la miniaturisation : système Micro-fluidique

Le but de la thèse est de miniaturiser le système de détection ELISA en utilisant la colorimétrie associée à la loi de Beer-Lambert. Pour miniaturiser le système biologique, nous allons travailler en micro fluidique, la science qui manipule des quantités de l'ordre de microlitre.

3.1 Présentation

Les laboratoires sur puce, tout comme notre application, sont présents dans plusieurs domaines : dans les contrôles agroalimentaires, pour détecter à titre d'exemple la présence d'OGM (Organismes Génétiquement Modifiés), dans les tests in vitro comme les tests de grossesse, les tests de diabète ou encore le diagnostic de crise cardiaque, etc… . Ces puces intègrent plusieurs technologies. Elles sont constituées d'un système électronique pour l'interprétation des résultats et d'un système micro fluidique permettant l'acheminement de la solution afin d'effectuer les tests. La miniaturisation des dispositifs offre une réduction considérable de la quantité des échantillons nécessaires pour les tests, une rapidité de mesure avec une grande fiabilité. La partie micro fluidique d'un laboratoire sur puce est décrite dans ce chapitre. Pour définir la micro fluidique, je cite la définition de Whitesides [7] « la science et la technologie des systèmes qui traitent et manipulent de très faibles volumes de fluides (10^{-9} à 10^{-18}litres) à l'aide de canaux de quelques dizaines à quelques centaines de micromètres ». Selon cette définition, on manipule de faibles quantités de fluides dans des petits volumes. Il est donc possible d'analyser des échantillons de très petite taille physique, à l'échelle de la cellule ainsi que des solutions avec une petite quantité d'analyte[10]. La vitesse des réactions chimiques est proportionnelle à la concentration du réactif, cela est en partie dû au rapport surface/volume qui augmente lorsque la taille du dispositif et le volume de l'échantillon diminue.

En général, les systèmes micro fluidiques sont composés de capillaires ou canaux et de chambres de réactions. Pour les fabriquer, l'opérateur commence par concevoir un moule plan dans lequel il va former des canaux et des puits qui seront ensuite recouverts d'un couvercle. Pour réaliser ces motifs, on utilise la lithographie et la gravure d'un matériau solide comme le verre, le silicium ou le quartz. Ensuite il fait couler le polymère sur le moule et ainsi le système micro fluidique est constitué. Les dimensions caractéristiques des canaux sont de l'ordre de la centaine de microns et voir quelques dizaines de nanomètres. Le puit qui sert de réservoir pour effectuer les tests est le plus souvent de forme carré ou semi-circulaire.

La nature du régime d'écoulement d'un fluide est déterminée par le nombre de Reynolds, qui dépend de la vitesse d'écoulement, du diamètre du capillaire et de la viscosité du fluide [8]. À ces dimensions et dans les régimes de vitesse habituels (inférieure au centimètre par seconde), de l'eau ou des solutions aqueuses plus visqueuses, le nombre de Reynolds est tel qu'il n'y a jamais apparition de turbulence et les écoulements dans ce cas-là sont donc dit laminaires. Afin de créer cette turbulence qui permet aux fluides de se mélanger, plusieurs solutions sont proposées dans la littérature, entre autre, des micro-mélangeurs passifs ou actifs. Dans ce chapitre seront abordées les étapes nécessaires pour la conception et la fabrication d'un système micro fluidique. La première étape se fera sur le choix du matériau. L'étude des contraintes dues à la manipulation de faibles quantités d'échantillons dans des petits volumes, peut être résumée par ces différentes problématiques:

[10] Substance chimique dont on cherche à connaître les propriétés

- L'immobilisation des biomolécules dans le capillaire
- Le déplacement du fluide dans les micro-canaux
- Le mixage des fluides dans un système micro fluidique

Nous allons par la suite détailler l'usinage d'un système micro fluidique.

3.2 Choix du matériau d'un système micro fluidique

Dans le domaine de la micro fluidique plusieurs matériaux peuvent être utilisés selon l'application. Il existe 5 matériaux différents : métal, céramique (utilisée surtout pour les applications à très haute température), polymère, verre et silicium. Depuis les années 90 les technologies polymère (PDMS « PolyDiMéthylSiloxane », PMMA « PolyMéthAcrylate de Méthyle », SU-8, etc.) sont les plus utilisées dans le domaine de la biologie. Dans notre application, comme expliqué précédemment, nous utilisons la méthode ELISA. Nous rappelons que cette méthode consiste à injecter une solution avec des antigènes, puis effectuer un lavage et ensuite injecter le sérum avec les anticorps qui vont aller se fixer sur les antigènes spécifiques qui doivent rester dans le miro tube ou dans le canal capillaire où le test biologique sera effectué. Le système micro fluidique conçu sur PDMS fermé avec un support en verre serait le mieux adapté pour cette application en raison de faible coût de revient et de la facilité de traitement. La question qui se pose à présent est comment traiter ce matériau afin de fixer cet antigène à sa surface ? Des solutions sont proposées dans le paragraphe qui suit.

3.3 Fabrication

Il existe deux techniques de fabrication de systèmes micro fluidiques, la première est dite « dure » et la deuxième est dite « douce ». Les procédés durs sont gravés sur du verre ou sur du silicium avec le but de réaliser des canalisations à deux dimensions destinées plutôt au transport des échantillons, à la séparation ou aiguillage de fluides. Cette technique de fabrication commence par une gravure sur un substrat plan puis remettre un capot qui permettra la fermeture des canalisations. Il existe deux méthodes permettant la gravure du silicium ou du verre : une gravure par voie humide qui se fait par attaque chimique en solution aqueuse ou une gravure par voie sèche qui se fait par un plasma dans laquelle interviennent à la fois les effets de bombardement de la surface par des ions (composante physique de la gravure) et la réaction chimique (composante chimique).

L'autre technique dite douce est utilisée pour la fabrication de microsystème en polymère. Elle est fondée sur la fabrication par photolithographie d'un moule en résine représentant un motif relief particulier de canaux dans un premier temps puis sur l'utilisation du moule pour transposer le motif des canaux dans du polymère utilisé. La fabrication du moule en résine nécessite plusieurs étapes : dans un premier temps, une fine couche de résine photosensible est déposée sur un substrat en verre, silicium ou autre selon la méthode « spin-coating ». Un masque représentant notre circuit micro fluidique est déposé sur cette résine, en suite par insolation UV on reproduit notre circuit sur celle-ci. Le support du système micro fluidique est ensuite coulé sur le substrat afin de

reproduire le schéma micro fluidique. Au final, le support est déposé sur du verre pour son maintien. La figure 7 représente les différentes étapes de fabrication citées précédemment.
Dans la bibliographie, nous trouvons plusieurs polymères :

- PDMS est un polymère organominéral de la famille des siloxanes. Il est très utilisé pour la fabrication des systèmes micro fluidique.
- PMMA, est un thermoplastique dont le monomère est le Méthacrylate de Méthyle (MAM). Il est plus connu sous le nom commercial du plexiglas.
- SU-8 est une résine photosensible négative, polymère très visqueux, utilisée dans la fabrication de micro systèmes.

Cette technique dite « douce » permet une fabrication rapide et sans moyens techniques lourds. Cette possibilité rend cette méthode incontournable par rapport aux techniques dites "dures" décrites précédemment. En terme de coût, les techniques douces ont l'avantage d'utiliser que de simples appareillages comparés aux techniques dures, et le PDMS est bien meilleur marché que le verre et le silicium. Le système micro fluidique peut être conçu sur plusieurs matériaux qui sont choisis selon l'application. En revanche, pour les applications biologiques en solutions aqueuses le PDMS est le plus approprié pour plusieurs raisons [9] :

- traitement chimique de sa surface par plasma [10] ou déposition de vapeur [11]
- biocompatible
- optiquement transparent à partir de 280 nm et peut donc être utilisé pour un grand nombre d'appareils de détection comme la spectroscopie UV ou encore la fluorescence
- réversiblement déformable

Tous ces avantages font du PDMS le matériau le plus utilisé en micro fluidique.

3.3.1 Techniques de micro-fabrication

La fabrication de système micro fluidique commence par le dessin des canaux grâce à un logiciel dédié de dessin (LEDIT, Adobe Illustrator…). Ce dessin doit ensuite être transféré sur un support en verre ou un film plastique, étape réalisée par un fabricant de photo-masques. Les micro-canaux sont par la suite imprimés, si le support est un film plastique, avec une encre opaque aux UV ou, si le support est une plaque de verre, avec du chrome.

3.3.1.1 Photolithographie

La photolithographie [12] consiste à éclairer un substrat photosensible à travers un masque afin de lui transférer l'image du système micro-fluidique. Ce substrat peut être une résine photosensible positive (dont la partie exposée à la lumière devient soluble au révélateur et la partie non exposée reste insoluble) ou négative (dont la partie exposée à la lumière devient insoluble au révélateur et la partie non exposée reste soluble).

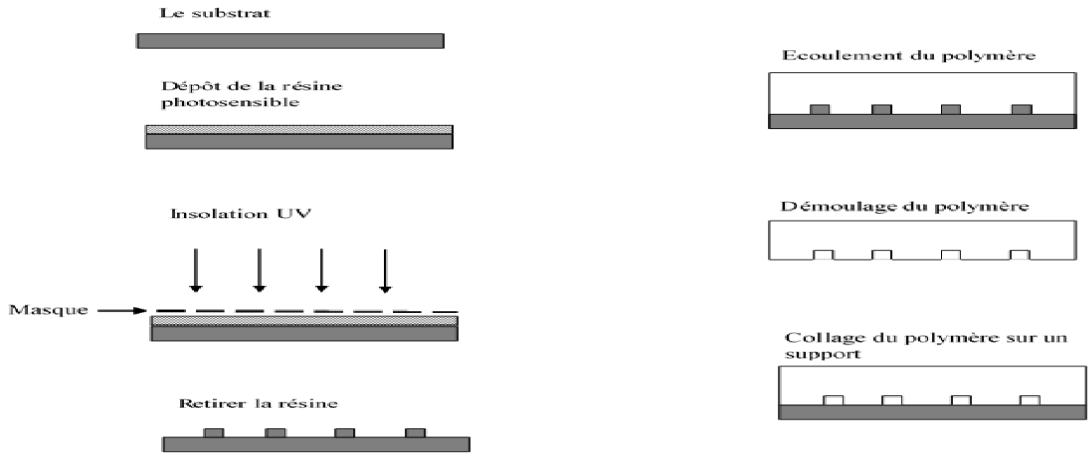


Figure 7 - Etapes de réalisation d'un système micro-fluidique par la technologie douce

Le schéma ci-dessus montre les étapes de fabrication du système micro-fluidique en photolithographie :

- Une résine est étalée sur un support plat avec une épaisseur déterminée
- La résine, protégée par le masque contenant les canaux du système micro fluidique, est exposée aux UV
- Une fois le masque retiré, nous obtenons un moule constitué du négatif de notre système micro-fluidique
- On fait couler le polymère sur la résine afin d'avoir notre système micro-fluidique convenant à notre dessin initial
- La face du bloc du polymère est collée sur une lamelle de verre à l'aide d'un traitement plasma pour fermer la puce micro fluidique

3.3.1.2 Fabrication dure sur le silicium et le verre

Il existe plusieurs manières de gravure du système micro fluidique sur le silicium et le verre [13] :

- Gravure isotrope du silicium et verre
- Gravure anisotrope du silicium
- Gravure physique sèche du silicium
- Gravure chimique sèche du silicium
- Gravure physico-chimique sèche : systèmes RIE
- Gravure physico- chimique avec inhibiteur

3.3.2 Synthèse

Le tableau suivant établit une comparaison entre la fabrication douce sur PDMS et la fabrication dure sur le verre ou le silicium.

PDMS	Silicium/ verre
Biocompatible	Rigide
Peu coûteux, rapide à concevoir	Géométrie bien contrôlée
Courte durée de vie	Nombreux traitements de surface
Absorbe solvant	Compatible avec solvant
Souple	

Tableau 1 - Comparaison entre la fabrication douce et la fabrication dure

3.4 Immobiliser des biomolécules sur le support du système micro fluidique

L'immobilisation des biomolécules en micro fluidique est une étape clé dans le protocole des analyses bio médicales. La méthode d'immobilisation doit donc être efficace, reproductible et elle doit garantir une immobilisation stable durant les différentes étapes. De par son importance, beaucoup de recherches ont été engagées afin de trouver une solution à l'immobilisation des particules dans les canaux des systèmes micro fluidiques. Dans ce paragraphe les solutions trouvées dans la littérature sont présentées.

3.4.1 Immobilisation par interactions faibles

L'immobilisation des biomolécules par interaction faible se traduit par une adsorption directe de la biomolécule sur la surface. Pour ce faire, cette technique utilise les interactions de faibles énergies entre le support solide et la biomolécule [2] :

- liaisons hydrogènes se produisant entre les atomes électropositifs et électronégatifs
- interactions électrostatiques se produisant entre deux groupements ioniques ;
  Exemple : la liaison des oligonucléotides et brins d'ADN qui portent extérieurement une charge négative. Cette charge négative est due à la présence des groupements phosphate et à une surface chargée positivement.
- interactions hydrophobes qui peuvent se faire entre groupements polaires ou hydrophobes
- interactions de Van der Waals qui sont dues au mouvement des électrons dans la molécule.

Les interactions hydrophobes, souvent utilisées pour les protéines, comme dans notre application, permettent la physisorption des anticorps sur un support en polystyrène pour la réalisation de tests ELISA en microplaque. De ce fait, cette technique d'immobilisation pourrait être utilisée dans notre système microfluidique.

3.4.2 Immobilisation covalente

Une autre méthode d'immobilisation est présente dans la littérature. Il s'agit de l'immobilisation covalente qui a pour but de renforcer la stabilité de l'immobilisation. Cette réaction de couplage

covalent doit pouvoir se faire en conditions douces afin de protéger la biomolécule (en particulier dans le cas des protéines) et doit former une liaison stable dans les conditions du test.

3.4.2.1 Couplage covalent classique

Ce type de couplage covalent implique une activation de surface préalable. En ce qui concerne les protéines, la liaison peut faire intervenir les groupements fonctionnels des chaînes latérales des différents acides aminés, ou bien les extrémités N- et C-terminales. L'immobilisation covalente se base sur la chimie des groupements Amine, acide carboxylique (plus particulièrement sous la forme d'équivalent activé), alcool et thiol. Des exemples d'immobilisation par liaison covalente sont présentés sur la figure 8. Plusieurs exemples dans la littérature utilisent des solutions pour fixer l'antigène sur la surface. Il est possible de greffer une Amine par attaque nucléophile sur une surface d'époxydes. MacBeath et al. [14] proposent l'immobilisation des protéines par leurs groupements Amines sur des lames de verre activées par des Silanes portant des groupements Aldéhyde. D'autres chercheurs proposent une méthode d'immobilisation covalente d'ADN modifié par une Amine primaire dans un gel de Dextran, en réalisant une activation du Dextran par des fonctions Aldéhyde [15] [16]. Une autre méthode est très utilisée, elle consiste à immobiliser les sondes aminées sur une surface présentant des fonctionnalités acides carboxyliques activées.

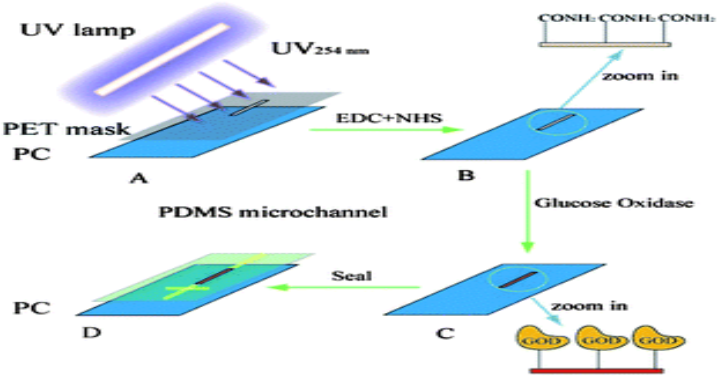


Figure 8 - En « C » exemple d'une liaison covalente

3.4.2.2 La photochimie

Cela consiste à une activation de la surface par un rayonnement UV. Cette méthode est une alternative intéressante et peu coûteuse pour l'immobilisation covalente de biomolécules sur des surfaces peu réactives ou inertes [2].

3.4.3 Activation de la surface par plasma

Le plasma est défini comme un gaz ionisé dans lequel se côtoient des charges négatives, positives, et neutres, des espèces moléculaires ou atomiques excitées, des radicaux, des électrons et des photons [17]. Il peut être utilisé pour l'activation de la surface du matériau du système micro fluidique [18].

3.4.4 Immobilisation par bio-affinité

Il s'agit d'une interaction moléculaire entre biomolécules qui permet l'immobilisation de la sonde sur le support. Cette méthode a l'avantage d'une immobilisation orientée et spécifique. Des exemples de ces interactions [2] :

- Interaction biotine/streptavidine: très utilisée en biologie moléculaire, sa constante de dissociation (Kd) est de l'ordre de 10^{-15} mol/L, se classant ainsi parmi les plus fortes interactions non-covalentes connues dans la nature.
- Immobilisation par hybridation d'oligonucléotides complémentaires. Ce procédé consiste à mettre en contact une solution d'oligonucléotides avec un support micro fluidique puis à la dessécher dessus. Ainsi les oligonucléotides grâce à leur support d'immobilisation peuvent servir de réactifs de capture pour l'immobilisation des séquences nucléotidiques complémentaires des oligonucléotides immobilisés. Cependant, vu que la protéine est volumineuse, son couplage avec oligonucléotide est relativement difficile [19].
- Etiquettes poly-histidine : c'est un motif d'acide aminé dans une protéine constitué d'au moins six résidus histidines. L'étiquetage par poly-histidine peut être utilisé pour détecter les interactions protéine-protéine. Cette technique est considérée comme moins sensible et plus difficile à mettre en place.

3.5 Mélanger les fluides dans les micro-puits

On manipule en micro fluidique des fluides en très faible quantité. Les pertes d'énergies liées au frottement de ces fluides sur les parois du micro-canal entrainent la perte de charge des écoulements. Cette dernière est donnée par les équations (I-3) et (I-4) [20].

$$\Delta \boldsymbol{p} = \frac{\boldsymbol{8\eta L}}{\boldsymbol{\pi R^4}} \boldsymbol{Q} \qquad \text{(cas d'un tube)} \qquad \textbf{(I-3)}$$

Ou

$$\Delta \boldsymbol{p} = \frac{\boldsymbol{3\eta L}}{\boldsymbol{lh^3}} \boldsymbol{Q} \quad \text{(cas d'un canal à section rectangulaire)} \quad \textbf{(I-4)}$$

Avec η (Pa.s) : viscosité dynamique du fluide
L (m) : longueur de canal
Q ($m^3.s^{-1}$) : débit du fluide
R (m) : diamètre du tube
l (m): largeur du rectangle
h (m): profondeur du rectangle

Selon ces équations, les pertes de charges augmentent avec la viscosité. La miniaturisation entraine comme inconvénient des écoulements laminaires à cause du faible nombre de Reynolds (I- 5) [8].

Dans un écoulement laminaire, deux particules fluides voisines à un instant donné restent voisines aux instants suivants.

$$\mathbf{R_e} = \frac{\textbf{Force d'inertie}}{\textbf{Force de viscosité}} = \frac{\rho v d}{\mu} \qquad \textbf{(I-5)}$$

$\boldsymbol{\rho}$: masse volumique du fluide ($\mathrm{kg.m^{-3}}$) $\boldsymbol{v}$: vitesse caractéristique ($\mathrm{m.s^{-1}}$)
$\boldsymbol{d}$: diamètre du canal (m) μ : viscosité dynamique du fluide(Pa. s)

Quand R_e est inférieur à 1 (typiquement entre 10^{-3} et 10^{-2} [21]), les écoulements sont laminaires (voir la figure 9).

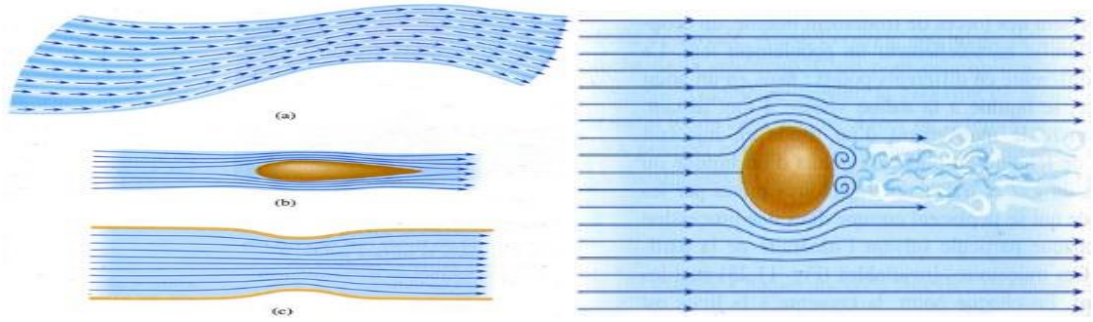


Figure 9 - (a) L'écoulement laminaire est illustré en traçant les vecteurs vitesses aux différents points d'un fluide. (b) Les lignes de courant dans un écoulement laminaire autour d'un obstacle et (c) dans un conduit. Sur la photo de gauche on a un modèle de fluide turbulent sous l'effet de la boule intégrée dedans [22]

Compte tenu des différents éléments présentés, le principe du test ELISA en premier temps où la détermination de la présence des anticorps dans le sérum passe par une étape importante qui est le couplage des anticorps aux antigènes spécifiques et le couplage les anticorps liés à une enzyme, permettant la coloration de la solution de test, au composant (anticorps- antigènes), se fait naturellement à l'échelle macro, ce qui n'est automatique à échelle micro où la problématique des écoulements laminaires intervient. Il est donc indispensable de trouver une solution pour mélanger les fluides dans le capillaire. Dans la littérature plusieurs solutions sont proposées, je vous en présente quelques-unes :

- ✓ Micro-mélangeurs

Il existe deux familles de micro-mélangeurs : les micro-mélangeurs passifs et les micro-mélangeurs actifs. Les micro-mélangeurs passifs n'utilisent pas de mécanisme extérieur créant des flux secondaires. Les micro-mélangeurs actifs fonctionnent par stimulus externe. Ils nécessitent une intervention extérieure autre que l'énergie de pression pour injecter le fluide.

On trouve dans la littérature la liste suivante des micro-mélangeurs actifs [23] :

- Gradient de pression

Cela consiste à appliquer une différence de pression sur les extrémités du micro canal. Du fait des

frottements sur les parois dus à la viscosité, les écoulements présentent un profil de vitesse parabolique [24]. Face à l'avantage de la simplicité, cette solution présente quelques inconvénients : la difficulté de trouver une source d'actionnement fluidique fiable et ne présentant pas de pulsation à des débits aussi faibles, de l'ordre de quelques µL/min. Ce système est donc adapté aux canaux de section proche de 0,1 mm² ce qui permet d'éviter de trop fortes pertes de charges [25].

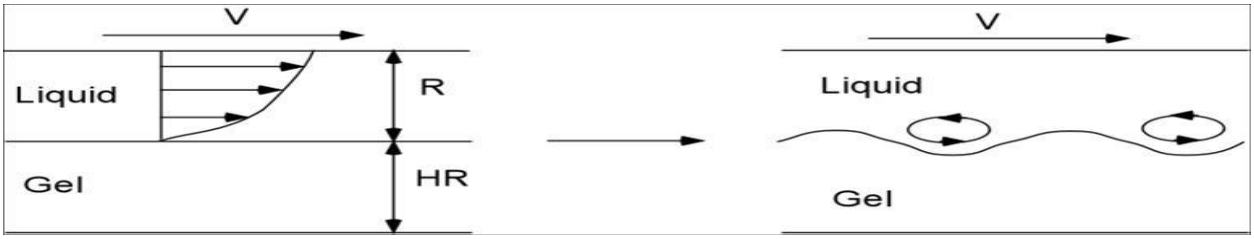


Figure 10 - Exemple d'un micro mélangeur utilisant un gradient de pression

- Injection d'un fluide de confinement

Son principe est basé sur le confinement des fluides contenant l'analyte [10]. Il est possible de confiner un liquide, en utilisant les propriétés des flux laminaires, en injectant perpendiculairement au canal un flux de confinement. Comme expliqué auparavant, dans les conditions laminaires les deux fluides ne se mélangent pas et l'échantillon est confiné sous la forme d'un film très fin contre la paroi du canal et sa vitesse d'écoulement est accélérée.

- Pression perturbatrice

Cela consiste à mettre des micro-pompes dans le système micro-fluidique. Elles injectent le fluide avec des pressions différentes dans le liquide principal auquel il doit être mélangé [26]. Ces micro-pompes peuvent être des seringues qui viennent injecter le fluide dans des micro-canaux perpendiculaires au canal principal.

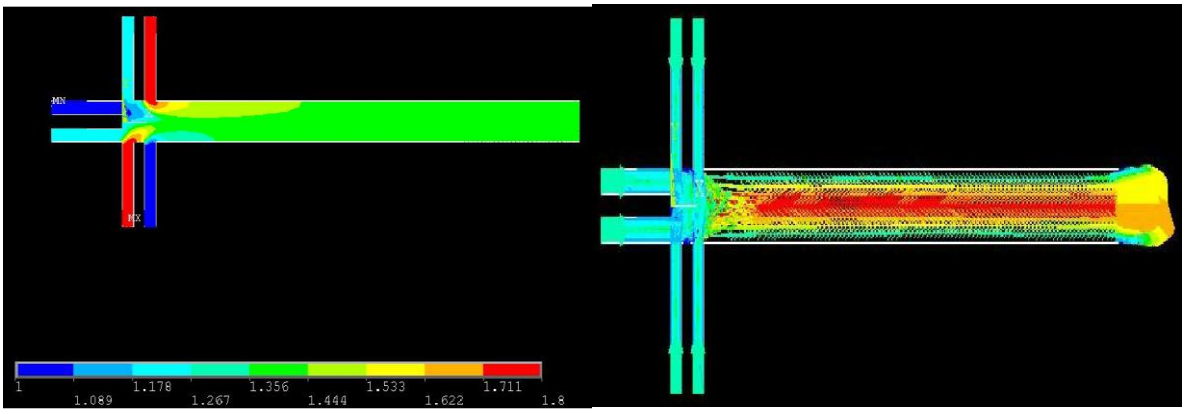


Figure 11 - Modèle de micro-mélangeur à pression perturbatrice [26]

- Electrohydrodynamique [27, 28]

A titre d'exemple : mélanger par électro-osmose [29]. Le contact d'un fluide avec certains matériaux isolants constituant les parois du canal en micro fluidique donne naissance à des charges statiques à sa surface. Ces charges vont être équilibrées localement dans la solution par une couche de charge opposée. L'épaisseur de cette couche périphérique peut aller jusqu'à une centaine de nanomètres. Cette dernière est mise en mouvement, par effet électro phorétique**,** en appliquant une différence de potentiel électrique aux extrémités du canal.
Le déplacement de cette couche entraîne un déplacement de l'ensemble du fluide présent dans le canal, contrairement à la différence de pression (cité précédemment). Cet effet est d'autant plus fort, donc efficace, que la section du canal est faible.
Cette méthode a l'avantage d'être facilement intégrable au sein d'un composant miniature. En revanche, les sources de tension nécessaires sont généralement assez importantes (de l'ordre du millier de volts) de plus que les problèmes d'électrolyse au niveau des électrodes.
Dans le même esprit, un effet magnétohydrodynamique peut être utilisé. La conjugaison d'un champ électrique produisant un déplacement d'ions et d'un champ orthogonal magnétique, engendrant ainsi une force de Lorentz sur ces ions, permet d'induire un déplacement du fluide suivant la troisième dimension.

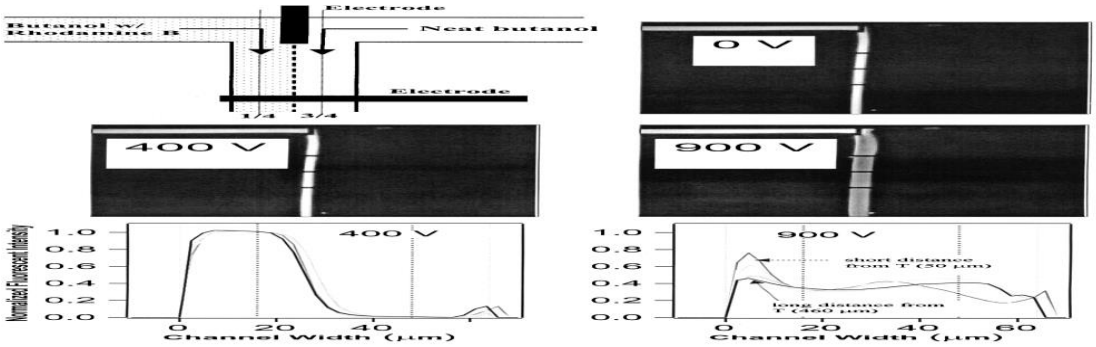


Figure 12 - Exemple d'un micro-mixeur Electro-hydrodynamique [27]

- Electromouillage [30]

C'est une autre technique pour faire circuler et mélanger les fluides dans les systèmes microfluidique. Cette technique repose sur le transfert du fluide en forme de plusieurs gouttelettes sur une électrode à laquelle on applique un champs électrique.

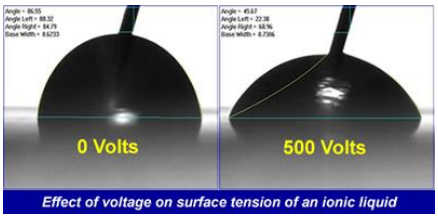


Figure 13-1 phénomène d'électromouillage [30-1]

- Diélectrophorétique

Lorsque les molécules polarisables telles que les grandes biomolécules et les cellules sont placées dans un champ électrique non uniforme, elles peuvent être orientées grâce à un champ électrique appliqué au borne du micro canal. Cette même technique peut être utilisée pour séparer deux fluides mélangés auparavant.

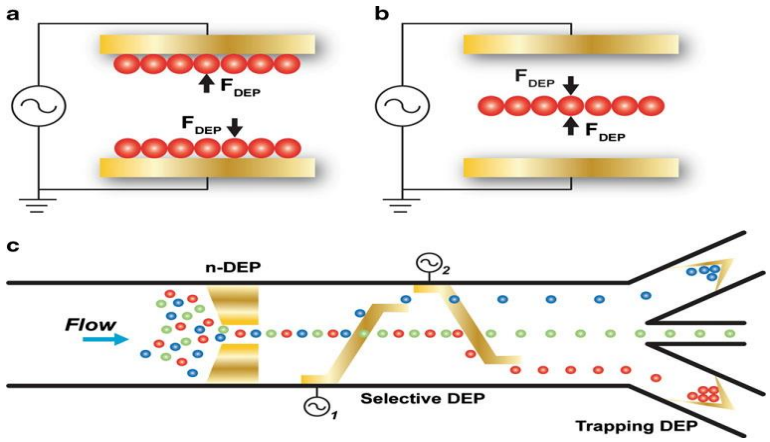


Figure 14 - Exemple d'une séparation de micromolécule en micro-fluidique. DEP : Dielectrophoretic a) positive (pDEP). b) négative (nDEP) ce qui influence les cellules mises à l'intérieur d'un champ. c) Exemple de système micro fluidique déjà utilisé avec un diélectrophorétique. [31]

- Electrocinétique

Cette méthode se base sur des forces électrocinétiques périodiques à basse fréquence qui sont utilisés pour mélanger rapidement et efficacement des échantillons du fluide électrolytique dans un mélangeur micro-fluidique. Cette méthode a l'avantage de ne pas utiliser un matériel supplémentaire qui permettra de créer les perturbations, elle se base uniquement sur une source de puissance à haute tension qui entraîne simultanément le mélange des fluides.

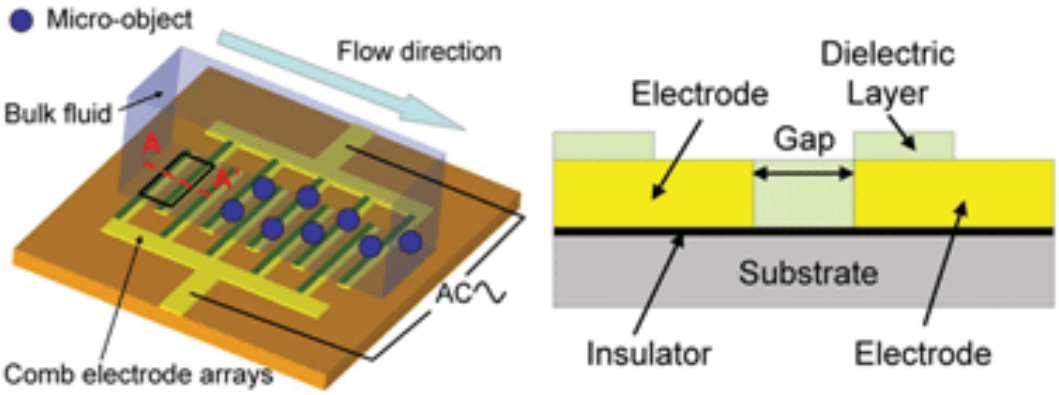


Figure 15 - Exemple de micro-mélangeur électrocinétique [32]

- Acoustique

Cette méthode se base sur l'envoi d'ondes acoustiques. Une membrane est déposée à l'entrée du canal, l'envoi d'une onde acoustique sur cette dernière l'a fait vibrer. Ainsi une vibration est créée au niveau des fluides qui sont dans les canaux, ce qui permettra de les mélanger et de les faire circuler dans le capillaire.

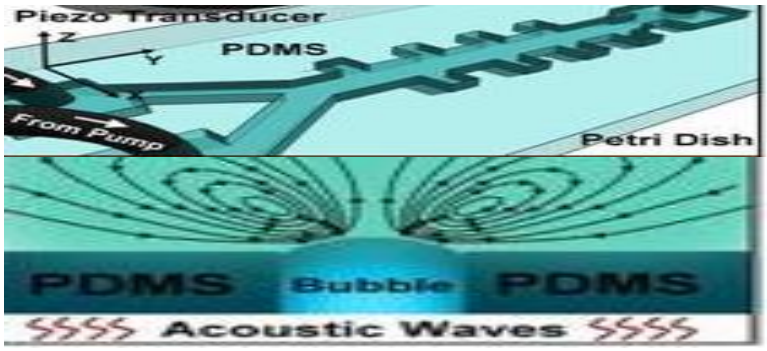


Figure 16 - Micro-mélangeur acoustique [33]

Micro-mélangeurs passifs :

Les micro-mélangeurs passifs fonctionnent selon deux principes. Le premier est de diviser l'écoulement en plusieurs parties afin d'augmenter la diffusion moléculaire. Le deuxième consiste à générer une trajectoire chaotique. Parmi les micro-mélangeurs passifs trouvés dans la littérature [23], il y a des micros mélangeurs par :

- Gouttes
- Injection
- Advection chaotique
- Lamination (canaux parallèles, canaux en série)
- Contact frontal

Dans le micro-mélangeur à contact frontal, les deux entrées des flux se trouvent face à face avec une sortie perpendiculaire dans une jonction en T ou avec une sortie angulaire sortie en Y. Afin que le mélange soit efficace il faut insérer les fluides avec une vitesse suffisante ou avec des viscosités différentes.

- Scission des flux

Ce type de micro-mélangeur est utilisé pour le mélange de deux fluides distincts. Chaque canal du système micro fluidique est subdivisé en plusieurs canaux de plus petite dimension, pour ensuite permettre la mise en contact des fluides à mélanger sur de très faibles épaisseurs de films. Les micro-canaux du premier fluide à mélanger rencontrent les micro-canaux du deuxième fluide à mélanger et sont par la suite placés alternativement les uns à la suite des autres. Les deux fluides rentrent en contact dans un seul micro-canal de sortie. Ce type de système micro fluidique peut être limité par les dimensions des micro-canaux et la viscosité des fluides.

- Un canal serpentin

En créant un canal serpentin comme sur la figure 1. C'est le mélangeur passif le plus simple il permet d'augmenter la longueur du canal et ainsi le temps de résidence du fluide. Avec ce type de mélangeur le temps de diffusion diminue au carré avec la largeur du canal, pour diminuer donc le temps de mélange et la taille du serpentin, il est préférable d'utiliser des serpentins de faible largeur. Ce mélangeur à l'avantage de ne nécessiter que des technologies de base nécessaires à la fabrication.

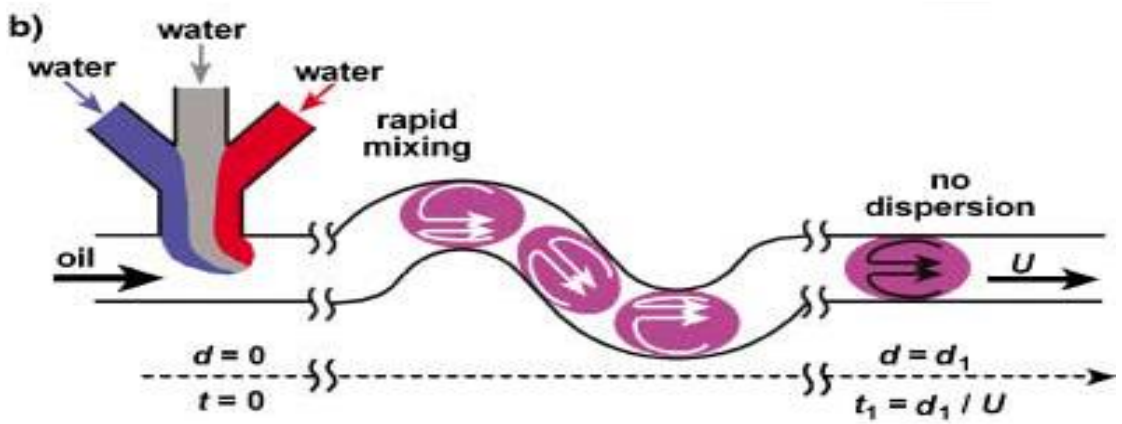


Figure 17 - Canal serpentin en micro fluidique [34]

- Chevron [35]

Afin de palier l'inconvénient du canal sepentin qui est le temps de mélange dans les microcanaux, il est possible d'utiliser un mécanisme appelé « chaos Lagrangien » qui permet de créer un mouvement pseudo chaotique dans les microcanaux. Cette méthode permet d'augmenter, d'une manière assez rapide, la surface d'échange entre les deux fluides. En microfluidique le moyen le plus simple pour créer ce type de flux consiste à structurer une des surfaces du canal avec des chevrons. La présence de chevrons crée des zones présentant un diamètre hydraulique plus grand et donc une résistance fluidique plus faible, provoquant ainsi des repliements entre les deux flux de liquides. Ce type de mélangeur permet de mélanger un volume de 200 nL en moins d'une seconde [36].

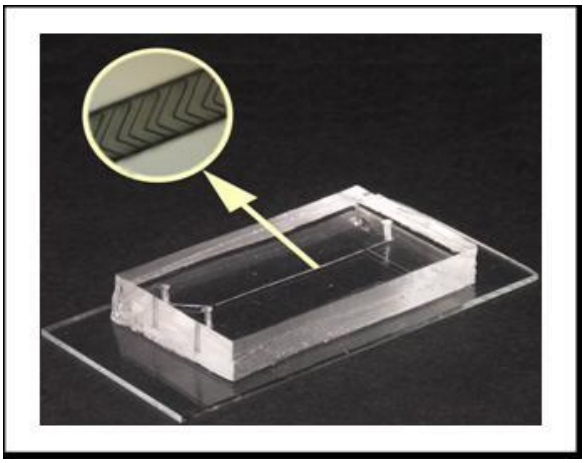


Figure 18 : Chevron [36]

De par sa simplicité et son efficacité ce type de micro mélangeur pourra être utilisé dans notre système microfluidique.

Ci-dessous un tableau récapitulatif des différents mélangeurs présentés ainsi que leurs spécificités.

Mélangeur	Type	spécificités
Gradient de pression	Actif	Simple et adapté aux canaux de section proche de 0,1 mm² Demande une source d'actionnement fluidique fiable ce qui est difficile
Electrohydrodynamique	Actif	Efficace pour les faibles sections du canal Facilement intégrable Risque de problème d'électrolyse Nécessite d'importantes sources de tensions
diélectrophoréstique	Actif	Technique efficace pour mélanger ou séparer les fluides en microélectronique
Electrocinétique	Actif	Utilisation uniquement d'une une source de puissance à haute tension
Scission des flux	Passif	Limité par les dimensions des micro-canaux et la viscosité des fluides
Canal serpentin	Passif	Simple Temps de mélange est lent
Chevron	Passif	Simple Peu couteux Efficace

Tableau 2 : Différents micro-mélangeurs et leurs spécificités

3.6 ELISA dans des micro-puits

La méthode ELISA habituellement en macro puits peut être aussi miniaturisée en utilisant des micro-puits [37]. Toutes les étapes de la méthode ELISA seront reproduites de façon automatique à l'aide d'un appareil muni de micro-seringues comme le montre la figure 19.

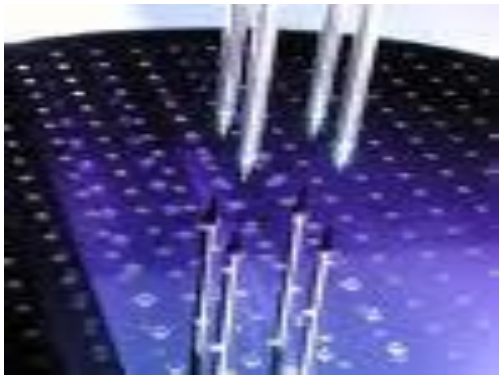


Figure 19 - Schéma présentant une plaque de micro-puits sous pointe

3.7 Synthèse

La miniaturisation des dispositifs d'analyses biologiques poursuit son ascension avec le développement des biocapteurs, dans le but de proposer des petits appareils portatifs et d'améliorer ainsi les tests biologiques effectués auparavant. La miniaturisation fait appel à deux sciences : Micro fluidique que nous avons abordé dans ce paragraphe 3 et qui représente l'art des petits volumes, avec la problématique d'avoir des écoulements laminaires à cette échelle là et auxquelles nous avons apporté des solutions trouvées dans la littérature, et la microélectronique que nous allons aborder dans le paragraphe suivant.

Dans ce paragraphe, nous avons présenté en bref la micro-fluidique, cette science qui peut se définir comme l'ensemble des travaux ayant trait à la compréhension et à la manipulation d'écoulements de fluides (gaz ou liquides) à l'échelle microscopique. Cela comprend l'étude de tous les éléments et outils qui servent à la gestion des fluides dans les micro-canaux à savoir les pompes, les micro-mélangeurs passifs et actifs, les traitements de surface, etc….
Nous avons pu voir dans ce chapitre que le choix du matériau est l'une des étapes importantes, et il dépendra de l'application envisagée. Ensuite nous avons exposé la fabrication du système micro fluidique, il existe pour cela deux méthodes : une méthode dite douce, elle est utilisée pour la fabrication de microsystème en polymère.

Elle est fondée sur la fabrication par photolithographie d'un moule en résine représentant un motif particulier de canaux dans un premier temps puis sur l'utilisation du moule pour transposer le motif des canaux dans du polymère utilisé. Un masque représentant le circuit micro fluidique est déposé sur le substrat, en suite par insolation UV on dessine le circuit sur celui-ci. Le support du système micro fluidique est ensuite coulé sur le substrat afin de reproduire le schéma micro fluidique. Au final, le support est déposé sur du verre pour son maintien.

La deuxième technique est dite « dure », les motifs sont gravés sur du verre ou sur du silicium avec le but de réaliser des canalisations à deux dimensions destinées plutôt au transport des échantillons, à la séparation ou l'aiguillage de fluides. La fabrication de cette technique commence par une gravure dans un substrat plat puis remettre un capot qui permettra la fermeture des canalisations.

Il existe deux méthodes permettant la gravure du silicium ou du verre : une gravure par voie humide qui se fait par attaque chimique en solution aqueuse ou une gravure par voie sèche qui se fait par plasma dans laquelle interviennent à la fois les effets de bombardement de la surface par des ions (composante physique de la gravure) et la réaction chimique (composante chimique).

4 Contexte de la micro-électronique

4.1 Capteurs optiques

Les capteurs numériques d'image sont omniprésents dans plusieurs objets électroniques autour de nous, des plus basiques au plus professionnels (jouets, téléphones, appareil photo, caméra, appareils médicaux,....) et dans tous les domaines (la santé, la biologie, l'aéronautique….).

De ce fait, les chercheurs ont été amenés à suivre la croissance exponentielle de l'évolution de ces objets numériques qui sont composés de capteurs d'images et d'améliorer leur paramètres le coût, la sensibilité, la résolution, la taille et bien d'autres encore qui deviennent la problématique primordiale. Ces capteurs d'images sont principalement soit des capteurs CMOS soit des capteurs CCD.

4.1.1 Capteurs en technologie CCD

Le CCD (Charge-Coupled Device), ou en français « dispositif à transfert de charge » est inventé par George E. Smith et Willard Boyle en 1969. Il a eu une évolution importante qui lui a rapidement permis d'être adopté pour des applications de pointe (ex : imagerie astronomique) puis popularisé sur les caméras et appareils photo.

Le principe du CDD est basé sur une capacité MOS (voir figure 20)

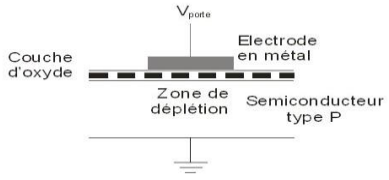


Figure 20 - Porte MOS pour silicium dopé p

Lorsqu'un photon touche le capteur, il est absorbé par le silicium. Si l'énergie du photon est supérieure à l'énergie du gap, il est donc absorbé dans la zone de déplétion et il produit une paire électron-trou. L'électron reste dans la zone de déplétion tandis que le trou se dirigera vers l'électrode de terre.

La quantité de charge négative (électrons) qui peut être collectée est proportionnelle à la tension appliquée, à l'épaisseur d'oxyde et à la surface de l'électrode de porte. Le nombre total d'électrons qui peut être stocké est appelé contenance du puits (« well capacity »). Quand la longueur d'onde augmente, les photons sont absorbés à une profondeur croissante. Ceci limite notamment la réponse aux longueurs d'onde élevées.

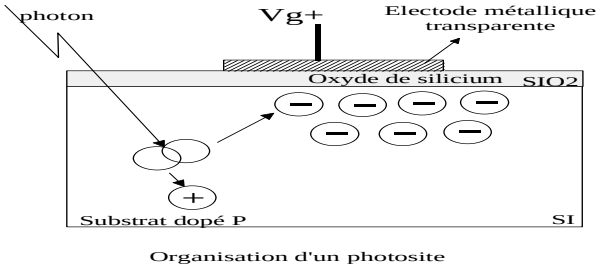


Figure 21 - Illumination d'une photo site et création de trous

Le transfert de charge se fait, au rythme de plusieurs périodes du signal, d'une capacité MOS à une autre (voir figure 22)

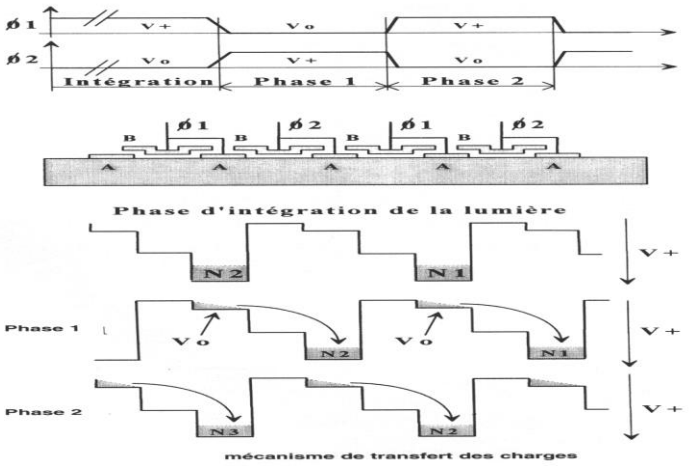


Figure 22 - Mécanisme de transfert de charge

Il existe plusieurs types de CCD dont :

- Le CCD « plein cadre » (full frame) où l'ensemble de la surface contribue à la détection. C'est le plus sensible mais il nécessite un obturateur externe pour permettre le cycle de transfert de charge sans illumination. Ce type de capteur reste très sensible à l'éblouissement, quand un photosite déborde, il inonde ses voisins.
  Pour pallier cet inconvénient, il peut être équipé d'un dispositif dit « drain d'évacuation de charges » (LOD-Lateral Overflow Drain) qui élimine les électrons en trop plein des photo sites et limite la propagation de l'éblouissement, mais cela diminue la sensibilité.

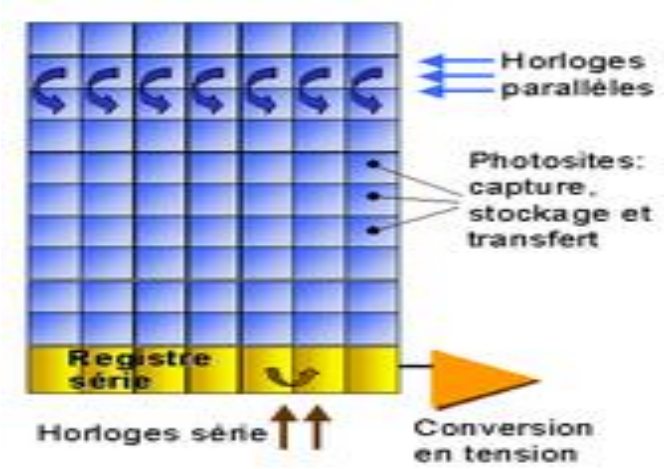


Figure 23 - CCD plein cadre

- Le CCD « à transfert de trame » (full-frame transfer) : il associe deux matrices CCD de même dimension, l'une exposée à la lumière, l'autre masquée. On peut ainsi procéder à un transfert rapide de la matrice d'exposition vers la matrice de stockage puis à la numérisation de celle-ci en parallèle avec l'acquisition d'une nouvelle image. Le principal inconvénient est de diminuer par deux la surface du photosite à taille de capteur égale (sensibilité moitié moindre).
- Le CCD « interligne » : plus complexe ; il associe une photodiode à chaque cellule CCD. C'est lui qui est principalement utilisé dans les photoscopes.

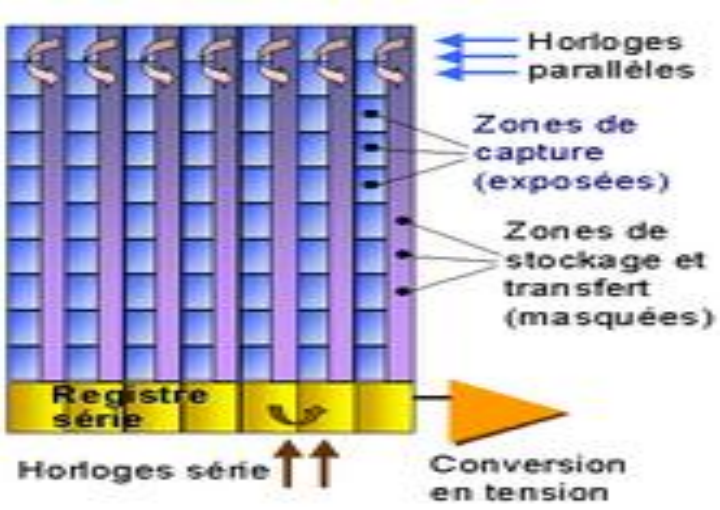


Figure 24 - CCD interligne

Dans tous les CCD, le bruit (électrons parasites) augmente très fortement avec la température. Ce type de capteur n'est donc pas adapté au micro système miniaturisé d'autant plus qu'il n'y a pas de possibilité de lecture ni d'écriture en direct sur le pixel de ce capteur.

4.1.2 Capteurs en technologies CMOS

Les techniques du circuit intégré CMOS qui comportent plusieurs transistors MOS complémentaires (notées CMOS pour Complementary Metal Oxyde Semiconducteur) possèdent de nombreuses propriétés intéressantes, et permettent d'intégrer des capteurs optiques. Nous pouvons citer le faible coût des circuits intégrés allié à leur basse consommation.

Cette technologie de pointe est l'une des plus avancées et des plus maitrisées dans le domaine de la micro-électronique. Elle est destinée au développement des systèmes à très haute échelle d'intégration (VLSI « Very Large Scale Integration »).

4.1.2.1 Transistors CMOS

Il existe plusieurs types de technologies CMOS, les plus connues sont les suivantes :

- CMOS à caisson N :
  La technologie CMOS à caisson N utilise un substrat en silicium de type P, pour les NMOS, dans lequel on peut placer un caisson en silicium de type N (cf. figure 25 'a').
- CMOS à caisson P :
  La technologie CMOS à caisson P, utilise un substrat en silicium de type N, pour les PMOS, dans lequel on peut placer un caisson en silicium de type P pour des transistors NMOS (cf. figure 25 'b').
- CMOS à double caisson :
  La technologie CMOS à double caisson utilise un substrat en silicium de type quelconque, sur lequel sont déposés des caissons de type N et des caissons de type P (cf. figure 25 'c').

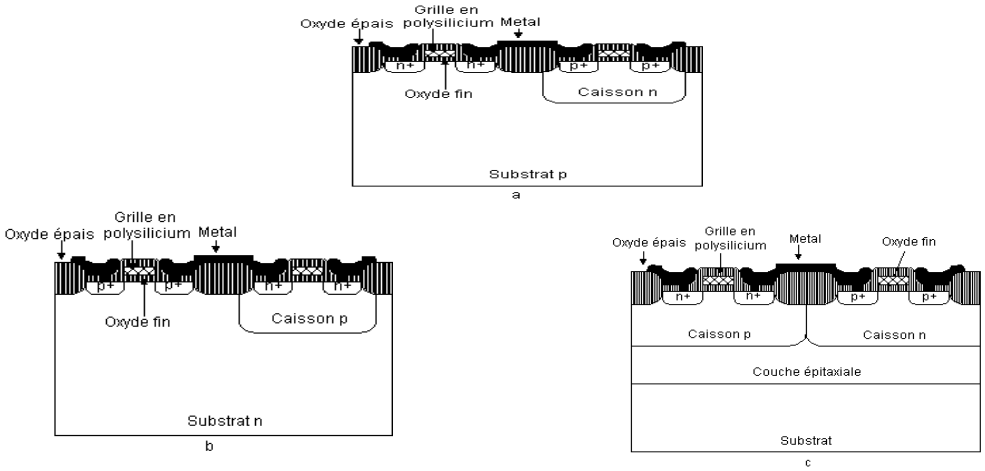


Figure 25 — a) Coupe d'un transistor avec une technologie NMOS b) Coupe d'un transistor avec une technologie PMOS ; c) Coupe d'un transistor avec la technologie à double caisson

Les transistors NMOS et PMOS qui peuvent être réalisés avec ces technologies sont utilisés pour former des fonctions analogiques ou numériques ; une coupe de ces transistors est donnée sur les

figures 25. Les procédés de fabrication utilisés dans chaque technologie CMOS pour réaliser ces transistors sont différents d'un fabriquant à un autre et évoluent continuellement pour réaliser des composants plus performants, plus rapides et plus petits.

4.1.2.2 Photo détecteur à jonction PN

Une photodiode est un composant semi-conducteur ayant la capacité de détecter un rayonnement du domaine optique et de le transformer en signal électrique. Quand elle est exposée à un flux lumineux, les photons sont absorbés à condition que l'énergie du photon soit supérieure à la largeur de la bande interdite (Eg).
Ceci correspond à l'énergie nécessaire que doit absorber l'électron afin qu'il puisse quitter la bande de valence vers la bande de conduction. Cette transition le rend mobile et capable de contribuer au courant électrique traversant la diode.
La Photodiode PN est utilisée dans plusieurs domaines mais principalement dans la détection rapide de signaux de faible amplitude, la photométrie, l'instrumentation, les lecteurs de code barre, la spectrophotométrie….

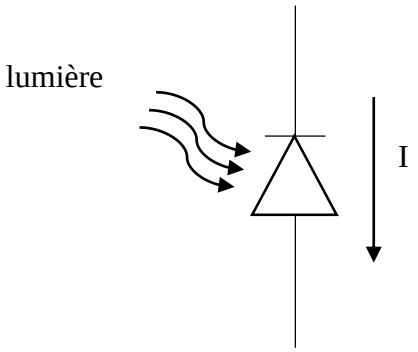


Figure 26 – Symbole d'une photo diode

Le courant inverse d'une jonction PN est fonction des densités de porteurs minoritaires dans les régions neutres, et de la génération de paires électron-trou dans la zone de charge d'espace.

$$\mathbf{I_p(\lambda) = \emptyset(\lambda) S(\lambda)} \qquad \textbf{(I-6)}$$

$$\boldsymbol{I_p(\lambda)} : photo - courant$$

$$\emptyset : flux\ incident$$

$$S : \text{sensibilité de la photodiode}$$

C'est cette linéarité entre le photo-courant et le flux lumineux qui nous permet de mesurer la puissance lumineuse. Mais elle n'est possible qu'avec une lumière monochromatique, dont la longueur d'onde est connue.

4.1.2.2.1 Paramètre de la photodiode

4.1.2.2.1.1 Facteur de remplissage

Ce paramètre se définit comme le rapport entre la surface et la taille du pixel. Vu que la surface total d'un pixel, des circuits CMOS APS, contient en plus de la surface active (sensible) toute l'électronique de lecture et d'amplification, le facteur de remplissage est donc inférieur à 1.

$$\mathbf{F = \frac{surface\ sensible}{surface\ totale}} \qquad \textbf{(I-7)}$$

4.1.2.2.1.2 Coefficient d'absorption

De façon générale, les photodiodes doivent avoir une grande absorption des rayonnements à haute énergie. Les photons absorbés sont convertis en courant électrique. Pour l'obtention d'une efficacité optimale on dépose une couche sélective ayant une forte absorption dans les régions du visible.

L'interaction entre les photons et un semi-conducteur (silicium dans notre cas) se traduit globalement par une caractéristique essentielle du matériau : le coefficient d'absorption noté α. Ce coefficient est en fonction de l'onde incidente et il est défini par le rapport entre le flux absorbé le au flux incident sur le silicium :

$$\boldsymbol{\alpha = \frac{flux\ absorbé}{flux\ incident}\ cm^{-1}} \qquad \textbf{(I-8)}$$

En plus de sa dépendance à la longueur d'onde, le coefficient d'absorption dépend aussi de la température.

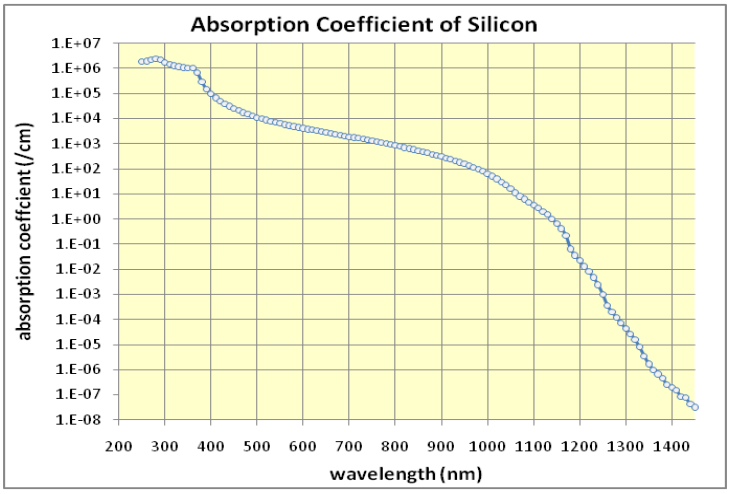


Figure 27 - Coefficient d'absorption du silicium en fonction de la longueur d'onde

Avec les longueurs d'onde courtes, le coefficient d'absorption est très élevé (voir figure 27) pour le silicium, donc la majorité de photons incidents (et transmis dans le matériau) est absorbée dans les 10 premiers nanomètres du matériau.

4.1.2.2.2 Mode de lecture

Il existe plusieurs modes qui permettent de recueillir le courant photonique je n'en site que deux : mode intégration de charge et mode courant.

4.1.2.2.2.1 Mode intégration de charge

La photodiode en mode intégration, comporte un interrupteur dont le but est d'initialiser la diode en mode inverse à une tension initiale, ce qui fixe la tension aux bornes de la capacité de la diode polarisée en inverse. Une fois l'interrupteur ouvert, et sous l'action du courant photonique, la capacité de diode inverse se décharge. Pour connaître le niveau de signal reçu par la photodiode, une tension qu'on va appeler V_1 est mesuré après l'ouverture de l'interrupteur, puis on intègre pendant un temps t durant l'exposition de la diode à la lumière. Après l'exposition le signal V_2 est obtenu, le signal utile sera alors la différence $V_1 - V_2$.

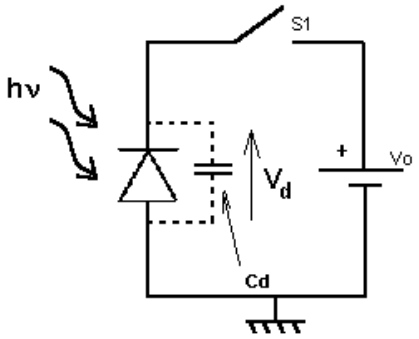


Figure 28 - Diode en mode intégration de charge

Nous obtenons ainsi une relation entre la tension prélevée aux bornes de la capacité de charge et du courant photonique.

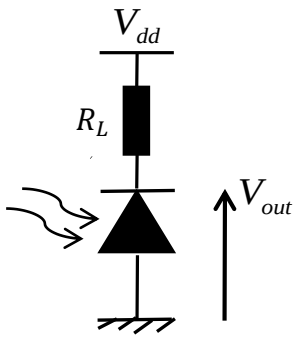
$$\Delta V_d = (I_{phot} \times T_{int}) / C_d \qquad \textbf{(I-9)}$$

T_{int}: Temps d'intégration
I_{phot} : Courant photonique
C_d : Capacité de charge

Nous verrons plus en détail son application à notre détecteur dans le chapitre caractérisation.

4.1.2.2.2.2 Mode courant

La génération des photoélectrons crée un courant inverse dans la diode. Il suffit alors de mesurer ce courant pour obtenir une information sur la quantité instantanée de lumière qui arrive sur le pixel. Pour le mesurer, nous pouvons utiliser une simple résistance.



$$V_{out} = V_{dd} - (R_L \times I) \quad \textbf{(I-10)}$$

4.1.2.3 Capteur CMOS APS à double jonctions enterrées

Les capteurs CMOS APS (Active Pixel Sensor) s'appuient sur un capteur photo sensible associés à des transistors CMOS. Un ou plusieurs transistors « actifs » amplifient le signal transmis par le capteur.

L'intérêt de ce procédé est de minimiser le bruit du circuit tout en amplifiant le signal au plus près du capteur.

4.1.2.4 Principe du photo-détecteur à double jonctions enterrées

Le capteur colorimétrique est une photodiode en silicium à deux jonctions PN enterrées situées à différentes profondeurs (cf. figure 29). En envoyant de la lumière sur la photodiode, un photo-courant est créé dans chaque jonction. On a donc deux photo-courants :
I_1 (Polarisé en inverse) correspondant à la jonction la plus proche de la surface $I_2 + I_1$ correspondant à la jonction la plus profonde.

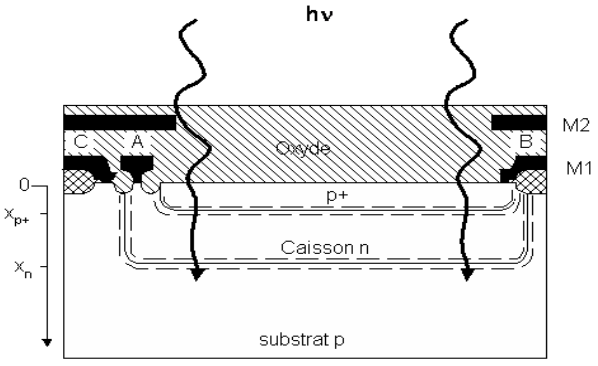


Figure 29 - Schéma du détecteur

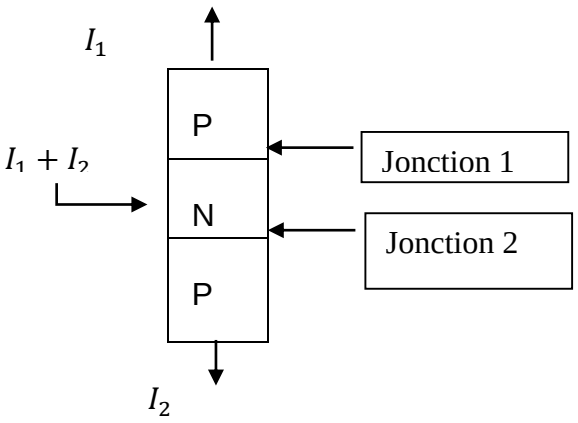


Figure 30 - Modélisation du capteur à double jonctions

La figure 30 illustre schématiquement le capteur à double jonction enterrée et la figure 31, représente le schéma électrique du capteur à double jonctions enterrées (deux diodes têtes bèches).

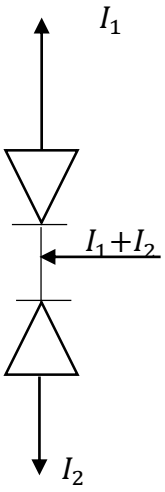


Figure 31 - Schéma électrique du capteur à double jonction enterrée

Les valeurs de ces deux photo-courants I_1 et I_2, donnent des informations sur la puissance et la longueur d'onde de la lumière envoyée via la relation $R = I_1 / I_2$ [38] (cf. figure 32).

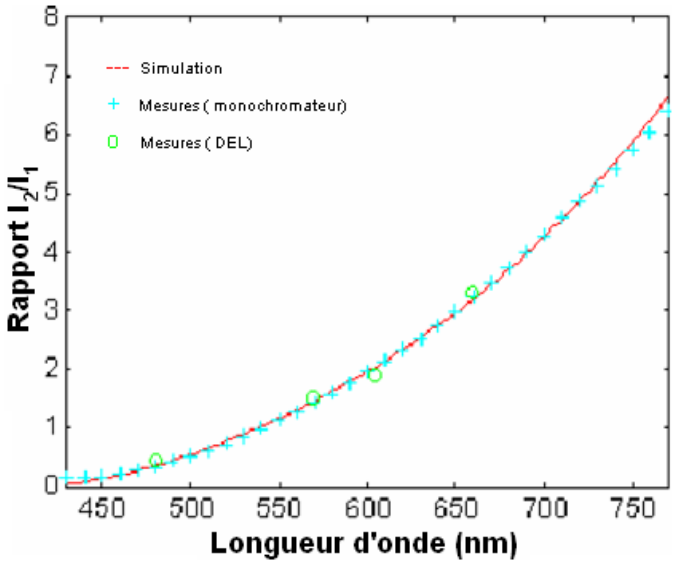


Figure 32 - Le rapport des courants en fonction de la longueur d'onde pour un capteur réalisé dans une technologie CMOS 1µm de ES2

On peut constater sur la courbe de la figure 32 que ce type de capteur développé dans notre laboratoire, nous permet d'avoir des résultats de mesures qui corrèlent avec ceux obtenus en simulations. Le même principe sera employé pour notre capteur colorimétrique.

4.1.2.5 Amélioration de la limite de détectivité

Des travaux de recherche, visant la miniaturisation de la méthode ELISA, ont été reportés dans la littérature [7]. Ces travaux visent en particulier l'amélioration de la limite de détectivité (LOD : limit of detectivity), qui représente la plus faible valeur de concentration d'analyte pouvant être mesurée. La valeur du LOD atteinte par ces travaux est de l'ordre de 0.5pMol.l^{-1} [3]. Ces travaux utilisent des photodiodes pour la mesure de la concentration des solutions. La mesure du photo-courant issu de ces photodiodes est très sensible à toute variation de la puissance lumineuse ce qui peut limiter le LOD. Afin d'améliorer de LOD, nous proposons d'utiliser un capteur à double jonction enterrée. Il a été démontré que le rapport des deux photos-courants du BDJ[11] est indépendant de la puissance lumineuse [6]. Cette propriété permet de s'affranchir de la limitation du LOD causé par la fluctuation de la source lumineuse à condition que les courants I_1 et I_2 soient mesurés avec un bon rapport signal à bruit.

$$\mathbf{I_1} = \mathbf{S_1}(\boldsymbol{\lambda}) * \emptyset(\boldsymbol{\lambda}) \qquad \textbf{(I-11)}$$

$$\mathbf{I_2} = \mathbf{S_2}(\boldsymbol{\lambda}) * \emptyset(\boldsymbol{\lambda}) \qquad \textbf{(I-12)}$$

$$\mathbf{R} = \frac{\mathbf{I_2}}{\mathbf{I_1}} = \frac{\mathbf{S_2}(\boldsymbol{\lambda})}{\mathbf{S_1}(\boldsymbol{\lambda})} \qquad \textbf{(I-13)}$$

Des travaux précédents ont montré que le rapport R du BDJ est fortement sensible au virage colorimétrique d'une solution. De ce fait, le BDJ répond à notre objectif de concevoir une bio-puce colorimétrique micro-fluidique pour la détection des allergènes.

4.2 Synthèse

Les capteurs optiques intégrés tel que les CCD et les capteurs CMOS ont permis de réaliser des systèmes de détection colorimétrique qui sont compacts, à faible coût et de haute performance. Cependant, les CCD nécessitent une alimentation en tension assez élevées ~15 V à 20 V. Cela fait que les systèmes à base de capteurs CCD consomment de forte puissance. En revanche, pour des systèmes intégrés nous allons privilégier les capteurs CMOS APS qui offrent la possibilité d'avoir sur le même pixel le capteur optique ainsi que l'amplificateur du système. Par ailleurs pour notre application les CCD sont incapables de nous fournir des informations spectrales et exigent un système optique développé pour recueillir l'information sur l'intensité de lumière envoyée sur le capteur.

5 Monde des biopuces

Il existe dans la littérature plusieurs biopuces notamment pour la détection d'allergènes. J'en présente dans ce paragraphe trois exemples.

[11] Burried Dubble Junction

5.1 Test ELISA par pression

Les chercheurs du Centre Anderson contre le cancer et de l'Hôpital méthodiste de Houston, au Texas [39], ont développé une puce volumétrique qui traduit les résultats d'un test immuno-enzymatique ELISA en variations de pression, ce qui permet une lecture instantanée grâce à des micros canaux remplis d'encre.

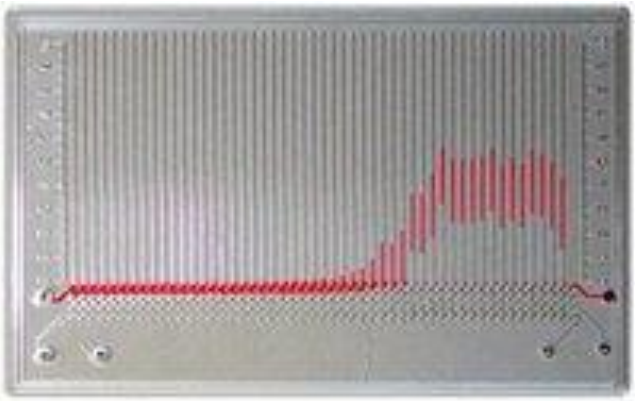


Figure 33 : Test ELISA par pression

Les biologistes ont testé leur puce micro fluidique dans plusieurs applications :

- mesurer l'antigène carcino-embryonnaire « marqueurs du cancer colorectal »
- pour réaliser un profilage HER2 « outil pronostique dans le cancer du sein »
- mesurer la concentration de récepteurs à l'œstrogène et à la progestérone sur des cellules issues de biopsies de sein.
- proposer un test de grossesse, via la mesure de la concentration en HCG.

5.2 Test d'allergènes à l'aide d'un smartphone

Une équipe de chercheurs de l'UCLA [40] a développé un nouveau dispositif nommé iTube qui se peut joindre au smartphone afin de détecter les allergènes alimentaires. Ce procédé utilise un système optique, caméra intégrée du smartphone et l'application iTube. Afin de mesurer de virage colorimétrique des solutions mises dans les microtubes, les chercheurs effectuent en premier temps des séries de tests biologiques avec les allergènes et les solvants dans des microtubes et ensuite ils les intègrent dans le dispositif afin mesurer les différentes concentrations obtenues.

Figure 34: smartphone pour détection d'allergènes

5.3 Biopuce pour séquencer l'ADN

Panasonic et l'Institut de Micro-Electronique et Composants (IMEC) basé en Belgique [41] ont mis au point une puce capable de séquencer l'AND en moins d'une heure alors que les techniques actuelles permettent de faire le même test en plusieurs jours. Le principe biologique de cette puce de base sur la technique PCR expliqué précédemment.

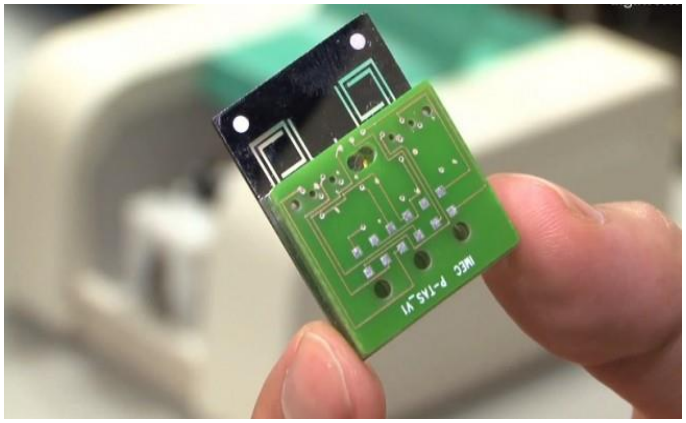


Figure 35: Biopuce pour séquencer l'ADN

Chapitre II :

Architecture et conception de la matrice APS ainsi que son électronique de lecture

II- Architecture et conception de la matrice APS ainsi que son électronique de lecture

1 Introduction

L'objectif de ce chapitre est de décrire les étapes de conception d'un circuit ASIC en « full costum » une matrice de détecteurs de couleur ainsi que son électronique de lecture. Afin d'avoir une matrice de capteurs adaptée à notre système biologique, il a fallu répondre à quelques questions :

- Quelle technologie CMOS utilisée pour la réalisation de notre circuit ASIC ?
- Quelle architecture sera la mieux adaptée à notre système ?
- Quel sera le circuit d'adressage et de lecture adéquat ?

La réponse à la première question a été apportée dans le chapitre précédant. Nous allons dans ce chapitre répondre aux autres questions et faire les meilleurs choix qui nous mèneront jusqu'à la réalisation du dessin de masque (vue layout) de notre circuit.

Bien que nous n'ayons pas eu l'occasion de réaliser une matrice de 20x20 pixels durant cette thèse, nous allons proposer une matrice de 4x4 pixels avec les performances nécessaires pour le bon fonctionnement d'une matrice à 400 pixels.

Nous allons présenter dans la première partie de ce chapitre les différentes architectures APS d'un capteur optique. Nous allons par la suite répondre à la question : comment optimiser le circuit pour avoir une grande dynamique ce qui correspond dans notre application à mesurer un grand virage colorimétrique.

Nous avons choisi de travailler avec une technologie APS, ce qui implique une étude sur l'amplification du signal recueilli dans le pixel. La deuxième partie sera donc consacrée à présenter les différents amplificateurs choisis ainsi qu'une étude de leur performances (bruit, consommation, temps de réponse).

Dans la troisième partie, nous allons présenter l'adressage de la matrice et les moyens employés pour la lecture des signaux.

Finalement et avant la conclusion, dans la dernière section nous allons établir les performances du circuit.

2 Architecture du capteur optique

2.1 Technologie CMOS

La mission principale de cette thèse a été de concevoir en « full custom » un circuit ASIC contenant, entre autre, une matrice de capteur de couleur, avec une bonne sensibilité et une bonne dynamique, ainsi que son électronique de lecture. Nous avons montré dans le précédant chapitre « Etat de l'art » que le concept CMOS APS est le plus approprié pour notre application.

Pour mener à bien cette conception jusqu'à la réalisation de la puce, nous avons fait appel aux services de fonderie AMS disponibles via un consortium multi-projets CMP. Ce consortium propose dans le cadre de la recherche des prix assez accessibles avec une fréquence de RUN (envoi de circuit à la conception) convenable à la durée de la thèse. La technologie d'AMS utilisée est la technologie CMOS 0,35µm opto.

Le logiciel utilisé pour la caractérisation de l'ASIC est Cadence. Ce technologie logiciel nous offre la possibilité de réaliser par nous même le « Layout » de la structure, et de contrôler ainsi à chaque étape de la conception toutes les erreurs qui auraient pu apparaître lors des tests DRC (Design Rules Check), ERC (Electrical Rule Check) et LVS (Layout Versus Schematic). Nous avons, avec la technologie CMOS choisie, un nombre important de composants et de portes logiques déjà qualifiés dans la bibliothèque de base.

2.2 Présentation de l'architecture générale de la matrice APS

Il est bon de rappeler qu'un pixel APS représente un capteur photosensible avec ses amplificateurs. Le fait que le signal soit amplifié dans le pixel, nous permet de le coupler à un bus commun afin de faciliter la lecture et de diminuer l'impédance de sortie du pixel.

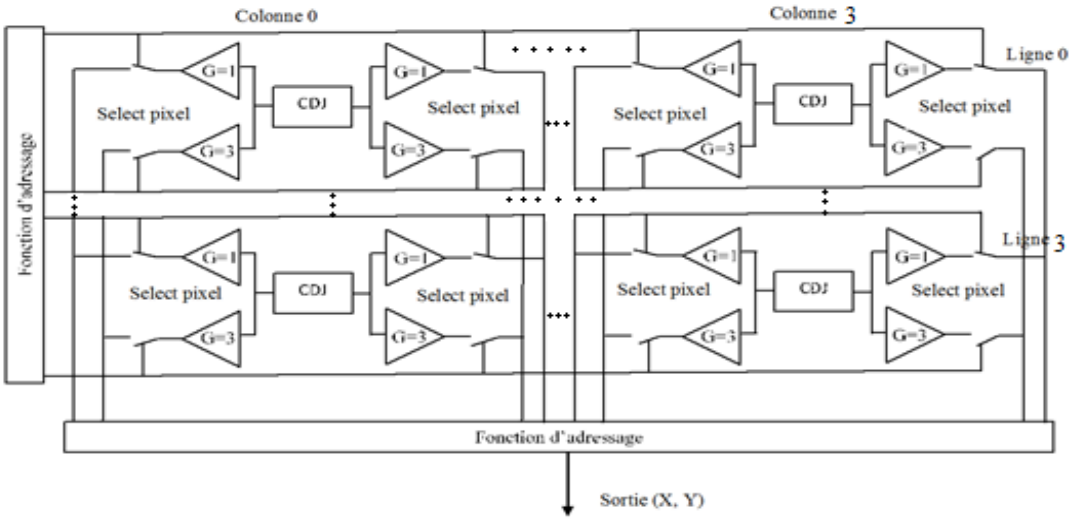


Figure 36 - Matrice APS avec adressage direct (X, Y) 4×4; CDJ : capteur à double jonctions enterrées ; G : gain

Sur la figure 36, nous avons représenté 16 pixels ordonnés en 4 lignes et 4 colonnes. Dans chaque pixel nous avons un photo-détecteur associé à un système de lecture permettant la conversion du photo-courant en tension. La tension est ensuite amplifiée via des amplificateurs : source commune et source suiveuse. On utilise la source commune pour amplifier et isoler les faibles signaux, et on utilise la source suiveuse pour seulement isoler les forts signaux qui n'ont pas besoin d'être amplifiés. La sélection du pixel se fait à l'aide d'interrupteurs commandés par les fonctions d'adressage. Les fonctions d'adressage sont constituées :

- d'un décodeur de ligne et d'un décodeur de colonne. Leur fonction est d'activer une ligne ou une colonne pour sa lecture.
- d'un compteur de ligne et d'un compteur de colonne qui comptent de 0 à 3. Leur fonction est de commander les décodeurs.
- de quatre multiplexeurs qui ont comme fonction de sélectionner un signal parmi quatre à la sortie de la matrice.
- de deux composants IN/OUT à travers lesquels on peut adresser un pixel en particulier en écrivant son adresse sur les ports IN/OUT de ce composant, ou de lire simplement l'adresse du pixel activé sur ces ports IN/OUT en cas d'adressage séquencé par les compteurs.

2.3 Zoom sur un pixel de la matrice

Un pixel est constitué d'un BDJ, de deux électroniques de lectures une pour chaque jonction et de 4 amplificateurs (cf. figure 37).

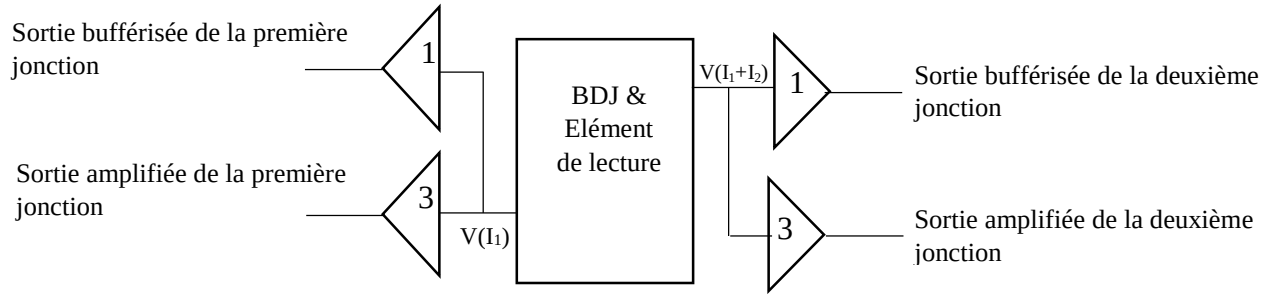


Figure 37 - Représentation bloc du pixel

On mesure donc la tension V_1 en fonction du courant photonique I_1 et la tension V_2 en fonction de la somme des deux courants photoniques I_1+I_2

L'élément de lecture et les amplificateurs seront précisés aux paragraphes suivants.

2.3.1 Capteur optique à double jonctions enterrées

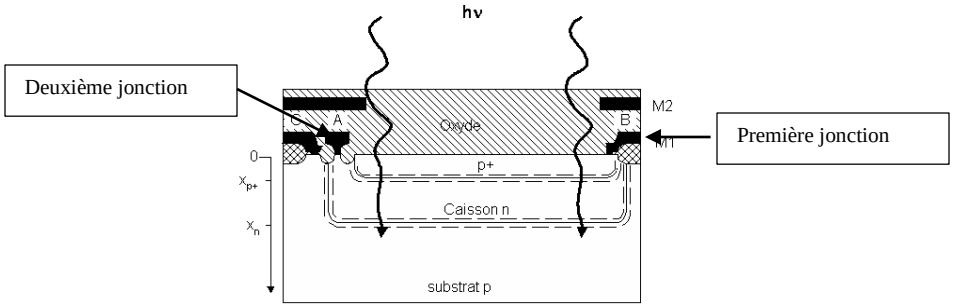


Figure 38 - Coupe verticale du BDJ

Le capteur à double jonctions enterrées (BDJ) est constitué de deux photodiodes (figure 38). Une photodiode est une jonction PN polarisé en inverse, qui génère un courant électrique lorsqu'elle est éclairée par un flux lumineux. Dans ce qui suit nous allons aborder deux modes différents pour la lecture du photo-courant.

2.3.2 Conversion du courant électrique du BDJ

Le courant électrique créé dans le capteur colorimétrique est converti par l'élément de lecture (figure 38) en tension selon deux modes :

- Mode intégration
- Mode courant

2.3.2.1 Mode intégration

Le pixel en mode intégration, comporte une photodiode et un interrupteur dont le but est d'initialiser la diode en mode inverse à une tension initiale, ce qui fixe la tension aux bornes de la capacité de la diode polarisée en inverse. Une fois l'interrupteur ouvert, et sous l'action du courant photonique, la capacité de diode inverse tend à se décharger. Pour connaître le niveau de signal reçu par la photodiode, une tension qu'on va appeler V_{d1} est mesurée après l'ouverture de l'interrupteur, puis on intègre pendant un temps t durant l'exposition à la lumière de la diode. Après l'exposition, le signal V_{d2} est obtenu, le signal utile sera alors la différence

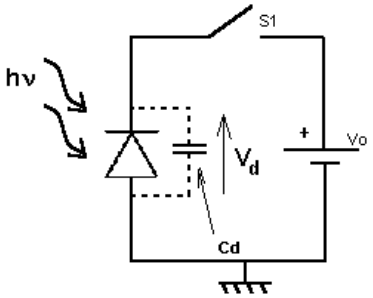


Figure 39- Diode en mode intégration

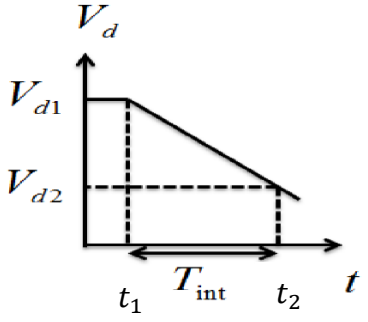
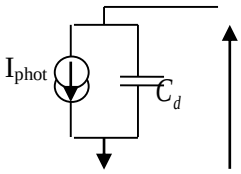


Figure 40- Réponse du pixel en mode intégration de charge

Etude du 1er ordre :



V(t) à t = 0 V = V_0

Q = C_d .V

I = $\frac{dQ}{dt}$; $\mathbf{d}V_d = \frac{1}{C_d}\mathbf{i(t)dt}$

$$\int_{V_1}^{V_2} \mathbf{d}V_d = -\frac{1}{C_d}\int_{t_1}^{t_2} \mathbf{I(t)\,dt}\,; \qquad \mathbf{\Delta V_d = (I_{phot} \times T_{int}) / C_d} \qquad \textbf{II-1}$$

I_{phot} : Photo courant.
C_d : Capacité de dépeuplement (ou de transition), considérée constante, de la diode flottante.
T_{int}: Temps d'intégration.
V_0: Tension de référence pour la remise à zéro.

2.3.2.1.1 Structure générale

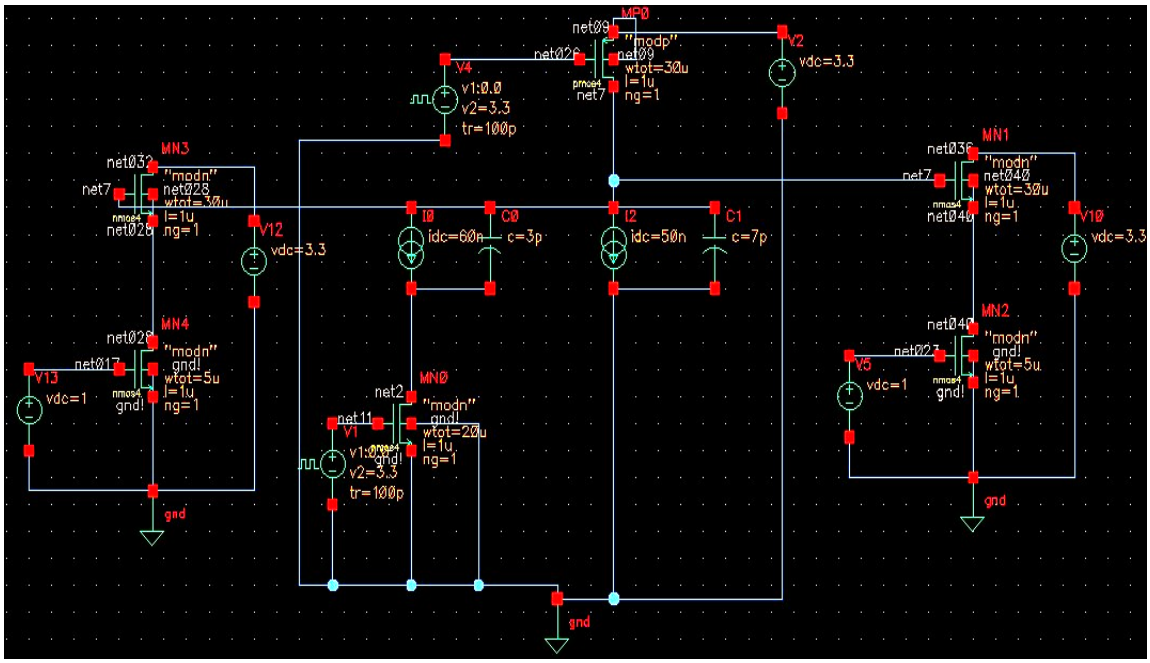


Figure 41 - Capteur en mode intégration

Sur l'architecture (figure 41) on voit un capteur formé par les deux sources de courant (I0, I2) avec leurs capacités (C1, C0). Les deux transistors (MP0, MN0) connectés au capteur jouent le rôle d'interrupteur afin de commander l'intégration. Sur cette structure, nous avons deux suiveurs de chaque côté du capteur (MN1, MN2) : suiveur pour la première jonction ; MN3, MN4 : suiveur pour la deuxième jonction) et que nous allons étudier plus loin.

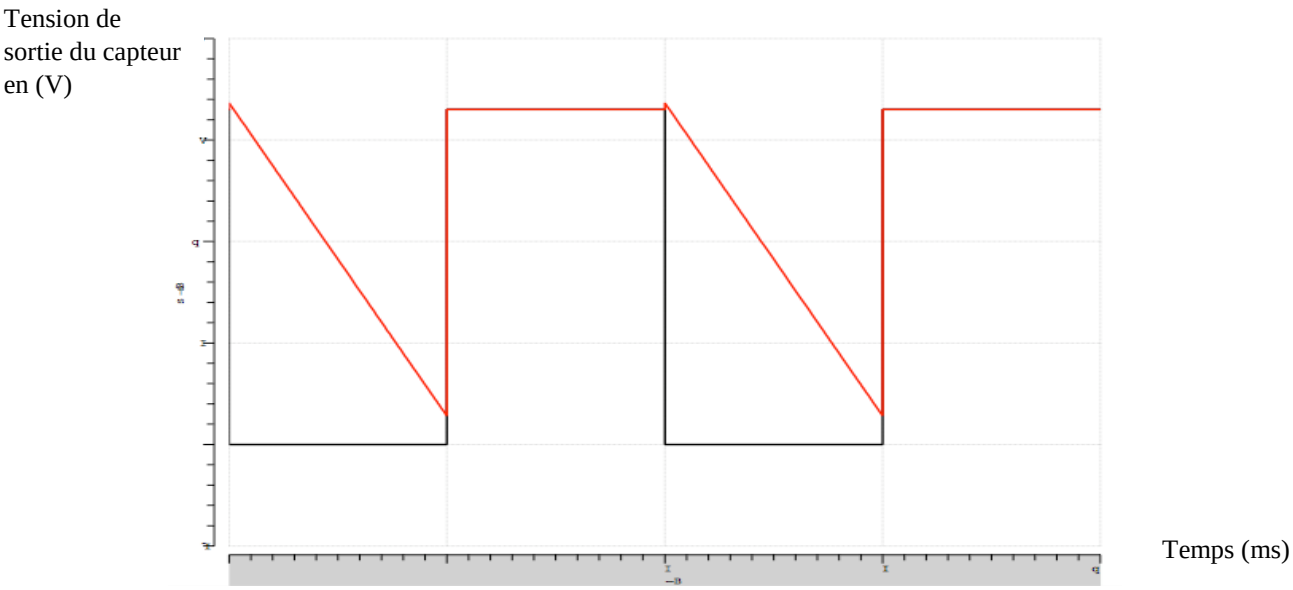


Figure 42 - Réponse temporelle en mode intégration de la première jonction

Sur ce graphe qui représente la simulation du pixel en mode intégration, on voit une rampe en rouge qui correspond à la charge de la capacité une fois l'interrupteur ouvert (courbe noir). La rampe est suivie par la remise à V_0 de la tension aux bornes de la capacité une fois l'interrupteur fermé.

2.3.2.2 Mode courant

C'est le mode le plus simple : la génération des photoélectrons crée un courant inverse dans la diode. Il suffit alors de mesurer ce courant pour obtenir une information sur la quantité instantanée de lumière qui arrive sur le pixel. La solution la plus simple pour convertir le photo-courant en tension serait de mettre une résistance en série.

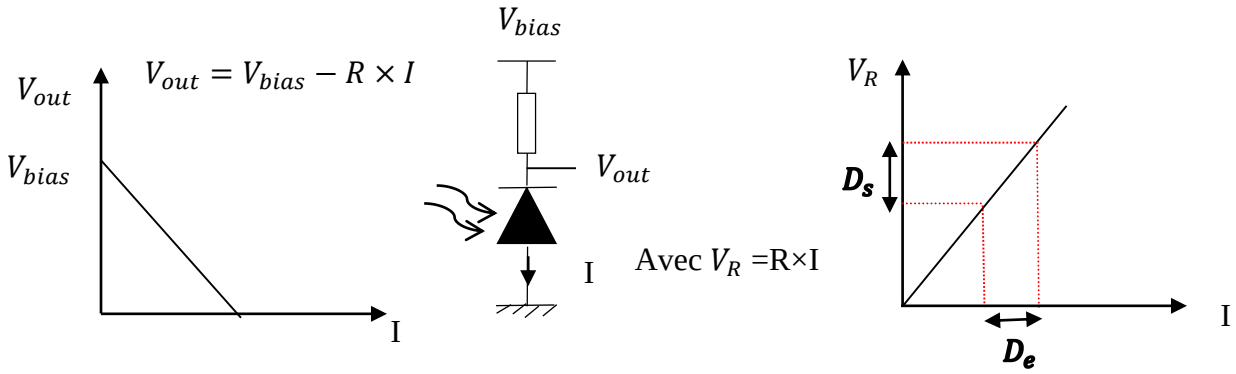


Figure 43 - Photodiode en mode courant avec une résistance comme élément de lecture

Mais avec cette solution, comme illustré sur la figure de droite (cf. figure 43), la dynamique de sortie D_s est proportionnelle à la dynamique d'entrée D_e. Pour une dynamique de sortie D_s donnée

(limitée par les tensions d'alimentation du circuit), nous obtenons une petite dynamique d'entrée D_e, ainsi les forts courants risquent de ne pas être correctement mesurés (saturation).

- Transistor faible inversion

Une des solutions sera donc de remplacer la résistance par un transistor MOS monté en diode fonctionnant en régime de faible inversion (figure 44). Un transistor MOS a essentiellement deux régimes de fonctionnement, régime bloqué ($V_{GS} < V_T$) ou régime passant ($V_{GS} > V_T$). Le passage d'un régime à l'autre ne se fait pas d'une manière abrupte. Cette transition est ce qu'on appelle la faible inversion. Lorsqu'on trace la caractéristique de transfert d'un transistor MOS en zone ohmique ($V_{DS} \leq (V_{GS} - V_T)$) avec une échelle logarithmique pour l'axe I_{DS}, on remarque que le courant I_{DS} n'est pas nul lorsque la tension V_{GS} est inférieure à la tension de seuil V_T.

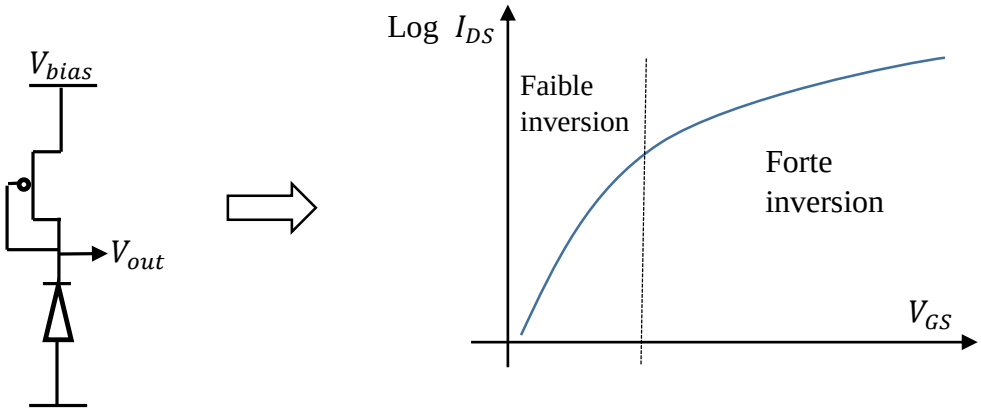


Figure 44 - Caractéristique de transfert d'un transistor NMOS en faible inversion et en forte inversion

Lors du fonctionnement d'un transistor en mode faible inversion (weak inversion ou subthreshold), Il n'existe pas de canal d'inversion sous la grille, mais la tension V_{GS} non nulle y permet la création d'une zone de dépeuplement sur la surface de laquelle peuvent se déplacer des charges (d'où un courant I_{ds}) sous l'influence d'une différence de potentiel V_{DS}.

Le courant de canal en régime de faible inversion suit l'expression suivante :

$$\mathbf{I_{DS} = \frac{W}{L} I_{D0} \exp\left(\frac{qV_{GS}}{nkT}\right)} \qquad \textbf{[42, 43]} \qquad \text{(II-2)}$$

W : largeur du canal transistor
L : longueur du canal transistor
q : charge de l'électron
k : constante de Boltzmann
T : température
n : facteur de pente en faible inversion qui peut être exprimé comme suit

$$n = 1 + \frac{C_{BC}}{C_{OX}}$$

C_{BC} : Capacité de la zone de déplétion ; C_{OX} : Capacité de l'oxyde

Ce mode de fonctionnement du transistor permet d'avoir une caractéristique de transfert V_{ds}/I_{ds} logarithmique [42], ceci permettra au détecteur d'avoir une grande dynamique en terme de puissance lumineuse (cf. figure 45). Ainsi nous allons pouvoir mesurer une grande dynamique de concentration. Pour l'ensemble de ces raisons, nous avons opté pour un transistor opérant en faible inversion pour l'électronique de lecture de notre capteur.

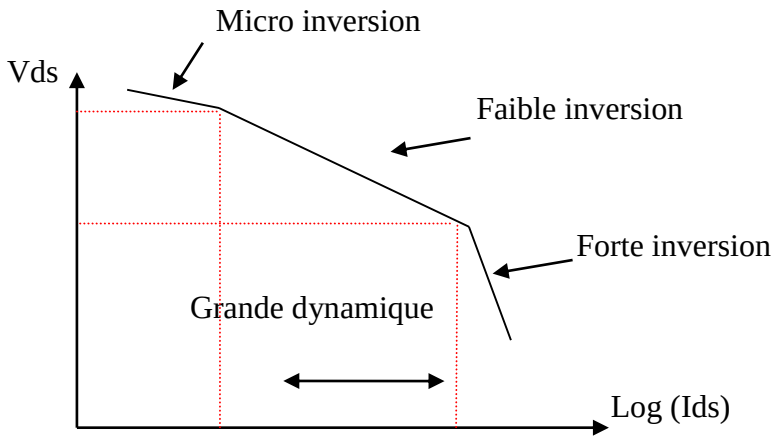


Figure 45 - Caractéristique de transfert d'un transistor NMOS en micro inversion, en faible inversion et en forte inversion en échelle Lin/Log

La tension en fonction du courant d'un transistor en faible inversion est logarithmique ce qui correspond en échelle semi-log à une droite. La « micro » inversion se situe avant la faible inversion et la forte inversion se situe après la faible inversion (voir figure 45) .
D'autres intérêts de la faible inversion sont d'avoir une grande impédance équivalente de sortie r_{DS} (ce qui permettra d'avoir un grand gain de conversion courant/ tension), et une très faible consommation électrique (I_{DS} faible).

2.3.3 Conception de l'APS

Le capteur et les transistors opérant en faible inversion sont modélisés comme suit (figure 46):

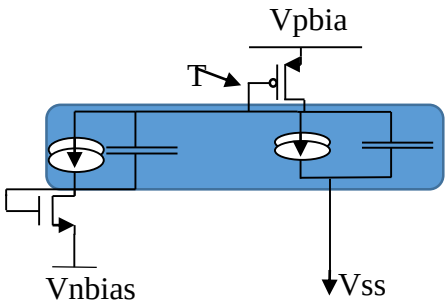


Figure 46 - Schéma électrique du capteur APS en mode courant

Le transistor T est un transistor de charge opérant en faible inversion. Son rôle est de convertir le courant électrique en tension.

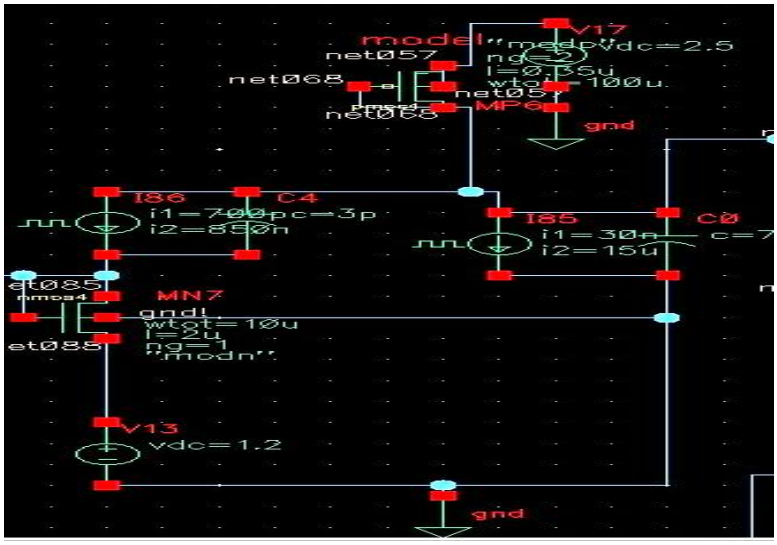


Figure 47 - Schéma cadence du capteur mode courant

Sur la figure 47 est représenté le circuit électrique du pixel en mode courant. Le capteur est représenté par les deux sources de courant. La conversion du courant en tension de la première jonction se fait à l'aide du transistor MN7, et de la deuxième jonction se fait à l'aide du transistor MP6. Le bon dimensionnement des transistors en faible inversion est important pour avoir une grande dynamique. Le calcul analytique nous donne une idée du dimensionnement des transistors mais le moyen le plus facile et le plus efficace est la simulation paramétrée en fonction de W et L avec en entrée une large variation du courant.

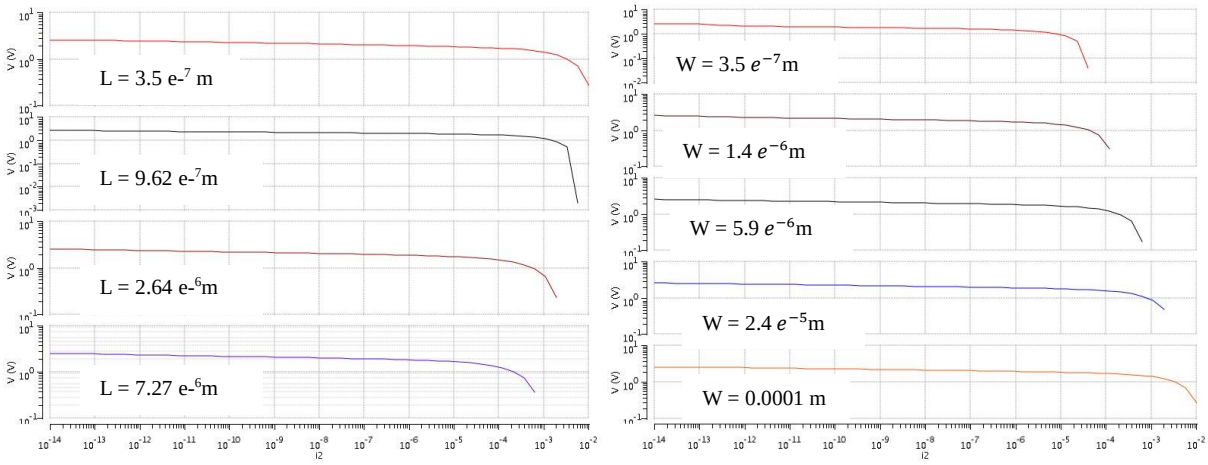


Figure 48 - Dynamique du transistor PMOS avec L en paramètre sur la figure de gauche (avec W = 50µm) et W en paramètre sur la figure de droite (avec L = 0,35µm)

On note que le courant imposé par le cahier des charges est de l'ordre de 100nA.

La figure 48 montre la dynamique de sortie de la deuxièe jonction du capteur. On remarque que plus le W du PMOS dans la zone de faible inversion du transistor est grand plus la dynamique est grande (figure de droite). Par ailleurs, plus le L du PMOS est petit dans la zone de faible inversion du transistor plus la dynamique est grande. Nous avons donc choisi un L minimum de 0,35 µm et un W de 100 µm.

Nous avons refait la même procédure avec le transistor NMOS :

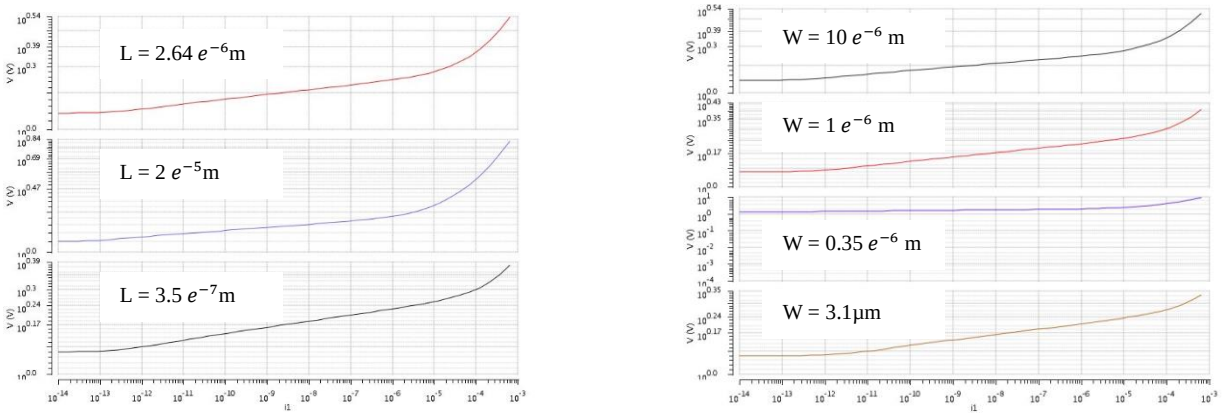


Figure 49 - Dynamique du transistor NMOS avec L en paramètre sur la figure de gauche (avec W = 50 µm) et W en paramètre sur la Figure de droite (avec L = 2 µm)

La figure 49 montre la dynamique de sortie de la première jonction du capteur. On remarque que plus le W du NMOS dans la zone de faible inversion du transistor est petit plus la dynamique est grande (figure de droite). Par ailleurs, plus le L du NMOS est petit dans la zone faible inversion du transistor plus la dynamique est grande. Nous avons choisis donc un L = 2µm et W=10µm.
Nous avons ci-dessous la dynamique de sortie de la deuxième jonction avec les paramètres choisis ci-dessus avec la variation du courant I_2 correspondant au photo-courant de la deuxième jonction et en paramètre la variation du courant I_1 de 10fA à 0,8mA correspondant au photo-courant de la première jonction.

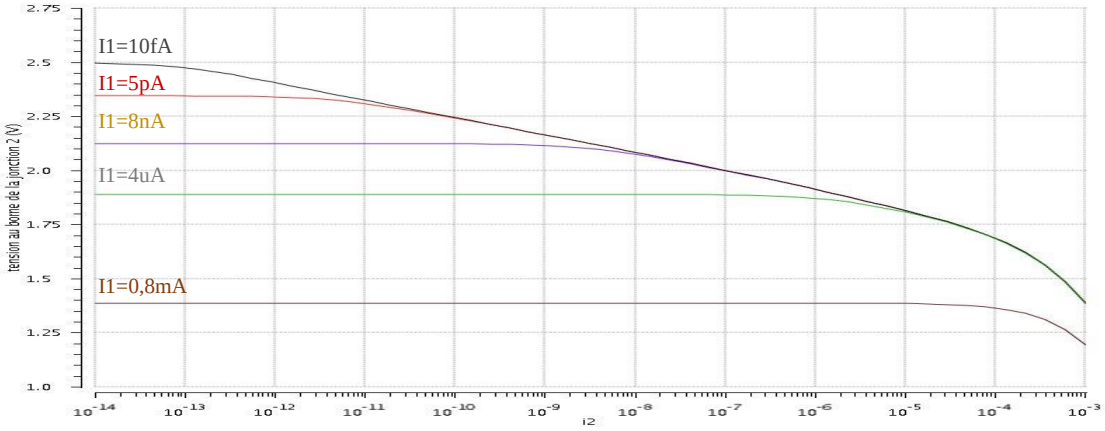


Figure 50 - Réponse de la deuxième jonction du capteur en fonction des courants des deux jonctions

La dynamique d'entrée donnée (zone ou le logiciel considère que les transistors sont complètement en faible inversion) par le logiciel est [30nA ; 15uA] (cette valeeur est différente de celle lu directement sur de graphe), et sa dynamique de sortie correspondante est [1,83V ; 2,39V]. La tension d'un transistor en faible inversion en fonction du courant suit une loi logarithmique c'est ce qui est représenté en échelle log par une droite. On remarque sur le deuxième graphe que pour un bon fonctionnement en faible inversion il faut que le courant $I_1 < I_2$, dans le cas contraire le courant est tellement grand qu'on passe directement en forte inversion c'est le cas de la dernière courbe du graphe de la figure 50.

Les paramètres physiques du transistor PMOS sont établis dans le tableau ci-dessous, ces paramètres sont donnés par le logiciel cadence d'AMS après simulations DC avec les paramètres W et L précédemment définis.

Paramètre	**Valeur**
W	100 µm
L	0,35 µm
g_{ds}	49,95 nS
g_m	1,602 µS
R_{ON}	8,024 MΩ
V_{th}	-0,713 V
I_{ds}	-60 nA

Tableau 3 - Paramètres du transistor PMOS opérant en faible inversion pour la conversion du courant en tension pour la deuxième jonction

Nous avons présenté sur la figure 51 la dynamique de sortie de la première jonction avec les paramètres choisis ci-dessus en fonction du courant I_1 correspondant au photo-courant de la première jonction et en paramètre la variation du courant I_2 de 10fA à 1mA correspondant au photo-courant de la deuxième jonction. Dans ce cas les courbes de I_2 sont superposées.

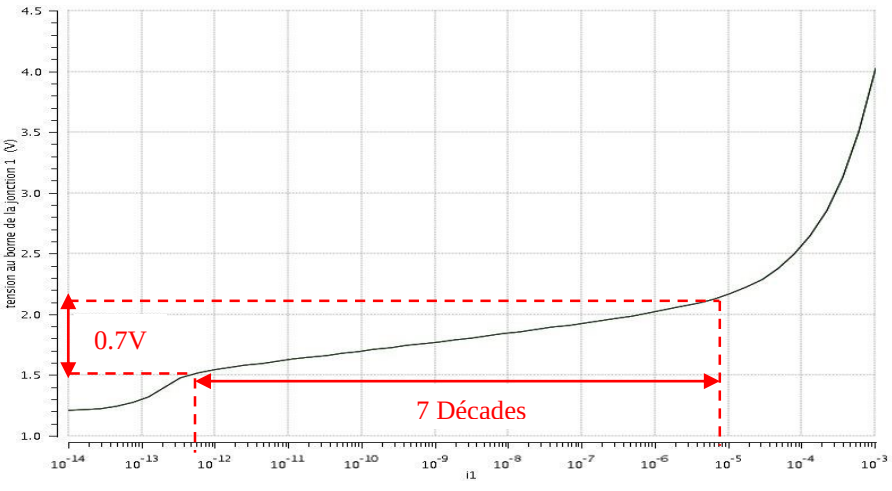


Figure 51 - Réponse de la première jonction capteur en fonction des courants des deux jonctions

Dans le cadre de nos développements, Nous nous placerons dans la plage de faible inversion afin d'atteindre une grande dynamique de 7 décades obtenue par simulation. La dynamique d'entrée donnée (zone ou le logiciel considère que les transistors sont complètement en faible inversion) par le logiciel est [700pA, 850nA] et sa dynamique de sortie correspondante est [1,73V ; 2,35V].

Les paramètres physiques du transistor NMOS sont établis dans le tableau ci-dessous. Ces paramètres sont donnés par le logiciel cadence d'AMS après simulations DC avec les paramètres W et L précédemment définis.

Paramètre	Valeur
W	10 µm
L	2 µm
g_{ds}	366 pS
g_m	299 nS
R_{ON}	64,58 MΩ
V_{th}	0,813 V
I_{ds}	10 nA

Tableau 4 - Paramètre du transistor NMOS opérant en faible inversion pour la conversion du courant en tension pour la première jonction.

Temps de réponse du détecteur avec les transistors de lecture

Afin d'avoir le temps de réponse à 95% du détecteur ainsi que son électronique de lecture nous avons envoyé un échelon de courant dans la zone de faible inversion (cf. figure 52).
Nous pouvons voir sur le graphe ci-dessous que le courant I_2 varie entre 30nA et 15µA, avec ces valeurs du courant le transistor PMOS opère dans la zone de faible inversion. Le temps de réponse du pixel à des faibles courants est égal à 10µs et le temps de réponse à des forts courants est égal à 40µs.
Nous avons refait la même procédure avec la première jonction avec un courant I_1 qui va de 40nA à 500nA, ainsi le transistor NMOS opère dans la zone de faible inversion. Le temps de réponse du pixel à des faibles courants est égal à 0,3ms et le temps de réponse à des forts courants est égal à 15µs.
Ces valeurs de temps de réponse « 0, 3ms ; 10µs ; 40µs et 15µs » restent inférieur à la valeur fixé par le cahier des charges égal à 2,5ms

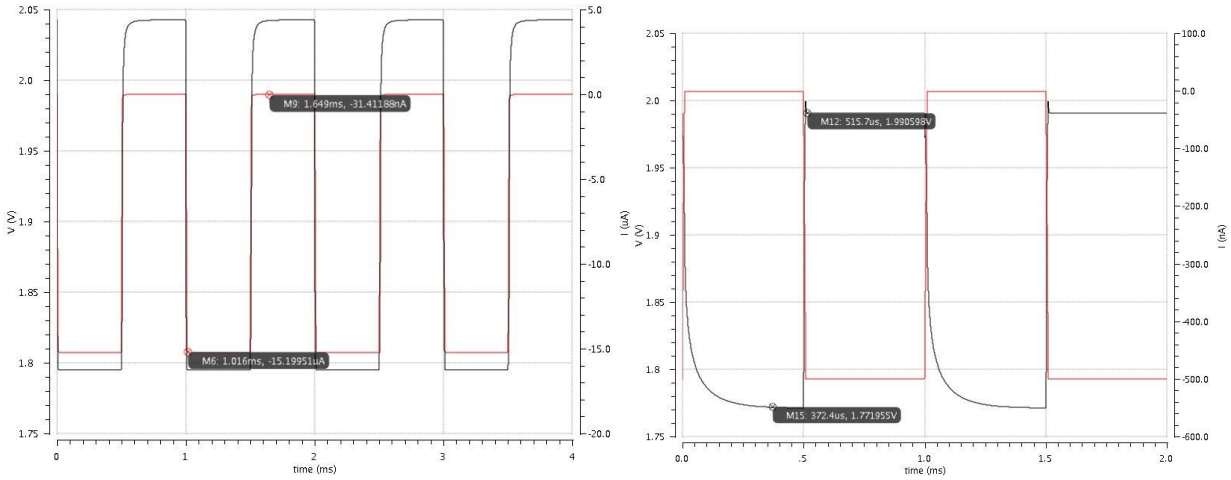


Figure 52 - Temps de réponse de la deuxième jonction à gauche et temps de réponse de la première jonction du capteur à droite.

2.4 Conclusion

Nous avons présenté dans ce paragraphe les éléments d'un pixel APS, à savoir le capteur à double jonctions enterrées, les deux modes de lecture d'un courant photonique : mode courant avec les transistors de lecture opérant en faible inversion et mode intégration avec une capacité de charge et un interrupteur. Le mode intégration de charge intègre le courant pendant un temps donné « temps d'intégration », alors que le mode courant mesure de courant instantanément. C'est pour cette raison que le mode courant est adapté aux applications avec des flux importants à l'opposé du mode intégration de charge qui est utilisé dans des applications avec un flux faible. Pour notre application, nous avons choisi de travailler en mode courant car le flux envoyé sur le capteur pourra être relativement important et la loi logarithmique entre la tension et le courant des transistors opérant en faible inversion permet d'avoir une grande dynamique en entrée du capteur.

3 Amplification

Le concept de base d'un pixel APS est de pré-amplifier le signal au niveau du pixel. Ce type de capteur possède des transistors permettant une conversion charge/tension ou courant/tension directement au niveau de chaque photo-site. La conversion se produisant à l'intérieur même du pixel, il est ainsi possible d'améliorer de façon significative la qualité du signal. On élimine ici l'influence de certaines composantes parasites (capacités principalement). La vitesse de lecture est aussi améliorée, puisqu'il n'y a aucun transfert de charges et que la distance séparant les photo-détecteurs d'une colonne et le circuit de lecture associé est réduite. C'est le choix et le dimensionnement de ce circuit d'amplification qui fixe les caractéristiques de vitesse, de bruit et de linéarité lors de la lecture du capteur APS.

L'objectif étant donc d'obtenir en sortie un signal utile peu perturbé avec une bonne linéarité et peu encombrant. Notre choix s'est porté sur deux structures différentes (cf. figure 53) : la première est une architecture à base d'amplificateur de tension de type source commune avec un gain supérieur à 1 pour les plus faibles potentiels, en revanche un amplificateur de type source suiveuse d'un gain unitaire suffira pour isoler le circuit en cas d'un bon signal sortant du capteur.

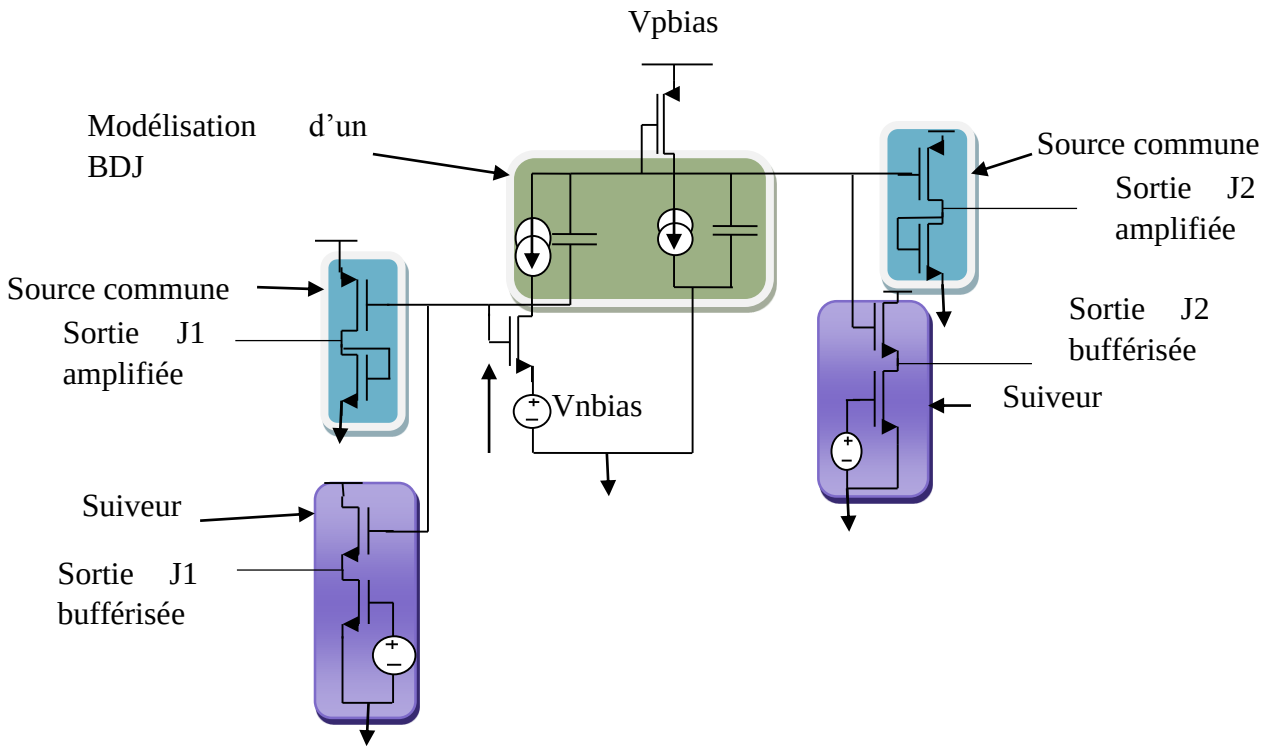


Figure 53 - Structure générale du capteur en mode courant ainsi que les amplificateurs de type source commune et source suiveuse

3.1 Source commune

Afin d'amplifier les petits signaux, un amplificateur avec un gain supérieur à 1 est nécessaire. Pour réaliser cette amplification, nous avons choisi un montage source commune.

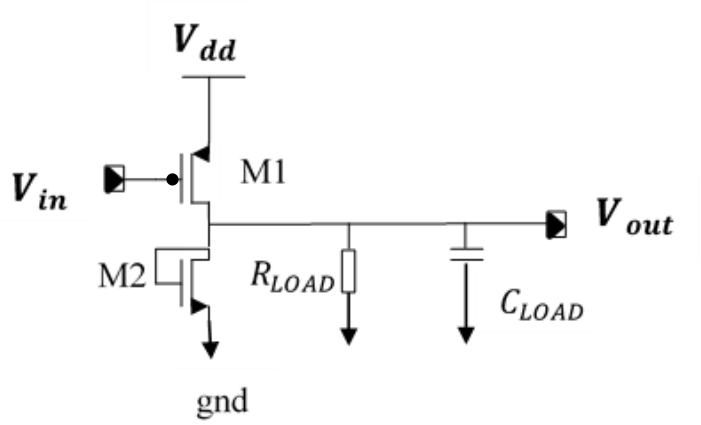


Figure 54 - Schéma d'un amplificateur à base d'un transistor MOS en source commune.

Le transistor M2 est monté en diode, il sera représenté sur le schéma équivalent en petits signaux alternatifs par une résistance R_n.

Le schéma équivalent en petits signaux [39] alternatifs du montage de la source commune est ci-dessous :

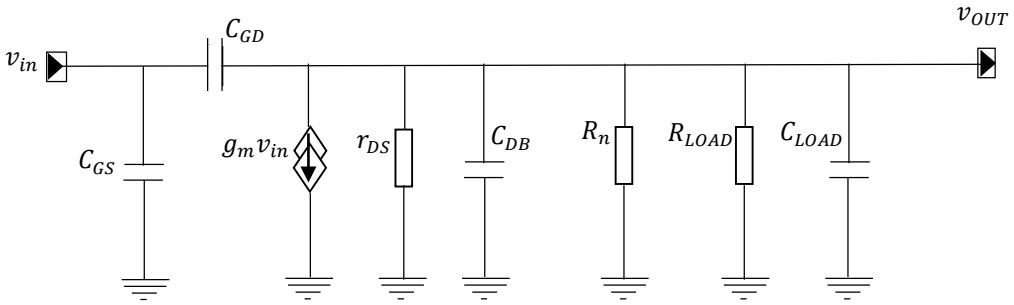


Figure 55 - Schéma équivalent de la source commune en petits signaux alternatifs.

Sur la figure ci-dessus, R_{LOAD} et C_{LOAD} représentent les charges de l'amplificateur.
Afin de déterminer le gain en tension du montage électrique ci-dessus, nous calculons l'impédance vue du nœud de sortie du schéma équivalent en petits signaux alternatifs quand la source d'entrée est annulée. Nous calculons ensuite le courant créé par cette source d'entrée, sortant du nœud de sortie lorsqu'il est relié à la masse (court-circuit).
Enfin, le gain en tension pour des petits signaux alternatifs est le résultat du produit de ces deux termes (impédance, courant) en divisant par la tension d'entrée. Pour calculer le gain statique (basse fréquence) nous effectuons ce calcul sans la présence des capacités (cf. figure 56).

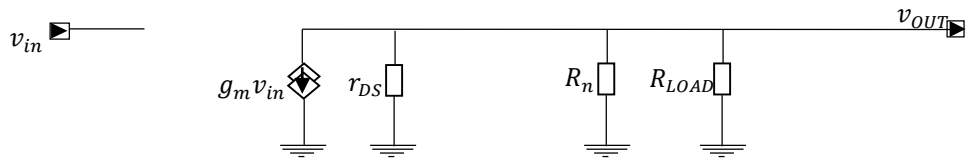


Figure 56 - Schéma équivalent de la source commune en basse fréquence

Sur ce schéma équivalent, on détermine directement le courant de court-circuit:

$$i_{CC0} = -g_m v_{in}$$

Et l'impédance vue de la sortie (quand v_{in} = 0) vaut :

$$Z_{out} = r_{DS} // R_{LOAD} // R_n \quad \text{Avec } (R_n = 1/g_{mn})$$

Le gain en tension basse fréquence pour des petits signaux alternatifs vaut alors :

$$v_{out} = -(g_m v_{in}) Z_{out}$$

Gain = $-{g_m}/{g_{mn}}$ avec $g_m = [2.\mu_p.Cox.(W/L)_p]^{1/2}$ et $g_{mn} = [2.\mu_n.Cox.(W/L)_n]^{1/2}$

$$\text{Gain} = \sqrt{\frac{\mu_p}{\mu_n} . \frac{(W/L)_p}{(W/L)_n}} \qquad \textbf{(II-3)}$$

On fait le choix d'un gain de 3, dans notre application ce qui peut donner ces tailles de transistors W_p =54µm ; L_p =1µm ; W_n =3µm ; L_n =1µm (rapport des mobilités vaut ½ dans notre technologie)

Nous avons établi une simulation DC pour la source commune afin de déterminer sa dynamique d'entrée.

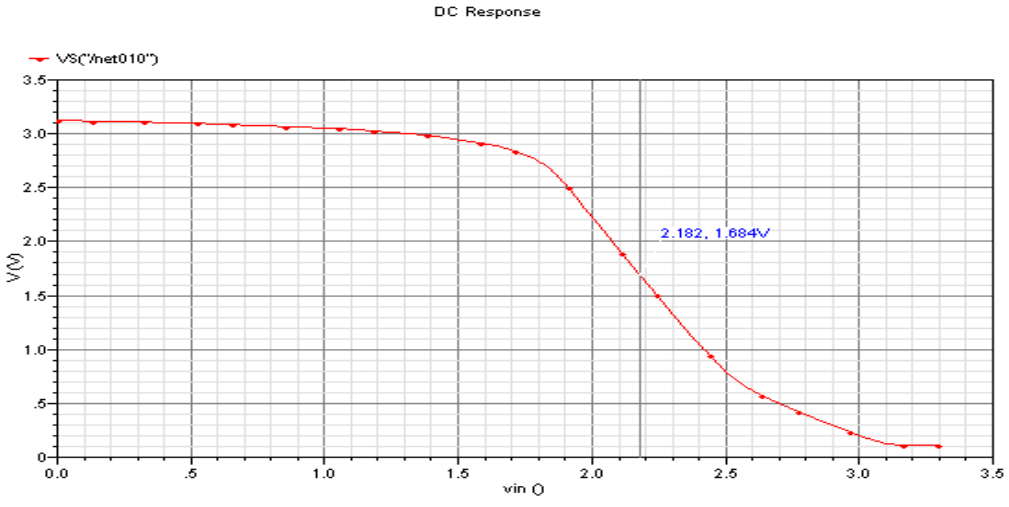


Figure 57 - Evolution de la sortie de l'amplificateur en fonction de la tension d'entrée

Afin d'adapter ce montage à notre application il faut que la dynamique d'entrée de la source commune soit égale à la dynamique de sortie du capteur. Pour cela nous avons établi plusieurs solutions :

1- Changer le V_{bias} du transistor de charge qui opère en faible inversion du capteur. Ce qui va déplacer la dynamique de sortie du capteur sans pour autant modifier sa dynamique d'entrée (juste un décalage de tension)
2- Changer le rapport des tailles des transistors de lecture opérant en faible inversion
3- Cascader plusieurs transistors de charge du capteur comme sur la figure 58

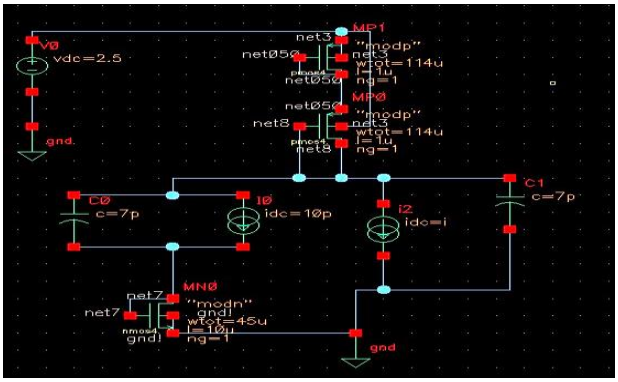


Figure 58 - Capteur avec deux transistors cascadés en faible inversion

La première solution est celle qui a été retenue, car c'est la plus simple et la plus efficace. Elle permet de ne pas rajouter d'autre transistor ce qui occuperai plus de place dans le dessin du Layout. Cela permettra aussi de ne pas changer les dimensionnements des transistors, qui sont déjà prêts pour opérer en faible inversion au tour de 100nA, comme défini par le cahier de charge.
Nous utilisons donc une tension V_{pbias} réglée expérimentalement environ à 2,5V pour polariser le transistor de lecture (opérant en faible inversion).

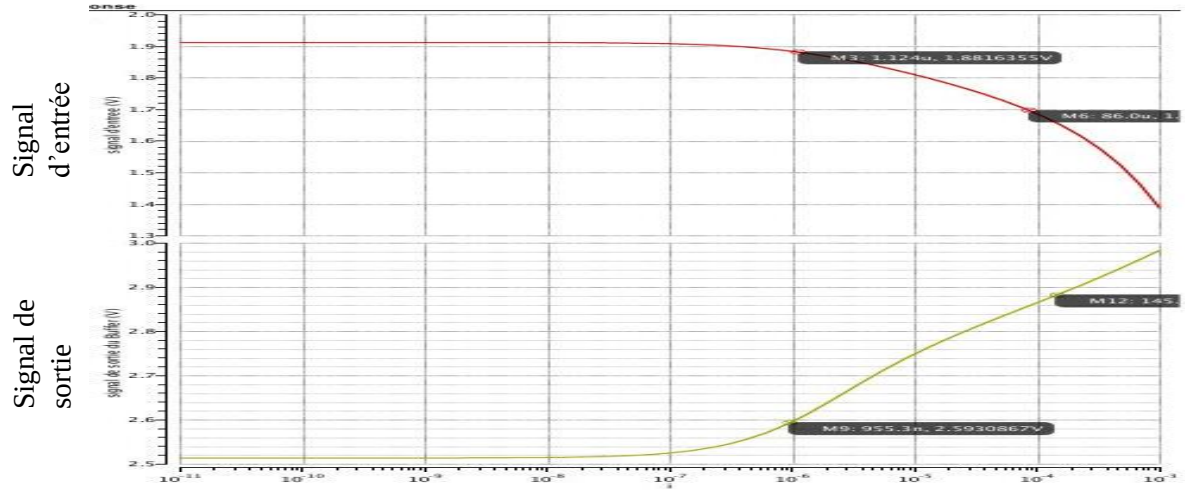


Figure 59 - Sortie analyse DC du amplificateur de la deuxième jonction.

La figure ci-dessus représente la réponse DC de la source commune à sortie de la deuxième jontion. En rouge l'entrée de l'ampificateur et en vert sa réponse.

3.1.1 Réponse fréquentielle

Ci-dessous la réponse fréquentielle, représentée sur un diagramme de Bode, du montage en source commune avec une capacité de charge C_{LOAD} = 1pf et une résistance de charge R_{LOAD} = 10MΩ. On constate comme attendu un gain statique égal à 3.

La bande passante de ce montage est de 26 MHz comme montre la figure 60. L'avantage de ce montage en source commune est de présenter une impédance d'entrée infinie, et une faible impédance de sortie.

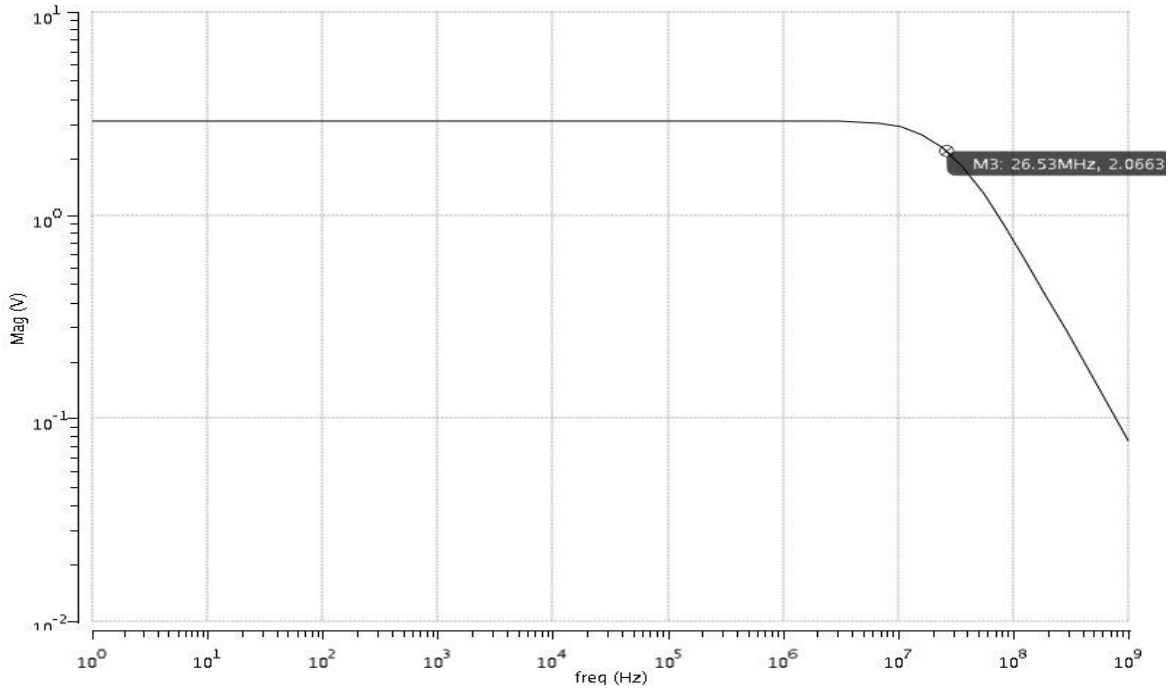


Figure 60 - Diagramme de Bode de l'amplificateur avec une capa de 1pf (analyse en alternatif AC).

3.1.2 Temps de réponse

Pour obtenir le temps de réponse de l'étage amplificateur source commune, nous avons mis en entrée un échelon de tension qui représente toute la dynamique de sortie du capteur.
Le temps de réponse du suiveur est de 0,03µs en montée et 0,09µs en descente avec une capacité de charge C_{LOAD} = 1pf et une résistance de charge R_{LOAD} = 10MΩ (cf. figure 61). Sans charge, le temps de réponse est de quelques nano secondes. Ses résultats satisfaisants pour notre application, car cela ne rajoute que très peu de temps de réponse à celui du pixel vu précédemment.
Sur l'axe des abscisses nous avons le temps en µs et sur l'axe des ordonnées nous avons le signal d'entrée et de sortie de l'amplificateur.

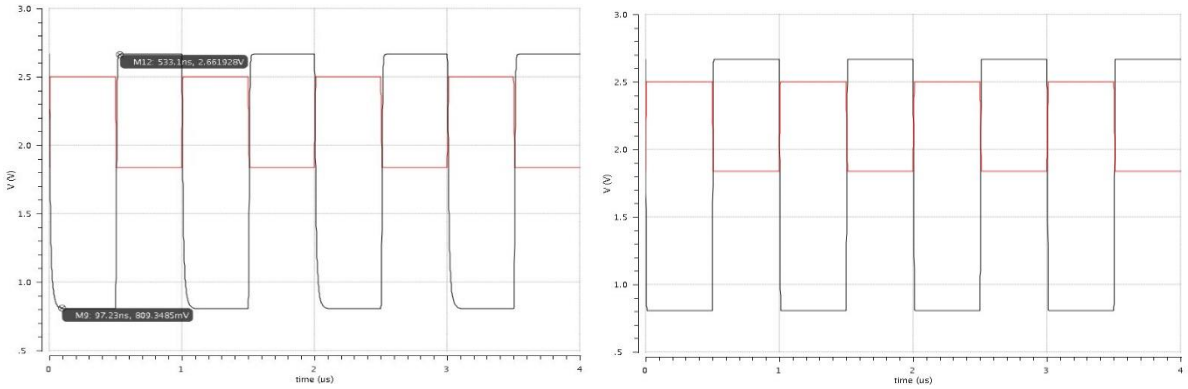


Figure 61 - Temps de réponse de la source commune à gauche avec charge et à droite sans charge. En rouge le signal d'entrée et en noir le signal de sortie.

3.1.3 Bruit de la source commune

Pour calculer le bruit du montage en source commune, on établit son schéma équivalent petit signaux en bruit. On rappelle le schéma électrique d'une source commune :

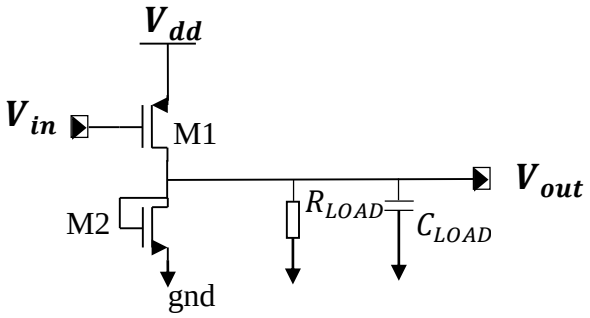
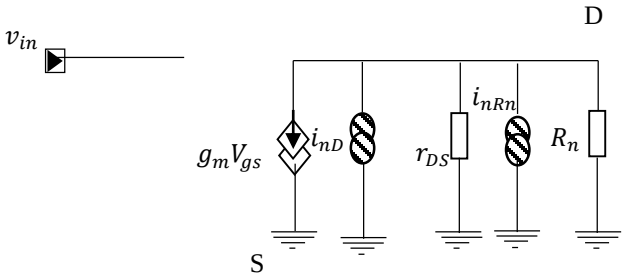


Figure 62 - Schéma électrique de la source commune

On en déduit le schéma équivalent petit signaux en bruit:



La sources de bruit i_{nD} modélise le bruit thermique et le bruit flicker du canal du transistor. La source de bruit i_{nRn} modélise le bruit thermique et le bruit flicker de la résistance. Dans ce modèl la résistance équivalente r_{DS} est non bruyante.

DSP du bruit thermique en sortie

$$(v_{in}=0) : \boldsymbol{e_{out}^2 = R_L^2.\left(i_{nD}^2 + i_{nR_n}^2\right)} \qquad \text{Avec} \quad R_L = R_n \,//\, r_{DS}$$

$$\boldsymbol{e_{out}^2 = R_L^2.\left(4kT\frac{2}{3}g_m + 4kT\frac{1}{R_n}\right)}$$

On trouve finalement $\mathbf{e_{out}^2 = R_L^2.\,4kT\frac{2}{3}g_m\left(1+\frac{3}{2}\frac{1}{g_m R_n}\right)}$ **(II-4)**

$$\boldsymbol{R_L = R_n//r_{DS} = \frac{R_n.r_{DS}}{R_{n+}r_{DS}}}$$

Par la simulation, on obtient les valeurs des résistances :
$r_{DS} = 466{,}41\ k\Omega$; $R_n = 5{,}81 k\Omega$; $g_m = 0{,}5204\ mS$,
Donc $R_L = 5{,}74\ k\Omega$

$$e_{out}^2 = R_L^2.\,4kT\frac{2}{3}g_m\left(1+\frac{3}{2}\frac{1}{g_m R_n}\right) \Rightarrow e_{out} = 16{,}64\ nV/\sqrt{Hz}$$ (bruit thermique)

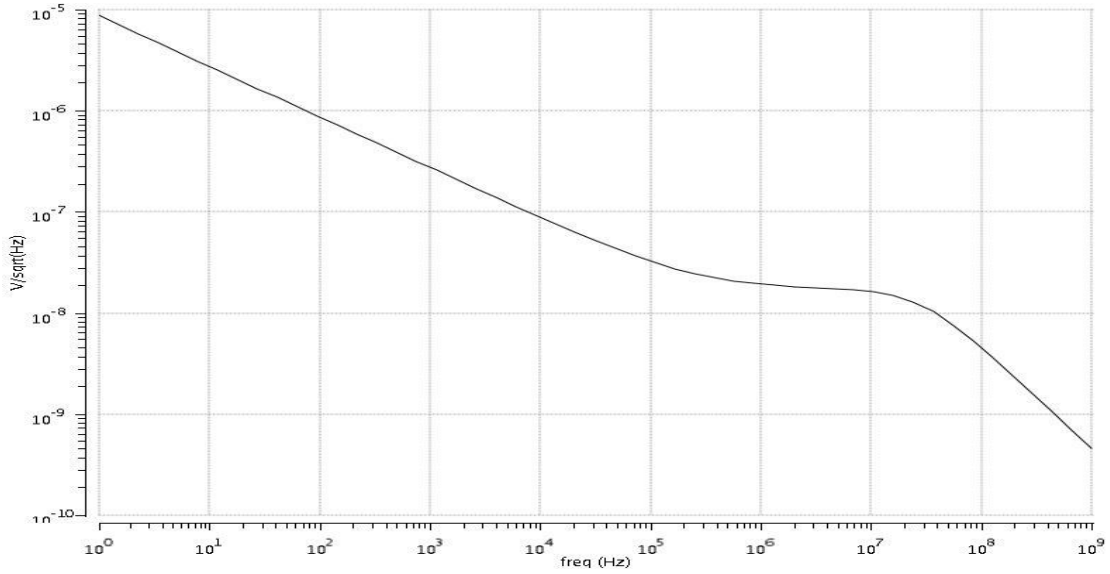


Figure 63 - Evolution du bruit en sortie de la source commune en fonction de la fréquence

Sur le graphe présenté par la figure 63, on constate bien une zone de bruit blanc (entre environ 1MHz et 10MHz) d'une valeur de 17 $nV/\sqrt{Hz}$. Ce résultat de simulation correspond bien à nos calculs de bruits thermiques. On voit une pente négative en basses fréquences correspondante au bruit en 1/f « bruit de flicker ». La fréquence de raccordement entre le bruit thermique est le bruit flicker est environ 400kHz. La chute du bruit en sortie à partir d'environ 20 MHz correspond bien à la bande passante mesurée lors de l'étude de la réponse fréquentielle.

3.2 Suiveur NMOS

Pour réaliser un amplificateur de gain 1 à forte impédance d'entrée et à faible impédance de sortie, nous utilisons un montage de type source suiveuse. Vu que la tension de sortie du détecteur optique est proche de V_{dd}, On choisit un suiveur NMOS afin de décaler cette tension de sortie du capteur et la recentrer entre V_{dd} et V_{ss}. L'utilisation d'un suiveur PMOS aurait remonté la tension vers V_{dd}.

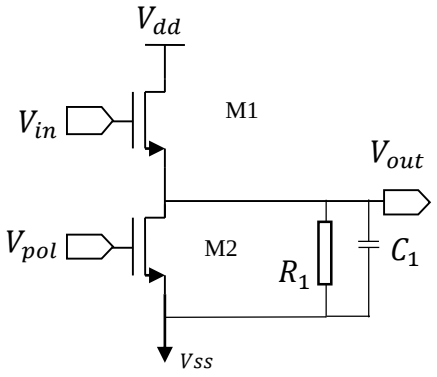


Figure 64 - Schéma du suiveur NMOS

Schéma équivalent en petits signaux et en basse fréquence du suiveur NMOS est donné ci-dessous :

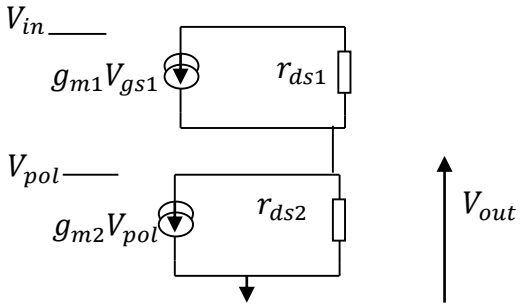


Figure 65 - Schéma équivalent en petits signaux du suiveur NMOS

En régime alternatif ($V_{pol} = 0$), La tension de sortie est égale à :

$$V_{out} = \left(g_{m1}V_{gs1}\right) R_L \text{ avec } R_L = r_{ds2}//r_{ds1}$$

De plus, nous avons : $V_{in} = V_{gs1} + V_{ds2}$ et $V_{ds2} = V_{out}$

Donc $V_{gs1} = V_{in} - V_{out}$ => $V_{out} = (g_{m1}(V_{in} - V_{out}))R_L$

=> $V_{out}(1 + g_{m1}R_L) = V_{in}g_{m1}R_L$

Ainsi le gain en tension est : $G = \frac{V_{out}}{V_{in}} = \frac{g_{m1}R_L}{1+g_{m1}R_L}$ **II-5**

Avec $R_L = 116K\Omega \ et \ g_{m1} = 1{,}298mS$ => G = 0,99

Après simulation, nous avons mesuré un gain bien inférieur à 1 (égal à 0,8). Vu que la technologie utilisée est à substrat P, tous les substrats des transistors (NMOS) sont reliés à V_{ss} (potentiel le plus bas du circuit), il en est donc ainsi pour le transistor M1.

La source du transistor M1 n'est donc pas reliée à son substrat ce qui induit une transconductance g_{mb} qui dégrade le gain. Ce problème est connu dans la littérature [45]. La solution serait de le connecter le substrat à la source du transistor. Mais la technologie CMOS 0,35µm proposée par AMS ne permet pas d'appliquer cette solution.

Afin de minimiser cet effet de substrat, nous avons optimisé les dimensions des transistors afin d'avoir un gain s'approchant le plus possible de l'unité.
Pour avoir une bonne adaptation de la dynamique d'entrée du suiveur à la dynamique de sortie du capteur, nous avons effectué des simulations paramétriques sur les dimensions des transistors M1 et M2.

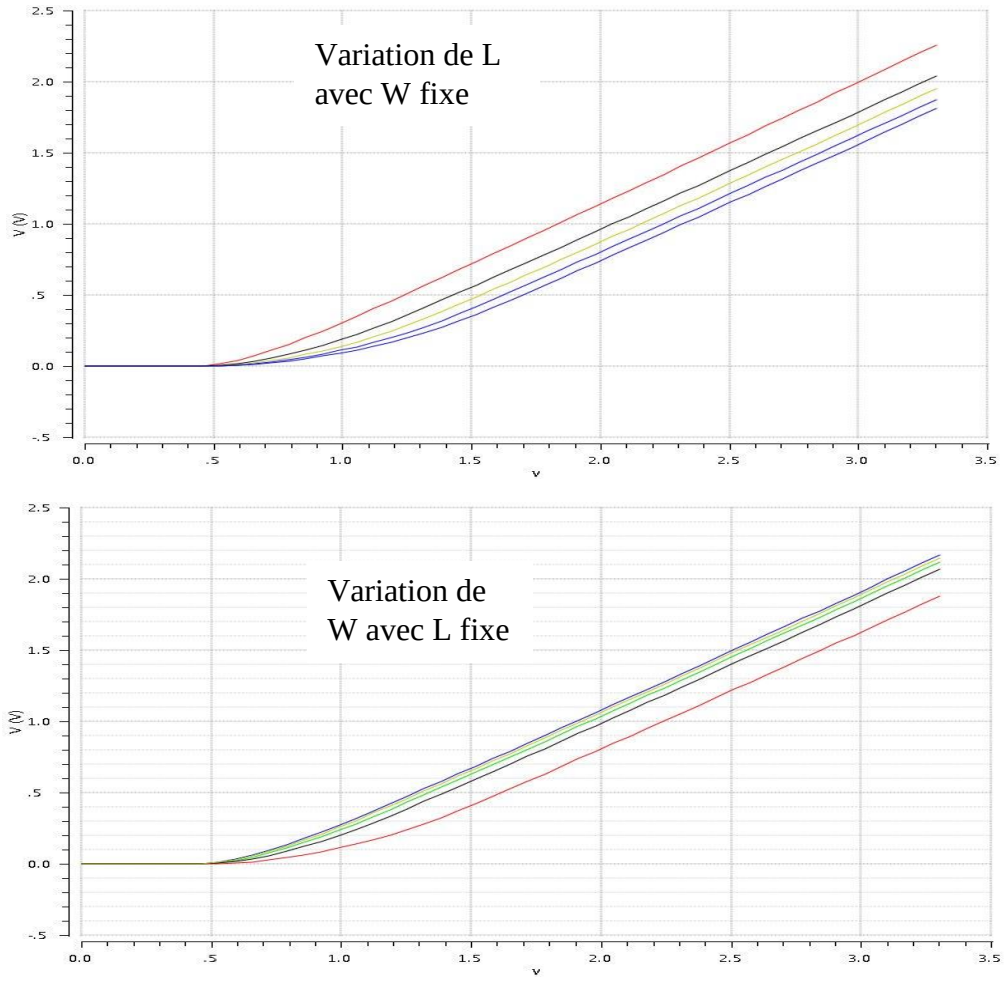


Figure 66 - Analyse DC du suiveur NMOS pour différentes valeurs de W et L

Ainsi nous avons déterminé, de manière optimale, la taille du transistor M1 (W = 30µm et L= 1µm) et la taille du transistor M2 (W = 5µm et L= 1µm). Nous vérifions ces résultats avec une simulation DC (cf. figure 67).

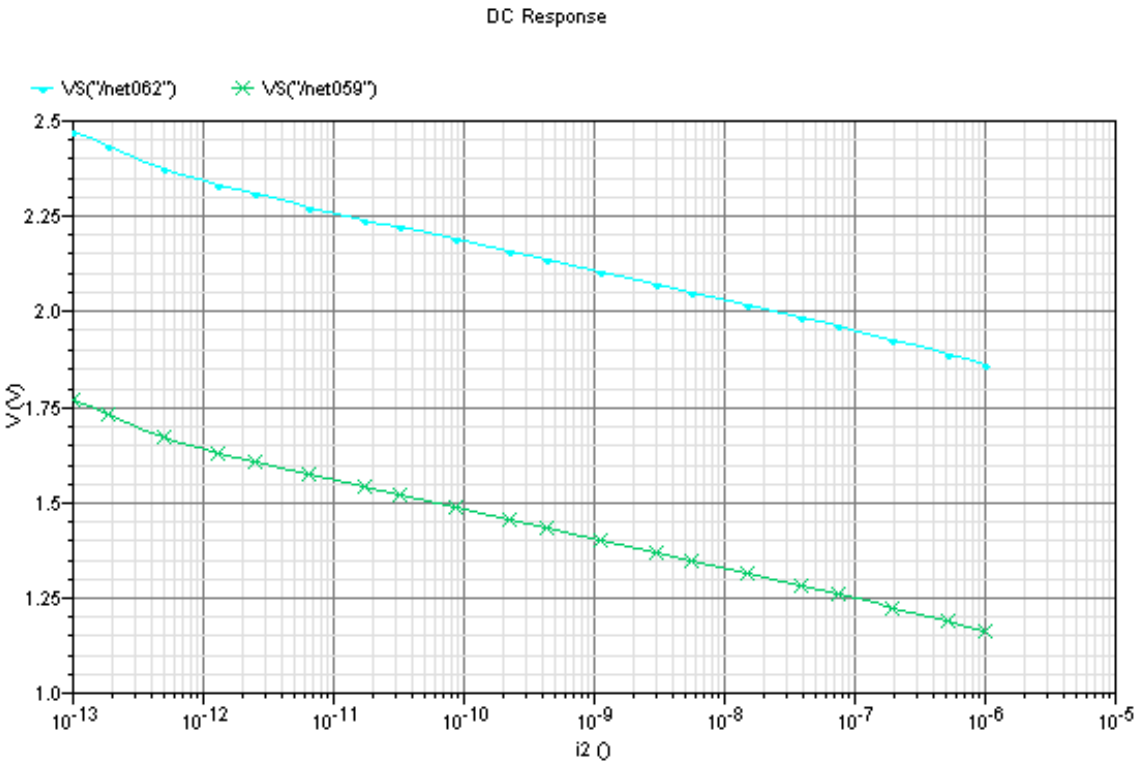


Figure 67 - Graphe représentant en analyse DC la sortie du buffer de la deuxième jonction.

La courbe bleu représente la sortie du capteur est qui l'entrée du suiveur NMOS, cette tension varie entre 2,5V et 1,85V. La courbe verte représente la sortie du suiveur NMOS.

On constate bien qu'elle est décalée au milieu des tensions d'alimentations [0 – 3, 3V] sans saturation.

3.2.1 Réponse fréquentielle

Ci-dessous la réponse fréquentielle, représentée sur un diagramme de Bode, du montage en source suiveuse avec une capacité de charge C_{LOAD} = 1pf et une résistance de charge R_{LOAD}= 10 MΩ.

On constate comme attendu un gain statique égal à 0,83. La bande passante de ce montage est de 125,3 MHz comme montre la figure 67. Ce qui est largement suffisant pour notre application

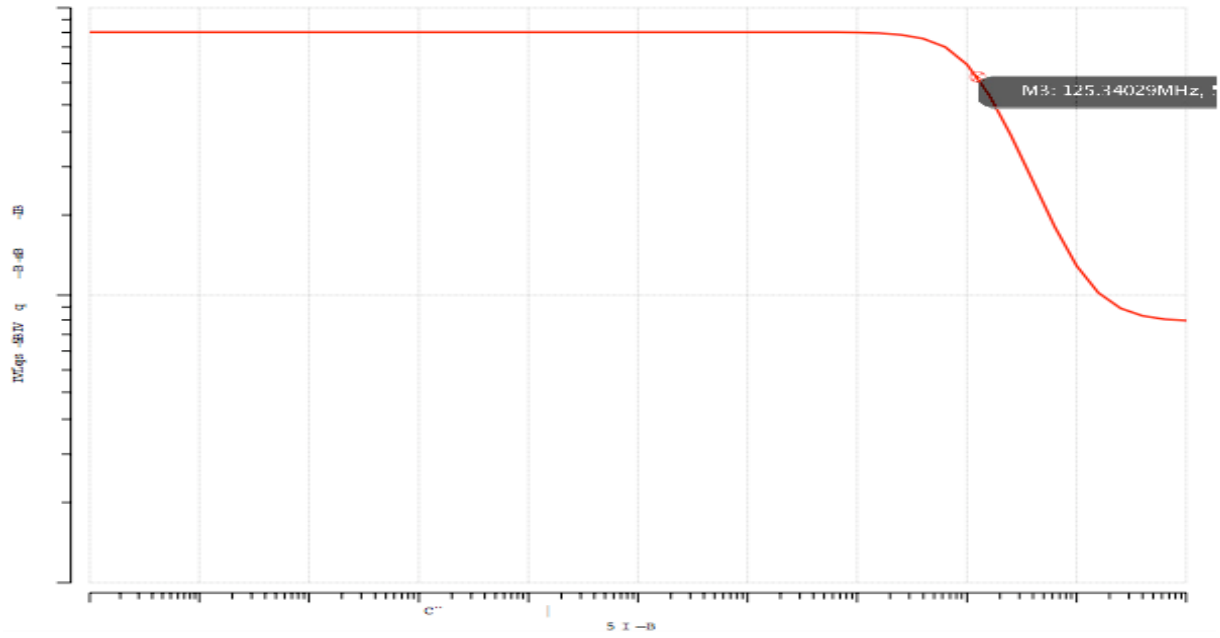


Figure 68 – Analyse AC du suiveur NMOS

3.2.2 Temps de réponse

Pour avoir le temps de réponse de l'étage amplificateur suiveur, nous avons mis en entrée un échelon de tension qui représente toute sa dynamique d'entrée [1.5V - 3.3V].

Le temps de réponse du suiveur est de 0,01µs en montée et 0,07µs en descente cf. figure 69. Ces résultats sont satisfaisants pour notre application.

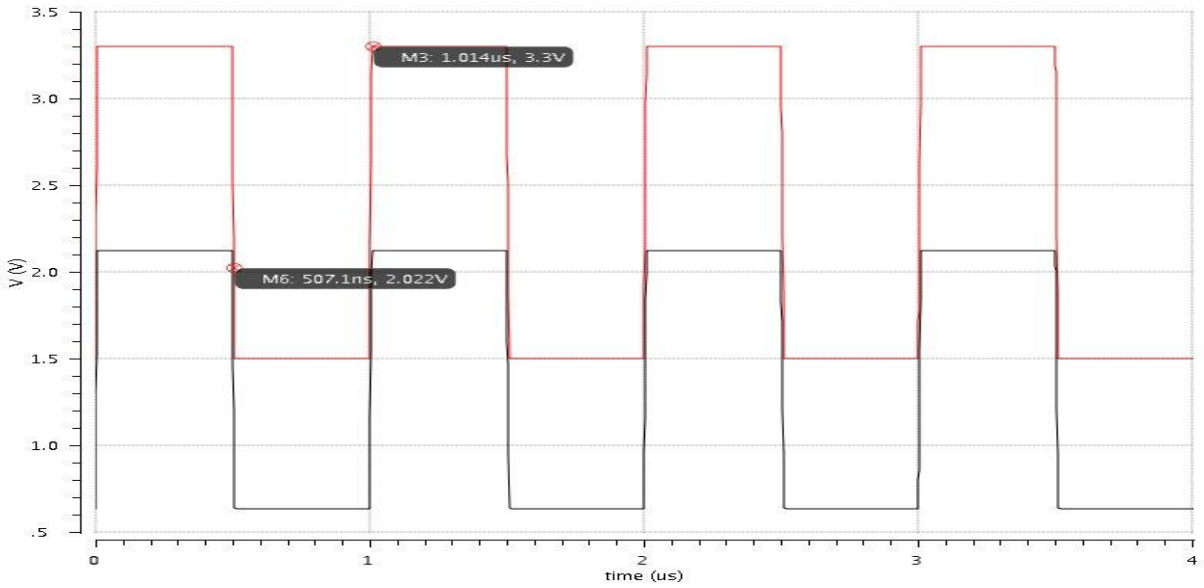


Figure 69 - Temps de réponse du suiveur. En rouge le signal d'entrée et en noir le signal de sortie.

3.2.3 Bruit du suiveur

Afin de calculer le bruit du montage suiveur, on établit son schéma équivalent petit signaux en bruit. On rappelle le schéma du suiveur NMOS :

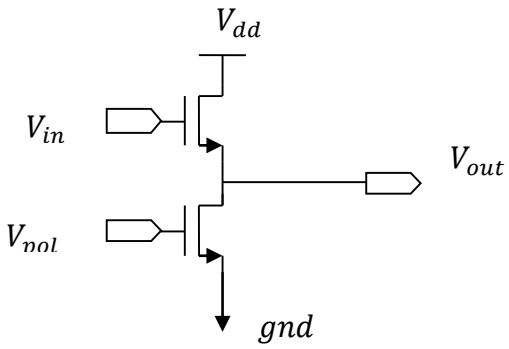


Figure 70 - Schéma électrique du suiveur

Le schéma équivalent petit signaux en bruit est donc:

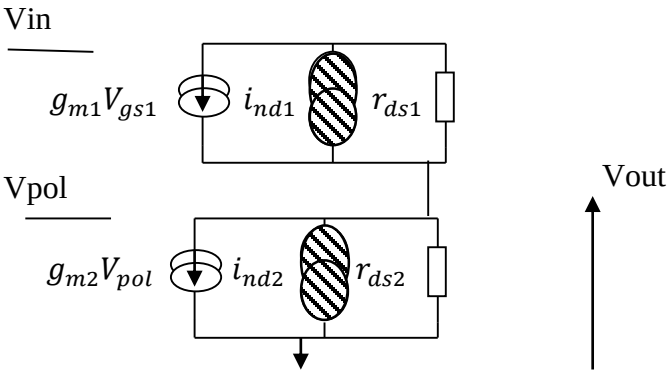


Figure 71 - Schéma équivalent petit signaux en bruit du suiveur

DSP du bruit thermique en sortie :

$$V_{pol} = 0;\ V_{in} = 0$$

$$V_{gs1} = V_{in} - V_{out}$$

$$e_{out}^{2} = \left(R_L // \frac{1}{g_{m1}}\right)^2 (i_{nd1}^2 + i_{nd2}^2) \qquad \text{avec } R_L = r_{ds1} // r_{ds2}$$

$$e_{out}^{2} = \left(\frac{R_L}{1 + g_{m1}R_L}\right)^2 (i_{nd1}^2 + i_{nd2}^2)$$

$$\boldsymbol{e_{out}^{2} = \left(\frac{R_L}{1+g_{m1}R_L}\right)^2 4kT\frac{2}{3}(g_{m1} + g_{m2})} \qquad \textbf{(II-6)}$$

e_{out} : Bruit apporté en sortie

R_L : Charge du transistor de charge

g_m : Transconductance du transistor

k : Constante de Boltzmann

T: Température ambiante

$g_{m1} = 703{,}4\ \mu S$, $g_{ds1} = 1{,}061\ \mu S$, $g_{m2} = 263{,}9\ \mu S$, $g_{ds2} = 1{,}329\ \mu S$

$R_L = 418\ k\Omega$

$$e_{out} = 4{,}63\ nV/\sqrt{Hz}$$

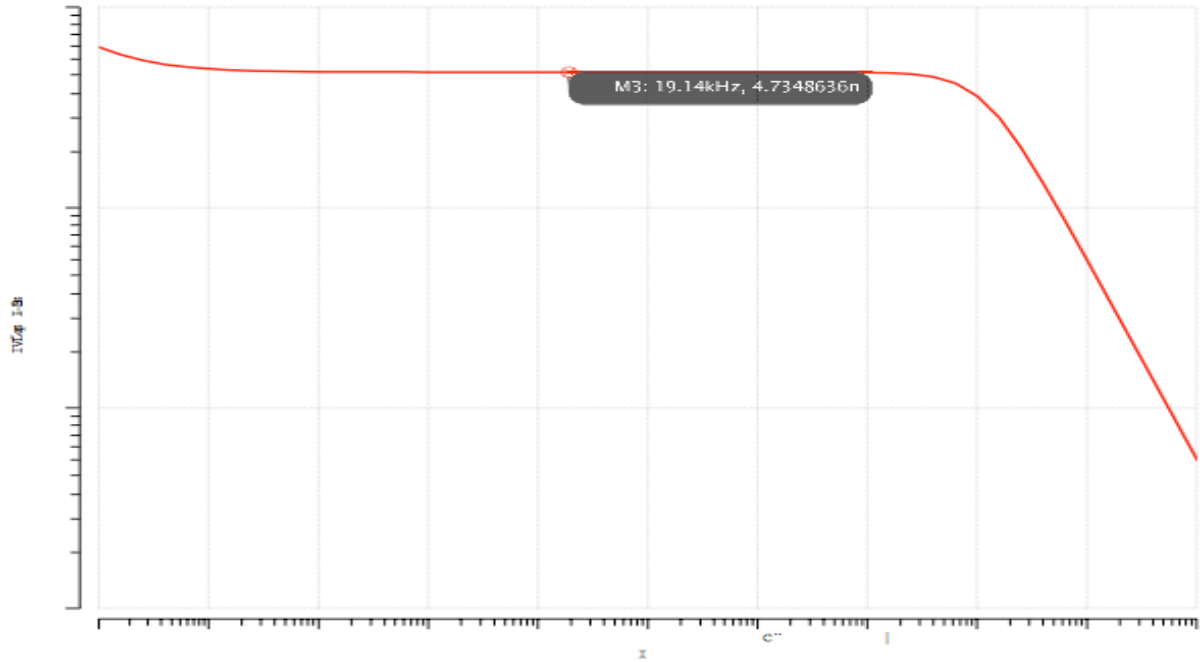


Figure 72 - Résultat du bruit à la sortie du suiveur en fonction de la fréquence

Sur le graphe représentant le résultat de simulation du bruit du suiveur NMOS, nous pouvons observer le bruit 1/f jusqu'à d'environ 60 Hz suivi d'un bruit blanc entre environ 60 Hz et 700MHz, d'une valeur de e_{noise}= 4,73 $\boldsymbol{nV/\sqrt{Hz}}$ ce qui correspond au résultat de calcul.

3.3 Synthèse

Pour la lecture en mode courant, nous utiliserons donc : un amplificateur en source commune (gain = 3) et un amplificateur en source suiveuse (gain = 1). Le choix du gain se fera à l'extérieur de la puce par l'utilisateur en fonction de l'amplitude du signal.

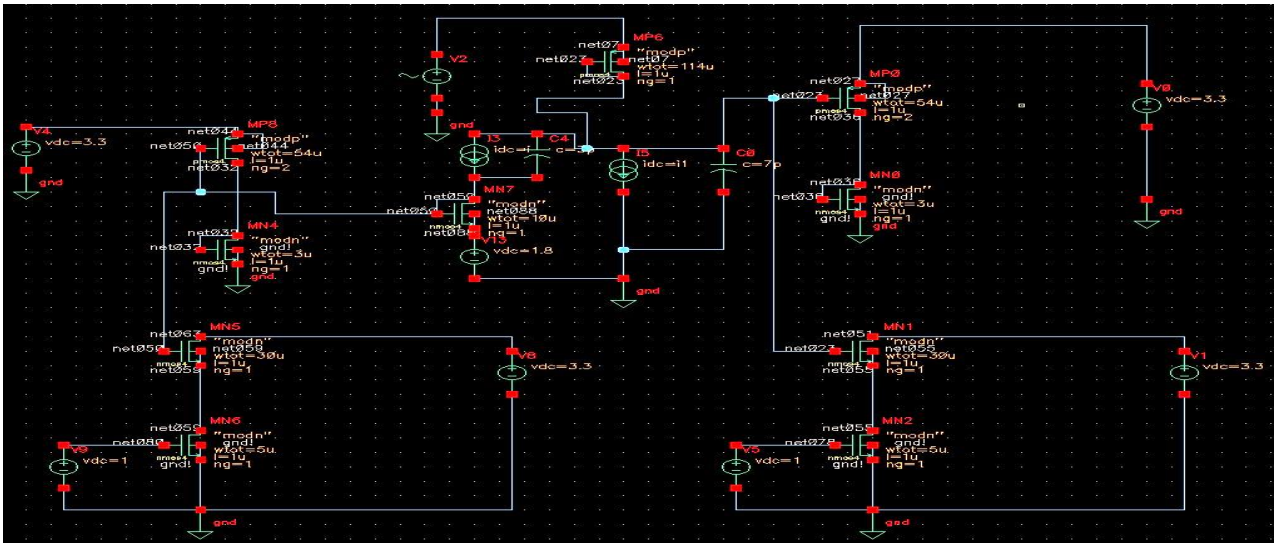
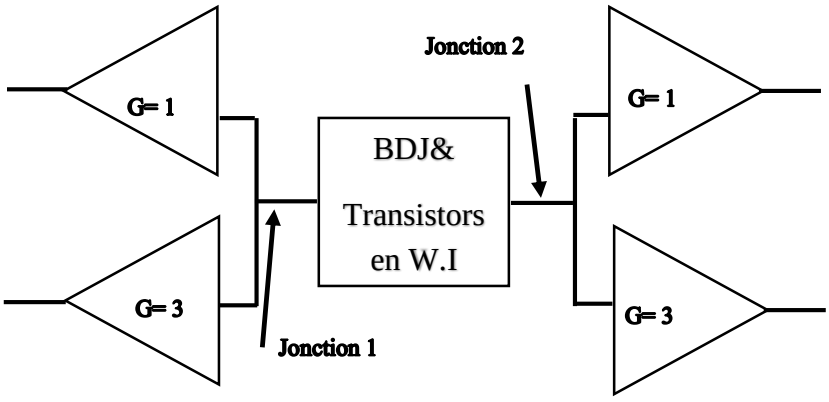


Figure 73 - Mode courant avec les deux structures d'amplification

Sur le schèma, ci-dessus nous avons le capteur modélisé avec deux sources de courant associées aux capacités parasites. Les transistors NMOS « MN7 » et PMOS « MP6 » fonctionnent en faible inversion pour la conversion des photo-courants en tensions. Les amplificateurs sources communes sont représentés par les quatre transistors « MP0 », « MN0 », « MP8 » et « MN4», deux transistos par jonction. Les suiveurs sont représentés aussi par quatre transistors « MN5 », « MN6 », « MN1 » et « MN2», deux transistors par jonction.

Structure générale du pixel:

G : Gain
BDJ : Capteur à double jonctions enterrées.



W.I : Weak Inversion

Figure 74 - Schéma bloc du pixel APS

4 Adressage

L'adressage de la matrice APS est une fonctionnalité « numérique ». Le décodeur d'adresse doit être capable, à partir d'un code numérique sur 10 bits pour une matrice de 20x20 et de 4 bits pour une matrice de 4x4, de pointer sur une ligne et une colonne données. Cette fonctionnalité sera générée à l'aide de portes logiques et d'interrupteurs. Notre électronique d'adressage doit avoir des fonctionnalités qui permettent :

- L'adressage direct du pixel
- L'adressage séquentiel et la lecture de l'adresse du pixel activé

L'architecture que nous avons choisie pour répondre à ces objectifs est donnée sur la figure 75.

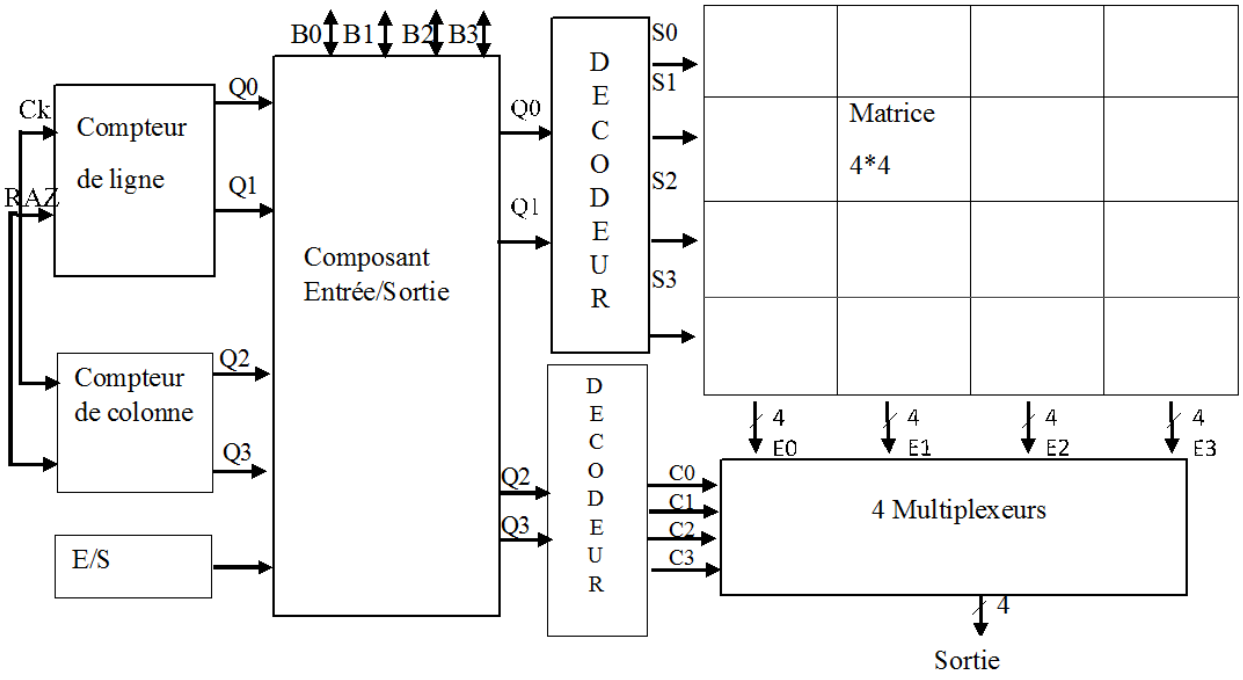


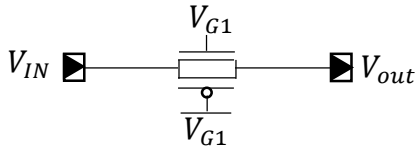
Figure 75 - Architecture générale du système d'adressage de la puce

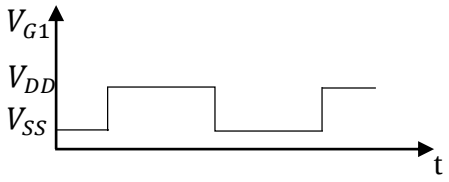
Elle comporte deux compteurs de 0 à 3, deux décodeurs (un pour les lignes et un pour les colonnes), des interrupteurs et quatre multiplexeurs (4 vers 1). La transmission des signaux sélectionnés se fera par des interrupteurs commandés par les décodeurs. Lorsqu'une ligne est sélectionnée par le compteur de ligne via le décodeur de ligne, une colonne est sélectionnée par le compteur de colonne via le décodeur de colonne commandant les multiplexeurs.

Il y a quatre multiplexeurs 4 vers 1 car nous avons 4 sorties par pixel (les sorties bufférisées de la première et de la deuxième jonction et les sorties amplifiées de la première et de la deuxième jonction). Ainsi à chaque front d'horloge, nous avons à la fois les quatre sorties du pixel activé.

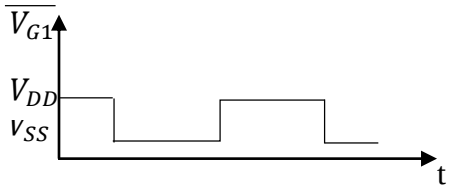
4.1 Interrupteur CMOS

Les interrupteurs CMOS sont réalisés en associant un transistor NMOS et un transistor PMOS en parallèle commandés par des tensions de grille complémentaires.





$$V_{SS} \leq V_{IN} \leq V_{DD}$$



Lorsque le transistor NMOS est en zone ohmique, il assure la transmission d'un signal analogique proche de V_{SS}. Lorsque le transistor PMOS est en zone ohmique, il assure la transmission d'un signal analogique proche de V_{DD}. Ainsi l'association des deux transistors complémentaires permet la transmission d'un signal analogique quelque soit son niveau. Lorsque les deux transistors sont bloqués, l'interrupteur est ouvert.

Si l'interrupteur est idéal alors $R_{ON} = 0$ et $R_{OFF} = \infty$. Pour un interrupteur non idéal, c'est le cas des interrupteurs CMOS en général, $R_{ON} \neq 0$. Ceci a une influence sur le temps de réponse et sur la bande passante.

Afin d'augmenter les performances, il faut avoir une faible valeur de R_{ON}. On note que la faible valeur de R_{ON} est limitée par la taille des transistors et par la technologie.

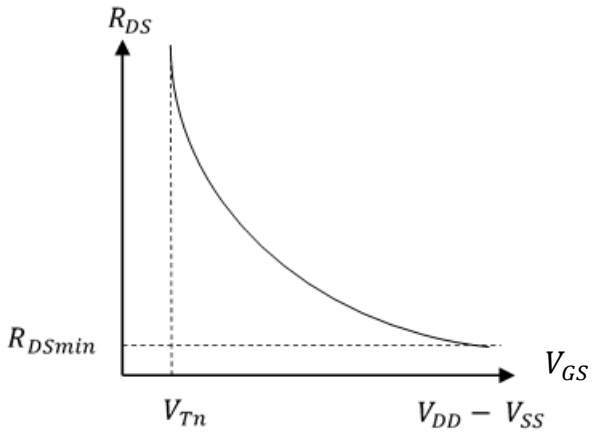
Pour le transistor NMOS, la résistance R_{ON} en zone ohmique est donnée par l'expression suivante:

$$R_{ON} = R_{DS} = \frac{1}{\propto . K_N . (V_{GS} - V_{Tn})} \qquad \text{Si} \qquad V_{GS} \geq V_{Tn} \qquad \text{et} \qquad V_{DS} < V_{GS} - V_{Tn}$$

K_N : Paramètre technologique (en A/V^2)

$\boldsymbol{\alpha} = W/L$: Paramètre de taille du NMOS (sans dimension)

V_{Tn} : Tension de seuil du transistor NMOS (en volts)



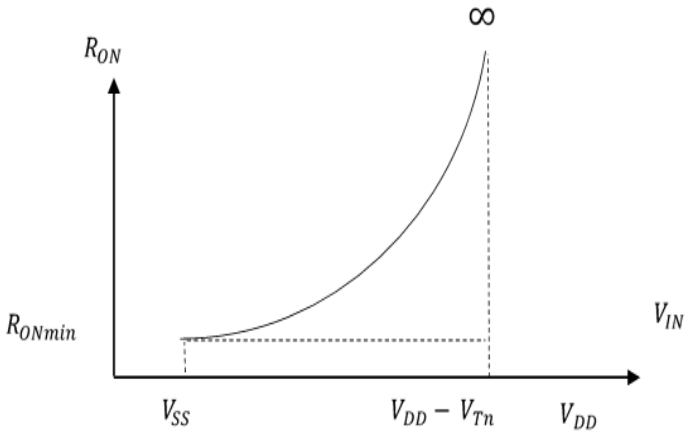
Calculons R_{ON} en fonction de V_{IN}

$V_{GS} = V_G - V_S$ Avec $V_S = V_{IN}$ donc $V_{GS} = V_G - V_{IN}$

V_G a deux valeurs possibles V_{DD} et V_{SS}

- Si $V_G = V_{SS}$ => le transistor est bloqué
- Si $V_G = V_{DD}$ => deux cas possible :
  - Soit $V_{IN} > V_{DD} - V_{Tn}$ donc transistor bloqué $R_{DS} = R_{OFF} \approx \infty$
  - Soit $V_{IN} < V_{DD} - V_{Tn}$ donc transistor passant $R_{DS} = R_{ON}$

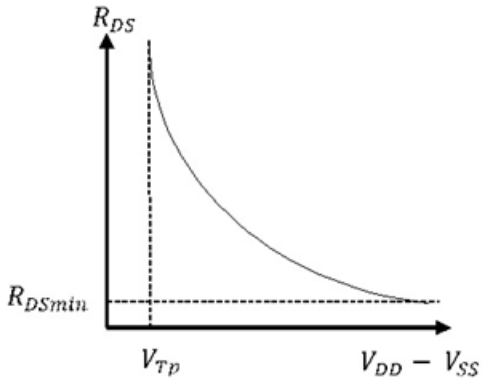
Avec $$\mathbf{R_{ON} = R_{DS} = \frac{1}{\propto . K_N . (V_{DD} - V_{Tn} - V_{IN})}}$$



❖ Pour le transistor PMOS :

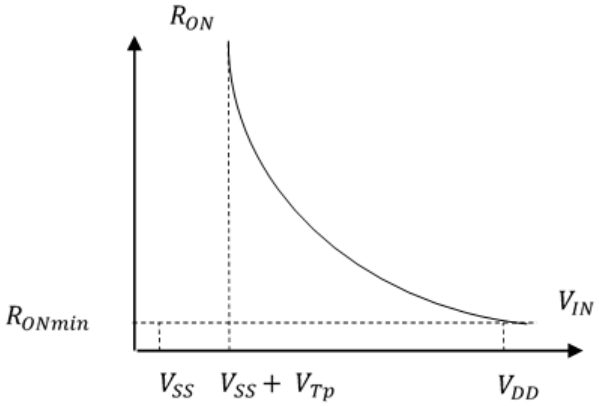
$\mathbf{R_{DS} = \frac{1}{\propto . K_P . (V_{SG} - V_{TP})}}$ Si $V_{SG} \geq V_{Tp}$ et $V_{SD} < V_{SG} - V_{TP}$ (zone ohmique)

K_p: Paramètre technologique (en A/V^2)



α = W/L : Paramètre de taille du PMOS (sans dimension)
V_{Tp} : Tension de seuil du transistor PMOS.

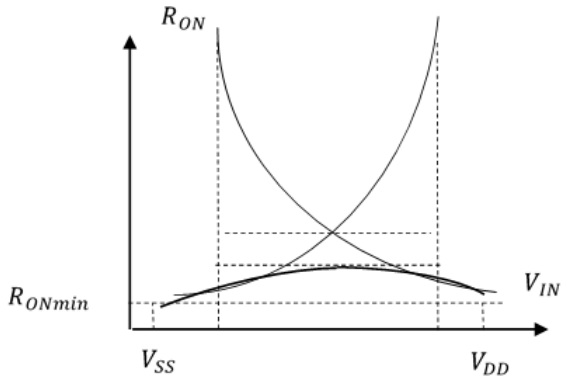
Tracé de R_{ON}



Le tracé de R_{ON} de l'interrupteur CMOS :

Le NMOS et le PMOS sont en parallèle donc $R_{ONcmos} < R_{ONmos}$

Avec un interrupteur CMOS où les transistors N et P sont en parallèle, la résistance R_{ON} équivalente est fortement diminuée et le signal peut aller de V_{DD} à V_{SS}.



Pour équilibrer le rapport des mobilités on prend souvent :

$\frac{W_P}{L_P} = \frac{K_n}{K_p}\frac{W_n}{L_n}$ Pour notre interrupteur $\frac{W_P}{L_P} = 2\,\frac{W_n}{L_n}$

Avec un $L_P = L_n = 0{,}35\mu m$ => $W_P = 4\mu m$ et $W_n = 2\mu m$

On remarque sur le graphe ci-dessous (figure 76) que l'interrupteur transmet bien un signal quand il est a l'état ON. La simulation a été effectuée sans capacité de charge, c'est ce qui explique les pics de tensions à l'état OFF.

Bleu : Entrée de l'interrupteur

Rouge : Sortie de l'interrupteur

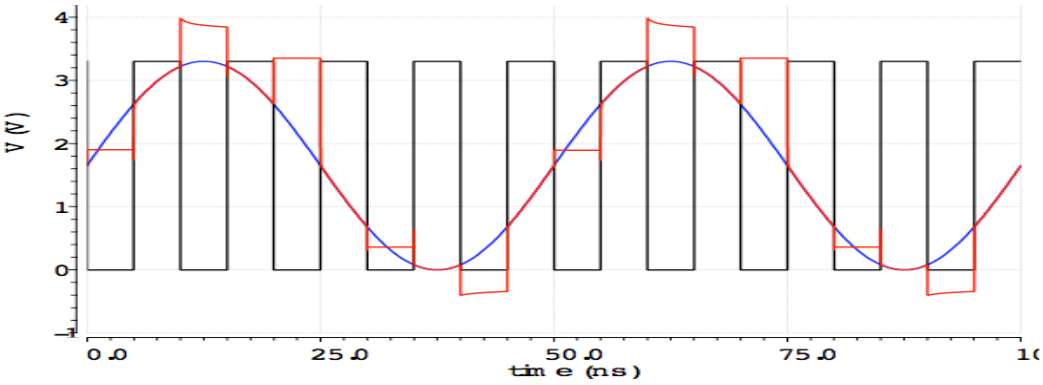


Figure 76 – Réponse de la simulation de l'interrupteur en transitoire

4.1.1 Bruit de l'interrupteur

Le bruit de l'interrupteur à l'état passant fait intervenir le bruit du canal du transistor NMOS celui du transistor PMOS. En ne considérant que le bruit thermique, nous obtenons la densité spectrale de puissance suivante :

$\mathbf{e_{out}^2 = 4kT(R_{ON_NMOS} // R_{ON_PMOS})}$ **avec** $R_{ON_NMOS} = 1/g_{ds} = 2.02\ k\Omega$ **et** $R_{ON_PMOS} = 4.086\ k\Omega$ **II-7**

$\mathbf{e_{out} = 4.69\ nV/\sqrt{Hz}}$

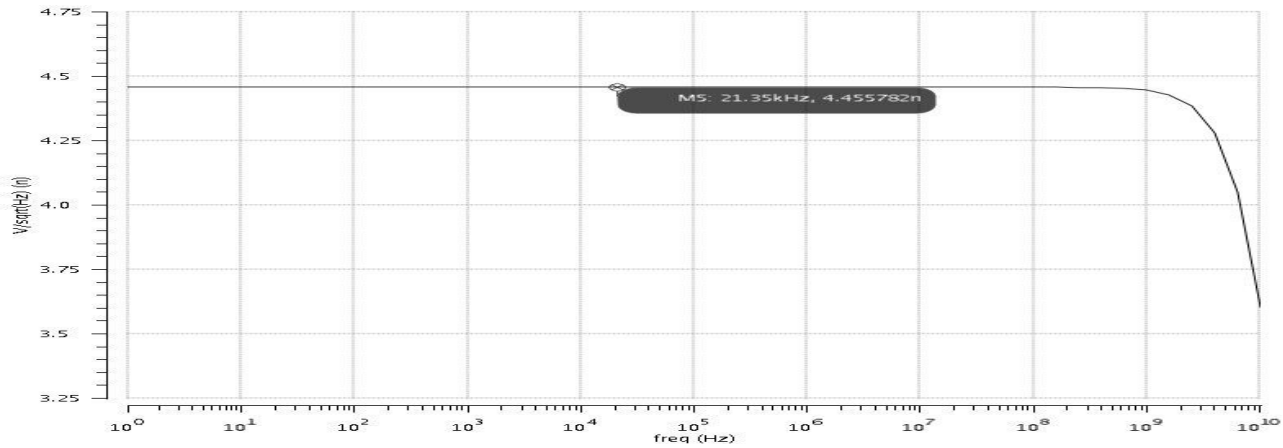


Figure 77 – variation du bruit des interrupteurs en fonction de la fréquence

Sur la figure 77 nous avons représenté la DSP du bruit de l'interrupteur en fonction de la fréquence. Le bruit de l'interrupteur correspond d'après la simulation à un bruit blanc (qui correspond bien à un bruit thermique). Sa valeur en simulation est de e_{out} = 4.45 $\frac{nV}{\sqrt{Hz}}$, ce résultat de simulation correspond au résultat du calcul ci-dessus.

4.1.2 Emplacement des interrupteurs dans la matrice

L'aiguillage du signal issu du pixel activé par l'adresse de lecture se fera via des interrupteurs placés selon la figure suivante au niveau d'un pixel (exemple d'une matrice 4x4).

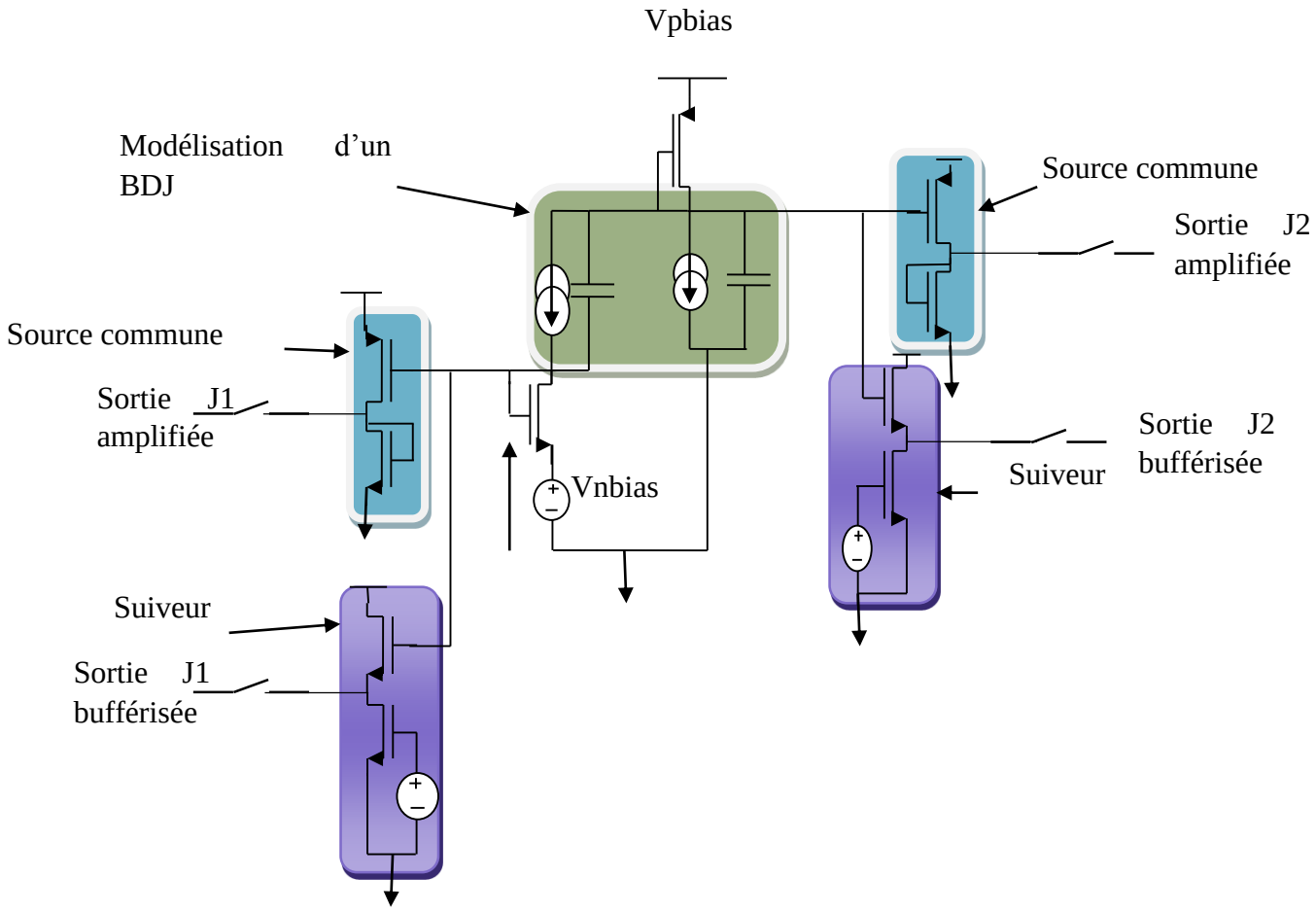


Figure 78 - L'emplacement des interrupteurs dans un pixel de la matrice 4x4

L'emplacement des interrupteurs dans la matrice 4x4 est représenté sur la figure suivante

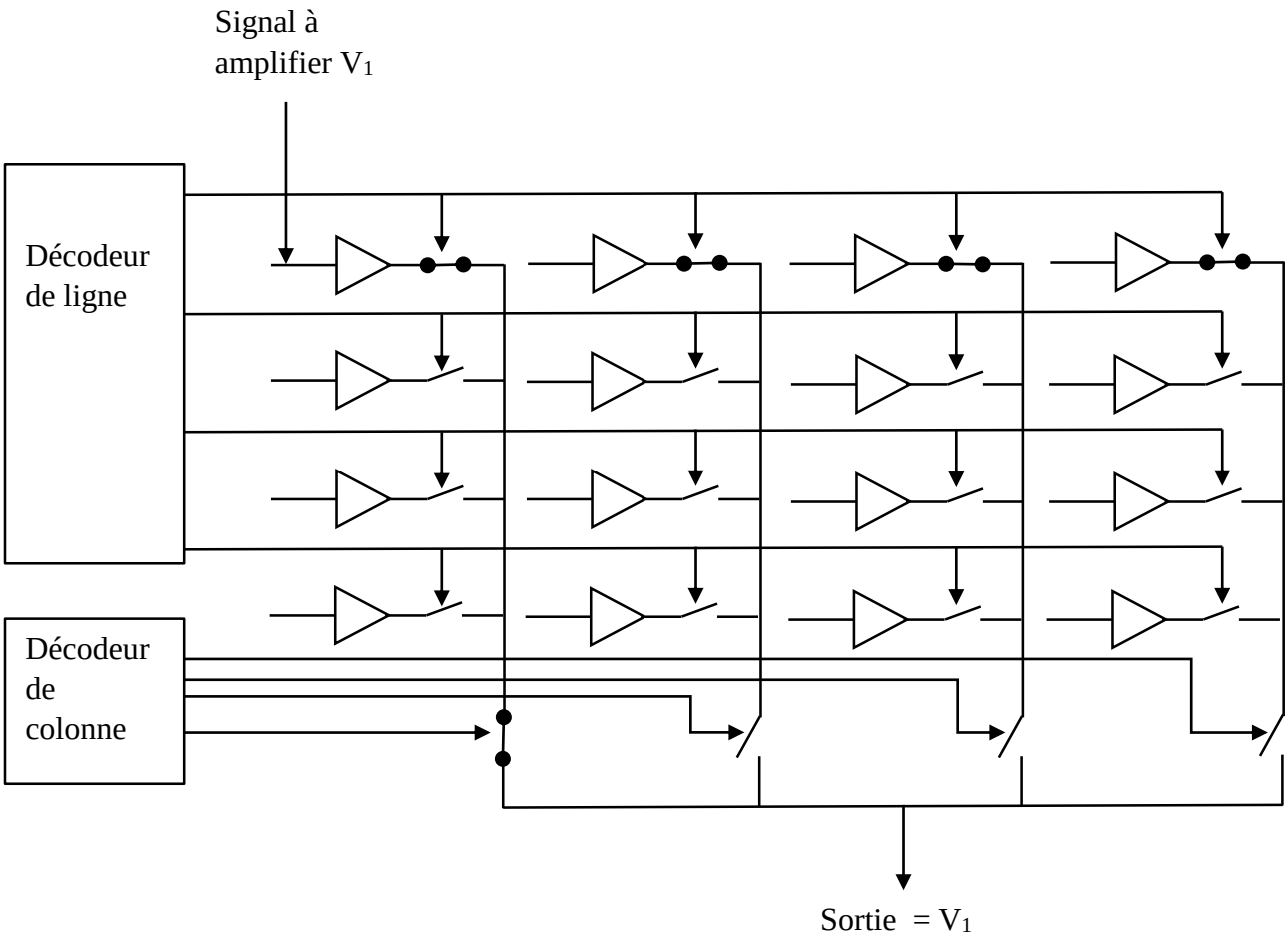


Figure 79 - Emplacement des interrupteurs dans la matrice

Sur la figure ci-dessus, nous avons présenté la sortie d'une seule jonction pour chaque pixel. Nous rappelons qu'il y a quatre sorties par pixel, donc ce schéma sera répliqué quatre fois dans la matrice.

4.2 Circuit de commande des interrupteurs

Pour commander les interrupteurs, nous avons besoin d'une fonction d'adressage qui sera réalisée par deux décodeurs (un par ligne et par colonne). Ces décodeurs seront commandés soit par deux compteurs (un par ligne et par colonne), soit directement par l'utilisateur via un composant d'entrée / sortie.

4.2.1 Décodeur

Notre circuit électrique comporte 4x4 pixels. Pour sélectionner un pixel parmi 4 nous avons donc besoin d'un décodeur 2 vers 4. Chaque sortie pointera soit sur une ligne soit une colonne pour l'activer.
Le schéma du décodeur 2 vers 4 est représenté sur la figure ci-dessous :

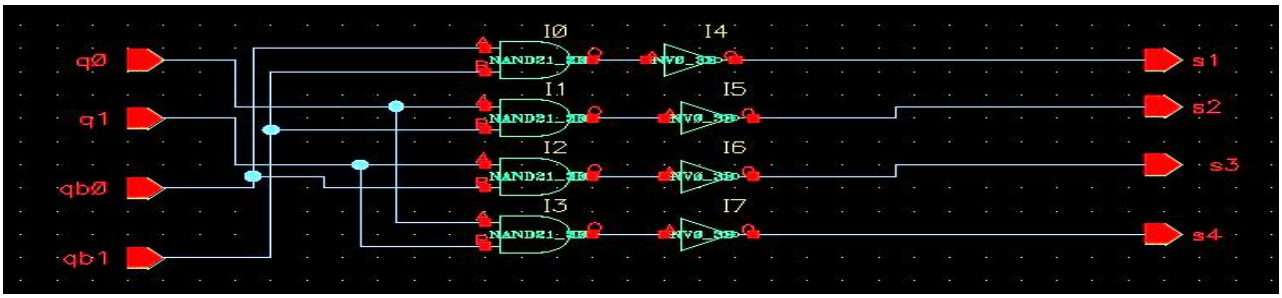


Figure 80 - Décodeur 2 vers 4

Les entrées q0, q1, qb0, qb1 seront données par le composant d'entrée / sortie.
Chaque décodeur est constitué d'un niveau porte NAND suivi d'un niveau inverseur. Cette structure possède l'avantage d'être simple et adaptée pour des matrices avec peu de pixels comme notre application (4x4).

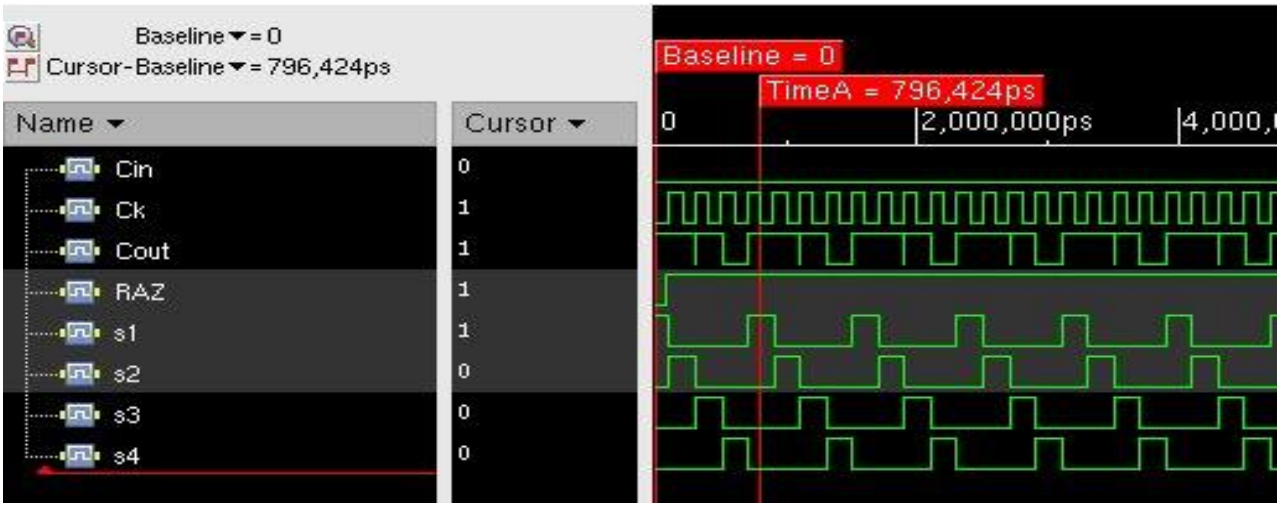


Figure 81 - Chronogramme du décodeur (analyse en verilog)

On constate sur le résultat de simulation ci- dessus, que les sorties du décodeur (s1, s2, s3 et s4) que nous appellerons par la suite (V_{com0} V_{com1} V_{com2} V_{com3}) sont bien mises à 1 l'une après l'autre.

4.2.2 Compteur

Le compteur est un composant constitué de plusieurs bascules D qui permet de compter de 0 à n. Notre matrice est de 4x4 pixels, donc nous avons besoin de deux compteurs à 2 bits.
Nous avons retenu une structure de compteur de type synchrone, ce qui permettra de limiter les « glitchs » lorsque le compteur est incrémenté.

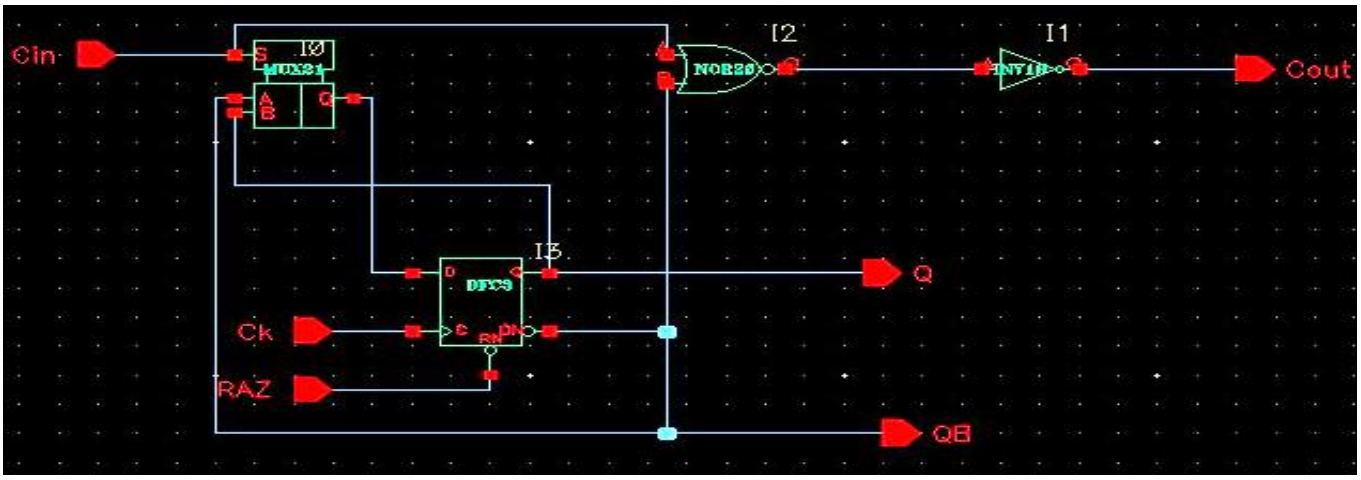


Figure 82 - Schéma du compteur 1 bit.

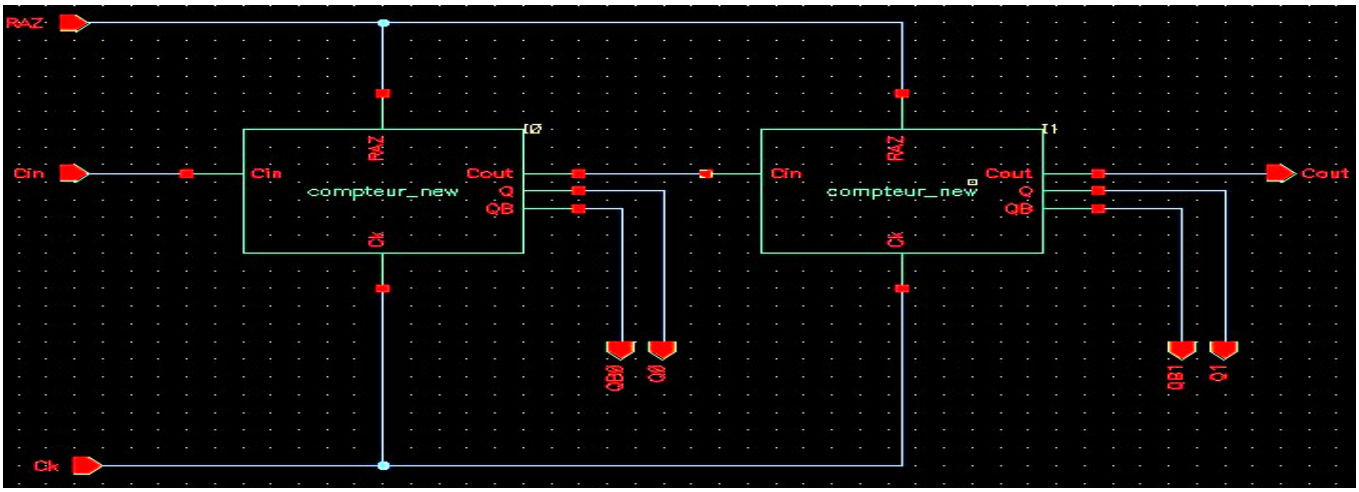


Figure 83 - Schéma du compteur 2 bits.

Les entrées et les sorties du compteur par quatre sont :

- RAZ : remise à zéro
- Cin : entrée de validation
- Q1, Q0 : sorties du compteur
- Cout : retenue
- Ck : horloge
- QB1, QB2 : sorties complémentaires

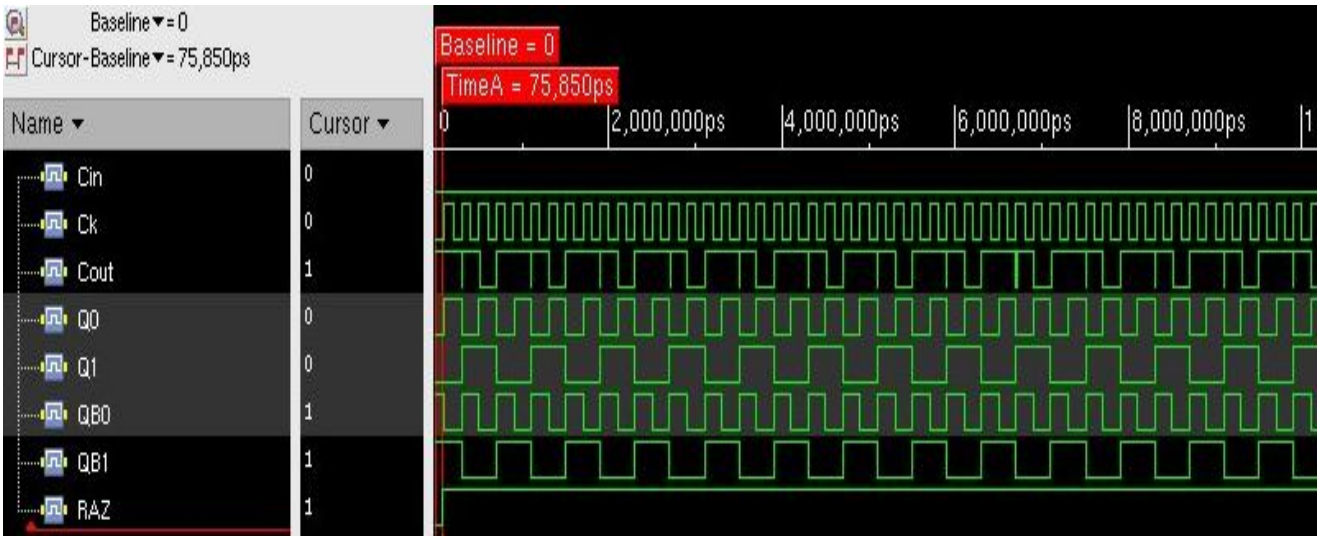


Figure 84 - Chronogramme du compteur (analyse en Verilog).

Sur la figure ci-dessus, nous avons les résultats de simulations.

4.2.3 Composant entrée/sortie

L'objectif de ce composant est de permettre :

- soit de sélectionner un pixel en particulier (adressage direct appelé XY). L'adresse est fournie par l'utilisateur sur le bus d'entrée / sortie.
- soit de lire sur le bus d'entrée / sortie l'adresse du pixel activé, par les compteurs de ligne et de colonne, lors de l'adressage séquentiel.

Pour notre architecture, nous avons utilisé 2 composants entrée / sortie un par compteur.

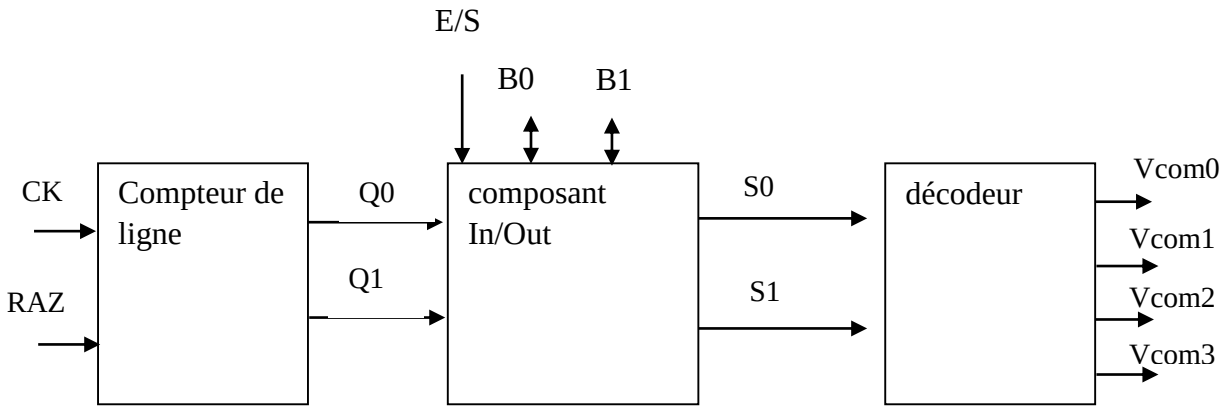


Figure 85 - Schéma bloc d'un composant entrée / sortie avec un compteur et un décodeur

❖ PRINCIPE :

Quand E/S = 0, le composant entrée / sortie est en mode lecture :

$B_i = Q_i$ et $S_i = Q_i$

Ainsi l'adresse de la ligne ou de la colonne activée d'une manière séquentielle via le compteur et envoyée à la sortie du composant IN/OUT à travers B0 et B1 pour l'affichage.

Quand E/S = 1, le composant entrée / sortie est en mode écriture :

$B_i = S_i$

Ainsi l'adresse de la ligne ou de la colonne à activer est entrée par l'utilisateur à travers B0 et B1.

4.3 Multiplexeur

Dans une matrice 4x4, un multiplexeur quatre vers un permettra de transmettre vers la sortie le signal issu de la colonne activée. Le multiplexeur est composé de quatre interrupteurs commandés par les sorties du décodeur de colonne (cf. figure ci-dessous).

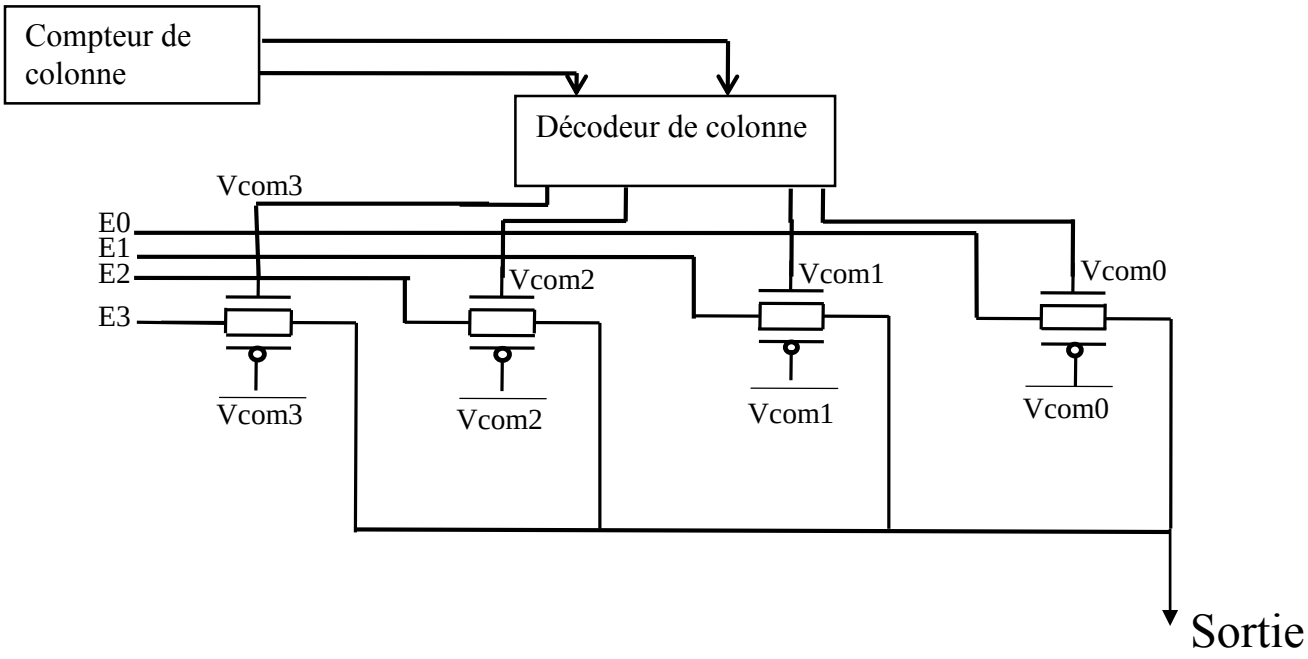


Figure 86 - Schéma bloc du multiplexeur

Puisque il y a quatre sorties par pixel (la sortie bufférisée de la première jonction, la sortie amplifiée de la première jonction la sortie bufférisée de la deuxième jonction et la sortie amplifiée de la deuxième jonction), nous avons besoin de quatre multiplexeurs quatre vers un. Ainsi à chaque

front d'horloge, nous avons simultanément à la sortie de la puce quatre signaux correspondants aux quatre sorties du pixel activé.

Le compteur et son décodeur de colonne sont communs aux quatre multiplexeurs.

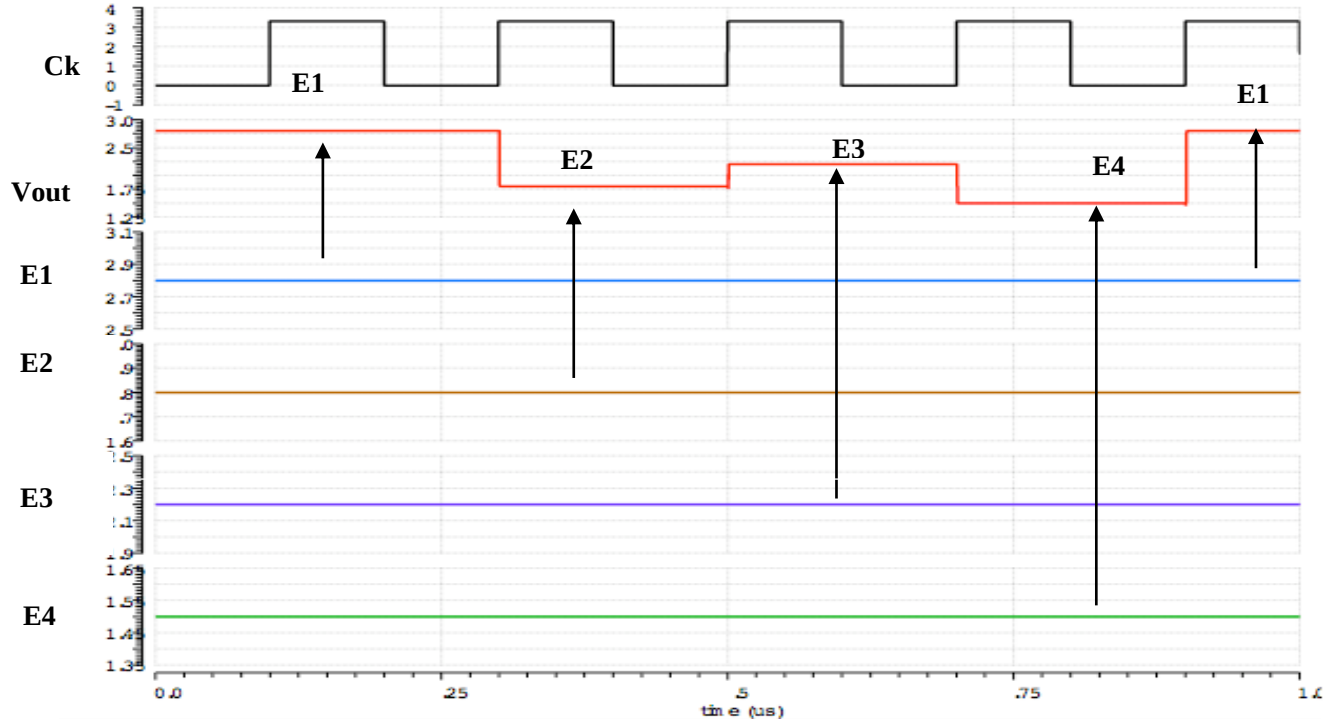


Figure 87 - Chronogramme de multiplexeur

Sur la figure ci-dessus obtenue par simulation, nous vérifions bien que la sortie S prend successivement les quatre tensions d'entrée E0 E1 E2 E3 (qui sont données d'une manière alléatoire afin de vérifier le bon fonctionnement du multiplexeur : E0 = 2,8V ; E1 = 1,8V ; E2 = 2,2V ; E3 =1,5V).

5 Performances du circuit

5.1 Temps de réponse

Le cahier des charges nous impose une image par seconde pour une matrice de 400 pixels (20x20) ce qui fait une fréquence de travail de 400Hz. Avec ces conditions, le temps de réponse doit être inférieur à (1/400) = 2,5 ms par pixel. Notre matrice de test constituée de 16 pixels (4x4) a été conçue pour répondre à ce critère.

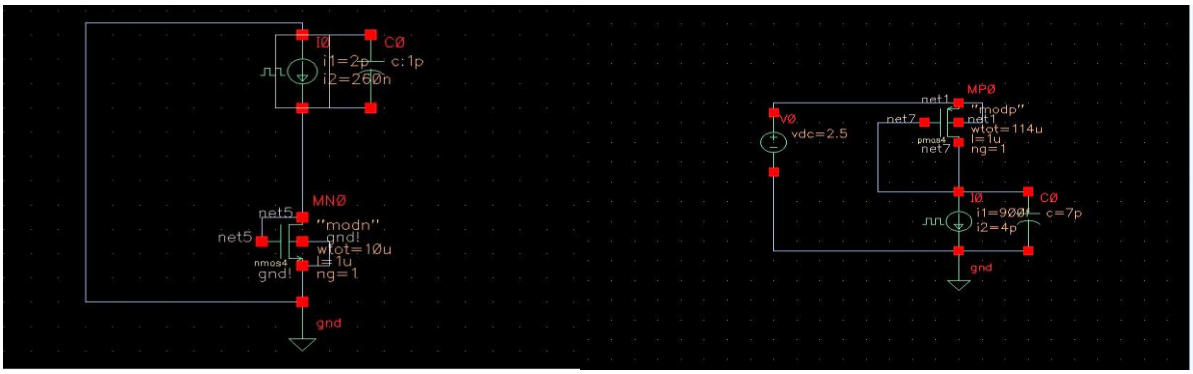


Figure 88 - Structure de détection du temps de réponse en un point de fonctionnement sur une seule jonction.

Le temps de réponse, comme nous l'avons vu lors des paragraphes précédents est limité par les transistors opérants en faible inversion. Ce temps de réponse dépendra donc du photo-courant qui lui-même dépendra de l'intensité lumineuse.

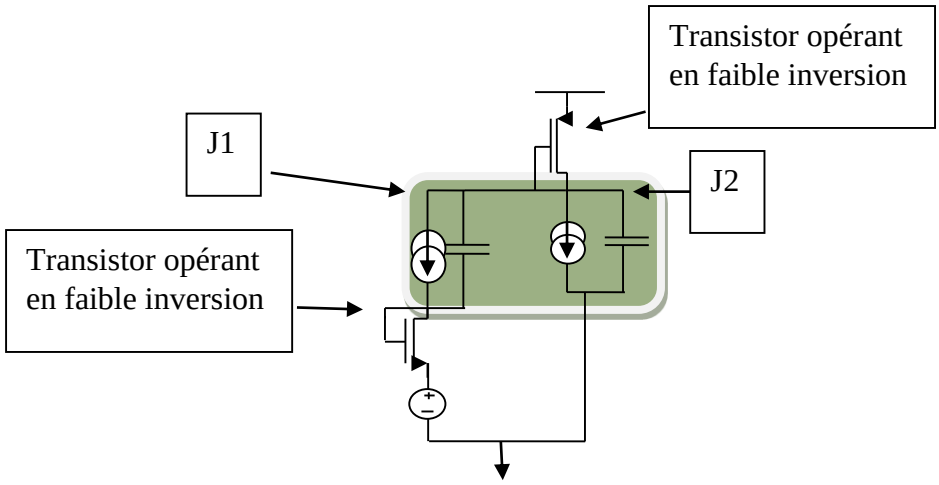


Figure 89 - Modélisation du BDJ avec les transistors de lecture

Afin d'étudier le temps de réponse du système complet (à la sortie de la matrice) sur toute la plage dynamique du pixel, nous avons envoyé un échelon de photo-courant à l'entrée de ce système, sur les deux jonctions. Différentes valeurs de ce photo-courant ont été choisies afin

d'évaluer l'impact de la position du point de fonctionnement sur la réponse temporelle. Nous avons étudié les cas de figures les plus extrêmes.

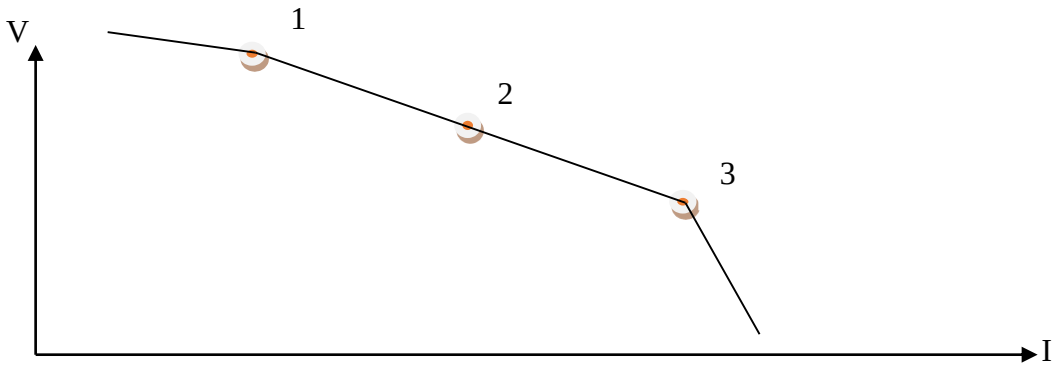


Figure 90 – Plage dynamique d'un transistor en faible inversion : 1. Limite inférieure : fin de la micro inversion. 2. Milieu de la faible inversion. 3. Limite supérieure: début de la forte inversion.

Le pixel comprend deux transistors de lecture : un NMOS pour la première jonction qui génère le photo-courant I_1 et un PMOS pour la deuxième jonction traversée par la somme des photo-courants $I_1 + I_2$.

Ainsi toutes les combinaisons des trois points de fonctionnement des deux transistors ne sont pas possibles. Par exemple, si le transistor NMOS est en zone 3 (fort courant), alors le transistor PMOS est forcement aussi en zone 3 (fort courant). Le tableau ci-dessous représente les six combinaisons possibles des points de fonctionnement des deux transistors.

Point de fonctionnement		Transistor PMOS		
		1	2	3
Transistor NMOS	1	*	*	*
	2		*	*
	3			*

Tableau 5 - Différentes positions du point de fonctionnement étudiées

- Transistor NMOS et transistor PMOS en zone 1

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 700pA à 1nA, et celui de la deuxième I_2 de 30nA à 50nA, ce qui correspond à la case [1,1] du tableau 5 (les deux transistors sont tous les deux à la limite inférieure de la faible inversion).
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

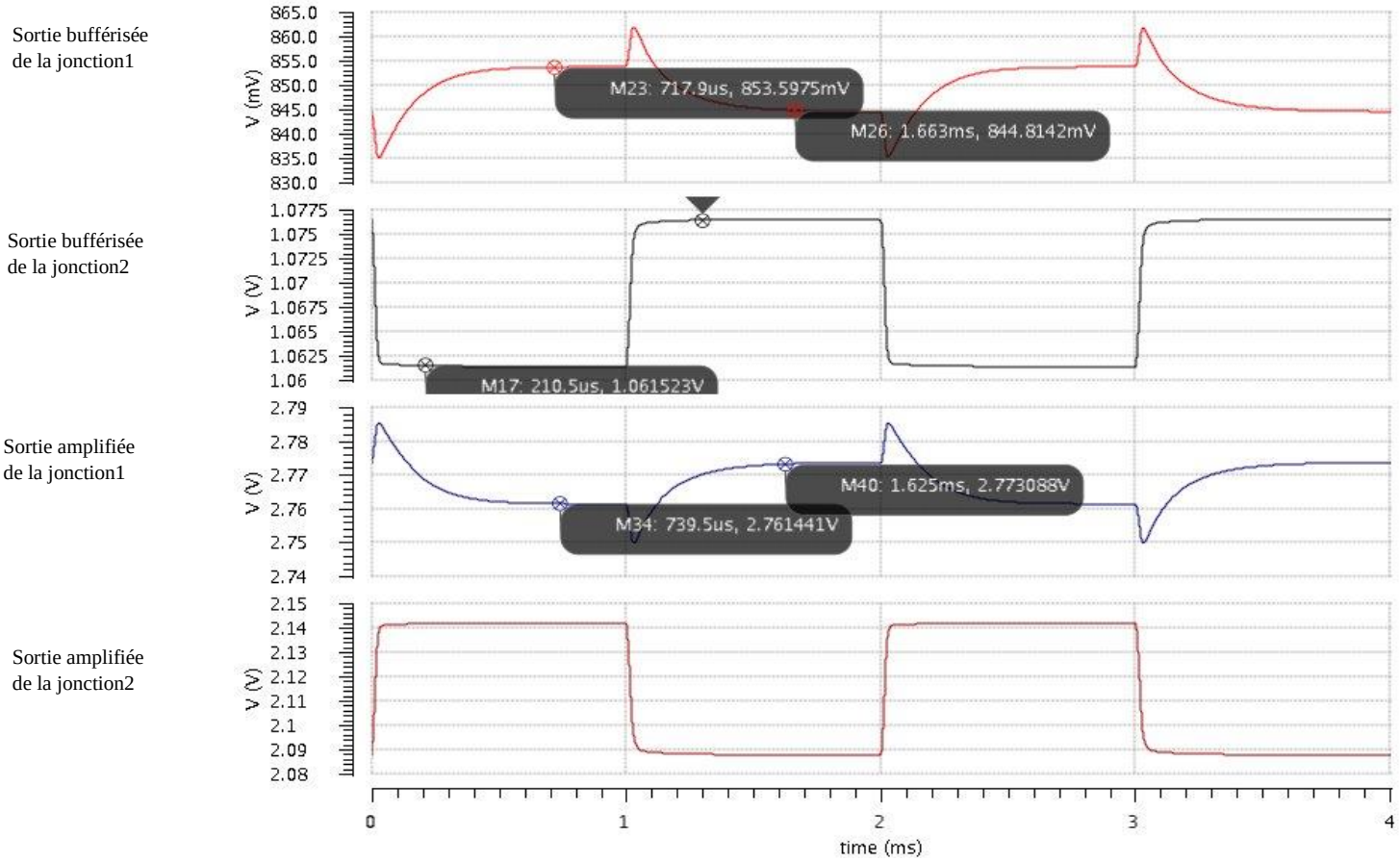


Figure 91 - Temps de réponse des jonctions avec une variation des deux courants

		Temps de montée	**Temps de descente**
Jonction 2	Buffer	300 µs	210 µs
Jonction 2	Amplificateur	400 µs	395 µs
Jonction 1	Buffer	717 µs	663 µs
Jonction 1	Amplificateur	625 µs	739 µs

Tableau 6 - Temps de réponse du pixel avec un faible I_1 et un faible I_2

On peut relever du tableau 6 qu'avec des courants I_1 et I_2 faibles, les temps de réponse sont relativement longs mais restent inférieurs à celui fixé par le cahier des charges (2,5 ms).
Ceci s'explique par le fait que la constante de temps est proportionnelle à la résistance équivalente du transistor en faible inversion. Cette résistance équivalente est d'autant plus grande que son courant est faible.

- Transistor NMOS en zone 1 et transistor PMOS en zone 2

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 700pA à 1nA, et celui de la deuxième I_2 de 50nA à 200nA, ce qui correspond à la case [1,2] du tableau 5.
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

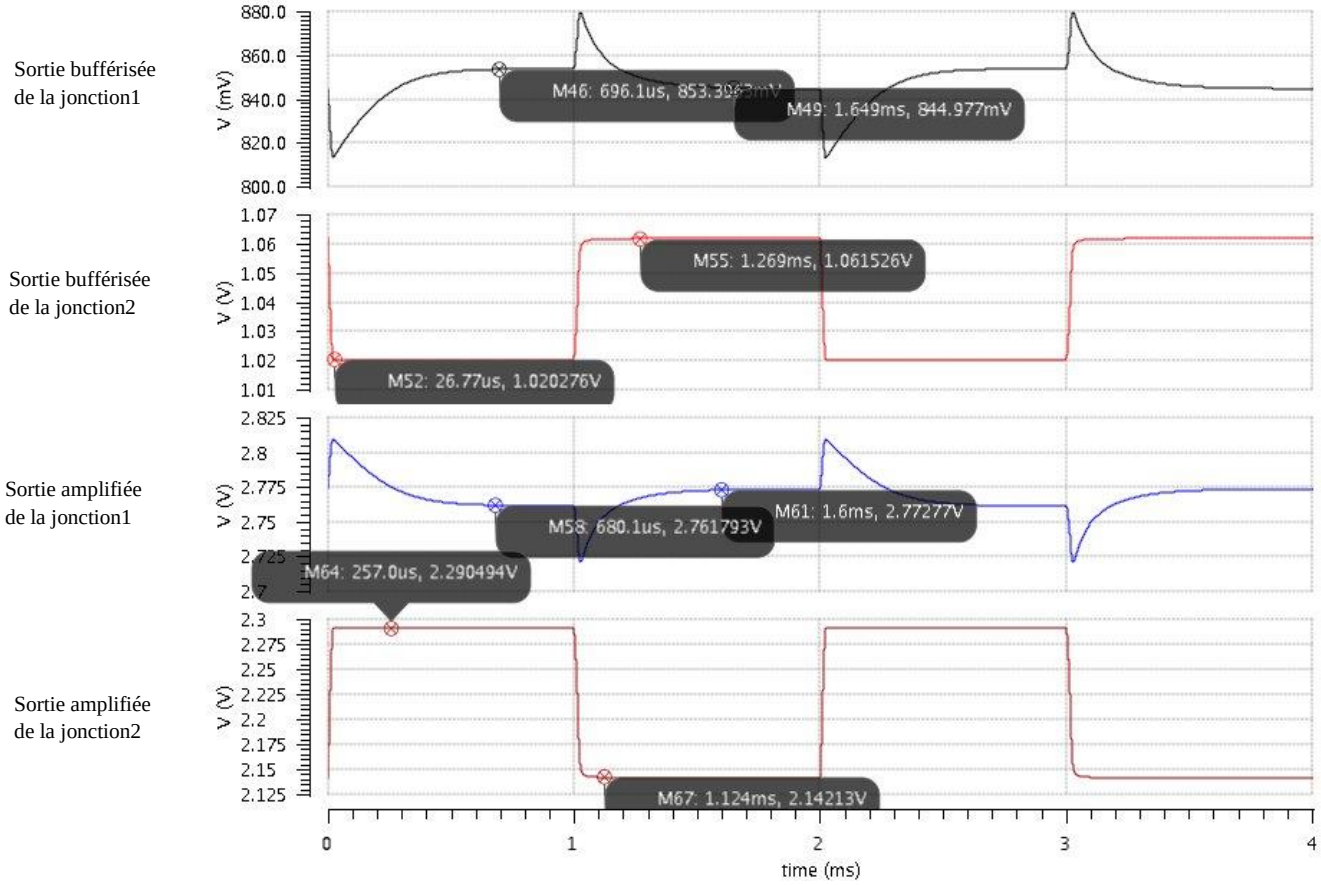


Figure 92 -Temps de réponse I_1 petit et I_2 au milieu de la dynamique

		Temps de montée	Temps descente
Jonction 2	Buffer	69µs	26.7 µs
Jonction 2	Amplificateur	257µs	124 µs
Jonction 1	Buffer	696µs	649 µs
Jonction 1	Amplificateur	680 µs	600 µs

Tableau 7 - Temps de réponse du pixel avec I_1 petit et I_2 en milieu de courbe

On peut relever du tableau 7 les mêmes conclusions que pour le cas précédent à savoir qu'avec un courant I_1 faible et un courant I_2 moyen, les temps de réponse sont relativement longs. Néanmoins, ils sont plus courts que le cas ou I_2 est aussi faible. Ces temps de réponse restent donc inférieurs à celui fixé par le cahier des charges (2,5 ms).

- ❖ Transistor NMOS en zone 1 et transistor PMOS en zone 3

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 700pA à 1nA et celui de la deuxième I_1 de 5µA à 15nA, ce qui correspond à la cas [1,3] du tableau 5.
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

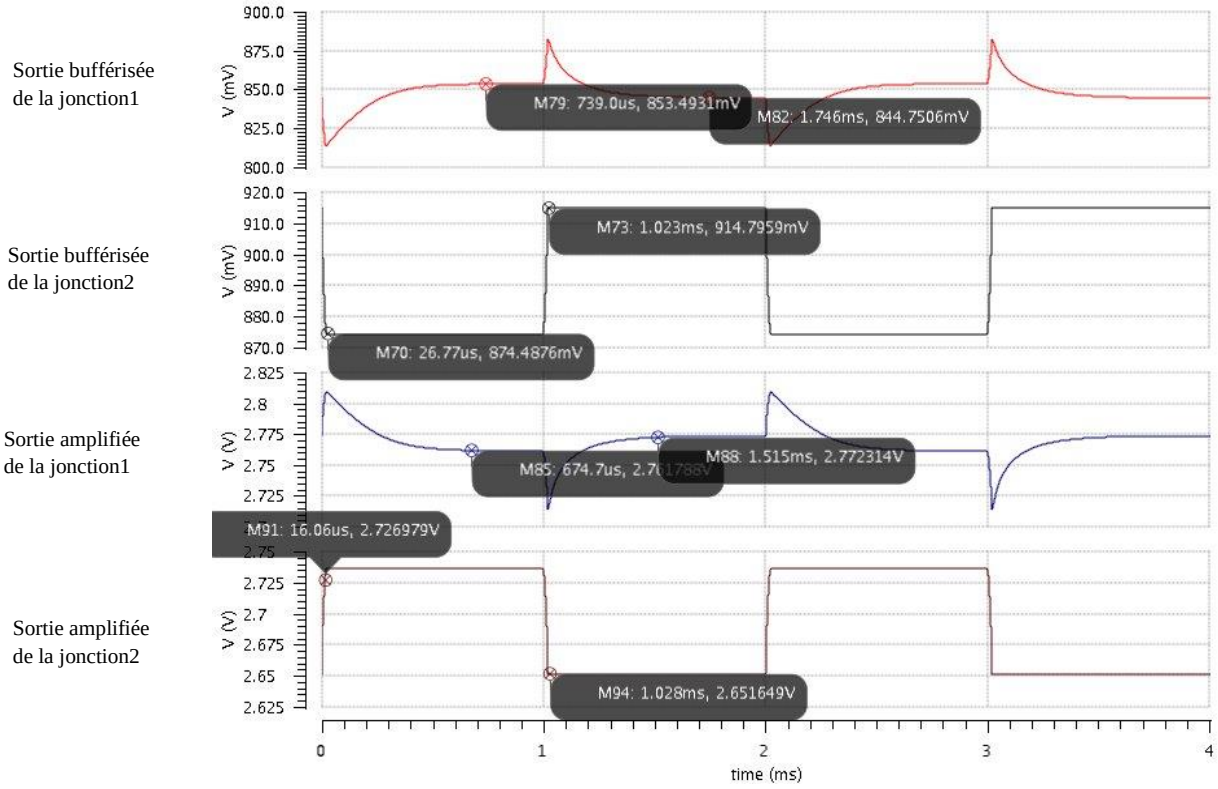


Figure 93 - Temps de réponse des jonctions avec une variation des deux courants

		Temps de montée	**Temps de descente**
Jonction 2	Buffer	23 µs	26 µs
Jonction 2	Amplificateur	16 µs	28 µs
Jonction 1	Buffer	739 µs	746 µs
Jonction 1	Amplificateur	515µs	674 µs

Tableau 8- Temps de réponse du pixel avec I_1 petit et I_2 grand

On peut voir que vu qu'avec un courant I_2 fort le temps de réponse correspondant est court, alors qu'avec un faible courant I_1 le temps de réponse correspondant reste toujours long.

- ❖ Transistor NMOS et le transistor PMOS en zone 2

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 50nA à 200 nA et celui de la deuxième I_2 de 50nA à 200nA, ce qui correspond à la cas [2,2] du tableau 5.
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

Sortie bufférisée de la jonction1

Sortie bufférisée de la jonction2

Sortie amplifiée de la jonction1

Sortie amplifiée de la jonction2

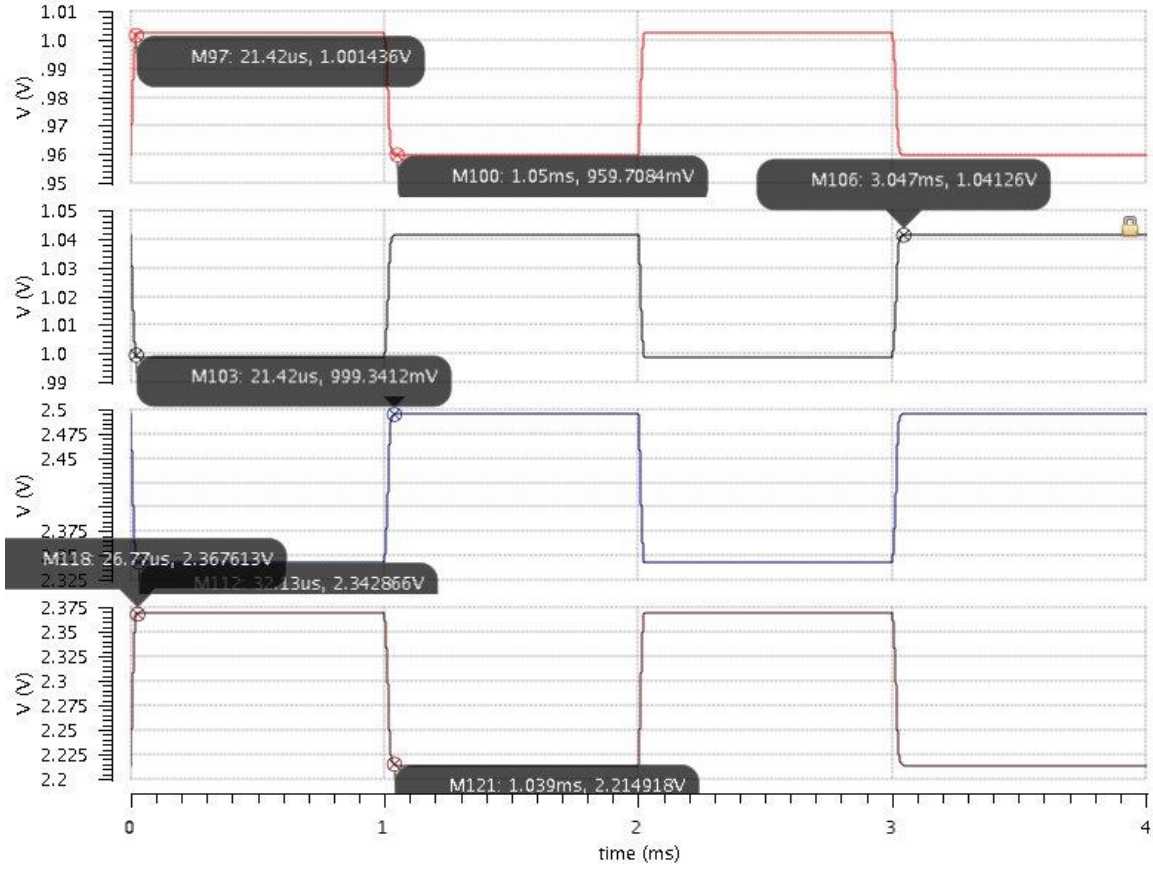


Figure 94 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 et I_2 au milieu de la dynamique du capteur

		Temps de montée	**Temps de descente**
Jonction 2	Buffer	47 µs	22 µs
Jonction 2	Amplificateur	26 µs	39 µs
Jonction 1	Buffer	21 µs	50 µs
Jonction 1	Amplificateur	39 µs	32 µs

Tableau 9 - Temps de réponse du pixel avec I_1 et I_2 au milieu de la dynamique

Dans ce cas les valeurs de I_1 et I_2 sont au milieu de la dynamique, on remarque d'après le tableau 9 que les temps de réponse sont courts.

- ❖ Transistor NMOS en zone 2 et transistor PMOS en zone 3

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 50nA à 200nA et celui de la deuxième I_2 de 5µA à 15µA, ce qui correspond à la cas [2,3] du tableau 5.
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

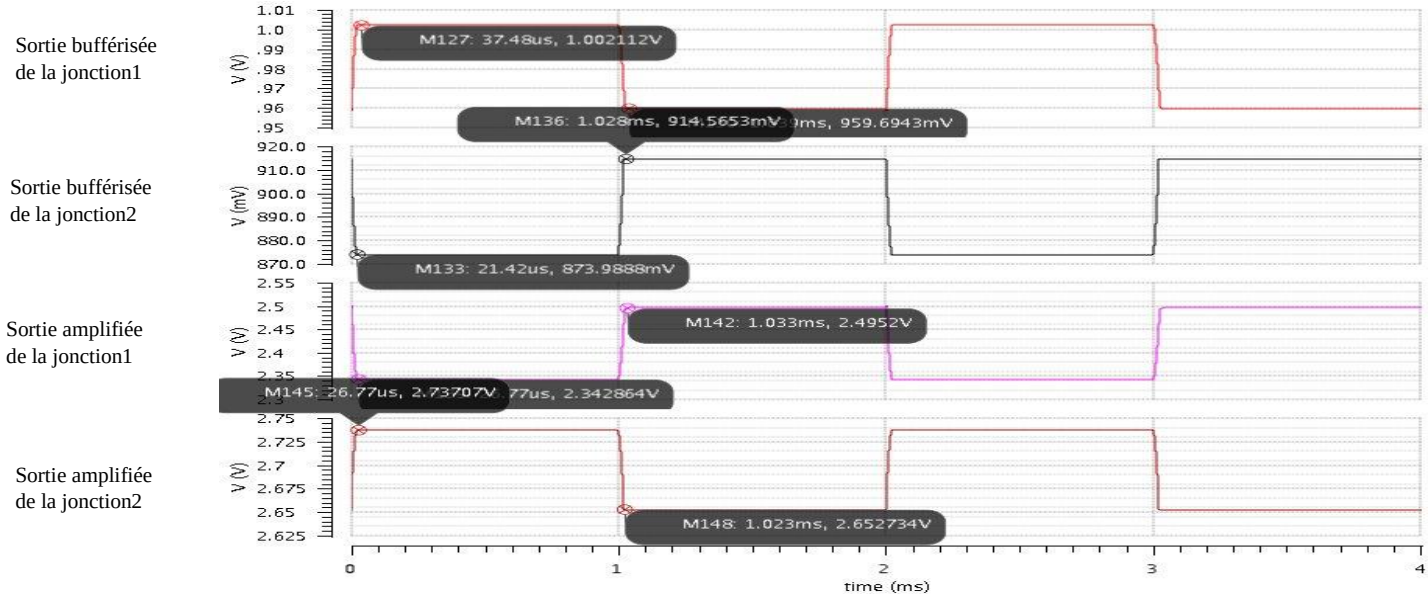


Figure 95 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 au milieu de la dynamique du capteur et I_2 grand

		Temps de montée	**Temps de descente**
Jonction 2	Buffer	28 µs	21 µs
Jonction 2	Amplificateur	26.7 µs	23 µs
Jonction 1	Buffer	37.4 µs	39 µs
Jonction 1	Amplificateur	33 µs	26.7 µs

Tableau 10 - Temps de réponse du pixel avec I_1 au milieu de la dynamique du capteur et I_2 grand

Dans ce cas où le courant I_1 est de moyenne valeur et le courant I_2 est de forte valeur, les temps de réponse sont largement plus courts que celui fixé par le cahier des charges.

❖ Transistor NMOS et transistor PMOS en zone 3

On fait varier le courant de la première jonction I_1 de 650nA à 850nA et celui de la deuxième I_2 de 5µA à 15µA, ce qui correspond à la cas [3,3] du tableau 5.
Sur le graphe suivant, on peut voir les temps de réponses en sortie des quatres multiplexeurs (correspondant aux sorties de la première jonction bufférisée et amplifée, et aux sorties de la deuxième jonction bufférisée et amplifée).

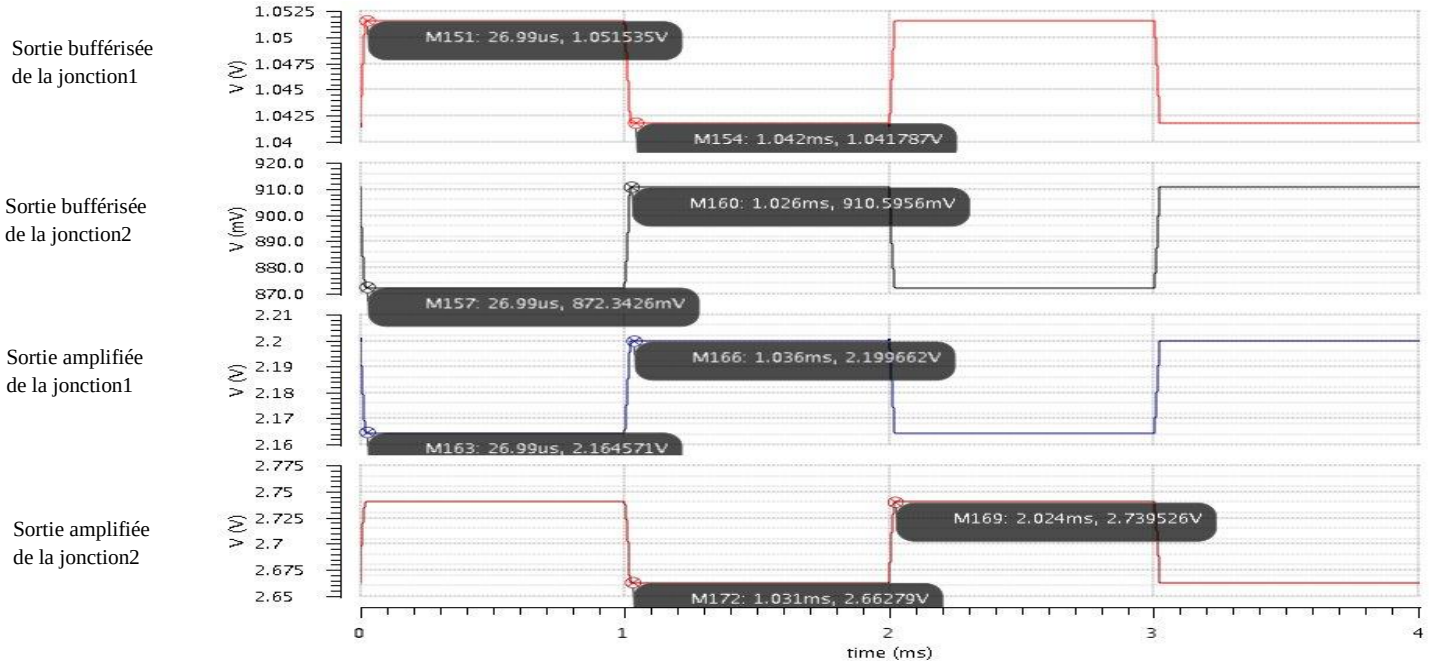


Figure 96 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 grand et I_2 grand

		Temps de montée	**Temps de descente**
Jonction 2	Buffer	24 µs	31 µs
Jonction 2	Amplificateur	26.7 µs	23 µs
Jonction 1	Buffer	26 µs	42 µs
Jonction 1	Amplificateur	36 µs	26 µs

Tableau 11 - Temps de réponse du pixel avec I_1 grand et I_2 grand

On remarque d'après toutes les simulations précédentes que plus les courants sont forts, plus les résistances équivalentes des transistors en faible inversion sont petites donc plus le temps réponse est petit. En revanche, même avec le temps de réponse le plus long qu'on puisse avoir (739 µs), celui-ci reste largement inférieur à la limite fixé par le cahier des charges (2,5 ms).

- **Simulation du temps de réponse en variation de process et de température :**

Nous avons effectué des simulations avec variation de process (variation V_{th}) et de température [60°-120°]. Nous avons remarqué que l'évolution temporelle de la tension de sortie dépend de la température ainsi que des variations de V_{th}. En revanche cela n'impacte pas le temps de réponse.

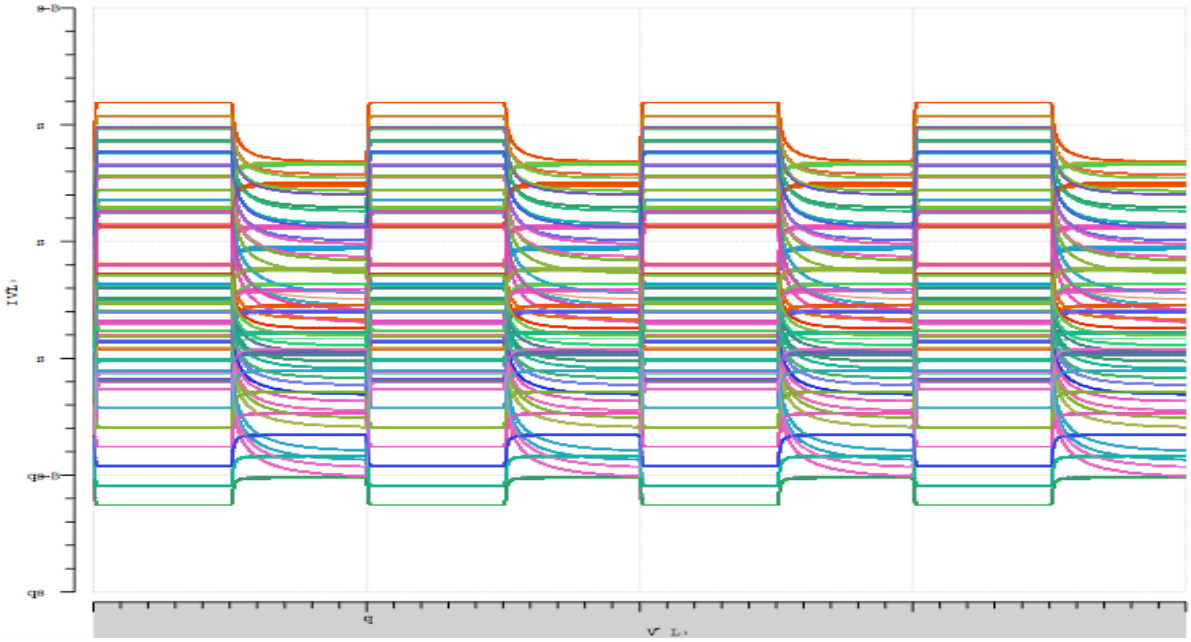


Figure 97 – Graphe représentant une simulation de process et de température en temporelle pour la deuxième et la première jonction du capteur au milieu de la faible inversion

5.2 Amélioration de la consommation

La consommation électrique est un paramètre important lors de la conception des circuits intégrés. Sur notre circuit, il y a 16 pixels ainsi que leur électronique de lecture. Dans chaque pixel il y a un détecteur de couleur, deux transistors opérant en faible inversion, deux étages sources suiveurs, deux étages sources communes et quatre interrupteurs CMOS. Pour avoir la consommation de chaque pixel, il suffit de calculer la puissance de chaque bloc et de les additionner.

Bloc	Consommation
Détecteur & deux transistors de lecture	325 10^{-9} W
Source suiveuse	190,7 10^{-6} W
Source commune	747,78 10^{-6} W
Interrupteur	740 10^{-9} W

Tableau 12 - Différents blocs du pixel avec leurs consommations (Simulation)

On remarque d'après le tableau 12 que les blocs les plus consommateurs sont les amplificateurs (source suiveuse et source commune). La consommation de tout le circuit, quand tous les blocs sont alimentés, est égale à 30,08 mW.

Afin de réduire la consommation, nous proposons d'éteindre les amplificateurs des lignes de pixels non activées. Pour éteindre ces amplificateurs, nous utilisons des interrupteurs commandés par le décodeur de ligne, selon la figure ci-dessous :

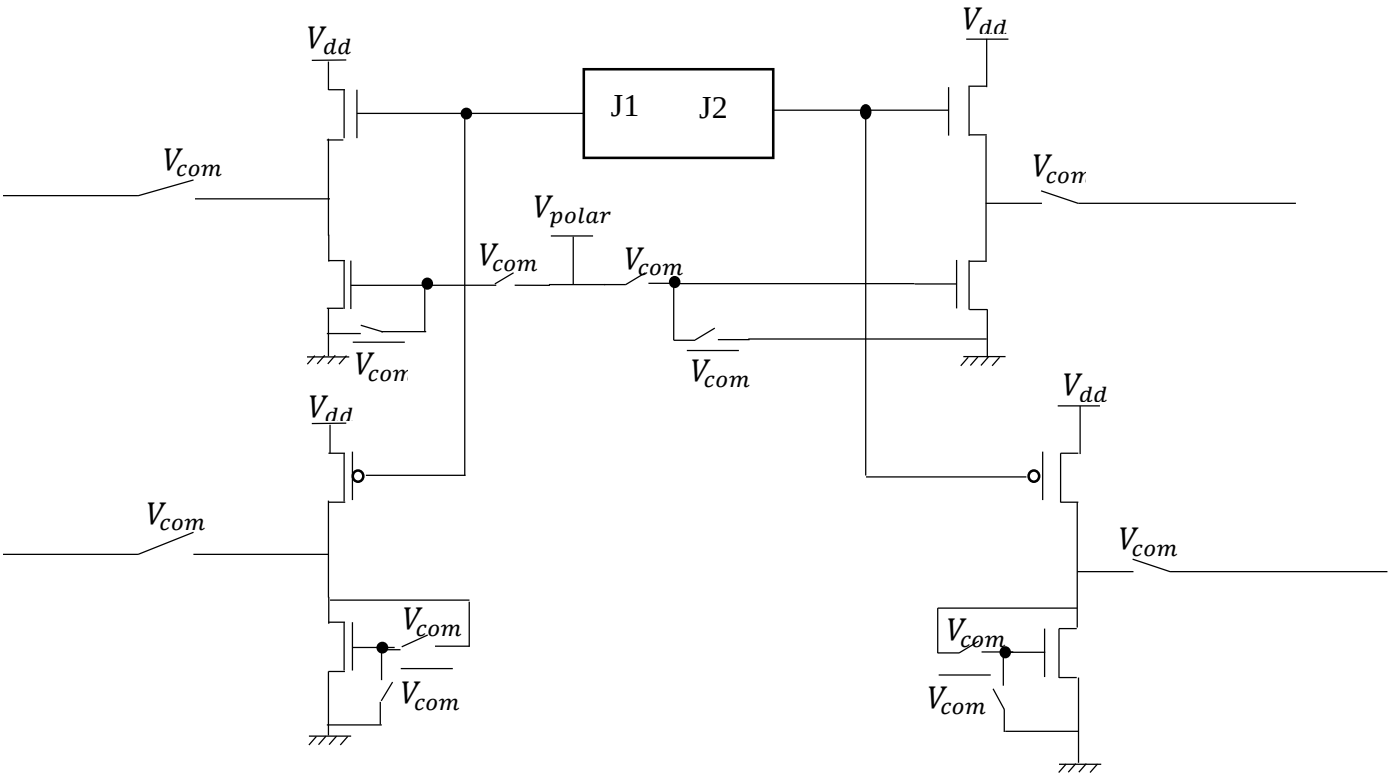


Figure 98 - Architecture générale d'un pixel de la puce

Les signaux V_{com} et $\overline{V_{com}}$ sont les commandes numériques provenant du décodeur. La consommation avec cette modification de l'architecture est réduite à 7,52 mW, soit un gain de consommation d'un facteur 4.

5.3 Layout

Après avoir fini le schéma de la matrice et celui de son électronique de lecture, nous avons créé le dessin de masque (Layout). Ce dessin a eu, à son tour, un ensemble de tests (DRC, ERC, LVS) afin de le valider avant son envoi à la fonderie pour sa fabrication. Les plots de connections (PAD) utilisés pour ce circuit sont ceux proposés par le fondeur. Ci-dessous une image du Layout de notre circuit. Nous rappelons que la technologie utilisée est une technologie CMOS Opto 0.35µm de chez AMS.

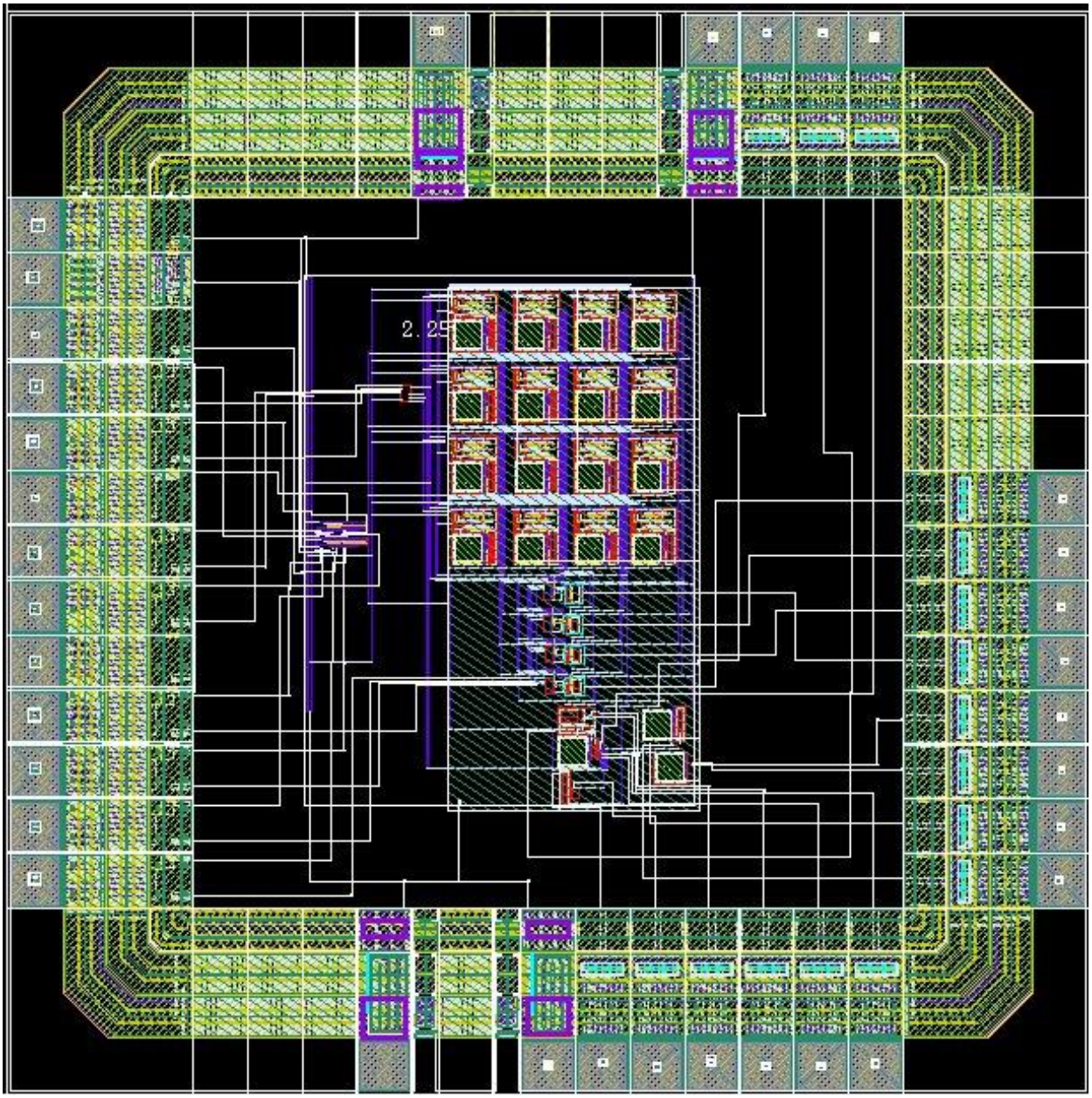


Figure 99 - Layout du circuit

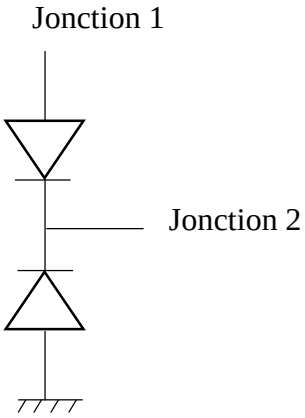
Nous avons sur cette configuration 16 pixels (4x4), leur électronique de lecture et les motifs de tests dont le détail ci-dessous. Toute l'électronique autour du capteur a été recouverte d'un métal (niveau 4) afin de la protéger de la lumière. Le Layout est d'une surface totale de 4mm², c'est en effet la taille minimum imposée par le fabricant.

Motifs de tests

Les motifs de tests sont au nombre de 5. Ils serviront à réaliser des caractérisations supplémentaires indépendamment de la matrice.

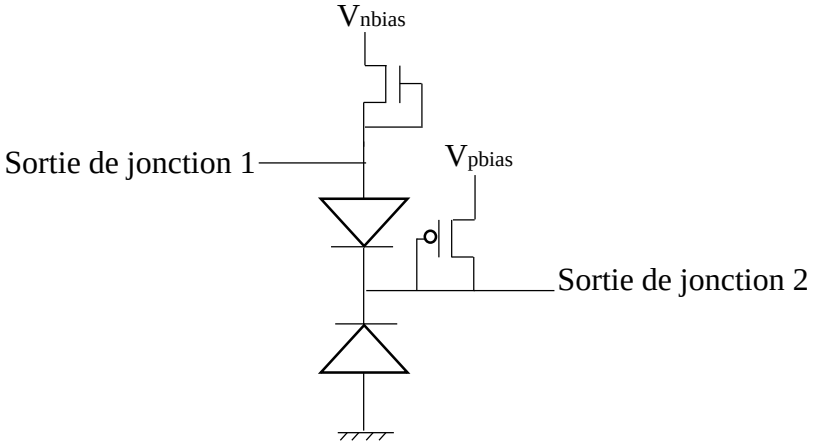
- Le premier motif de test est celui du capteur seul :

Les deux sorties du détecteur optique, Jonction 1et Jonction 2, sont reliées directement à des plots de sortie de la puce.

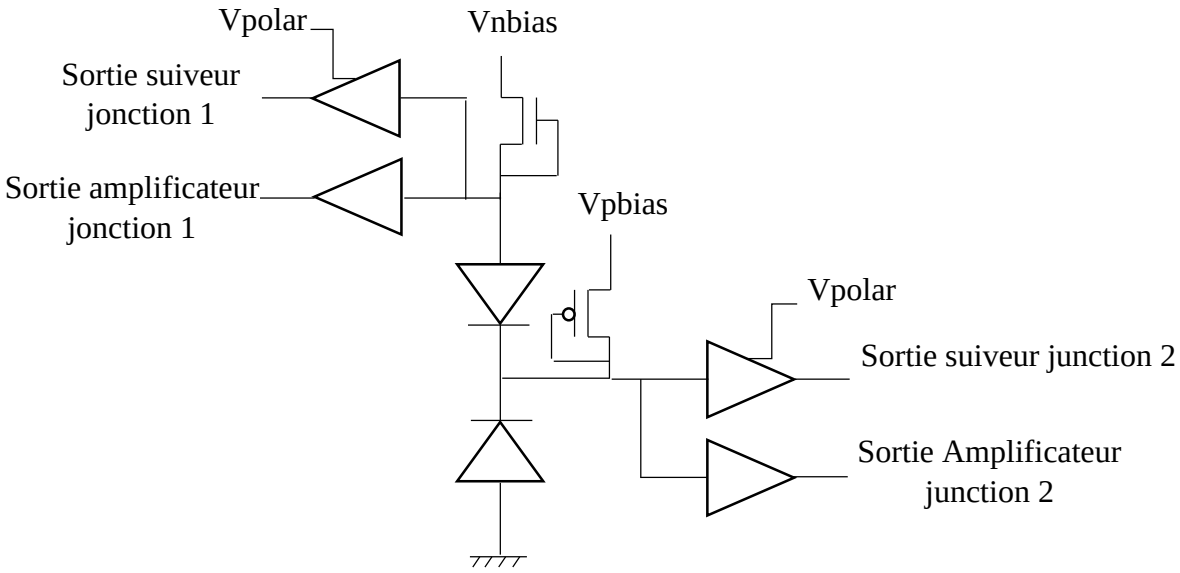


- Le deuxième motif de test est constitué du capteur avec ses transistors en faible inversion :

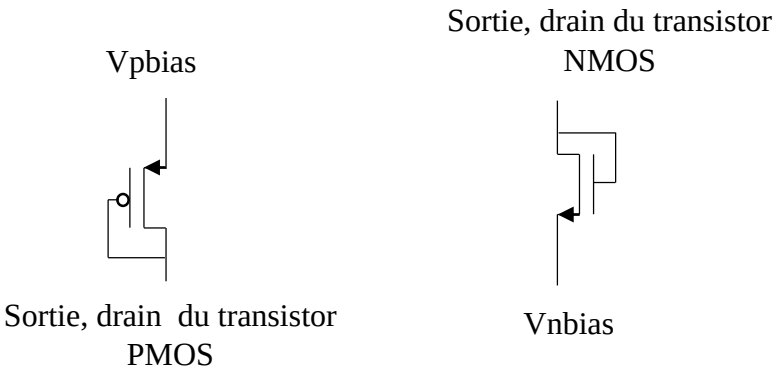
Les tensions de polarisations V_{nbias} et V_{pbias} sont communes à tout le circuit. Les deux sorties, Sortie de jonction 1et Sortie de jonction 2, sont reliées à deux plots de sortie de la puce.



- Le troisième motif de test est constitué du capteur, des transistors en faible inversion et des amplificateurs :



- Le quatrième et le cinquième motif de tests sont des transistors montés en diode. Ces transistors utilisés en faible inversion permettront de caractériser la conversion courant / tension. Les tensions de polarisation des deux transistors sont communes à tout le circuit.



Vérification fonctionnelle

Afin de vérifier la bonne fonctionnalité du circuit nous avons simulé (cf. la figure 100) la réponse temporelle des quatre sorties du circuit.
Le signal carré de 0V à 3.3V représente le signal d'horloge.

Des valeurs de courant différentes ont été envoyées sur chacun des pixels. Ces courants sont croissants vis-à-vis de l'ordre logique donné par les compteurs.

Pixel	Courant I_1	Courant I_2
1	800 pA	30 nA
2	1 nA	40 nA
3	10 nA	50 nA
4	20 nA	60 nA
5	30 nA	80 nA
6	40 nA	100 nA
7	50 nA	110 nA
8	60 nA	130 nA
9	70 nA	140 nA
10	80 nA	150 nA
11	90 nA	170 nA
12	100 nA	200 nA
13	15 nA	350 nA
14	350 nA	500 nA
15	550 nA	800nA
16	850 nA	1µA

Tableau 13 : Les courants des différents pixels de la puce

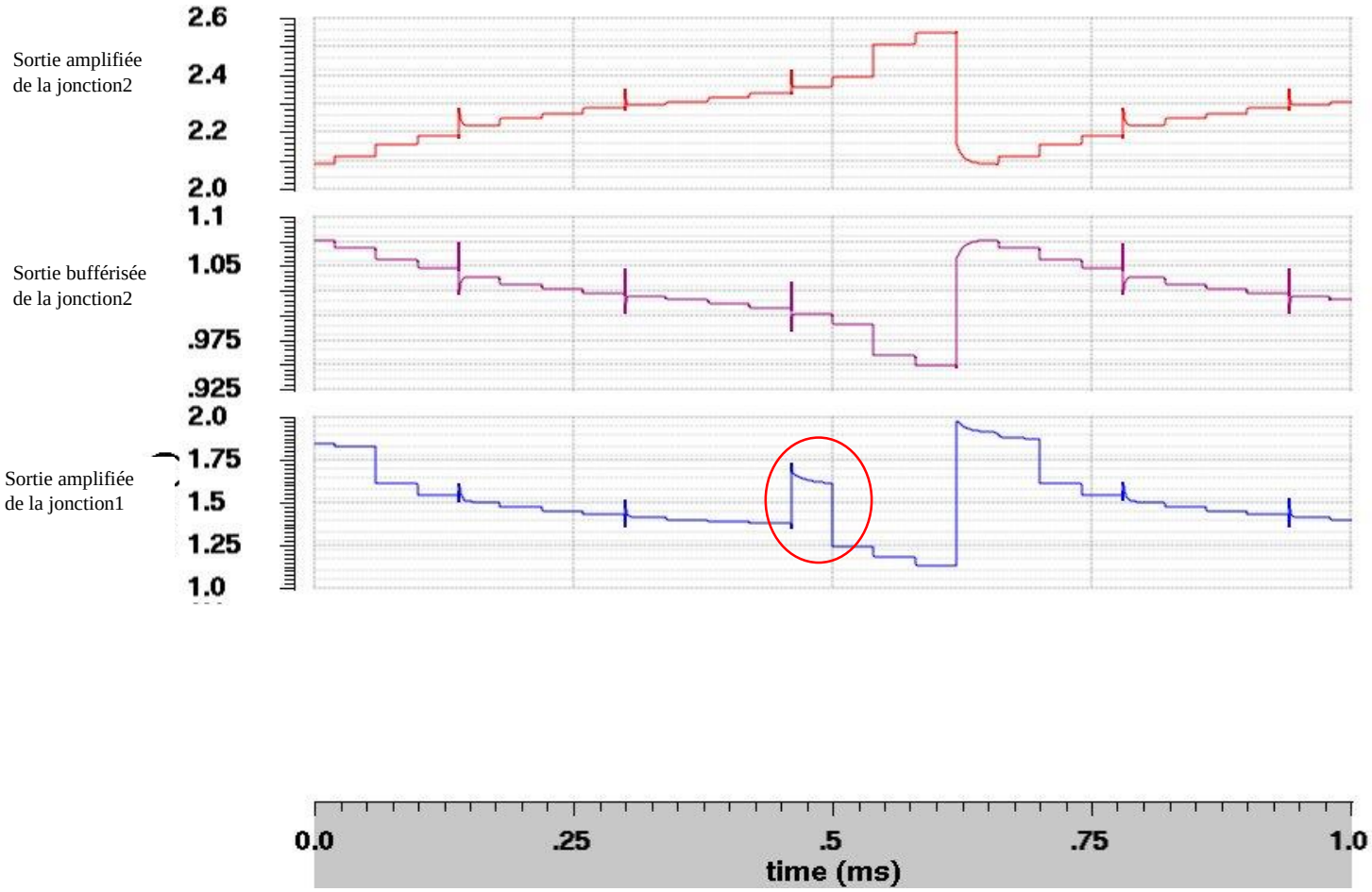


Figure 100 - Sortie de la matrice

Comme prévu :

- Pour la jonction 1 amplifiée, la valeur de la tension de sortie diminue quand le courant augmente. Le résultat entouré correspond à une valeur de courant très faible (voir le tableau ci-dessus). Cette valeur a été mise volontairement afin de valider le bon fonctionnement de la matrice.
- Pour la jonction 2 bufférisée, la valeur de la tension de sortie diminue quand le courant d'entrée augmente.
- Pour la jonction 2 amplifiée, la valeur de la tension de sortie augmente quand le courant augmente.

Ces tests effectués en simulation valident bien la bonne fonctionnalité de notre circuit.

Microphotographie du circuit

On peut voir un grand carré jaune de métal 4 avec des ouvertures au-dessus de chaque capteur photosensible (carré gris). Ces ouvertures permettent de laisser passer la lumière jusqu'au capteur photosensible.

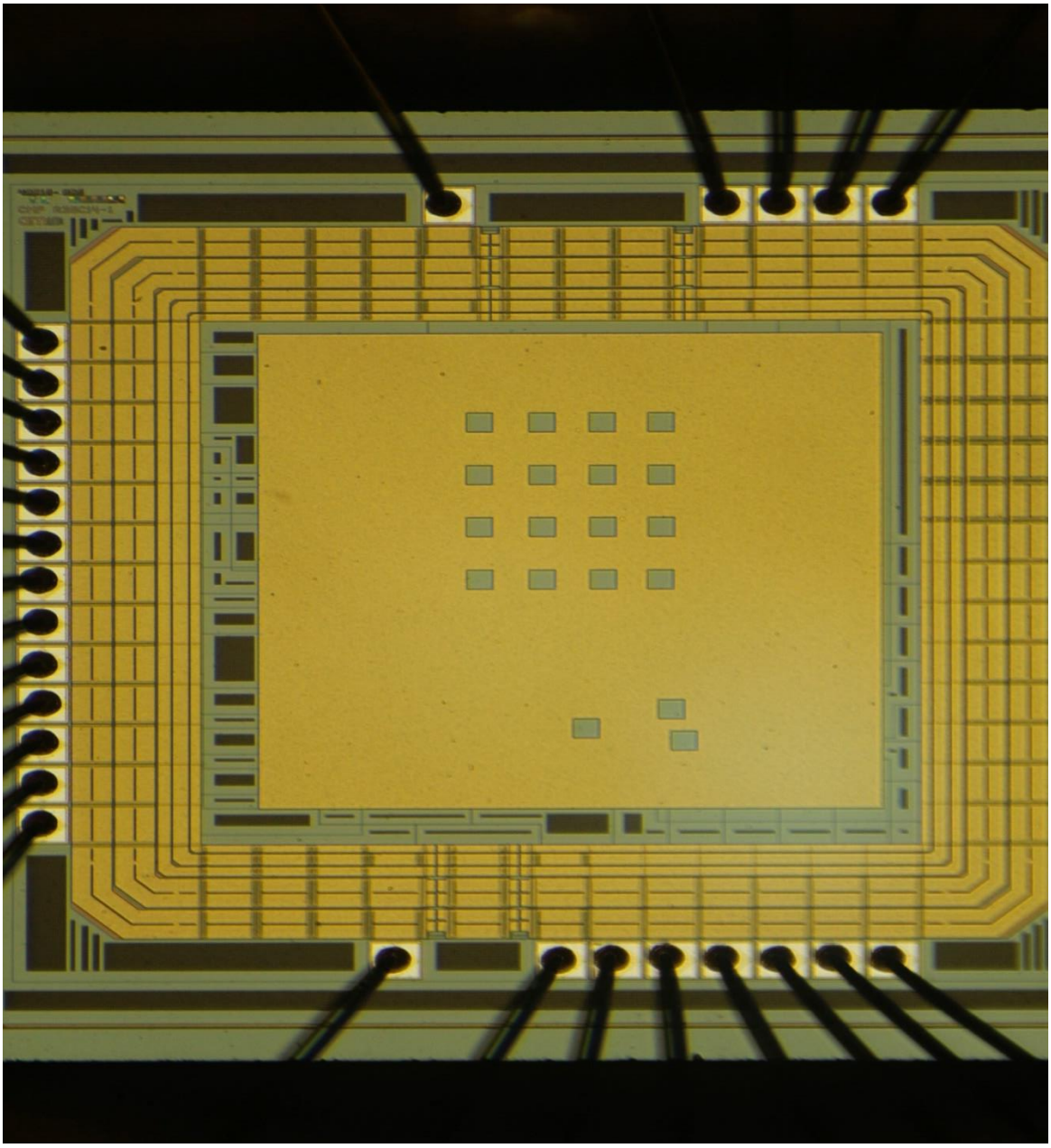


Figure 101 - Microphotographie du circuit réalisé dans une technologie CMOS 0,35µm.

Le circuit a été monté dans un boitier DIL 40 broches avec couvercle amovible

6 Conclusion

Dans ce chapitre, notre objectif initial avait été de concevoir en full-custom une matrice de 20x20 pixels de détecteurs de couleur, ainsi que son électronique de lecture et de commande, et ensuite l'associer à un système micro fluidique. Mais pour prouver la faisabilité et pour des raisons de coût nous avons conçu une matrice de 4x4 pixels.

La technologie utilisée est CMOS APS. C'est une technologie planaire destinée au développement des systèmes à très haute échelle d'intégration (VLS1). Grace aux propriétés des transistors MOS complémentaires (notées CMOS pour Complementary Metal Oxide Semiconductor), cette technologie permet de réaliser des circuits à faible coût et à basse consommation.

De plus avec des CMOS APS on dispose de plusieurs « transistors actifs » qui servent à amplifier le signal, et d'améliorer le rapport signal sur bruit. Ainsi chaque pixel de notre matrice contiendra un capteur ainsi qu'un système d'amplification. Le signal issu du capteur peut être collecté soit en mode courant soit en mode intégration.

En mode courant, la génération des photoélectrons crée un courant inverse dans la diode. Il suffit ensuite de mesurer ce dernier afin d'obtenir une information sur la quantité de lumière qui arrive sur le pixel.

En mode intégration, la photodiode comporte un interrupteur dont le but est d'initialiser la diode en mode inverse à une tension initiale, ce qui fixe la tension aux bornes de la capacité de la diode polarisée en inverse. Une fois l'interrupteur ouvert, et sous l'action du courant photonique, la capacité de diode inverse tend à se décharger. Pour connaître le niveau de signal reçu par la photodiode, une tension qu'on va appeler V_1 est mesurée après l'ouverture de l'interrupteur, puis on intègre pendant un temps t durant l'exposition à la lumière de la diode ; Après l'exposition le signal V_2 est obtenu, le signal utile sera la différence V_1-V_2.

Vu que notre courant est assez important et que l'information est instantanée, le mode courant correspond mieux à notre application. Les transistors de charges opèrent en faible inversion, ce qui permet d'avoir une grande dynamique. Le signal à la sortie du pixel doit être isolé ou amplifié en cas de faible variation du courant.

Afin de diminuer la consommation et de réduire le nombre de transistors, la source de courant de l'amplificateur et le transistor de charge du buffer seront mutualisés, et les amplificateurs des lignes non activées éteints.

Une fois la matrice conçue, son adressage s'impose. L'adressage est une fonctionnalité « numérique ». Le décodeur d'adressage doit être capable, à partir d'un code numérique sur 4 bits de pointer sur une ligne donnée. Cette fonctionnalité est générée par le dessin à la main des portes logiques qui constituent chaque élément du circuit de lecture.

Les entrées du décodeur seront gérées par un compteur ou une entrée manuelle. La valeur du compteur sera visible par l'utilisateur via un bus d'entrée/sortie. Afin de lire finalement l'information avant de la traiter par un système numérique, un multiplexeur analogique sera placé à la sortie de la matrice. Après avoir testé le schéma final de la puce, nous avons dessiné son Layout. Le logiciel utilisé pour le dessin du Layout est Cadence avec la technologie AMS CMOS Opto 0.35 µm. La surface global du Layout de la puce est 4mm². Une fois le Layout fini et testé avec les fonctions proposées par Cadence (DRC, QRC, LVS) nous l'avons envoyé en fabrication chez AMS en passant par l'entreprise CMP.

La caractérisation de la puce est présentée dans le chapitre suivant.

Chapitre III
Caractérisations du circuit électrique

III – Caractérisations du circuit

Après la conception et la réalisation du circuit, nous avons procédé aux caractérisations électrique et colorimétrique. La première caractérisation consiste à déterminer expérimentalement la réponse logarithmique d'un pixel en fonction de la puissance lumineuse. On éclaire le capteur et on mesure le courant photonique ainsi que la différence du potentiel aux bornes des transistors opérant en faible inversion. La deuxième caractérisation électrique consiste à déterminer la fonction de transfert $V_{DS} = f(I_{DS})$ de ces transistors. La dernière caractérisation consiste à mesurer la sensibilité du capteur par rapport à la lumière transmise à travers des solutions colorées de différentes concentrations.

1 Caractérisation de la dynamique du détecteur

L'objectif de cette caractérisation est d'élaborer une relation entre les tensions de sortie du pixel et la puissance lumineuse incidente sur celui-ci. On éclaire le capteur avec une lumière blanche à des intensités connues, et on mesure la différence de potentiel aux bornes de la première jonction (connectée au transistor NMOS) et aux bornes de la deuxième jonction (connectée au transistor PMOS). On mesure ensuite le photo-courant traversant chaque jonction à chaque niveau d'éclairement. Ainsi nous obtenons une caractéristique tension / puissance lumineuse et une caractéristique tension / photo-courant du pixel. Cette dernière peut être comparée aux caractéristiques $V_{DS} = f(I_{DS})$ déterminées par simulation et par caractérisations électriques.

1.1 Caractérisation de la puissance lumineuse en fonction de l'alimentation

1.1.1 Banc de test

Un des paramètres important à la caractérisation du capteur est la puissance lumineuse incidente à sa surface. Elle doit donc être déterminée expérimentalement en fonction de la tension d'alimentation de la source. Pour ce faire nous avons utilisé le banc de test illustré dans la figure 102.

Figure 102 - Photographie du banc de test de la caractérisation avec le spectrophotomètre

Ce dernier est constitué d'une lampe halogène alimenté entre 0V et 24V, d'une sphère intégratrice, qui permet d'avoir un éclairement uniforme, et d'un spectro-radiomètre Minolta CS1000 qui mesure l'intensité lumineuse.

Le spectroradiomètre CS1000 ne mesure que dans la gamme du visible, nous avons donc placé un filtre passe bas devant la source afin de couper la composante infrarouge pour nos mesures ultérieures avec le détecteur.

1.1.2 Résultats

Pour avoir cette caractéristique, puissance lumineuse en fonction de la tension (P= f(V)), nous avons éclairé à des tensions différentes, comme nous l'avons dit précédemment, et nous avons mesuré la puissance lumineuse. Sur le graphe (cf. figure 103) nous constatons qu'à chaque tension correspond une puissance lumineuse. Ce test a été effectué plusieurs fois pour vérifier sa reproductibilité.

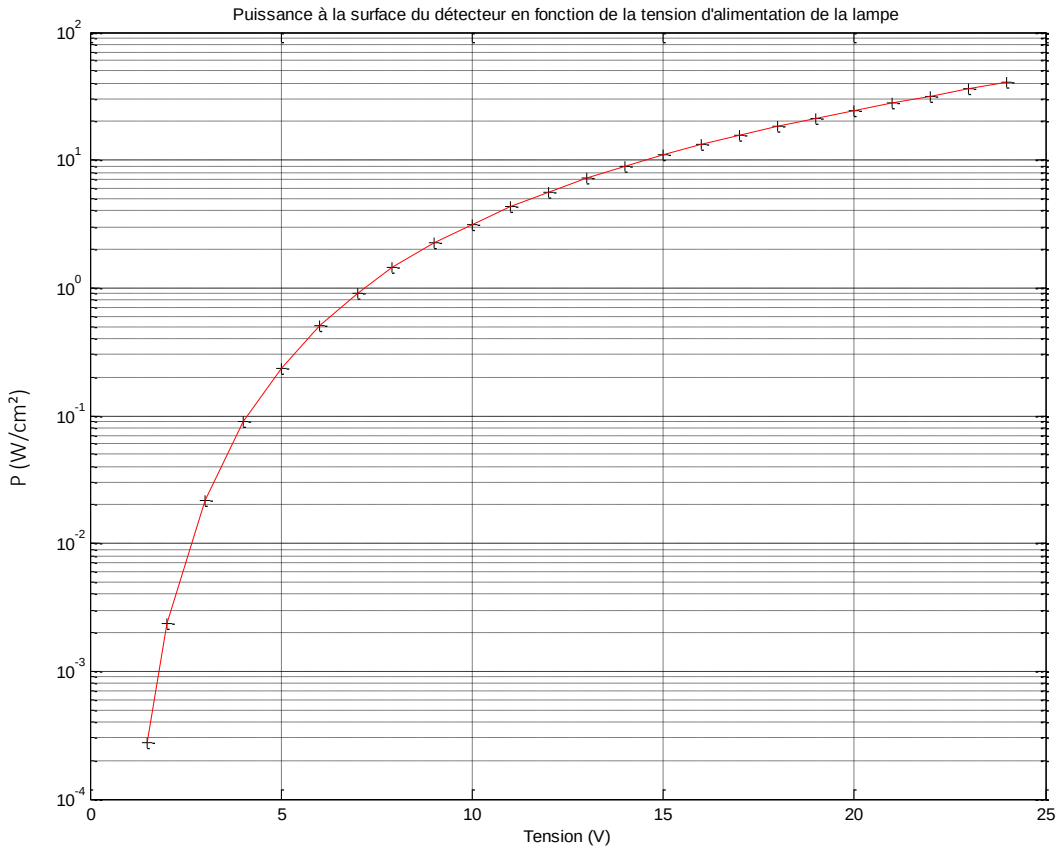


Figure 103 - Caractéristique de P= f(V)

Ces mesures seront conservées et utilisées pour toutes les caractérisations suivantes, qui seront effectuées dans les mêmes conditions.

1.2 Caractérisation de la dynamique du détecteur

Afin de déterminer la dynamique de sortie du détecteur nous avons réalisé un circuit électrique sur un PCB (cf. figure 104) afin d'alimenter la puce, de commander le système d'adressage et enfin de lire les signaux de sortie de la puce.

Sur le boitier illustré ci-dessous nous retrouvons toutes les connections d'entrée et de sortie de la puce conçue. D'une part, nous avons les commandes numériques : Ck l'horloge qui est générée par un GBF (générateur basse fréquence), le « E/S » commandant le composant IN/OUT (présenté dans la partie conception) qui permet de lire l'adresse du pixel activé quand il est mis à 0 ou d'adresser un pixel déterminé quand il est mis à 1. Nous utilisons quatre leds, jaunes et rouges, pour lire l'adresse du pixel activé sortant du composant IN/OUT.

Pour adresser un pixel de la matrice à travers le composant IN/OUT, nous utilisons des interrupteurs. D'autre part, nous avons les quatre sorties de la matrice ainsi que toutes les sorties des différents motifs de tests.

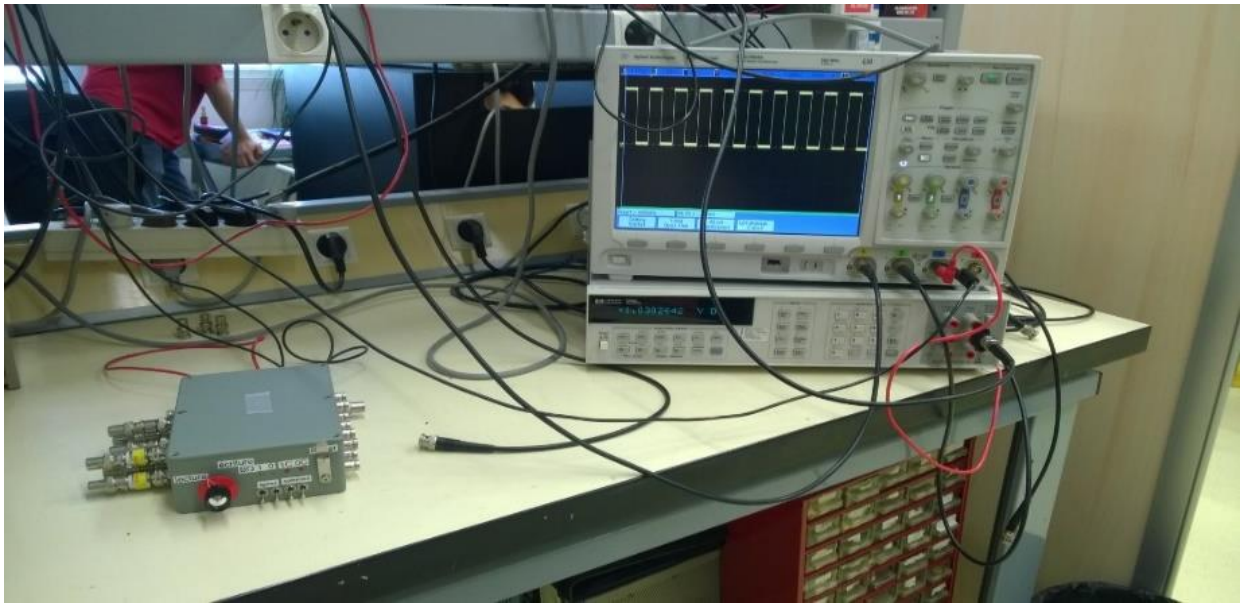


Figure 104 – Photographie du boitier comprenant de PCB ainsi que la puce

Des alimentations continues ont été utilisées pour alimenter le circuit et générer les tensions de polarisations des transistors opérant en faible inversion. Un oscilloscope est utilisé pour la lecture des tensions de sortie de la puce.

Nous avons utilisé un analyseur de semi-conducteur B1500 pour la caractérisation des photo-courants générés dans les photo-détecteurs et pour déterminer la caractéristique $V_{DS} = f(I_{DS})$ des transistors de lecture.

1.2.1.1 Tension de sortie en fonction de la puissance lumineuse

Le banc de test, pour la caractérisation de la tension de sortie du pixel en fonction de la puissance lumineuse, est constitué d'une source lumineuse (halogène), d'une sphère intégratrice, du circuit monté sur un PCB dans un boitier (cf. figure 105), des différentes tensions d'alimentation, et d'un oscilloscope pour la lecture des résultats.

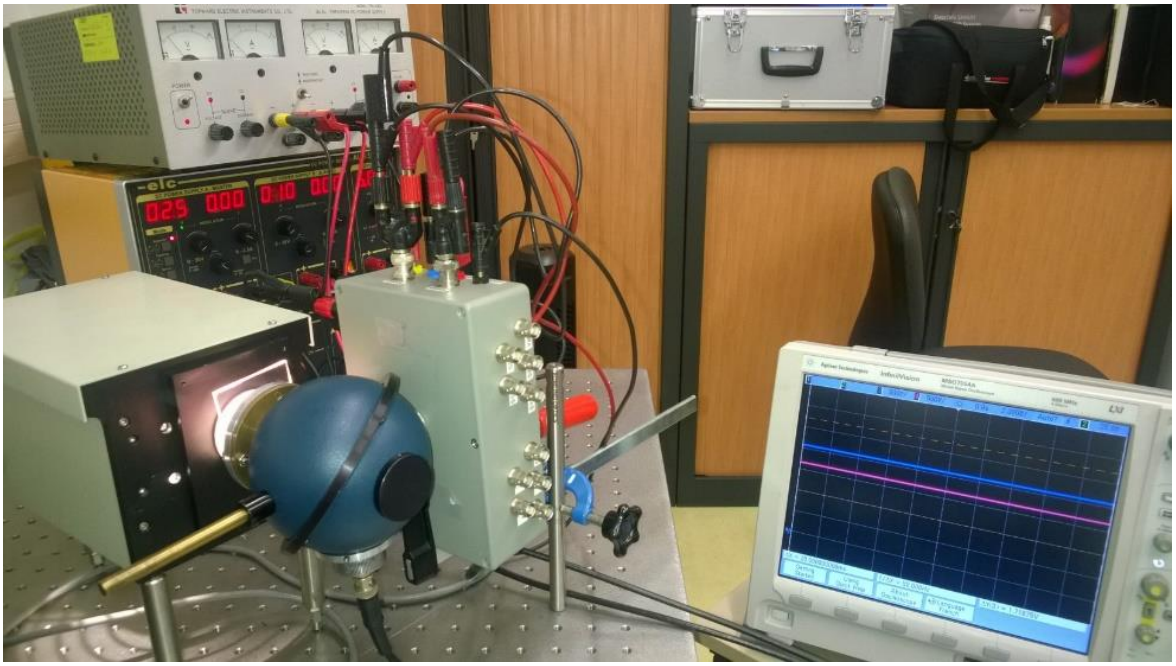


Figure 105 - Caractérisation du capteur en fonction de l'éclairement

Ces mesures ont été effectuées sur des motifs de test conçus pour caractériser indépendamment les différents éléments du pixel.

Le premier motif de test est constitué d'un photo-détecteur à double jonction enterrée. Les deux sorties du photo-détecteur sont accessibles via deux plots du circuit pour le test. Les deux autres éléments de test sont un transistor NMOS et un transistor PMOS. Le drain de chacun des deux transistors est relié à sa grille pour assurer un fonctionnement en faible inversion. Ce drain est accessible via un plot du circuit. La source du transistor N est reliée à V_{nbias}, la source du transistor P est reliée à V_{pbias}. Ces deux tensions de polarisation (V_{nbias} et V_{pbias}) sont communes à tout le circuit.

Afin de caractériser le pixel, nous avons relié en externe, sur le PCB, le drain du transistor N avec la sortie de la première jonction et le drain du transistor P avec la sortie de la deuxième jonction.

Un amplificateur opérationnel (MCP601) monté en suiveur est utilisé sur chaque sortie du pixel (cf. figure 106).

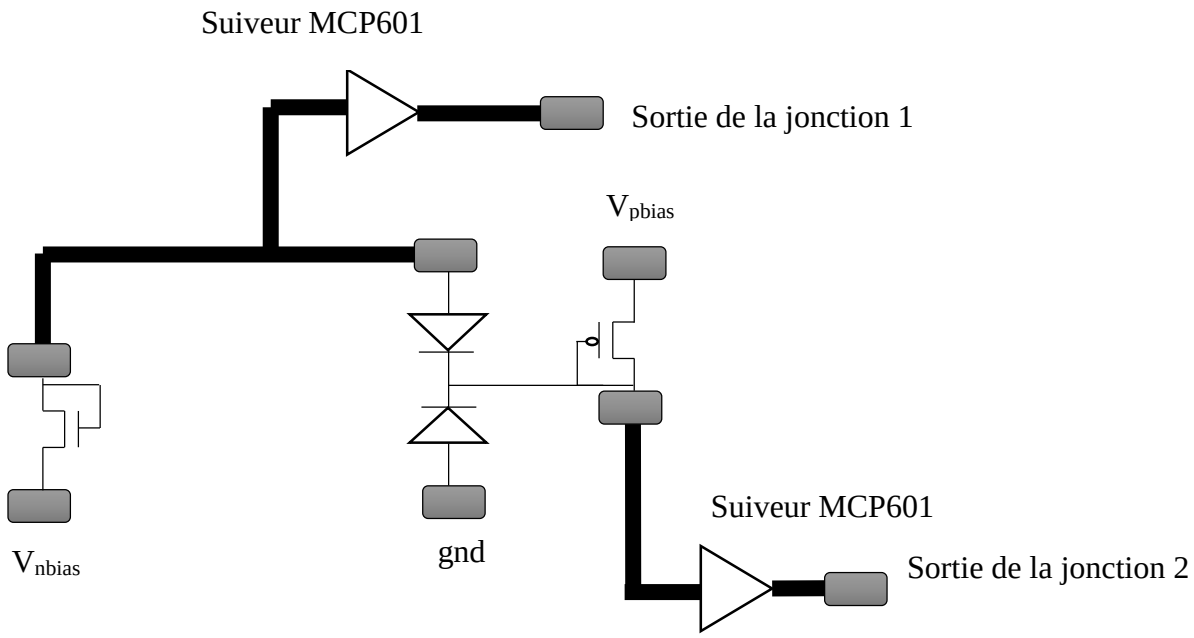


Figure 106 - Câblage des structures des tests

La réponse de chaque sortie des deux jonctions du pixel doit être logarithmique sur 7 décades comme démontré en simulation. En revanche, vu que le transistor est relié à la photodiode à l'extérieur de la puce sur le PCB, on peut penser que des courants de fuites perturbent les mesures et diminuent la dynamique pour des faibles valeurs du photo-courant.

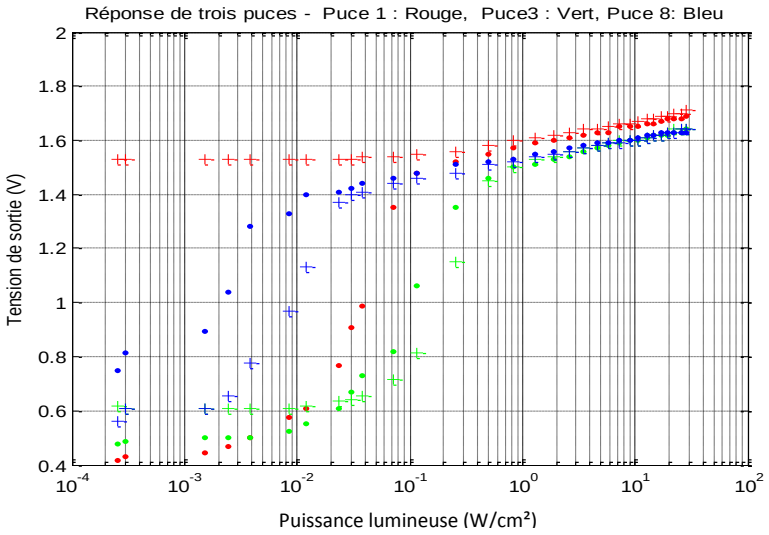


Figure 107 - Réponse de la première jonction du pixel des différentes puces testées

Sur les graphes figure 107 et figure 108, on peut voir les réponses de trois puces différentes (puce 1, puce 3 et puce 8). On constate sur figure 107, que pour des faibles valeurs de la puissance lumineuse, la tension du drain du transistor N est largement inférieure à sa la tension de polarisation (V_{nbias} = 1V).

Le photo-courant généré dans la première jonction est assez faible pour traverser les plots et les connexions afin d'activer le transistor N. Ce dernier est probablement bloqué et la tension mesurée est différente de V_{nbias}. Cependant, à partir de 30mW/cm² (puce N°8) on constate que la caractéristique correspond bien à celle d'un transistor opérant en faible inversion. Cette partie de la caractéristique peut être exploitable et comparée aux résultats de simulation.

Dans la figure 108, nous avons les caractéristiques de la sortie de la deuxième jonction du pixel. Comme évoqué précédemment le courant traversant le transistor P est la somme des deux photo-courants I_1 et I_2. Le transistor P est donc activé dans la région de faible inversion à des puissances lumineuses plus faibles que le transistor N. Néanmoins, il reste inactivé à des faibles valeurs de la puissance lumineuse. Ceci peut être expliqué, comme dit précédemment, par des courants de fuites entre les plots et les connexions sur le PCB.

Cette contrainte expérimentale, ne permet pas de tracer la caractéristique du pixel à des faibles valeurs de la puissance lumineuse.

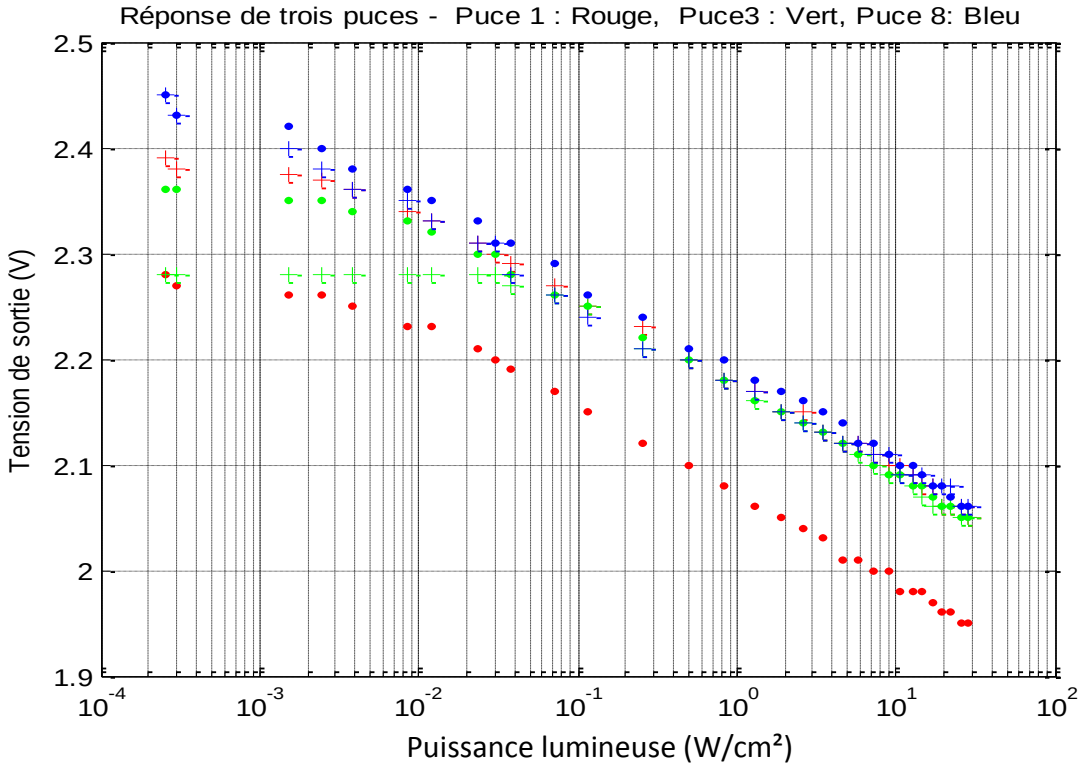


Figure 108 - Réponse de la deuxième jonction du pixel des différentes puces testées

Pour déterminer expérimentalement la caractéristique $V_{DS} = f(I_{DS})$, nous allons mesurer le photo-courant traversant chaque jonction du photo-détecteur en fonction de la puissance lumineuse.

1.2.1.2 Tensions de sortie du pixel en fonction du courant photonique

Afin d'avoir le maximum de puissance nous avons retiré la sphère intégratrice, qui avait le rôle de rendre la lumière uniforme mais qui diminuait considérablement la puissance lumineuse. Nous avons ainsi à la surface du détecteur une forte puissance lumineuse donc des forts courants.

Nous avons éclairé le photo-détecteur à différentes valeurs de la puissance lumineuse, ce qui permettra de couvrir toute la dynamique logarithmique du pixel. A chaque puissance lumineuse nous avons mesuré le courant photonique qui traverse chacune des deux jonctions. Ainsi nous avons obtenu une première partie de la caractéristique I = f(P).

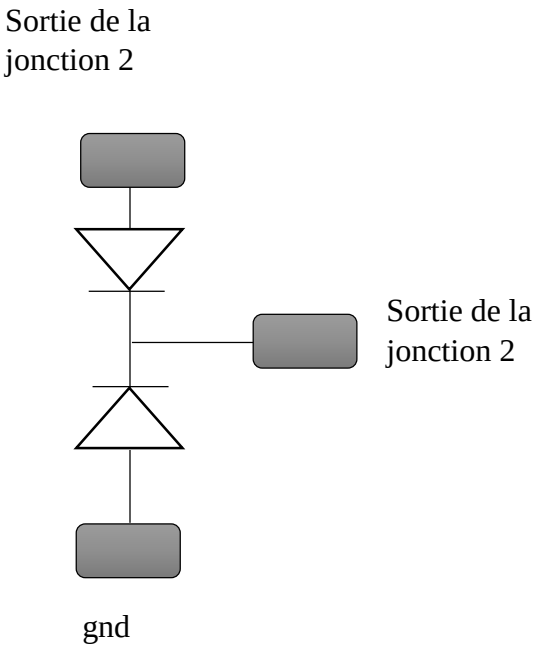


Figure 109 - Architecture du photodécteur

Nous avons reconnecté le photo-détecteur au transistor de lecture (cf. figure 109), et déterminer expérimentalement les tensions de sortie du pixel à différents niveau d'éclairement.

Les deux caractéristiques $V_1 = f(P)$ et $V_2 = f(P)$ sont déterminées dans les mêmes conditions expérimentales qui ont permis d'obtenir les caractéristiques $I_1 = f(P)$ et $I_1 + I_2 = f(P)$.
En exploitant ces résultats de mesure, nous avons tracé les caractéristiques $(V_1)= f(I_1)$ et $(V_2) = f(I_1 + I_2)$.

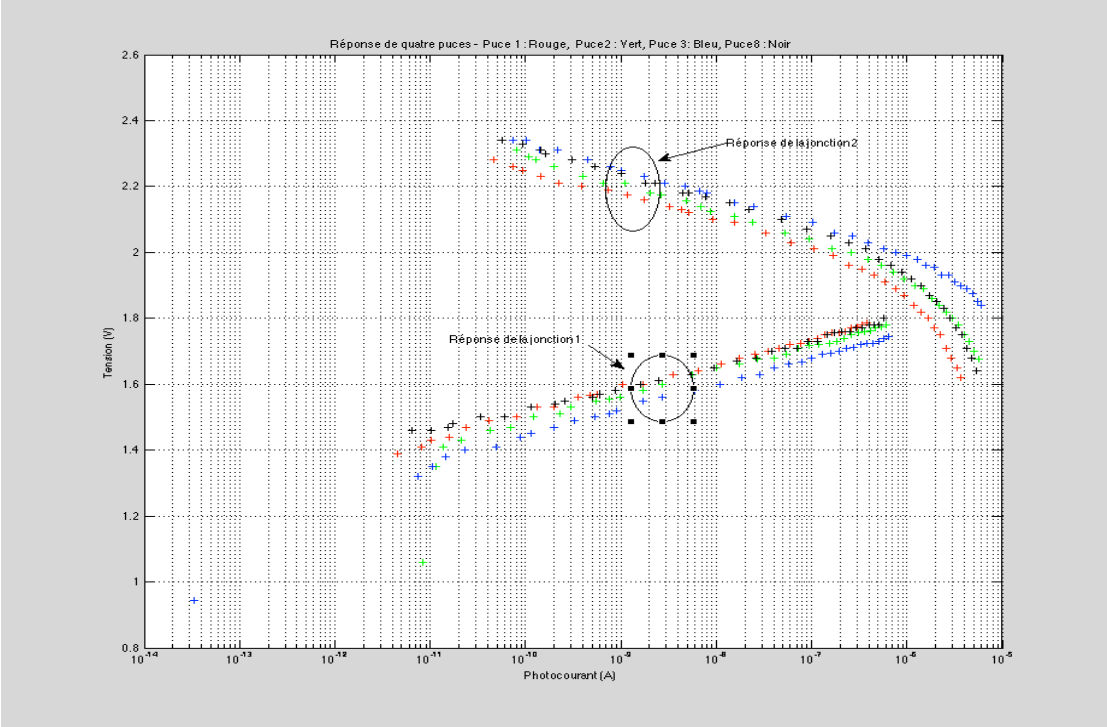


Figure 110 – Caractéristique V = f(I) pour les quatre puces des deux jonctions du pixel. Puce1:rouge; Puce2 : vert; Puce3 : Bleu et Puce8 : noir

Ces caractéristiques (cf. figure 110) sont assez proches des résultats obtenus par simulation du pixel sous Cadence. Les courants de fuites affectent nos mesures dans les faibles courants pour le NMOS. Dans cette expérience, pour les faibles valeurs du courant photonique, la valeur de la tension est supérieure à V_{nbias}, ce qui est différent de la caractéristique déterminée précédemment V=f(P).

1.3 Caractérisation électrique du transistor de lecture

Pour déterminer la caractéristique du transistor PMOS opérant en faible inversion, nous avons imposé une tension de polarisation ainsi qu'un courant représentant le courant photonique et ensuite nous avons mesuré la tension de sortie du transistor (voir figure 111).

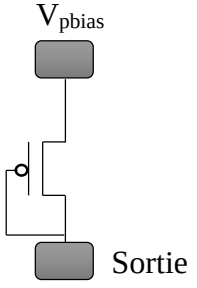


Figure 111 - Architecture du transistor P opérant en faible inversion

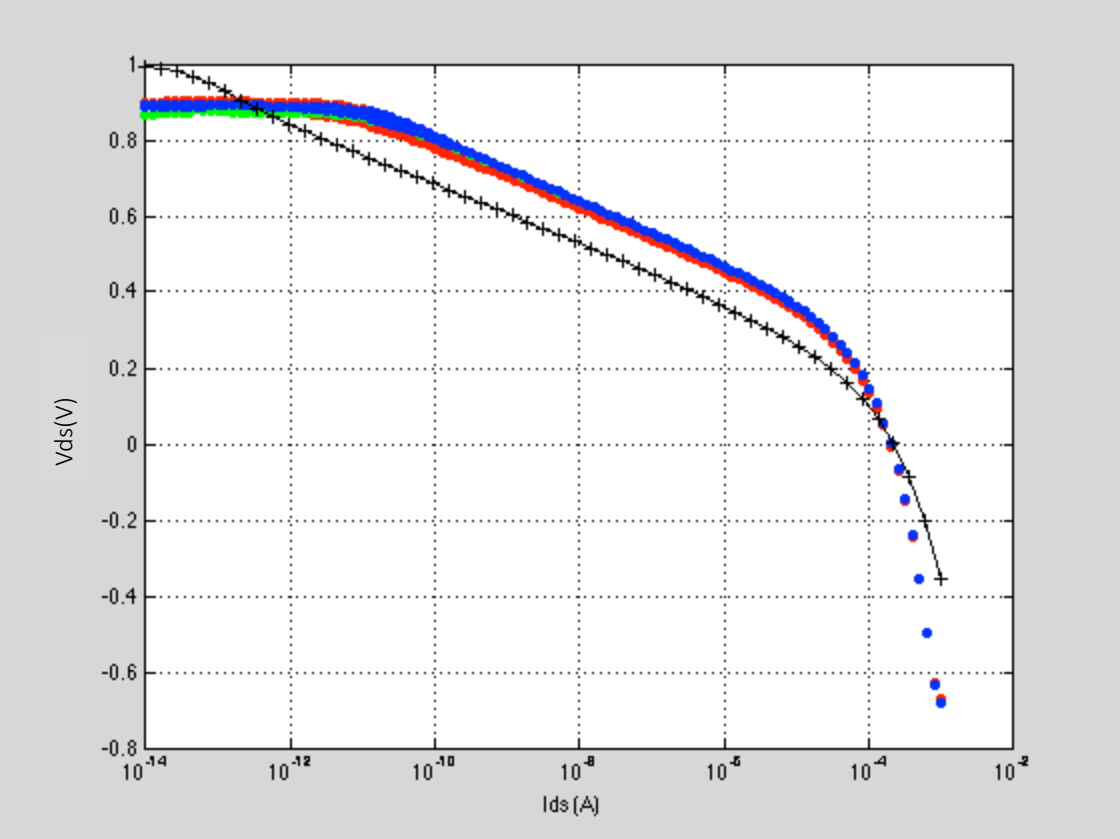


Figure 112 - Caractéristique de la sortie du transistor PMOS opérant en faible inversion avec Vpbias = 1 V Rouge : Puce_1 Mesure1 à Mesure 12 ; Bleu : Puce_2 Mesure1 à Mesure 10 ; Cyan : Puce_3 Mesure 1 Magenta : Puce_8 Mesure 1 ; + Noir : Simulation

Nous avons sur le graphe de la figure 112 et figure 113 les caractéristiques $V_{DS} = f(I_{DS})$ d'un transistor PMOS opérant en faible inversion. La courbe en noir représente les résultats de simulation et les autres courbes représentent les résultats de mesure. Nous constatons que pour des courants supérieurs à quelques centaines de pA les deux caractéristiques ont la même allure. Cette allure correspond bien au fonctionnement d'un transistor opérant en faible inversion puis en forte inversion.

La caractéristique obtenue par simulation montre que le transistor entre dans le régime faible inversion à partir d'un courant égal à 10fA. Ce qui donne une dynamique d'entrée de plus de sept décades. En revanche la caractéristique obtenue expérimentalement montre une dynamique plus faible de cinq décades. En effet pour des valeurs du courant inférieures à quelques centaines de pA le transistor PMOS n'est pas activé. Ceci confirme que la présence de courants de fuites, dans le montage actuel, rend la caractérisation du transistor à des faibles valeurs de courant difficile, voire impossible. Cette limitation expérimentale ne permet pas de déterminer la dynamique du pixel.

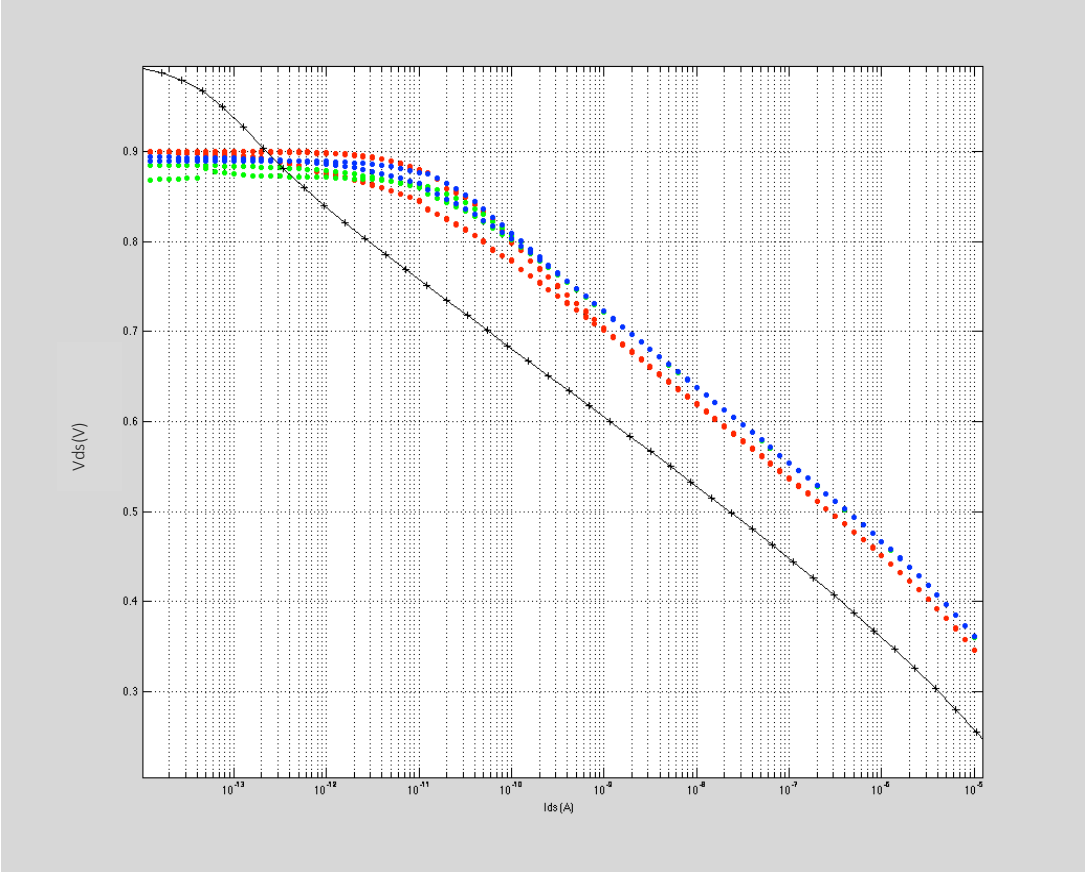


Figure 113 - Caractéristique de la sortie du transistor PMOS en zone de faible inversion

Il en est de même pour le transistor NMOS. Nous avons imposé une tension de polarisation ainsi qu'un courant représentant le courant photonique et nous avons mesuré la tension de sortie du transistor voir figure 114.

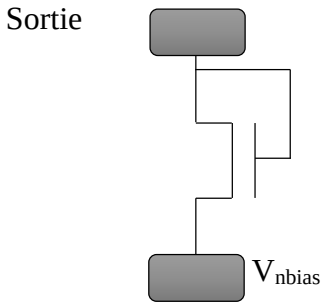


Figure 114 - Architecture du transistor NMOS

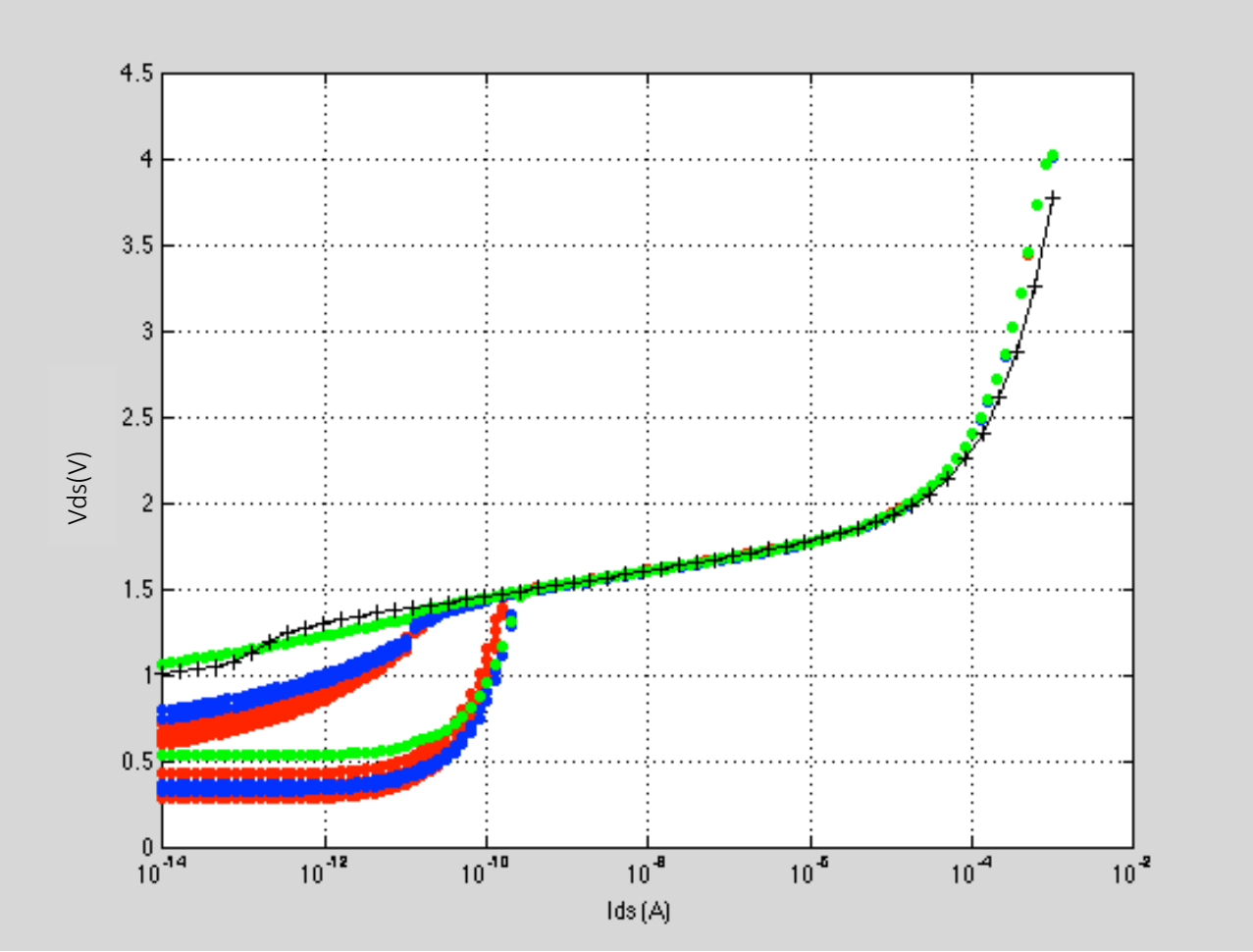


Figure 115 - Caractéristique de la sortie du transistor NMOS opérant en faible inversion avec Vnbias = 1V. Rouge : Puce_2 Mesure1 à Mesure 4 ; Bleu: Puce_3 Mesure1 à Mesure 2 ; Vert : Puce_8 Mesure 1 + Noir : Simulation

Sur les graphes de la figure 115 et 116, nous avons la caractéristique $V_{DS} = f(I_{DS})$ du transistor NMOS à une polarisation V_{nbias} égale 1V. Nous constatons que la tension de sortie du transistor à des faibles courants, est inférieure à la tension de polarisation. Nous pouvons constater aussi que nous avons un phénomène d'hystérésis qui est dû aux courants de fuites.

La courbe en noir représente les résultats de simulations et les autres courbes représentent les résultats de mesures. Nous constatons que pour des courants supérieurs à quelques centaines de pA les deux caractéristiques ont la même allure. Cette allure correspond bien au fonctionnement d'un transistor opérant en faible inversion puis en forte inversion.

La caractéristique obtenue par simulation montre que le transistor entre dans le régime faible inversion à partir d'un courant égal à quelques dizaines de fA. Ce qui donne une dynamique d'entrée de sept décades. En revanche la caractéristique obtenue expérimentalement montre une dynamique plus faible de quatre décades. En effet pour des valeurs du courant inférieur à quelques

centaines de pA le transistor NMOS n'est pas activé. Ceci confirme que la présence de courants de fuites encore une fois, dans le montage actuel, rend la caractérisation du transistor à des faibles valeurs de courant difficile, voire impossible.

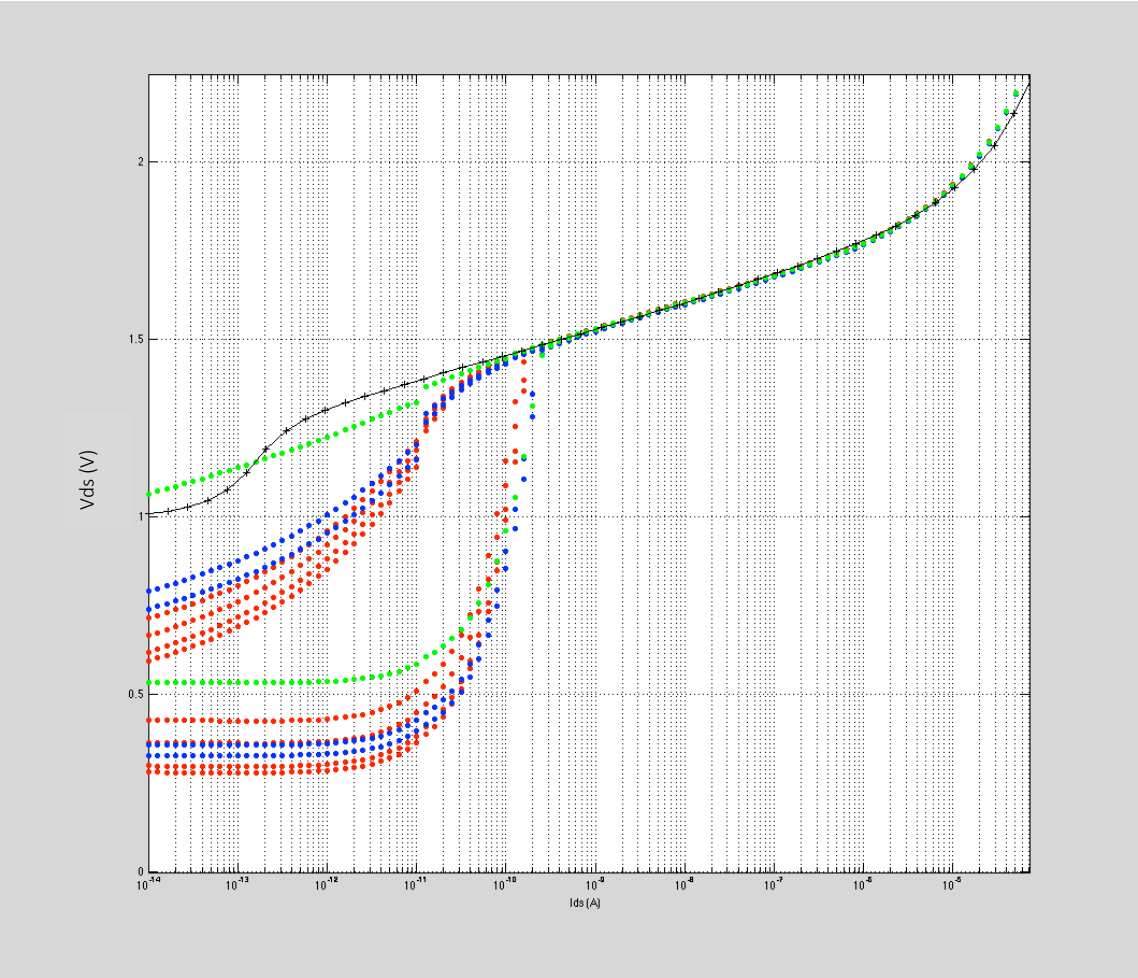


Figure 116 - Caractéristique de la sortie du transistor NMOS en zone de faible inversion

2 Caractérisation en présence de solution colorée

2.1 Préparation des solutions

Cette caractérisation consiste à évaluer la sensibilité du capteur à la couleur, et sa capacité à détecter une très faible intensité de couleur d'une solution. L'intensité de la couleur d'une solution est liée à la concentration du colorant.

Ainsi dans notre application, ceci permettra de détecter une faible coloration de la solution à tester, proportionnelle à une faible concentration d'allergènes dans le sérum. Cette coloration est le résultat de la réaction chimique entre l'anti-allergène et un second anticorps humain marqué avec une enzyme.

Afin d'évaluer la sensibilité du capteur, nous avons préparé 3 séries de solutions de couleurs différentes (cf. figure 117).

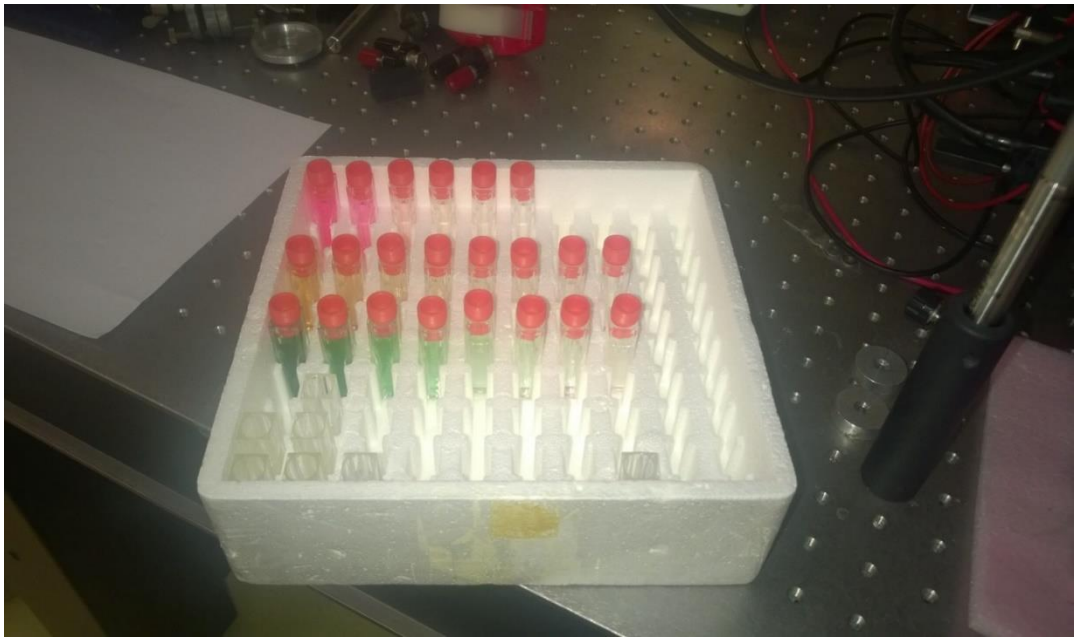


Figure 117 - Photographie de l'ensemble solutions à tester

Dans la première série de mesure, on caractérise une solution à base d'Hextril de couleur rose. Chaque micro tube est préparé avec une dilution moitié du micro tube précédent. Nous arrêtons les dilutions lorsque à l'œil nu nous distinguons plus de différence de couleur.

Figure 118 – Echantillons de test avec Hextril

Nous avons préparé une deuxième série de solution selon le même procédé que la solution précédente. La couleur choisie est le vert qui offre une dynamique de dilution plus importante que le rose. (cf. figure 119)

Figure 119 - Echantillons de test avec colorant vert

2.2 Banc de test

Après la préparation des solutions, le banc de test a été conçu (cf. figure 120). Il est constitué d'une source lumineuse alimentée en 15V, d'une fibre optique, de la puce et des micros tubes à tester. La lumière arrive sous incidence normale sur le micro-tube et le capteur.
Le circuit est alimenté par des sources continues, qui génèrent les tensions de polarisation des transistors opérant en faible inversion. Un oscilloscope est utilisé pour la lecture des tensions de sortie de la puce.

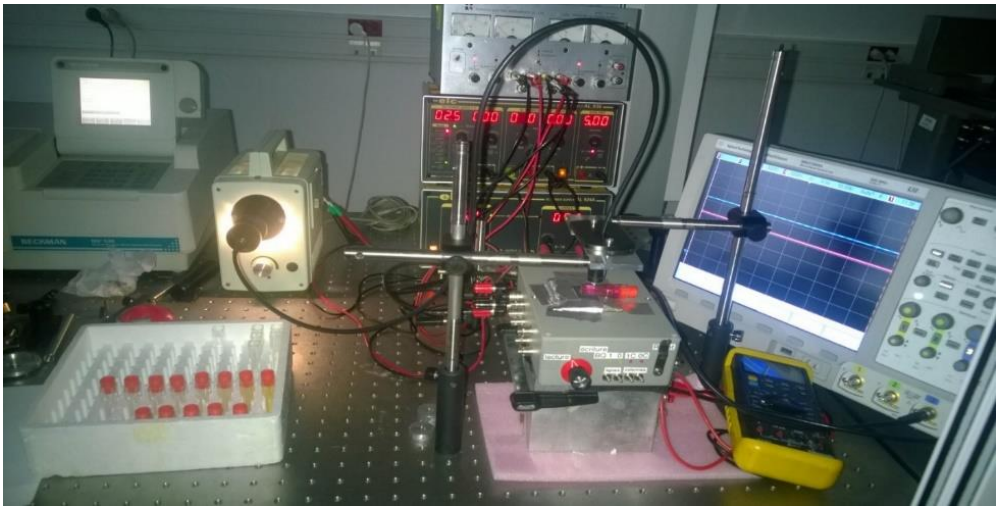


Figure 120 - Photographie du banc de caractérisation colorimétrique

Sur la figure 121, nous pouvons voir le positionnement précis du micro tube sur la puce afin d'avoir un signal le moins bruité possible.

Figure 121 - Photographie du micro tube positionné au-dessus du capteur

2.3 Résultats des mesures

Afin de valider nos résultats de mesure avec le capteur, nous avons effectué ces mêmes mesures avec un spectromètre UV-visible

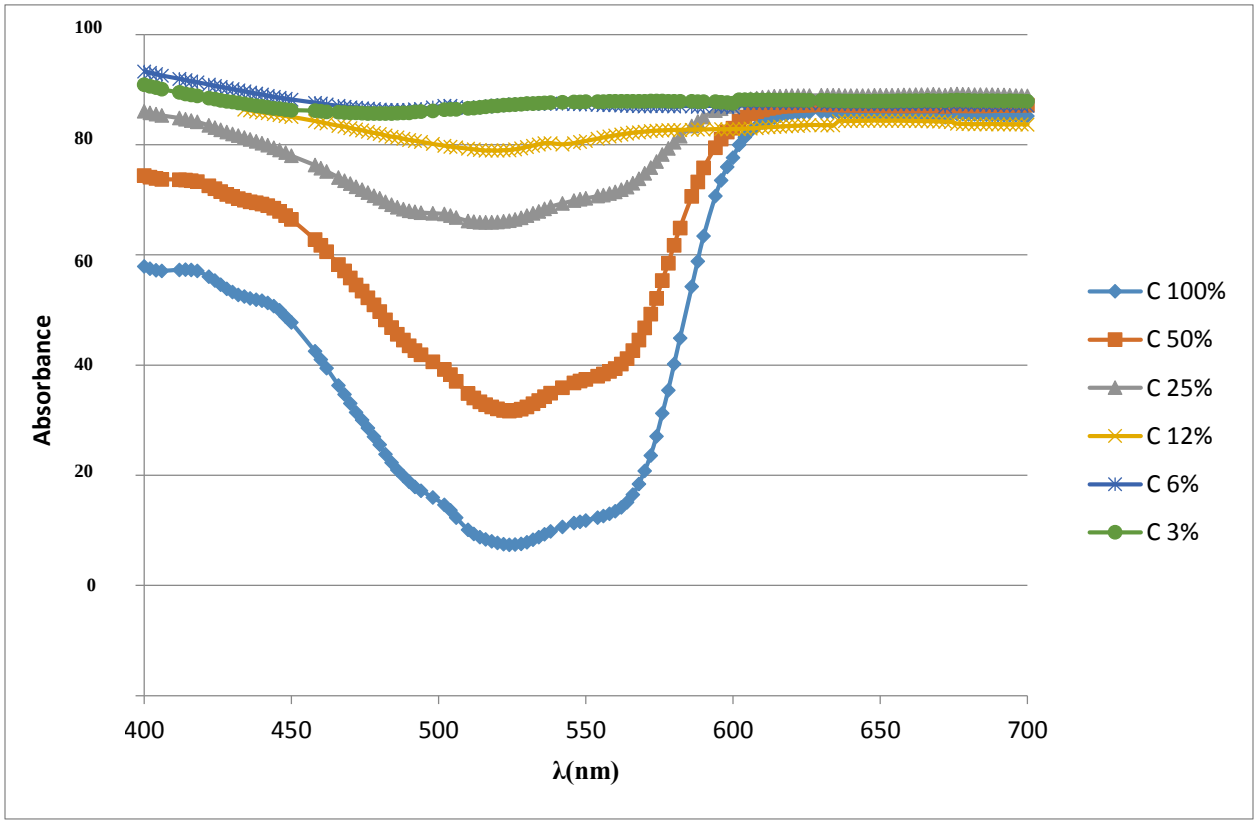


Figure 122 - Résultats du spectromètre avec l'Hextril

Nous avons ci-dessus (cf. figure 122) les résultats de mesure du spectre de transmission. Ces résultats correspondent à la première solution colorée (avec l'Hextril) à différentes concentrations. Nous pouvons constater que la mesure de transmission des solutions C 3% et C 6% sont identiques et le pic d'absorption à 520 nm n'est plus visible. A ces concentrations, le spectromètre atteint sa limite de sensibilité.

Nous avons ensuite effectué des mesures avec notre puce et la même solution ; nous avons tracé la caractéristique I_2/I_1 en fonction de la concentration (cf. figure 123).

Afin de s'assurer de la reproductibilité des mesures, nous les avons effectuées dix fois. Comme nous pouvons le voir sur le graphe 124 les différentes réponses R_i sont superposables.

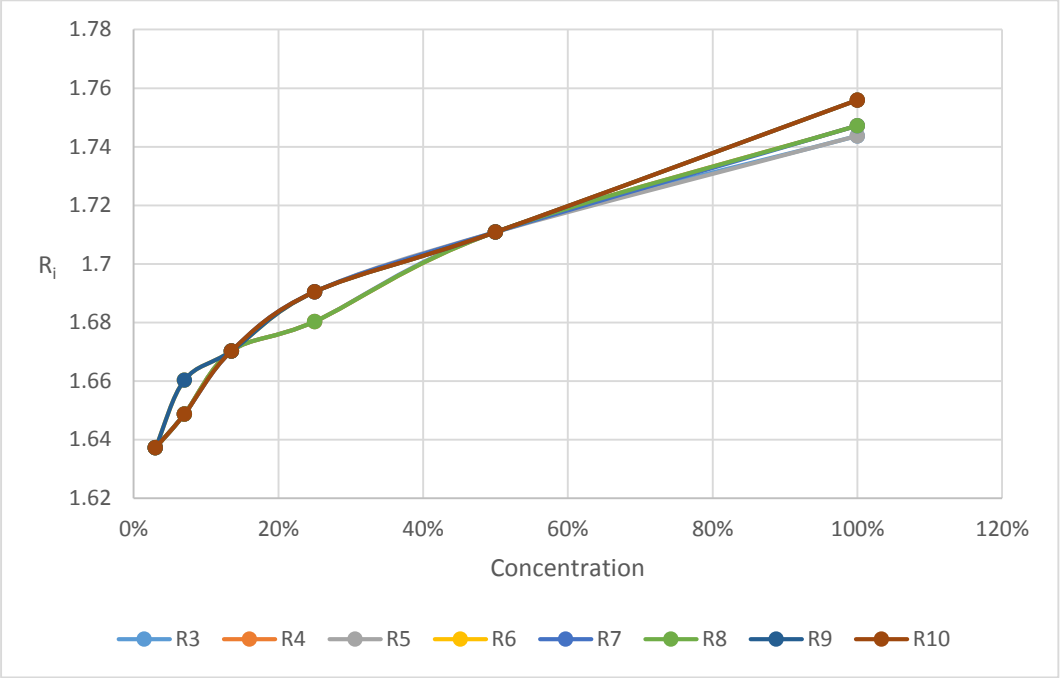


Figure 123 - Caractéristique du rapport I2/I1 en fonction de concentration

Contrairement à l'œil nu et au spectrophotomètre, le détecteur permet une distinction des deux plus faibles concentrations. La sensibilité du détecteur est supérieure à celle du spectrophotomètre.

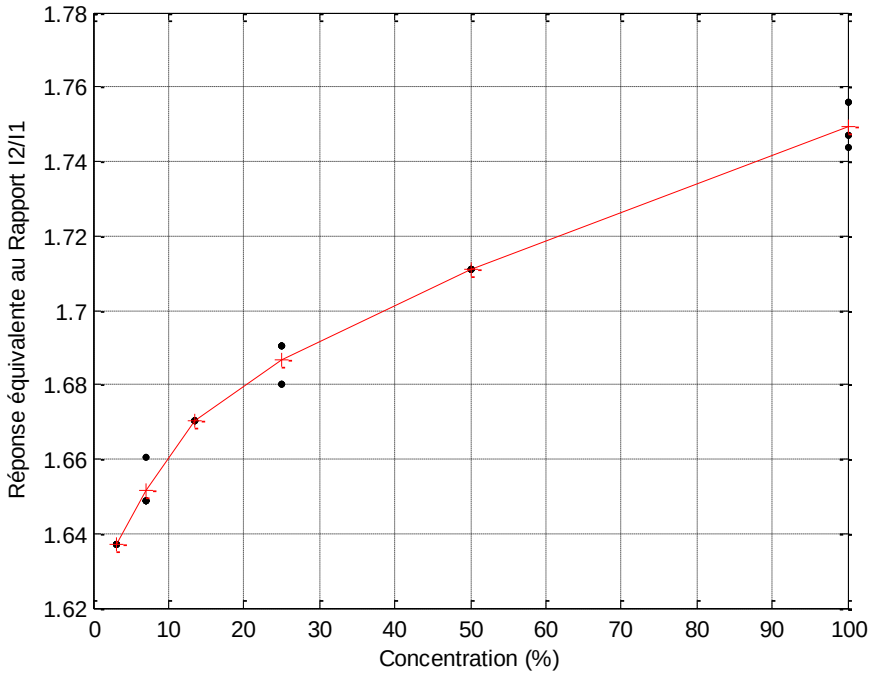


Figure 124 - Caractéristique de la moyenne du rapport I_2/I_1 en fonction de la concentration

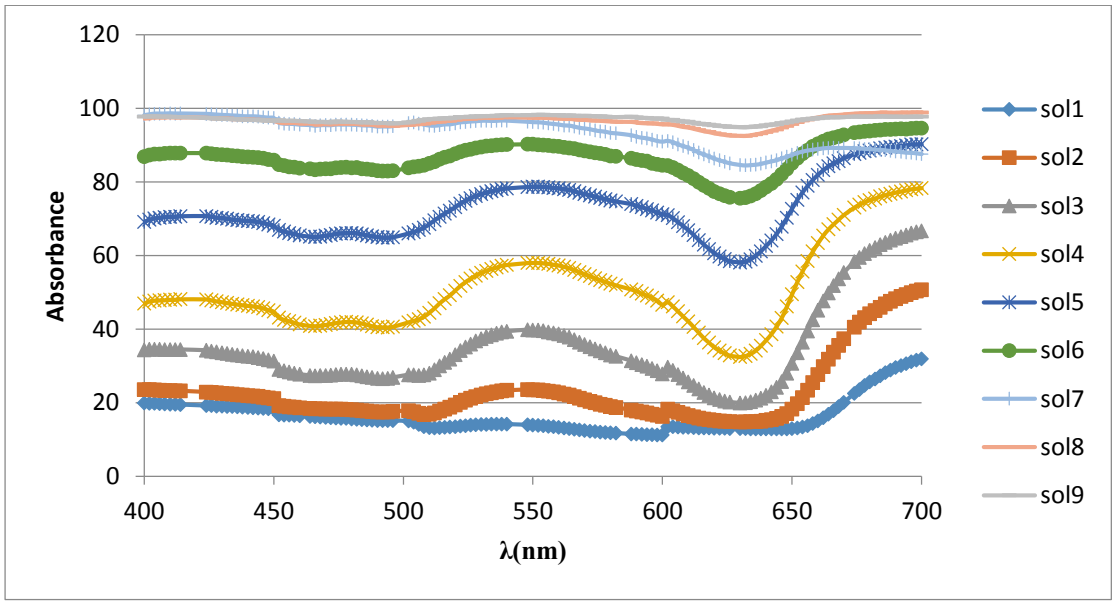


Figure 125 - Résultats du spectromètre avec le colorant vert

Nous avons ci-dessus (cf. figure 125) les résultats de mesures du spectre de transmission. Ces résultats correspondent à la deuxième solution colorée à différentes concentration. Nous pouvons constater que le pic d'absorption est à 630 nm. Avec cette solution le spectromètre arrive à détecter les concentrations des solutions les plus dilués sol9 et sol8. Nous avons ensuite effectué des mesures avec notre puce avec la même solution, et nous avons tracé la caractéristique I_2/I_1 en fonction de la concentration (cf. figure 126).

Afin de s'assurer de la reproductibilité des mesures, nous les avons effectuées quatre fois. Comme nous pouvons le voir sur le graphe figure 127 les différentes réponses R_i sont superposables.

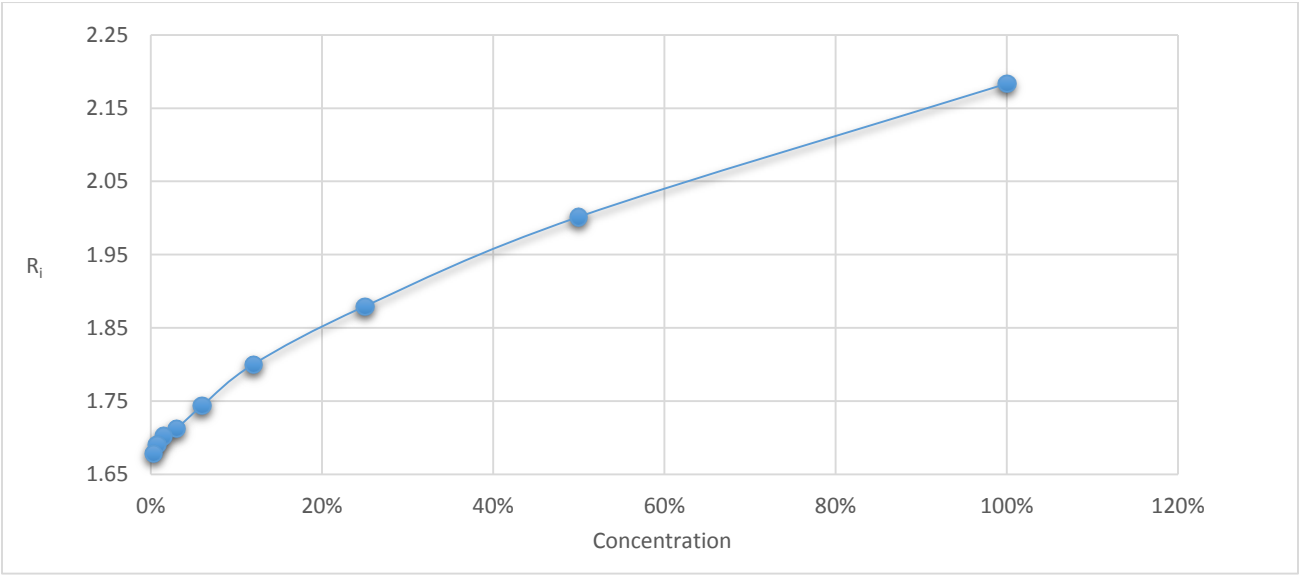


Figure 126 - Caractéristique du rapport I_2/I_1 en fonction de la concentration

Ci-dessus, nous avons la caractéristique en échelle semi log. Elle nous permet de mieux visualiser les variations du rapport des courants R à des faibles concentrations.

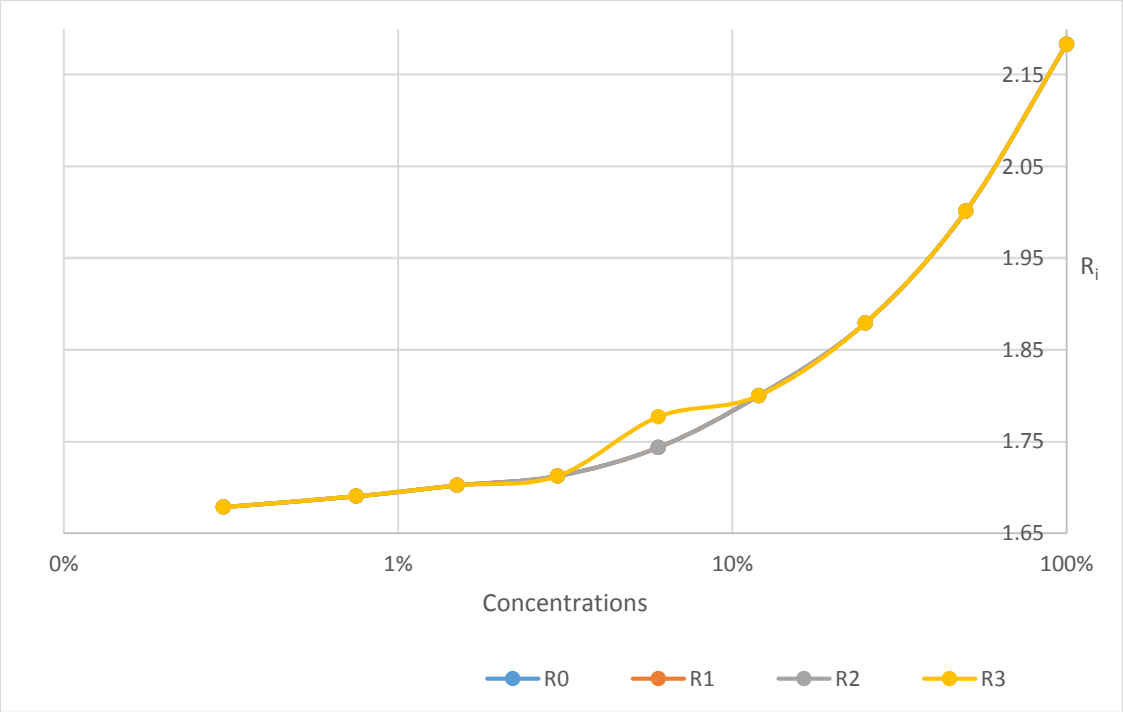


Figure 127 - Caractéristique du rapport I_2/I_1 en fonction de la concentration en échelle semi-log

3 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté les caractérisations de la puce colorimétrique. Afin de valider son fonctionnement, nous avons effectué différentes caractérisations. Dans un premier temps, nous avons validé le fonctionnement de la partie numérique de la puce.

Nous avons ensuite procédé à l'ensemble des caractérisations. La première consiste à déterminer expérimentalement la réponse logarithmique du pixel en fonction de la puissance lumineuse. Nous avons éclairé le capteur et mesuré le courant photonique ainsi que la différence du potentiel aux bornes des transistors opérant en faible inversion. La deuxième est une caractérisation électrique, elle consiste à déterminer la fonction de transfert $V_{DS} = f(I_{DS})$ de ces transistors. Les résultats de mesures sont bien comparables aux résultats de simulations. La dernière caractérisation consiste à évaluer la sensibilité du capteur face à un stimulus lumineux. Ainsi de faibles concentrations ont pu être identifiées. Nous avons préparé des solutions colorées à plusieurs concentrations. L'absorption, qui est proportionnelle à la concentration, de ces solutions a été tout d'abord mesurée avec le spectromètre, et ensuite avec notre capteur optique. D'après les résultats de mesures, nous avons réussi a démontré que notre capteur optique peut mesurer de très faible concentration de couleur difficilement détectable avec le spectromètre.

IV - Conclusions générales et perspectives

L'objectif de cette thèse a été de concevoir un prototype de micro-capteur biologique pour la détection des anticorps de patients susceptibles d'être allergiques. L'allergie touche aujourd'hui plus de 15% de la population européenne. Les allergies peuvent être causées par les pollens, les acariens, les aliments, les médicaments et bien d'autres raisons. Il est donc important de détecter de manière précoce ces allergies.
A l'heure actuelle, parmi les méthodes qui existent pour la détection des allergènes, il y a une méthode dite ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay) qui est largement utilisée depuis 1972. Cette méthode consiste à détecter la présence d'un anticorps ou d'un antigène dans un échantillon. Notre projet a été basé sur le principe de cette méthode. Une structure micro fluidique contenant la solution est placé sur le capteur qui serait illuminé ce qui va générer un courant électrique. L'exploitation de ce courant nous donnera l'information sur la présence ou pas d'allergènes dans le sérum à tester.

Ce sujet de thèse étant pluridisciplinaire, dans le premier chapitre, nous avons exposé les principes de chaque discipline, dans le domaine de l'électronique intégrée, de la micro fluidique avec un tremplin vers un système micro fluidique.

La micro-fluidique est un domaine qui ne cesse de se développer, les premiers dispositifs sont apparus dans les années 80. Le succès du développement a permis de miniaturiser davantage plusieurs dispositifs d'analyse en chimie et en biochimie. Des dispositifs qui se sont montrés plus précis et plus rapides que les dispositifs macroscopiques habituels. Le développement d'une technologie beaucoup plus légère que les techniques de gravures du silicium a révolutionné la thématique; ainsi, l'apparition des systèmes en Poly Di Methyl Siloxane (PDMS) fabriqués par lithographie douce, a permis la réalisation de circuits en des temps très courts avec des coûts de fabrication très faibles. La micro fluidique offre de nouvelles opportunités pour l'analyse des cellules. Grâce à des contrôles et des manipulations de petits volumes de fluides précis, elle ouvre des voies à l'analyse des constituants cellulaires.

Pour notre système micro-fluidique, le choix des matériaux s'est porté sur l'utilisation du PDMS pour la formation des canaux, et du verre comme substrat permettant la fermeture des canaux. La conception de ce microsystème nécessite le recours aux technologies de micro-fabrication, souvent coûteuses et peu accessibles. Un choix a été fait de privilégier les micro-technologies dites « douces ». Dans la Figure 128, nous avons une architecture représentant un système micro fluidique adapté pour notre détection colorimétrique. Il est constitué de quatre réservoirs des tests biologiques et les micro-canaux. Chaque réservoir sera déposé sur quatre pixels. La taille du réservoir est de 200µm et la taille du système fera la taille de la puce à savoir 4mm². Chaque réservoir possède deux micro canaux un pour l'entrée du fluide et l'autre pour l'évacuation du fluide.

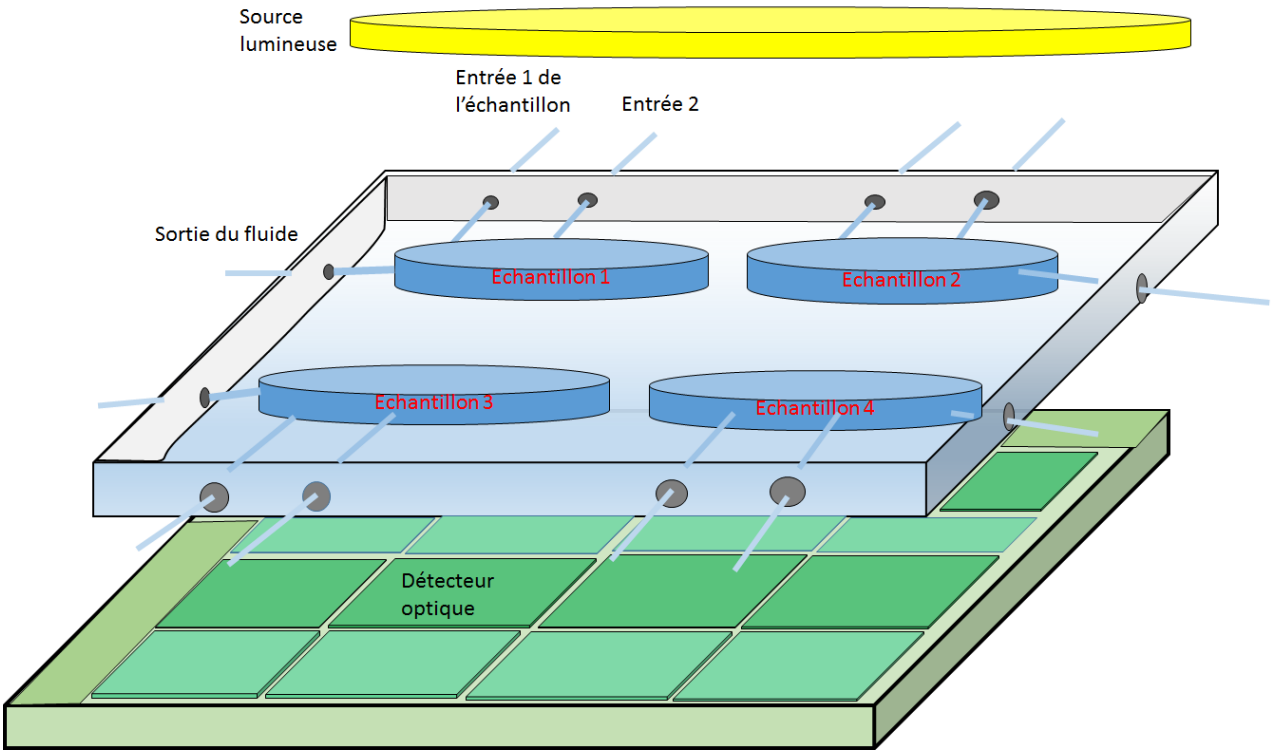


Figure 128 - Représentation de la bio-puce

Dans le deuxième chapitre nous avons développé la conception de la matrice APS ainsi que son électronique de lecture. Notre objectif initial a été donc de concevoir en full-custom une matrice de 20x20 pixels de détecteurs de couleur, ainsi que leur électronique de lecture et de commande, pour l'associer au système micro fluidique. Pour prouver la faisabilité et pour des raisons de coût nous avons conçu une matrice de 4x4 pixels.

La technologie utilisée est CMOS APS. C'est une technologie planaire destinée au développement des systèmes à très haute échelle d'intégration (VLS1). Grâce aux propriétés des transistors MOS complémentaires (notées CMOS pour Complementary Metal Oxide Semiconductor), cette technologie permet de réaliser des circuits à faible coût et à basse consommation. De plus avec des CMOS APS on dispose de plusieurs « transistors actifs » qui servent à amplifier le signal, et à améliorer le rapport signal sur bruit. Ainsi chaque pixel de notre matrice contiendra un capteur ainsi qu'un système d'amplification. Le signal issu du capteur peut être collecté soit en mode courant soit en mode intégration.

Dans le mode intégration, la photodiode comporte un interrupteur dont le but est d'initialiser la diode en mode inverse à une tension initiale, ce qui fixe la tension aux bornes de la capacité de la diode polarisée en inverse. Une fois l'interrupteur ouvert, et sous l'action du courant photonique, la capacité de diode inverse tend à se décharger. Pour connaître le niveau de signal reçu par la photodiode, une tension qu'on va appeler V1 est mesurée après l'ouverture de l'interrupteur, puis on intègre pendant un temps t durant l'exposition à la lumière de la diode, après l'exposition le signal V2 est obtenu, le signal utile sera la différence V1-V2.

Dans le mode courant, la génération des photoélectrons crée un courant inverse dans la diode. Il suffit ensuite de mesurer ce dernier afin d'obtenir une information sur la quantité de lumière qui arrive sur le pixel.
Vu que notre courant est assez important et que l'information est instantanée, le mode courant correspond mieux à notre application.
Les transistors de charge opèrent en faible inversion, ce qui permet d'avoir une grande dynamique.
Le signal à la sortie du pixel doit être isolé ou amplifié en cas de faible variation du courant.
Afin de diminuer la consommation et de réduire le nombre de transistors, la source de courant de l'amplificateur et le transistor de charge du buffer respectivement seront mutualisés.
Une fois la matrice conçue, son adressage s'impose. L'adressage est une fonctionnalité « numérique ». Le décodeur d'adressage doit être capable, à partir d'un code numérique sur 4 bits de pointer sur une ligne donnée.
Cette fonctionnalité est générée par des portes logiques qui constituent chaque élément du circuit de lecture.
Les entrées du décodeur seront gérées par un compteur ou une entrée manuelle. La valeur du compteur sera visible par l'utilisateur via un bus d'entrée/sortie. Afin de lire finalement l'information avant de la traiter par un système numérique, un multiplexeur analogique sera placé à la sortie de la matrice. Après avoir testé le schéma final de la puce, nous avons dessiné son Layout à l'aide de Cadence avec la technologie AMS CMOS Opto 0.35 µm. Le Layout a été testé avec les fonctions proposées par Cadence (DRC, ERC, LVS) et envoyé en fabrication chez AMS en passant par le consortium CMP.

Dans le troisième chapitre, nous avons présenté à la caractérisation de la puce. Nous avons tout d'abord validé le fonctionnement de la partie numérique en mode lecture et en mode écriture, en envoyant un signal d'horloge sur la puce en mesurant les signaux à la sortie dans l'obscurité et avec de la lumière. Nous avons ensuite procéder à l'ensemble des caractérisations. La première consiste à déterminer expérimentalement la réponse logarithmique du pixel en fonction de la puissance lumineuse. Nous avons éclairé le capteur et nous avons mesuré le courant photonique ainsi que la différence de potentiel aux bornes des transistors opérant en faible inversion. La deuxième est une caractérisation électrique ; elle consiste à déterminer la fonction de transfert $V_{DS} = f(V_{DS})$ de ces transistors. Les résultats de mesures sont comparables aux résultats de simulation. La dernière caractérisation consiste à mesurer la sensibilité du capteur par rapport à la lumière transmise à travers des solutions colorées de différentes concentrations. Pour ce faire nous avons préparé des solutions colorées à plusieurs concentrations. L'absorption de ses solutions, qui est proportionnelle à la concentration, a été tout d'abord mesurée avec le spectromètre, et ensuite nous avons mesuré la concentration avec notre capteur optique. D'après les résultats de mesures, nous avons réussi à démontrer que notre capteur optique peut mesurer de très faibles variations de couleur par rapport au spectromètre, même celle invisible l'œil nu.

Notre puce colorimétrique est à présent totalement testée, l'étape suivante serait de fabriquer le système micro-fluidique adapté et des solutions de tests biologiques pour la validation de l'utilisation des capteurs colorimétriques en détection d'allergènes.

V- ANNEXES

1 FIGURES

Figure 1 - Principe d'un capteur colorimétrique intégré pour la détection d'allergènes 12
Figure 2 – Système antigène_anticorps 18
Figure 3 - Schéma de la méthode ELISA 20
Figure 4 - Schéma d'étapes de la méthode ELISA compétitive 21
Figure 5 - Schéma d'étapes de la méthode ELISA sandwich 21
Figure 6 - Effet luminescence 23
Figure 7 - Etapes de réalisation d'un système micro-fluidique par la technologie douce 29
Figure 8 - En « C » exemple d'une liaison covalente 31
Figure 9 - (a) L'écoulement laminaire est illustré en traçant les vecteurs vitesses aux différents points d'un fluide. (b) Les lignes de courant dans un écoulement laminaire autour d'un obstacle et (c) dans un conduit. Sur la photo de gauche on a un modèle de fluide turbulent sous l'effet de la boule intégrée dedans [22] 33
Figure 10 - Exemple d'un micro mélangeur utilisant un gradient de pression 34
Figure 11 - Modèle de micro-mélangeur à pression perturbatrice [26] 34
Figure 12 - Exemple d'un micro-mixeur Electro-hydrodynamique [27] 35
Figure 13-1 phénomène d'électromouillage [30-1] 35
Figure 14 - Exemple d'une séparation de micromolécule en micro-fluidique. DEP : Dielectrophoretic a) positive (pDEP). b) négative (nDEP) ce qui influence les cellules mises à l'intérieur d'un champ. c) Exemple de système micro fluidique déjà utilisé avec un diélectrophorétique. [31] 36
Figure 15 - Exemple de micro-mélangeur électrocinétique [32] 36
Figure 16 - Micro-mélangeur acoustique [33] 37
Figure 17 - Canal serpentin en micro fluidique [34] 38
Figure 18 : Chevron [36] 39
Figure 19 - Schéma présentant une plaque de micro-puits sous pointe 40
Figure 20 - Porte MOS pour silicium dopé p 41
Figure 21 - Illumination d'une photo site et création de trous 42
Figure 22 - Mécanisme de transfert de charge 42
Figure 23 - CCD plein cadre 43
Figure 24 - CCD interligne 43
Figure 25 –– a) Coupe d'un transistor avec une technologie NMOS b) Coupe d'un transistor avec une technologie PMOS ; c) Coupe d'un transistor avec la technologie à double caisson 44
Figure 26 – Symbole d'une photo diode 45
Figure 27 - Coefficient d'absorption du silicium en fonction de la longueur d'onde 46
Figure 28 - Diode en mode intégration de charge 47
Figure 29 - Schéma du détecteur 48
Figure 30 - Modélisation du capteur à double jonctions 48

Figure 31 - Schéma électrique du capteur à double jonction enterrée 49
Figure 32 - Le rapport des courants en fonction de la longueur d'onde pour un capteur réalisé dans une technologie CMOS 1µm de ES2 49
Figure 33 : Test ELISA par pression 51
Figure 34: smartphone pour détection d'allergènes 52
Figure 35: Biopuce pour séquencer l'ADN 52
Figure 36 - Matrice APS avec adressage direct (X, Y) 4×4; CDJ : capteur à double jonctions enterrées ; G : gain 56
Figure 37 - Représentation bloc du pixel 57
Figure 38 - Coupe verticale du BDJ 58
Figure 39- Diode en mode intégration charge Figure 40- Réponse du pixel en mode intégration de 58
Figure 41 - Capteur en mode intégration 59
Figure 42 - Réponse temporelle en mode intégration de la première jonction 60
Figure 43 - Photodiode en mode courant avec une résistance comme élément de lecture 60
Figure 44 - Caractéristique de transfert d'un transistor NMOS en faible inversion et en forte inversion 61
Figure 45 - Caractéristique de transfert d'un transistor NMOS en micro inversion, en faible inversion et en forte inversion en échelle Lin/Log 62
Figure 46 - Schéma électrique du capteur APS en mode courant 62
Figure 47 - Schéma cadence du capteur mode courant 63
Figure 48 - Dynamique du transistor PMOS avec L en paramètre sur la figure de gauche (avec W = 50µm) et W en paramètre sur la figure de droite (avec L = 0,35µm) 63
Figure 49 - Dynamique du transistor NMOS avec L en paramètre sur la figure de gauche (avec W = 50 µm) et W en paramètre sur la Figure de droite (avec L = 2 µm) 64
Figure 50 - Réponse de la deuxième jonction du capteur en fonction des courants des deux jonctions 64
Figure 51 - Réponse de la première jonction capteur en fonction des courants des deux jonctions 65
Figure 52 - Temps de réponse de la deuxième jonction à gauche et temps de réponse de la première jonction du capteur à droite. 67
Figure 53 - Structure générale du capteur en mode courant ainsi que les amplificateurs de type source commune et source suiveuse 68
Figure 54 - Schéma d'un amplificateur à base d'un transistor MOS en source commune. 69
Figure 55 - Schéma équivalent de la source commune en petits signaux alternatifs. 69
Figure 56 - Schéma équivalent de la source commune en basse fréquence 70
Figure 57 - Evolution de la sortie de l'amplificateur en fonction de la tension d'entrée 70
Figure 58 - Capteur avec deux transistors cascadés en faible inversion 71
Figure 59 - Sortie analyse DC du amplificateur de la deuxième jonction. 71
Figure 60 - Diagramme de Bode de l'amplificateur avec une capa de 1pf (analyse en alternatif AC) 72

Figure 61 - Temps de réponse de la source commune à gauche avec charge et à droite sans charge. En rouge le signal d'entrée et en noir le signal de sortie. 73
Figure 62 - Schéma électrique de la source commune 73
Figure 63 - Evolution du bruit en sortie de la source commune en fonction de la fréquence 74
Figure 64 - Schéma du suiveur NMOS 75
Figure 65 - Schéma équivalent en petits signaux du suiveur NMOS 75
Figure 66 - Analyse DC du suiveur NMOS pour différentes valeurs de W et L 76
Figure 67 - Graphe représentant en analyse DC la sortie du buffer de la deuxième jonction. 77
Figure 68 – Analyse AC du suiveur NMOS 78
Figure 69 - Temps de réponse du suiveur. En rouge le signal d'entrée et en noir le signal de sortie. 78
Figure 70 - Schéma électrique du suiveur 79
Figure 71 - Schéma équivalent petit signaux en bruit du suiveur 79
Figure 72 - Résultat du bruit à la sortie du suiveur en fonction de la fréquence 80
Figure 73 - Mode courant avec les deux structures d'amplification 81
Figure 74 - Schéma bloc du pixel APS 81
Figure 75 - Architecture générale du système d'adressage de la puce 82
Figure 76 – Réponse de la simulation de l'interrupteur en transitoire 86
Figure 77 – variation du bruit des interrupteurs en fonction de la fréquence 86
Figure 78 - L'emplacement des interrupteurs dans un pixel de la matrice 4x4 87
Figure 79 - Emplacement des interrupteurs dans la matrice 88
Figure 80 - Décodeur 2 vers 4 89
Figure 81 - Chronogramme du décodeur (analyse en verilog) 89
Figure 82 - Schéma du compteur 1 bit. 90
Figure 83 - Schéma du compteur 2 bits. 90
Figure 84 - Chronogramme du compteur (analyse en Verilog). 91
Figure 85 - Schéma bloc d'un composant entrée / sortie avec un compteur et un décodeur 91
Figure 86 - Schéma bloc du multiplexeur 92
Figure 87 - Chronogramme de multiplexeur 93
Figure 88 - Structure de détection du temps de réponse en un point de fonctionnement sur une seule jonction. 94
Figure 89 - Modélisation du BDJ avec les transistors de lecture 94
Figure 90 – Plage dynamique d'un transistor en faible inversion : 1. Limite inférieure : fin de la micro inversion. 2. Milieu de la faible inversion. 3. Limite supérieure: début de la forte inversion. 95
Figure 91 - Temps de réponse des jonctions avec une variation des deux courants 96
Figure 92 -Temps de réponse I_1 petit et I_2 au milieu de la dynamique 97
Figure 93 - Temps de réponse des jonctions avec une variation des deux courants 98
Figure 94 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 et I_2 au milieu de la dynamique du capteur 99
Figure 95 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 au milieu de la dynamique du capteur et I_2 grand 100

Figure 96 - Temps de réponse des jonctions avec I_1 grand et I_2 grand 101
Figure 97 – Graphe représentant une simulation de process et de température en temporelle pour la deuxième et la première jonction du capteur au milieu de la faible inversion..... 102
Figure 98 - Architecture générale d'un pixel de la puce 103
Figure 99 - Layout du circuit 104
Figure 100 - Sortie de la matrice..... 108
Figure 101 - Microphotographie du circuit réalisé dans une technologie CMOS 0,35µm..... 109
Figure 102 - Photographie du banc de test de la caractérisation avec le spectrophotomètre..... 115
Figure 103 - Caractéristique de P= f(V) 116
Figure 104 – Photographie du boitier comprenant de PCB ainsi que la puce 117
Figure 105 - Caractérisation du capteur en fonction de l'éclairement 118
Figure 106 - Câblage des structures des tests 119
Figure 107 - Réponse de la première jonction du pixel des différentes puces testées..... 119
Figure 108 - Réponse de la deuxième jonction du pixel des différentes puces testées 120
Figure 109 - Architecture du photodécteur..... 121
Figure 110 – Caractéristique V = f(I) pour les quatre puces des deux jonctions du pixel. Puce1:rouge; Puce2 : vert; Puce3 : Bleu et Puce8 : noir..... 122
Figure 111 - Architecture du transistor P opérant en faible inversion..... 122
Figure 112 - Caractéristique de la sortie du transistor PMOS opérant en faible inversion avec Vpbias = 1 V Rouge : Puce_1 Mesure1 à Mesure 12 ; Bleu : Puce_2 Mesure1 à Mesure 10 ; Cyan : Puce_3 Mesure 1 Magenta : Puce_8 Mesure 1 ; + Noir : Simulation..... 123
Figure 113 - Caractéristique de la sortie du transistor PMOS en zone de faible inversion 124
Figure 114 - Architecture du transistor NMOS 124
Figure 115 - Caractéristique de la sortie du transistor NMOS opérant en faible inversion avec Vnbias = 1V. Rouge : Puce_2 Mesure1 à Mesure 4 ; Bleu: Puce_3 Mesure1 à Mesure 2 ; Vert : Puce_8 Mesure 1..... 125
Figure 116 - Caractéristique de la sortie du transistor NMOS en zone de faible inversion 126
Figure 117 - Photographie de l'ensemble solutions à tester..... 127
Figure 118 – Echantillons de test avec Hextril..... 128
Figure 119 - Echantillons de test avec colorant vert..... 128
Figure 120 - Photographie du banc de caractérisation colorimétrique 129
Figure 121 - Photographie du micro tube positionné au-dessus du capteur 129
Figure 122 - Résultats du spectromètre avec l'Hextril 130
Figure 123 - Caractéristique du rapport I2/I1 en fonction de concentration..... 131
Figure 124 - Caractéristique de la moyenne du rapport I2/I1 en fonction de la concentration .. 131
Figure 125 - Résultats du spectromètre avec le colorant vert..... 132
Figure 126 - Caractéristique du rapport I_2/I_1 en fonction de la concentration..... 132
Figure 127 - Caractéristique du rapport I_2/I_1 en fonction de la concentration en échelle semi-log 133
Figure 128 - Représentation de la bio-puce..... 135

2 Tableaux

Tableau 1 - Comparaison entre la fabrication douce et la fabrication dure 30
Tableau 2 : Différents micro-mélangeurs et leurs spécificités 39
Tableau 3 - Paramètres du transistor PMOS opérant en faible inversion pour la conversion du courant en tension pour la deuxième jonction 65
Tableau 4 - Paramètre du transistor NMOS opérant en faible inversion pour la conversion du courant en tension pour la première jonction. 66
Tableau 5 - Différentes positions du point de fonctionnement étudiées 95
Tableau 6 - Temps de réponse du pixel avec un faible I_1 et un faible I_2 96
Tableau 7 - Temps de réponse du pixel avec I_1 petit et I_2 en milieu de courbe 97
Tableau 8- Temps de réponse du pixel avec I_1 petit et I_2 grand 98
Tableau 9 - Temps de réponse du pixel avec I_1 et I_2 au milieu de la dynamique 99
Tableau 10 - Temps de réponse du pixel avec I_1 au milieu de la dynamique du capteur et I_2 grand 100
Tableau 11 - Temps de réponse du pixel avec I_1 grand et I_2 grand 101
Tableau 12 - Différents blocs du pixel avec leurs consommations (Simulation) 102
Tableau 13 : Les courants des différents pixels de la puce 107

VI Références bibliographiques

[1] Liu Ling, JiShu-juan, Bai Bing, Jiang Dong-hue, "Research Progress of Bioassay Technology in Food Detection", New Technology of Agricultural Engineering, 2011 International conference on

[2] Gaëlle Le Goff "Immobilisation de biomolécules pour l'analyse multiparamétrique sur

biopuces. Application au génotypage érythrocytaire haut-débit", Université Claude Bernard – Lyon I, 2011.

[3] A. Gouvêa, A.T.Pereira, A.C. Pimentel, D.MF. prazeres, V.Chu, J.P.Conde, "Colorimetric detection of molecular recognition reactions with an enzyme biolabel using a thin-film amorphous silicon photodiode on a glass substrate", Sensors and Actuators B 135 (2008) 102-107

[4] A.T.Pereira, A. C Pimental, V.Chu, Member, IEEE, D. M F. Prazeres, and J. P. Conde "Chemiluminescent Detection of Horseradish Peroxidase Using an integrated amorphous silicon Thin-Film Photosensor" ; IEEE SENSORS JOURNAL, VOL. 9, NO. 10, OCTOBRE 2009

[5] Yves Dordet, "la colorimétrie principes et applications". Ed Eyrolles, 1990

[6] Mohamed Ben Chouikha, "Développement de détecteurs de couleur ans des technologies standard de CI (CMOS et BiCMOS) : Application à la réalisation de capteurs intégrés pour l'imagerie électronique et l'instrumentation", UPMC, 1999

[7] G. M. Whitesides, "The origins and the future of microfluidics", *Nature, July* **2006**, *442*, 368-373.

[8] Peiyuan HE, "Conception et réalisation d'un système microfluidique pour le production de gouttes calibrées et leur encapsulation ", Université de technologie de Compiegne, Année 2009

[9] Bruno Teste, "Développement d'un microsystème bioanalytique intégrant des nanoparticules magnétiques dédié au diagnostic de l'allergie", UPMC, Le 14 Juin 2011

[10] Imen Kacem, "Textiles à activité biologique via le greffage par plasma et l'immobilisation de molécules bioactives", Université de Lille 1, Année 2012

[11] Suman Chakraborty, "Microfluidics and Microscale Transport Processes", CRC Press Taylor & Francis, Année 2013

[12] Yann Roig, "Microfluidique supercritique réactivité chimique et germination – croissance de nanocristaux", Université Sciences et Technologies - Bordeaux I, Année 2012

[13] Patrick Tabeling " Introduction à la microfluidique ", Ed. Belin, Octobre 2003

[14] Gavin MacBeathand Stuart L.Schreiber "Printing Proteins as Micro assays for High-Throughput Function Determination", Vol. 289 no. 5485, pp. 1760-1763, Science 2000

[15] Fuentes, M., Segura, R., Abian, O., et al. "stabilization of protein-protein interaction by specific crosslink with aldehyde-dextran". Proteomics 9, 2602-2607, (2004)

[16] Betancor, L., F., Lopez-Gallego, Hidalgo, A., et al. "Prevention of interaction inactivation of enzymes by coating the enzyme surface with dextran-aldehyde". J. Biotechnol., 110, 201-207, (2004)

[17] J-L Raimbault, Introduction à la physique des Plasmas, Cours Master 1 Physique Appliquée et Mécanique. Université Paris-Sud 11, 2010-2011.

[18] Mahsa Ghasemi, "Immobilisation de la trypsine sur un support de polyéthylène fonctionnalisé par voie plasma", UPMC, Année 2007

[19] Joanell V Hoijer , Tsung-Hui K Jou "Procedes d'immobilisation d'oligonucleotides sur des materieux de support et procedes d'utilisation des oligonucleotides fixes auxdits support" Brevet CA 2207629 A1, 27 Juin 1996

[20] A. Ajdari, C. R. Physique 5 (2004).

[21] Nathalie Tarchichi, « Microfluidique diphasique accordable »,UFC,2013

[22] Consultez le lien: http://physique.vije.net/BTS/index.php?page=fluides4

[23] Nam-Trung Nguyen and Zhigang Wu, "Micromixers", journal of Micromechanics and miroengineering, 2005

[24] La micro fluidique ou l'art de manipuler des petits volumes de liquides, CLEFS CEA – N°52 – ETE 2005

[25] Rémy Fulcrand, "Etude et développement d'une plateforme microfluidique dédiée à des applications biologiques Intégration d'un actionneur magnétique sur substrat souple", Le 20 novembre 2009

[26] Chengxin Zhang, Xi Kang, Xingguo Xiong, Shuyang Zhang, "Design and Simulation of a Three-way Microfluidic Mixer based on Pressure Disturbance", Department of Electrical Engineering, University of Bridgeport, April 27-28, 2012

[27] C. Tsouris, C. T. Culbertson, D. W. DePaoli, S. C. Jacobson, V. F. de Almeida, and J.M. Ramsey, "Electrohydrodynamic Mixing in Microchannels", Department of Electrical Engineering, AIChE Journal, Vol. 49, No. 8, August 2003

[28] R. Chabreyrie, D. Chang, K. Hwang, I. Glasgow, A. Goullet, M. Janjua, S. Lieber, S. Nudurupati, K. Uguz, "Mixing in microfluidics", Electrohydrodynamic Microfluidic Group

[29] La micro fluidique ou l'art de manipuler des petits volumes de liquides, CLEFS CEA – N°52 – ETE 2005

[30] Vijay Srinivasan, Vamsee K. Pamula and Richard B.Fair, "An integrated digital microfluidic lab-on-a-chip for clinical diagnostics on human physiological fluids", Departement of Electrical Engineering, Duke University, 130 Hudson Hall, Durham, NC-27708, First published as an Advance Article on the web 26th May 2004

[30-1] Consultez le lien : http://scienceetconscience.wordpress.com/tag/electromouillage/

[31] Gossett et al., "Label-free cell separation and sorting in microfluidic systems.", Anal Bioanal, 2010. 397(8): p. 3249-67, Chem 2010

[32] Ching-Te Kuo, Cheng-Hsien Liu, "A novel microfluidic driver via AC electro kinetics", Lab Chip, 2008

[33] Consultez le lien: http://www.elveflow.com/microfluidic-reviews-and-tutorials/microfluidic-mixers-a-short-review

[34] Helen Song, Joshua D. Tice, and Rustem F. Ismagilov "A Microfluidic System for Controlling Reaction Networks in Time",Angewandte chemie, Ed 2003

[35] Thangawng, Abel L., et al. "A simple sheath-flow microfluidic device for micro/nanomanufacturing: fabrication of hydrodynamically shaped polymer fibers." Lab on a Chip 9.21 (2009): 3126-3130.

[36] Visitez : http://www.ppsm.ens- cachan.fr/version- francaise/themes- de-recherche/detection-d-especes-polluantes-par-fluorescence-92271.kjsp

[37] MEHRABAN KHOSRAVIANI, ANDREY R. PAVLOV, GEORGE C. FLOWERS, AND DIANE A. BLAKE, "Detection of Heavy Metals by Immunoassay: Optimization and Validation of a Rapid, Portable Assay for Ionic Cadmium", *Environ. Sci. Technol.*, 1998, 32 (1), pp 137–142

[38] BEN CHOUIKHA M., VIÉNOT F., LU G.N., "Colorimetric characterization of a buried triple p-n junction photo- detector.Displays", vol.19, n°:30, pp. 105-110, 1998.

[39] Yujun Song1, Yuanqing Zhang1 , Paul E. Bernard1, James M. Reuben, Naoto T. Ueno, Ralph B. Arlinghaus5, Youli Zu6 & Lidong Qin1 "Multiplexed volumetric bar-chart chip for point-of-care diagnostics", Nature communications, 18 Dec 2012

[40] Visitez : http://www.nutraceuticalsworld.com/contents/view_online-exclusives/2013-02-04/itube-smart-sizes-lab-quality-food-allergy-detection/

[41] Ichiro Yamashita Paolo Fiorini, "A Lab-on-Chip System for direct SNP sensing from human blood", Panasonic ideas for life, 2013

[42] David J, Comer, Senior Member and Donald T.Comer, "Operation of analog MOS circuits In the Weak or Moderate Inversion Region", IEEE Trans. On Elect, Vol. 47, NO. 4, NOVEMBER 2004

[43] G.Reimbold and P.Gentil, "White Noise of MOS Transistors Operating in Weak Inversion", IEEE Trans. On Electron Devices, Vol. ED-29, NO11, NOVEMBRE 1982

[44] Klisnick Geoffroy, "Etude et réalisation en technologie CMOS de circuits d'acquisition de signaux analogiques", 1999

[45] Gabriel Vasilescu "Bruit et signaux parasites", Edition Dunod, 21 mai 1999

[46] Visitez le lien : http://www.ladhyx.polytechnique.fr/accueil/la-recherche/hydrodynamique-aux-interfaces-microfluidique-et-particules/microfluidique-micro-ecoulements-confines/microfluidique-et-micro-ecoulements-confines-3597.kjsp

Standard Cell Databook AMS.