



**HAL**  
open science

# Nanosystèmes électromécaniques pour la biodétection : intégration d'un moyen de transduction et stratégies de biofonctionnalisation

Denis Dezest

► **To cite this version:**

Denis Dezest. Nanosystèmes électromécaniques pour la biodétection : intégration d'un moyen de transduction et stratégies de biofonctionnalisation. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. INSA de Toulouse, 2015. Français. NNT : 2015ISAT0034 . tel-01261599v2

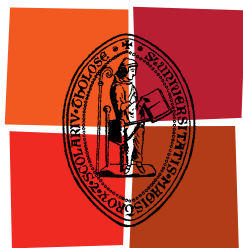
**HAL Id: tel-01261599**

**<https://theses.hal.science/tel-01261599v2>**

Submitted on 26 Jun 2017

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

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



Université  
de Toulouse

# THÈSE

En vue de l'obtention du

## DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National des Sciences Appliquées de Toulouse (INSA de Toulouse)

---

**Présentée et soutenue par :**

**Denis DEZEST**

Le lundi 16 novembre 2015

**Titre :**

Nanosystèmes électromécaniques pour la biodétection : intégration d'un  
moyen de transduction et stratégies de biofonctionnalisation

---

ED GEET : Micro et Nanosystèmes

**Unité de recherche :**

Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes (UPR 8001)

**Directeur(s) de Thèse :**

Docteur Liviu NICU

Docteur Thierry LEICHLE

**Rapporteurs :**

Docteur Sébastien HENTZ

Docteur Alain BOSSEBOEUF

**Autre(s) membre(s) du jury :**

Professeur Jérémie GRISOLIA - Examineur

Docteur Rose-Marie SAUVAGE - Examineur

Docteur Anthony AYARI - Examineur



*Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait  
sur la route de la découverte.*

Louis Pasteur



# Remerciements

---

Ces quatre années de thèse furent une expérience scientifique particulièrement riche et intense, et resteront avant tout une exceptionnelle aventure humaine grâce au concours d'un certain nombre de personnes que je tiens sincèrement à remercier en leur dédiant ce manuscrit.

Mes premières pensées vont bien entendu à mes encadrants. Liviu, Thierry, je ne saurai jamais comment vous témoigner toute ma gratitude pour la confiance que vous m'avez accordée tout au long de ces années, pour les différentes opportunités de collaboration et les multiples projets auxquels vous m'avez permis de contribuer, ainsi que pour votre soutien indéfectible aussi bien dans les meilleurs moments que dans les phases de doute et de frustration où vous avez toujours su trouver les mots justes et rester source de motivation et force de proposition. Je souhaite également exprimer toute ma reconnaissance à Fabrice, Bernard et Olivier, mes mentors. Vous n' imaginez pas à quel point j'ai pu apprendre à vos côtés et comme je vous suis infiniment redevable de m'avoir tant apporté. A vous tous, merci pour votre présence et votre disponibilité, merci pour la richesse de nos échanges tant sur le plan professionnel que personnel, merci de m'avoir permis d'évoluer humainement et scientifiquement.

Je tiens également à remercier chaleureusement Dr. Rose-Marie Sauvage, Prof. Jérémie Grisolia, Dr. Anthony Ayari, et tout particulièrement mes deux rapporteurs Dr. Sébastien Hentz et Dr. Alain Bosseboeuf, pour m'avoir fait l'honneur d'accepter de faire partie de mon jury de thèse et d'évaluer ces travaux, ainsi que pour avoir permis par la pertinence de leurs remarques et de leurs suggestions d'améliorer la qualité de ce manuscrit.

Parce que ces travaux sont avant tout le fruit d'un travail d'équipe, un grand MERCI à toutes les personnes ayant contribué à l'avancement de ce projet, et sans l'aide desquelles cette thèse ne serait pas ce qu'elle est aujourd'hui. Pour l'aspect fabrication et l'environnement salle blanche au sens large, je remercie donc le « touTEAM » et particulièrement Laurent, Adrian, Boubou, Pierre-François, Aurélie, Rémi, Fabien, David, Eric, Lucile, Bernard, Ludovic, Samuel, Emmanuelle, Thierry, Christine, Monique, Vinciane, Jean-Baptiste, Benjamin et Franck. Pour les aspects caractérisation et la qualité de l'environnement de travail associé, merci aux membres du service I2C, Charline, Sandrine, Nicolas, Alexandre, Laurent, Christian et Xavier.

Bien sûr, ces travaux ont pu être réalisés grâce au cadre épanouissant et aux excellentes conditions de travail au quotidien au sein du LAAS, et en particulier au sein de l'équipe NanoBioSystèmes. Je garde une pensée spéciale pour la *dream team* des anciens Sven, Samuel et Florent, collègues et avant tout amis avec qui tout a démarré, et dont la force d'action pouvait déplacer des montagnes, ou du moins sortir du 7b les jours de grande forme et si la réserve de

Prince était suffisante. Un grand merci à eux sans oublier Maëva, Mimoz et Jonjon. Je tiens également à remercier Aliko, Laurène, crazy Didi, Jonathan et Florian pour tous ces bons moments passés aussi bien au labo qu'en dehors, et enfin merci à Yingning, Adhitya, Aude, Raphaël, Hélène, Maxime, Cécile, et Sabrina pour avoir contribué à la bonne ambiance générale au sein de l'équipe.

J'aimerais également remercier le Professeur Karsten Haupt de l'université technologique de Compiègne, pour m'avoir accueilli à de multiples reprises au sein de son groupe de recherche, pour m'avoir transmis le virus de l'impression moléculaire, ainsi que pour sa disponibilité et son extrême gentillesse. Merci également à tous les gens du groupe GEC avec qui j'ai eu le plaisir de travailler ou simplement de partager d'agréables moments : Bernadette, Sofia, Zeynep, Maria, Frank, Yi, Jacqueline, Paolo, et sans oublier bien sûr les autres visiteuses de passage Leena et Yoli.

Finalement mes pensées vont à mes proches : à ma famille pour son soutien sans faille tout au long de ces années et pour ces valeurs qui m'ont été transmises ; à toi Pattamon, ma force, mon équilibre, toi qui m'accompagnes au quotidien à travers les épreuves, dans les moments de joie et de doutes. Merci d'être celle que tu es et d'avoir fait de moi ce que je suis aujourd'hui. Cet accomplissement, c'est d'abord à toi que je le dois.

Ces travaux de recherche ont été soutenus financièrement par le ministère de la défense – Direction Générale de l'Armement et par l'Agence Nationale de la Recherche (contrat ANR-08-NANO-015).

# Table des matières

---

Liste des figures	V
Liste des tableaux	IX
Liste des acronymes et des abréviations	XI

## **Introduction générale**

**1**

### **Chapitre 1 – Les BioNEMS : contexte, définitions et enjeux**

1.1 Introduction aux systèmes électromécaniques : des MEMS vers les NEMS .....	3
1.2 Introduction aux biocapteurs .....	6
1.2.1 Définition.....	6
1.2.2 Domaines d'application .....	7
1.3 Les bioNEMS .....	9
1.3.1 Modes d'opération.....	9
1.3.1.1 Mode statique .....	9
1.3.1.2 Mode dynamique.....	10
1.4 Principaux défis des bioNEMS.....	12
1.4.1 Diminution du temps de réponse .....	12
1.4.2 Intégration d'un moyen de transduction et fabrication grande échelle .....	13
1.4.3 Fonctionnalisation et multiplexage .....	14
1.5 Cadre de ces travaux de thèse.....	15
Bibliographie .....	16

### **Chapitre 2 – Intégration d'un moyen de transduction piézoélectrique**

2.1 Introduction .....	19
2.2 Généralités mécaniques .....	21
2.2.1 Vibration libre et non amortie : détermination des fréquences naturelles .....	21
2.2.1.1 Cas d'un levier monocouche .....	21
2.2.1.2 Cas d'un levier avec un empilement multicouche.....	26
2.2.2 Vibration forcée et amortie : modèle équivalent à un degré de liberté.....	28
2.2.3 Fonction de transfert mécanique .....	31



2.2.4 Facteur de qualité .....	33
2.3 Aperçu des différentes méthodes de transduction .....	34
2.3.1 Actionnement thermoélastique .....	34
2.3.2 Détection piézorésistive .....	35
2.3.3 Détection optique.....	36
2.3.4 Transduction magnétostatique .....	37
2.3.5 Transduction capacitive.....	37
2.3.6 Transduction par couche diélectrique .....	40
2.3.7 Transduction piézoélectrique.....	42
2.3.8 Comparatif des techniques de transduction .....	45
2.4 Contexte et objectifs de ces travaux .....	46
2.5 Design et modèle.....	48
2.6 Procédé de fabrication.....	50
2.7 Caractérisations électriques.....	53
2.8 Setup expérimental.....	56
2.9 Evaluation de l'intégrité mécanique des dispositifs.....	58
2.10 Calibration par le bruit thermomécanique.....	60
2.11 Evaluation de l'actionnement intégré.....	63
2.12 Evaluation de la détection intégrée.....	67
2.13 Conclusions et perspectives.....	70
Bibliographie .....	71

### Chapitre 3 – Biofonctionnalisation de NEMS par microcontact printing

3.1 Introduction .....	77
3.2 Le microcontact printing ( $\mu$ CP) .....	78
3.2.1 Une technique de lithographie douce.....	78
3.2.2 Exemples de réalisations .....	80
3.2.3 Principe .....	84
3.2.4 Le PDMS : un matériau de choix.....	86
3.2.5 Avantages et limitations.....	87
3.3 Contexte et objectifs de ces travaux.....	92
3.4 Etudes préliminaires .....	93
3.4.1 Aspects mécaniques liés au dimensionnement des leviers .....	93
3.4.2 Dimensionnement des timbres.....	97
3.5 Procédés de fabrication .....	98
3.5.1 Réalisation des leviers NEMS.....	98
3.5.2 Réalisation du moule maître.....	100
3.5.3 Réalisation des timbres en PDMS.....	101
3.6 Résultats expérimentaux et discussions .....	104
3.6.1 Matériel et méthodes.....	104
3.6.2 Validation de la localisation du dépôt.....	105
3.6.3 Validation de l'activité biologique .....	109
3.6.4 Validation de l'intégrité mécanique.....	112

---

3.7 Conclusions et perspectives.....	114
Bibliographie .....	115

## **Chapitre 4 – Intégration d’un MIP sur des résonateurs NEMS : résultats préliminaires**

4.1 Introduction .....	121
4.2 Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs) .....	122
4.2.1 Introduction et historique .....	122
4.2.2 L’impression moléculaire.....	124
4.2.2.1 Principe général.....	124
4.2.2.2 Stratégie d’impression non covalente.....	125
4.2.2.3 Stratégie d’impression covalente.....	126
4.2.3 Rôle des différents constituants .....	127
4.2.3.1 Les monomères fonctionnels .....	127
4.2.3.2 L’agent réticulant.....	127
4.2.3.3 L’amorceur.....	128
4.2.3.3 Le solvant.....	128
4.2.4 Stratégies de développement et d’optimisation de formulations.....	129
4.2.5 Processus de polymérisation .....	130
4.2.6 Avantages et limitations.....	131
4.2.7 Formes physiques, applications et stratégies d’intégration.....	133
4.3 Contexte et objectifs de ces travaux.....	136
4.4 Matériel et méthodes.....	137
4.5 Synthèse et validation du MIP D-L-Phe.....	139
4.5.1 Caractérisations préliminaires du D-L-Phe.....	139
4.5.2 Formulation du MIP D-L-Phe .....	140
4.5.3 Essais de structuration par photolithographie .....	141
4.5.4 Caractérisations de la morphologie.....	144
4.5.5 Validation de la formulation .....	145
4.5.6 Bilan des résultats obtenus .....	148
4.6 Intégration du MIP D-L-Phe sur des leviers NEMS.....	148
4.6.1 Approche envisagée .....	148
4.6.2 Evaluation de la stabilité du MIP face au HF .....	149
4.6.3 Design .....	151
4.6.4 Procédé de fabrication .....	154
4.6.5 Bilan des résultats obtenus.....	156
4.7 Evaluation de l’intégrité mécanique des leviers et essais de détection .....	157
4.8 Conclusions et perspectives.....	160
Bibliographie .....	162

<b>Conclusion générale</b>	<b>167</b>
----------------------------	------------



# Liste des figures

---

1.1 Prévisions concernant le marché des MEMS pour l'horizon 2014-2020.....	3
1.2 Evolution du nombre de publications scientifiques relatives aux activités de recherche dans le domaine des NEMS entre 2001 et 2014 .....	4
1.3 Chronologie des principaux travaux ayant contribué à repousser la limite de détection massique des NEMS.....	5
1.4 Architecture d'un biocapteur .....	6
1.5 Principaux domaines d'intérêt des dispositifs de biodétection.....	8
1.6 Principe du mode d'opération statique .....	10
1.7 Principe du mode d'opération dynamique.....	11
1.8 Temps d'accumulation de molécules d'ADN par un capteur hémisphérique .....	12
1.9 Stratégie d'intégration grande échelle de NEMS .....	14
2.1 Représentation schématique d'une poutre encastree-libre (levier).....	21
2.2 Déformées modales normalisées d'un levier.....	24
2.3 Représentation schématique d'un levier avec un empilement multicouche .....	26
2.4 Modèle équivalent à un degré de liberté d'un levier au voisinage d'un mode de résonance donné pour deux configurations de forçage .....	30
2.5 Module et phase de la fonction de transfert d'un résonateur en régime de vibration forcée et amortie .....	33
2.6 Géométrie d'un levier en configuration d'actionnement électrostatique.....	38
2.7 Géométrie d'un levier en configuration d'actionnement par couche diélectrique.....	40
2.8 Comparaison des efficacités de transduction des méthodes piézoélectriques, diélectriques et capacitives .....	46
2.9 Représentation schématique des deux configurations d'empilement piézoélectrique prévues dans le design.....	49
2.10 Description synthétique et représentation schématique des différentes étapes du procédé de fabrication des nanoleviers .....	52
2.11 Images optiques et images MEB des dispositifs NEMS réalisés .....	53
2.12 Caractérisations d'impédance et modèle électrique équivalent.....	54
2.13 Représentations schématiques du dispositif expérimental.....	58
2.14 Comparaison des fréquences de résonance fondamentales expérimentales et théoriques.....	59
2.15 Exemple de mesure sous vide et à température ambiante de la densité spectrale de tension associée au bruit thermomécanique .....	62

2.16 Réponses fréquentielles d'un levier mesurées sous vide et à pression atmosphérique pour différentes tensions d'actionnement.....	64
2.17 Représentation schématique du système électromécanique sous forme de fonctions de transfert.....	67
2.18 Principe du schéma de détection implémenté et synoptique du principe de fonctionnement de l'électronique de détection.....	68
3.1 Exemples de réalisations obtenues par lithographie douce .....	79
3.2 Liste non exhaustive de techniques de lithographie douce.....	80
3.3 Démonstration du potentiel d'utilisation du microcontact printing dans la réalisation de biopuces à ADN.....	81
3.4 Application du microcontact printing à la réalisation de réseaux de protéines.....	82
3.5 Application du microcontact printing à l'étude de comportements cellulaires.....	83
3.6 Illustration schématique du procédé de microcontact printing.....	84
3.7 Conformité du contact entre un timbre et un substrat.....	85
3.8 Schémas des paramètres géométriques des motifs d'un timbre en PDMS et d'éventuels problèmes de distorsion .....	89
3.9 Influence du transfert de résidus non réticulés de PDMS sur la qualité du dépôt d'oligonucléotides par microcontact printing .....	90
3.10 Exemples de différentes stratégies permettant de réaliser des dépôts multiplexés par microcontact printing.....	91
3.11 Schéma de principe de la technique de microcontact printing double-niveau envisagée pour la fonctionnalisation de nanoleviers libérés.....	93
3.12 Géométrie d'un levier faisant apparaître les notations caractéristiques et l'empilement multicouche considéré.....	94
3.13 Géométrie d'un timbre faisant apparaître les notations caractéristiques .....	98
3.14 Principales étapes de fabrication des leviers NEMS.....	99
3.15 Images MEB du réseau grande échelle de leviers NEMS en silicium réalisé.....	99
3.16 Principales étapes de fabrication du moule maître en silicium.....	100
3.17 Réaction de silanisation conduisant à la formation d'une monocouche auto assemblée de molécules d'OTS à la surface d'un substrat en silicium.....	101
3.18 Représentation des structures chimiques de la base et de l'agent réticulant de la formulation commerciale du PDMS Sylgard® 184.....	102
3.19 Schéma du dispositif artisanal de moulage dédié à la fabrication des timbres.....	103
3.20 Images et schéma du dispositif d'alignement utilisé pour la réalisation des dépôts par microcontact printing sur des leviers libérés .....	105
3.21 Schémas du procédé de fonctionnalisation des nanoleviers.....	107
3.22 Réseau de nanoleviers biofonctionnalisés et passivés par microcontact printing double-niveau.....	108
3.23 Validation de l'activité biologique des sondes par microscopie en fluorescence.....	111
3.24 Fréquences de résonance mesurées pour un nanolevier du réseau de l'échantillon test.....	112

---

4.1 Approche d'impression covalente au sein de polymères organiques .....	123
4.2 Principe de l'impression moléculaire (approche non covalente).....	125
4.3 Représentation schématique de la distribution hétérogène des sites de reconnaissance au sein d'un MIP synthétisé selon une approche d'impression non covalente.....	126
4.4 Représentation schématique du mécanisme de la polymérisation radicalaire libre .....	131
4.5 Illustration de différents formats de MIPs .....	134
4.6 Différentes méthodes de structuration permettant de localiser un film mince de MIP à la surface d'un transducteur.....	135
4.7 Spectres d'excitation et d'émission de fluorescence d'une solution test de D-L-Phe à 100 $\mu\text{M}$ dans de l'acétonitrile et d'une solution de contrôle.....	140
4.8 Images optiques de motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie en mode contact à la surface d'un échantillon en silicium silanisé.....	142
4.9 Images MEB des mêmes motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie.....	143
4.10 Images AFM de la morphologie de motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie .....	145
4.11 Images et intensités de fluorescence de motifs circulaires de MIP et de NIP (250 $\mu\text{m}$ de diamètre) au cours des cycles d'extraction et d'interaction avec le D-L-Phe à 10 $\mu\text{M}$ .....	147
4.12 Images et intensités de fluorescence de matrices de motifs circulaires de MIP et de NIP (15 $\mu\text{m}$ de diamètre) au cours des cycles d'extraction et d'interaction avec le D-L-Phe à 10 $\mu\text{M}$ .....	147
4.13 Principales étapes de l'approche de fonctionnalisation « process-compatible » de nanoleviers avec une couche de MIP .....	149
4.14 Images optiques des motifs circulaires de MIP avant et après immersion dans une solution d'HF tamponné pendant 30 min.....	150
4.15 Evaluation de l'intégrité des capacités de reconnaissance de motifs de MIP de 250 $\mu\text{m}$ de diamètre et de 15 $\mu\text{m}$ de diamètre après immersion dans une solution d'HF tamponné pendant 30 min pour la détection du D-L-Phe.....	151
4.16 Géométrie d'un levier faisant apparaître les notations caractéristiques et l'empilement bicouche considéré .....	151
4.17 Illustration des deux configurations implémentées dans le design.....	153
4.18 Images MEB de premiers résultats d'intégration de couches de MIP et de NIP à la surface de nanoleviers .....	156
4.19 Résultats de caractérisations gravimétriques réalisées à l'issue du procédé de fabrication .....	158
4.20 Résultats des essais de détection du D-L-Phe obtenus en microscopie en fluorescence .....	159



# Liste des tableaux

---

2.1 Valeurs des différentes constantes matériau utilisées pour les calculs numériques.....	50
2.2 Valeurs des différents paramètres du modèle équivalent proposé modélisant la Réponse électrique des différents dispositifs .....	55
2.3 Résultats obtenus à partir des mesures expérimentales et du modèle par éléments finis pour 6 leviers de même géométrie mais avec différentes dimensions.....	66
3.1 Principales propriétés du PDMS.....	87
3.2 Estimations théoriques des différents paramètres d'un levier tri-couches .....	96
3.3 Valeurs moyennes du décalage de fréquence de résonance, d'ajout de masse et de chute du facteur de qualité calculées à partir des mesures réalisées sur seize nanoleviers de l'échantillon test, à l'issue des étapes de fonctionnalisation, de passivation et d'incubation de l'anticorps spécifique.....	113
4.1 Résumé des avantages et limitations des MIPs.....	133
4.2 Structures chimiques des différents composés utilisés dans ces travaux .....	138
4.3 Proportions des différents réactifs utilisés dans la formulation du MIP D-L-Phe.....	141





# Liste des acronymes et des abréviations

---

<b>2,4-D</b>	Acide 2,4-dichlorophénoxyacétique	<b>FRP</b>	Polymérisation radicalaire libre
<b>2,4-DNT</b>	2,4-dinitrotoluène	<b>HEMA</b>	2-hydroxyéthyl méthacrylate
<b>4-VP</b>	4-vinylpyridine	<b>HPLC</b>	Chromatographie en phase liquide à haute performance
<b>αCP</b>	Impression par contact avec affinité	<b>IgG</b>	Immunoglobuline G
<b>μCP</b>	Microimpression par contact	<b>LOD</b>	Limite de détection
<b>μSL</b>	Microstéréolithographie	<b>MAA</b>	Acide méthacrylique
<b>μTM</b>	Moulage par microtransfert	<b>MEMS</b>	Microsystèmes électromécaniques
<b>ADC</b>	Convertisseur analogique-numérique	<b>MIMIC</b>	Micromoulage dans des capillaires
<b>ADN</b>	Acide désoxyribonucléique	<b>MIP</b>	Polymère à empreintes moléculaires
<b>ACN</b>	Acétonitrile	<b>NEMS</b>	Nanosystèmes électromécaniques
<b>AIBN</b>	Azobisisobutyronitrile	<b>NIP</b>	Polymère non imprimé
<b>APTES</b>	(3-aminopropyl)triéthoxysilane	<b>NIL</b>	Lithographie par nanoimpression
<b>Boc-L-Phe</b>	N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phénylalanine	<b>nTP</b>	Impression par nanotransfert
<b>BSA</b>	Albumine de sérum bovin	<b>OLED</b>	Diode électroluminescente organique
<b>CEA</b>	2-carboxyéthyl acrylate	<b>PBS</b>	Tampon phosphate salin
<b>CLRP</b>	Polymérisation radicalaire contrôlée/vivante	<b>PDMS</b>	Polydiméthylsiloxane
<b>DAC</b>	Convertisseur numérique-analogique	<b>PEG</b>	Polyéthylène glycol
<b>DDS</b>	Synthétiseur numérique direct	<b>PETIA</b>	Triacrylate de pentaérythritol
<b>Diglyme</b>	Diméthyl éther de l'éthylène glycol	<b>PVAc</b>	Polyacétate de vinyle
<b>D-L-Phe</b>	Dansyl-L-phénylalanine	<b>POAc</b>	Acide phénoxyacétique
<b>DMMP</b>	Méthylphosphonate de diméthyle	<b>SAM</b>	Monocouche auto-assemblée
<b>DPAP</b>	2,2-diméthoxy-2-phénylacétophénone	<b>SAMIM</b>	Moulage par microcontact assisté par solvant
<b>DVB</b>	Divinylbenzène	<b>SOI</b>	Silicium-sur-isolant
<b>EDMA</b>	Diméthacrylate d'éthylène glycol	<b>SFIL</b>	Lithographie par impression "step and flash"
<b>ELISA</b>	Dosage d'immunoabsorption par enzyme liée	<b>TNT</b>	Trinitrotoluène
<b>FDTS</b>	Perfluorodécyltrichlorosilane	<b>USB</b>	Bus universel en série



# Introduction générale

---

Apparus dans les années 70, les MicroSystèmes ElectroMécaniques (MEMS) sont aujourd'hui largement présents dans notre quotidien à travers une large gamme de produits grand public : objets connectés, *smartphones*, vidéoprojecteurs, dispositifs de géolocalisation, ... La course à la miniaturisation en microélectronique et les progrès réalisés dans le domaine des nanotechnologies ont permis l'émergence dans les années 2000 de nouveaux dispositifs de dimensions plus réduites : les NanoSystèmes ElectroMécaniques (NEMS). Le passage de la micro à la nano-échelle a permis une amélioration significative des performances de ces dispositifs, ouvrant ainsi la voie à de nouvelles perspectives applicatives allant du biomédical à l'étude de phénomènes quantiques. Avec des sensibilités accrues et des limites de détection pouvant atteindre le yoctogramme ( $10^{-24}$  g), les NEMS apparaissent comme des candidats particulièrement prometteurs pour des applications de biodétection ultra-sensible et sans marquage. Au-delà des critères de performance, d'autres problématiques liées à l'intégration du transducteur, à l'intégration de la couche bioréceptrice, et à la mise en œuvre de stratégies visant à rendre ces dispositifs compatibles en termes de temps de réponse et d'environnement d'opération avec des conditions pratiques d'utilisation, n'ont que très peu été adressées. Ces aspects constituent à l'heure actuelle autant de défis à relever afin de pouvoir exploiter pleinement le potentiel des NEMS, et envisager de manière réaliste leur utilisation comme outils de biodétection.

Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons adressé particulièrement deux limitations majeures : l'intégration d'un moyen de transduction et le développement de stratégies de fonctionnalisation adaptés à des réseaux grande échelle de NEMS de type nanoleviers. Pour répondre à la première problématique, l'intégration d'une couche piézoélectrique à base de Titano- Zirconate de Plomb (PZT) a ainsi été mise en œuvre selon une approche de fabrication collective des résonateurs et à l'échelle du wafer. Deux méthodes de fonctionnalisation ont ensuite été proposées pour répondre à la seconde problématique. Une première méthode de fonctionnalisation post-fabrication s'appuyant sur une technique de lithographie douce a ainsi été étudiée et mise en œuvre avec le dépôt de matériel biologique à la surface de nanoleviers. La seconde méthode proposée permet d'envisager une intégration « process-compatible » de la couche sensible, *i.e.* avant libération des dispositifs, grâce à l'utilisation de polymères à empreintes moléculaires (MIPs) et via une structuration par photolithographie.

Le premier chapitre de ce manuscrit constitue une brève introduction au contexte et à la problématique de ces travaux de thèse. Les enjeux de la transition du micro au nano dans le domaine des systèmes électromécaniques, ainsi que les différents verrous associés au développement des NEMS pour la biodétection sont en particulier présentés.

Le second chapitre de cette thèse est dédié à l'intégration d'un moyen de transduction au sein de résonateurs NEMS. Après une première partie consacrée à la description de certaines généralités mécaniques, un état de l'art des principales techniques de transduction couramment mises en œuvre dans le domaine des NEMS est présenté. Les étapes du procédé technologique d'intégration d'une couche piézoélectrique à base de PZT au sein de nanoleviers sont ensuite détaillées. L'intégrité mécanique et électrique des dispositifs à l'issue du procédé de fabrication est évaluée grâce à des caractérisations d'impédance et à des caractérisations dynamiques sous vide. Les capacités d'actionnement du film piézoélectrique intégré sont ensuite rapportées, ainsi qu'une estimation du coefficient piézoélectrique obtenue à partir des données expérimentales couplées avec un modèle par éléments finis. Les difficultés relatives à la détection des charges générées en vue de la détection des oscillations des leviers sont enfin discutées, et des perspectives d'améliorations sont proposées.

Le troisième chapitre de cette thèse adresse la problématique de fonctionnalisation de réseaux grande échelle de NEMS. La méthode proposée s'appuie sur une version modifiée de la technique de microcontact printing, présentée en détails dans une première partie. La pertinence de cette méthode dans le cadre de la problématique est ensuite évaluée avec la fonctionnalisation et la passivation en une seule étape d'un réseau dense de nanoleviers. Des caractérisations en fluorescence et des caractérisations dynamiques sont réalisées afin de valider la préservation de l'intégrité mécanique des dispositifs ainsi que l'activité biologique des molécules déposées.

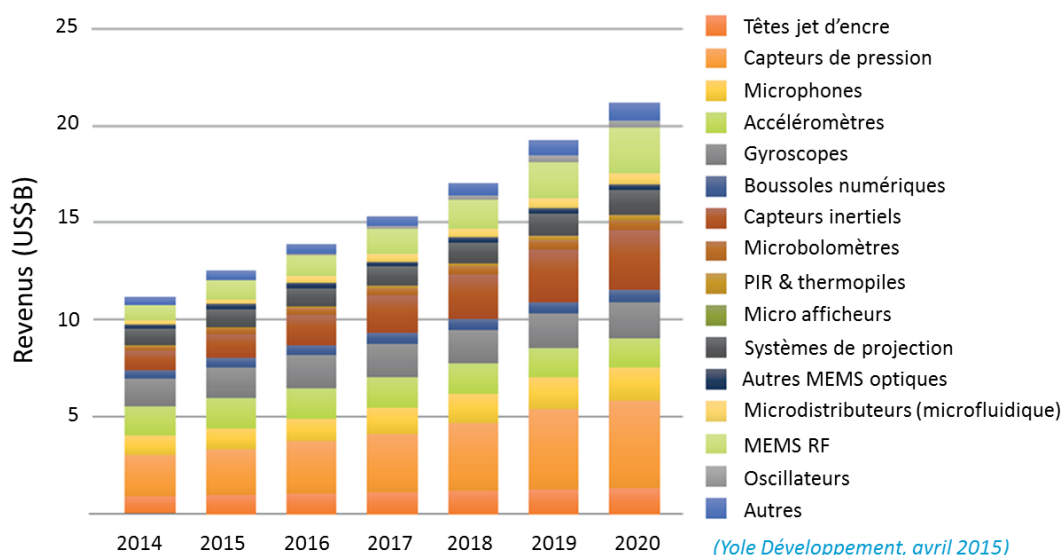
Le quatrième et dernier chapitre adresse également la problématique de fonctionnalisation, avec des résultats préliminaires relatifs à l'intégration d'une couche bioréceptrice à base de MIPs à la surface de résonateurs NEMS. Une introduction générale à l'impression moléculaire et aux avantages liés à l'utilisation de ce type de biorécepteur en comparaison avec du matériel biologique est d'abord présentée. La faisabilité de structuration de la couche polymérique à la surface de résonateur NEMS par photolithographie, et avant libération des structures, est ensuite examinée. La fonctionnalité de la couche sensible déposée et l'intégrité mécanique des dispositifs sont enfin évalués par des caractérisations en fluorescence et des caractérisations dynamiques.

# 1

## Les BioNEMS : contexte, définitions et enjeux

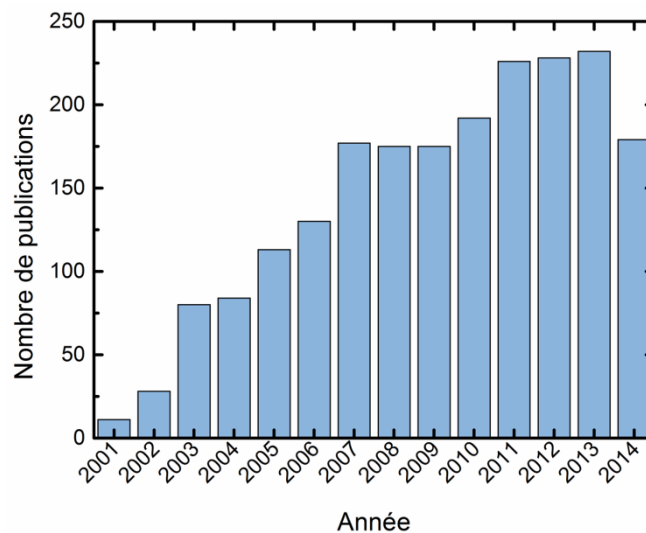
### 1.1 Introduction aux systèmes électromécaniques : des MEMS vers les NEMS

Avec un marché de près de 11 milliards de dollars en 2014 et évalué à plus de 20 milliards de dollars d'ici l'horizon 2020, les MicroSystèmes ElectroMécaniques (MEMS) constituent un secteur en plein essor avec une croissance à deux chiffres. Apparus dans les années 70-80, les MEMS sont aujourd'hui largement présents dans notre quotidien à travers une large gamme de produits commerciaux : les matrices de micro-miroirs à la base des vidéoprojecteurs DLP (*Digital Light Processing*) [1], les gyroscopes vibrants équipant les systèmes de correction électronique de trajectoire (ESP) dans l'automobile [2], les commutateurs RF [3] et optiques [4] présents au sein d'équipements de télécommunications, les accéléromètres présents depuis les années 90 dans les circuits intégrés déclencheurs d'airbags commercialisés par Analog Devices [5] et que l'on retrouve également dans des produits grand public comme les *smartphones*, tablettes, consoles de jeu ou encore au sein des objets « connectés ».



**Figure 1.1** Prévisions concernant le marché des MEMS pour l'horizon 2014-2020 (Yole Développement, adapté d'après [6]).

Les systèmes électromécaniques sont constitués de quatre « briques » de base : un élément mécanique, un transducteur, une électronique et un conditionnement. La structure mécanique mobile (*e.g.* poutre, membrane, ...) détermine la fonctionnalité du système. Pour des MEMS, ses dimensions typiques se situent dans une gamme allant de quelques micromètres au millimètre. Le mouvement mécanique de la structure est actionné/déteecté à l'aide d'un transducteur, dont le rôle est de convertir une énergie électrique en énergie mécanique et *vice-versa*. Une électronique intégrée assure l'alimentation ainsi que la génération, l'amplification et le traitement des signaux indispensables au bon fonctionnement du système. Ce dernier est enfin généralement conditionné d'une manière répondant aux besoins de l'application. Le développement des MEMS a profité des mêmes technologies de fabrication planaires que celles développées dans l'industrie de la microélectronique pour la réalisation des circuits intégrés. Avec les progrès réalisés dans le domaine des nanotechnologies, et grâce notamment aux travaux pionniers menés par deux équipes américaines respectivement dirigées par les Professeurs H. G. Craighead [7] et M. L. Roukes [8], les années 2000 ont connu l'émergence de dispositifs de dimensions typiquement sub-micrométriques : les NanoSystèmes ElectroMécaniques (NEMS).

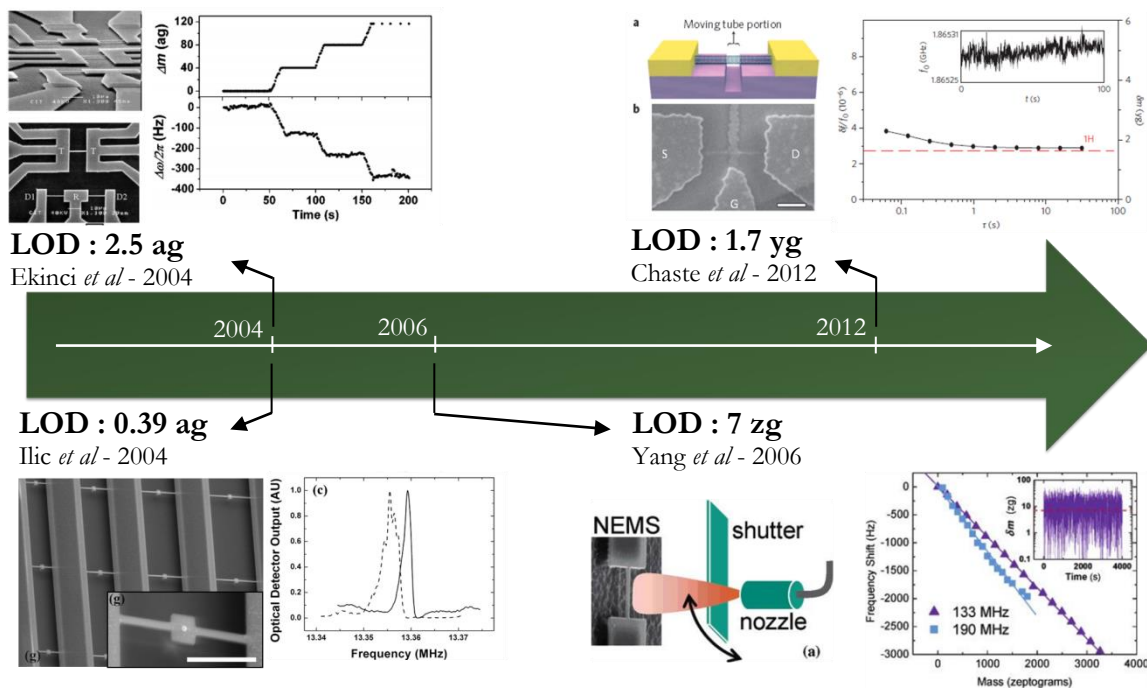


**Figure 1.2** Evolution du nombre de publications scientifiques relatives aux activités de recherche dans le domaine des NEMS entre 2001 et 2014 (Source : interrogation de la base de données du site Web Of Science Thomson Reuters avec comme mot-clé : NEMS).

Si les NEMS sont la continuité logique des MEMS dans un contexte de miniaturisation, la transition du micro au nano présente également de nombreux avantages [9]. Quand la dimension caractéristique d'un dispositif est réduite d'un facteur  $10^3$  (*e.g.* passage du  $\mu\text{m}$  au  $\text{nm}$ ), la surface diminue d'un facteur  $10^6$  tandis que le volume décroît selon un facteur  $10^9$ . La conséquence directe de cette augmentation du rapport surface/volume est une augmentation de la sensibilité du système vis-à-vis de perturbations extérieures. Avec des attributs sans précédents tels que des masses comprises dans la gamme  $10^{-18} - 10^{-15}$  g, des fréquences de résonance pouvant atteindre le domaine du gigahertz, et des facteurs de qualité sous vide typiquement de l'ordre  $10^3 - 10^4$ , les

NEMS ouvrent des perspectives d'application particulièrement prometteuses dans des domaines allant de la détection ultra-sensible de forces et de masses [10] [11], au développement de sondes de microscopie locale pour de l'acquisition d'images ultra-rapide [12], ou encore pour l'étude de phénomènes quantiques [13] [14].

Durant ces dix dernières années, les performances des NEMS en termes de masse minimum détectable ont été continuellement repoussées. En 2004, Ekinci *et al* [15] rapportent une limite de détection (LOD) de l'ordre de 2.5 ag (1 ag =  $10^{-18}$  g) pour un résonateur de type poutre bi-encastree en carbure de silicium soumis à un flux d'atomes d'or, avec un temps d'intégration de 2 ms. Le résonateur, de dimensions  $14.2 \mu\text{m} \times 670 \text{ nm} \times 259 \text{ nm}$  (longueur  $\times$  largeur  $\times$  hauteur), vibre selon une fréquence de résonance de 32.8 MHz avec un facteur de qualité de 3 000 dans un environnement sous ultra-vide et à température cryogénique (17 K). La même année, Ilic *et al* [16] passent sous la barre de l'attogramme grâce notamment à un facteur de qualité plus élevé (8 500). En 2006, un nouveau cap est franchi avec une LOD de 7 zg (1 zg =  $10^{-21}$  g), soit l'équivalent de 30 atomes de xénon, rapportée par Yang *et al* [17] via la réduction des dimensions du résonateur. Le record actuel est détenu par Chaste *et al* [18] avec une LOD de 1.7 yg (1 yg =  $10^{-24}$  g) soit l'équivalent de la masse d'un atome d'hydrogène. Cette prouesse a pu être réalisée en rassemblant l'ensemble des conditions favorables en termes de conditions de mesures, à savoir un environnement sous ultra-vide ( $10^{-11}$  mbar) et avec une température cryogénique (4.2 K) afin de minimiser la dissipation et les fluctuations fréquentielles, mais aussi grâce à l'utilisation d'un nanotube de carbone comme structure mécanique (longueur : 150 nm, diamètre : 1.7 nm) vibrant à une fréquence de 2 GHz.



**Figure 1.3** Chronologie des principaux travaux ayant contribué à repousser la limite de détection massique des NEMS.

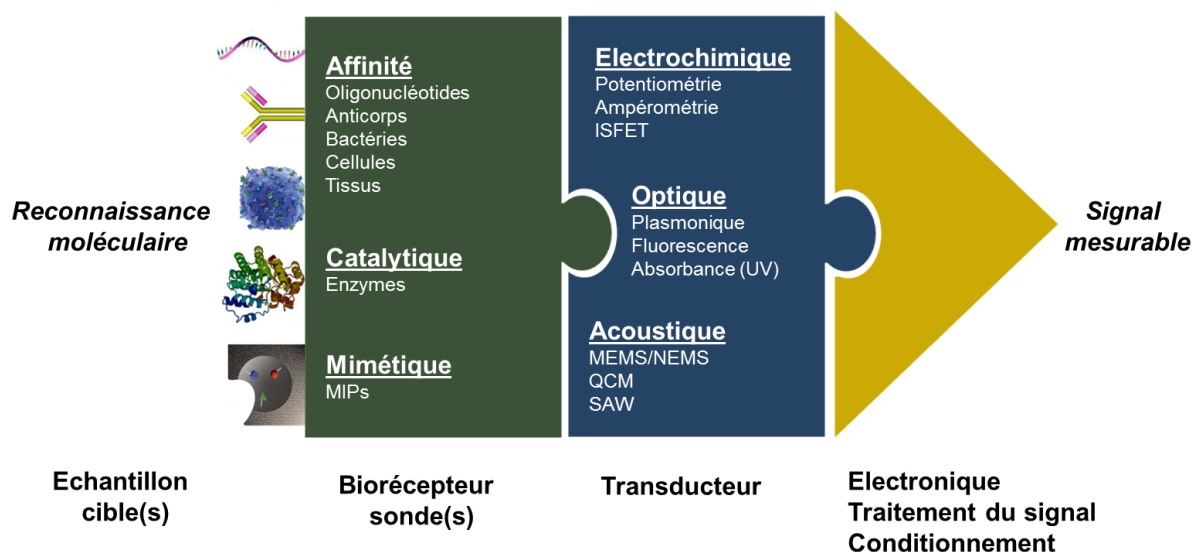


## 1.2 Introduction aux biocapteurs

La biodétection désigne le processus visant à détecter et à quantifier une ou plusieurs espèces biologiques « cibles » présentes au sein d'un environnement. Il existe principalement deux formats de biodétection : les biopuces et les biocapteurs. Si le format biopuce est largement répandu, seul le format biocapteur est présenté ici.

### 1.2.1 Définition

Selon les recommandations de l'IUPAC (*International Union of Pure and Applied Chemistry*) de 1999, un biocapteur se définit comme « un dispositif autonome à récepteur et transducteur intégrés, capable de fournir une information analytique quantitative ou semi-quantitative sélective via un élément de reconnaissance biologique » [19]. L'architecture générale d'un biocapteur est schématisée figure 1.4. Elle comprend trois éléments principaux : un élément de reconnaissance, appelé biorécepteur (ou sonde) immobilisé à la surface d'un transducteur physico-chimique, et une partie regroupant les aspects électronique, traitement du signal et conditionnement.



**Figure 1.4** Architecture d'un biocapteur. Les différents acronymes utilisés sont les suivants : MIPs : *Molecularly Imprinted Polymers* ; ISFET : *Ion Sensitive Field Effect Transistor* ; MEMS/NEMS : *Micro/Nano ElectroMechanical Systems* ; QCM : *Quartz Crystal Microbalance* ; SAW : *Surface Acoustic Wave*.

Le rôle du biorécepteur est primordial puisqu'il garantit la **spécificité** de la détection, à savoir la reconnaissance par le biocapteur de la molécule cible. Dans la réalité, un échantillon d'analyse est un milieu complexe où la molécule à détecter est en présence d'une multitude d'autres espèces typiquement plus concentrées. Par exemple, le sérum sanguin contient environ 70 mg/ml de

protéines, et pourtant l'antigène prostatique spécifique (PSA) qui est actuellement le meilleur marqueur disponible pour la détection du cancer de la prostate est typiquement présent dans le sang à une concentration de 2 ng/ml [20]. Par conséquent, la **sélectivité**, à savoir la capacité du biorécepteur à pouvoir discriminer la molécule d'intérêt en présence d'autres molécules susceptibles d'interférer, est également un paramètre essentiel. En général, un compromis entre sélectivité et préparation préalable de l'échantillon est à trouver. Lorsque la cible est connue a priori, le choix de la couche sensible est essentiellement dicté par le degré d'affinité du biorécepteur avec l'espèce à détecter. Dans le cas contraire, l'utilisation combinée de plusieurs molécules sondes pouvant reconnaître spécifiquement certains groupements fonctionnels peut permettre d'identifier l'élément cible par le biais de sa signature chimique. D'autres aspects sont également essentiels dans le choix de la molécule sonde : la méthode de fonctionnalisation et la nature de son immobilisation à la surface du transducteur, sa capacité à être régénérée et à pouvoir réaliser de multiples interactions, ...

Le transducteur joue également un rôle essentiel dans la détection. Il permet de convertir l'information biologique associée à la reconnaissance de la cible par le biorécepteur en un signal physiquement mesurable, généralement une grandeur électrique. Une large variété de méthodes de transduction ont été développées, les plus populaires étant les méthodes électrochimiques (*e.g.* potentiométrie), optiques (*e.g.* fluorescence) et acoustiques (*e.g.* microbalance à quartz). Le choix de la méthode de transduction conditionne directement la **sensibilité** du biocapteur, à savoir l'ampleur de variation du signal physique généré (réponse du capteur) causée par un événement de reconnaissance biologique. La **limite de détection**, *i.e.* la plus petite variation de signal mesurable et discernable du bruit de mesure, constitue également un critère de performance dans le choix d'une méthode de transduction mais aussi de l'électronique associée pour une affinité sonde-cible optimale.

Davantage de détails concernant les différents types de biorécepteurs et des méthodes de transduction ont été rapportées dans [21].

## 1.2.2 Domaines d'application

Dans le domaine du biomédical, les techniques d'analyse immunologique existantes comprennent notamment la spectrométrie de masse, la spectrométrie de résonance magnétique nucléaire ou encore le test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*). Le test ELISA en particulier est largement répandu comme outil de diagnostic pour la détection et la quantification d'antigènes ou d'anticorps donnés au sein d'un échantillon [22]. Il s'agit d'un test immunologique dont le principe de détection repose sur un changement colorimétrique associé à la reconnaissance de l'antigène par des anticorps couplés à une enzyme ou un fluorophore. Cette technique bas coût et sensible ( $\sim 1$  pM) nécessite toutefois un temps total d'analyse pouvant aller de plusieurs heures à plusieurs jours, et requiert un marquage préalable des molécules pouvant affecter leurs propriétés biochimiques [23].

Le développement de nouveaux moyens de détection bas coûts, multi-cibles, avec une forte sensibilité et de faibles temps de réponse, et ne nécessitant que de faibles volumes réactionnels est

particulièrement pertinent dans le domaine du biomédical mais aussi dans de nombreux domaines d'applications tels que la défense, l'environnement et l'agroalimentaire (cf. figure 1.5). Des outils de criblage haut-débit sont d'un fort intérêt pour des applications pharmacologiques avec la recherche et le développement de nouveaux médicaments. La détection multi-cibles et en faible concentration permettrait d'identifier de façon plus précoce et avec davantage de certitude l'apparition de certaines maladies comme le cancer, qui pourraient être ainsi traitées plus efficacement. Le critère de miniaturisation permettrait également de développer des dispositifs de type *point-of-care*, ainsi que d'instruments portatifs utilisables directement sur le terrain que ce soit pour évaluer la contamination de l'eau d'une rivière, réaliser des contrôles sanitaires dans l'agroalimentaire ou encore équiper des fantassins en mission sur certains théâtres d'opération.



**Figure 1.5** Principaux domaines d'intérêt des dispositifs de biodétection.

Il existe à l'heure actuelle très peu de biocapteurs ayant franchi les frontières du laboratoire. Le plus grand succès commercial reste sans nul doute le capteur de glucose sanguin pour les personnes souffrant de diabète. Ce capteur est un dispositif portable basé sur une méthode de transduction électrochimique simple, vraisemblablement à l'origine de son succès. L'oxydation du glucose, catalysée par l'enzyme glucose oxydase, entraîne une variation de potentiel au niveau d'une électrode dont la mesure permet de déterminer la quantité de glucose en présence dans le volume de sang analysé. Il est intéressant de noter que bien que cette technologie ait été développée en 1962 par Clark et Lyons [24], les retombées bénéfiques de ces travaux pour le domaine public restent encore relativement récentes. Un autre biocapteur portable miniaturisé et multiplexé a également connu un succès commercial à grande échelle, notamment comme premier dispositif *point-of-care* : l'i-STAT [25]. Il combine plusieurs méthodes de transduction électrochimiques permettant de doser dans le sang du patient plusieurs électrolytes (sodium, potassium, calcium), gaz (oxygène, dioxyde de carbone) et autres molécules (urée, glucose, hématoците).

La majorité des biocapteurs commerciaux sont généralement de taille plus importante et destinés principalement aux laboratoires d'analyse et de recherche comme instruments de paillasse. On peut notamment citer le système Biacore (Biacore AB, Suède) basé sur une technique de transduction par résonance plasmonique de surface (SPR) [26], ainsi que le système QCM-D de microbalance à quartz avec suivi de dissipation (Q-Sense, Suède) [27] qui sont largement répandus. Ces plateformes de moyen coût ont pour avantages d'être sans marquage et d'offrir des sensibilités de  $\sim 1$  ng pour la QCM et de  $\sim 1$  pg pour la SPR. Aucune de ces techniques n'est toutefois véritablement adaptée à la détection multiplexée de plusieurs cibles en une seule analyse, même si depuis récemment Q-Sense propose dans sa dernière version d'instrument entièrement automatisé 8 chambres de réactions (Q-Sense Omega Auto).

### 1.3 Les bioNEMS

Les bioNEMS sont par définition des biocapteurs comportant un transducteur de nature électromécanique. Ce terme a néanmoins été largement étendu dans la littérature à une catégorie plus vaste de dispositifs dépourvus d'élément mécanique, comme des biocapteurs électrochimiques ou des systèmes micro/nano fluidiques. Dans la suite de cette section, nous limiterons cependant à la définition originale.

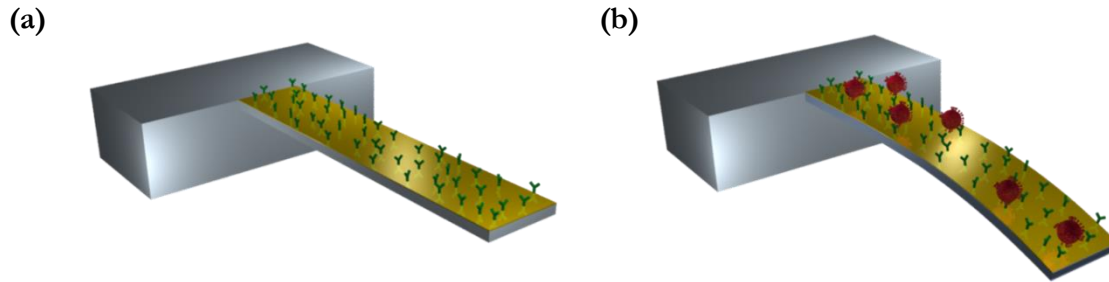
L'intérêt potentiel des bioNEMS comme outils de biodétection est multiple. Avec des performances de détection ultimes en termes de sensibilité et de limite de détection, un développement s'appuyant sur des technologies de fabrication directement issues du domaine de la micro-électronique, et offrant une détection en temps réel et sans marquage, il répond ainsi à de nombreux critères exigés pour le développement de nouveaux biocapteurs.

#### 1.3.1 Modes d'opération

Pour des applications de biodétection, les bioNEMS peuvent être opérés selon deux modes de fonctionnement : un mode statique et un mode dynamique.

##### 1.3.1.1 Mode statique

L'opération en mode statique repose sur la mesure de la déflexion transverse d'une structure mécanique sous l'effet d'une interaction biologique. Le principe est schématisé figure 1.6 pour une structure de type poutre encastrée-libre (*i.e.* levier). La surface supérieure du levier est fonctionnalisée de manière à présenter une couche sensible à l'analyte à détecter, tandis que la surface inférieure est rendue inerte par une passivation. L'adsorption préférentielle des molécules cibles au niveau de la surface fonctionnalisée engendre une différence de contraintes surfaciques entre les faces supérieure et inférieure du levier. Cette différence de contraintes est relaxée par une déformation inhomogène des deux surfaces induisant un moment de flexion à l'origine de la déflexion du levier.



**Figure 1.6** Principe du mode d'opération statique. (a) Surface fonctionnalisée d'un levier avant interaction. (b) Déflexion statique du levier résultant des contraintes induites à sa surface par l'interaction des molécules cibles avec la couche sensible.

Dans le cas d'un levier long et large (théorie des plaques), la relation de Stoney permet d'exprimer l'amplitude de déflexion  $u_t$  (en m) mesurée au niveau de l'extrémité libre du levier en fonction du différentiel des tensions de surface  $\Delta\sigma$  (en N/m) associé à l'interaction biologique selon [28]:

$$u_t = \frac{3(1-\nu)L^2}{Eh^2} \Delta\sigma \quad (1.1)$$

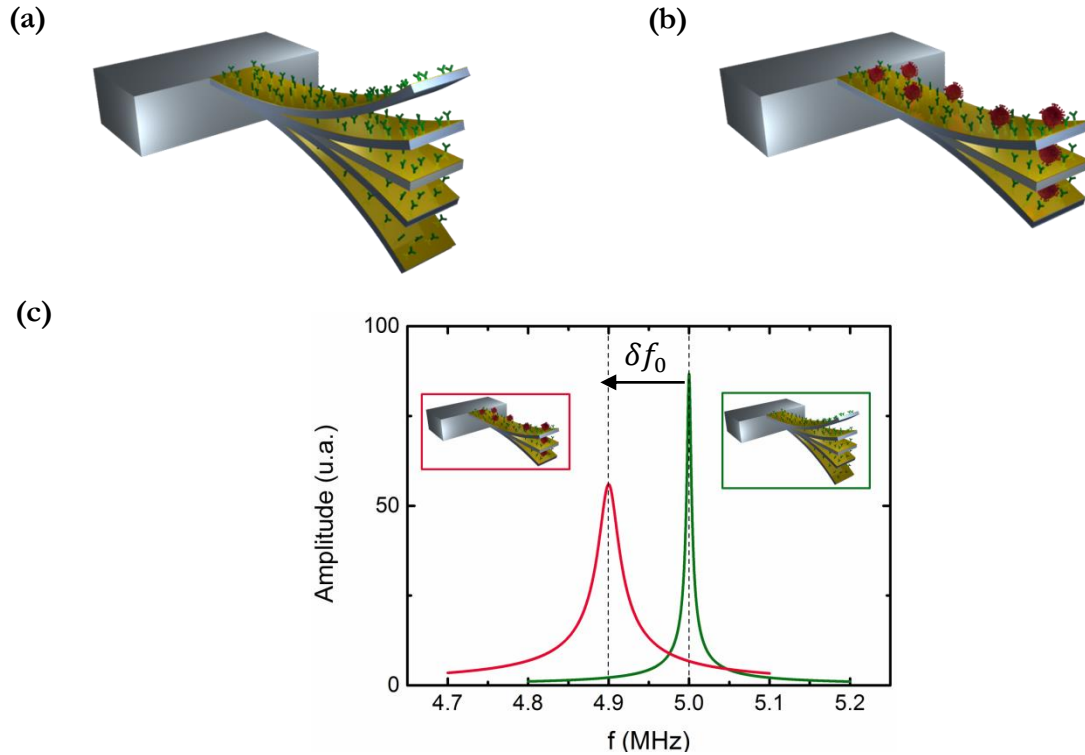
Où :  $\nu$ ,  $L$ ,  $h$  et  $E$  désignent respectivement le coefficient de Poisson (sans unité), la longueur (en m), l'épaisseur (en m) et le module d'élasticité (en Pa) du levier, et  $\Delta\sigma = \sigma^+ - \sigma^-$  où  $\sigma^+$  et  $\sigma^-$  désignent respectivement la tension de surface au niveau des faces supérieure et inférieure du levier (force par unité de largeur).

Contrairement au mode dynamique, l'avantage du mode statique est de n'être que très peu influencé par l'amortissement engendré par le milieu environnement. En revanche, la déflexion statique est généralement plus faible que pour une opération en mode dynamique. La déflexion du levier ne peut intervenir que dans le cas d'une adsorption sélective de l'analyte sur l'une des deux faces du levier, pour que la différence de contraintes induites ne soit pas compensée. L'intérêt d'utilisation du mode statique reste cependant limité pour des applications nécessitant une forte sensibilité, comme par exemple pour la détection de molécules uniques. De plus, la calibration de la déformation du levier par le biais de cette méthode est relativement difficile à mettre en œuvre afin d'obtenir des informations quantitatives sur la réaction biologique. Afin de contourner ces limitations inhérentes au mode de fonctionnement statique, la communauté scientifique s'est notamment tournée vers un mode d'opération dynamique.

### 1.3.2 Mode dynamique

Le mode dynamique repose sur le suivi de la fréquence de résonance de la structure en vibration. L'interaction de la molécule cible avec la surface fonctionnalisée de l'élément

mécanique entraîne un décalage de la fréquence de résonance résultant d'une variation de masse et/ou de raideur. (cf. figure 1.7).



**Figure 1.7** Principe du mode d'opération dynamique. Vibration du levier (a) avant interaction et (b) après interaction. (c) Décalage de la fréquence de résonance associé à l'ajout de masse.

La sensibilité massique théorique  $S_M$  (en Hz/kg) d'un résonateur opérant en mode dynamique et vibrant dans son mode fondamental de fréquence de résonance  $f_0$  (en Hz), en considérant uniquement un effet de masse ajouté tel que  $\delta M_{eff}$  (en kg) soit inférieur à la masse effective du levier  $M_{eff}$  (en kg), est donnée par la relation :

$$S_M = \frac{\delta f_0}{\delta M_{eff}} = -\frac{f_0}{2M_{eff}} \quad (1.2)$$

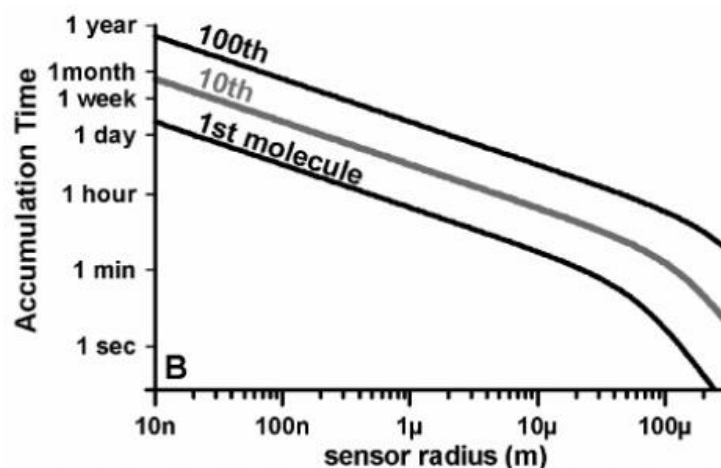
Cette relation met clairement en évidence l'intérêt de la miniaturisation dans l'amélioration de la sensibilité massique, avec une augmentation de la fréquence de résonance et une diminution de la masse du résonateur. L'intérêt majeur du mode dynamique est de bénéficier d'une amplification mécanique de sa déformation statique grâce à son facteur de qualité, permettant de résoudre de faibles décalages fréquentiels et donc de mesurer de faibles ajouts de masse.

## 1.4 Principaux défis des bioNEMS

En dépit de leur fort potentiel comme outils de biodétection, aucun exemple de biocapteur réellement fonctionnel à base de NEMS n'a encore été rapporté à ce jour. La réalité est que la prise en compte de l'ensemble des spécifications biologiques et technologiques complexifie de façon dantesque le développement de tels systèmes à la nano-échelle. Afin de pouvoir envisager l'utilisation des NEMS comme une alternative viable à leurs homologues micrométriques, ils doivent impérativement répondre à plusieurs critères dont notamment : (i) une grande sensibilité massique ; (ii) une faible masse minimum détectable et (iii) un faible temps de réponse.

### 1.4.1 Diminution du temps de réponse

Si les performances de détection des NEMS en termes de sensibilité et de limite de détection ne sont plus à démontrer, la miniaturisation de l'élément mécanique dégrade cependant le temps de réponse global du capteur limitant ainsi ses performances. En effet, la miniaturisation de la surface active diminue la probabilité de capture des molécules cibles en l'absence de moyens convectifs permettant de les diriger activement au niveau de la surface sensible, et conduit donc à une augmentation du temps de réponse. Sheehan et Whitman [29] ont ainsi notamment démontré de manière théorique que le transport purement diffusif d'une molécule d'ADN simple brin de 20 nucléotides (avec une constante de diffusion de  $150 \mu\text{m}^2/\text{s}$ ) à  $1 \text{ fM}$  de concentration à la surface d'un capteur nanométrique nécessiterait plusieurs heures, alors qu'il lui faudrait seulement plusieurs secondes pour atteindre un capteur de  $100 \mu\text{m}$  de diamètre. Cette étude illustre bien l'antagonisme entre le potentiel des NEMS comme outils de biodétection ultrasensibles et une dynamique de réponse incompatible avec des échelles de temps réalistes.



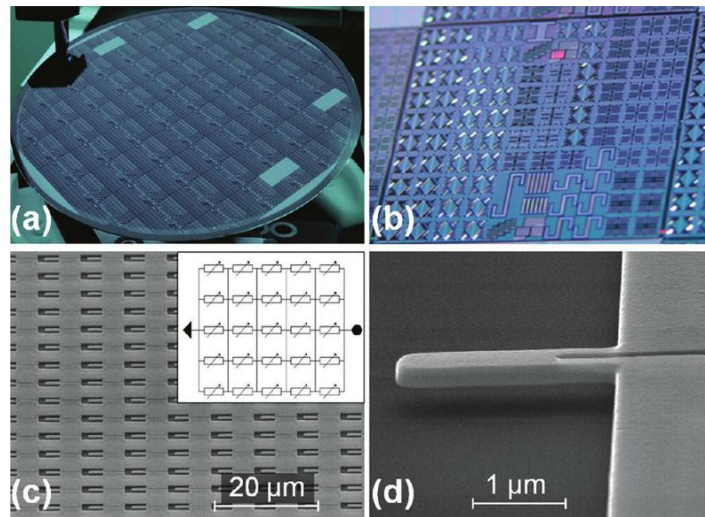
**Figure 1.8** Temps nécessaire à un capteur hémisphérique pour accumuler respectivement 1, 10 et 100 molécules d'ADN simple brin constituées de 20 nucléotides en régime purement diffusif et pour une concentration en solution de  $1 \text{ fM}$  (reproduit d'après [29]).

Une solution serait d'améliorer le transport de masse des molécules cibles, comme par exemple à l'aide d'un dispositif microfluidique. Toutefois, l'augmentation du débit ne conduit généralement pas à une amélioration significative de la probabilité de capture, à moins d'opter pour une stratégie de confinement de l'analyte en solution au voisinage du capteur via la réduction du volume de diffusion, *i.e.* via la réduction des dimensions du canal. Une autre stratégie classiquement mise en œuvre afin de contrecarrer l'effet négatif de la miniaturisation sur le temps de réponse du capteur, consiste à regrouper les structures NEMS individuelles en réseau, afin de démultiplier la surface active et ainsi augmenter la probabilité de capture de la cible, tout en conservant les performances de détection en termes de sensibilité et de limite de détection. Cependant pour que cette stratégie soit effective, les surfaces non actives de la puce doivent être passivées avec une molécule adaptée afin de limiter l'adsorption des molécules cibles présentes en faible concentration en dehors des zones d'intérêt.

### **1.4.2 Intégration d'un moyen de transduction et fabrication grande échelle**

La plupart des exemples rapportés dans la littérature concernant l'utilisation de NEMS comme capteurs de masse ultra-sensibles, reposent sur des résonateurs NEMS fabriqués individuellement selon des techniques séquentielles et sur des moyens de transduction non intégrés dont la taille excède largement les dimensions des dispositifs. Ces barrières constituent autant de limitations au développement de systèmes de détection bas coûts et portables. La mise en œuvre de moyens de fabrication collectifs et viables pour une production grande échelle, ainsi que le développement de méthodes de transduction intégrées, restent encore d'importants challenges à remporter. Cette problématique a notamment été récemment adressée par deux travaux rapportant respectivement l'utilisation de la lithographie *stencil* [30] et de la lithographie UV par projection [31]. Si ces techniques apparaissent comme potentiellement plus viables pour des perspectives d'industrialisation, l'approche de fabrication collective de NEMS à l'échelle du wafer reste néanmoins encore peu rapportée dans la littérature.





**Figure 1.9** Stratégie d'intégration grande échelle de NEMS (6 millions/cm<sup>2</sup>) avec un moyen de transduction électrothermique/piézorésistif pour la détection d'un agent simulant la menace : le diisopropyl methylphosphonate (DIMP). (a) Photographie du wafer 200 mm à partir duquel ont été réalisés les dispositifs. (b) Image optique d'une puce de 20 mm constituée de différents réseaux de nanostructures. (c) Image MEB d'un réseau de NEMS avec en encart la configuration série/parallèle mise en œuvre pour assurer le couplage électrique des différents résonateurs. (d) Image MEB d'un élément du réseau (reproduit d'après [31]).

### 1.4.3 Fonctionnalisation et multiplexage

L'un des problèmes majeurs limitant la percée de dispositifs NEMS pour des applications de biodétection reste l'aspect biofonctionnalisation du capteur, à savoir le greffage du biorécepteur au niveau de la surface active [32]. Si cette difficulté technique peut être aisément contournée dans le cadre d'une approche ascendante (*bottom-up*) avec la fonctionnalisation des nanostructures post-intégration au sein du dispositif final [33] [34], elle devient un réel problème dans le cadre d'une approche descendante (*top-down*) selon les méthodes classiques de micro et nanofabrication. En effet, la préservation de l'activité biologique de la couche sensible est généralement incompatible avec une fonctionnalisation pré-libération des structures. Par conséquent, l'accroche du biorécepteur doit être réalisée à l'issue de la fabrication, avec comme inconvénient la manipulation de structures mécaniques libérées et fragiles. La fonctionnalisation de réseaux grande échelle de NEMS suppose de pouvoir structurer la couche sensible selon des motifs localisés au niveau des surfaces actives. La méthode de fonctionnalisation *dip-and-dry* classiquement utilisée, qui consiste à incuber entièrement l'échantillon au sein de la solution contenant les molécules sondes, est inadaptée à la formation de motifs localisés [35]. Les outils de fonctionnalisation comme l'impression jet d'encre [36] ou la structuration par microcapillaires [37] sont soit inappropriés pour générer des motifs de dimensions sub-micrométriques, ou soit difficilement transposables au niveau de réseaux grande échelle de structures. Les robots de dépôt qui ont pourtant démontré leur effectivité dans la fonctionnalisation de résonateurs MEMS [38] sont difficilement utilisables en raison des forces capillaires susceptibles d'endommager les structures. D'autres technologies employées couramment pour la structuration de motifs

nanométriques comme la *miniaturized fountain pen* [39] ou la *dip-pen lithography* pourraient potentiellement adresser ce problème de fonctionnalisation de structures mécaniques fragiles, même si la réalisation de motifs à grande échelle semble difficile à mettre en œuvre en pratique.

## 1.5 Cadre de ces travaux de thèse

Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous nous sommes intéressés à l'ensemble de la chaîne de développement d'un bioNEMS : intégration du transducteur (chapitre 2), et biofonctionnalisation (chapitre 3 et 4), avec pour objectif de mettre en œuvre des moyens pertinents permettant de relever les défis associés à chacune de ces problématiques. Ainsi, l'intégration d'une couche piézoélectrique à base de titano-zirconate de plomb (PZT) à la surface de réseaux de nanoleviers, et selon un procédé technologique compatible avec une fabrication grande échelle, sera présentée dans une première partie de ces travaux. Deux stratégies de biofonctionnalisation développées, à savoir l'intégration d'une couche bioréceptrice biologique par microcontact printing ainsi que la structuration d'une couche bioréceptrice polymérique, seront ensuite présentées dans une seconde partie.

# Bibliographie

---

- [1] Van Kessel P F, Hornbeck L J, Meier R E and Douglass M R 1998 A MEMS-based projection display *Proc. IEEE* **86** 1687–704
- [2] Lutz M, Golderer W, Gerstenmeier J, Marek J, Maihofer B, Mahler S, Munzel H and Bischof U 1997 A precision yaw rate sensor in silicon micromachining, *International Conference on Solid State Sensors and Actuators, TRANSDUCERS '97* vol 2 pp 847–50 (Chicago, USA)
- [3] Rebeiz G M and Muldavin J B 2001 RF MEMS switches and switch circuits *IEEE Microw. Mag.* **2** 59–71
- [4] Neukermans A and Ramaswami R 2001 MEMS technology for optical networking applications *IEEE Commun. Mag.* **39** 62–9
- [5] Sherman S J, Tsang W K, Core T A and Quinn D E 1992 A low cost monolithic accelerometer, *1992 Symposium on VLSI Circuits, Digest of Technical Papers* pp 34–5
- [6] Mounier E, Troadec C, Girardin G and De Charentenay Y 2015 *MEMS Markets: Status of the MEMS Industry 2015* (Yole Développement)
- [7] Craighead H G 2000 Nanoelectromechanical Systems *Science* **290** 1532–5
- [8] Roukes M L 2001 Nanoelectromechanical systems face the future *Phys. World* **14** 25–31
- [9] Ekinici K L and Roukes M L 2005 Nanoelectromechanical systems *Rev. Sci. Instrum.* **76** 061101
- [10] Rugar D, Budakian R, Mamin H J and Chui B W 2004 Single spin detection by magnetic resonance force microscopy *Nature* **430** 329–32
- [11] Sage E, Brenac A, Alava T, Morel R, Dupré C, Hanay M S, Roukes M L, Duraffourg L, Masselon C and Hentz S 2015 Neutral particle mass spectrometry with nanomechanical systems *Nat. Commun.* **6**
- [12] Li M, Tang H X and Roukes M L 2007 Ultra-sensitive NEMS-based cantilevers for sensing, scanned probe and very high-frequency applications *Nat. Nanotechnol.* **2** 114–20
- [13] Singh V, Irfan B, Subramanian G, Solanki H S, Sengupta S, Dubey S, Kumar A, Ramakrishnan S and Deshmukh M M 2012 Coupling between quantum Hall state and electromechanics in suspended graphene resonator *Appl. Phys. Lett.* **100** 233103

- [14] LaHaye M D, Suh J, Echternach P M, Schwab K C and Roukes M L 2009 Nanomechanical measurements of a superconducting qubit *Nature* **459** 960–4
- [15] Ekinici K L, Huang X M H and Roukes M L 2004 Ultrasensitive nanoelectromechanical mass detection *Appl. Phys. Lett.* **84** 4469
- [16] Ilic B 2004 Attogram detection using nanoelectromechanical oscillators *J. Appl. Phys.* **95** 3694
- [17] Yang Y T, Callegari C, Feng X L, Ekinici K L and Roukes M L 2006 Zeptogram-Scale Nanomechanical Mass Sensing *Nano Lett.* **6** 583–6
- [18] Chaste J, Eichler A, Moser J, Ceballos G, Rurali R and Bachtold A 2012 A nanomechanical mass sensor with yoctogram resolution *Nat. Nanotechnol.* **7** 301–4
- [19] Thévenot D R, Toth K, Durst R A and Wilson G S 2001 Electrochemical biosensors: recommended definitions and classification1 *Biosens. Bioelectron.* **16** 121–31
- [20] Thompson I M, Pauler D K, Goodman P J, Tangen C M, Lucia M S, Parnes H L, Minasian L M, Ford L G, Lippman S M, Crawford E D, Crowley J J and Coltman C A 2004 Prevalence of Prostate Cancer among Men with a Prostate-Specific Antigen Level  $\leq 4.0$  ng per Milliliter *N. Engl. J. Med.* **350** 2239–46
- [21] Nicu L and Leichlé T 2008 Biosensors and tools for surface functionalization from the macro- to the nanoscale: The way forward *J. Appl. Phys.* **104** 111101
- [22] Gan S D and Patel K R 2013 Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay *J. Invest. Dermatol.* **133** e12
- [23] Sun Y S, Landry J P, Fei Y Y, Zhu X D, Luo J T, Wang X B and Lam K S 2008 Effect of fluorescently labeling protein probes on kinetics of protein-ligand reactions *Langmuir* **24** 13399–405
- [24] Clark L C and Lyons C 1962 Electrode Systems for Continuous Monitoring in Cardiovascular Surgery *Ann. N. Y. Acad. Sci.* **102** 29–45
- [25] Abbott Point of Care : i-STAT Handheld Blood Analyzer, [www.abbottpointofcare.com](http://www.abbottpointofcare.com)
- [26] Biacore Life Sciences: SPR technology, [www.biacore.com/lifesciences](http://www.biacore.com/lifesciences)
- [27] Q-Sense Biolin Scientific: QCM, [www.biolinscientific.com/q-sense](http://www.biolinscientific.com/q-sense)
- [28] Ansari M Z, Cho C, Kim J and Bang B 2009 Comparison between Deflection and Vibration Characteristics of Rectangular and Trapezoidal profile Microcantilevers *Sensors* **9** 2706–18
- [29] Sheehan P E and Whitman L J 2005 Detection Limits for Nanoscale Biosensors *Nano Lett.* **5** 803–7
- [30] Arcamone J, Boogaart M A F van den, Serra-Graells F, Fraxedas J, Brugger J and Pérez-Murano F 2008 Full-wafer fabrication by nanostencil lithography of micro/nanomechanical mass sensors monolithically integrated with CMOS *Nanotechnology* **19** 305302

- [31] Bargatin I, Myers E B, Aldridge J S, Marcoux C, Brianceau P, Duraffourg L, Colinet E, Hentz S, Andreucci P and Roukes M L 2012 Large-Scale Integration of Nanoelectromechanical Systems for Gas Sensing Applications *Nano Lett.* **12** 1269–74
- [32] Arlett J L, Myers E B and Roukes M L 2011 Comparative advantages of mechanical biosensors *Nat. Nanotechnol.* **6** 203–15
- [33] Li M, Bhiladvala R B, Morrow T J, Siooss J A, Lew K-K, Redwing J M, Keating C D and Mayer T S 2008 Bottom-up assembly of large-area nanowire resonator arrays *Nat. Nanotechnol.* **3** 88–92
- [34] Morrow T J, Li M, Kim J, Mayer T S and Keating C D 2009 Programmed Assembly of DNA-Coated Nanowire Devices *Science* **323** 352
- [35] Fischer L M, Wright V A, Guthy C, Yang N, McDermott M T, Buriak J M and Evoy S 2008 Specific detection of proteins using nanomechanical resonators *Sens. Actuators B Chem.* **134** 613–7
- [36] Bietsch A, Zhang J, Hegner M, Lang H P and Gerber C 2004 Rapid functionalization of cantilever array sensors by inkjet printing *Nanotechnology* **15** 873
- [37] McKendry R, Zhang J, Arntz Y, Strunz T, Hegner M, Lang H P, Baller M K, Certa U, Meyer E, Güntherodt H-J and Gerber C 2002 Multiple label-free biodetection and quantitative DNA-binding assays on a nanomechanical cantilever array *Proc. Natl. Acad. Sci.* **99** 9783–8
- [38] Vandeveldel F, Leïchlé T, Ayela C, Bergaud C, Nicu L and Haupt K 2007 Direct Patterning of Molecularly Imprinted Microdot Arrays for Sensors and Biochips *Langmuir* **23** 6490–3
- [39] Saya D, Leïchlé T, Pourciel J B, Bergaud C and Nicu L 2007 Collective fabrication of an in-plane silicon nanotip for parallel femtoliter droplet deposition *J. Micromechanics Microengineering* **17** N1

# 2

## Intégration d'un moyen de transduction piézoélectrique

---

### 2.1 Introduction

La transition de la micro vers la nano-échelle, et notamment le passage des microsystèmes électromécaniques (MEMS) aux nanosystèmes électromécaniques (NEMS), suscite un grand intérêt de la part de la communauté scientifique. La miniaturisation est en effet source de nombreux avantages largement rapportés dans la littérature [1] [2]. La réduction des dimensions offre notamment une meilleure capacité d'intégration, une plus faible consommation énergétique et des performances accrues en termes de sensibilité via l'augmentation de la fréquence de résonance (MHz – GHz), la réduction de la masse ( $10^{-18}$  –  $10^{-15}$  g) et d'importants facteurs de qualité ( $10^3$  –  $10^5$ ) [3]. Ces attributs sans précédents font des NEMS des candidats particulièrement prometteurs pour de nombreuses applications technologiques comme la détection d'espèces biologiques [4] [5] ou d'agents chimiques simulant la menace [6] [7], la spectrométrie de masse [8] [9], la réalisation de sondes très haute fréquence pour de l'acquisition d'images ultra-rapide au sein de techniques de microscopie à sonde locale [10], ou encore des applications plus fondamentales avec notamment l'étude de phénomènes quantiques [11] [12]. Cependant, la plupart des travaux rapportés dans la littérature sont basés sur des résonateurs NEMS fabriqués individuellement avec des moyens d'actionnement et de détection non intégrés excédant largement les dimensions des dispositifs. Ces barrières sont autant de limitations au développement de systèmes de détection bas coûts et portables. Afin de pouvoir exploiter pleinement le potentiel des NEMS et envisager ces systèmes comme une solution viable et alternative à leurs homologues micrométriques (*i.e.* MEMS), des moyens de fabrication collectifs et grande échelle ainsi que le développement de méthodes de transduction intégrées restent d'importants défis à adresser.

Deux types d'approches de fabrication sont généralement mises en œuvre pour la fabrication de nanosystèmes : la voie ascendante (*bottom-up*) et la voie descendante (*top-down*). La première approche repose notamment sur des techniques d'assemblage dirigé avec la manipulation et l'adressage localisé de nanobjets en suspension au sein d'un liquide, tels que des nanofils de silicium, nanotubes et nanofibres de carbone, par le biais de forces diélectrophorétiques [13] [14] [15]. Outre l'avantage indéniable de pouvoir manipuler des structures nanométriques individuelles, l'approche ascendante permet l'intégration parallèle et à relativement grande échelle de l'élément mécanique au sein du système final, tout en offrant la possibilité de mettre en œuvre de manière relativement directe un moyen de transduction intégré de nature capacitive. Si ces méthodes sont très prometteuses, elles restent encore moins avancées que les techniques classiques de micro et nanostructuration avec lesquelles elles doivent d'ailleurs être la plupart du

temps combinées. L'approche descendante repose sur des techniques conventionnelles de nanofabrication basées sur la mise en forme d'un matériau massif. Les méthodes les plus couramment employées sont la lithographie optique et électronique, bien que des exemples de structuration par lithographie douce et notamment par nanoimpression soient rapportés dans la littérature [16]. La lithographie électronique a largement été mise en œuvre pour la réalisation de dispositifs NEMS [17] [18]. Cette technique onéreuse et séquentielle (« 1 structure à la fois ») semble néanmoins peu appropriée pour une fabrication à grande échelle de dispositifs NEMS. Des méthodes de lithographie optique, comme la nanolithographie *stencil* [19] ou la lithographie UV combinée à un système de projection optique [6], constituent un bon compromis entre résolution atteignable et niveau d'intégration. Si ces techniques apparaissent comme potentiellement plus viables pour des perspectives d'industrialisation, l'approche de fabrication collective de NEMS à l'échelle du wafer reste néanmoins encore peu rapportée dans la littérature.

Si la transition des MEMS vers les NEMS est attrayante, elle ne présente pas toutefois que des avantages. En particulier, la miniaturisation des dispositifs s'accompagne d'une réduction des amplitudes de déplacement. La détection de mouvements typiquement sub-nanométriques à des fréquences pouvant atteindre le domaine du gigahertz constitue un double défi à relever dans la réalisation de nanosystèmes électromécaniques [20]. De nombreux efforts ont été mis en œuvre dans ce sens via des stratégies de transduction directement issues du domaine des MEMS [10] [21], ou par le développement de nouveaux moyens dédiés à la problématique NEMS [22] [23]. De manière générale, les méthodes de transduction conventionnelles pourtant effectives à l'échelle micrométrique voient généralement leurs capacités limitées lorsque directement transposées à l'échelle nanométrique, résultant d'une réduction de leur efficacité de transduction, d'une augmentation de l'impédance motionnelle entraînant une désadaptation avec le circuit de détection, ou encore de la prédominance d'effets capacitifs parasites. En comparaison des transductions magnétostatique [24], capacitive [21] ou thermoélastique/piézorésistive [25], limitées généralement par un manque d'intégrabilité, d'une faible efficacité de transduction ou d'une importante consommation de puissance, la transduction piézoélectrique reste particulièrement attractive [26] [27]. Cette approche offre une solution de transduction intégrable avec une efficacité de transduction généralement supérieure aux autres méthodes et avec une consommation faible. Cependant, la fabrication et l'intégration de films piézoélectriques à des échelles submicroniques préservant leurs performances restent encore un défi à relever.

Dans ce chapitre, les résultats relatifs au développement d'un procédé de fabrication collective et à l'échelle du wafer de résonateurs NEMS avec un moyen de transduction piézoélectrique sont rapportés. Après une première partie consacrée à la description de certaines généralités mécaniques, un sommaire état de l'art des principaux moyens de transduction mis en œuvre dans le domaine des NEMS est présenté. Le procédé technologique de fabrication combinant l'utilisation de la lithographie optique par projection et une stratégie d'intégration exploratoire par *lift-off* du matériau piézoélectrique sont ensuite détaillés. L'intégrité mécanique et électrique des dispositifs après fabrication est ensuite évaluée. Des facteurs de qualité de l'ordre de 900 sous vide et de 130 dans l'air pour des fréquences de résonance de plusieurs mégahertz sont rapportés. Une étude par étape des capacités de transduction est ensuite présentée. Si l'actionnement piézoélectrique est validé sans difficulté, la partie détection reste néanmoins plus

problématique du fait d'une faible constante piézoélectrique, évaluée à 15 fm/V à partir des données expérimentales couplées avec un modèle par éléments finis, et du faible niveau de charges générées. Ces résultats mettent en avant la difficulté de préserver l'intégrité des propriétés matériau à ces échelles. Des perspectives d'améliorations sont finalement discutées.

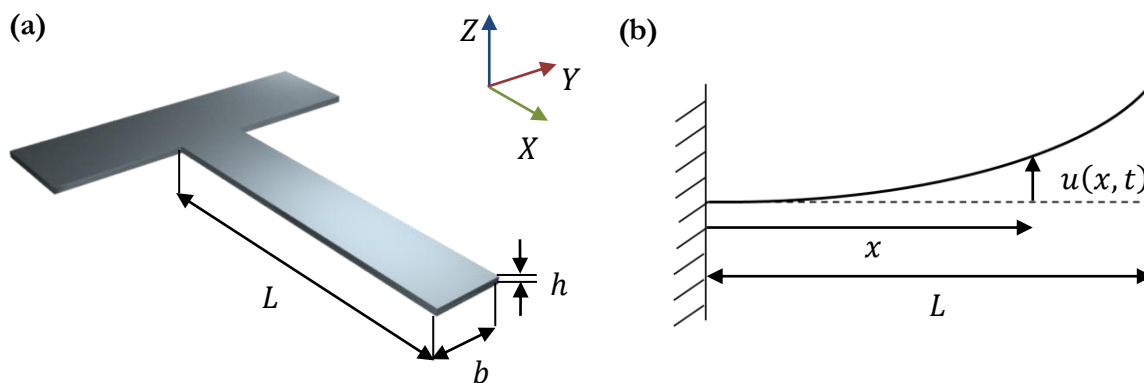
## 2.2 Généralités mécaniques

Un système électromécanique est typiquement constitué de quatre « briques » de base : une structure mécanique, un transducteur, une électronique et un conditionnement. L'élément mécanique mobile constitue l'élément central du dispositif. Parmi les structures les plus couramment employées, on compte notamment des nanopoutres, des nanoleviers, des nanomembranes, des nanotubes et des nanofils. Dans le cadre d'application de type biodétection, deux modes d'opération sont généralement employés : un mode statique et un mode dynamique dont les principes de fonctionnement ont été précédemment décrits dans le chapitre 1. Dans la suite de cette section, nous nous limiterons à la description du comportement mécanique linéaire d'une poutre encastree-libre (levier) en mode de fonctionnement dynamique, correspondant à la configuration privilégiée dans ces travaux de thèse. Si un modèle par éléments finis sera essentiellement mis en œuvre dans ce chapitre, certaines équations analytiques présentées seront néanmoins utilisées d'où la nécessité d'introduire le formalisme adopté.

### 2.2.1 Vibration libre et non amortie : détermination des fréquences naturelles

#### 2.2.1.1 Cas d'un levier monocouche

Soit un levier monocouche de longueur  $L$ , de section transverse rectangulaire uniforme le long du levier avec une largeur  $b$  et une hauteur  $h$ , comme représenté sur la figure 2.1.



**Figure 2.1** Représentation schématique d'une poutre encastree-libre (levier) faisant apparaître les paramètres géométriques considérés.



Le mouvement mécanique transverse d'une structure 3D peut dans un grand nombre de cas être modélisé avec une bonne précision par une fonction  $u(x, t)$  dépendante d'une seule coordonnée axiale  $x$  et du temps. Pour de faibles amplitudes de déplacements (permettant de négliger les effets d'inertie rotationnelle et les déformations de cisaillement) et sous réserve d'une structure élancée (généralement  $L \gg b, t$ ), le mouvement en flexion peut être décrit dans le cadre de la théorie d'Euler-Bernoulli. Les modèles classiques de la mécanique des milieux continus restent en effet valables même à des échelles sub-micrométriques, dans la limite où les dimensions restent grandes devant les distances atomiques [28]. L'équation du mouvement d'une poutre en l'absence de forçage extérieur et d'amortissement, établie en appliquant la loi fondamentale de la dynamique sur un tronçon élémentaire de poutre, est de la forme [29]:

$$EI \frac{\partial^4 u(x, t)}{\partial x^4} + \rho S \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t^2} = 0 \quad (2.1)$$

Où :  $E$ ,  $I$ ,  $\rho$  et  $S$  désignent respectivement le module d'élasticité (en Pa), le moment quadratique d'inertie (en  $m^4$ ), la masse volumique (en  $kg/m^3$ ) et l'aire de la section transverse (en  $m^2$ ) de la poutre supposée uniforme. L'aire de la section transverse est définie par  $S = bh$  et le moment quadratique d'inertie selon :  $I = bh^3/12$ . Cette équation différentielle peut être résolue en utilisant la méthode de séparation des variables, et en assumant une fonction temporelle de nature harmonique selon :

$$u(x, t) = \varphi(x) q(t) = \varphi(x) e^{j\omega t} \quad (2.2)$$

En injectant cette expression dans l'équation (2.1), la résolution du problème de la vibration libre et non amortie d'une poutre devient un problème aux valeurs propres:

$$\frac{\partial^4 \varphi_n(x)}{\partial x^4} - \frac{\lambda_n^4}{L^4} \varphi_n(x) = 0 \quad (2.3)$$

avec:  $\lambda_n^4 = \frac{\rho S L^4 \omega_n^2}{EI}$

La résolution de ce problème consiste à déterminer l'ensemble des valeurs propres  $\lambda_n^4$  et des fonctions propres associées  $\varphi_n(x)$  qui vérifient l'équation (2.3). Dans le cas d'un système continu, il existe une infinité de couples  $(\lambda_n^4, \varphi_n)$  solutions du problème, chaque paire définissant un mode propre de vibration du système, caractérisé par une pulsation de résonance (en rad/s) définie par :  $\omega_n^2 = EI \lambda_n^4 / \rho S L^4$  et une déformée modale  $\varphi_n(x)$ . Déterminer les fréquences de résonance naturelles de la poutre impose de déterminer au préalable les valeurs propres  $\lambda_n^4$ . La solution générale de l'équation (2.3) est de la forme [30]:

$$\varphi_n(x) = A_n \cosh\left(\frac{\lambda_n}{L} x\right) + B_n \sinh\left(\frac{\lambda_n}{L} x\right) + C_n \cos\left(\frac{\lambda_n}{L} x\right) + D_n \sin\left(\frac{\lambda_n}{L} x\right) \quad (2.4)$$

Où :  $A_n$ ,  $B_n$ ,  $C_n$  et  $D_n$  sont des constantes pouvant être déterminées à partir des conditions aux limites de la poutre. Dans le cas d'un levier, le déplacement  $u(x)$  et sa pente  $\theta(x)$  sont nuls au niveau de l'extrémité encastree (en  $x = 0$ ), tandis que le moment de flexion  $M(x)$  et la contrainte

de cisaillement  $V(x)$  sont nuls au niveau de l'extrémité libre (en  $x = L$ ). Ces conditions imposent :

$$\begin{aligned} u(0) &= 0 & M(L) &= \left. \frac{\partial^2 u(x)}{\partial x^2} \right|_{x=L} = 0 \\ \theta(0) &= \left. \frac{\partial u(x)}{\partial x} \right|_{x=0} = 0 & V(L) &= \left. \frac{\partial^3 u(x)}{\partial x^3} \right|_{x=L} = 0 \end{aligned} \quad (2.5)$$

En appliquant ces conditions aux limites à l'équation (2.2) et en utilisant l'expression (2.4) pour la déformée modale, on obtient le système d'équations suivant:

$$\left\{ \begin{array}{l} A_n + C_n = 0 \\ B_n + D_n = 0 \\ A_n [\cosh(\lambda_n) + \cos(\lambda_n)] + B_n [\sinh(\lambda_n) + \sin(\lambda_n)] = 0 \\ A_n [\sinh(\lambda_n) - \sin(\lambda_n)] + B_n [\cosh(\lambda_n) + \cos(\lambda_n)] = 0 \end{array} \right\} \quad (2.6)$$

La résolution de ce système conduit à l'équation transcendante en  $\lambda_n$  [30]:

$$1 + \cosh(\lambda_n) \cos(\lambda_n) = 0 \quad (2.7)$$

Les valeurs de  $\lambda_n$ , appelées coefficients modaux, constituent les racines de l'équation précédente et peuvent être déterminées numériquement selon :

$$\lambda_1 = 1.875, \quad \lambda_2 = 4.694, \quad \lambda_3 = 7.855, \quad \lambda_n \approx \frac{(2n-1)\pi}{2} \text{ pour } n > 3 \quad (2.8)$$

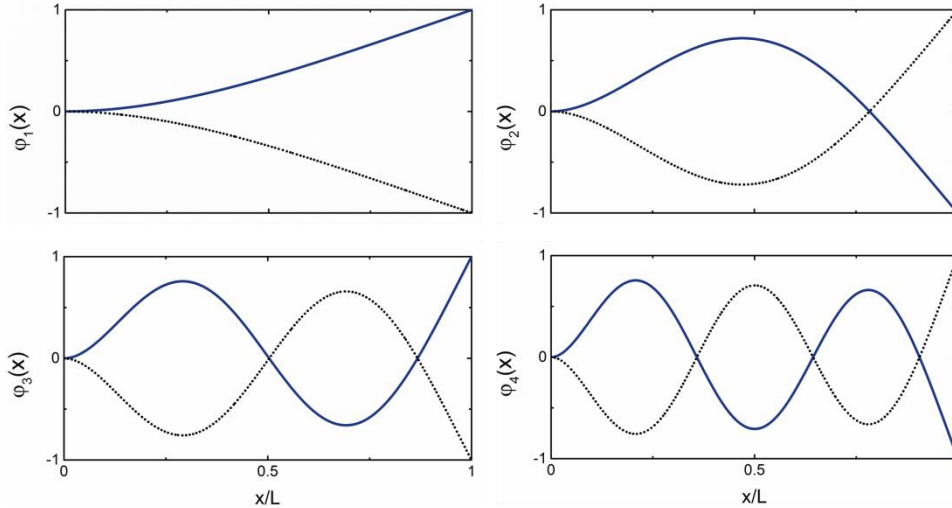
Les fréquences naturelles de résonance  $f_n = \omega_n/2\pi$  (en Hz) associées aux différents modes de vibration transverse d'un levier peuvent alors être déterminées à partir de l'équation (2.3) selon :

$$f_n = \frac{1}{2\pi} \frac{\lambda_n^2}{L^2} \sqrt{\frac{EI}{\rho S}} \quad (2.9)$$

Les fréquences de résonance dépendent donc à la fois des propriétés matériau via le module d'élasticité, ainsi que des propriétés géométriques avec notamment une dépendance en  $L^{-2}$  de la longueur du levier. Les déformées modales  $\varphi_n(x)$  (fonctions propres) associées à chaque mode de vibration sont déterminées en injectant les valeurs propres  $\lambda_n$  obtenues au niveau de l'équation (2.8) dans le système d'équations (2.6). La détermination des coefficients  $B_n$ ,  $C_n$  et  $D_n$  en fonction de  $A_n$ , puis en substituant le résultat obtenu au sein de l'équation (2.4) conduit à l'expression des déformées modales :

$$\begin{aligned} \varphi_n(x) &= A_n \left\{ \cosh\left(\frac{\lambda_n}{L}x\right) - \cos\left(\frac{\lambda_n}{L}x\right) \right. \\ &\quad \left. - \left[ \frac{\cosh(\lambda_n) + \cos(\lambda_n)}{\sinh(\lambda_n) + \sin(\lambda_n)} \right] \left[ \sinh\left(\frac{\lambda_n}{L}x\right) - \sin\left(\frac{\lambda_n}{L}x\right) \right] \right\} \end{aligned} \quad (2.10)$$

Où :  $A_n$  est une constante de normalisation fixée arbitrairement. Elle est généralement choisie de façon à normaliser l'amplitude de la déformée modale, de sorte que l'amplitude maximale de la déformée  $|\varphi_n(x)|_{max}$  soit égale à 1 (en valeur absolue). Dans le cas d'un levier, le maximum de déflexion est toujours obtenu au niveau de l'extrémité libre, indépendamment du mode considéré. Il en résulte la condition de normalisation suivante :  $A_n = 1/|\varphi_n(L)| = 0.5$ , ce qui conduit à une amplitude de la déformée modale en bout de levier égale à :  $\varphi_n(L) = (-1)^{n+1}$ ,  $n$  désignant le mode considéré. Les quatre premières déformées modales normalisées d'un levier sont tracées sur la figure 2.2 en fonction de la coordonnée axiale normalisée  $x/L$ .



**Figure 2.2** Déformées modales normalisées d'un levier en fonction de la coordonnée axiale normalisée, pour les quatre premiers modes de vibration transverse. Les courbes noires en pointillés représentent les valeurs négatives de la déformée, permettent de visualiser les oscillations avec les différents nœuds et ventres de vibration.

L'équation différentielle (2.1) de la vibration transverse  $u(x, t)$  du levier peut être résolue par le biais d'une analyse modale. Cette analyse consiste à ramener le problème d'un système continu, possédant une infinité de degrés de libertés couplés, à un ensemble de systèmes à un degré de liberté découplés. L'analyse modale permet de décomposer complètement le mouvement du levier dans la base de ses modes propres de vibration (théoriquement une infinité) selon :

$$u(x, t) = \sum_{n=1}^{+\infty} \varphi_n(x) q_n(t) \quad (2.11)$$

Où :  $q_n(t)$  est la fonction temporelle décrivant les oscillations de la déformée modale  $\varphi_n(x)$  associée au  $n$ -ième mode de vibration. En remplaçant la déflexion  $u(x, t)$  du levier par sa décomposition modale dans l'équation (2.1), l'équation différentielle devient :

$$\sum_{n=1}^{+\infty} \left( \rho S \varphi_n(x) \frac{\partial^2 q_n(t)}{\partial t^2} + EI \frac{\partial^4 \varphi_n(x)}{\partial x^4} q_n(t) \right) = 0 \quad (2.12)$$

Pour étudier un mode de vibration en particulier, il est nécessaire de projeter l'expression précédente sur le mode considéré, en multipliant par la forme du mode et en intégrant sur toute la longueur du levier. D'après la condition de normalisation choisie, à savoir  $A_n = 1/|\varphi_n(L)| = 0.5$ , la condition d'orthogonalité des modes se traduit par la relation :

$$\int_0^L \varphi_i(x)\varphi_j(x)dx = \frac{L}{4} \delta_{ij} \quad (2.13)$$

Où :  $\delta_{ij}$  est le symbole de Kronecker. D'après les conditions d'orthogonalité des différents modes et de normalisation adoptées, la projection de l'équation (2.12) sur le  $k$ -ième mode de vibration conduit alors à :

$$\left( \int_0^L \rho S \varphi_k^2(x) dx \right) \ddot{q}_k(t) + \left( \int_0^L EI \frac{\partial^4 \varphi_k(x)}{\partial x^4} \varphi_k(x) dx \right) q_k(t) = 0 \quad (2.14)$$

Où :  $\ddot{q}_k(t)$  dénote la dérivée partielle d'ordre 2 par rapport au temps. Dans le cas d'une structure de section transverse homogène, les termes linéiques  $\rho S$  et  $EI$  sont indépendants de la coordonnée axiale  $x$ . Il en résulte :

$$\left( \rho S \int_0^L \varphi_k^2(x) dx \right) \ddot{q}_k(t) + \left( EI \int_0^L \frac{\partial^4 \varphi_k(x)}{\partial x^4} \varphi_k(x) dx \right) q_k(t) = 0 \quad (2.15)$$

$$M_k \ddot{q}_k(t) + K_k q_k(t) = 0$$

Cette dernière relation permet de reconnaître l'équation différentielle d'un système masse-ressort en régime d'oscillations libres et non amorties, dont la pulsation de résonance (en rad/s) est donnée par :

$$\omega_k = \sqrt{\frac{K_k}{M_k}} \quad (2.16)$$

La réponse dynamique du levier, système continu avec une infinité de degrés de liberté, peut donc être simplement décrite au voisinage de l'un de ces modes de vibration par un modèle d'oscillateur harmonique. Cette analogie impose d'introduire pour chaque mode une masse modale  $M_k$  (en kg) et une raideur modale  $K_k$  (en N/m), qui tiennent compte du passage d'un système continu à un système ponctuel dans le cas d'une vibration libre non amortie. D'après le choix de la constante de normalisation réalisé, cette équivalence se traduit par les relations [31]:

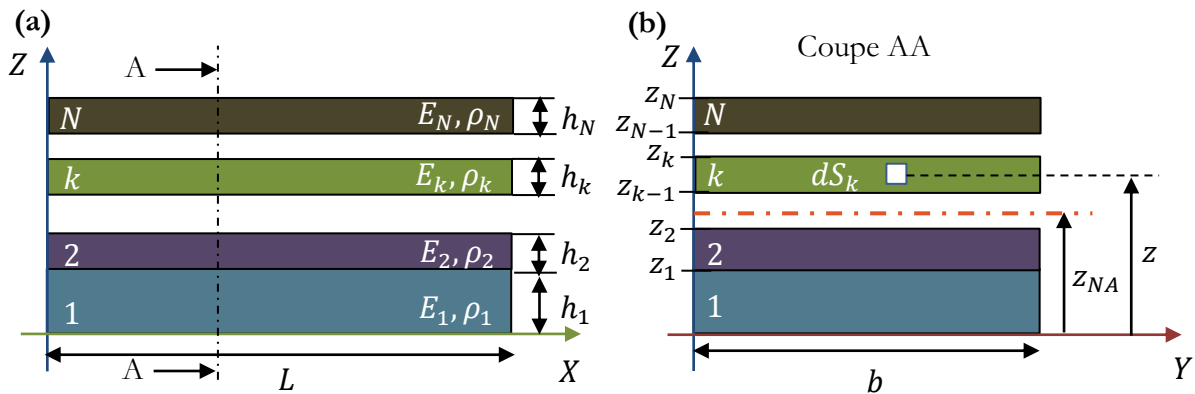
$$M_k = \rho S \int_0^L \varphi_k^2(x) dx = \frac{M}{4} \quad K_k = EI \int_0^L \frac{\partial^4 \varphi_k(x)}{\partial x^4} \varphi_k(x) dx = \frac{EI \lambda_k^4}{4L^3} \quad (2.17)$$

Où :  $M$  est la masse totale du résonateur (en kg). Physiquement, la masse modale correspond à la masse du résonateur effectivement impliquée dans la vibration. Du fait de la condition de normalisation choisie, la masse modale associée à chaque mode ne représente donc qu'une fraction de la masse totale du résonateur. Dans le cas d'un levier, cette fraction est identique quel que soit le mode considéré, et vaut :  $M_k/M = 0.25$ .

## 2.2.1.2 Cas d'un levier avec un empilement multicouche

Les résonateurs MEMS/NEMS comportent généralement un empilement multicouche composé de matériaux de différentes natures permettant d'assurer une certaine fonction (actionnement, détection, transduction). Dans ce cas, le modèle analytique monocouche précédent devient insuffisant pour décrire les effets de raideur et de masse ajoutée qui influencent le comportement dynamique du résonateur. Une approche analytique similaire peut néanmoins être développée dans certains cas simples d'empilement, où la section transverse est uniforme le long de la coordonnée axiale.

Soit un levier comportant un empilement à  $N$  couches, tel que représenté figure 2.3. La section transverse du levier est uniforme, de sorte que chaque couche possède la même largeur  $b$  et la même longueur  $L$  que le levier. Chaque couche est caractérisée par un module d'élasticité  $E_k$ , une masse volumique  $\rho_k$  et une épaisseur  $h_k$ . L'origine de l'axe  $Z$  est prise au niveau de la base inférieure de la section transverse. Dans ce repère, chaque couche se situe entre une altitude basse  $z_{k-1}$  et une altitude haute  $z_k$ , de sorte que l'épaisseur de la couche vaille :  $h_k = z_k - z_{k-1}$ , avec :  $z_k = \sum_{i=0}^k z_i$  et  $z_0 = 0$  (origine des altitudes). Enfin, la position de l'axe neutre est repérée par l'altitude  $z_{NA}$  au sein de l'empilement.



**Figure 2.3** (a) Représentation schématique d'un levier avec un empilement multicouche de section transverse uniforme le long de la coordonnée axiale. (a) Vue de profil. (b) Vue en coupe de la section transverse.

L'équation différentielle du mouvement associée à la vibration transverse du levier multicouche dans le cas d'une vibration libre et non amortie s'écrit :

$$\widetilde{EI} \frac{\partial^4 u(x, t)}{\partial x^4} + \widetilde{\rho S} \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t^2} = 0 \quad (2.18)$$

Avec :  $\widetilde{EI}$  la raideur en flexion équivalente (en N.m<sup>2</sup>) et  $\widetilde{\rho S}$  la masse linéique équivalente (en kg/m). L'expression des fréquences de résonance du levier multicouche est similaire à celles d'un levier monocouche :

$$f_n = \frac{1}{2\pi} \frac{\lambda_n^2}{L^2} \sqrt{\frac{\bar{E}I}{\rho\bar{S}}} \quad (2.19)$$

Du fait de l'uniformité de la section transverse, la forme des modes n'est pas influencée par l'empilement, et donc les coefficients modaux  $\lambda_n$  restent inchangés par rapport au cas du levier monocouche. L'expression de la masse linéique s'obtient selon :

$$\bar{\rho S} = \iint_S \rho dydz = b \int_0^{z_N} \rho dz = b \sum_{k=1}^N (\rho_k h_k) \quad (2.20)$$

Où l'intégrale est calculée sur l'épaisseur totale  $z_N$  du levier et avec une masse volumique  $\rho$  qui est une fonction définie par morceaux, de valeur constante  $\rho_k$  au niveau de chaque couche  $k$ .

La raideur équivalente de l'empilement multicouche est obtenue selon [32]:

$$\bar{E}I = \iint_S E(z - z_{NA})^2 dydz = b \int_0^{z_N} E(z - z_{NA})^2 dz \quad (2.21)$$

Où  $E$  est une fonction définie par morceaux, de valeur constante  $E_k$  au niveau de chaque couche  $k$ . L'empilement multicouche se comporte comme un système de couches de différentes raideurs en « parallèle », dont la raideur équivalente correspond à la somme des raideurs selon [32]:

$$\bar{E}I = \sum_{k=1}^N (E_k I_k) \quad (2.22)$$

$$\text{avec: } I_k = \frac{bh_k^3}{12} + bh_k \left[ z_{NA} - \frac{(z_k + z_{k-1})}{2} \right]^2$$

Où : les moments quadratiques  $I_k$  de chacune des couches sont définis par rapport à l'axe neutre selon le théorème des axes parallèles. Pour pouvoir calculer la raideur équivalente, il est donc nécessaire de déterminer la position de l'axe neutre  $z_{NA}$  au sein de l'empilement. Sa position est déterminée à partir de la condition d'équilibre des contraintes axiales  $\sigma_x$  au niveau de la section transverse, en intégrant la contrainte d'un élément d'aire  $dS$  sur toute la surface de la section et en prenant comme référence des altitudes la position de l'axe neutre selon :

$$\iint_S \sigma_x dydz = 0 \quad (2.23)$$

$$b \int_0^{z_N} E(z - z_{NA}) dz = 0$$

La résolution de cette intégrale permet d'établir l'expression suivante pour la position de l'axe neutre:

$$z_{NA} = \frac{\sum_{k=1}^N E_k h_k [(z_k + z_{k-1})/2]}{\sum_{k=1}^N E_k h_k} \quad (2.24)$$

Tout comme pour le levier multicouche, il est possible de définir une masse et une raideur modales pour chaque mode de vibration considéré, selon la même définition que dans l'équation (2.17) mais en remplaçant la masse linéique et la raideur en flexion du levier monocouche les paramètres équivalents de l'empilement multicouche. La méthode des aires équivalentes [33] peut également être employée pour déterminer la raideur d'un empilement multicouche. Cette méthode consiste à transformer l'empilement initial en un système multicouche avec un seul module d'élasticité équivalent, la largeur de chaque couche étant modifiée pour prendre en compte la différence de raideur. Cette méthode sera notamment utilisée dans le chapitre 3.

Dans le cas de structures avec une géométrie complexe, où l'empilement n'est pas homogène à la surface du levier dont la section transverse varie le long de la coordonnée axiale, l'empilement a également une influence sur les déformées modales qui deviennent difficiles à résoudre analytiquement. Dans cette situation le recours à des modèles par éléments finis est généralement indispensable.

### 2.2.2 Vibration forcée et amortie : modèle équivalent à un degré de liberté (« *lumped model* »)

Dans le cas général, la vibration du levier est soumise à des effets d'amortissement associés à des pertes dissipatives intrinsèques ou résultant de l'interaction du levier avec son environnement, ainsi qu'éventuellement à un forçage permettant d'entretenir les oscillations. L'équation différentielle du mouvement dans le cas d'une vibration forcée et amortie devient [34]:

$$EI \frac{\partial^4 u(x, t)}{\partial x^4} + \rho S \frac{\partial^2 u(x, t)}{\partial t^2} + c \frac{\partial u(x, t)}{\partial t} = f(x, t) \quad (2.25)$$

Où :  $EI$  est la raideur en flexion (en N.m<sup>2</sup>),  $\rho S$  est la masse linéique (en kg/m),  $c$  est un coefficient d'amortissement linéique (en kg/m/s) et  $f(x, t)$  est le forçage linéique (N/m).

Cette équation différentielle est généralement résolue en approximant la réponse du levier par celle d'un modèle équivalent à un degré de liberté, constitué d'un système discret masse-ressort (*lumped model*). L'équation différentielle du mouvement  $x(t)$  d'un oscillateur harmonique en régime d'oscillations libres et amorties a pour expression :

$$M\ddot{x}(t) + C\dot{x}(t) + Kx(t) = F(t) \quad (2.26)$$

Où :  $M$  et  $K$  désignent respectivement la masse (en kg) et la raideur (en N/m) de l'oscillateur, et  $C$  représente le coefficient d'amortissement (en kg/s) défini par :  $C = 2\xi\sqrt{KM} = M\omega_0/Q$ , où  $\xi = 1/2Q$  est le ratio d'amortissement,  $\omega_0 = \sqrt{K/M}$  est la pulsation de résonance (en rad/s) de l'oscillateur,  $Q$  le facteur de qualité et  $F(t)$  une force ponctuelle (en N).

La description de la vibration du levier par le modèle de l'oscillateur harmonique, système par définition ponctuel, impose de considérer le mouvement en un point  $x_D$  donné et au voisinage d'un mode  $k$  particulier. En supposant que la vibration  $u(x, t)$  soit uniquement influencée par le  $k$ -ième mode considéré, alors :

$$u(x_D, t) \equiv u(t) \approx \varphi_k(x_D)q_k(t) \quad (2.27)$$

Où : quel que soit le mode considéré, la fonction  $q_k(t)$  correspondant à la vibration modale (ou déplacement généralisé) vérifie l'équation différentielle :

$$M_k \ddot{q}_k(t) + C_k \dot{q}_k(t) + K_k q_k(t) = F_k(t) \quad (2.28)$$

Où :  $C_k$  est le coefficient d'amortissement relatif au mode considéré (en kg/s), et  $M_k$  et  $K_k$  désignent respectivement la masse (kg) et la raideur (N/m) modales associées au  $k$ -ième mode de vibration, définies par l'équation (2.17) et vérifiant :  $\omega_k = \sqrt{K_k/M_k}$ , avec  $\omega_k$  la pulsation de résonance naturelle associée au mode  $k$ . La force modale (ou force généralisée)  $F_k(t)$  correspond à la projection du forçage réparti sur le mode considéré. Elle est définie par :

$$F_k(t) = \int_0^L f(x, t) \varphi_k(x) dx \quad (2.29)$$

Pour obtenir l'équation différentielle du déplacement réel du levier, réduite à son  $k$ -ième mode et mesuré au niveau du point  $x_D$ , il faut injecter (2.27) dans (2.28) :

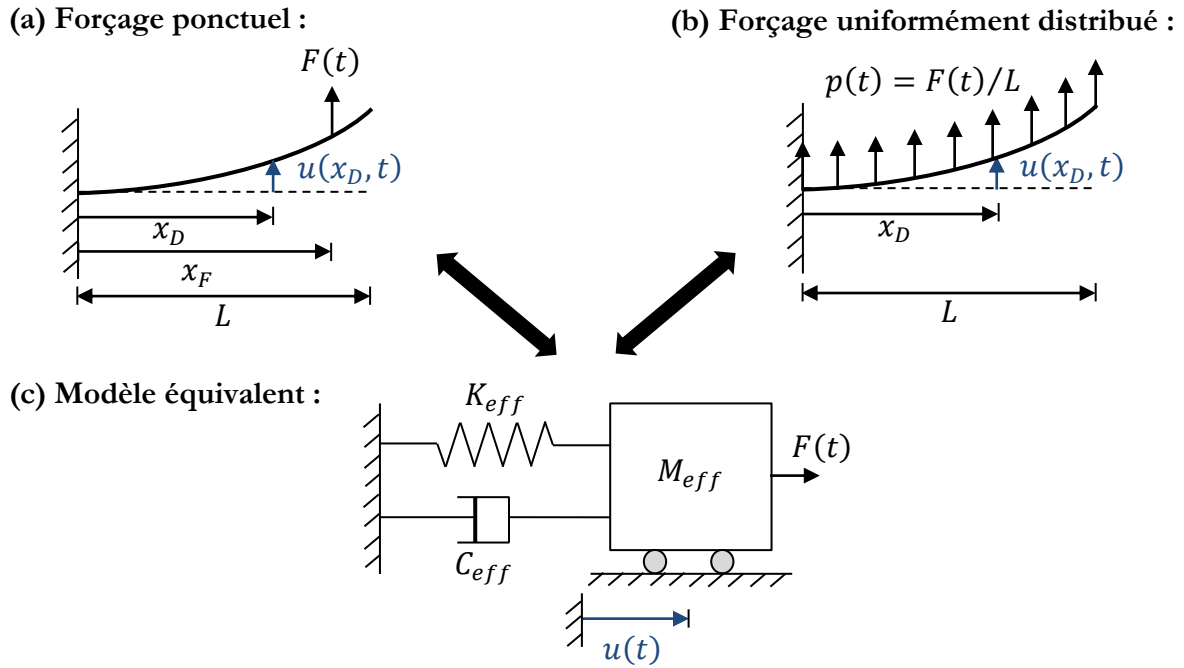
$$M_k \ddot{u}(t) + C_k \dot{u}(t) + K_k u(t) = \varphi_k(x_D) F_k(t) \quad (2.30)$$

Dans le cadre de notre analogie, l'expression (2.28) peut finalement être réécrite par comparaison avec l'équation (2.26) selon :

$$M_{eff} \ddot{u}(t) + C_{eff} \dot{u}(t) + K_{eff} u(t) = F(t) \quad (2.31)$$

Où :  $M_{eff}$ ,  $C_{eff}$ , et  $K_{eff}$  désignent respectivement la masse effective, le coefficient d'amortissement effectif et la raideur effective permettant de passer d'un système mécanique continu à une représentation discrète équivalente (cf. figure 2.4 (c)). L'expression de ces paramètres va dépendre à la fois de la position sur le levier où la vibration est mesurée, mais aussi de la nature du forçage  $f(x, t)$  appliqué. Deux configurations courantes de forçage sont représentées figure 2.4 : un forçage ponctuel appliqué en un point quelconque du levier et un forçage uniformément distribué sur toute la longueur du levier. L'expression des paramètres effectifs est présentée pour ces deux cas particuliers d'excitation.





**Figure 2.4** Modèle équivalent à un degré de liberté d'un levier au voisinage d'un mode de résonance donné pour deux configurations de forçage.

a) Expression de la masse effective dans le cas d'un forçage ponctuel :

On considère le cas d'un **forçage ponctuel** appliqué au niveau d'une position quelconque  $x_F$  à la surface du levier, comme représenté figure 2.4 (a). L'expression du forçage est de la forme :  $f(x, t) = F(t)\delta(x - x_F)$ , où  $\delta$  désigne la distribution de Dirac. En remplaçant l'expression de  $f(x, t)$  au sein de l'équation (2.28) et en utilisant l'équation (2.29), on obtient :

$$M_k \ddot{u}(t) + C_k \dot{u}(t) + K_k u(t) = \varphi_k(x_D) \varphi_k(x_F) F(t) \quad (2.32)$$

L'identification termes à termes de l'équation (2.32) avec l'équation (2.31), et en utilisant la définition de la masse modale donnée par (2.17), conduit à l'expression de la masse effective (en kg) dans le cas particulier d'un forçage ponctuel selon :

$$M_{eff} = \frac{M_k}{\varphi_k(x_D) \varphi_k(x_F)} = \frac{\int_0^L \rho S \varphi_k^2(x) dx}{\varphi_k(x_D) \varphi_k(x_F)} \quad (2.33)$$

Les autres paramètres effectifs étant respectivement déterminés par  $C_{eff} = M_{eff} \omega_k / Q_k$  et  $K_{eff} = \omega_k^2 M_{eff}$ .

En pratique, l'amplitude de vibration est mesurée au niveau de l'extrémité libre du levier ( $x_D = L$ ), là où la déformée modale est maximale. Du fait de la condition de normalisation choisie, il en résulte :  $\varphi_k(L) = 1$ . Dans le cas où le forçage ponctuel est appliqué à l'extrémité

libre du levier ( $x_F = L$ ), alors  $\varphi_k(x_F) = 1$ . Sous ces deux conditions, la masse effective est alors égale à la masse modale et vaut :  $M_{eff} = 0.25M$ , avec  $M$  la masse totale du levier (en kg).

**b) Expression de la masse effective dans le cas d'un forçage uniformément distribué :**

On considère le cas d'un **forçage uniformément distribué** à la surface du levier, comme représenté figure 2.4 (b). L'expression du forçage est de la forme :  $f(x, t) = F(t)/L$ . En remplaçant l'expression de  $f(x, t)$  au sein de l'équation (2.28) et en utilisant l'équation (2.29), on obtient :

$$M_k \ddot{u}(t) + C_k \dot{u}(t) + K_k u(t) = \frac{\varphi_k(x_D) F(t)}{L} \int_0^L \varphi_k(x) dx \quad (2.34)$$

L'identification termes à termes de l'équation (2.34) avec l'équation (2.31), et en utilisant la définition de la masse modale donnée par (2.17) pour une section transverse considérée comme constante le long de la coordonnée axiale, conduit à l'expression de la masse effective (en kg) dans le cas particulier d'un forçage uniformément réparti selon :

$$M_{eff} = \frac{LM_k}{\varphi_k(x_D) \int_0^L \varphi_k(x) dx} = \frac{L \int_0^L \rho S \varphi_k^2(x) dx}{\varphi_k(x_D) \int_0^L \varphi_k(x) dx} \quad (2.35)$$

Les autres paramètres effectifs étant respectivement déterminés par  $C_{eff} = M_{eff} \omega_k / Q_k$  et  $K_{eff} = \omega_k^2 M_{eff}$ .

En pratique, l'amplitude de vibration est mesurée au niveau de l'extrémité libre du levier ( $x_D = L$ ), là où la déformée modale est maximale. Du fait de la condition de normalisation choisie, il en résulte :  $\varphi_k(x_D) = 1$ . Dans ce cas, la masse effective est alors différente du cas précédent et vaut :  $M_{eff} \approx 0.639M$ , avec  $M$  la masse totale du levier (en kg).

Avec ce formalisme, la définition de la masse effective dépend donc étroitement de la position à la surface du levier où le déplacement est mesuré, ainsi que de la distribution spatiale de la force d'excitation appliquée.

### 2.2.3 Fonction de transfert mécanique

La modélisation du levier par un système discret équivalent un degré de liberté permet d'utiliser le formalisme simple de l'oscillateur harmonique pour résoudre le problème de la vibration forcée amortie. Dans le cas d'un résonateur vibrant dans son mode fondamental, caractérisé par une pulsation de résonance  $\omega_0 = \sqrt{K_{eff}/M_{eff}}$ , et pour une excitation de nature harmonique telle que :  $F(t) = F_d \cos(\omega t)$  alors l'équation différentielle du mouvement (2.31) devient :

$$M_{eff}\ddot{u}(t) + C_{eff}\dot{u}(t) + K_{eff}u(t) = F_d \cos(\omega t) \quad (2.36)$$

Cette équation différentielle peut être résolue en supposant une réponse de l'oscillateur de nature harmonique de même pulsation que l'excitation et avec un retard de phase  $\varphi$ , selon :  $u(t) = u_0 \cos(\omega t - \varphi)$ . En passant en représentation complexe où :

$$\begin{aligned} U(j\omega) &= u_0 e^{j(\omega t - \varphi)} = U_0 e^{j\omega t} \\ F(j\omega) &= F_d e^{j\omega t} \end{aligned} \quad (2.37)$$

La résolution de l'équation (2.36) dans le domaine fréquentiel conduit à l'expression de la fonction de transfert mécanique du système selon [35]:

$$H(j\omega) = \frac{U(j\omega)}{F(j\omega)} = \frac{1}{M_{eff} \left[ (\omega_0^2 - \omega^2) + j \frac{\omega\omega_0}{Q} \right]} \quad (2.38)$$

Cette fonction transfert est caractérisée par un module et une phase définis par :

$$\begin{aligned} |H(j\omega)| &= \frac{u_0}{F_d} = \frac{1}{M_{eff} \sqrt{(\omega_0^2 - \omega^2)^2 + \left(\frac{\omega\omega_0}{Q}\right)^2}} \\ \arg(H(j\omega)) &= \varphi(\omega) = \tan^{-1} \left( \frac{\omega\omega_0}{Q(\omega_0^2 - \omega^2)} \right) \end{aligned} \quad (2.39)$$

A la résonance, on obtient :

$$\begin{aligned} |H(j\omega_0)| &= \frac{Q}{M_{eff}\omega_0^2} = \frac{Q}{K_{eff}} \\ \varphi(\omega_0) &= -\frac{\pi}{2} \end{aligned} \quad (2.40)$$

Au voisinage de la résonance, la pente de phase est donnée par :

$$\frac{d\varphi(\omega)}{d\omega} = -\frac{2Q}{\omega_0} \quad (2.41)$$

L'amplitude de déplacement à la résonance est maximale et est donnée par :

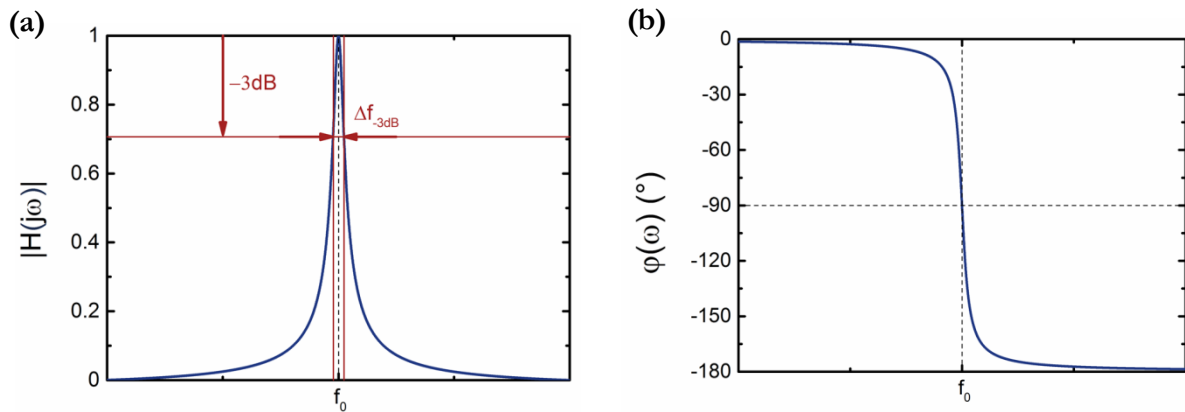
$$u_0 = \frac{F_d Q}{K_{eff}} = Q u_{stat} \quad (2.42)$$

où le facteur de qualité agit comme un facteur d'amplification dynamique du déplacement par rapport au déplacement statique  $u_{stat}$ . En raison des effets dissipatifs et de l'excitation, la pulsation de résonance en régime d'oscillations forcées et amorties n'est pas exactement égale à la

pulsation naturelle de résonance du levier  $\omega_0$  (définie en régime libre et non amorti). Son expression est donnée par :

$$\omega_r = \omega_0 \sqrt{1 - 2\xi^2} = \omega_0 \sqrt{1 - \frac{1}{2Q^2}} \quad (2.43)$$

Pour des valeurs de facteurs de qualité typiquement  $> 1000$ , alors généralement :  $\omega_r \approx \omega_0$ .



**Figure 2.5** (a) Module (amplitude normalisée) et (b) phase de la fonction de transfert d'un résonateur en régime de vibration forcée et amortie.

### 2.2.4 Facteur de qualité

Les caractéristiques fondamentales de la réponse dynamique d'un résonateur sont déterminées par sa fréquence de résonance  $f_0$  et son facteur de qualité  $Q$ . Ce dernier paramètre, qui correspond à l'inverse de la dissipation  $D$ , caractérise l'énergie totale emmagasinée par le résonateur à chaque cycle d'oscillations selon [36]:

$$Q = \frac{1}{D} = 2\pi \frac{\text{Energie emmagasinée}}{\text{Energie dissipée}} \quad (2.44)$$

Le facteur de qualité est généralement déterminé expérimentalement à partir de la réponse fréquentielle (cf. figure 2.5) via la relation :

$$Q = \frac{f_0}{\Delta f_{-3dB}} \quad (2.45)$$

Où :  $f_0$  est la fréquence (en Hz) correspondant à l'amplitude maximale du pic de résonance et  $\Delta f_{-3dB}$  est la bande passante (en Hz) à -3 dB.

La poursuite de facteurs de qualité et de fréquences de résonance élevés constitue un enjeu majeur dans le domaine des NEMS. Un facteur de qualité élevé se traduit par un pic de résonance

étroit, et donc par une meilleure résolution de mesure de faibles décalages fréquentiels, atout déterminant pour des applications gravimétriques. La limite de détection théorique d'un résonateur employé comme capteur de masse est ainsi inversement proportionnelle à son facteur de qualité  $Q$ , tandis que sa sensibilité massique est proportionnelle à  $f_0$ . Si la miniaturisation contribue à l'augmentation des fréquences de résonance, elle s'accompagne en revanche d'une chute du facteur de qualité selon une dépendance en  $Q \sim V^{1/3}$ ,  $V$  désignant le volume du résonateur. Une revue particulièrement détaillée des différentes sources intrinsèques et extrinsèques de dissipation a notamment été récemment proposée par Imboden *et al* [36].

### 2.3 Aperçu des différentes méthodes de transduction

Le rôle du transducteur est d'assurer une conversion électromécanique de l'énergie : la conversion d'une énergie électrique en une énergie mécanique assure l'actionnement de la structure, tandis que la conversion inverse permet la détection de sa réponse mécanique. Il existe de nombreuses méthodes de transduction pouvant être distinguées de différentes manières selon leur intégrabilité au sein du dispositif (*on-chip* VS *off-chip*), selon la réversibilité de la méthode, à savoir sa capacité à combiner actionnement et détection ou seulement l'une des deux fonctionnalités, ou encore selon la nature physique du phénomène impliqué. Sur la base de ce dernier critère, pléthore de techniques sont applicables : transduction piézoélectrique, transduction capacitive, transduction magnétique, transduction diélectrique, actionnement thermoélastique par effet Joule ou photo-induit, actionnement à base de matériaux ou alliages à mémoire de forme ainsi que de polymères électro-actifs, détection optique, détection capacitive, détection piézorésistive, détection à l'aide d'un transistor à un seul électron ... Si la description de l'ensemble de ces méthodes dépasse largement le cadre de cet aperçu, différentes techniques couramment mises en œuvre au niveau des nanosystèmes seront néanmoins présentées. Un accent particulier sera notamment mis sur les méthodes de transduction capacitive, piézoélectrique et par couche diélectrique en vue de la comparaison de leurs effectivités.

#### 2.3.1 Actionnement thermoélastique

Cette méthode d'actionnement repose sur l'échauffement localisé d'une structure bicouche. L'expansion non uniforme des deux matériaux avec la température, résultant de la différence des coefficients de dilatation thermique, est responsable de l'apparition de contraintes axiales à l'origine d'un moment de flexion. L'échauffement localisé peut être réalisé par effet Joule via la circulation d'un courant électrique au niveau d'une boucle conductrice intégrée au résonateur [25], ou être photo-induit via la focalisation d'un faisceau laser à sa surface [37] [38] [39]. Les changements périodiques de température résultant de l'excitation appliquée permettent ainsi de mettre en vibration la structure mécanique. L'efficacité d'actionnement de cette méthode dépend fortement de la capacité du système à suivre la cadence imposée par l'excitation. Si la fréquence d'excitation est supérieure à l'inverse de la constante de temps thermique du bicouche, un retard est alors induit entre l'excitation et la réponse du système qui n'a pas le temps d'équilibrer sa

température avec l'environnement entre les pics de chaleur. En comparaison d'autres techniques, l'actionnement thermoélastique a pour inconvénient de nécessiter des puissances d'opération plus importantes, ou de manquer d'intégrabilité dans le cas d'un échauffement photo-induit.

### 2.3.2 Détection piézorésistive

Cette technique de détection, très répandue dans le domaine des microsystèmes, est également largement utilisée pour des résonateurs NEMS [6] [10] [40] [41]. Elle repose sur les variations de résistance au sein d'un matériau piézorésistif couplé à un résonateur, résultant des déformations engendrées par la vibration mécanique. Une polarisation en courant de l'élément piézorésistif permet de mesurer les variations de tension résultant des changements de résistance. La sensibilité de cette technique repose étroitement sur le choix du matériau ainsi que sa localisation au niveau du résonateur. C'est pourquoi l'élément piézorésistif est généralement localisé à l'encastrement, à savoir là où les contraintes sont maximales. Le choix du matériau est en partie influencé par son facteur de jauge. Ce paramètre constitue la figure de mérite du matériau piézorésistif. Il caractérise le couplage électromécanique reliant la déformation mécanique  $\varepsilon$  à la variation de résistance électrique  $\Delta R$  selon :  $Y = \Delta R / (R\varepsilon)$ . Deux effets sont responsables de la variation de résistance sous l'effet d'une contrainte appliquée. Le premier est de nature géométrique. La déformation engendre en effet une variation géométrique de l'élément piézorésistif, à l'origine d'une variation de résistance. Cet effet résultant de la déformation élastique du matériau est toutefois relativement modéré. L'effet prépondérant correspond au changement de résistivité induit par la dilatation. Ces deux effets distincts correspondent respectivement aux premier et second termes de l'expression du facteur de jauge [10]:

$$Y = (1 + \nu) + \frac{\Delta\rho}{\rho} \frac{1}{\varepsilon} \quad (2.46)$$

Où :  $\nu$  est le coefficient de Poisson du matériau et  $\rho$  sa résistivité (en  $\Omega.m$ ). Cette expression est valable dans le cas d'une couche mince piézorésistive, où l'épaisseur est négligeable devant les dimensions latérales. Dans le cas d'une couche 3D, un facteur 2 est présent devant le coefficient de Poisson, pour prendre en compte la déformation transverse [42]. Si des matériaux possédant un fort facteur de jauge sont généralement recherchés, le gain de sensibilité « matériau » est généralement obtenu au détriment d'une dégradation de la sensibilité de mesure, caractérisée par une perte de puissance du signal à haute fréquence. C'est pourquoi des films métalliques, dont le facteur de jauge est typiquement moins élevé que pour des matériaux semi-conducteurs généralement employés, sont également utilisés car ils permettent une meilleure adaptation d'impédance avec le circuit de détection du fait d'une plus faible résistivité. Li *et al* ont ainsi illustré la sensibilité de résonateurs NEMS à base de carbure de silicium intégrant une couche de 30 nm d'or comme élément piézorésistif et une fine couche sensible de PMMA, pour la détection en temps réel de molécules en phase gazeuse avec une résolution de 100 zg [10]. Le bruit thermique reste néanmoins une limitation de la sensibilité de détection pour une opération à température ambiante. Afin de profiter des attributs avantageux des matériaux semi-conducteurs tout en limitant les pertes de puissance associées, des techniques de mixage fréquentiel peuvent être mises en œuvre. Cette parade, dont le principe consiste à abaisser la fréquence du signal utile

via une détection hétérodyne, a notamment été mise en œuvre avec succès par Bargatin *et al* [41] pour la détection du bruit thermomécanique de résonateurs NEMS vibrant à des fréquences de 71 MHz.

### 2.3.3 Détection optique

Les méthodes de détection optique sont largement mises en œuvre dans le domaine des MEMS. Elles sont notamment le choix de prédilection de la plupart des microscopes à force atomiques (AFM) commerciaux, aussi bien en mode statique (contact) qu'en mode dynamique (*tapping*). La détection sans contact du déplacement transverse d'une structure mécanique peut être réalisée de plusieurs manières. La plus couramment employée dans les systèmes AFM repose sur la mesure au niveau d'une photodiode quatre quadrants (PSPD pour *Position Sensitive Photo Detector*) de la déviation d'un spot laser issu de la réflexion à la surface du levier. Cette technique permet de mesurer des amplitudes de déplacement de l'ordre du nanomètre. D'autres méthodes d'interférométrie optique sont également répandues pour la mesure de vibrations mécaniques avec une résolution sub-nanométrique, comme l'interférométrie Mach-Zehnder et l'interférométrie Fabry-Pérot. La première est notamment implémentée au sein des vibromètres laser Polytec [43] tandis que la seconde a notamment été rapportée par Carr *et al* [17]. Ces deux techniques reposent sur un même principe de fonctionnement, à savoir la mesure au niveau d'un photodétecteur de l'intensité de l'onde résultant de l'interférence entre deux faisceaux laser cohérents : un faisceau de référence et un faisceau réfléchi à la surface du résonateur. La modulation en fréquence du faisceau réfléchi par la vibration du résonateur (effet Doppler) contient les informations caractéristiques de son mouvement dynamique. Dans le cas du vibromètre laser, la démodulation du faisceau résultant permet de déterminer la fréquence de vibration de la structure ainsi que la vitesse et l'amplitude absolue des oscillations mécaniques par le biais d'une détection optique hétérodyne [44]. Les instruments Polytec permettent actuellement d'atteindre une fréquence maximale de mesure de l'ordre de 1.2 GHz avec une résolution de 1.5 pm pour une bande passante de mesure de 2.5 kHz [45]. Dans le cas de l'interféromètre Fabry-Pérot, la démodulation du faisceau résultant permet de déterminer la fréquence de vibration mais ne permet généralement que d'obtenir une valeur non calibrée proportionnelle à l'amplitude des oscillations mécaniques du résonateur.

Les techniques de détection optique ont pour principal avantage de découpler la détection de l'actionnement. Cette « orthogonalité » permet de s'affranchir des problèmes de couplage et d'effets parasites généralement dominants au sein de méthodes de transduction purement électriques. Un inconvénient des méthodes optiques généralement rencontré dans la littérature concerne l'inaptitude à pouvoir caractériser des structures de dimensions latérales sub-micrométriques du fait de la taille minimale du spot laser atteignable, et des problèmes de diffraction. On peut toutefois noter une certaine contradiction avec les résultats rapportés par Carr *et al* [46] sur la mesure de la résonance de nanofils de silicium de 45 nm de large par interférométrie optique. En revanche, les dispositifs de détection optique restent encore relativement peu intégrables.

### 2.3.4 Transduction magnétostatique

La transduction magnétostatique s'est notamment illustrée dans les travaux menés par l'équipe du Prof. M. Roukes sur des poutres bi-encastées [24] [47]. Cette technique n'est cependant pas limitée à ce type de structures. Dans cette méthode, l'élément mécanique fait partie d'une boucle conductrice. La circulation d'un courant alternatif au sein de la boucle en présence d'un champ magnétique statique induit une force de Lorentz responsable de la mise en vibration de la structure. Selon l'orientation du champ magnétique, la force peut induire un déplacement latéral dans le plan du résonateur ou un déplacement transverse hors-plan. L'amplitude de la force d'excitation  $F_{Lorentz}$  est proportionnelle à l'intensité du champ magnétique  $B$  et du courant électrique  $I$  appliqués, ainsi qu'à la longueur  $L$  du levier selon la relation [20]:

$$F_{Lorentz}(\omega) = LBI(\omega) \quad (2.47)$$

Cette méthode peut également être appliquée à la détection des oscillations du résonateur. Le mouvement du résonateur au sein du champ magnétique génère une variation temporelle du flux du champ magnétique, qui induit en retour une force électromotrice au sein de la boucle conductrice pouvant être amplifiée puis mesurée.

Le principal avantage de cette méthode est sa large bande passante, permettant d'atteindre des fréquences du GHz [24]. Elle nécessite néanmoins généralement de forts champs magnétiques, typiquement de plusieurs tesla (1-16 T), obtenus avec des aimants supraconducteurs devant être opérés à des températures cryogéniques, compliquant ainsi la mise en œuvre et l'intégrabilité de cette technique. Des efforts d'intégration *on-chip* de nano-aimants au voisinage des dispositifs ont néanmoins été rapportés dans la perspective d'adresser ces limitations [48].

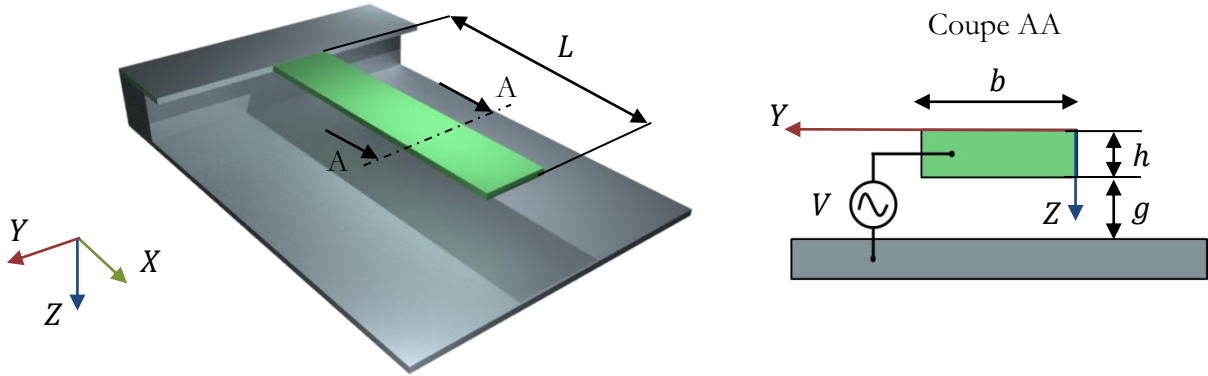
### 2.3.5 Transduction capacitive

Cette méthode de transduction, directement héritée du domaine des MEMS, combine l'actionnement électrostatique et la détection capacitive. Elle repose sur l'utilisation d'un dispositif où l'élément mécanique mobile et le substrat fixe en regard, tous deux conducteurs, sont assimilables aux armatures d'une capacité. Dans le cas d'une opération en mode dynamique du résonateur, l'actionnement est réalisé via l'application d'une différence de potentiels entre les deux armatures, à l'origine d'une force électrostatique entraînant la mise en vibration de la partie mobile (*i.e.* résonateur). La variation de capacité associée aux oscillations mécaniques engendre en retour un courant motionnel permettant la détection du mouvement du résonateur. Les équations liées au principe d'actionnement sont résumées ci-après.

Soit le système représenté sur la figure 2.6, constitué d'une armature mobile (*i.e.* résonateur) et d'une armature fixe en regard séparées par un gap d'air de dimension initiale  $g$  (en m). Le système constitue une capacité  $C$  (en F) définie par :  $C = \epsilon_0 A / (g - u)$ ,  $u$  désignant l'amplitude de déplacement (en m) du résonateur à un instant  $t$  par rapport à sa position au repos,  $\epsilon_0$  la permittivité diélectrique du vide (en F/m), et  $A = bL$  la surface en regard des deux armatures (en



m<sup>2</sup>). Sous l'effet d'une tension appliquée  $V$  (en V), l'énergie emmagasinée (en J) par la capacité s'écrit :  $U_e = CV^2/2$ .



**Figure 2.6** Géométrie d'un levier en configuration d'actionnement électrostatique.

La force électrostatique générée (en N) résulte du gradient de l'énergie emmagasinée selon [49]:

$$F_e = \nabla U_e = \frac{1}{2} \frac{\epsilon_0 A}{(g - u)^2} V^2 \quad (2.48)$$

Cette équation fait apparaître une relation de proportionnalité entre la force électrostatique et le carré de la tension appliquée. Pour obtenir une force d'excitation de même fréquence que la tension appliquée, une tension continue  $V_{DC}$  (en V) peut être ajoutée à la composante alternative  $V_{AC}(t)$  (en V), selon :  $V(t) = V_{DC} + V_{AC}(t) = V_{DC} + V_{AC} \cos(\omega t)$ , de manière à ne conserver que le terme d'excitation en  $\omega$ . Si l'amplitude de la composante alternative est faible devant la composante continue ( $V_{AC} \ll V_{DC}$ ), et avec comme hypothèse de faibles déplacements ( $u \ll g$ ), l'expression de la force électrostatique devient :

$$F_e(t) \approx \frac{\epsilon_0 A}{g^2} V_{DC} V_{AC}(t) \quad (2.49)$$

Cette force  $F(t)$  est uniformément distribuée à la surface du résonateur de sorte que :  $f(x, t) = F_e(t)/L$ . Dans le cadre de l'analogie avec l'oscillateur harmonique (cf. section 2.2.2), la vibration de la poutre mesurée au point  $x_D$  et réduite au voisinage du mode  $k$  considéré peut être décrite par un oscillateur harmonique, dont l'équation différentielle du mouvement est dans ce cas identique à l'expression (2.34). La forçage modal électrostatique (en N), correspondant à la projection de la force électrostatique distribuée sur le mode  $k$  considéré s'écrit :

$$F_k(t) = \int_0^L f(x, t) \varphi_k(x) dx = \frac{F_e(t)}{L} \int_0^L \varphi_k(x) dx \quad (2.50)$$

Dans le cas du mode fondamental ( $k = 1$ ), on a par exemple :  $F_1(t) \approx 0.391 F_e(t)$ .

L'effectivité de la technique est généralement évaluée par son efficacité de transduction. Cette figure de mérite, représentée par le paramètre  $\chi_k$  (en N/V), caractérise du point de vue de l'actionnement la force générée au niveau du résonateur résultant directement de la tension d'excitation appliquée. En injectant (2.49) dans (2.50), on obtient l'expression de l'efficacité de transduction électrostatique :

$$\chi_k = \frac{F_k(t)}{V_{AC}(t)} = \frac{\varepsilon_0 b}{g^2} V_{DC} \int_0^L \varphi_k(x) dx \quad (2.51)$$

Ce paramètre dépend donc de trois contributions : (i) un facteur géométrique faisant intervenir la largeur  $b$  du levier selon une dépendance linéaire ainsi que la distance  $g$  entre les deux armatures avec une dépendance inverse au carré ; (ii) une dépendance linéaire avec la composante continue de la tension d'excitation appliquée ; (iii) un terme modal fonction du mode considéré. Dans le cas du mode fondamental, on a par exemple :  $\chi_1 \approx 0.391 \varepsilon_0 b L V_{DC} / g^2$ .

Du point de vue de la détection, les oscillations de la structure modulent la valeur du gap entre les deux armatures, entraînant donc une variation de capacité à l'origine d'un courant motionnel. Le même paramètre  $\chi_k$  (N/V ou C/m) peut être utilisé pour relier les charges générées à la vibration mécanique. Dans le domaine des MEMS, la capacité motionnelle se situe typiquement dans la gamme  $10^{-9} - 10^{-12}$  F, et est généralement facilement détectable aux faibles fréquences d'opération de ces systèmes. Pour des résonateurs NEMS, la capacité motionnelle se situe plutôt dans la gamme  $10^{-16} - 10^{-18}$  F [20], avec des capacités parasites généralement supérieures de plusieurs ordres de grandeur. La détection du signal utile nécessite alors l'optimisation du design ainsi que la mise en œuvre de schémas électroniques de détection dédiés (mixage fréquentiel, schémas de compensation, ...).

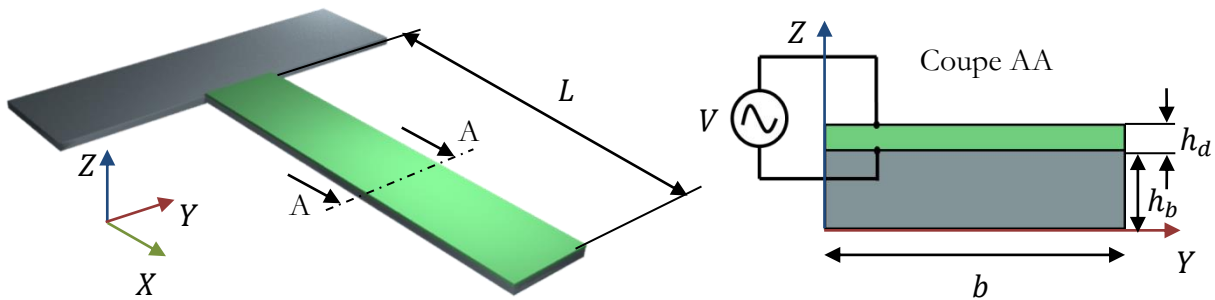
Ce type de transduction offre une intégration technologique relativement directe et compatible avec des procédés de fabrication collectifs sur silicium, dont le dopage est d'ailleurs généralement suffisant pour convertir le substrat en une armature conductrice. Cette méthode est largement utilisée dans le domaine des MEMS pour sa simplicité de mise en œuvre du point de vue technologique, pour l'effectivité des forces électrostatiques à ces échelles, et sa faible consommation de puissance du fait de sa nature capacitive et d'une excitation en tension. La transposition directe de ce moyen de transduction aux nanosystèmes électromécaniques présente néanmoins certaines difficultés. L'efficacité de transduction se trouve généralement limitée par la miniaturisation des dispositifs du fait de la diminution de la surface de l'armature mobile. La réduction de la taille du gap entre les électrodes ne permet de contrebalancer la perte d'efficacité que jusqu'à un certain degré à cause de l'effet de *pull-in*, à savoir l'instabilité du système où les forces électrostatiques ne sont plus compensées par les forces de rappel élastiques conduisant au contact entre les deux électrodes. Le signal électrique issu du résonateur se retrouve également superposé à des effets de couplage capacitif statiques et parasites dont les niveaux sont typiquement supérieurs de plusieurs ordres de grandeur au courant motionnel à détecter. Enfin, ce type de transduction reste encore difficilement applicable à un environnement d'opération en milieu liquide, bien que des stratégies d'encapsulation aient été rapportées pour résoudre les problèmes d'isolation électrique et de collage des structures [50], de même que des parades

permettant de contourner le phénomène d'écrantage des potentiels électriques par les ions mobiles en solution ainsi que le phénomène d'anodisation [51].

### 2.3.6 Transduction par couche diélectrique

L'actionnement par couche diélectrique, ou électrostrictif, a été notamment employé à l'échelle des MEMS par Bouwstra *et al* [52], et est actuellement développé à l'échelle NEMS au sein de notre groupe de recherche par Bernard Legrand et Cécile Fuinel. Le principe de cette méthode repose sur l'utilisation d'une couche mince de matériau diélectrique prise en sandwich entre deux électrodes à la surface d'un résonateur. Sous l'effet d'une différence de potentiels appliquée, une pression électrostatique normale au film est générée entre les deux électrodes. Cette force d'attraction entraîne une compression de l'épaisseur du film conduisant à une déformation longitudinale via le coefficient de Poisson à l'origine d'un moment de flexion. Du point de vue de la détection, la vibration mécanique de la structure se traduit par une déformation longitudinale du film conduisant à une variation d'épaisseur. Cette dernière entraîne une variation de capacité à l'origine d'un courant motionnel sous l'effet d'une composante statique de polarisation appliquée. Cette méthode est relativement similaire dans son principe à la transduction capacitive mais permet de s'affranchir de la présence d'un gap et des problèmes associés, ainsi que d'amplifier l'efficacité de transduction via la permittivité relative du matériau.

Soit le système représenté sur la figure 2.7, constitué d'une couche de matériau diélectrique d'épaisseur  $h_d$  (en m) prise en sandwich entre deux électrodes (supposées d'épaisseurs fines et non représentées sur le schéma), à la surface d'un levier d'épaisseur  $h_b$  (en m), telle que  $h_b \gg h_d$ . L'empilement diélectrique couvre toute la largeur  $b$  (en m) et toute la longueur  $L$  (en m) du levier.



**Figure 2.7** Géométrie d'un levier en configuration d'actionnement par couche diélectrique.

Le système couche diélectrique/électrodes constitue une capacité  $C$  (en F) définie par :  $C = \epsilon_0 \epsilon_d A / h_d$ , avec  $\epsilon_0$  la permittivité diélectrique du vide (en F/m),  $\epsilon_d$  la permittivité relative de la couche diélectrique, et  $A = bL$  la surface de chaque électrode (en  $m^2$ ). Sous l'effet d'une tension  $V$  (en V) appliquée au niveau des électrodes, une pression électrostatique (en  $N/m^2$ ) d'attraction entre les électrodes s'exerce perpendiculairement à la surface du film selon :

$$\sigma_z = -\frac{\varepsilon_0 \varepsilon_d}{2h_d^2} V^2 \quad (2.52)$$

La contrainte axiale  $\sigma_x$  résultante s'obtient à partir des lois constitutives de l'élasticité linéaire, en supposant la contrainte  $\sigma_y = 0$  (hypothèse poutre [53]), selon :

$$\sigma_x = Y_d \varepsilon_x + \nu_d \sigma_z \quad (2.53)$$

Où :  $\nu_d$  est le coefficient de Poisson du diélectrique. Le premier terme traduit l'influence de la raideur de la structure tandis que le second traduit l'effet de la pression électrostatique. Le moment de flexion induit par la contrainte axiale  $\sigma_x$  se calcule à partir de l'intégrale de l'expression précédente au niveau de l'aire  $S$  de la section transverse, multipliée par la distance de chaque fibre de poutre par rapport à l'axe neutre. L'hypothèse d'une couche diélectrique mince en comparaison de l'épaisseur du levier permet d'approximer la position de l'axe neutre à une altitude  $h_b/2$  au sein de la section transverse. Seul le second terme de l'expression relatif à l'excitation appliquée est considéré ici. Le moment induit par cette contribution est donné par :

$$M = [-h_d b(x) \nu_d \sigma_z] \left( \frac{h_b}{2} \right) \quad (2.54)$$

Où le premier terme correspond à la force axiale au niveau du film diélectrique, en considérant que la contrainte  $\nu \sigma_z$  est constante au niveau de sa section transverse (vrai pour une épaisseur faible), tandis que le second terme correspond à la distance entre la force axiale et l'axe neutre à l'origine du moment. La fonction  $b(x)$  est une fonction continue par morceaux définie par :

$$b(x) = b[H(x) - H(x - L)] = \begin{cases} b & \text{si } 0 \leq x \leq L \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (2.55)$$

Où :  $H$  est la fonction échelon permettant de prendre en compte la limitation spatiale des électrodes. La force linéique transverse au levier  $f(x, t)$  (en N/m) s'obtient à partir de la dérivée seconde du moment de flexion, selon :

$$f(x, t) = \frac{-h_d \nu_d \sigma_z h_b}{2} b[\delta'(x) - \delta'(x - L)] \quad (2.56)$$

Où :  $\delta'$  est un doublet représentant la dérivée spatiale d'une distribution de Dirac. Le forçage modal diélectrique (en N), correspondant à la projection de la force distribuée sur le mode  $k$  considéré, s'écrit :

$$F_k(t) = \int_0^L f(x, t) \varphi_k(x) dx = \frac{-h_d \nu_d \sigma_z h_b}{2} b[\varphi_k'(0) - \varphi_k'(L)] \quad (2.57)$$

Où :  $\varphi_k'$  représente la dérivée spatiale de la déformée modale associée au mode  $k$ , avec quel que soit le mode de vibration :  $\varphi_k'(0) = 0$ . En remplaçant  $\sigma_z$  par son expression, la force modale devient :

$$F_k(t) = -\frac{\nu_d \varepsilon_0 \varepsilon_d b h_b}{4h_d} \varphi_k'(L) V(t)^2 \quad (2.58)$$

Comme pour la transduction capacitive, une tension continue  $V_{DC}$  (en V) peut être ajoutée à la composante alternative  $V_{AC}(t)$  (en V), avec  $V_{AC} \ll V_{DC}$  de manière à ne conserver que le terme d'excitation en  $\omega$ . La force modale devient alors:

$$F_k(t) = -\frac{\nu_d \varepsilon_0 \varepsilon_d b h_b}{2h_d} \varphi'_k(L) V_{DC} V_{AC}(t) \quad (2.59)$$

L'effectivité de la technique est donnée par son coefficient de transduction (en N/V):

$$\chi_k = \frac{F_k(t)}{V_{AC}(t)} = -\frac{b h_b}{2h_d} \nu_d \varepsilon_0 \varepsilon_d \varphi'_k(L) V_{DC} \quad (2.60)$$

Dans le cas du mode fondamental de vibration ( $k = 1$ ) la pente de la déformée à l'extrémité libre du levier vaut:  $\varphi'_k(L) \approx 1.376/L$ . L'efficacité de transduction dépend donc de quatre contributions: (i) un facteur géométrique faisant intervenir notamment l'épaisseur  $h_d$  de la couche diélectrique et la largeur  $b$  du levier; (ii) une contribution matériau avec le coefficient de Poisson  $\nu_d$  et surtout la permittivité diélectrique relative  $\varepsilon_d$ ; (iii) un facteur lié au mode de vibration caractérisé par la pente de la déformée modale  $\varphi'_k(L)$  pour une couche faisant toute la longueur du levier; (iv) la composante continue de la tension appliquée  $V_{DC}$ .

Cette méthode est prometteuse et, bien que similaire à la transduction capacitive, présente plusieurs avantages. L'absence de gap permet de s'affranchir des problèmes de collage et de *pull-in* associés, autorisant ainsi de dépasser la contrainte des « 1/3 de gap » autorisés pour l'amplitude des oscillations dans la limite où la tension appliquée reste inférieure à la tension de claquage du matériau. Les dépôts ALD (*Atomic Layer Deposition*) permettent d'envisager l'obtention de couches ultra-minces de quelques dizaines de nanomètres de matériaux *high-K* de forte permittivité, comme l' $\text{Al}_2\text{O}_3$  ( $\varepsilon_d = 9.1$ ), le  $\text{HfO}_2$  ( $\varepsilon_d = 20$ ) ou encore le  $\text{SrTiO}_3$  ( $\varepsilon_d = 230$ ), constituant un gain d'amplification significatif par rapport à une transduction capacitive.

### 2.3.7 Transduction piézoélectrique

La piézoélectricité est une propriété physique que possèdent certains matériaux cristallins. Sur les 32 classes cristallographiques (également appelées groupes ponctuels), la piézoélectricité est seulement présente au sein de 20 classes non centro-symétriques. A une exception près, l'absence de centre de symétrie au sein de la maille cristalline constitue en effet un prérequis à l'existence de la piézoélectricité. Cette propriété physique correspond à un couplage électromécanique au sein du matériau responsable de deux effets. L'application d'une contrainte induit une polarisation du matériau: c'est l'effet piézoélectrique direct. A l'inverse, le matériau a tendance à se déformer mécaniquement sous l'effet d'un champ électrique appliqué: c'est l'effet piézoélectrique inverse. La polarisation qui apparaît sous l'effet d'une contrainte appliquée a pour origine la formation de dipôles électriques au sein du matériau, résultant de la séparation des barycentres des charges positives et négatives au niveau de la maille cristalline du fait de sa déformation. Si les moments dipolaires ainsi créés possèdent une orientation commune, ou tout du moins des orientations

collectivement non défavorables, il en résulte une polarisation macroscopique du matériau se traduisant par l'apparition de charges électriques de signes opposés au niveau des faces en regard.

Les matériaux piézoélectriques étant anisotropes, leurs propriétés sont représentées par des tenseurs. Les équations linéaires constitutives de la piézoélectricité sont données dans le cadre général par la norme IEEE *Standard on Piezoelectricity* (1987) [54]. Les équations données ci-dessous correspondent au cas particulier d'un levier selon l'hypothèse poutre ( $\sigma_y = \sigma_z = 0$  [53]), dont le matériau piézoélectrique est considéré comme linéaire, homogène et isotrope avec un module d'élasticité  $Y_p$  (en Pa) et une permittivité diélectrique relative  $\varepsilon_p$ . Il existe deux représentations possibles de ces équations selon la base de variables thermodynamiques indépendantes choisie. Dans la représentation  $(S, E)$ , *i.e.* avec la déformation  $S$  et le champ électrique  $E$  (en V/m) choisis comme variables indépendantes, les équations constitutives de la piézoélectricité sont données par les relations :

$$\begin{aligned}\sigma_1 &= Y_p S_1 - e_{31} E_3 \\ D_3 &= e_{31} S_1 + \varepsilon_p E_3\end{aligned}\tag{2.61}$$

Une forme alternative utilise la représentation  $(\sigma, E)$  correspondant au choix de la contrainte  $\sigma$  (en Pa) et du champ électrique  $E$  (en V/m) comme variables indépendantes. Les équations constitutives s'écrivent alors dans cette représentation selon :

$$\begin{aligned}S_1 &= \frac{1}{Y_p} \sigma_1 + d_{31} E_3 \\ D_3 &= d_{31} \sigma_1 + \varepsilon_p E_3\end{aligned}\tag{2.62}$$

Ces représentations font respectivement apparaître les coefficients piézoélectriques transverses  $e_{31}$  (en C/m<sup>2</sup>) et  $d_{31}$  (en m/V) qui constituent l'une des figures de mérite des matériaux piézoélectriques. Le coefficient  $e_{31}$  est plus généralement rapporté dans la littérature car il peut être directement mesuré par les méthodes de caractérisation de films minces piézoélectriques [55], tandis que la détermination du  $d_{31}$  nécessite de connaître les constantes élastiques du matériau [56]. Dans le cas de l'hypothèse poutre, la relation de passage est simplement donnée par:  $e_{31} = Y_p d_{31}$ . En considérant le repère défini dans la figure 2.7, les notations indicielles des directions correspondent respectivement à : (1 = X), (2 = Y) et (3 = Z).

Les effets piézoélectriques inverse et direct peuvent respectivement être mis à profit pour l'actionnement et la détection de micro et nanosystèmes. Dans le cas d'un film piézoélectrique pris en sandwich entre deux électrodes à la surface d'un résonateur, l'application d'un champ électrique transverse au niveau du film engendre, par effet piézoélectrique inverse, une contrainte axiale asymétrique dont le décalage par rapport à l'axe neutre induit un moment de flexion. Une excitation harmonique permet donc la mise en oscillations de la structure mécanique. En retour, une polarisation du film apparaît par effet piézoélectrique direct, du fait de la déformation de la couche résultant du mouvement de flexion de la structure.

Si l'on considère une configuration similaire au cas précédent (cf. figure 2.7), à savoir une couche piézoélectrique d'épaisseur  $h_p$  très faible devant l'épaisseur  $h_b$  du levier et recouvrant toute la surface du levier, alors le calcul de la force modale résultant du moment de flexion induit par la contraction latérale du film piézoélectrique sous l'effet d'une polarisation purement alternative est réalisé de la même manière que précédemment [57]. L'expression de la force modale est de la forme :

$$F_k(t) = -\frac{be_{31}h_b}{2}\varphi'_k(L)V_{AC}(t) \quad (2.63)$$

L'effectivité de la technique est donnée par son coefficient de transduction (en N/V):

$$\chi_k = \frac{F_k(t)}{V_{AC}(t)} = -\frac{bh_b}{2}e_{31}\varphi'_k(L) \quad (2.64)$$

L'efficacité de transduction dépend essentiellement de deux contributions : (i) une contribution matériau avec le coefficient piézoélectrique  $e_{31}$  ; (ii) un facteur lié au mode de vibration caractérisé par la pente de la déformée modale  $\varphi'_k(L)$  pour une couche faisant toute la longueur du levier.

Pour que l'intégration du transducteur piézoélectrique soit compatible avec des micro/nanosystèmes, la structuration du matériau au format film mince est essentielle. Ce prérequis restreint grandement le panel de matériaux piézoélectriques intégrables. Les matériaux principalement employés au sein de dispositifs MEMS/NEMS sont l'oxyde de zinc (ZnO) [58], le nitrure d'aluminium (AlN) [59] et le titano-zirconate de plomb (PZT) [60], bien que l'utilisation d'autres matériaux semi-conducteurs tels que l'arséniure de gallium (GaAs) ait été rapportée [26]. Ces différents matériaux peuvent être distingués selon leur structure cristallographique. Le ZnO et l'AlN sont tous deux des matériaux semi-conducteurs à grand gap (3.37 eV pour le ZnO et 6.2 eV pour l'AlN) qui cristallisent selon une structure wurtzite (système hexagonal). Cette structure est caractérisée notamment par une faible symétrie responsable d'une polarisation instantanée selon son axe  $c$  à l'issue de la cristallisation. Ces matériaux ne sont pas ferroélectriques, ce qui implique que l'orientation de leurs moments dipolaires est directement dépendante des paramètres de croissance et de cristallisation. Le ZnO possède ainsi des valeurs moyennes de  $e_{31}$  comprises dans la gamme [0.39 - 0.66] C/m<sup>2</sup> au format film mince. L'AlN possède des propriétés électriques relativement voisines. Ivaldi *et al* [59] ont notamment rapporté un  $e_{31}$  de 0.8 C/m<sup>2</sup> pour un film d'AlN de 50 nm d'épaisseur intégré à la surface de résonateurs NEMS.

Le PZT ( $\text{PbZr}_{1-x}\text{Ti}_x\text{O}_3$ ) possède une structure de type pérovskite qui peut cristalliser sous plusieurs formes. Au-dessus de sa température de Curie (200 – 350 °C), le PZT est paraélectrique et cristallise selon une structure cubique pour laquelle les barycentres des charges positives et des charges négatives sont confondus. En dessous de sa température de Curie, le PZT est ferroélectrique et différentes structures cristallographiques deviennent possibles en fonction des proportions de Zr et de Ti. Pour  $x < 0.45$ , la prédominance du zirconium est à l'origine d'une cristallisation selon la structure rhomboédrique. Le PZT possède alors un moment dipolaire permanent. Pour  $x > 0.55$ , le PZT cristallise selon la structure tétragonale. Le cas  $0.45 < x < 0.55$  correspond à la phase morphotropique constituée d'un mélange des structures rhomboédrique et

tétraгонаle. Les propriétés piézoélectriques du PZT sont les meilleures au voisinage de cette phase. Son coefficient piézoélectrique est près de dix fois supérieur à ceux de l'AlN et du ZnO. Arndt *et al* [60] ont notamment rapporté un coefficient  $e_{31}$  de 5 C/m<sup>2</sup> pour un film de PZT de 120 nm d'épaisseur à la surface de leviers de dimensions micrométriques. La nature ferroélectrique du PZT constitue également un avantage important puisqu'elle autorise le réalignement des dipôles électriques au sein des différents domaines à l'issue du procédé de fabrication [60]. En revanche, il a pour principal inconvénient de ne pas être CMOS-compatible (*Complementary Metal Oxide Semiconductor*), contrairement à l'AlN qui, en dépit de performances plus faibles, reste néanmoins compétitif. De plus, les procédés de fabrication et d'intégration de l'AlN semblent en avance technologiquement par rapport à ceux du PZT, du moins dans le domaine des NEMS, comme en témoignent notamment les travaux de Karabalin *et al* [61] ainsi que ceux d'Ivaldi *et al* [59] où des coefficients piézoélectriques proches des valeurs de matériaux plus massifs ont été rapportées.

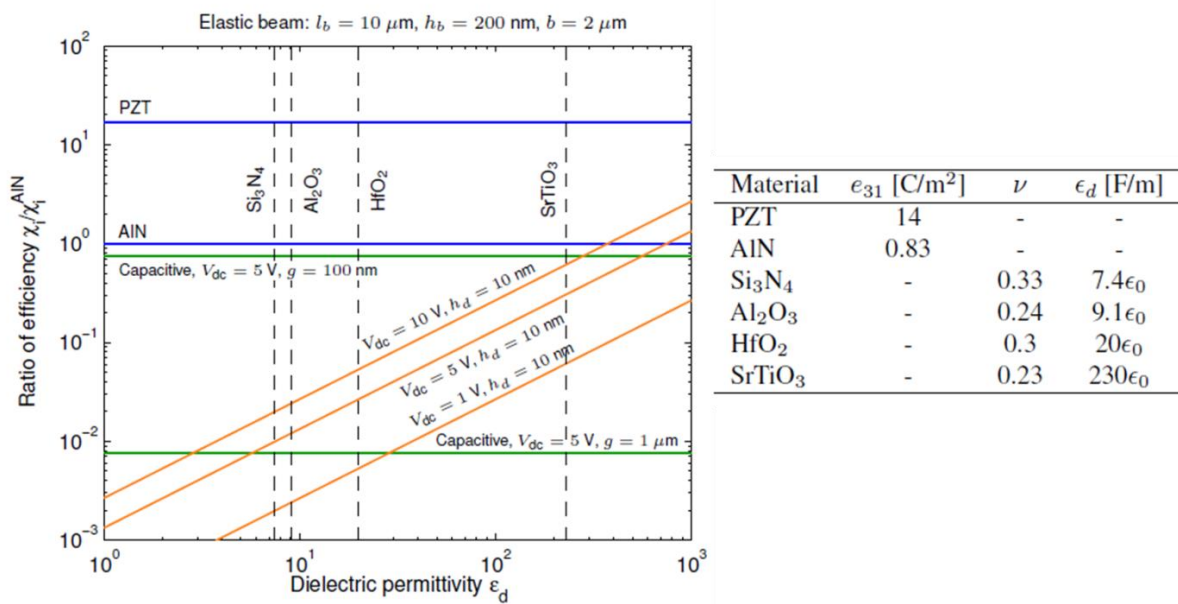
En comparaison des autres techniques de transduction, l'approche piézoélectrique présente de nombreux avantages. Outre une plus grande efficacité de transduction, la transduction piézoélectrique a également pour avantage de pouvoir opérer les dispositifs à de faibles puissances d'opération contrairement à d'autres méthodes comme l'actionnement thermoélastique par effet Joule par exemple. Masmanidis *et al* [26] ont notamment rapporté des puissances d'excitation de l'ordre du fW pour des dispositifs intégrant une couche de 200 nm de GaAs, avec une détection optique de la réponse mécanique de structures excitées à 5  $\mu$ V. La détection quant à elle ne consomme aucune puissance, hormis celle nécessaire à l'alimentation des composants électroniques du schéma de détection. Elle constitue une solution entièrement intégrable et qui n'est pas sujette aux problèmes liés à la présence d'un gap entre la structure et le substrat.

### 2.3.8 Comparatif des techniques de transduction

La comparaison en termes de performances des différentes méthodes d'actionnement et de détection est un exercice délicat restant très peu adressé dans la littérature. La contribution de Bell *et al* [62] est à notre connaissance le seul exemple d'étude comparative ayant été rapporté dans le domaine des MEMS, pourtant commercialisés depuis plus de trente ans. A l'échelle des NEMS, ce type d'étude est inexistant. Outre la diversité des phénomènes physiques mis en jeu, la principale difficulté réside dans la miniaturisation des couches actives et la variation associée des propriétés matériau par rapport à un format massif ou même micrométrique. Thomas *et al* [63] ont récemment proposé une étude quantitative permettant de comparer les efficacités de transduction des techniques capacitive, piézoélectrique et par couche diélectrique. Les équations développées dans cette section s'appuient en grande partie sur cette étude. Le comparatif établi est rapporté au niveau de la figure 2.8. Le graphe représente l'efficacité de transduction  $\chi_i$  de la technique considérée par rapport à l'efficacité  $\chi_i^{AlN}$  d'une transduction piézoélectrique intégrant une couche d'AlN choisie comme référence, pour une géométrie de levier donnée dont la surface est entièrement recouverte par la couche active. La couche de référence possède un coefficient piézoélectrique de 0.8 C/m<sup>2</sup>, correspondant à la valeur rapportée par Ivaldi *et al* [59] pour une



couche d'AlN de 50 nm d'épaisseur. L'efficacité de transduction piézoélectrique se démarque significativement pour l'AlN et d'autant plus pour le PZT. La transduction capacitive reste légèrement inférieure tandis que la réalisation de couches ultra-minces de diélectriques *high-K*, et notamment de SrTiO<sub>3</sub>, permettrait de concurrencer les deux autres techniques. Il est important de garder à l'esprit que les propriétés matériau restent étroitement dépendantes du procédé de fabrication, et que leur intégration à ces échelles pourrait clairement affecter le comportement attendu. Le comparatif des différentes techniques proposé dans cette étude est davantage orienté vers un aspect actionnement que vers un aspect détection, l'effectivité de la détection étant essentiellement déterminée par le schéma de détection employé et sujette à divers effets de couplage et effets parasites.



**Figure 2.8** Comparaison des efficacités de transduction des méthodes piézoélectriques (en bleu), diélectriques (en orange) et capacitives (en vert). Reproduit d'après [63].

## 2.4 Contexte et objectifs de ces travaux

Au vu des avantages et inconvénients des différentes méthodes de transduction, l'approche piézoélectrique apparaît particulièrement attrayante comme moyen de transduction intégré pour des dispositifs NEMS. En particulier le PZT présente des performances de transduction supérieures en comparaison des autres matériaux au format film mince [64]. Cependant son intégration à des échelles sub-nanométriques au sein de nanosystèmes constitue un réel défi en termes de préservation des propriétés piézoélectriques, ferroélectriques et diélectriques. Il est en effet connu que les propriétés piézoélectriques et diélectriques des films ont tendance à se dégrader avec la réduction des dimensions du matériau [65]. A titre de comparaison, une céramique PZT optimisée au format massif (Motorola 3203HD) possède un coefficient piézoélectrique  $e_{31}$  de 25 C/m<sup>2</sup> [66]. Pour des couches de PZT considérées comme films minces,

la plus forte valeur de coefficient piézoélectrique a été rapportée par Calame *et al* [67] avec un  $e_{31}$  de 18 C/m<sup>2</sup>. Cependant, cette valeur a été obtenue pour un film non structuré d'une épaisseur de 2 µm et selon un procédé particulièrement complexe. Des valeurs plus typiques pour des films de mêmes dimensions se situent dans la gamme [6.73 – 12.1] C/m<sup>2</sup> [68]. Dubois *et al* [56] rapportent pour des couches minces d'épaisseurs comprises entre 430 et 510 nm obtenues par pulvérisation des valeurs de coefficients piézoélectriques entre 3.78 et 5.12 C/m<sup>2</sup>. Si des résultats d'intégration prometteurs ont été rapportés par Arndt *et al* [60] pour un film de PZT de 120 nm d'épaisseur à la surface de leviers de dimensions micrométriques (40 × 80 µm<sup>2</sup>), la préservation de l'intégrité des propriétés matériau lors de sa miniaturisation reste encore un défi complexe à relever. Elle constitue pourtant un prérequis indispensable en vue de leur intégration comme moyen de transduction au sein de nanosystèmes.

La détérioration des propriétés piézoélectriques associée à la réduction de l'épaisseur du film a plusieurs origines : des défauts d'orientation préférentielle des domaines liés au procédé de fabrication [69], une perte de mobilité des parois de domaines associée à la réduction de la taille des grains et à l'influence du substrat [70], des effets d'interfaces du film avec les électrodes [71], ... et donc globalement à la présence de défauts associés à l'augmentation du rapport surface sur volume. Bastani *et al* [72] rapportent notamment une épaisseur critique de l'ordre de 50 nm, pour des films de PZT synthétisés par voie sol-gel, en dessous de laquelle une altération majeure de la réponse piézoélectrique est observée. La méthode de structuration du film constitue également un facteur déterminant dans la préservation des propriétés diélectriques, ferroélectriques et piézoélectriques du film. Traditionnellement, la fabrication d'un transducteur piézoélectrique repose sur le dépôt pleine plaque des différentes couches de l'empilement, suivi d'une structuration par gravure ionique réactive (RIE) ou chimique. Ces méthodes sont néanmoins responsables de la génération de défauts. Plusieurs travaux [73] [74] ont en effet rapporté la détérioration des propriétés du matériau piézoélectrique dans le cas d'une structuration par RIE. Le bombardement du matériau par des ions très énergétiques peut conduire à la modification de sa structure chimique et notamment de sa stœchiométrie, à de la contamination de surface par des résidus de gravure, à une amorphisation de la surface exposée, et qui peut également engendrer des dommages au sein de la structure cristalline (dislocations) ou l'implantation de charges indésirables. Si ces effets de « bord » sont généralement sans conséquence pour de larges dimensions de motifs, ils constituent cependant une réelle limitation dans le cas d'un confinement latéral important. La structuration par gravure humide est quant à elle difficilement implémentable pour des motifs de petites dimensions à cause du phénomène de sous-gravure mais aussi dans certains cas du fait de la sensibilité chimique d'autres matériaux en présence. Le développement de moyens alternatifs de structuration de films minces piézoélectriques par rapport aux méthodes conventionnelles constitue donc un réel enjeu afin de préserver les propriétés électriques du matériau [75].

C'est dans ce contexte qu'un projet multidisciplinaire d'intégration d'un moyen de transduction piézoélectrique à base de PZT au sein de résonateurs NEMS a été initié en partenariat avec plusieurs laboratoires de recherche académique. Ce projet, initialement démarré en 2009, a notamment été porté par la thèse de Samuel Guillon dont j'ai poursuivi les travaux à mon arrivée au LAAS. L'intégration d'un moyen de transduction fiable et compatible avec un procédé technologique de fabrication à l'échelle du wafer constituent les principaux défis adressés

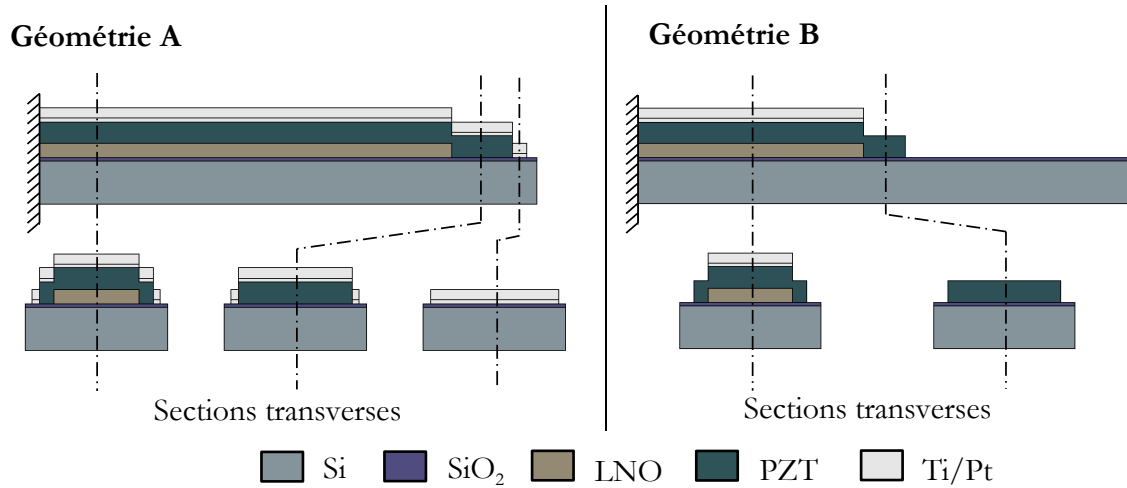
par ce projet, avec comme perspective à plus long terme de disposer d'outils de biodétection performants. Ces travaux sont les premiers du genre à être réalisés au sein de l'équipe NanoBioSystèmes, et s'inscrivent dans la continuité d'actions menées à l'échelle des microsystèmes. Afin d'adresser les différentes problématiques technologiques, matériau, modélisation et caractérisation associées à la mise en œuvre d'un tel projet, des efforts conjoints entre les différentes partenaires, à savoir le LAAS (Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des Systèmes), l'IEMN (Institut d'Electronique de Microélectronique et de Nanotechnologie), le LPMCN (Laboratoire de Physique de la Matière Condensée et Nanostructures) et le CNAM-LMSSC (Laboratoire de Mécanique des Structures et des Systèmes Couplés du Conservatoire National des Arts et Métiers), ont été développés afin de bénéficier de différents domaines d'expertise scientifique. La partie modélisation a ainsi été développée par le Prof. Olivier Thomas du CNAM, le design a été conjointement développé par le LAAS et le LPMCN qui a également contribué à des études préliminaires, la partie structuration et intégration du matériau PZT a été réalisée par l'équipe du Prof. Denis Remiens de l'IEMN, tandis que la fabrication technologique ainsi que les caractérisations mécaniques des dispositifs ont été portées par le LAAS.

## 2.5 Design et modèle

Dans la perspective d'adresser les problématiques d'intégration à l'échelle du wafer et de préservation de l'intégrité du film piézoélectrique à la surface des nanoleviers, une approche combinant la lithographie optique par projection à une structuration par *lift-off* a constitué le choix de départ. La photolithographie *i-line* (365 nm) combinée à un système optique de projection permettant la réduction des cotes masque d'un facteur 5 et d'atteindre une résolution de 350 nm avec une précision d'alignement de 30 nm (UV stepper photo-répéteur, I-line FPA 3000 i4/i5, N.A. 0.63, Canon Inc.), a ainsi été retenue comme approche de fabrication collective. La structuration par *lift-off* du matériau piézoélectrique correspond à la stratégie envisagée afin de limiter les effets de dégradation des propriétés de la couche piézoélectrique généralement associés avec une structuration conventionnelle de type RIE ou gravure humide.

Le design développé est destiné à la fabrication des dispositifs à partir d'un wafer 100 mm. Chaque puce ( $16 \times 16 \text{ mm}^2$ ) comporte au total 256 nanoleviers de différentes tailles et différentes configurations d'empilement. L'architecture de la puce est constituée de 64 réseaux de 4 nanoleviers, les leviers étant de même largeur mais de longueurs différentes au sein d'un même réseau. Les dimensions latérales des structures au sein de la puce varient entre  $1.6 \mu\text{m}$  et  $5 \mu\text{m}$  de large, et entre  $6 \mu\text{m}$  et  $12 \mu\text{m}$  de long. Un empilement multicouche composé d'un film mince de PZT de 150 nm d'épaisseur pris en sandwich entre une électrode inférieure de nickel-lanthane ( $\text{LaNiO}_3$  ou LNO) de 100 nm d'épaisseur et une électrode supérieure en titane/platine (Ti/Pt) de 10/120 nm d'épaisseur, constitue le transducteur piézoélectrique intégré à la surface de chaque levier. Deux géométries d'empilement piézoélectrique ont été implémentées (cf. figure 2.9). Dans la configuration A, l'empilement fait quasiment toute la longueur du levier et chacune des couches recouvre complètement la couche sous-jacente. Dans la configuration B, seulement la moitié de la longueur du levier est couverte par l'empilement multicouche, au sein duquel les électrodes supérieure et inférieure ont les mêmes dimensions. Dans tous les cas, les électrodes

sont isolées par la couche de PZT. Au niveau de chaque réseau, des pads de métallisation sont implémentés à proximité de l'encastrement pour la prise de contact au niveau des électrodes supérieure et inférieure. Des interconnexions électriques permettent d'adresser individuellement chacun des réseaux par le biais de l'électrode supérieure, et un adressage collectif de l'ensemble des réseaux par le biais de l'électrode inférieure.



**Figure 2.9** Représentation schématique des deux configurations d'empilement piézoélectrique prévues dans le design.

Au voisinage de sa fréquence fondamentale de résonance, l'amplitude de déplacement  $u_t$  (en m) du levier mesurée à son extrémité libre est approchée par un modèle équivalent à un degré de liberté selon :

$$\ddot{u}_t + \frac{\omega_0}{Q} \dot{u}_t + \omega_0^2 u_t = \frac{1}{M_{eff}} (p_0 L - \chi_p V) \quad (2.65)$$

Avec :  $\omega_0$  la pulsation de résonance du mode fondamental (en rad/s),  $Q$  le facteur de qualité, et  $L$  la longueur du levier (en m). Cette équation générale fait intervenir deux termes de force qui seront exploités dans la suite de ces travaux. Le premier terme  $p_0$  représente un forçage distribué (en N/m) qui sera notamment associé à la force thermomécanique. Le second terme  $\chi_p V$  est associé à l'actionnement piézoélectrique, où  $V$  (en V) désigne la tension appliquée et  $\chi_p$  représente l'efficacité de transduction piézoélectrique (en N/V) qui diffère de celle donnée par (2.64) du fait de la non uniformité de l'empilement. L'expression de la masse effective  $M_{eff}$  va dépendre du forçage appliqué. Deux masses effectives seront considérées : celle correspondant au cas où seul le terme associé au forçage  $p_0$  est présent, et celui où seul l'actionnement piézoélectrique est présent. Leurs expressions seront définies par la suite.

Au vue de la singularité et de la complexité de l'empilement multicouche présent en surface des leviers, avec notamment une section transversale variable selon la coordonnée axiale,

l'applicabilité des modèles multicouches analytiques classiques (cf. section 2.2.1.2) pour la modélisation du comportement mécanique est limitée. Un modèle par éléments finis a donc été développé par notre collègue Olivier Thomas du CNAM afin de prendre en compte la géométrie et la configuration exactes de l'empilement. Si l'équation analytique (2.65) reste une approximation valide du comportement mécanique du levier, les différents paramètres  $m(x)$ ,  $\varphi(x)$ ,  $M_{eff}$ ,  $\chi_p$ , ainsi que  $\omega_0$  sont calculés par le biais du modèle éléments finis. Le modèle est basé sur une modélisation 1D du levier, avec comme hypothèses celles de la théorie d'Euler-Bernoulli et un champ électrique uniforme au sein de la couche piézoélectrique. Cent éléments finis sont utilisés au sein du modèle, ce qui permet de modéliser avec précision la variabilité de la masse et de la raideur équivalentes de l'empilement en fonction de la coordonnée axiale. Un descriptif détaillé du modèle est notamment rapporté dans [53] et [76]. Les constantes propres aux matériaux utilisés pour les calculs sont répertoriées dans le tableau 2.1. Les modules d'élasticité du Si, SiO<sub>2</sub>, PZT et du Pt sont issues de [77] tandis que celles du LNO et du Ti sont respectivement tirées de [78] et [79]. Les valeurs des masses volumiques correspondent à celles des matériaux massifs.

**Tableau 2.1** Valeurs des différentes constantes matériau utilisées pour les calculs numériques.

Matériau	Epaisseur (nm)	Masse volumique (kg/m <sup>3</sup> )	Module d'élasticité (GPa)
Si	340	2500	169
SiO <sub>2</sub>	30	2150	70
LNO	100	7215	180
PZT	150	7800	96
Ti	12	4510	110
Pt	120	21450	145

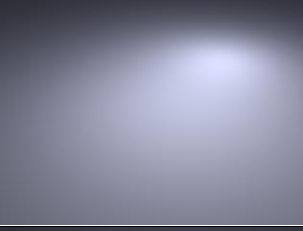
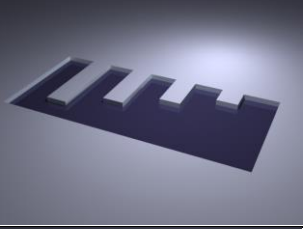
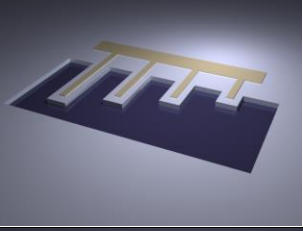
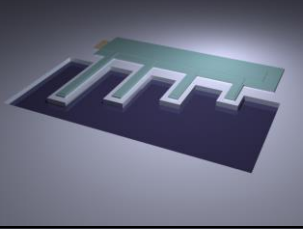
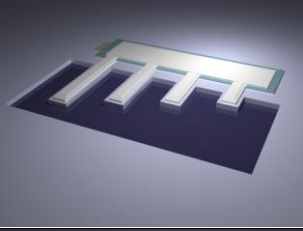
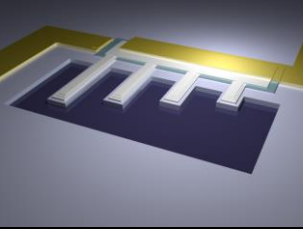
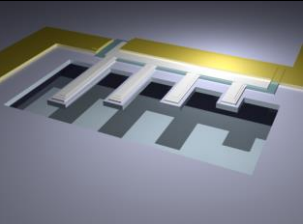
## 2.6 Procédé de fabrication

La fabrication des dispositifs est réalisée à partir de wafers SOI (*Silicon-On-Insulator*: Si/SiO<sub>2</sub>/Si (340 nm/1  $\mu$ m/525  $\mu$ m), Soitec Inc.) de diamètre 100 mm d'orientation (100) et de type P. Ce type de substrat permet une libération des structures par gravure chimique de l'oxyde sacrificiel. Une étape d'oxydation thermique est initialement réalisée afin d'obtenir une couche d'isolant électrique d'oxyde de silicium (SiO<sub>2</sub>) de 30 nm en surface. Le profil des nanostructures est ensuite défini par gravure ionique réactive (RIE) du SiO<sub>2</sub> thermique (CF<sub>4</sub>: 40 sccm, puissance RF: 39 W, puissance ICP: 500 W, temps de gravure: 35 s, AMS4200, Alcatel Inc.) et du silicium supérieur du SOI (C<sub>4</sub>F<sub>8</sub>: 400 sccm, SF<sub>6</sub>: 300 sccm, puissance RF: 60 W, puissance ICP: 2800 W, pression: 0.07 mbar, température de thermalisation du wafer: -5 °C, temps de gravure: 20 s, AMS4200, Alcatel Inc.) avec arrêt sur l'oxyde enterré.

Les étapes suivantes visent à l'intégration du transducteur piézoélectrique à la surface des nanoleviers. La réalisation de l'empilement de transduction comporte trois étapes de dépôt et structuration, à savoir le dépôt de l'électrode inférieure, du film piézoélectrique et de l'électrode

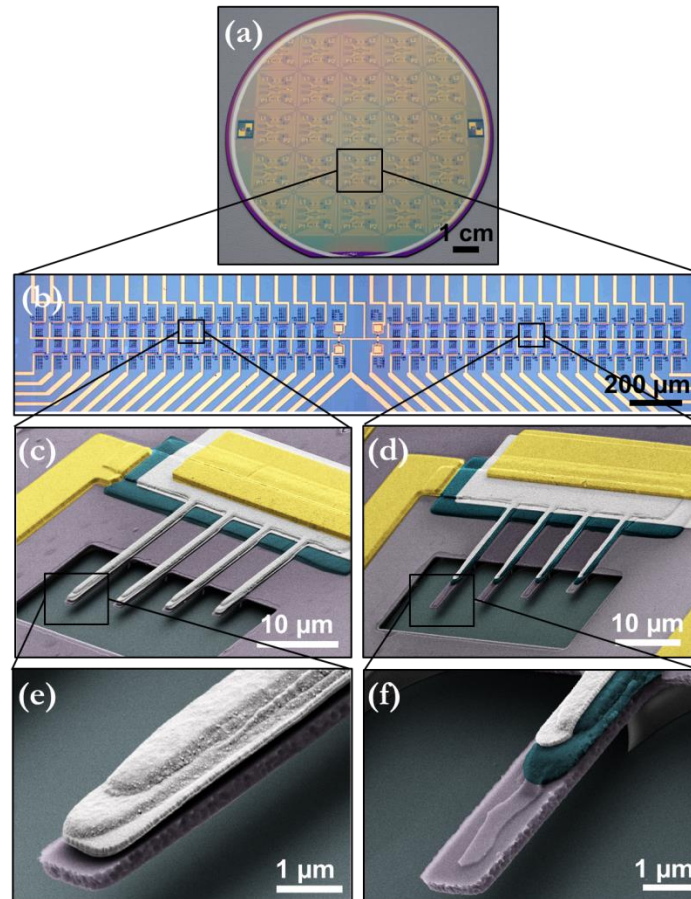
supérieure, la structuration de chaque couche étant réalisée par *lift-off*. Les dépôts relatifs à l'électrode inférieure et au film piézoélectrique sont réalisés à PIEMN selon une technique de pulvérisation cathodique magnétron basse température compatible avec l'approche d'intégration par *lift-off* mise en œuvre. Une couche de 100 nm de LNO constituant l'électrode inférieure est ainsi déposée (distance cible-substrat : 60 mm, atmosphère : argon, pression : 0.01 mbar, puissance RF : 100 W, Addax Technologies) puis structurée à l'aide d'une résine bicouche positive haute résolution LOR 3A/ECI 3012 (Microchemicals Inc.). L'électrode inférieure joue un rôle important dans la croissance du PZT dont elle conditionne l'orientation cristallographique ainsi que les propriétés électriques [71]. Traditionnellement, le Ti/Pt est employé du fait de son faible désaccord de maille avec les matériaux de structure pérovskite [80], ainsi que pour sa bonne conductivité électrique et sa stabilité chimique [81]. Plusieurs travaux rapportent cependant les avantages liés à l'utilisation d'une couche LNO comme support de croissance de films de PZT, en termes de propriétés diélectriques et ferroélectriques [82] mais aussi en termes de résistance à la fatigue de polarisation du matériau piézoélectrique [83]. Un autre avantage du LNO est de constituer une barrière à la diffusion des atomes de plomb lors de l'étape de cristallisation du PZT, pouvant conduire à la détérioration des nanostructures du fait de la formation de silicates de plomb [84]. Des travaux préliminaires ont enfin permis de montrer que le LNO constituait un meilleur candidat à la miniaturisation des motifs nécessaires à l'intégration au sein de dispositifs NEMS [84]. Le dépôt d'une couche de 150 nm de PZT est ensuite réalisé par pulvérisation cathodique magnétron radiofréquence à basse température et avec refroidissement du substrat (distance cible-substrat : 60 mm, atmosphère : argon, pression : 0.01 mbar, puissance RF : 100 W, Addax Technologies). La composition du PZT 54/46 ( $\text{PbZr}_{54}\text{Ti}_{46}\text{O}_3$ ) utilisée est proche de la frontière avec la phase morphotropique où les propriétés piézoélectriques et diélectriques sont théoriquement optimales [85]. Un recuit post-dépôt (température : 625 °C, durée : 30 min, atmosphère : air) permet de cristalliser le film dans sa phase pérovskite. La structuration de l'électrode supérieure en Ti/Pt (12/120 nm) par évaporation et *lift-off* vient finaliser l'intégration du moyen de transduction.

Une résine négative avec des flancs inversés (NLOF) est ensuite utilisée pour réaliser la structuration des pistes électriques en Ti/Au (100/700 nm) après évaporation, permettant d'adresser individuellement l'ensemble des réseaux de structures ainsi que de définir les plots de contact électriques. La dernière étape du procédé de fabrication vise à libérer les nanostructures par gravure humide de l'oxyde sacrificiel du SOI. Cette étape critique, du fait de la sensibilité de différents matériaux en présence vis-à-vis de la solution chimique de gravure, a fait l'objet d'une délicate optimisation. La procédure repose sur l'encapsulation préalable des structures avec un masque en résine (ECI3012 2.6  $\mu\text{m}$ , Microchemicals Inc.) défini par lithographie optique. Un recuit additionnel de 115 °C pendant 1 min est indispensable afin d'assurer l'adhésion de la résine de protection pendant la gravure humide. Une solution d'HF tamponné (BOE 7-1), mélange d'acide fluorhydrique (HF) et de fluorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{F}$ ) selon un ratio volumique HF: $\text{NH}_4\text{F}$  de 7:1, est utilisée pour la libération avec une vitesse de gravure du  $\text{SiO}_2$  mesurée d'environ 77 nm/min. Deux étapes de protection/gravure successives, de respectivement 10 et 25 minutes chacune, sont réalisées afin de réduire le temps d'exposition de la résine au HF et limiter ainsi les problèmes d'adhésion, tout en assurant la libération de l'ensemble des structures.

<p><b>1) Couche d'isolation électrique (SiO<sub>2</sub>)</b> Oxydation thermique (30 nm)</p>	
<p><b>2) Définition du profil des structures</b> 2a) Définition des motifs (1<sup>er</sup> niveau de masque) 2b) Gravure RIE du SiO<sub>2</sub> thermique et du silicium supérieur (couche d'arrêt : BOX)</p>	
<p><b>3) Dépôt de l'électrode inférieure (LNO)</b> 3a) Définition des motifs (2<sup>e</sup> niveau de masque) 3b) Dépôt par pulvérisation cathodique magnétron (100 nm) 3c) Structuration par <i>lift-off</i></p>	
<p><b>4) Dépôt de la couche piézoélectrique (PZT 54/46)</b> 4a) Définition des motifs (3<sup>e</sup> niveau de masque) 4b) Dépôt par pulvérisation cathodique magnétron (PbZr<sub>54</sub>Ti<sub>46</sub>O<sub>3</sub>, 150 nm) 4c) Structuration par <i>lift-off</i> 4d) Recuit de cristallisation</p>	
<p><b>5) Dépôt de l'électrode supérieure (Ti/Pt)</b> 5a) Définition des motifs (4<sup>e</sup> niveau de masque) 5b) Dépôt par évaporation du titane (12 nm) 5c) Dépôt par évaporation du platine (120 nm) 5d) Structuration par <i>lift-off</i></p>	
<p><b>6) Dépôt des pistes d'interconnexions (Ti/Au)</b> 6a) Définition des motifs (5<sup>e</sup> niveau de masque) 6b) Dépôt par évaporation du titane (100 nm) 6c) Dépôt par évaporation de l'or (700 nm) 6d) Structuration par <i>lift-off</i></p>	
<p><b>7) Libération des structures</b> 7a) Définition des motifs de protection en résine (6<sup>e</sup> niveau de masque) 7b) Gravure humide au HF tamponné</p>	

**Figure 2.10** Description synthétique et représentation schématique des différentes étapes du procédé de fabrication collectif de nanoleviers (géométrie A) avec un moyen de transduction piézoélectrique intégré.

Des images optiques ainsi que des images de microscopie électronique à balayage (MEB) des dispositifs après fabrication sont présentées figure 2.11.

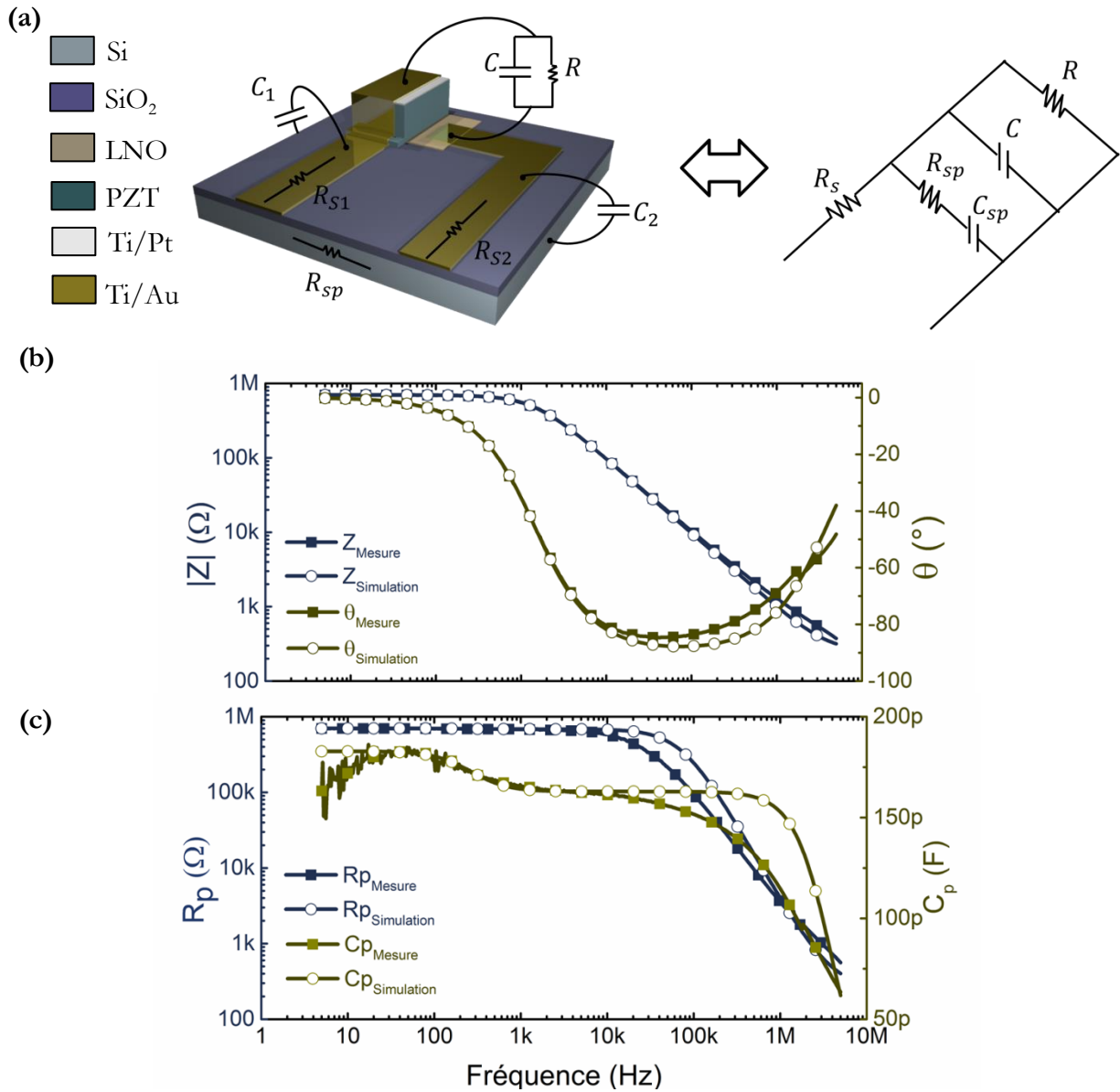


**Figure 2.11** (a) Image optique à l'échelle d'un wafer 100 mm des dispositifs NEMS réalisés avec une couche de transduction piézoélectrique intégrée. (b) Chaque puce comporte 64 réseaux de 4 nanoleviers. Images MEB colorisées de deux réseaux de nanoleviers de  $2.4 \mu\text{m}$  de large avec respectivement (c) une géométrie d'empilement de type A et (d) une géométrie d'empilement de type B. Gros plan de l'empilement pour chacune des configurations (e) A et (f) B.

## 2.7 Caractérisation électriques

Des caractérisations d'impédance module-phase ( $|Z| - \theta$ ) sont réalisées afin d'évaluer la viabilité des dispositifs après fabrication ainsi que le comportement électrique du système. Les mesures sont effectuées à l'aide d'un impédance-mètre HIOKI IM3570 via une station sous pointes. Un exemple de réponse électrique des dispositifs est tracé sur la figure 2.12.





**Figure 2.12** (a) Modèle électrique équivalent de l'empilement piézoélectrique. (b) Réponses fréquentielles  $|Z| - \theta$  expérimentales et simulées à partir du modèle équivalent proposé. (c) Représentation en base  $R_p - C_p$  correspondante.

De manière générale, les réponses électriques obtenues confirment l'absence de court-circuit au sein des dispositifs, démontrant le bon alignement des différentes couches de l'empilement piézoélectrique pendant la fabrication ainsi que la nature diélectrique du film de PZT. A partir des caractérisations réalisées, un modèle électrique équivalent au dispositif est proposé (cf. figure 12(a)). Les différents éléments du modèle prennent en compte l'empilement piézoélectrique ( $R$  et  $C$ ) ainsi que les interconnexions électriques et les effets de couplage inter-pistes via le silicium supérieur du substrat SOI ( $R_S$ ,  $R_{Sp}$ , et  $C_{Sp}$ ). Ces caractérisations ont été réalisées pour différentes structures et les valeurs des paramètres  $R_S$ ,  $R_{Sp}$ ,  $C_{Sp}$ ,  $R$  et  $C$  du modèle électrique équivalent sont rapportées dans le tableau 2.2.

**Tableau 2.2** Valeurs des différents paramètres  $R_S$ ,  $R_{Sp}$ ,  $C_{Sp}$ ,  $R$  et  $C$  du modèle équivalent proposé modélisant la réponse électrique de différents dispositifs.

$R_S$ ( $\Omega$ )	$R_{Sp}$ (M $\Omega$ )	$C_{Sp}$ (pF)	$R$ (M $\Omega$ )	$C$ (pF)
240	25	30	90	180
180	40	20	10 000	140
180	35	30	10 000	180
220	30	25	23	165
240	45	15	85	135
250	30	20	0.7	163
200	40	24	10 000	170
250	30	27	3.8	180

La signification physique de ces différents paramètres est la suivante :

- $R$  correspond à la résistance du film piézoélectrique. Les valeurs obtenues sont de l'ordre du M $\Omega$  mais relativement variables selon les dispositifs, et significativement plus faibles que celles généralement observées pour des couches piézoélectriques plus épaisses (plusieurs dizaines de G $\Omega$ ). Ces résultats témoignent de fuites au niveau du film et donc d'une qualité moyenne du diélectrique ;
- $C$  correspond à la capacité statique du film piézoélectrique pris en sandwich entre les deux électrodes. Les valeurs déterminées varient entre 135 et 180 pF. Si ces valeurs de capacité sont du même ordre de grandeur que celles attendues et estimées à partir de la géométrie de recouvrement des empilements, elles sont néanmoins différentes ce qui confirme l'impact des interconnexions électriques sur le comportement capacitif du patch piézoélectrique ;
- $R_S$ , dont les valeurs sont de l'ordre de quelques centaines d'ohms, correspond à la résistance série équivalente prenant en compte les pistes métallisées et la résistance des contacts ;
- $R_{Sp}$ , dont les valeurs sont de plusieurs dizaines de M $\Omega$ , correspond à la résistance du silicium supérieur du substrat SOI. Cet ordre de grandeur reste cohérent avec une résistivité du silicium donnée pour le SOI dans la gamme 14 - 22  $\Omega$ .cm et les longueurs des interconnexions.
- $C_{Sp}$ , dont les valeurs sont comprises entre 15 et 30 pF, correspond à la capacité équivalente des deux capacités série  $C_1$  et  $C_2$  (cf. figure 2.12(a)). Elles sont issues du couplage capacitif entre chaque piste et le silicium supérieur du SOI.

Les valeurs de ces différents paramètres sont déterminées à partir de la représentation  $R_p - C_p$  (cf. figure 2.12(c)) des mesures  $|Z| - \theta$  (cf. figure 2.12(b)), et par ajustement de la

réponse électrique simulée aux données expérimentales. La transformation  $R_p - C_p$  est réalisée à partir des relations :

$$R_p = \frac{|Z|}{\cos\theta} \qquad C_p = \frac{-\sin\theta}{|Z|\omega} \qquad (2.66)$$

Les valeurs des capacités  $C$  et  $C_{sp}$  du modèle sont ainsi directement obtenues par lecture directe de la réponse fréquentielle  $C_p$  du dispositif, les valeurs étant déterminées à partir des deux plateaux de la courbe selon :  $C = 163$  pF et  $C_{sp} = 20$  pF dans l'exemple présenté. La valeur de  $R$  correspond à la valeur à fréquence nulle de la courbe  $R_p$ . La résistance  $R_S$  est évaluée de manière à ce que la courbe  $R_p$  simulée converge vers la courbe expérimentale pour les hautes fréquences. La valeur de la résistance  $R_{sp}$ , est évaluée de manière à fitter la transition entre les deux plateaux au niveau de la courbe expérimentale  $C_p$ . Malgré des écarts observés entre la mesure et la simulation, qui pourraient être réduits par un plus haut degré de raffinement du modèle, le modèle simplifié proposé permet néanmoins une bonne approximation du comportement électrique global du dispositif. Cette stratégie a physiquement du sens comme en témoigne le bon accord des courbes simulées et expérimentales en représentation  $|Z| - \theta$  (cf. figure 2.12 (b)). Le module et l'argument du modèle équivalent sont calculés à partir de l'impédance complexe :

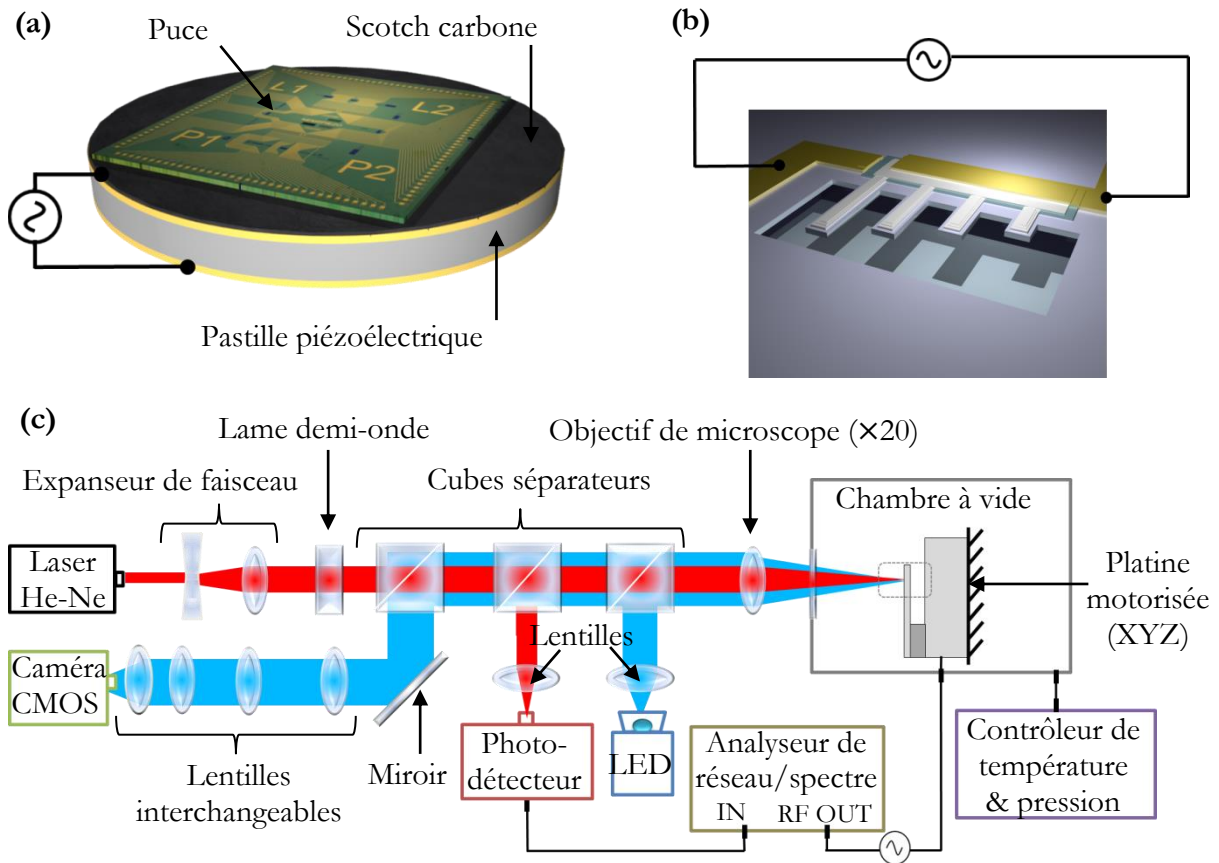
$$Z = R_S + \left[ \frac{1}{\left( R_{sp} - \frac{j}{C_{sp}\omega} \right)} + \left( \frac{1}{R} + jC\omega \right) \right]^{-1} \qquad (2.67)$$

## 2.8 Setup expérimental

Différentes configurations de transduction sont implémentées afin d'évaluer étape par étape le comportement mécanique des dispositifs. Trois schémas de transduction sont ainsi mis en œuvre :

- (i) une configuration non intégrée avec un actionnement piézoélectrique (externe) et une détection optique. Ce schéma est employé dans un premier temps afin d'évaluer l'intégrité mécanique des structures après fabrication ;
- (ii) une configuration semi-intégrée avec un actionnement piézoélectrique (intégré) et une détection optique. Ce schéma est mis en œuvre afin d'évaluer les capacités d'actionnement du film piézoélectrique ;
- (iii) une configuration totalement intégrée avec une transduction piézoélectrique qui permettant d'évaluer les capacités de détection.

Dans les trois schémas implémentés, les dispositifs sont placés à l'intérieur d'une chambre à vide, afin de limiter les pertes dissipatives associées à l'amortissement visqueux et pour tirer profit d'un environnement d'opération optimal en termes de détection. Le groupe de pompage permet de réaliser un vide primaire ( $10^{-2}$  mbar) ou un vide secondaire ( $10^{-6}$  mbar). Dans le premier schéma, la puce est montée sur une pastille piézoélectrique (cf. figure 2.13 (a)) qui assure un actionnement collectif des structures par la mise en vibration de l'intégralité du système. Dans le second schéma, la puce est collée sur un support en polyimide et l'actionnement individuel des réseaux de structures est obtenu à l'aide d'un câblage par fil (cf. figure 2.13 (b)). Ces deux configurations de transduction font intervenir une détection externe par interférométrie optique, représentée schématiquement figure 2.13 (c). Un laser hélium-néon (He-Ne) de longueur d'onde 633 nm est focalisé via un extenseur de faisceau ( $\times 5$ ) et un objectif de microscope ( $\times 20$ , N.A. 0.28) possédant une grande distance de travail. Le positionnement fin du laser à la surface du dispositif à mesurer est contrôlé grâce à une platine motorisée commandée par ordinateur. L'opération est observée en temps réel par le biais d'une caméra CMOS sous un éclairage DEL (Diode Electro Luminescente) de longueur d'onde 470 nm. Le gap d'air entre le résonateur suspendu et la surface sous-jacente du substrat forme une cavité Fabry-Pérot [46]. Les oscillations mécaniques du résonateur modifient périodiquement la taille de la cavité optique. L'intensité du faisceau résultant de l'interférence des faisceaux réfléchis par les deux surfaces de la cavité est alors modulée par la fréquence de vibration de la structure, et son amplitude est directement proportionnelle au déplacement du résonateur. Ce faisceau est ensuite dévié vers un photodétecteur (New Focus 1601, Newport Inc.) dont la sortie AC est reliée à un analyseur de réseau (4395A, Agilent Technologies Inc.). Ce dernier permet de réaliser la démodulation hétérodyne du signal optique et d'obtenir le spectre fréquentiel du résonateur. Pour chaque acquisition, une méthode de fitting non linéaire de minimisation des moindres carrés implémentée dans le logiciel Origin, basée sur l'algorithme Levenberg-Marquardt, est utilisée afin d'extraire les paramètres dynamiques de fréquence de résonance et de facteur de qualité.



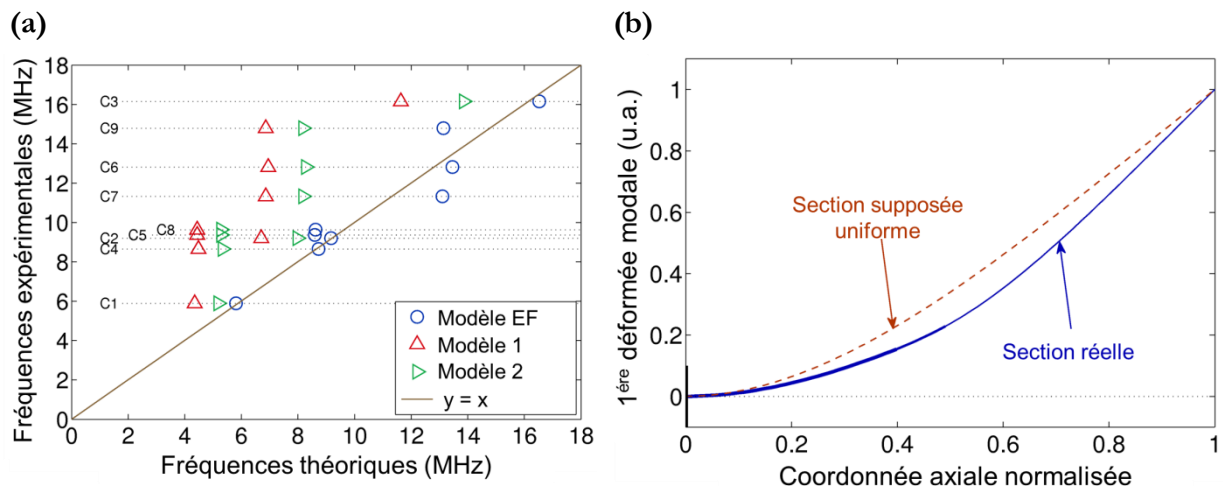
**Figure 2.13** Représentations schématiques du dispositif expérimental. (a) Configuration de transduction non intégrée où la puce est montée sur une pastille piézoélectrique pour assurer l'actionnement. (b) Configuration de transduction semi-intégrée où l'actionnement des structures est obtenu par l'excitation directe du film piézoélectrique à la surface des dispositifs. (c) Schéma du banc d'interférométrie optique (Fabry-Pérot) employé comme moyen de détection externe dans les deux configurations de transduction.

## 2.9 Evaluation de l'intégrité mécanique des dispositifs

Dans un premier temps, l'intégrité mécanique après fabrication des structures est évaluée selon le schéma de transduction externe décrit dans la section précédente. Les dispositifs sont collectivement actionnés en appliquant une tension alternative au niveau d'une pastille piézoélectrique (cf. figure 2.13(a)), et leurs réponses dynamiques sont individuellement mesurées via le banc d'interférométrie optique (cf. figure 2.13(c)) sous vide secondaire et à température ambiante.

Les valeurs des fréquences de résonance pour le mode fondamental sont tracées sur la figure 2.14 (a). Elles sont comparées aux valeurs obtenues avec le modèle par éléments finis décrit précédemment qui prend en compte la géométrie exacte des structures, ainsi que la configuration de l'empilement piézoélectrique. La première bissectrice  $y = x$  permet de visualiser les écarts entre les fréquences mesurées expérimentalement et les valeurs théoriques. La localisation des valeurs théoriques à proximité cette droite témoigne d'un excellent accord entre

les valeurs expérimentales et les valeurs théoriques, avec un écart maximum de 2.5 % pour les leviers en configuration A et d'au maximum 16 % pour les leviers en configuration B. Les fréquences de résonance obtenues à partir d'un modèle analytique multicouches (cf. section 2.2.1.2 équation (2.19)) classique, considérant une section transversale uniforme le long de la coordonnée axiale du levier, sont également tracées pour comparaison. Deux configurations sont considérées avec ce modèle : une configuration bicouche (Si/SiO<sub>2</sub>) négligeant la présence de l'empilement (modèle 1), et une configuration 6 couches prenant en compte l'intégralité de l'empilement (modèle 2). Des écarts compris entre 12 % et 54 % par rapport aux valeurs expérimentales sont ainsi obtenus, comme en témoigne l'éloignement des valeurs théoriques par rapport à la droite  $y = x$  au niveau du graphe. La figure 2.14(b) représente les déformées modales du premier mode de résonance d'un levier de géométrie A relatives à la modélisation par éléments finis et à la modélisation analytique. La différence des déformées modales met clairement en évidence l'influence de l'empilement piézoélectrique en termes de masse et de raideur ajoutée sur le comportement mécanique de la structure, notamment du fait d'épaisseurs de couches non négligeables par rapport à celle du levier. Cette différence témoigne de l'importance de prendre en compte la géométrie exacte et justifie le recours à un modèle par éléments finis.



**Figure 2.14** (a) Fréquences de résonance fondamentales mesurées expérimentalement en fonction des fréquences théoriques pour les différents leviers (C1 à C9). Les résultats du modèle par éléments finis (EF) sont comparés à ceux d'un modèle analytique classique d'une poutre négligeant l'empilement (modèle 1) et à un modèle prenant en compte l'intégralité des couches de l'empilement (modèle 2) en considérant la section transversale homogène le long de la coordonnée axiale. La première bissectrice  $y = x$  permet de visualiser les écarts entre les fréquences mesurées expérimentalement et les valeurs théoriques obtenues à partir des différents modèles. (b) Influence de l'empilement piézoélectrique sur la déformée modale d'un levier (1<sup>er</sup> mode de résonance) avec une configuration d'empilement de type B. L'épaisseur de ligne est proportionnelle à l'épaisseur du levier.

Cette première évaluation permet non seulement de valider l'intégrité mécanique des structures après fabrication, mais aussi de mettre en évidence l'importance du degré de raffinement apporté par le modèle éléments finis qui permet de prendre en compte l'influence de la masse et de la raideur induites par l'empilement piézoélectrique en fonction de la coordonnée axiale.

## 2.10 Calibration par le bruit thermomécanique

Afin de pouvoir déterminer l'efficacité de transduction de l'empilement piézoélectrique implémenté, l'amplitude mécanique de déplacement du résonateur est nécessaire. Si le banc d'interférométrie optique ne permet qu'une mesure indirecte de la réponse dynamique, Karabalin *et al* [61] ont proposé une méthode astucieuse de calibration reposant sur la mesure du bruit thermomécanique. La même stratégie est employée ici afin de corrélérer la tension en sortie du photodétecteur (en V) à l'amplitude de vibration (en m) du résonateur.

Les fluctuations thermomécaniques au sein d'un résonateur sont issues du couplage thermique de la structure avec son environnement. Elles sont responsables d'un bruit en force similaire au bruit de Johnson résultant de l'agitation thermique des charges électriques dans une résistance. La force thermomécanique associée, responsable du déplacement aléatoire du résonateur autour de sa position d'équilibre, est communément caractérisée par sa densité spectrale de puissance (DSP)  $S_{F,th}$ , définie comme la transformée de Fourier de sa fonction d'autocorrélation. La DSP associée à la force thermomécanique est un bruit blanc dont l'expression (en  $N^2/Hz$ ) est donnée par [40]:

$$S_{F,th} = 4k_B T C_{eff} = \frac{4k_B T M_{eff1} \omega_0}{Q} \quad (2.68)$$

Où :  $k_B$  est la constante de Boltzmann (en J/K),  $T$  est la température (en K),  $C_{eff}$  est le coefficient d'amortissement (en kg/s) défini par :  $C_{eff} = M_{eff1} \omega_0 / Q$ , où  $M_{eff1}$ ,  $\omega_0$  et  $Q$  désignent respectivement la masse effective (en kg), la pulsation de résonance du mode fondamental (en rad/s) et le facteur de qualité du résonateur.

Dans cette configuration de mesure, seul le terme de forçage  $p_0$  de l'équation (2.65) entre en jeu en l'absence d'excitation piézoélectrique  $V = 0$ . Ce terme est associé à la force thermomécanique uniformément répartie à la surface du résonateur. La masse effective  $M_{eff1}$  est alors définie de façon similaire à (2.35) selon :

$$M_{eff1} = \frac{L \int_0^L m(x) \varphi^2(x) dx}{\varphi(L) \int_0^L \varphi(x) dx} \quad (2.69)$$

Où : la déformée modale  $\varphi(x)$ , notée sans indice afin d'alléger les notations, correspond à la forme du mode fondamental de vibration, et  $m(x)$  est la masse linéique (en kg/m) du levier. Une

fois encore la masse effective diffère de celle du modèle analytique par la forme du mode ainsi que la masse linéique qui varie selon la position au niveau du levier.

Dans le domaine fréquentiel,  $S_{F,th}$  (en  $N^2/Hz$ ) est reliée à la DSP  $S_{u,th}(\omega)$  associée au bruit en déplacement du résonateur (en  $m^2/Hz$ ) via le carré du module de la fonction de transfert  $H(\omega)$  de l'oscillateur (en  $N^2/Hz$ ), selon la relation [40]:

$$S_{U,th}(\omega) = |H(\omega)|^2 S_{F,th} = \frac{S_{F,th}}{M_{eff1}^2 \left[ (\omega^2 - \omega_0^2)^2 + \left( \frac{\omega \omega_0}{Q} \right)^2 \right]} \quad (2.70)$$

A la résonance ( $\omega = \omega_0$ ), la DSP associée au déplacement thermomécanique devient :

$$S_{U,th}(\omega_0) = \frac{4k_B T Q}{M_{eff1} \omega_0^3} \quad (2.71)$$

Le banc d'interférométrie optique est suffisamment sensible pour détecter les fluctuations thermomécaniques des leviers réalisés sous vide secondaire ( $10^{-6}$  mbar) et à température ambiante. Les mesures sont réalisées de la manière suivante. Le laser est focalisé à l'extrémité libre du résonateur en l'absence d'excitation extérieure. Le photorécepteur est connecté à un analyseur de spectre qui permet d'acquérir la DSP du signal optique. Un exemple typique de mesure du bruit thermomécanique est présenté figure 2.15(a). Le spectrogramme correspond à la densité spectrale en tension  $S_V^{1/2}(f)$  (en  $V/\sqrt{Hz}$ ) obtenue à partir de la racine carrée de la DSP mesurée. Le spectre possède un niveau de bruit de fond au voisinage de la résonance de l'ordre de  $S_{V,bruit}^{1/2} \approx 1.745 \mu V/\sqrt{Hz}$  du fait de la présence d'autres sources de bruit (laser, photodiode, analyseur de spectre). En considérant les sources de bruit comme étant décorréliées, la PSD mesurée  $S_V$  (en  $V^2/Hz$ ) est la somme des contributions de chacune des sources de bruit prises indépendamment, selon :

$$S_V(f) = S_{V,th}(f) + S_{V,bruit} \quad (2.72)$$

L'amplitude du bruit thermomécanique à la résonance s'obtient donc en soustrayant la contribution des autres sources de bruit selon :

$$S_{V,th}^{1/2}(f_0) = \sqrt{S_V(f_0) - S_{V,bruit}} \quad (2.73)$$

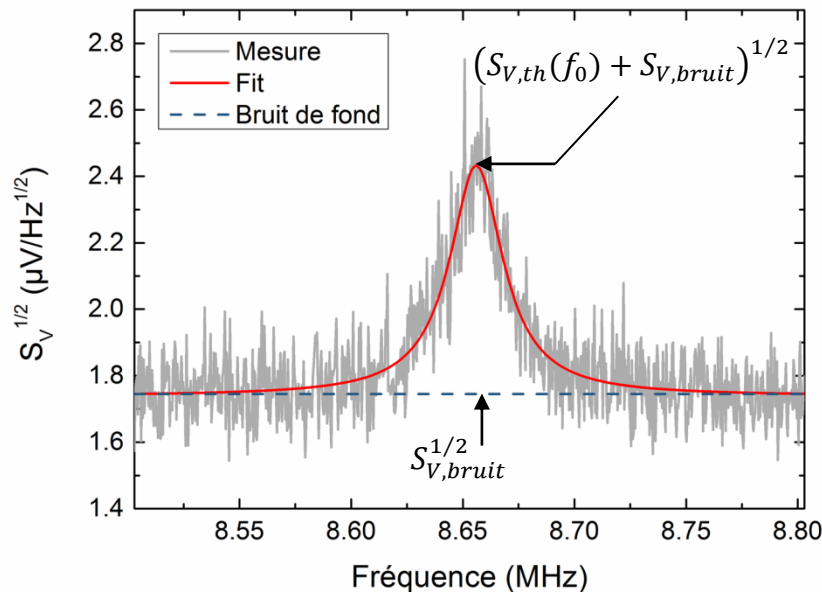
Dans le cas du résonateur présenté figure 2.15(a), on obtient :  $S_{V,th}^{1/2}(f_0) \approx 1.694 \mu V/\sqrt{Hz}$ .

La mesure expérimentale de la tension associée au bruit thermomécanique peut alors être corrélée à la valeur théorique du déplacement du résonateur sous l'effet des fluctuations thermomécaniques, afin de déterminer un coefficient de calibration  $R$  permettant de relier la tension en sortie du photodétecteur (en V) au déplacement mécanique du résonateur (en m). Le coefficient de calibration s'obtient à partir du rapport des densités spectrales associées à la tension de la photodiode et au déplacement mécanique du résonateur selon :



$$R = \frac{S_{V,th}^{1/2}(f_0)}{S_{U,th}^{1/2}(f_0)} \quad (2.74)$$

Afin de déterminer la densité spectrale théorique  $S_{U,th}^{1/2}(f_0)$  associée au déplacement mécanique du résonateur à la résonance, les paramètres dynamiques de fréquence de résonance  $f_0$ , de facteur de qualité  $Q$  et de masse effective  $M_{eff1}$  doivent être déterminés pour chaque résonateur. La fréquence de résonance et le facteur de qualité sont obtenus expérimentalement ( $f_0 \approx 8.656$  MHz et  $Q \approx 296$ ), tandis que la masse effective est déterminée grâce au modèle par éléments finis à partir de l'équation (2.65), en considérant un levier vibrant dans son mode fondamental de résonance en présence d'un forçage uniformément distribué ( $F_{th} = Lp_0$ ) en l'absence de tension d'excitation ( $V = 0$ ) et pour un déplacement mesuré en bout de levier. La masse effective vaut :  $M_{eff1} \approx 0.312 \times M \approx 9.36$  pg, avec  $M$  la masse totale du levier (en pg). L'amplitude théorique du bruit thermomécanique à la résonance est alors calculée en injectant ces différents paramètres dans l'équation (2.71), conduisant à :  $S_{U,th}^{1/2}(f_0) \approx 0.06$  pm/ $\sqrt{Hz}$  à température ambiante. Le coefficient de calibration  $R$  permettant de relier la tension en sortie du photodétecteur (en V) au déplacement mécanique du résonateur (en m) peut finalement être calculé à partir de l'équation (2.74), et vaut :  $R \approx 30$   $\mu V/pm$ .



**Figure 2.15** Exemple de mesure sous vide ( $10^{-6}$  mbar) et à température ambiante de la densité spectrale de tension  $S_V(f)$  associée au bruit thermomécanique. Les paramètres de fréquence de résonance et de facteur de qualité sont extraits à partir du fit.

Cette technique de calibration est relativement directe puisqu'elle dépend uniquement des caractéristiques dynamiques du résonateur, à condition que le dispositif de détection soit suffisamment sensible pour permettre la mesure du bruit thermomécanique. Il faut néanmoins

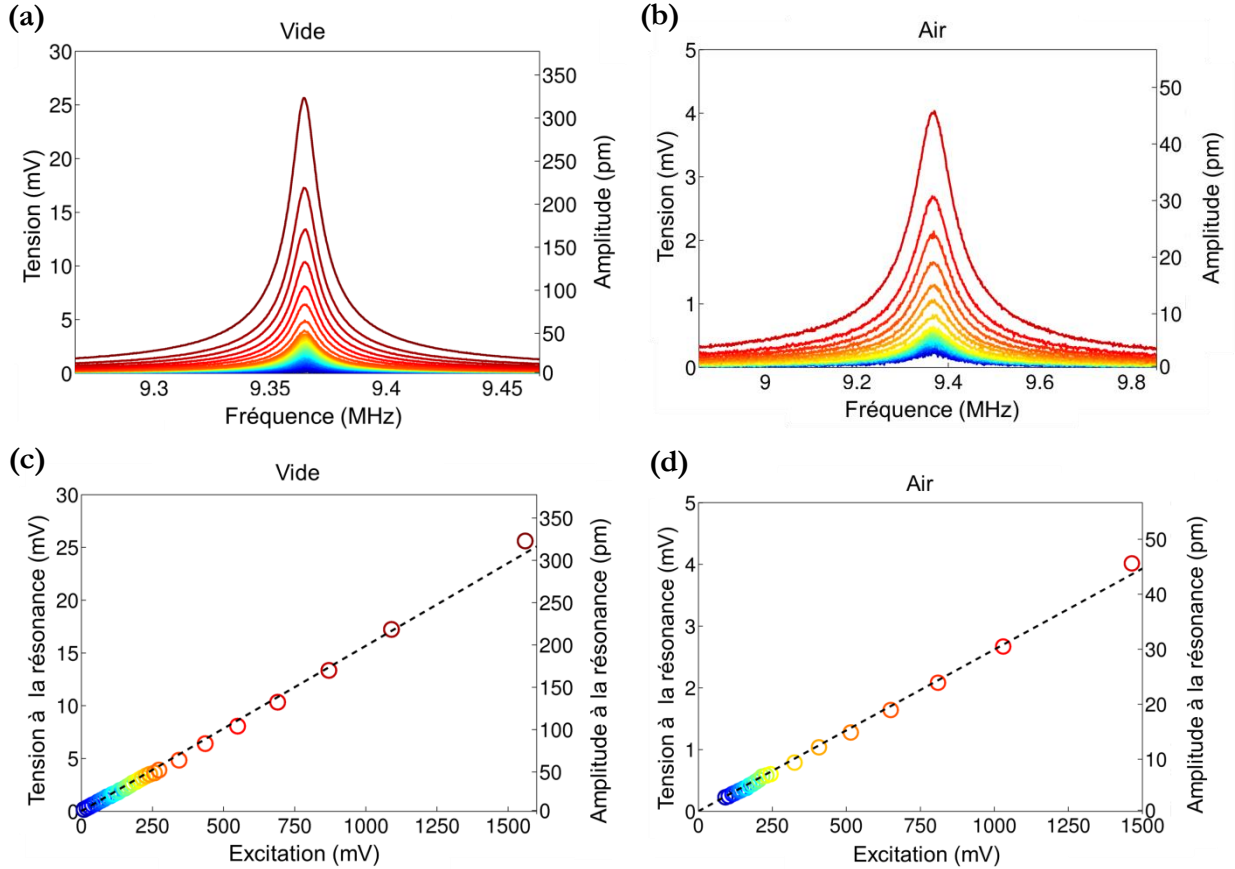
garder à l'esprit certaines sources d'incertitude. Tout d'abord, cette méthode fait intervenir la masse effective du levier qui est inconnue expérimentalement et qui doit être déterminée à partir du modèle. Les autres paramètres dynamiques sont étroitement liés à l'environnement d'opération et à la position du laser au niveau de la structure. Elle permet néanmoins d'obtenir une bonne estimation de l'ordre de grandeur du déplacement mécanique.

## 2.11 Evaluation de l'actionnement intégré

La démonstration de l'intégrité mécanique des structures après fabrication ayant été réalisée, la capacité d'actionnement du film piézoélectrique est maintenant évaluée. Dans un premier temps, le schéma de transduction semi-intégré décrit section 2.8 est mis en œuvre. Dans cette configuration, les dispositifs sont directement actionnés via le film piézoélectrique intégré en appliquant une tension d'excitation entre les électrodes supérieure et inférieure. Sous l'effet du champ électrique appliqué, l'effet piézoélectrique inverse induit l'apparition de contraintes transverses longitudinales au sein du film. La couche piézoélectrique étant décalée par rapport à l'axe neutre, les contraintes induisent un moment de flexion au sein du levier. L'élongation/contraction de la couche active à la fréquence imposée par l'excitation est à l'origine des oscillations du résonateur. La réponse mécanique est mesurée optiquement via le banc d'interférométrie optique. Les structures mesurées ont été préalablement polarisées à cinq fois la valeur théorique du champ coercitif (6.7 kV/m) pendant 15 minutes afin d'améliorer la réponse du film piézoélectrique [60].

Des caractérisations électriques d'impédance statique ont permis d'évaluer la viabilité des dispositifs après fabrication. Les mesures réalisées ont permis de s'assurer de l'absence de court-circuit au niveau des interconnexions électriques, et donc de confirmer à la fois le bon alignement des différentes couches de l'empilement de transduction intégrée au niveau des nanostructures ainsi que la nature diélectrique du film de PZT. Les valeurs de résistance mesurées, typiquement de l'ordre de quelques centaines de  $k\Omega$ , sont néanmoins significativement plus faibles que celle généralement observées pour des couches piézoélectriques plus épaisses (de l'ordre du  $G\Omega$ ).

La figure 2.16 est un exemple de réponse mécanique d'une structure sous l'effet de l'actionnement piézoélectrique intégré. La dynamique du résonateur est présentée pour différentes tensions d'excitation. La réponse est mesurée sur près de deux ordres de grandeur de la tension d'excitation, dans un environnement d'opération sous vide ainsi qu'à pression atmosphérique. La fréquence de résonance du mode fondamental est constante dans la gamme d'excitation, avec une variation maximale d'environ 23 ppm, de même que le facteur de qualité (3 % de variation). Un facteur de qualité d'environ 880 est mesuré sous vide, tandis que sa valeur chute d'environ un facteur 7 lors du passage à l'air mais reste suffisamment élevée pour être mesurée.



**Figure 2.16** Réponses fréquentielles d'un levier mesurées (a) sous vide et (b) à pression atmosphérique pour différentes tensions d'actionnement. L'amplitude du déplacement mécanique mesurée au niveau de l'extrémité libre du levier est tracée en fonction de la tension d'excitation (c) sous vide et (d) dans l'air. La pente de la droite permet de déterminer le coefficient  $\eta$  de la réponse piézoélectrique.

La tension en sortie du photodétecteur est convertie en déplacement mécanique par le biais du coefficient de calibration  $R$  défini par (2.74). L'efficacité d'actionnement, définie par le paramètre  $\eta = u_t/V$  (en m/V) où  $V$  est la tension d'excitation appliquée et  $u_t$  est l'amplitude de vibration à la résonance, peut être déterminée à partir de la pente des graphes (c) et (d) de la figure 2.16. Cette constante peut être reliée à l'efficacité de transduction piézoélectrique  $\chi_p$  à partir de l'équation (2.65) en considérant cette fois le terme  $p_0 = 0$ , la seule force en présence étant la force résultant de l'actionnement piézoélectrique. En utilisant l'expression du module de la fonction de transfert à la résonance (cf. équation 2.40), l'efficacité d'actionnement  $\eta$  peut être utilisée pour déterminer l'efficacité de transduction piézoélectrique  $\chi_p$  d'après la relation :

$$\eta = \frac{\chi_p Q}{M_{eff2} \omega_0^2} \quad (2.75)$$

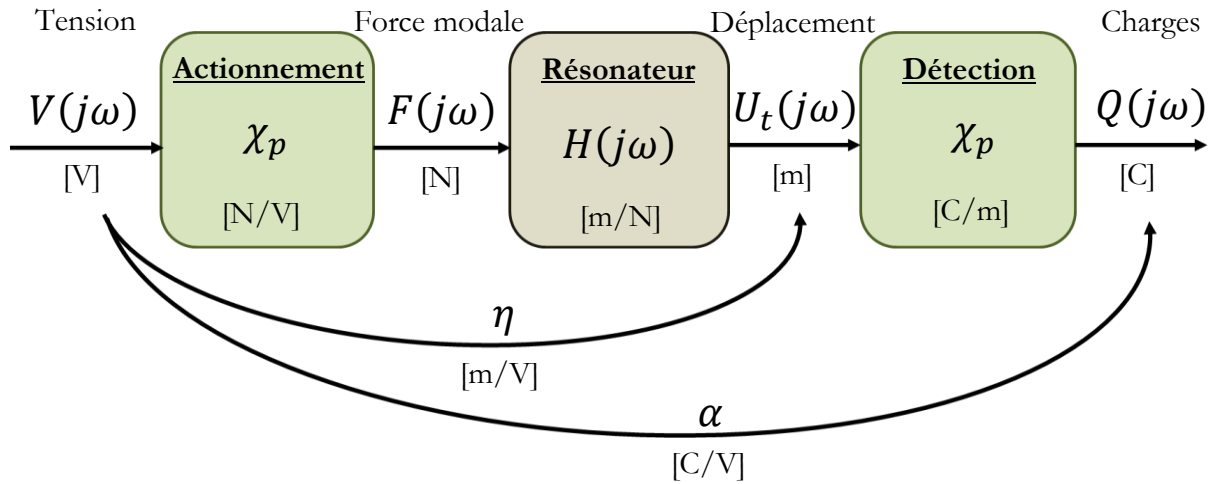
Dans ce cas la masse effective  $M_{eff2}$  est différente de celle considérée pour le bruit thermomécanique. Elle est définie ici par :

$$M_{eff2} = \frac{\int_0^L m(x)\varphi^2(x)dx}{\varphi(L)} \quad (2.76)$$

Comme le paramètre  $\chi_p$  est proportionnel au coefficient piézoélectrique  $d_{31}$  du matériau, la mesure de la pente  $\eta$  ainsi que des paramètres dynamiques  $\omega_0$  et  $Q$  permet en les injectant dans le modèle éléments finis d'obtenir une estimation du coefficient piézoélectrique. Dans le cas de la figure 2.16(c), la pente est calculée comme étant égale à :  $\eta_{vide} \approx 181$  fm/mV . L'estimation du coefficient piézoélectrique grâce à la combinaison de la mesure expérimentale et du modèle par éléments finis conduit à :  $d_{31} \approx 1.89$  fm/V. Cette étude intensive a été répétée sur six différents leviers du réseau afin d'obtenir un poids plus statistique et évaluer l'homogénéité de la couche piézoélectrique. Les résultats de ces caractérisations sont rapportés dans le tableau 2.3. Une valeur maximale du coefficient piézoélectrique  $d_{31} \approx 71.3$  fm/V a été obtenue pour l'un des leviers caractérisés. Les valeurs du coefficient piézoélectrique ainsi déterminées ont montré des variations significatives entre les différents leviers, reflétant l'inhomogénéité de la couche piézoélectrique déposée. La valeur moyenne calculée à partir des six structures mesurées est de  $d_{31} \approx 15$  fm/V, ce qui correspond approximativement en valeur absolue à une valeur de  $e_{31} = Y_p d_{31} = 1.4$  mC/m<sup>2</sup>, avec un module d'élasticité du matériau piézoélectrique pris comme étant égal à :  $Y_p = 96$  GPa. Bien que cette valeur soit suffisante pour permettre d'actionner les structures mécaniques, elle est près de trois ordres de grandeur inférieure à la valeur de 5 C/m<sup>2</sup> rapporté par Arndt *et al* [60] pour une couche de PZT de 120 nm d'épaisseur déposée par pulvérisation magnétron. Dans leurs travaux, les leviers réalisés (80  $\mu$ m  $\times$  40  $\mu$ m) ont une surface près de 130 fois supérieure aux structures réalisées ici. Le confinement latéral de la couche piézoélectrique est susceptible d'influencer la réponse globale de la couche. Il est en effet connu que la réduction des dimensions d'un matériau altère généralement ses propriétés. Lorsque les matériaux atteignent des dimensions comparables à celles de grains individuels, alors l'hypothèse d'homogénéité des propriétés du matériau généralement vérifiée pour des matériaux au format macroscopique perd sa validité. Des changements locaux dans la taille des grains ou encore d'autres caractéristiques peuvent ainsi altérer de manière significative les performances du film et être à l'origine de disparités au sein d'un même lot de fabrication. La réponse du film présente donc localement des inhomogénéités locales dont l'influence des différents grains affecte la réponse globale. L'influence des dimensions latérales des grains sur les propriétés piézoélectriques a été rapportée [67]. Toujours est-il, ces travaux restent à notre connaissance la plus large intégration d'un moyen de transduction piézoélectrique à la surface de nanoleviers pour des dimensions aussi confinées.

**Tableau 2.3** Résultats obtenus à partir des mesures expérimentales et du modèle par éléments finis pour 6 leviers de même géométrie (configuration B) mais avec différentes dimensions. Des résultats de mesures réalisées sous vide ( $10^{-6}$  mbar) et à pression atmosphérique sont présentés. La longueur et la largeur du levier sont respectivement désignées par  $L$  et  $b$ , la fréquence de résonance du mode fondamental est notée  $f_0$ ,  $Q$  est le facteur de qualité,  $\sigma$  l'écart type de mesure,  $M$  désigne la masse totale du levier,  $M_{eff1}/M$  est la masse effective adimensionnée correspondant à une excitation par le bruit thermomécanique,  $R$  est le coefficient de calibration,  $\chi_p$  est l'efficacité de transduction piézoélectrique,  $\eta$  est l'efficacité d'actionnement,  $d_{31}$  est le coefficient piézoélectrique et  $\alpha$  est l'efficacité de détection.

		<b>C1</b>	<b>C2</b>	<b>C3</b>	<b>C4</b>	<b>C5</b>	<b>C6</b>
<b>Géométrie</b>	$L$ ( $\mu\text{m}$ )	10.2	8.2	10.2	8.2	10.15	8.15
	$b$ ( $\mu\text{m}$ )	2	2	1.8	1.8	1.6	1.6
<b>Modèle</b>	$f_{0,FEM}$ (MHz)	8.62	13.14	8.6	13.11	8.73	13.46
	$M$ (pg)	37.745	29.668	33.51	26.368	29.976	23.757
	$M_{eff1}/M$	0.31012	0.31583	0.31433	0.31976	0.31226	0.31564
<b>Bruit</b>	$R$ ( $\mu\text{V}/\text{pm}$ )	84.388	61.108	79.419	37.656	29.876	37.218
<b>Vide</b>	$f_{0,vide}$ (MHz)	9.631471	14.783769	9.365327	11.329327	8.654284	12.812904
	$\pm\sigma$ (Hz)	( $\pm 108$ )	( $\pm 244$ )	( $\pm 221$ )	( $\pm 221$ )	( $\pm 681$ )	( $\pm 1087$ )
	$Q_{vide} \pm \sigma$	923 ( $\pm 14$ )	891 ( $\pm 16$ )	883 ( $\pm 28$ )	845 ( $\pm 9$ )	321 ( $\pm 5$ )	372 ( $\pm 3$ )
	$\eta_{vide}$ (pm/mV)	6.6131	0.0481	0.1808	0.6571	0.1417	0.1488
	$\chi_p$ (pN/V ou pC/m)	104.3	1.48	2.52	11.29	4.11	6.6
	$d_{31}$ (fm/V)	71.3	0.89	1.89	7.38	3.33	4.49
	$\alpha$ (zC/V)	692.7	0.07	0.46	7.55	0.58	0.99
<b>Air</b>	$f_{0,air}$ (MHz)	9.624355	14.774904	9.366705	11.325511	8.665	12.832841
	$\pm\sigma$ (Hz)	( $\pm 442$ )	( $\pm 1193$ )	( $\pm 616$ )	( $\pm 1135$ )	( $\pm 1021$ )	( $\pm 3783$ )
	$Q_{air} \pm \sigma$	130 ( $\pm 1$ )	162 ( $\pm 6$ )	127 ( $\pm 2$ )	135 ( $\pm 1$ )	94 ( $\pm 3$ )	122 ( $\pm 2$ )
	$\eta_{air}$ (pm/mV)	0.9875	0.0082	0.0330	0.1268	0.0379	0.0331



**Figure 2.17** Représentation schématique du système électromécanique sous forme de fonctions de transfert permettant une meilleure compréhension des différents coefficients.

## 2.12 Evaluation de la détection intégrée

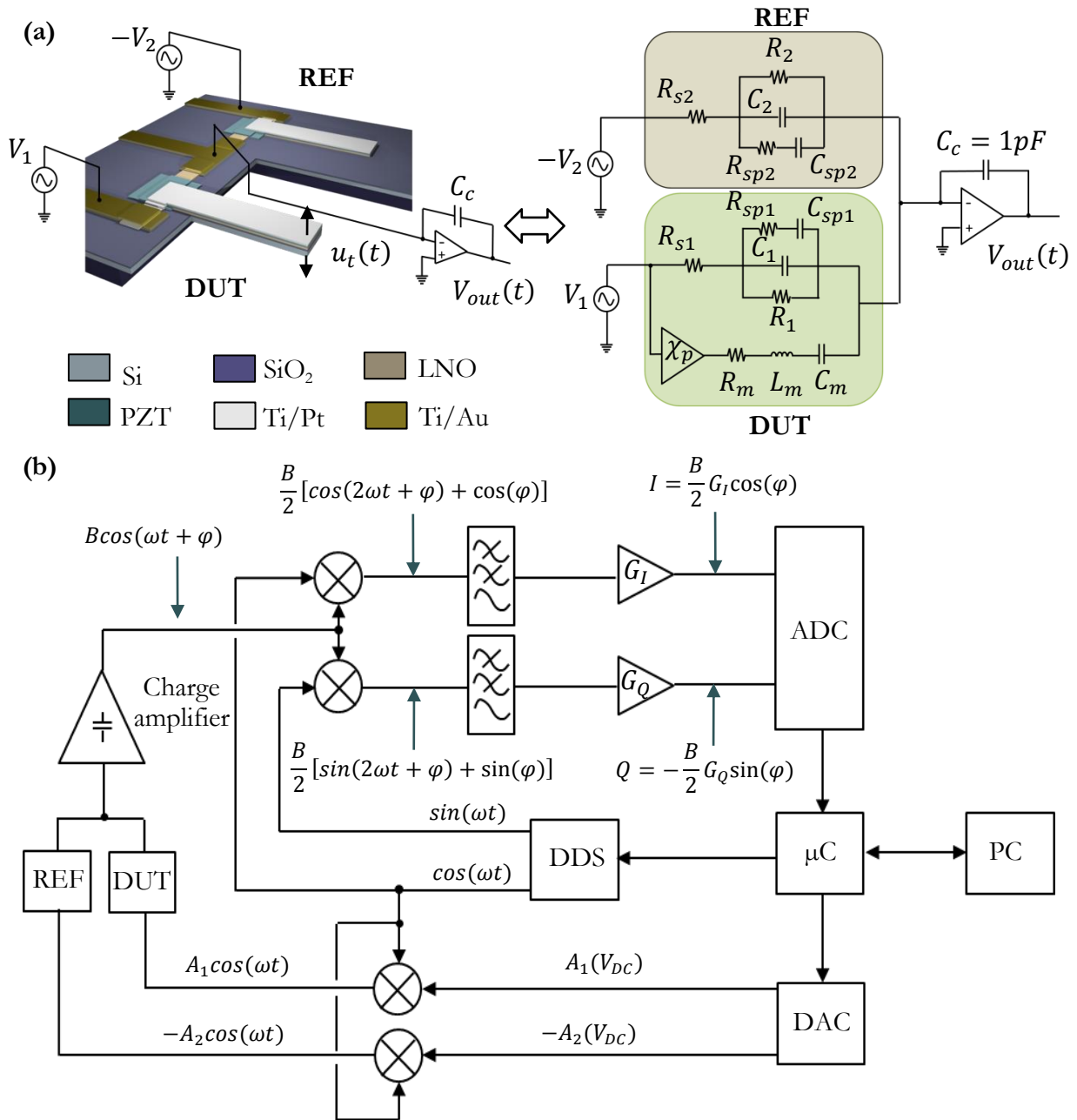
Après démonstration des capacités d'actionnement des structures à partir du film piézoélectrique intégré, la détection piézoélectrique intégrée est maintenant évaluée. Un schéma de détection électrique est implémenté afin de remplacer le banc d'interférométrie optique pour la mesure des réponses dynamiques des leviers. Dans cette configuration, les dispositifs sont opérés sous vide et actionnés de la même manière que précédemment (effet piézoélectrique direct). La vibration mécanique du résonateur est à l'origine d'une génération de charges  $q(t)$  (en C) via l'effet piézoélectrique inverse, selon :

$$q(t) = CV(t) + \chi_p u_t(t) \quad (2.77)$$

Où : la capacité  $C$  (en F) fait intervenir la capacité statique de l'empilement piézoélectrique ainsi que les couplages capacitifs parasites au niveau des interconnexions,  $V(t)$  est la différence de potentiels appliquée entre les deux électrodes,  $\chi_p$  est l'efficacité de transduction piézoélectrique (en C/m) et  $u_t(t)$  est le déplacement transverse de l'extrémité libre du levier (en m). Cette équation met en évidence deux phénomènes physiques responsables de la génération de charges : (i) un effet capacitif « statique » directement proportionnel à la tension d'excitation appliquée constituant un signal sur lequel s'ajoute celui (ii) de la capacité « motionnelle » correspondant aux charges générées par les oscillations mécaniques.

Afin de faciliter la détection de charges liées au mouvement d'un résonateur, une seconde structure est généralement employée comme référence [59] afin de compenser les effets des capacités statiques et parasites (i) conduisant généralement à la saturation du signal et à la réduction de la dynamique de mesure. Le principe du schéma de détection ainsi que le synoptique de l'électronique de détection développée par Fabrice Mathieu, ingénieur de recherche associé au projet, sont représentés sur la figure 2.18. Par simplicité, seulement l'une des quatre structures

présentes au niveau du réseau de leviers est schématisée. Le système  $R_m L_m C_m$  du schéma équivalent correspond à l'analogie électrique du comportement mécanique.



**Figure 2.18** (a) Principe du schéma de détection implémenté. Une structure non libérée avec un patch piézoélectrique similaire au résonateur mesuré sert de référence afin de compenser la capacité statique du patch ainsi que les capacités parasites issues des interconnexions. (b) Synoptique du principe de fonctionnement de l'électronique de détection.

Le principe de fonctionnement de l'électronique de détection est le suivant. Deux tensions sinusoïdales en opposition de phase et programmables en amplitude sont issues d'un synthétiseur

numérique (DDS). La première tension est appliquée directement au niveau du dispositif mesuré (DUT). La seconde est appliquée à une structure de référence utilisée pour réaliser la compensation (REF) afin de limiter les effets des capacités statiques. Les charges générées par les deux structures sont collectées au niveau de l'électrode inférieure commune et amplifiées via un amplificateur de charges selon un gain de 1 pC/V. En sortie de l'amplificateur, le signal est injecté dans un démodulateur I/Q afin d'en extraire l'amplitude et la phase. Le principe de fonctionnement de ce démodulateur est présenté figure 2.18 (b). En sortie de l'amplificateur, le signal est multiplié par deux signaux en quadrature de phase qui sont ensuite filtrés (passe-bas, bande passante : 4 kHz) pour supprimer les composantes en  $2\omega$ . Après amplification (gain ajustable : [0.2 – 50]), les deux tensions analogiques I et Q résultantes sont numérisées via un convertisseur analogique-numérique (ADC). L'ensemble des éléments de la carte électronique sont contrôlés par un microcontrôleur ( $\mu\text{C}$ ) dont le pilotage et la communication avec le logiciel sont assurés via une interface USB (*Universal Serial Bus*). Les calculs permettant de déterminer l'amplitude et la phase associées à la vibration de la structure mesurée sont réalisés au niveau logiciel à partir des données brutes transmises par la carte.

Une étude précédente a permis d'étudier l'effet des couplages parasites et leur impact sur la mesure de fréquences de résonance par le biais d'une détection de charges. Elle a également notamment permis de valider expérimentalement l'implémentation de cette stratégie de détection pour la mesure de réponses dynamiques de MEMS de différentes natures (leviers, ponts et membranes) avec une couche piézoélectrique intégrée [86]. Dans le cadre de ces présents travaux, la compensation des capacités statiques sur plus de deux ordres de grandeur a ainsi pu être obtenue, ramenant le niveau de la composante parasite en sortie de l'amplificateur à une tension résiduelle d'environ 20 mV au voisinage de la résonance. Ce niveau de fond s'explique en partie par la résistance des pistes électriques ainsi que par la différence de résistance entre les patches de PZT de la structure mesurée et de la structure de référence qui ne peuvent pas être compensées. Si le premier effet peut être résolu par une optimisation du design, le second est fortement dépendant du procédé de fabrication. Malgré une dynamique de mesure permettant d'identifier des variations de 20  $\mu\text{V}$ , aucune résonance n'a cependant pu être détectée, suggérant une quantité de charges générées inférieures à 20 aC sous 1 V d'excitation. La quantité de charges générées  $q$  (en C) peut être estimée à partir du modèle par éléments finis selon :

$$q = \frac{\chi_p^2 Q}{M_{eff} \omega_0^2} V = \alpha V \quad (2.78)$$

D'après cette relation, la quantité de charges générées à la résonance par le film piézoélectrique est de l'ordre de 0.7 aC pour une tension d'excitation de 1 V. Cette estimation correspond à un niveau de charges bien en deçà de la capacité de détection de notre système.

A ce stade, l'intégration d'une couche piézoélectrique au sein de résonateurs NEMS n'a donc été que partiellement validée puisque seule la capacité d'actionnement a pu être démontrée. Les caractérisations électriques réalisées ainsi que l'estimation du coefficient piézoélectrique grâce au modèle par éléments finis tendent à montrer la défaillance des propriétés du film de PZT intégré au sein des résonateurs dans le cadre de ce projet. D'autres stratégies de structuration et d'intégration de couches de PZT sont actuellement à l'étude. Les caractérisations ont également



permis de mettre en évidence certaines faiblesses de conception et de design, dont l'optimisation permettrait sans nul doute d'améliorer la sensibilité du dispositif de détection. Plusieurs pistes sont ainsi envisagées : la réduction des capacités statiques via la diminution du recouvrement des surfaces non actives (une réduction de près de deux ordres de grandeur est ainsi espérée), la mise à la masse du silicium supérieur du substrat SOI afin de supprimer les effets de couplage capacitif au niveau des pistes électriques, ainsi que l'optimisation du design des structures de référence afin de réduire au mieux les différences de résistance des pistes d'accès et du patch piézoélectrique avec celles des structures à caractériser. Dans l'idéal, l'intégration de l'électronique de détection, et notamment de l'amplificateur de charges, au plus proche des dispositifs pourrait également permettre de réduire les effets parasites. Cette option reste toutefois difficilement envisageable, du moins pour du PZT dont l'intégration n'est pas CMOS compatible.

### 2.13 Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre, un procédé d'intégration d'une couche piézoélectrique de PZT de 150 nm d'épaisseur a été rapporté. Ces travaux adressent une double problématique dans le domaine des NEMS, à savoir la mise en œuvre de moyens de fabrication collectifs et à grande échelle ainsi que l'étude d'une stratégie de structuration visant à préserver les propriétés du matériau généralement affectées par la miniaturisation. L'utilisation de technologies parallèles comme la lithographie UV par projection constitue un bon compromis entre niveau d'intégration et fabrication collective à l'échelle du wafer. Concernant la problématique de structuration du matériau piézoélectrique à cette échelle, un dépôt par pulvérisation magnétron suivi d'une structuration par *lift-off* ont été mis en œuvre. Cette stratégie s'est avérée prometteuse puisque l'intégrité mécanique ainsi que les capacités d'actionnement des dispositifs via la couche de transduction intégrée ont pu être démontrées. Les leviers opérés en mode dynamique ont ainsi pu être caractérisés sous vide avec des fréquences de résonance autour de 10 MHz et des facteurs de qualité typiquement proches de 900, dont la mesure à pression ambiante a également été possible. Les mesures expérimentales ont également permis de valider l'intérêt du modèle éléments finis développé afin de mieux comprendre les effets de l'empilement sur la réponse mécanique des structures. En revanche, les caractérisations électriques et dynamiques ont montré que non seulement les propriétés du matériau étaient significativement variables selon les dispositifs, mais surtout que le coefficient piézoélectrique était largement inférieur à d'autres travaux rapportés dans la littérature. Par conséquent, la faisabilité de détection des charges générées n'a pas pu être validée. Ces résultats ont néanmoins permis d'envisager plusieurs améliorations en termes de choix de structuration du matériau, mais aussi en termes de considérations de design. Une intégration de PZT sol-gel déposé par microcontact printing est actuellement en cours de développement, grâce à une collaboration avec le groupe du Prof. Susan Trolier-McKinstry de l'université d'état de Pennsylvanie (USA). Cette approche de structuration s'est avérée particulièrement prometteuse en termes de préservation de l'intégrité des propriétés diélectriques et piézoélectriques du matériau même lorsque confiné à ces échelles. Nous avons donc bon espoir de développer des dispositifs entièrement fonctionnels à court terme.

# Bibliographie

---

- [1] Craighead H G 2000 Nanoelectromechanical Systems *Science* **290** 1532–5
- [2] Roukes M L 2001 Nanoelectromechanical systems face the future *Phys. World* **14** 25–31
- [3] Ekinci K L and Roukes M L 2005 Nanoelectromechanical systems *Rev. Sci. Instrum.* **76** 061101
- [4] Ilic B, Yang Y and Craighead H G 2004 Virus detection using nanoelectromechanical devices *Appl. Phys. Lett.* **85** 2604
- [5] Varshney M, Waggoner P S, Tan C P, Aubin K, Montagna R A and Craighead H G 2008 Prion Protein Detection Using Nanomechanical Resonator Arrays and Secondary Mass Labeling *Anal. Chem.* **80** 2141–8
- [6] Bargatin I, Myers E B, Aldridge J S, Marcoux C, Brianceau P, Duraffourg L, Colinet E, Hentz S, Andreucci P and Roukes M L 2012 Large-Scale Integration of Nanoelectromechanical Systems for Gas Sensing Applications *Nano Lett.* **12** 1269–74
- [7] Holthoff E L, Li L, Hiller T and Turner K L 2015 A molecularly imprinted polymer (MIP)-coated microbeam MEMS sensor for chemical detection *Proc. SPIE 9455 Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and Explosives (CBRNE) Sensing XVI* 94550W (Baltimore, USA)
- [8] Hanay M S, Kelber S, Naik A K, Chi D, Hentz S, Bullard E C, Colinet E, Duraffourg L and Roukes M L 2012 Single-protein nanomechanical mass spectrometry in real time *Nat. Nanotechnol.* **7** 602–8
- [9] Sage E, Brenac A, Alava T, Morel R, Dupré C, Hanay M S, Roukes M L, Duraffourg L, Masselon C and Hentz S 2015 Neutral particle mass spectrometry with nanomechanical systems *Nat. Commun.* **6**
- [10] Li M, Tang H X and Roukes M L 2007 Ultra-sensitive NEMS-based cantilevers for sensing, scanned probe and very high-frequency applications *Nat. Nanotechnol.* **2** 114–20
- [11] Singh V, Irfan B, Subramanian G, Solanki H S, Sengupta S, Dubey S, Kumar A, Ramakrishnan S and Deshmukh M M 2012 Coupling between quantum Hall state and electromechanics in suspended graphene resonator *Appl. Phys. Lett.* **100** 233103
- [12] LaHaye M D, Suh J, Echternach P M, Schwab K C and Roukes M L 2009 Nanomechanical measurements of a superconducting qubit *Nature* **459** 960–4

- [13] Evoy S, Riegelman M A, Naguib N, Ye H, Jaroenapibal P, Luzzi D E and Gogotsi Y 2005 Dielectrophoretic assembly of carbon nanofiber nanoelectromechanical devices *IEEE Trans. Nanotechnol.* **4** 570–5
- [14] Li M, Bhiladvala R B, Morrow T J, Siooss J A, Lew K-K, Redwing J M, Keating C D and Mayer T S 2008 Bottom-up assembly of large-area nanowire resonator arrays *Nat. Nanotechnol.* **3** 88–92
- [15] Morrow T J, Li M, Kim J, Mayer T S and Keating C D 2009 Programmed Assembly of DNA-Coated Nanowire Devices *Science* **323** 352
- [16] Janzen A, Poshtiban S, Singh A and Evoy S 2012 Fabrication of nanoresonator biosensing arrays using nanoimprint lithography *J. MicroNanolithography MEMS MOEMS* **11** 023013–1
- [17] Carr D W and Craighead H G 1997 Fabrication of nanoelectromechanical systems in single crystal silicon using silicon on insulator substrates and electron beam lithography *J. Vac. Sci. Technol. B* **15** 2760–3
- [18] Guthy C, Das R M, Drobot B and Evoy S 2010 Resonant characteristics of ultranarrow SiCN nanomechanical resonators *J. Appl. Phys.* **108** 014306
- [19] Arcamone J, Boogaart M A F van den, Serra-Graells F, Fraxedas J, Brugger J and Pérez-Murano F 2008 Full-wafer fabrication by nanostencil lithography of micro/nanomechanical mass sensors monolithically integrated with CMOS *Nanotechnology* **19** 305302
- [20] Ekinici K L 2005 Electromechanical Transducers at the Nanoscale: Actuation and Sensing of Motion in Nanoelectromechanical Systems (NEMS) *Small* **1** 786–97
- [21] Truitt P A, Hertzberg J B, Huang C C, Ekinici K L and Schwab K C 2007 Efficient and Sensitive Capacitive Readout of Nanomechanical Resonator Arrays *Nano Lett.* **7** 120–6
- [22] Knobel R G and Cleland A N 2003 Nanometre-scale displacement sensing using a single electron transistor *Nature* **424** 291–3
- [23] Unterreithmeier Q P, Weig E M and Kotthaus J P 2009 Universal transduction scheme for nanomechanical systems based on dielectric forces *Nature* **458** 1001–4
- [24] Henry Huang X M, Zorman C A, Mehregany M and Roukes M L 2003 Nanoelectromechanical systems: Nanodevice motion at microwave frequencies *Nature* **421** 496–496
- [25] Bargatin I, Kozinsky I and Roukes M L 2007 Efficient electrothermal actuation of multiple modes of high-frequency nanoelectromechanical resonators *Appl. Phys. Lett.* **90** 093116
- [26] Masmanidis S C, Karabalin R B, Vlamincck I D, Borghs G, Freeman M R and Roukes M L 2007 Multifunctional Nanomechanical Systems via Tunably Coupled Piezoelectric Actuation *Science* **317** 780–3
- [27] Villanueva L G, Karabalin R B, Matheny M H, Kenig E, Cross M C and Roukes M L 2011 A Nanoscale Parametric Feedback Oscillator *Nano Lett.* **11** 5054–9

- [28] Hök B and Gustafsson K 1985 Vibration analysis of micromechanical elements *Sens. Actuators* **8** 235–43
- [29] Bau M 2005 *Analysis and Design Principles of MEMS Devices* (Elsevier B.V.)
- [30] Brand O, Dufour I, Heinrich S and Josse F 2015 *Resonant MEMS: Fundamentals, Implementation, and Application* (Wiley)
- [31] Hauer B D, Doolin C, Beach K S D and Davis J P 2013 A general procedure for thermomechanical calibration of nano/micro-mechanical resonators *Ann. Phys.* **339** 181–207
- [32] Ferguson A T, Li L, Nagaraj V T, Balachandran B, Piekarski B and DeVoe D L 2005 Modeling and design of composite free-free beam piezoelectric resonators *Sens. Actuators Phys.* **118** 63–9
- [33] Young W C, Roark R J and Budynas R G 2002 *Roark's formulas for stress and strain* (McGraw-Hill)
- [34] Ziegler C 2004 Cantilever-based biosensors *Anal. Bioanal. Chem.* **379** 946–59
- [35] Albrecht T R, Grütter P, Horne D and Rugar D 1991 Frequency modulation detection using high-Q cantilevers for enhanced force microscope sensitivity *J. Appl. Phys.* **69** 668–73
- [36] Imboden M and Mohanty P 2014 Dissipation in nanoelectromechanical systems *Phys. Rep.* **534** 89–146
- [37] Lavrik N V and Datskos P G 2003 Femtogram mass detection using photothermally actuated nanomechanical resonators *Appl. Phys. Lett.* **82** 2697
- [38] Sampathkumar A, Murray T W and Ekinci K L 2006 Photothermal operation of high frequency nanoelectromechanical systems *Appl. Phys. Lett.* **88** 223104
- [39] Ilic B, Yang Y, Aubin K, Reichenbach R, Krylov S and Craighead H G 2005 Enumeration of DNA Molecules Bound to a Nanomechanical Oscillator *Nano Lett.* **5** 925–9
- [40] Arlett J L, Maloney J R, Gudlewski B, Muluneh M and Roukes M L 2006 Self-Sensing Micro and Nanocantilevers with Attonewton-Scale Force Resolution *Nano Lett.* **6** 1000–6
- [41] Bargatin I, Myers E B, Arlett J, Gudlewski B and Roukes M L 2005 Sensitive detection of nanomechanical motion using piezoresistive signal downmixing *Appl. Phys. Lett.* **86** 133109
- [42] Boubekri R, Cambril E, Couraud L, Bernardi L, Madouri A, Portail M, Chassagne T, Moisson C, Zielinski M, Jiao S, Michaud J-F, Alquier D, Bouloc J, Nony L, Bocquet F, Loppacher C, Martrou D and Gauthier S 2014 Electrothermally driven high-frequency piezoresistive SiC cantilevers for dynamic atomic force microscopy *J. Appl. Phys.* **116** 054304
- [43] GmbH P Polytec: Principes de la Vibrométrie Laser, [www.polytec.com](http://www.polytec.com)
- [44] Puschert W 1974 Optical detection of amplitude and phase of mechanical displacements in the Åstrom range *Opt. Commun.* **10** 357–61

- [45] GmbH P Polytec: Microsystem & MEMS Analyzers, [www.polytec.com](http://www.polytec.com)
- [46] Carr D W, Evoy S, Sekaric L, Craighead H G and Parpia J M 1999 Measurement of mechanical resonance and losses in nanometer scale silicon wires *Appl. Phys. Lett.* **75** 920–2
- [47] Cleland A N and Roukes M L 1996 Fabrication of high frequency nanometer scale mechanical resonators from bulk Si crystals *Appl. Phys. Lett.* **69** 2653
- [48] Bilhaut L, Garello K, Duraffourg L, Viala B and Andreucci P 2009 Actuation and Detection of a Nanoresonator by an Integrated Antiferro/Ferromagnetic Multilayer Stack *Procedia Chem.* **1** 1407–10
- [49] Pelesko J A and Bernstein D H 2002 *Modeling MEMS and NEMS* (CRC Press)
- [50] Rollier A-S, Legrand B, Collard D and Buchailot L 2006 The stability and pull-in voltage of electrostatic parallel-plate actuators in liquid solutions *J. Micromechanics Microengineering* **16** 794
- [51] Sounart T L, Michalske T A and Zavadil K R 2005 Frequency-dependent electrostatic actuation in microfluidic MEMS *J. Microelectromechanical Syst.* **14** 125–33
- [52] Bouwstra S, Blom F R, Lammerink T S J, Yntema H, Schrap P, Fluitman J H J and Elwenspoek M 1989 Excitation and detection of vibrations of micromechanical structures using a dielectric thin film *Sens. Actuators* **17** 219–23
- [53] Thomas O, Deü J-F and Ducarne J 2009 Vibrations of an elastic structure with shunted piezoelectric patches: efficient finite element formulation and electromechanical coupling coefficients *Int. J. Numer. Methods Eng.* **80** 235–68
- [54] 1988 IEEE Standard on Piezoelectricity *ANSI/IEEE Std 176-1987*
- [55] Shepard Jr. J F, Moses P J and Trolier-McKinstry S 1998 The wafer flexure technique for the determination of the transverse piezoelectric coefficient ( $d_{31}$ ) of PZT thin films *Sens. Actuators Phys.* **71** 133–8
- [56] Dubois M-A and Muralt P 1999 Measurement of the effective transverse piezoelectric coefficient  $e_{31,f}$  of AlN and Pb(Zrx,Ti1-x)O3 thin films *Sens. Actuators Phys.* **77** 106–12
- [57] DeVoe D L 2001 Piezoelectric thin film micromechanical beam resonators *Sens. Actuators Phys.* **88** 263–72
- [58] Singh J, Ranwa S, Akhtar J and Kumar M 2015 Growth of residual stress-free ZnO films on SiO2/Si substrate at room temperature for MEMS devices *AIP Adv.* **5** 079901
- [59] Ivaldi P, Abergel J, Matheny M H, Villanueva L G, Karabalin R B, Roukes M L, Andreucci P, Hentz S and Defay E 2011 50 nm thick AlN film-based piezoelectric cantilevers for gravimetric detection *J. Micromechanics Microengineering* **21** 085023
- [60] Arndt G, Defay E, Rhun G L, Rey P, Perruchot F, Aid M, Liu L and Miller M 2010 Dynamic analytical modelling and piezoelectric characterization of a Pb(Zr, Ti)O3/SiN cantilever with losses *J. Micromechanics Microengineering* **20** 115019

- [61] Karabalin R B, Matheny M H, Feng X L, Defay E, Le Rhun G, Marcoux C, Hentz S, Andreucci P and Roukes M L 2009 Piezoelectric nanoelectromechanical resonators based on aluminum nitride thin films *Appl. Phys. Lett.* **95** 103111
- [62] Bell D J, Lu T J, Fleck N A and Spearing S M 2005 MEMS actuators and sensors: observations on their performance and selection for purpose *J. Micromechanics Microengineering* **15** S153
- [63] Thomas O, Legrand B and Fuinel C 2015 Optimization of length and thickness of smart transduction layers on beam structures for control and M/NEMS applications *Proc. ASME 8857 Smart Materials Adaptive Structures and Intelligent Systems* (Colorado Springs, USA)
- [64] Trolier-McKinstry S and Muralt P 2004 Thin Film Piezoelectrics for MEMS *J. Electroceramics* **12** 7–17
- [65] Trolier-McKinstry S, Griggio F, Yaeger C, Jousse P, Zhao D, Bharadwaja S S N, Jackson T N, Jesse S, Kalinin S V and Wasa K 2011 Designing piezoelectric films for micro electromechanical systems *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **58** 1782–92
- [66] Sherrit S, Wiederick H D and Mukherjee B K 1997 Complete characterization of the piezoelectric, dielectric, and elastic properties of Motorola PZT 3203 HD, including losses and dispersion vol 3037 pp 158–69
- [67] Calame F and Muralt P 2007 Growth and properties of gradient free sol-gel lead zirconate titanate thin films *Appl. Phys. Lett.* **90** 062907
- [68] Ledermann N, Muralt P, Baborowski J, Gentil S, Mukati K, Cantoni M, Seifert A and Setter N 2003 {1 0 0}-Textured, piezoelectric Pb(Zrx, Ti1-x)O3 thin films for MEMS: integration, deposition and properties *Sens. Actuators Phys.* **105** 162–70
- [69] Cruz J P de la, Joanni E, Vilarinho P M and Kholkin A L 2010 Thickness effect on the dielectric, ferroelectric, and piezoelectric properties of ferroelectric lead zirconate titanate thin films *J. Appl. Phys.* **108** 114106
- [70] Griggio F and Trolier-McKinstry S 2010 Grain size dependence of properties in lead nickel niobate-lead zirconate titanate films *J. Appl. Phys.* **107** 024105
- [71] Sama N, Herdier R, Jenkins D, Soyer C, Remiens D, Detalle M and Bouregba R 2008 On the influence of the top and bottom electrodes—A comparative study between Pt and LNO electrodes for PZT thin films *J. Cryst. Growth* **310** 3299–302
- [72] Bastani Y, Schmitz-Kempen T, Roelofs A and Bassiri-Gharb N 2011 Critical thickness for extrinsic contributions to the dielectric and piezoelectric response in lead zirconate titanate ultrathin films *J. Appl. Phys.* **109** 014115
- [73] Chung C W and Kim C J 1997 Etching Effects on Ferroelectric Capacitors with Multilayered Electrodes *Jpn. J. Appl. Phys.* **36** 2747
- [74] Kang M-G, Kim K-T and Kim C-I 2003 Plasma-induced damage in PZT thin films etched by inductively coupled plasma *Thin Solid Films* **435** 222–6
- [75] Welsh A J, Wilke R H T, Hickner M A and Trolier-McKinstry S 2013 Low-Cost, Damage-Free Patterning of Lead Zirconate Titanate Films *J. Am. Ceram. Soc.* **96** 2799–805

- [76] Lazarus A, Thomas O and Deü J-F 2012 Finite element reduced order models for nonlinear vibrations of piezoelectric layered beams with applications to NEMS *Finite Elem. Anal. Des.* **49** 35–51
- [77] Ayela C, Nicu L, Soyer C, Cattan E and Bergaud C 2006 Determination of the d31 piezoelectric coefficient of  $\text{PbZr}_x\text{Ti}_{1-x}\text{O}_3$  thin films using multilayer buckled micromembranes *J. Appl. Phys.* **100** 054908
- [78] Zhao S, Ma F, Song Z and Xu K 2008 The growth behavior and stress evolution of sputtering-deposited  $\text{LaNiO}_3$  thin films *Mater. Sci. Eng. A* **474** 134–9
- [79] Chinmulgund M, Inturi R B and Barnard J A 1995 Effect of Ar gas pressure on growth, structure, and mechanical properties of sputtered Ti, Al, TiAl, and Ti<sub>3</sub>Al films *Thin Solid Films* **270** 260–3
- [80] Hase T and Shiosaki T 1991 Preparation and Switching Kinetics of  $\text{Pb}(\text{Zr}, \text{Ti})\text{O}_3$  Thin Films Deposited by Reactive Sputtering *Jpn. J. Appl. Phys.* **30** 2159–62
- [81] Abe K, Tomita H, Toyoda H, Imai M and Yokote Y 1991 PZT Thin Film Preparation on Pt-Ti Electrode by RF Sputtering *Jpn. J. Appl. Phys.* **30** 2152–4
- [82] Han H, Zhong J, Kotru S, Padmini P, Song X Y and Pandey R K 2006 Improved ferroelectric property of  $\text{LaNiO}_3/\text{Pb}(\text{Zr}_{0.2}\text{Ti}_{0.8})\text{O}_3/\text{LaNiO}_3$  capacitors prepared by chemical solution deposition on platinized silicon *Appl. Phys. Lett.* **88** 092902
- [83] Bao D, Ruan K and Liang T 2007 Structure and electrical properties of  $\text{Pb}(\text{Zr}_{0.25}\text{Ti}_{0.75})\text{O}_3$  thin films on  $\text{LaNiO}_3$ -Coated thermally oxidized Si substrates *J. Sol-Gel Sci. Technol.* **42** 353–6
- [84] Guillon S, Saya D, Mazonq L, Costecalde J, Remiens D, Soyer C and Nicu L 2012 Lead zirconate titanate nanoscale patterning by ultraviolet-based lithography lift-off technique for nano-electromechanical system applications *IEEE Trans. Ultrason. Ferroelectr. Freq. Control* **59** 1955–61
- [85] Chen H D, Udayakumar K R, Gaskey C J and Cross L E 1995 Electrical properties' maxima in thin films of the lead zirconate–lead titanate solid solution system *Appl. Phys. Lett.* **67** 3411–3
- [86] Mathieu F, Larramendy F, Dezest D, Huang C, Lavalée G, Miller S, Eichfeld C M, Mansfield W, Trolier-McKinstry S and Nicu L 2013 Reducing parasitic effects of actuation and sensing schemes for piezoelectric microelectromechanical resonators *Microelectron. Eng.* **111** 68–76

# 3

## Biofonctionnalisation de NEMS par microcontact printing

---

### 3.1 Introduction

L'une des applications les plus prometteuses des nanosystèmes électromécaniques (NEMS) concerne la biodétection ultra-sensible sans marquage [1] [2]. La percée des dispositifs NEMS dans ce domaine reste encore cependant limitée par le défi majeur que représente la biofonctionnalisation, à savoir l'intégration de la couche bioréceptrice assurant la sélectivité du capteur [2]. Des résultats particulièrement prometteurs ont été obtenus dans le cadre d'une approche ascendante (*bottom-up*), avec notamment la fonctionnalisation de résonateurs à base de nanofils avant leur assemblage dirigé au sein du dispositif final [3] [4]. Ces méthodes sont toutefois encore relativement moins avancées en termes de précision d'adressage que les techniques classiques de micro et nanofabrication, avec lesquelles elles sont d'ailleurs la plupart du temps combinées. L'intégration de l'étape de fonctionnalisation au sein d'un procédé de fabrication descendant constitue en revanche une réelle difficulté technique, avec notamment la question de la préservation de l'intégrité des molécules biologiques soumises à des conditions sévères (utilisation de résines, solvants, plasma, environnement sous vide, produits chimiques, ...). Une stratégie de fonctionnalisation post-fabrication apparaît donc plus viable sous réserve que la méthode mise en œuvre soit compatible avec la manipulation de nanostructures mécaniques libérées fragiles.

Outre la préservation de l'intégrité des molécules biologiques et des nanostructures mécaniques, la méthode de fonctionnalisation doit également permettre de répondre à d'autres critères. Le regroupement de nanostructures individuelles selon des réseaux denses et à grande échelle est une stratégie employée pour répondre à la problématique du temps de réponse du capteur [3] [5]. Un premier critère dans le choix de la technique de dépôt des biorécepteurs est donc sa capacité à pouvoir adresser de tels réseaux. Une pratique simple à mettre en œuvre et couramment utilisée consiste à immerger ou incubé la puce avec la solution d'intérêt [5] [6] [7]. Cette approche ne répond toutefois que partiellement aux besoins liés à des applications de biodétection, où généralement le confinement des molécules sondes au niveau des surfaces sensibles et la passivation des régions non actives sont recherchés afin de limiter la consommation de matériel biologique et réduire la probabilité d'adsorption non spécifique. L'aspect multiplexage, à savoir la fonctionnalisation du réseau de nanostructures avec différents types de molécules sondes, peut également être une spécification indispensable pour des applications de criblage haut débit nécessitant une plateforme de détection multi-cibles.

Le microcontact printing ( $\mu$ CP) est une technique de lithographie douce qui consiste à transférer une « encre » depuis les protrusions d'un timbre élastomère par contact avec la surface

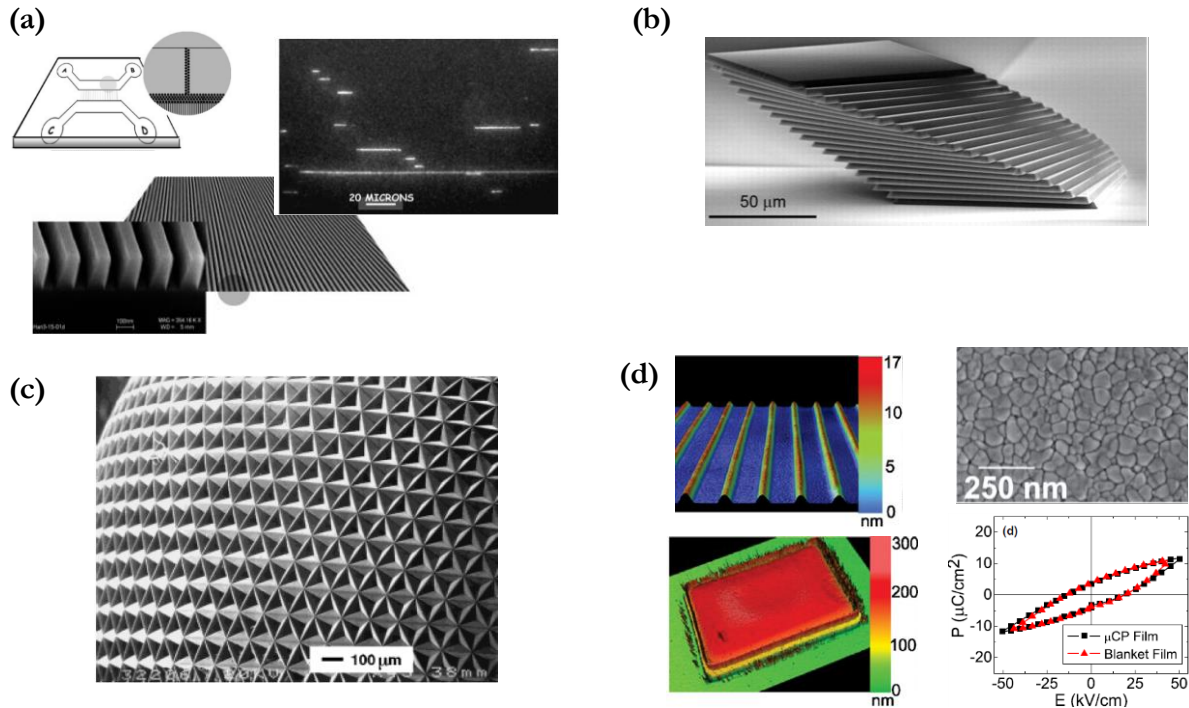


d'un substrat. Cette technologie bas coût permet de générer de manière parallèle des réseaux de motifs de dimensions nanométriques [8] à l'échelle de grandes surfaces [9] tout en étant compatible avec l'utilisation de molécules biologiques [10]. Malgré de tels attributs, à notre connaissance cette technique n'a encore jamais été appliquée à la fonctionnalisation de systèmes électromécaniques. L'objectif de ces travaux est donc d'évaluer le potentiel d'un procédé de  $\mu$ CP comme outil de biofonctionnalisation post-fabrication d'un réseau grande échelle de structures NEMS. Dans une première partie de ce chapitre, les réalisations et les limitations du  $\mu$ CP seront passées en revue avant de présenter plus en détails l'approche proposée pour répondre à notre problématique. Des aspects relatifs au dimensionnement et au design des dispositifs seront ensuite discutés avant la description détaillée des procédés dédiés à leur réalisation. Les résultats expérimentaux relatifs à la fonctionnalisation de nanoleviers avec des anticorps comme molécules sondes seront ensuite présentés. Ils permettront d'évaluer la localisation du dépôt et la capacité de multiplexage de notre approche, mais aussi de vérifier la fonctionnalité des biorécepteurs ainsi que l'intégrité mécanique des résonateurs. Une conclusion et quelques perspectives clôtureront enfin ce chapitre.

### 3.2 Le microcontact printing ( $\mu$ CP)

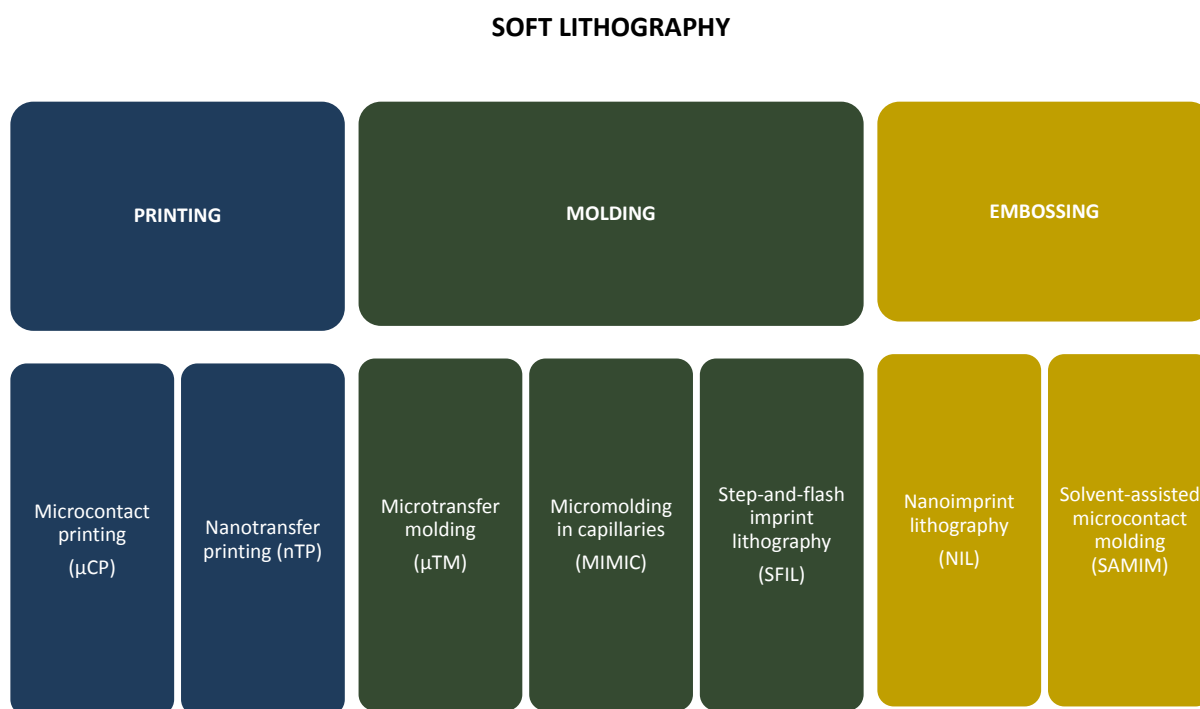
#### 3.2.1 Une technique de lithographie douce

Le  $\mu$ CP est une technique de lithographie douce, terme générique désignant un ensemble de technologies « non conventionnelles » de micro et nano-fabrication. Développées à l'origine principalement dans l'optique de réduire les dimensions critiques et les coûts de fabrication des dispositifs en microélectronique, elle a avant tout permis de répondre aux besoins liés à l'émergence de nouveaux domaines multidisciplinaires et transverses à la microélectronique [11]. En effet, la lithographie douce permet de remédier à plusieurs limitations sévères des technologies de fabrication classiques. Elle permet notamment de générer des motifs de dimensions nanométriques à la surface de substrats plans ou incurvés, de modifier localement les propriétés chimiques de surface, de pouvoir structurer un large panel de matériaux organiques ou inorganiques, et d'offrir des outils de prototypage rapides, simples et bas coût sans avoir nécessairement recours à des équipements onéreux ou d'environnements de type salle blanche [12]. De tels avantages font de la lithographie douce une excellente alternative face aux technologies de fabrication conventionnelles dans de nombreux domaines tels que l'électronique organique [13] [14], l'optique appliquée avec la fabrication d'OLED (*Organic Light-Emitting Diodes*) [15] ou la réalisation de réseaux de lentilles sur des surfaces incurvées [16], la micro-maçonnerie pour l'assemblage 3D de structures complexes [17] [18], ou encore en biotechnologies pour l'étude de comportements cellulaires et la fonctionnalisation de surfaces [19] [20]. La figure 3.1 illustre quelques réalisations obtenues par lithographie douce.



**Figure 3.1** Exemples de réalisations obtenues par lithographie douce. (a) Réalisation de canaux nanofluidiques de 100 nm de large et 200 nm de haut par *nanoimprint lithography* (NIL) permettant l'élongation confinée de molécules d'ADN [21]. (b) Assemblage 3D de plaques de silicium de 3 μm d'épaisseur réalisé par *nanotransfer printing* (nTP) [22]. (c) Image MEB d'une surface incurvée de polyuréthane dont les microstructures ont été générées par *microtransfer molding* (μTM) [12]. (d) Micro-structuration par *microcontact printing* (μCP) d'un matériau piézoélectrique (PZT) synthétisé par voie sol-gel [23].

La plupart des techniques de lithographie douce, basées sur l'utilisation de matériaux organiques et polymériques souples (d'où le nom de lithographie douce, traduction de l'anglais *soft lithography*), permettent de générer des motifs par contact physique avec un substrat. Elles peuvent être distinguées selon trois catégories en fonction du mécanisme de transfert mis en jeu : l'impression (*printing*), le moulage (*molding*), le gaufrage (*embossing*) [24]. La réplique par moulage consiste à solidifier un précurseur polymérique liquide au contact d'un moule structuré (souple ou rigide). Le principe du gaufrage repose sur le transfert des motifs d'un moule rigide dans un matériau déformable préalablement étalé à la surface d'un substrat. Enfin, l'impression est basée sur le transfert d'une encre depuis un matériau souple structuré mis en contact avec la surface d'un substrat. Ces technologies ne sont pas réellement nouvelles en soit mais sont plutôt une réadaptation d'anciens procédés lithographiques : l'invention de l'imprimerie moderne en Europe date du XVe siècle, le principe du moulage était déjà utilisé durant l'Antiquité et les relieurs se servaient du gaufrage dès le XVIe siècle à des fins esthétiques pour donner du relief aux couvertures des livres. Par soucis de concision, la suite de cette dissertation se limitera à la description de la méthode du μCP, technique retenue dans ces travaux, pour des applications biotechnologiques.



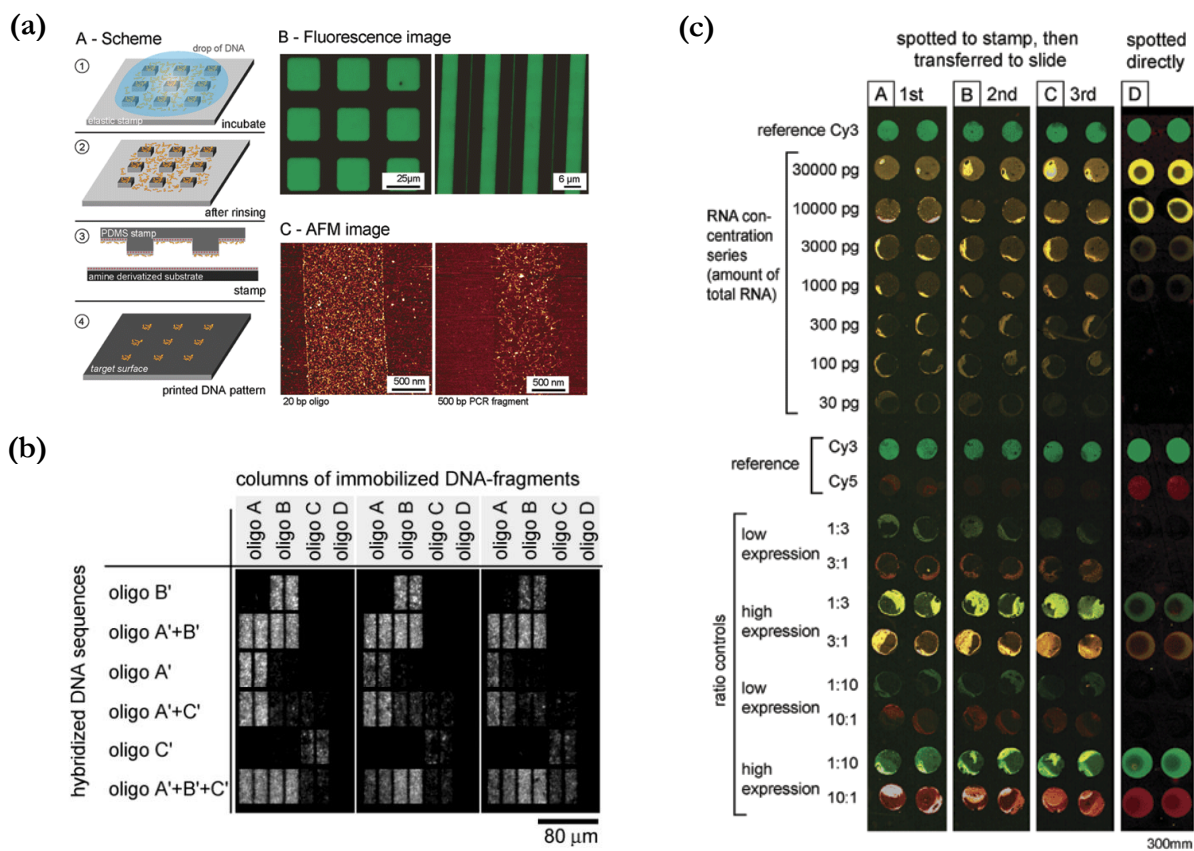
**Figure 3.2** Liste non exhaustive de techniques de lithographie douce.

### 3.2.2 Exemples de réalisations

Le  $\mu$ CP a été initialement introduit en 1993 par Kumar et Whitesides avec l'impression d'alkanethiols sur une surface d'or [25]. Cette méthode a en effet largement été employée pour la structuration de surfaces au niveau moléculaire avec le dépôt de monocouches auto-assemblées (SAMs). Une SAM est un film moléculaire semi-cristallin à deux dimensions, constitué de petites molécules ordonnées et spontanément organisées à la surface d'un substrat. Les molécules comportent un groupement de tête permettant l'accroche covalente avec le substrat, et une chaîne alkyle dont la fonctionnalité du groupement de queue détermine les propriétés de la surface du substrat (mouillabilité, réactivité, ...). Le  $\mu$ CP de SAMs permet ainsi de générer des motifs avec différentes chimies de surface pouvant par exemple servir de masque de protection pour de la gravure chimique sélective [25] [26], mais aussi pour confiner des réactions chimiques [27] et catalytiques [28]. Le  $\mu$ CP ne se limite pas cependant à la structuration de SAMs. La large gamme d'encres organiques ou inorganiques pouvant être manipulées témoigne de la versatilité de cette technique, avec notamment un fort potentiel pour des applications biotechnologiques.

Les plateformes biomoléculaires comme les puces à ADN sont essentielles dans les domaines du diagnostic, de la recherche médicale, de la toxicologie et de la pharmacologie [29]. Si des techniques de dépôt par robot ou de synthèse *in-situ* sont commercialement mises en œuvre, elles sont par nature séquentielles donc onéreuses. Le développement de techniques parallèles, simples, rapides et bas coûts comme le  $\mu$ CP permettrait d'élargir leur utilisation. La première mise en œuvre du  $\mu$ CP pour le dépôt localisé de molécules d'ADN est rapportée par Lange *et al* [30]. Dans leurs travaux, ils utilisent un timbre en PDMS dont la surface est modifiée chimiquement

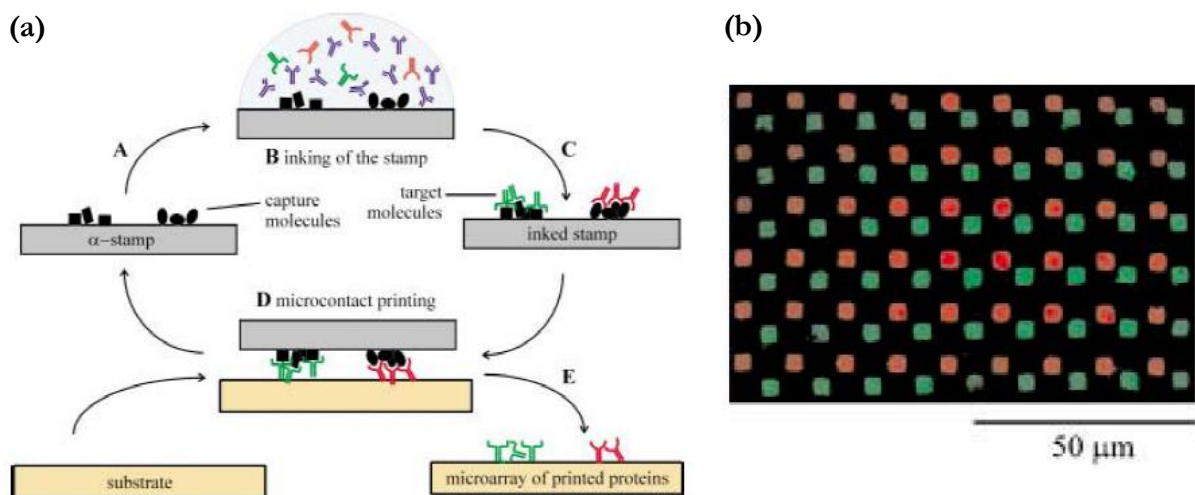
pour réaliser le dépôt par  $\mu$ CP de molécules d'ADN (20-500 paires de bases) à la surface de substrats en verre fonctionnalisés à l'APTES. Les motifs imprimés présentent une meilleure uniformité que ceux générés avec des robots de dépôt pour une résolution comparable, généralement sujets à la formation d'inhomogénéités de type « *coffee ring effect* ». Le dépôt en lui-même est aussi plus rapide. Ils proposent également deux stratégies d'encrage du timbre permettant de réaliser un dépôt multiplexé : (i) une incubation séquentielle à l'aide d'un robot de dépôt et (ii) une incubation parallèle via un réseau microfluidique. Ils démontrent enfin l'activité des sondes ADN avec l'hybridation différentielle de brins complémentaires présents dans une solution complexe (cf. figure 3.3). D'autres travaux rapportent l'amélioration du transfert de molécules d'ADN par  $\mu$ CP en utilisant des timbres modifiés avec des dendrimères [31].



**Figure 3.3** Démonstration du potentiel d'utilisation du  $\mu$ CP dans la réalisation de biopuces à ADN. (a) Schéma du transfert et résultats obtenus par fluorescence et par AFM du dépôt de sondes ADN par  $\mu$ CP. Résultats d'hybridation suite au dépôt multiplexé des sondes par  $\mu$ CP obtenus (b) par « autométallographie » pour la stratégie d'encrage parallèle du timbre et (c) par fluorescence pour la stratégie d'encrage séquentielle (reproduit d'après [30]).

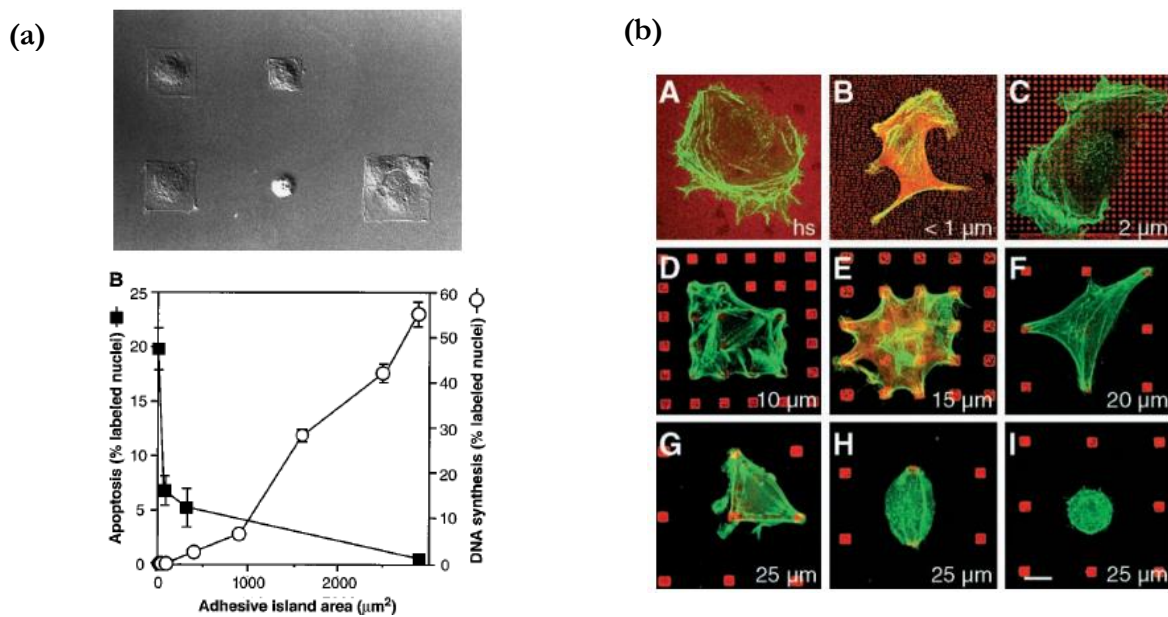
La réalisation de plateformes à base de protéines représente également un enjeu important dans le domaine de la protéomique, du diagnostic ou pour des applications de criblage. Si elles empruntent certaines approches de fabrication aux puces à ADN comme le dépôt par robot [32],

la structuration par photolithographie de molécules aussi fragiles que des protéines est en revanche inenvisageable. De manière générale, les puces à protéines sont beaucoup moins répandues que les puces à ADN. L'utilisation de technologies alternatives parallèles et bas coûts comme le  $\mu$ CP pourrait favoriser leur développement. Bernard *et al* [10] ont été les premiers à réaliser l'immobilisation directe de protéines sur des supports solides grâce au  $\mu$ CP. Dans leurs travaux, ils rapportent le dépôt d'une monocouche d'anticorps IgG depuis la surface non modifiée d'un timbre en PDMS, après seulement quelques secondes de contact avec différents substrats (silicium, polystyrène, monocouches auto-assemblées sur des surfaces d'or exhibant différentes fonctionnalités chimiques). Ils démontrent la préservation de l'intégrité biologique des anticorps ainsi immobilisés avec la mise en œuvre d'un essai immunologique. Ils démontrent également que l'efficacité de reconnaissance est indiscernable de mêmes anticorps immobilisés par simple adsorption après incubation. Ces résultats sont particulièrement importants du fait de la complexité et de la fragilité des protéines, dont la fonctionnalité est particulièrement sensible à leur conformation. Malgré de possibles changements de conformation subis par les protéines dans ce procédé de transfert [33], leur activité n'en est pas pour autant nécessairement altérée. Renault *et al* [34] étendent par la suite la structuration de protéines par  $\mu$ CP à la réalisation de réseaux comportant plusieurs molécules. Ils s'appuient pour cela sur une version modifiée du  $\mu$ CP, baptisée « *affinity contact-printing* » ( $\alpha$ CP) [35], qui repose sur l'utilisation d'un timbre en PDMS fonctionnalisé avec des ligands et dont le mécanisme, illustré sur la figure 3.4, comporte deux étapes : (i) la capture spécifique de molécules complémentaires au sein d'une solution complexe et (ii) le relargage localisé de ces molécules à la surface d'un substrat par dissociation du complexe via la déformation mécanique du timbre. Malgré une capacité de multiplexage relativement limitée et une certaine complexité dans la préparation du timbre, cette méthode permet néanmoins de générer des réseaux de fortes densités ( $10^4$  spots/mm<sup>2</sup>) pouvant être utilisés pour des applications de criblage haut-débit.



**Figure 3.4** Application du  $\mu$ CP à la réalisation de réseaux de protéines. (a) Schéma du procédé de  $\alpha$ CP. (b) Image en fluorescence montrant le résultat de l'interaction protéines-protéines au niveau d'un réseau dense ( $10^4$  spots/mm<sup>2</sup>) comportant deux types de sondes immobilisées par  $\alpha$ CP (reproduit d'après [34]).

Le  $\mu$ CP constitue également un outil pour l'étude de comportements cellulaires. Les applications de criblage pharmaceutique ou de toxicologie *in vitro* sont basées sur l'analyse de changements de fonctionnalité au sein de populations cellulaires. La variabilité de comportement d'une cellule à l'autre ainsi que la difficulté de suivre l'évolution de certains individus en particulier au sein de larges populations constituent de réelles limitations. Singhvi *et al* [36] ont proposé d'utiliser le  $\mu$ CP comme méthode permettant d'isoler physiquement un grand nombre de cellules individuelles facilitant ainsi leur analyse. En générant des îlots d'alkanethiols par  $\mu$ CP et en passant le reste de la surface d'or avec des PEG, ils définissent respectivement des régions favorables (alkanethiols) et défavorables (PEG) à l'adsorption de protéines extracellulaires impliquées dans le mécanisme d'adhésion des cellules. Ils parviennent ainsi à immobiliser sélectivement des hépatocytes (cellules du foie) de rat, dont la distribution, la forme et l'étalement sont dictés par les motifs imprimés. En réalisant des îlots de différentes dimensions sur le même substrat, ils observent une augmentation de la croissance cellulaire avec la taille des îlots au détriment de la production d'albumine (produit sécrété par les cellules du foie), témoignant d'un changement de fonctionnalité modulé par la forme de la cellule. Chen *et al* [37] ont également rapporté grâce à la même approche que le contrôle géométrique de la forme cellulaire influençait directement la mort « programmée » des cellules (apoptose). L'étude des mécanismes d'adhésion et de migration de cellules immobilisées à la surface de substrats est également importante dans la mise au point de surfaces artificielles pour le développement d'implants, afin d'optimiser les interactions avec les cellules au sein de tissus vivants [19].

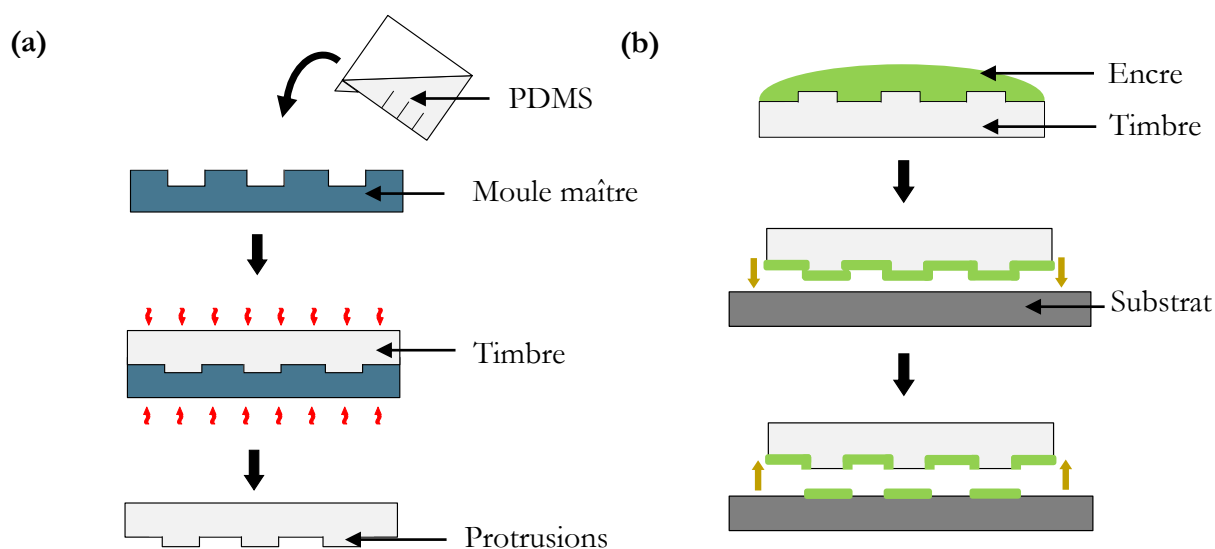


**Figure 3.5** Application du  $\mu$ CP à l'étude de comportements cellulaires. (a) Effets de l'étalement sur la croissance et l'apoptose de cellules endothéliales [37]. (b) Images en fluorescence de l'étalement de cellules sur différents réseaux d'îlots de protéines extracellulaires [19].

### 3.2.3 Principe

Le  $\mu$ CP est un procédé d'impression par contact basé sur l'utilisation d'un matériau élastomère appelé **timbre**. Il comporte deux étapes principales : (a) la réalisation du timbre et (b) la mise en œuvre du dépôt, schématisées sur la figure 3.6.

Le timbre est obtenu par étalement d'une solution de pré-polymérisation sur un **moule maître** structuré comportant un réseau de motifs en surface. Après réticulation et démoulage, le timbre constitue une réplique négative présentant des motifs inversés par rapport au moule maître. La présence de motifs se traduit par un relief de surface constitué de **protrusions** et de **creux**. Si les technologies de micro et nanofabrication classiques sont encore nécessaires pour réaliser le moule maître (photolithographie ou lithographie électronique selon la résolution des motifs), ce dernier peut ensuite être utilisé hors salle blanche et servir à générer plusieurs centaines de timbres. Notre discussion se concentrera sur le transfert de molécules biologiques à l'aide de ce type de timbre dans la suite de cette section.

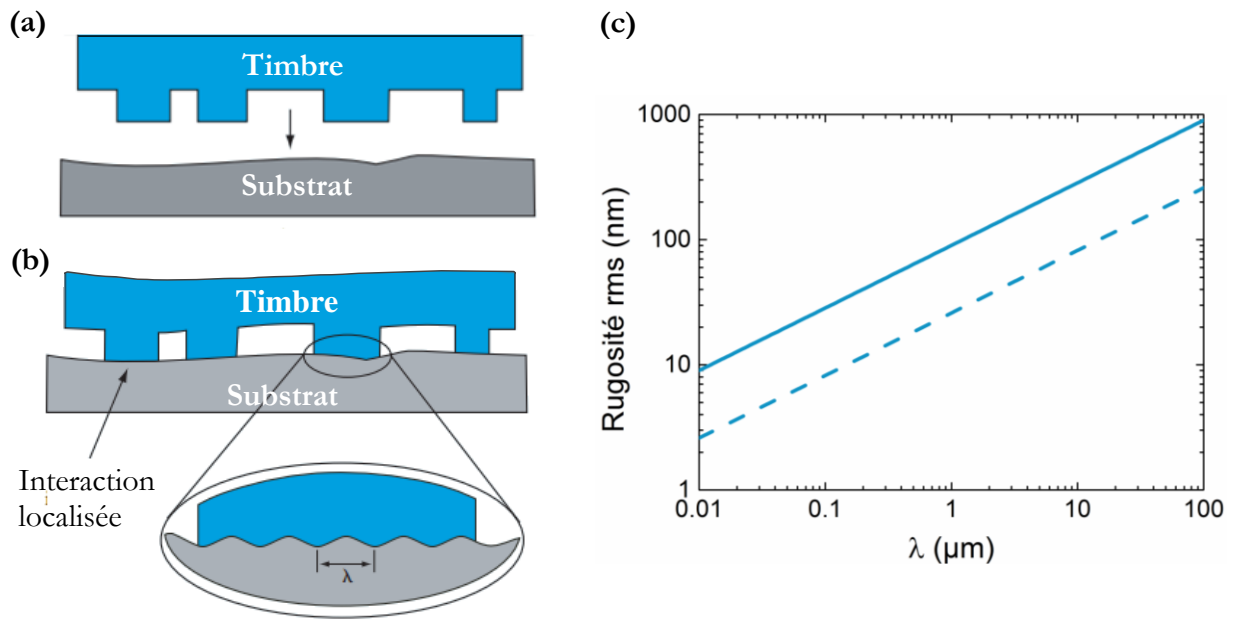


**Figure 3.6** Illustration schématique du procédé de microcontact printing ( $\mu$ CP) : (a) Réalisation du timbre par moulage et réticulation thermique. (b) Encrage du timbre et transfert de l'encre par contact des protrusions du timbre avec la surface d'un substrat.

Après fabrication du timbre, le protocole de dépôt peut alors être mis en œuvre. Il comporte deux étapes principales : l'**encrage** et l'**impression**. Pendant la phase d'encrage, la surface du timbre est recouverte de l'encre biologique, *i.e.* la solution contenant les molécules d'intérêt, puis séchée afin d'en éliminer le solvant. Les molécules sont alors adsorbées de manière non spécifique sur toute la surface du timbre. À noter que dans le cas de SAMs, ces petites molécules peuvent également diffuser dans le volume du timbre et créer un réservoir d'espèces réactives [38]. Le timbre encré est ensuite placé en contact physique avec le substrat. Les molécules adsorbées sont alors transférées à la surface du substrat depuis les régions en contact, à savoir les protrusions du

timbre. Le temps de contact nécessaire au transfert des molécules est très rapide avec une efficacité de transfert pouvant être supérieure 99% après seulement 1s de contact dans le cas de protéines [10]. Le retrait du timbre laisse finalement apparaître la surface fonctionnalisée du substrat avec un fort contraste entre les régions imprimées et non imprimées.

L'élément clé de ce procédé pour un transfert de qualité repose sur la **conformité du contact** entre le timbre et le substrat pendant le dépôt (cf. figure 3.7). L'obtention d'un contact conforme repose sur l'aptitude du timbre à pouvoir épouser la surface macroscopique et la rugosité microscopique du substrat [39]. L'adaptabilité élastique du timbre vis-à-vis d'une surface résulte de sa flexibilité et de la présence de forces d'adhésion qui, même en l'absence de forces extérieures appliquées, permettent au timbre de compenser naturellement un certain degré de rugosité de la surface du substrat [40].



**Figure 3.7** Conformité du contact entre un timbre et un substrat. (a) Les protrusions du timbre s'adaptent élastiquement à l'irrégularité macroscopique de la surface du substrat et (b) à la rugosité microscopique, tandis que les parties en creux n'entrent pas en contact avec le substrat. (c) Amplitude de la rugosité de surface d'un substrat en verre pouvant être compensée par les seules forces d'adhésion et conduire à un contact conforme par un timbre en PDMS de module de Young 2.5 MPa (Sylgard® 184, trait continu) et un travail d'adhésion de 0.1 J/m<sup>2</sup>, et par un timbre de module de Young 9 MPa (trait discontinu) et un travail d'adhésion de 0.03 J/m<sup>2</sup>, en fonction de la longueur d'onde d'une rugosité supposée sinusoïdale (adapté d'après [39] et [40]).

En dépit de sa simplicité de mise en œuvre, le mécanisme de transfert associé au  $\mu\text{CP}$  est encore paradoxalement peu compris [20]. Il est généralement décrit comme résultant d'une affinité préférentielle des molécules pour la surface du substrat plutôt qu'avec celle du timbre. Dans le cas de protéines, cette compétition serait en partie liée à la différence de mouillabilité



relative entre la surface du timbre et du substrat. Tan *et al* [41] ont en effet étudié l'efficacité du transfert de protéines sur des surfaces modifiées par des SAMs exhibant différentes fonctionnalités chimiques. En mélangeant différentes proportions d'alkanethiols hydrophobes (avec des terminaisons méthyle) et d'alkanethiols hydrophiles (terminés par des groupements de type PEG ou acide carboxylique), ils ont remarqué une amélioration du transfert avec l'augmentation de la part d'alkanethiols hydrophiles, et également observé qu'une quantité minimale d'alkanethiols hydrophiles était nécessaire pour que le transfert puisse se produire. L'amélioration du dépôt a également été constatée en augmentant l'hydrophobicité du timbre, démontrant ainsi l'importance de la différence relative de mouillabilité entre le timbre et le substrat dans le mécanisme de transfert du  $\mu$ CP. D'autres travaux mettent également en évidence le rôle joué par des fragments non réticulés de PDMS, dont le relargage à la surface du substrat lors du dépôt aurait une influence positive sur la qualité du dépôt de molécules d'ADN [42].

### 3.2.4 Le PDMS : un matériau de choix

Bien que d'autres matériaux puissent être utilisés, le poly(diméthylsiloxane) (PDMS) constitue le matériau de choix du  $\mu$ CP. Le Sylgard® 184 (Dow Corning Corp. USA) est la formulation commerciale la plus répandue. Ses principaux atouts résident dans ses propriétés mécaniques. Matériau élastomère avec un faible module d'élasticité ( $\sim 3$  MPa), il permet d'établir un contact conforme avec le substrat et ainsi garantir la qualité du dépôt sur de larges surfaces ( $> 50$  cm<sup>2</sup> [12]). Malgré sa flexibilité, il permet de répliquer des motifs jusqu'à 500 nm de dimensions latérales [20]. Il est également capable de supporter de larges déformations ( $\sim 10$  %) sans détérioration des motifs, et peut être réutilisé plusieurs fois.

Le PDMS présente également des propriétés chimiques avantageuses. Sa surface chimiquement inerte et de faible tension superficielle (22 mJ/m<sup>2</sup> [43]) favorise le démoulage du timbre après polymérisation ainsi que le décollage du timbre après l'étape d'impression. De nature hydrophobe du fait de la présence de groupements méthyle (-CH<sub>3</sub>), la surface du PDMS peut facilement être rendue hydrophile par un traitement de type plasma oxygène ou UV/ozone qui génère une couche oxydée en surface (SiO<sub>x</sub>) comportant des groupements hydroxyles (-OH) réactifs. Cependant, l'activation de surface est relativement instable puisque le timbre retrouve rapidement sa nature hydrophobe ( $< 30$  min [44]) une fois exposé à l'air, du fait de la mobilité de chaînes polymériques non réticulées qui diffusent vers sa surface. Il est toutefois possible de prolonger jusqu'à plus de 7 jours la durée de vie du traitement en conservant le timbre immergé dans l'eau [45]. Une silanisation peut également être réalisée afin de rendre la surface du timbre hydrophile de manière quasi-permanente [46], mais aussi en vue de modifier ses propriétés d'adhésion ou d'interaction avec son environnement [30] [31] [35]. Le PDMS présente également comme avantage d'être optiquement transparent dans le domaine du visible (240 – 1100 nm [47]) et donc de pouvoir contrôler au microscope optique l'étape d'alignement du timbre avec le substrat. Enfin, le PDMS présente l'avantage indéniable d'être biocompatible et donc de pouvoir être utilisé pour le transfert de matériel biologique [10].

**Tableau 3.1** Principales propriétés du PDMS (adapté d'après [47]).

Propriétés	Caractéristiques	Conséquences
<b>Optique</b>	Transparent (240 – 1100 nm [47]) Auto-fluorescence faible [48]	Observation optique en transmission Détection par fluorescence
<b>Electrique</b>	Isolant Résistivité : $2,9 \cdot 10^{14} \Omega \cdot \text{cm}$ [49] Tension de claquage : 19 kV/mm [49]	Encapsulation de circuits électriques
<b>Mécanique</b>	Elastomère Module de Young : 1.32–2.97 MPa [50] Coefficient de Poisson : 0.45–0.5 [50] Masse volumique : 950 kg/m <sup>3</sup> [51]	Conformité du contact Facilité de démoulage Risques d'instabilité mécanique
<b>Thermique</b>	Isolant Conductivité thermique : 0.27 W/(m.K)[49] Coefficient de dilatation thermique : 340 ppm/°C [49]	Isolation de solutions thermalisées Mauvaise dissipation de chaleur Retrait thermique
<b>Interfaciale</b>	Tension superficielle : 22 mJ/m <sup>2</sup> [43]	Facilité de démoulage Propriétés de surface modifiables (plasma O <sub>2</sub> , UV/ozone, silanisation) Compatibilité quasi-nulle avec les techniques de micro-usinage de surface
<b>Perméabilité</b>	Faible perméabilité aux liquides et à l'eau [47] Perméable aux gaz ambiants et aux solvants organiques apolaires [47] [52]	Canaux fluidiques Culture cellulaire Incompatibilité d'utilisation avec certains solvants organiques
<b>Toxicité</b>	Biocompatible [53] [10] Non cytotoxique [54]	Préservation de l'intégrité biologique Culture cellulaire Dispositifs implantables

### 3.2.5 Avantages et limitations

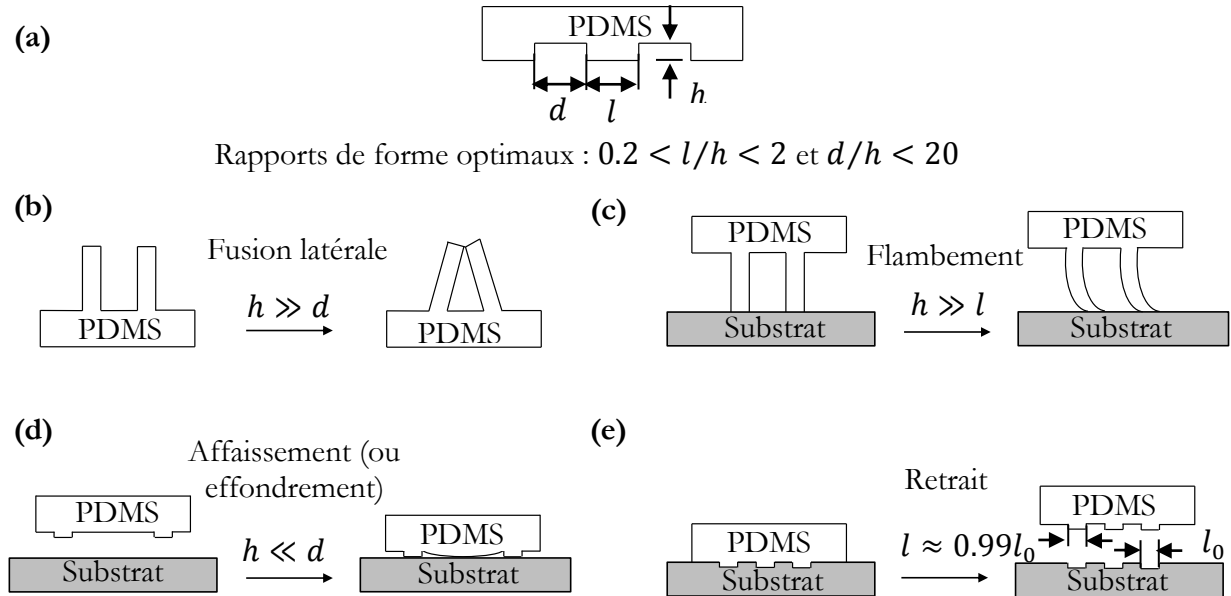
Le  $\mu\text{CP}$  est un procédé additif compatible avec l'utilisation d'une large gamme de groupements fonctionnels complexes rencontrés fréquemment en biologie et en biochimie. Il permet d'atteindre des résolutions sub-micrométriques et de structurer de manière parallèle de grandes surfaces planes ou incurvées, constituant ainsi une réelle alternative aux technologies classiques de fabrication. Son faible coût par rapport à d'autres techniques de structuration telles que la photolithographie, les robots de dépôt ou les technologies jet d'encre, rend le  $\mu\text{CP}$  particulièrement attractif pour la réalisation de plateformes biomoléculaires. Sa simplicité et sa rapidité de mise en œuvre, ne nécessitant qu'un accès limité à des environnements de type salle

blanche (pour la réalisation du moule maître), sont des atouts incontestables pour du prototypage rapide, et sont autant de raisons pouvant expliquer sa démocratisation au sein des laboratoires de recherche académiques et industriels.

Le  $\mu$ CP présente cependant quelques limitations, inhérentes à la technologie même et liées à la nature élastomérique du timbre. La résolution du  $\mu$ CP est limitée par les propriétés mécaniques du timbre et par la diffusion de l'encre hors des zones de contact lors du dépôt [55], d'autant plus pour des molécules de faible poids moléculaire. La formulation Sylgard® 184 est inadaptée à la réalisation de motifs de dimensions inférieures à 500 nm du fait d'une trop grande flexibilité. Des matériaux plus rigides peuvent néanmoins être utilisés pour améliorer cette dimension critique. En jouant sur la masse, la longueur et la densité des chaînes polymériques, Schmidt *et al* [56] ont mis au point un élastomère plus rigide, baptisé « hard » PDMS (h-PDMS), avec un module d'élasticité de  $\sim 10$  MPa permettant d'atteindre des dimensions de motifs de 80 nm. En revanche, le h-PDMS a pour inconvénients d'être plus cassant et de nécessiter l'application d'une pression extérieure pour compenser le manque de flexibilité et assurer la conformité du contact, ce qui peut poser des problèmes d'uniformité de dépôt à l'échelle de grandes surfaces. L'utilisation de timbres hybrides constitués de deux ou trois couches, avec successivement une couche polymérique rigide (ex. : h-PDMS) comportant les motifs (sans perte de résolution), supportée par une couche de polymère plus flexible (ex. : PDMS) améliorant la conformabilité, et éventuellement un support rigide (ex. : verre) afin d'appliquer une pression uniforme, est une stratégie permettant d'étendre les performances du  $\mu$ CP en termes de résolution [56].

L'inhérente contradiction entre conformité du contact et résolution des motifs constitue un réel dilemme dans cette technologie. Si le timbre doit être suffisamment flexible pour garantir la conformité du contact, la stabilité de motifs de petites dimensions nécessite en contrepartie une certaine rigidité. La stabilité mécanique du timbre dépend du module d'élasticité du matériau mais également des dimensions géométriques des motifs. Delamarche *et al* [57] proposent des critères de design pour le dimensionnement d'un timbre en PDMS afin de limiter les risques d'instabilité des motifs lors du contact. Ils suggèrent un encadrement empirique des rapports de forme  $l/h$  et  $d/h$ , où  $l$  et  $h$  sont respectivement la largeur et la hauteur d'un motif et  $d$  la distance de séparation entre deux motifs, selon :  $0.2 < l/h < 2$  et  $d/h < 20$  (cf. figure 3.8). Ainsi, des motifs à haut rapport de forme et trop rapprochés peuvent conduire à la fusion latérale des protrusions du timbre ou à leur flambement, tandis qu'un éloignement trop important pour des motifs de faible rapport de forme peut être à l'origine de l'effondrement des parties en creux. Enfin, le retrait thermo-chimique est également une source de distorsion. Inhérent à la phase de réticulation du polymère, il est responsable de la contraction latérale des motifs de l'ordre de 1 % [12]. Ce phénomène résulte de la diminution de la distance moyenne entre les chaînes polymériques lors de la réticulation, liée à la transition liquide-solide, ainsi que de la différence des coefficients de dilatation thermique entre le moule maître en silicium et le timbre en PDMS. Limiter la température lors de la réticulation du timbre permet toutefois de limiter le retrait thermique [24]. Les problèmes d'instabilité mécanique et de retrait thermo-chimique peuvent être adressés via l'utilisation de timbres composites, constitués de plusieurs couches de matériaux de différentes élasticités. Une fine couche de PDMS peut être ainsi supportée par une couche rigide en verre par exemple. La raideur latérale du verre en face arrière domine alors la déformation mécanique globale du système, limitant ainsi les risques de distorsion du timbre tout en

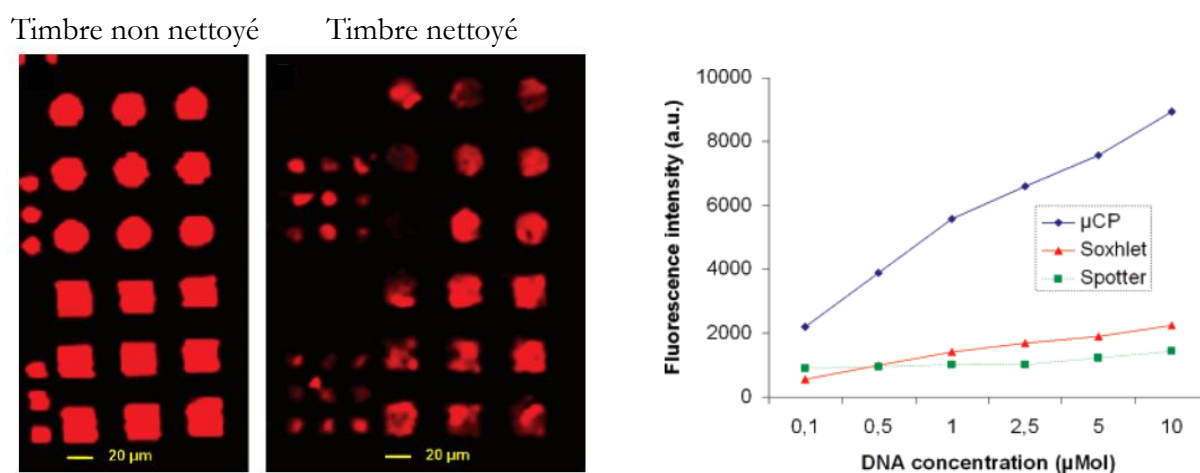
conservant la flexibilité nécessaire à l'obtention d'un contact conforme. Cette approche a également pour avantage de simplifier la manipulation du timbre.



**Figure 3.8** Schémas (a) des paramètres géométriques des motifs d'un timbre en PDMS et d'éventuels problèmes de distorsion: (b) fusion latérale des motifs en relief (protrusions), (c) flambement du timbre, (d) affaissement (ou effondrement) des régions en creux et (e) retrait thermo-chimique (adapté d'après [58]).

En comparant la formation de SAMs sur une surface d'or par incubation et par  $\mu$ CP, Graham *et al* [59] ont mis en évidence l'existence d'un transfert de faibles quantités de fragments de PDMS non réticulés lors du dépôt par  $\mu$ CP. En effet, de petites chaînes polymériques de faible poids moléculaire et très mobiles peuvent diffuser vers la surface du substrat lors du transfert de l'encre. Cette contamination peut non seulement affecter la pureté du dépôt mais avoir également un impact sur le comportement du système étudié en modifiant les propriétés de mouillabilité et d'adhésion de la surface. Un « nettoyage » du timbre peut cependant être réalisé selon des protocoles relativement longs et laborieux (jusqu'à une semaine), basés sur l'utilisation de solvants apolaires de type hexanes. Ces solvants à forte solubilité pour le PDMS pénètrent à l'intérieur du timbre et permettent d'en extraire les chaînes non réticulées. Ils provoquent un gonflement du timbre mais peu d'informations sont données quant à l'irréversibilité ou non de ces déformations. Graham *et al* rapportent également une diminution de la quantité de PDMS transférée avec l'augmentation de la concentration de l'encre utilisée, cette dernière agissant comme une sorte de barrière physique contre le relargage des résidus. Thibault *et al* [42] ont étudié la cinétique de la contamination, l'influence des conditions de réticulation du timbre ainsi que la durée du contact. Ils rapportent la quasi non-dépendance de la durée du contact avec la quantité de fragments transférés, et un processus de contamination rapide et saturé après seulement quelques secondes de contact. A l'inverse, une réticulation du polymère plus longue et à plus haute température

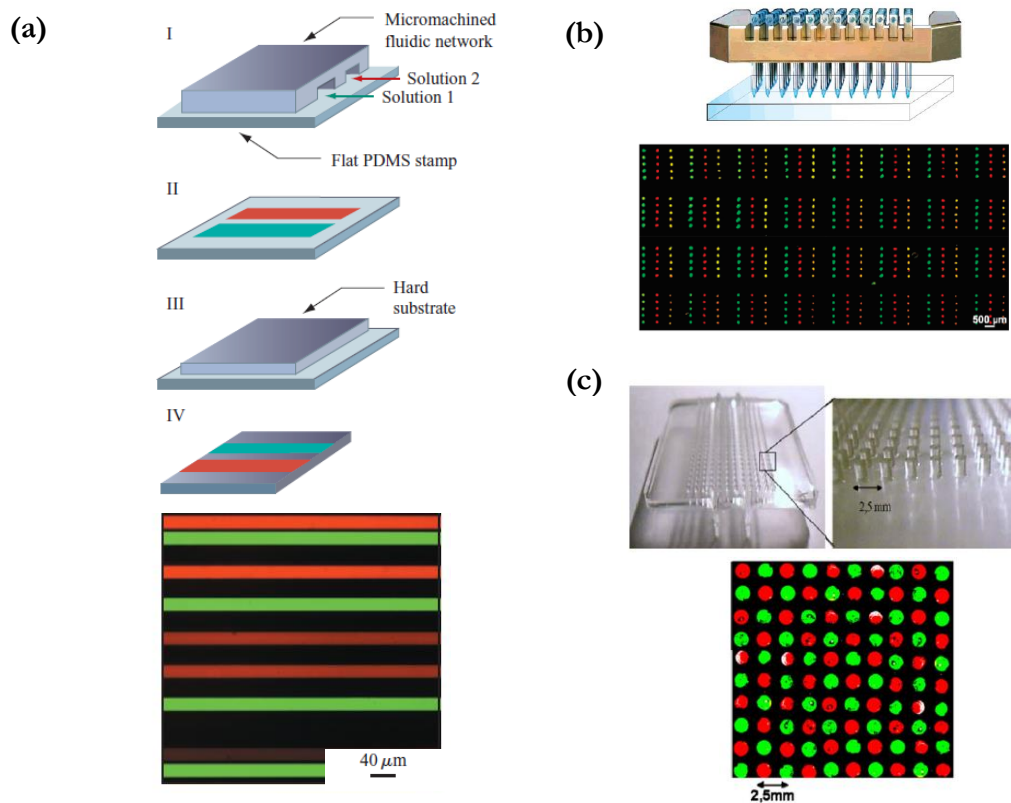
permettrait de réduire le degré de contamination sans pour autant l'éliminer complètement. Ils proposent également une procédure de nettoyage du timbre relativement rapide ( $\sim 12$  heures) en comparaison de la procédure employée par Graham *et al.*, basée sur l'utilisation d'un extracteur Soxhlet, et potentiellement moins préjudiciable pour l'intégrité des motifs. En comparant le dépôt de molécules d'ADN par  $\mu$ CP à partir d'un timbre nettoyé et d'un timbre non nettoyé, ils constatent de façon assez surprenante que la quantité de molécules transférées est près de quatre fois supérieure dans le cas du timbre non nettoyé. Le transfert de fragments non réticulés lors du dépôt de l'encre aurait donc pour effet d'améliorer la quantité de molécules déposées, du moins dans le cas de biomolécules. Ils attribuent cet impact bénéfique de la contamination à une amélioration de l'adhésion des oligonucléotides à la surface du substrat.



**Figure 3.9** Influence du transfert de résidus non réticulés de PDMS sur la qualité du dépôt d'oligonucléotides par  $\mu$ CP. Images et niveaux d'intensités de fluorescence d'un dépôt de molécules d'ADN par  $\mu$ CP depuis un timbre non nettoyé et un timbre nettoyé, comparés à un dépôt classique par robot [42].

L'un des inconvénients majeurs du  $\mu$ CP est sans aucun doute l'absence inhérente de multiplexage. Cette limitation peut en effet constituer une sérieuse limitation quant à la réalisation de plateformes de biodétection pour l'étude d'interactions multi-cibles. L'approche la plus directe, consistant simplement à réaliser des encrages et dépôts successifs, n'apporte qu'une réponse limitée et pose également le problème de l'alignement entre chaque dépôt [34] [60] [61]. D'autres stratégies tentant d'adresser la problématique du multiplexage peuvent être distinguées selon deux types : (i) une approche séquentielle d'encrage et (ii) une approche d'encrage parallèle du timbre, toutes deux suivies du transfert en une seule étape d'impression. L'approche séquentielle repose généralement sur l'utilisation d'un timbre plat non structuré encré successivement à l'aide d'un robot de dépôt [31] ou d'un système de micropuits [34]. L'approche parallèle peut être réalisée via un réseau microfluidique [20] [34] [62]. L'utilisation d'un timbre plat n'offre cependant que peu de contrôle sur la géométrie des motifs. Une approche intéressante proposée par Chalmeau *et al* [63] consiste à utiliser un timbre structuré multi-niveaux encré séquentiellement, et à transférer les différentes molécules lors d'un seul dépôt via la déformation du timbre. Cette méthode est certes

séquentielle et limitée à un nombre restreint de molécules mais offre un contrôle sur la géométrie des motifs et un dépôt auto-aligné. Enfin, une approche ingénieuse proposée par Lalo *et al* [64] combine à la fois un encrage parallèle du timbre et un dépôt multiplexé. Elle repose sur un format de timbre particulier, baptisé « macrotimbre », constitué d'une matrice de 64 piliers macroscopiques solidaires d'une même semelle. Chacun des piliers comporte au niveau de son extrémité libre un réseau de motifs de dimensions micro ou nanométriques. Le principe est que chaque pilier agit comme un timbre unique et indépendant, assurant le transfert d'un type de molécules sondes. Pour cela, le design du timbre est basé sur le modèle standard des plaques à puits couramment utilisées en biologie. L'agencement des piliers ainsi que leurs dimensions sont étudiés pour permettre leur encrage simultané dans une même plaque où chaque puits aura été préalablement rempli indépendamment avec différentes encres. Ce système permet également de limiter la consommation des réactifs en limitant les volumes nécessaires à l'encrage (quelques dizaines de microlitres). Si cette approche est particulièrement adaptée à la fabrication de biopuces, elle est en revanche plus délicate à mettre en œuvre pour la fonctionnalisation de biocapteurs nécessitant une précision d'alignement importante.



**Figure 3.10** Exemples de différentes stratégies permettant de réaliser des dépôts multiplexés par  $\mu$ CP. (a) Encrage parallèle d'un timbre en PDMS avec seize molécules différentes à l'aide d'un réseau microfluidique et image en fluorescence du résultat obtenu après transfert [20]. (b) Encrage séquentiel d'un timbre à l'aide d'un robot de dépôt et image en fluorescence d'un réseau de spots de molécules d'ADN obtenu après  $\mu$ CP [31]. Images optiques d'un macrotimbre et d'un dépôt multiplexé (deux encres différentes) réalisé par  $\mu$ CP [64].

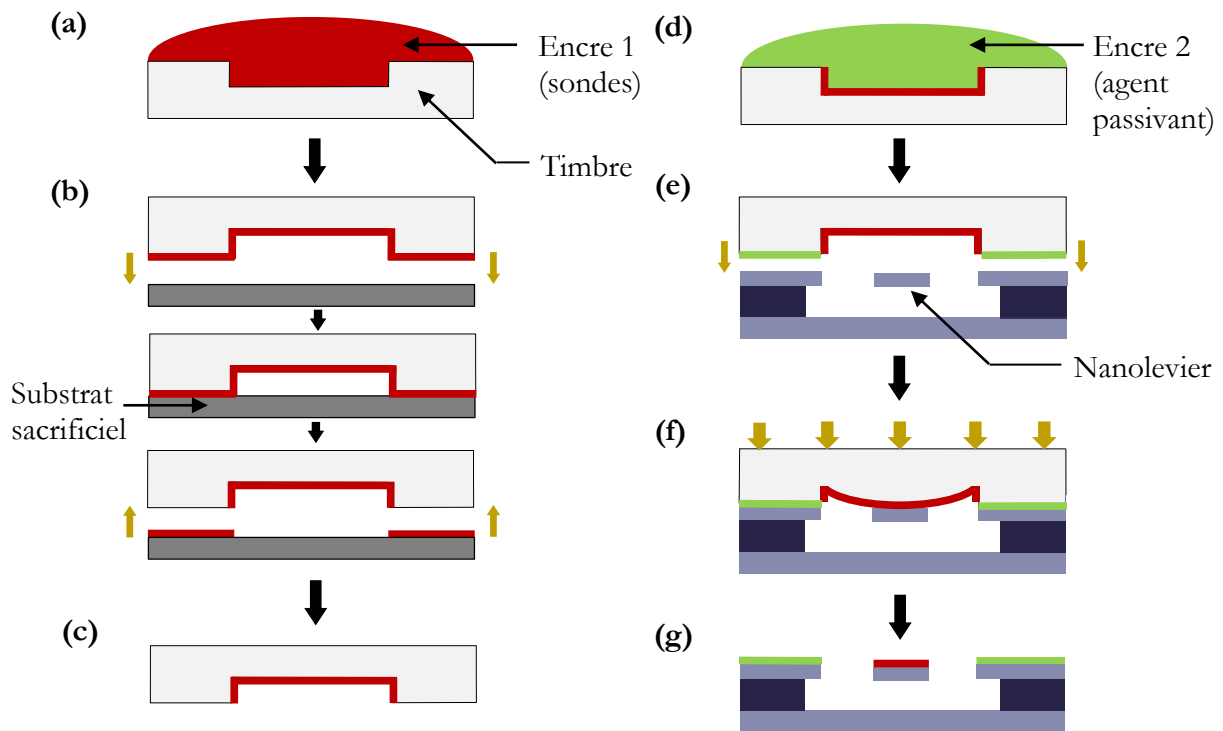
### 3.3 Contexte et objectifs de ces travaux

La finalité de ces travaux est d'évaluer le potentiel d'un procédé de  $\mu$ CP comme outil de biofonctionnalisation post-fabrication d'un réseau grande échelle de structures NEMS. Des travaux préliminaires réalisés au sein du groupe ont déjà permis de démontrer la faisabilité de nanostructuration de molécules biologiques à la surface de nanoleviers libérés, et constituent donc un premier pas dans l'atteinte de notre objectif [65]. Dans la perspective d'établir une preuve de concept, deux objectifs restent encore à valider :

- 1) **étudier la faisabilité de mise en œuvre d'un dépôt multiplexé permettant de réaliser en une seule étape le transfert simultané des molécules sondes et d'un agent passivant, tout en préservant l'intégrité mécanique des structures libérées ;**
- 2) **démontrer la préservation de l'activité biologique des molécules biologiques déposées.**

Pour atteindre ces objectifs, une version simplifiée de la technique d'OSM- $\mu$ CP (*One-Step-Multiple- $\mu$ CP*) développée au sein de notre groupe de recherche est envisagée [63]. Cette approche modifiée du  $\mu$ CP classique repose sur l'utilisation d'un timbre dit « double-niveau » où à la fois les protrusions et les régions en creux du timbre sont impliquées dans le transfert. Le timbre est conçu de manière à ce que, une fois aligné et mis en contact avec la surface du substrat, les protrusions du timbre soient en appui au niveau des zones inactives de la puce (entre les leviers) tandis que les tranchées sont suspendues au-dessus des leviers. Dans notre cas, cette approche double-niveau présente deux avantages. Le premier est de pouvoir contacter les structures fragiles à fonctionnaliser en contrôlant l'effondrement des creux du timbre, la pression nécessaire étant grandement limitée par les protrusions servant de support mécanique. Le second est la possibilité de pouvoir encrer les deux niveaux du timbre avec deux molécules différentes, et donc notamment de pouvoir réaliser en une seule étape la fonctionnalisation et la passivation de la puce. La passivation de la surface non impliquée dans le procédé de reconnaissance est en effet essentielle afin de limiter les interactions non spécifiques. L'approche envisagée est décrite dans la figure 3.11. Après encrage du timbre avec la solution de molécules sondes, des dépôts « sacrificiels » successifs sont réalisés afin de localiser les molécules uniquement au niveau des motifs en creux du timbre. Pour cela, le timbre est placé simplement en contact avec la surface d'un substrat sacrificiel afin de transférer les molécules présentes au niveau des protrusions. Le timbre est ensuite encré avec une seconde solution comportant l'agent passivant, puis mis en contact avec le substrat pour le dépôt du passivant au niveau des régions non actives. Les molécules sondes sont finalement transférées à la surface des nanoleviers par effondrement des creux du timbre grâce à l'application d'une pression extérieure. Pour évaluer l'activité biologique des molécules déposées, un essai immunologique est envisagé avec l'utilisation d'anticorps comme biomolécules d'intérêt afin de bénéficier d'une grande spécificité de reconnaissance.

Ces travaux réalisés en début de thèse sont le fruit d'une collaboration entre plusieurs doctorants.



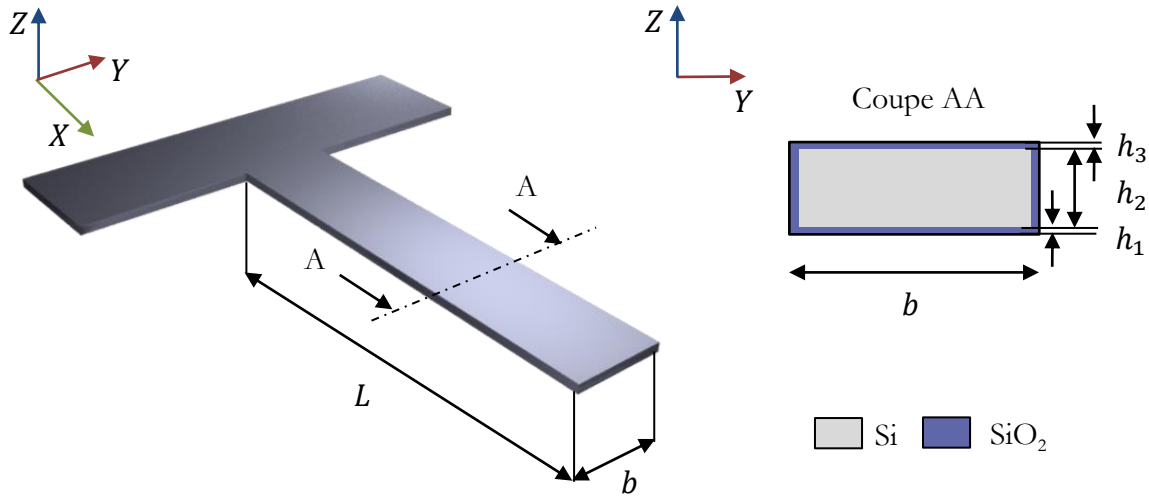
**Figure 3.11** Schéma de principe (vue en coupe) de la technique de  $\mu$ CP double-niveau envisagée pour la fonctionnalisation de nanoleviers libérés. (a) Premier encrage du timbre avec la solution de molécules sondes suivi de (b) dépôts sacrificiels successifs sur un substrat permettant de (c) confiner les molécules sondes au niveau des creux du timbre. (d) Second encrage du timbre avec la solution comportant l'agent passivant. (e) Mise en contact du timbre et du substrat avant (f) l'application d'une pression extérieure pour effondrer les creux du timbre et (g) réaliser en un seul dépôt la fonctionnalisation et la passivation des nanoleviers.

## 3.4 Etudes préliminaires

### 3.4.1 Aspects mécaniques liés au dimensionnement des leviers

La sensibilité et la limite de détection de dispositifs NEMS utilisés comme capteurs de masse sont des caractéristiques essentielles qui déterminent les performances de détection. Ces attributs sont étroitement liés à la taille des structures mécaniques dont le dimensionnement doit garantir la faisabilité de détection de l'espèce ciblée. Dans ces travaux nous nous appuyons sur une étude préliminaire réalisée au sein de notre équipe de recherche [65] concernant la fonctionnalisation de nanoleviers avec des anticorps réalisée par  $\mu$ CP double-niveau. De premiers résultats ont montré la faisabilité de détection du décalage de fréquence de résonance lié à l'ajout de la couche bioréceptrice, et ont notamment mis en évidence la nécessité de la présence d'une couche de  $\text{SiO}_2$  en surface des nanoleviers afin de favoriser le transfert des molécules lors de l'étape d'impression. Sur la base de cette étude, des leviers en silicium de 8  $\mu\text{m}$  de long, 3  $\mu\text{m}$  de large et 340 nm d'épais, oxydés thermiquement de manière à obtenir une couche de  $\text{SiO}_2$  de 9 nm en surface, seront réalisés ici. La géométrie type de ces structures ainsi que l'empilement multicouche considéré est décrit dans la figure 3.12.





**Figure 3.12** Géométrie d'un levier faisant apparaître les notations caractéristiques et l'empilement multicouche considéré.

L'expression analytique de la fréquence fondamentale naturelle  $f_0$  (en Hz) d'un levier multicouches de section rectangulaire homogène le long de l'axe longitudinal (*i.e.* selon la longueur  $L$ ), s'obtient en l'absence d'amortissement et de forçage extérieur d'après la théorie d'Euler-Bernoulli, selon [66]:

$$f_0 = \frac{1}{2\pi} \frac{\lambda_0^2}{L^2} \sqrt{\frac{D}{m_L}} \quad (3.1)$$

Où :  $\lambda_0 = 1.875$  est le coefficient modal associé au mode fondamental considéré,  $L$  est la longueur du levier (en m),  $D = (EI)_{eq}$  est la rigidité en flexion équivalente (en N.m<sup>2</sup>),  $E$  et  $I$  désignant respectivement le module d'élasticité (en Pa) et le moment quadratique d'inertie (en m<sup>4</sup>) équivalents du levier multicouches, et  $m_L = b \sum_i^N (\rho_i h_i)$  la masse linéique du levier (en kg/m),  $N$  étant le nombre de couches de l'empilement (ici  $N = 3$ ),  $b$  la largeur du levier (en m),  $h_i$  et  $\rho_i$  désignant respectivement l'épaisseur (en m) et la masse volumique (en kg/m<sup>3</sup>) de la  $i$ -ème couche considérée.

Le comportement dynamique d'un levier est généralement traité en pratique par un modèle ponctuel de type masse-ressort à un degré de liberté (*lumped model*) [67] [68]. Cette description résulte de l'analogie entre les équations de mouvement du système mécanique continu et d'un oscillateur harmonique. L'équation précédente, correspondant à l'analogie avec un oscillateur harmonique en régime d'oscillations libres et non amorties, peut être réécrite selon l'expression familière :

$$f_0 = \frac{\omega_0}{2\pi} = \frac{1}{2\pi} \sqrt{\frac{K_{eff}}{M_{eff}}} \quad (3.2)$$

Où :  $K_{eff}$  et  $M_{eff}$  sont respectivement la constante de raideur (en N/m) et la masse (en kg) effectives du levier. On peut noter que dans cette situation (absence de forçage et d'amortissement), la raideur et la masse effectives correspondent respectivement à la raideur modale  $K_0$  et à la masse modale  $M_0$  du levier, déterminées analytiquement à partir de la déformée modale et égales à :  $M_0 \approx 0.25M$  et  $K_0 = \omega_0^2 M_0 \approx 3.09 D/L^3$ , avec  $M$  la masse totale du levier (en kg), en choisissant comme condition de normalisation de la déformée modale une amplitude égale à 1 à l'extrémité libre du levier [69].

L'expression (3.2) permet d'identifier deux sources possibles de fluctuations de la fréquence de résonance, à savoir une variation de raideur et/ou une variation de masse, dont les effets du premier ordre peuvent être mis en évidence en prenant le logarithme naturel de l'équation (3.2) précédente et en différentiant [70]:

$$\delta f_0 = \frac{1}{2} f_0 \left( \frac{\delta K_{eff}}{K_{eff}} - \frac{\delta M_{eff}}{M_{eff}} \right) \quad (3.3)$$

Dans le cas d'une masse ajoutée dont l'effet sur la raideur globale du levier est négligeable, l'expression (3.3) devient [71]:

$$\delta f_0 = -\frac{1}{2} f_0 \frac{\delta M_{eff}}{M_{eff}} \quad (3.4)$$

Dans le cas d'une masse ajoutée **uniformément distribuée**  $\delta M$  (en kg), faible devant la masse totale  $M$  du levier (en kg) de sorte que  $\delta M \ll M$ , et dont l'effet sur la raideur globale du résonateur est négligeable, alors l'expression de la sensibilité massique théorique  $S_0$  (en Hz/kg) associée au mode fondamental s'obtient à partir de l'équation (3.4) :

$$S_0 = \frac{\delta f_0}{\delta M} = -\frac{f_0}{2M} \quad (3.5)$$

La dernière caractéristique associée aux performances de détection du résonateur est la limite de détection  $LOD$ , ou résolution massique, qui correspond à la plus petite variation de masse  $\delta M$  détectable. Cet attribut dépend à la fois des propriétés intrinsèques du levier (dimensions et matériau) mais aussi de paramètres extrinsèques liés à l'environnement d'opération (effets dissipatifs) ainsi qu'aux conditions de mesures à travers le rapport signal-à-bruit  $SNR$ . La  $LOD$  théorique peut être estimée d'après la relation suivante [72]:

$$LOD = \delta M_{min} = |S_0^{-1}| \delta f_{min} \approx \frac{M}{Q \times SNR} \quad (3.6)$$

Ces deux dernières relations, avec  $S_0 \propto L^{-3}$  et  $LOD \propto L$ , mettent en évidence l'intérêt de la miniaturisation des dispositifs afin d'accroître les performances de détection. La dernière rappelle également que la performance ultime est généralement limitée par les conditions réelles d'opération du résonateur.

Les différents paramètres présentés plus haut sont calculés pour la géométrie et les dimensions des leviers considérées (cf. figure 3.12) et sont présentés dans le tableau 3.2. Les

résultats sont obtenus à partir de l'équation (3.1) appliquée à un empilement tri-couches  $\text{SiO}_2/\text{Si}/\text{SiO}_2$  dont la contribution latérale de l'oxyde (selon la largeur du levier) est négligée. La méthode des aires équivalentes proposée par Young *et al* [73] est utilisée pour calculer la raideur équivalente  $D$  de l'empilement. En bref, le principe de cette méthode consiste à décrire l'empilement comme un seul matériau avec un module d'élasticité unique  $E$  en définissant une nouvelle section transversale. Chaque couche voit alors sa largeur initiale modifiée d'un facteur égal au rapport entre son module d'élasticité et le module d'élasticité unique de la structure équivalente. La détermination du moment quadratique d'inertie  $I$  de la section transversale équivalente par rapport à son axe neutre permet de calculer la raideur équivalente  $D = (EI)_{eq}$  de l'empilement. Les valeurs des différents modules d'élasticité sont tirées de la littérature tandis que celles des masses volumiques correspondent aux valeurs classiques des matériaux massifs ( $E_{\text{Si}} = 169$  GPa [74],  $\rho_{\text{Si}} = 2330$  kg/m<sup>3</sup>,  $E_{\text{SiO}_2} = 70$  GPa [75] et  $\rho_{\text{SiO}_2} = 2200$  kg/m<sup>3</sup>). Pour le calcul de la limite de détection, un facteur de qualité de  $Q = 5000$  choisi arbitrairement d'après de premières caractérisations expérimentales sous vide secondaire, ainsi qu'un rapport signal-à-bruit relativement défavorable  $SNR = 10$  ont été utilisés afin de déterminer un ordre de grandeur. La limite de détection est rapportée à la surface du levier afin de définir une limite de détection surfacique  $SMLOD$  indépendante des dimensions de la structure.

**Tableau 3.2** Estimations théoriques des différents paramètres d'un levier tri-couches  $\text{SiO}_2/\text{Si}/\text{SiO}_2$  (cf. figure 3.12) de dimensions théoriques  $L = 7.5$   $\mu\text{m}$ ,  $b = 3$   $\mu\text{m}$ ,  $h_{\text{Si}} = 332$  nm et  $h_{\text{SiO}_2} = 9$  nm.

Fréquence de résonance $f_0$ (MHz)	Masse totale $M$ (pg)	Sensibilité massique $S_0^{-1}$ (ag/Hz)	Limite de détection surfacique $SMLOD$ (ag/ $\mu\text{m}^2$ )
8.20	18.3	4.46	16.27

Pour cette preuve de concept, des anticorps seront utilisés comme biorécepteurs. Plusieurs travaux de la littérature concernant l'immobilisation d'anticorps sur des surfaces planes par  $\mu\text{CP}$  rapportent une densité de molécules déposées de l'ordre d'une monocouche [10] [30]. Les protéines, dont la charge dépend de leur point isoélectrique (pI) et du pH de la solution, s'adsorbent au niveau de surfaces non chargées principalement via des interactions hydrophobes à faible portée. Sans chimie de surface dédiée, l'orientation des anticorps déposés est aléatoire mais en grande partie en position « couchée » à la surface du substrat [10] [76]. D'après ces considérations, il est possible d'estimer un ordre de grandeur de masse ajoutée afin de le comparer avec les caractéristiques de nos leviers. Le calcul de la « densité surfacique maximale » correspondant à une monocouche dense d'anticorps, chaque molécule occupant une surface au sol d'environ  $123$  nm<sup>2</sup> (en assumant une orientation de type « couchée » identique pour toutes les molécules, et en prenant comme dimensions pour un anticorps IgG  $14.5$  nm  $\times$   $8.5$  nm  $\times$   $4$  nm [77]), donne comme résultat  $\sim 8 \times 10^3$  molécules/ $\mu\text{m}^2$ . La masse molaire d'un anticorps étant de  $\sim 150$  kDa, la masse surfacique liée à l'ajout d'une monocouche d'anticorps serait dans ces

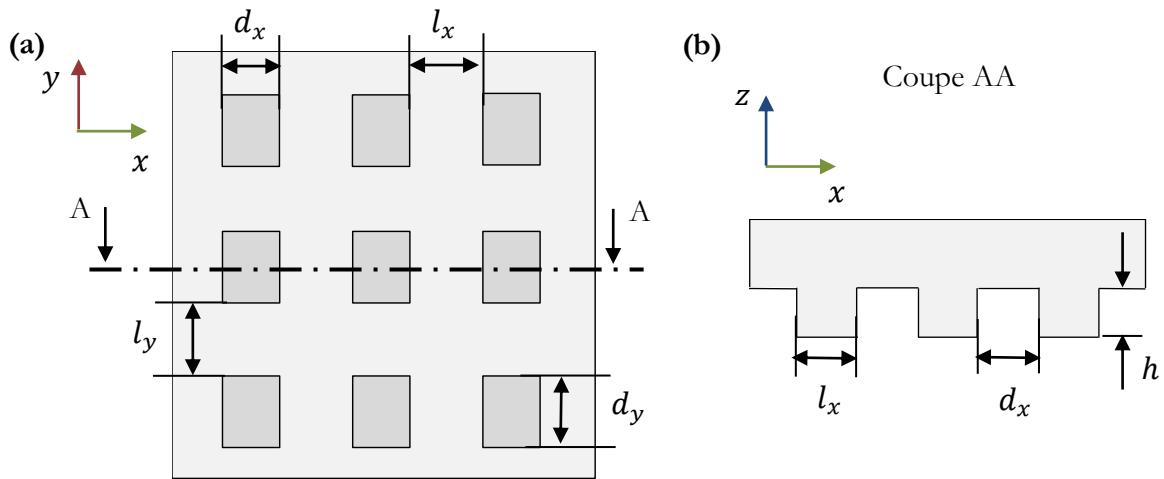
conditions égale à  $\sim 2 \text{ fg}/\mu\text{m}^2$ . Cette estimation est du même ordre de grandeur que la densité surfacique d'une monocouche d'anticorps rapportée par Buijs *et al* [78], et près de trois ordres de grandeur au-dessus de la limite de détection estimée pour ces leviers ce qui permet d'être relativement confiant dans les capacités de détection.

### 3.4.2 Dimensionnement des timbres

Lorsqu'un timbre est placé à la surface d'un substrat, le contact est initialement réalisé au niveau des protrusions du substrat (rugosité microscopique, défauts de surface, ...). Ce premier contact se propage ensuite aux régions voisines par l'intermédiaire des forces d'adhésion (le poids du timbre étant négligeable), selon une ligne de front dont l'avancée est observable en microscopie optique. Comme décrit dans la section 3.2.5, la stabilité mécanique des motifs du timbre est dépendante du module d'élasticité du matériau ainsi que des rapports de forme des motifs. Même en l'absence de pression extérieure appliquée, une rigidité insuffisante peut provoquer l'effondrement des creux du timbre du fait des forces interfaciales et même propager la distorsion si elles sont supérieures aux forces de rappel du timbre.

Trois conditions doivent être satisfaites pour le succès de l'approche  $\mu\text{CP}$  double-niveau envisagée : (1) les motifs du timbre doivent être suffisamment stables pour ne pas s'effondrer lors du dépôt sacrificiel, (2) le timbre doit être suffisamment flexible pour pouvoir contrôler l'effondrement via une faible pression appliquée et (3) le retrait thermochimique du timbre doit être faible afin de limiter les distorsions au niveau des motifs qui pourraient perturber l'étape d'alignement avec les nanoleviers.

L'approche envisagée nécessite de jouer sur l'instabilité mécanique des motifs en contrôlant leur effondrement grâce à une pression appliquée. Pour pouvoir déformer relativement facilement les creux du timbre, il est nécessaire d'avoir un rapport de forme  $d/h > 20$  (cf. section 3.2.5). En revanche, un tel rapport de forme rend les motifs particulièrement instables avec un fort risque d'effondrement non désiré lors des dépôts sacrificiels. Une stratégie consiste à utiliser des timbres composites constitués d'une fine couche de PDMS supportée par une lamelle de verre rigide. Cette approche permet non seulement d'augmenter la stabilité mécanique globale du timbre mais également de limiter le retrait thermochimique. Ici encore nous nous baserons sur des résultats préliminaires ayant déjà adressé ces considérations et garanti l'ensemble de ces conditions [65]. Dans ces travaux, les creux des timbres ont pour dimensions latérales  $d_x = 12.5 \mu\text{m}$  et  $d_y = 15 \mu\text{m}$ , pour une profondeur  $h = 340 \text{ nm}$ . Les distances latérales inter-motifs associées sont respectivement de  $l_x = 17.5 \mu\text{m}$  et  $l_y = 18 \mu\text{m}$ . Les dimensions latérales des creux du timbre sont délibérément choisies plus grandes que les dimensions des nanoleviers afin d'avoir une tolérance d'alignement suffisante. La figure 3.13 illustre la géométrie du timbre.



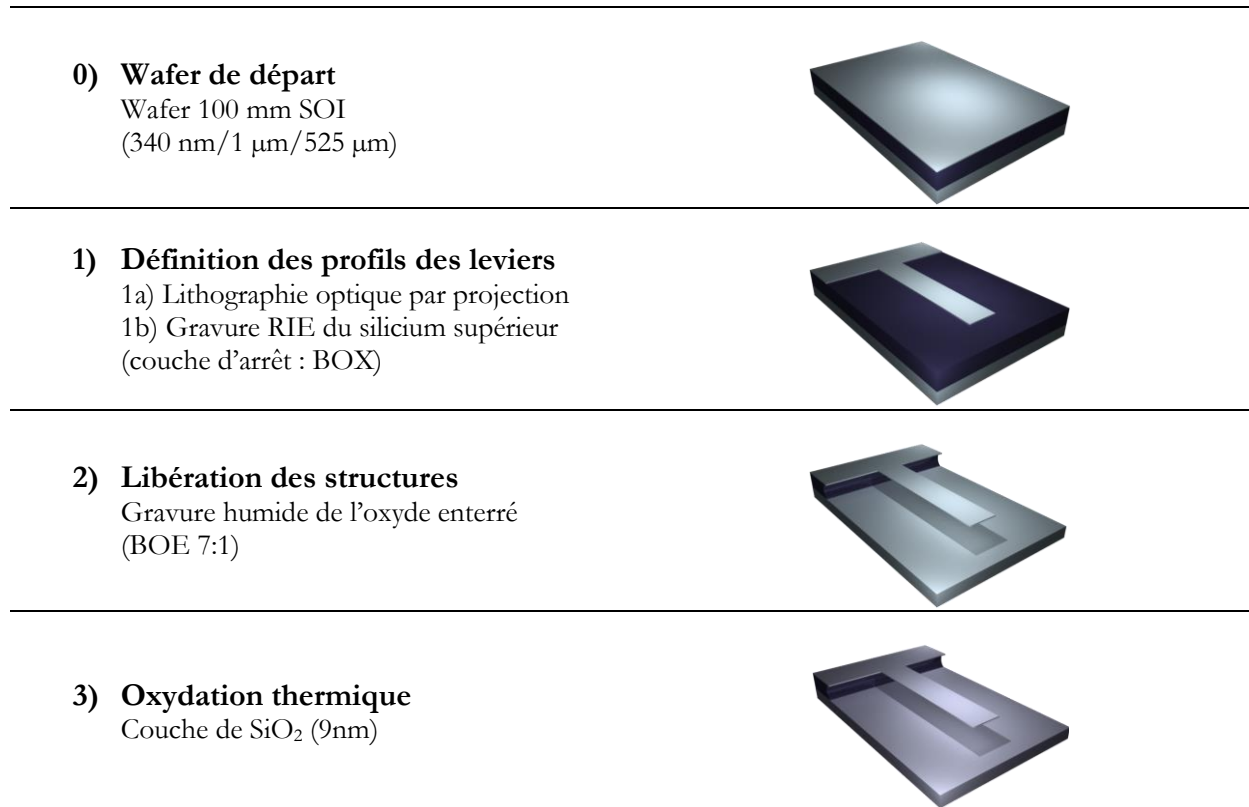
**Figure 3.13** Géométrie du timbre faisant apparaître les notations caractéristiques. (a) Vue de dessus. (b) Vue en coupe (les notations sont les mêmes que celles utilisées dans la figure 3.8).

## 3.5 Procédés de fabrication

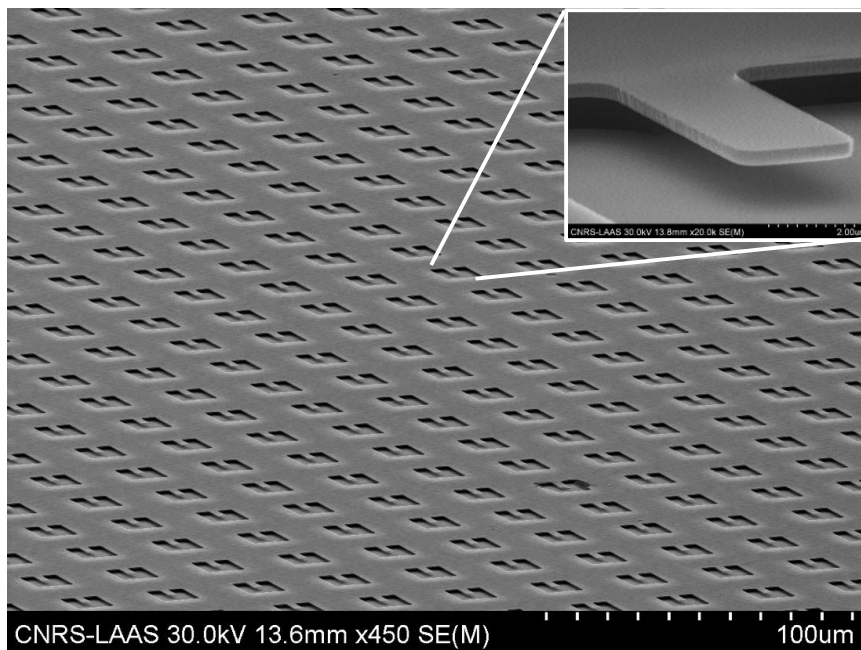
### 3.5.1 Réalisation des leviers NEMS

Un wafer SOI (*Silicon-On-Insulator*: Si/SiO<sub>2</sub>/Si (340 nm/1 μm/525 μm), Soitec Inc.) de diamètre 100 mm d'orientation (100) et de type P est utilisé pour la fabrication des nanoleviers. Ce type de substrat permet une libération des structures par gravure chimique de l'oxyde sacrificiel. Le procédé de fabrication comporte trois étapes schématisées sur la figure 3.14. Les profils des leviers ainsi que les motifs d'alignement pour le μCP sont définis via lithographie optique par projection à l'aide d'un stepper UV photo répéteur (I Line Canon FPA 3000 i4/i5, N.A. 0.63), avant d'être transférés dans le silicium par une gravure RIE (AMS4200, Alcatel Inc.) avec arrêt sur la couche d'oxyde enterré. Les structures sont ensuite libérées par gravure humide de la couche sacrificielle d'oxyde via une immersion dans un bain d'HF tamponné (BOE 7-1), mélange d'acide fluorhydrique (HF) et de fluorure d'ammonium (NH<sub>4</sub>F) selon un ratio volumique HF:NH<sub>4</sub>F de 7:1, dont la vitesse de gravure de l'oxyde enterré est d'environ 77 nm/min. Une oxydation thermique est finalement réalisée afin d'obtenir une couche de SiO<sub>2</sub> d'environ 9 nm en surface des leviers.

Après découpe du wafer, chaque puce obtenue comporte plus de 10<sup>5</sup> leviers d'environ 8 μm de long, 2.6 μm de large et de 340 nm d'épais, avec une densité d'intégration autour de 10<sup>5</sup> leviers/cm<sup>2</sup>. Chaque levier est suspendu au-dessus d'une cavité de dimensions latérales 15 μm × 12.5 μm et de profondeur 1 μm. Des images obtenue par microscopie électronique à balayage du réseau grande échelle de leviers NEMS réalisés sont visibles sur la figure 3.15.



**Figure 3.14** Principales étapes de fabrication des leviers NEMS.



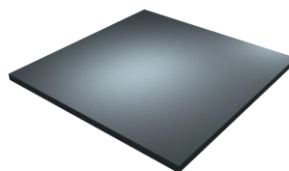
**Figure 3.15** Images MEB du réseau grande échelle de leviers NEMS en silicium réalisé. La densité d'intégration des leviers est d'environ  $10^5$  structures/cm<sup>2</sup>.

### 3.5.2 Réalisation du moule maître

Le moule maître est réalisé à partir d'un wafer standard en silicium de diamètre 100 mm d'orientation (100), de type P ( $10^{15}$  at/cm<sup>3</sup>) et d'épaisseur 500  $\mu$ m. Le procédé de fabrication comporte deux étapes principales représentées schématiquement dans la figure 3.16. Un niveau de photolithographie optique en mode contact (MA-150, Karl Suss Inc.) permettant la définition des motifs est suivi d'une gravure RIE (AMS4200, Alcatel Inc.) du silicium (profondeur 340 nm) à travers le masque en résine afin de transférer les motifs à la surface du wafer. Une silanisation en phase liquide à l'octadécyltrichlorosilane (OTS) est ensuite réalisée pour passiver la surface du moule avec un revêtement antiadhésif.

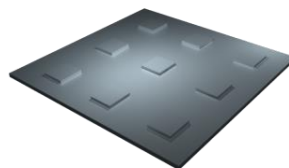
#### 0) Wafer de départ

Wafer en silicium 100 mm



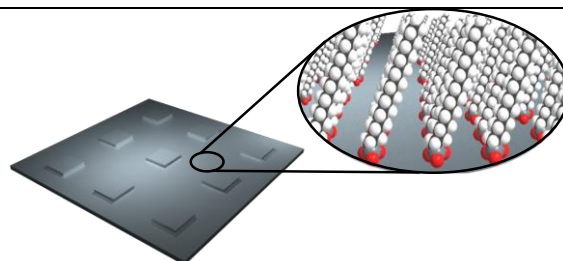
#### 1) Définition des motifs

- 1a) Photolithographie
- 1b) Gravure RIE (350 nm)



#### 2) Traitement antiadhésif

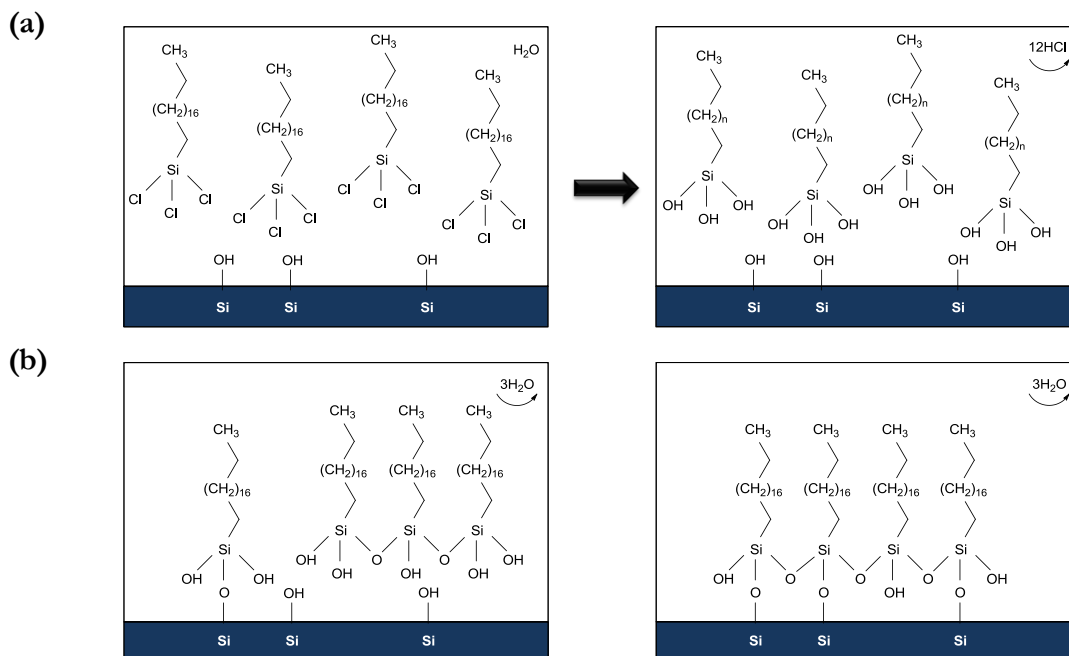
Silanisation OTS (1% en volume dans du xylène, 15 min, sous atmosphère de N<sub>2</sub>)



**Figure 3.16** Principales étapes de fabrication du moule maître en silicium.

La silanisation OTS permet le greffage covalent d'une monocouche auto-assemblée à la surface du moule, selon une réaction dont le mécanisme est représenté sur la figure 3.17. Les molécules d'OTS, de structure chimique  $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{17}\text{SiCl}_3$ , possèdent trois groupements halogènes (-Cl) pouvant être hydrolysés par la présence d'eau en quantité résiduelle dans la solution. Les molécules de silane peuvent alors se greffer à la surface du substrat mais aussi réagir entre elles (condensation) via des liaisons covalentes siloxanes (Si-O-Si). La monocouche ainsi formée agit comme un revêtement antiadhésif grâce à la présence de groupements fonctionnels de type méthyle (-CH<sub>3</sub>) peu réactifs, qui empêchent la formation de liaisons covalentes entre le PDMS et la surface du moule en silicium lors de la réticulation du timbre. La figure 3.17 illustre la

réaction de silanisation. Une activation préalable de la surface du moule par plasma oxygène (PVA TePla 300, 1000 ml/min ( $O_2$ ), 800 W, 5 min) est nécessaire afin de générer des groupements hydroxyles (-OH) très réactifs en surface. La silanisation est ensuite réalisée en phase liquide par immersion du moule dans une solution d'OTS à 1% en volume dans du xylène pendant 15 min, sous atmosphère d'azote afin de réduire la polymérisation en solution des molécules d'OTS. Le moule est ensuite rincé abondamment et successivement au xylène, à l'éthanol puis à l'eau dé-ionisée (DI) avant d'être séché à l'azote. L'hydrophobicité de la surface du moule est finalement contrôlée par la mesure de l'angle de contact entre le substrat et une goutte d'eau. Un angle de contact d'environ  $110^\circ$  est généralement caractéristique du succès de la silanisation. La chimie de surface mise en œuvre est très robuste et stable dans le temps sans aucune précaution de stockage particulière du moule. La durée de vie du moule maître et de son traitement antiadhésif est d'ailleurs généralement supérieure à plusieurs centaines de démoulage.



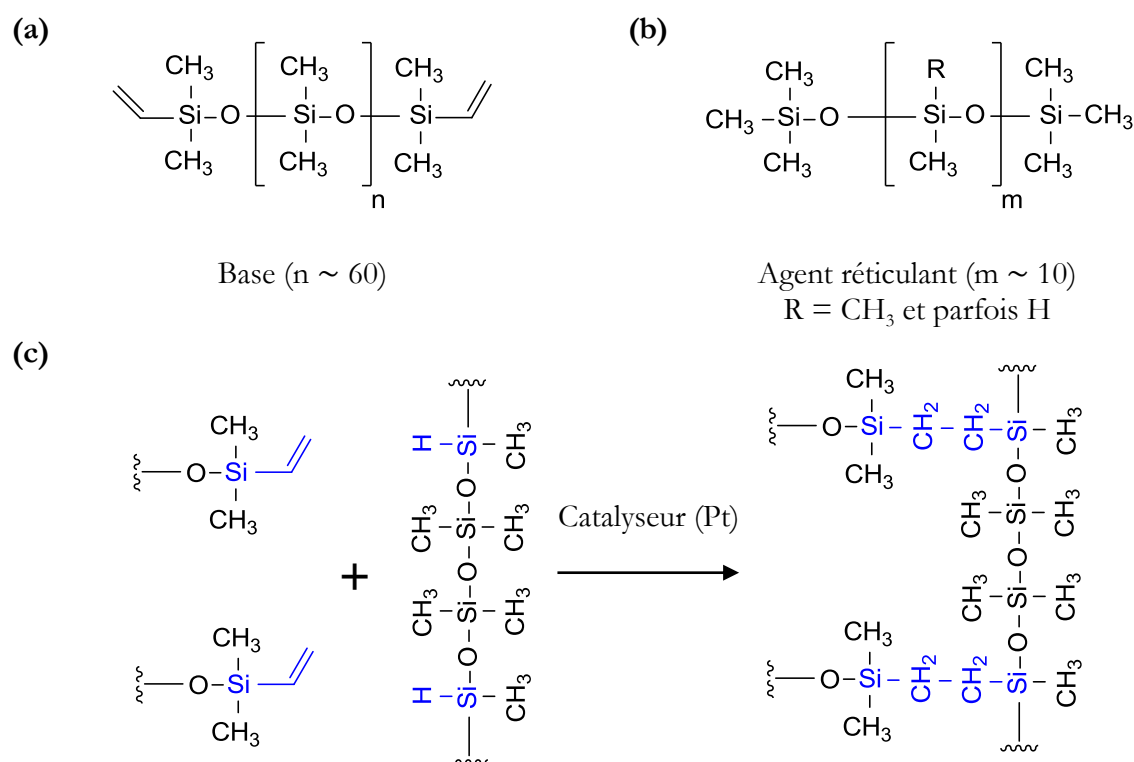
**Figure 3.17** Réaction de silanisation conduisant à la formation d'une monocouche auto-assemblée de molécules d'OTS à la surface d'un substrat en silicium : (a) hydrolyse, (b) greffage et condensation. Les étapes de greffage et de condensation ne sont pas séquentielles mais peuvent se produire simultanément (adapté d'après [79]).

### 3.5.3 Réalisation des timbres en PDMS

Le PDMS est un polymère synthétique siliconé de la famille des siloxanes. La formulation commerciale la plus répandue est le Sylgard® 184 (Dow Corning Corp. USA). Elle comporte deux réactifs à l'état liquide : la base et un agent réticulant. La base comporte des chaînes macromoléculaires longues d'environ 60 unités de répétition d'une brique élémentaire de composition chimique  $-[OSi(CH_3)_2]-$  terminée par des groupements vinyle  $-CH=CH_2$ . L'agent



réticulant est constitué d'oligomères plus courts (environ 10 unités de répétition) incluant une fonction hydrogénosilane (Si-H), ainsi qu'un catalyseur à base de platine. Le polymère final est obtenu par mélange de la base et de l'agent réticulant suivi d'une réticulation thermique. La figure 3.18 illustre le mécanisme de réticulation. En présence de chaleur, une réaction d'hydrosilylation catalysée par le composé à base platine se produit entre la fonction hydrogénosilane et le groupement vinyle conduisant à la formation de complexes  $-\text{Si}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{Si}-$ . Ces liaisons covalentes de « pontage inter-chaînes » assurent la réticulation du polymère selon un réseau tridimensionnel qui confère au PDMS ses propriétés élastomériques.

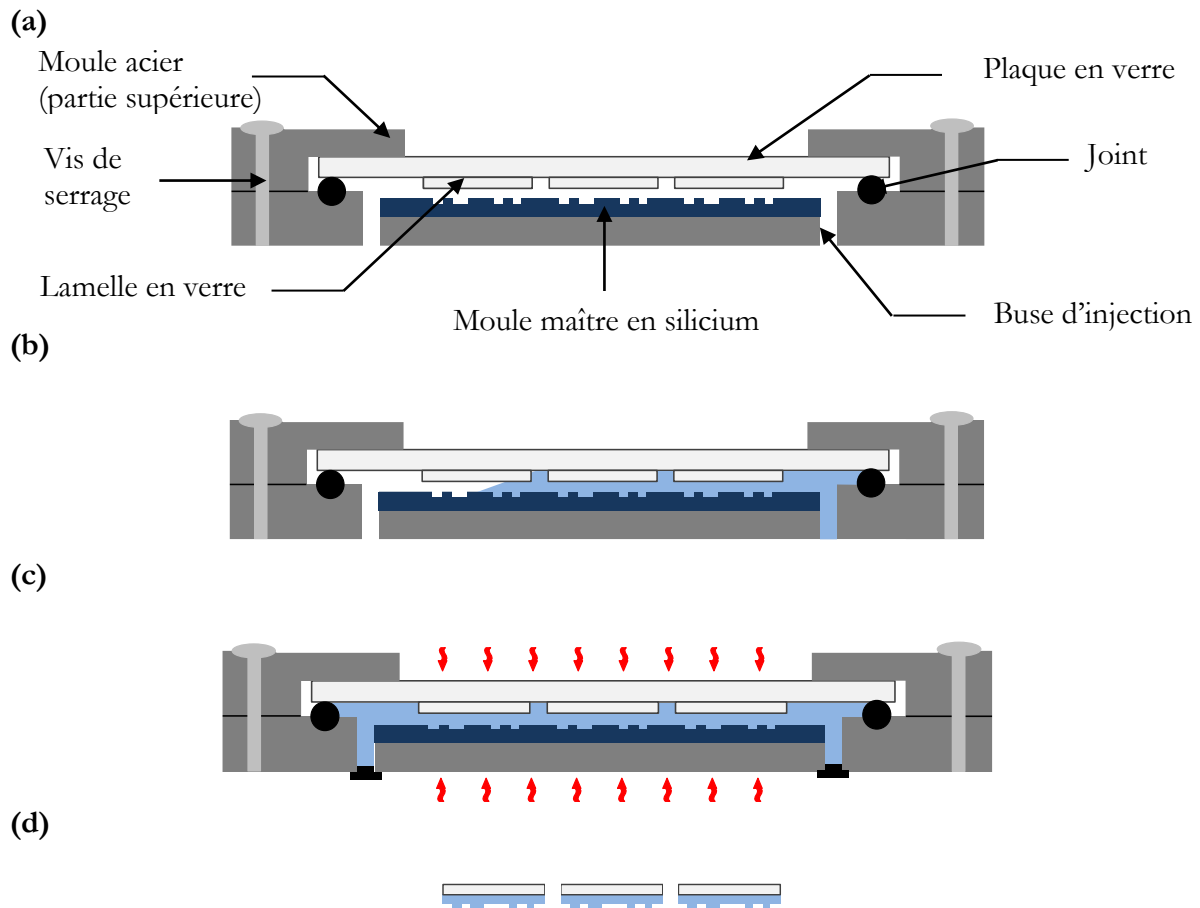


**Figure 3.18** Représentation des structures chimiques (a) de la base et (b) de l'agent réticulant de la formulation commerciale du PDMS Sylgard® 184. (c) Mécanisme de la réaction d'hydrosilylation impliquée dans la réticulation du PDMS (adapté d'après [80]).

Les timbres en PDMS sont réalisés à partir du mélange de la base et de l'agent réticulant selon un ratio massique de 10:1 (spécification fabricant). Le mélange est ensuite soigneusement dégazé dans une enceinte sous vide primaire afin d'éliminer les bulles d'air présentes en solution. La présence de bulles d'air pendant la réticulation peut générer des défauts rendant les motifs inexploitable. La solution de PDMS est ensuite étalée à la surface du moule maître en silicium silanisé OTS, puis l'ensemble est finalement mis à réticuler dans une étuve à 60°C pendant 4h.

Afin de limiter les variations dans le procédé de fabrication des timbres, un dispositif artisanal de moulage a spécialement été conçu. Ce système a en réalité trois fonctions : (i) contrôler la reproductibilité de l'épaisseur des timbres d'un lot de fabrication à l'autre, (ii) réaliser

des timbres composites PDMS/verre limitant le retrait thermochimique et renforçant la stabilité mécanique des motifs, et (iii) permettre la fabrication d'un grand nombre de timbres en parallèle. Le dispositif, schématisé sur la figure 3.19, consiste en un moule en acier comportant un emplacement ajusté pour un wafer 100 mm destiné à accueillir le moule maître. Une plaque en verre rendue antiadhésive par un traitement OTS est placée au-dessus du moule maître, de manière à reposer sur un joint torique. Des lamelles de microscope (non silanisées) sont préalablement collées à la surface de la plaque en verre et en regard des motifs du moule maître. La partie supérieure du moule en acier est alors vissée à la partie inférieure, la pression appliquée venant comprimer le joint et assurer l'étanchéité du système. La cavité formée au-dessus du moule maître est ensuite remplie de la solution de PDMS par le biais d'une buse d'injection avec l'aide d'une seringue. Après réticulation, des timbres composites individuels d'environ 1.5 cm × 1.5 cm comportant une couche de PDMS de 400 µm d'épaisseur liée à une lamelle de verre d'1 mm d'épaisseur sont découpés avec précaution à l'aide d'un scalpel.



**Figure 3.19** Schéma (vues en coupe) du dispositif artisanal de moulage dédié à la fabrication des timbres (a) Description des différents éléments. (b) Remplissage du PDMS via une buse d'injection. (c) Réticulation thermique dans une étuve. (d) Timbres composites PDMS/verre obtenus après découpe et démoulage.

## 3.6 Résultats expérimentaux et discussions

### 3.6.1 Matériel et méthodes

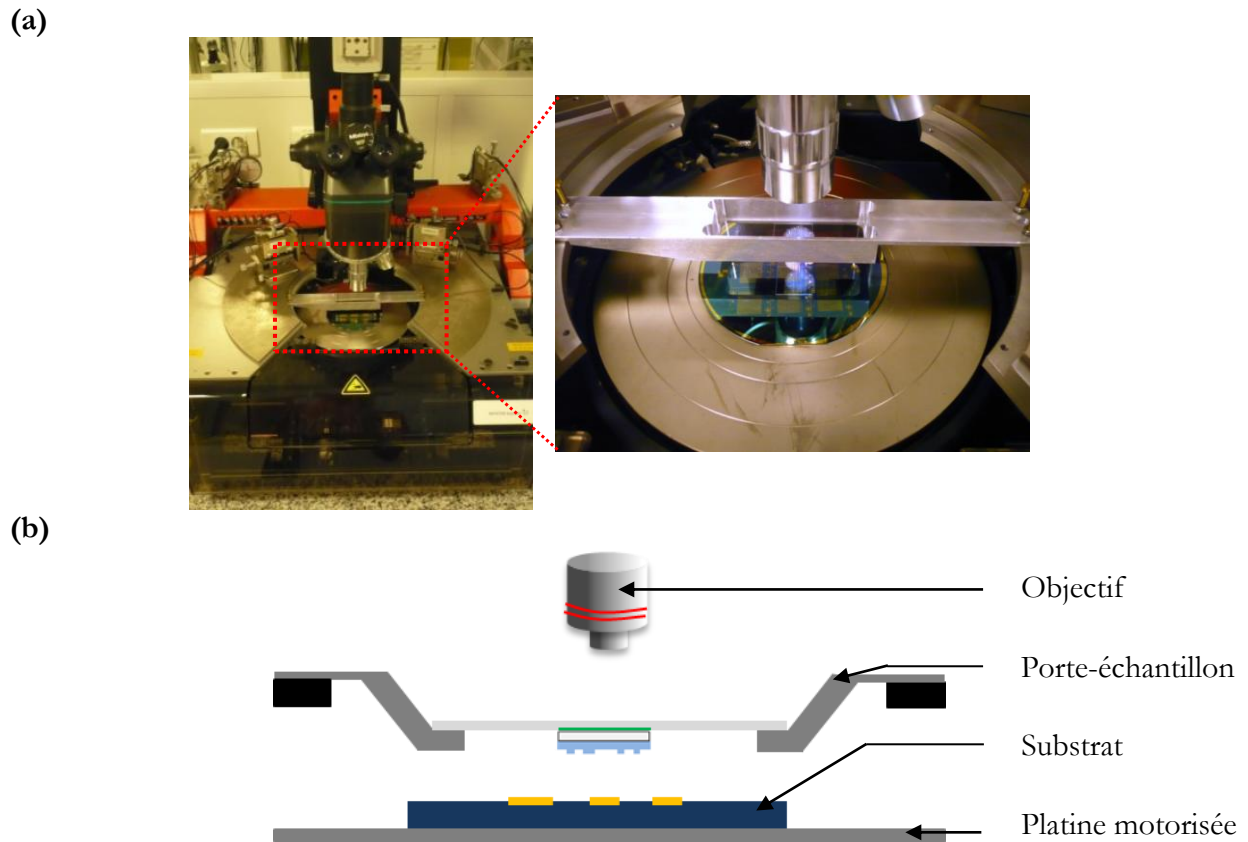
Des anticorps secondaires IgG polyclonaux ( $M_W \sim 150$  kDa) Alexa Fluor® 660 âne anti-chèvre (A21083), Alexa Fluor® 488 chèvre anti-souris (A11001) et Alexa Fluor® 488 âne anti-souris (A21202) ont été commandés chez Invitrogen. Ils constituent respectivement les molécules **sondes (IgG1)**, les molécules **cibles spécifiques (IgG2)** et les **cibles non spécifiques (IgG3)**. Les anticorps IgG2 spécifiques jouent le rôle d'antigène, dont la reconnaissance du fragment Fc par les anticorps IgG1 conduit à la formation du complexe antigène/anticorps. Les anticorps sont préparés dans des solutions de tampon phosphate salin (PBS 1x, 10 mM, pH 7.4) avec des concentrations massiques respectives de 400, 50 et 50  $\mu\text{g/ml}$ . De l'albumine de sérum bovin (BSA) non marquée ( $M_W \sim 66$  kDa) et de la BSA marquée à la fluorescéine achetées respectivement chez Sigma-Aldrich et Invitrogen sont préparées dans du PBS 1x avec une concentration massique de 1 mg/ml. La BSA constitue l'agent de passivation.

Les timbres et les puces comportant les réseaux denses de nanoleviers ont été réalisés selon les méthodes décrites précédemment dans la section fabrication. Les dépôts par  $\mu\text{CP}$  sont réalisés à l'aide d'une station sous pointes (Karl Suss PA200) modifiée. La puce comportant les leviers NEMS est placée sur une platine motorisée et maintenue à l'aide d'une aspiration sous vide. La platine autorise la translation de la puce selon les trois directions de l'espace  $X$ ,  $Y$ , et  $Z$  ainsi qu'une rotation  $\theta$  dans le plan  $(X, Y)$ . Le timbre composite est maintenu fixe au-dessus de la puce à l'aide d'un porte échantillon décrit sur la figure 3.20. La transparence du timbre permet de réaliser l'alignement des motifs complémentaires présents sur la puce et le timbre, à l'aide du microscope optique droit de la station. La puce est ensuite amenée au contact du timbre grâce à la platine motorisée, l'approche étant contrôlée en temps réel au microscope afin de corriger d'éventuels défauts d'alignement.

La visualisation des dépôts par  $\mu\text{CP}$  ainsi que l'évaluation de l'activité biologique des sondes et de la capacité de blocage de l'agent passivant sont réalisées à l'aide d'un microscope à fluorescence inversé (Olympus IX 70), équipé d'une source de lumière blanche (Lumencor SOLA light engine®) et d'un objectif  $\times 20$  (Olympus, N.A. 0.4). Les acquisitions sont obtenues grâce à deux jeux de filtres (U-M41008, Chroma et U-MWIB3, Olympus) respectivement dédiés à l'observation des fluorophores de marquage Alexa Fluor® 660 (IgG1) et Alexa Fluor® 488 (IgG2 spécifiques et IgG3 non spécifiques), une caméra CCD (Clara CCD DR-328G-C01-SIL, Andor) et le logiciel Andor Solis®. Ce logiciel est également utilisé pour l'analyse qualitative des intensités de fluorescence.

Les caractérisations gravimétriques du comportement mécanique des nanoleviers sont réalisées sous vide grâce au banc d'interférométrie optique décrit dans le chapitre 2 de ce manuscrit, en mode actionnement/détection externe. La puce est ainsi montée sur une pastille piézoélectrique et placée dans une enceinte sous vide. Un faisceau laser est focalisé à l'aide d'un système optique à la surface du levier à mesurer. La modulation d'intensité du faisceau par les vibrations de la structure est détectée via une photodiode couplée à un analyseur de réseau. L'analyseur délivre également le signal d'excitation à la pastille piézoélectrique pour la mise en

vibration des structures. Les mesures sont réalisées sous vide à une pression de  $10^{-6}$  mbar et à température ambiante



**Figure 3.20** Images et schéma du dispositif d'alignement utilisé pour la réalisation des dépôts par  $\mu$ CP sur des leviers libérés.

### 3.6.2 Validation de la localisation du dépôt

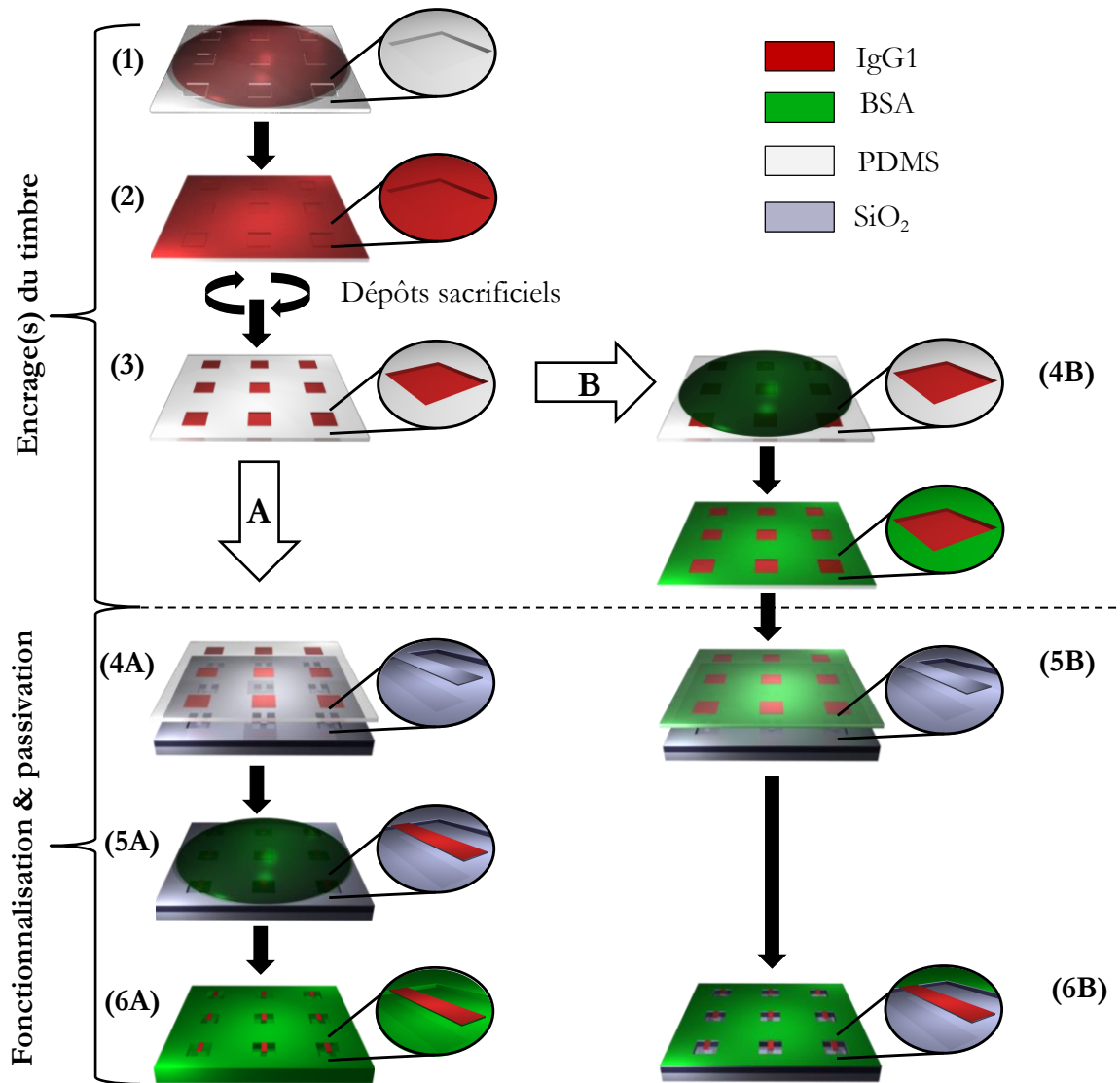
Cette première partie décrit le protocole mis en œuvre et les résultats expérimentaux obtenus dans le cadre de l'objectif 1), à savoir le dépôt du biorécepteur et de l'agent passivant à la surface des nanoleviers tout en préservant l'intégrité mécanique des structures.

La surface des timbres en PDMS fraîchement préparés est d'abord nettoyée via des rinçages successifs avec une solution de PBS 1x ( $3 \times 1$  ml) et à l'eau DI ( $1 \times 5$  ml) avant d'être séchée à l'azote. Un premier encreage d'une durée 2 minutes du timbre avec un volume de 200  $\mu$ l de la solution de molécules sondes (IgG1 à 400  $\mu$ g/ml dans du PBS 1x) est d'abord réalisé. Après séchage à l'azote, le timbre est à nouveau rincé successivement avec du PBS 1x ( $10 \times 1$  ml) et de l'eau DI ( $10 \times 1$  ml) afin d'éliminer les molécules faiblement adsorbées. La surface du timbre (creux et protrusions) est alors entièrement recouverte des molécules sondes (cf. figure 3.21 (2)). Pour localiser les anticorps uniquement au niveau des motifs en creux, des dépôts « sacrificiels »

sont nécessaires. Un dépôt sacrificiel consiste à mettre en contact le timbre avec un substrat « jetable », par exemple une lamelle en verre de microscope optique. Ainsi, seules les molécules présentes au niveau des zones en contact sont transférées ( $\mu$ CP classique), l'encre se retrouve alors sélectivement confinée au niveau des creux (cf. figure 3.21 (3)). Chaque dépôt sacrificiel est contrôlé en comparant l'intensité de fluorescence du substrat avec celle du bruit de fond de la mesure, afin de déterminer si d'autres dépôts sacrificiels sont nécessaires. Si la très grande majorité des anticorps est éliminée des protrusions du timbre à l'issue du premier dépôt, en général six dépôts d'une durée de 2 minutes chacun sont nécessaires pour retrouver une intensité de fluorescence voisine du bruit de fond.

La passivation de la puce peut ensuite être envisagée de deux manières différentes. La première méthode consiste à tirer profit du timbre double-niveau en réalisant un deuxième encrage avec l'agent passivant (cf. figure 3.21 B). Le dépôt par  $\mu$ CP permet alors de réaliser en une seule étape la fonctionnalisation et la passivation de la surface de la puce (cf. figure 3.21 (6B)). Cette approche est particulièrement adaptée pour des surfaces planes sans topographie comme par exemple des membranes. Une autre façon plus classique consiste à passiver la puce après l'étape de fonctionnalisation selon la méthode « *dip-and-dry* », c'est-à-dire en immergeant la puce dans la solution de passivation (cf. figure 3.21 A).

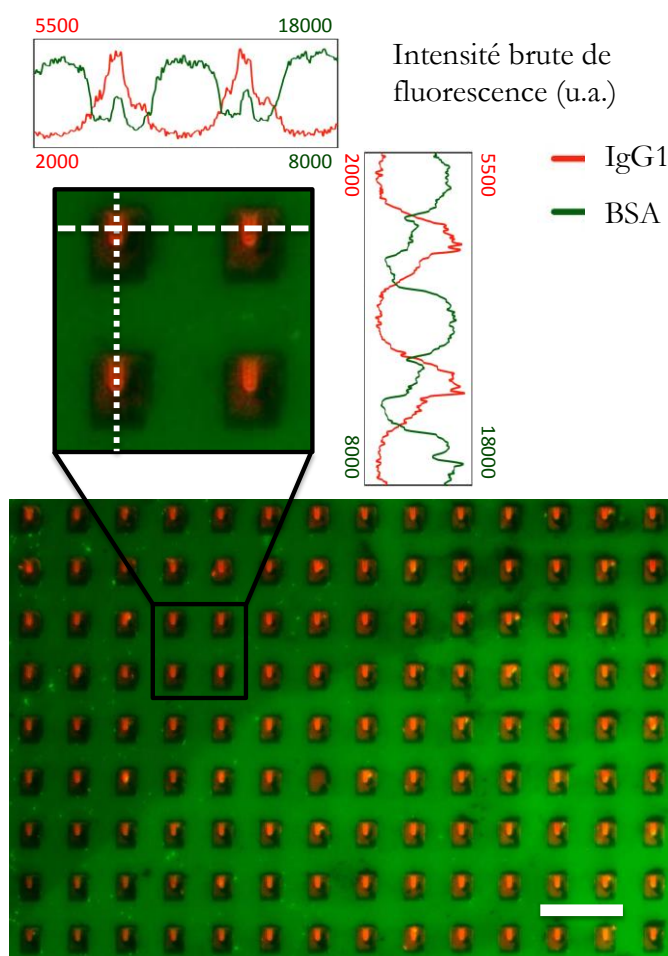
Dans un premier temps, nous avons testé l'approche double-niveau afin de démontrer l'avantage de cette technique de  $\mu$ CP modifiée. Après encrage avec la solution de BSA marquée en fluorescence (BSA marquée à 1 mg/ml dans du PBS 1x) pendant 2 minutes, la surface du timbre présente alors les molécules sondes dans les creux et l'agent passivant au niveau des protrusions (cf. figure 3.21 (4B)). Avant le dépôt, la puce comportant les leviers NEMS est au préalable nettoyée par immersion dans un bain Piranha ( $\text{H}_2\text{O}_2$ : $\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1:1 v/v, 5 min), puis rincée et séchée avec précaution afin d'éviter d'endommager les structures libérées. Une activation de la surface de la puce par plasma oxygène (PVA TePla 300, 1000 ml/min ( $\text{O}_2$ ), 800 W, 5 min) est réalisée afin de favoriser le transfert des molécules au moment de l'impression. L'activation de surface étant temporaire, il est capital de réaliser le dépôt rapidement. L'alignement du timbre et de la puce est réalisé à l'aide d'une station sous pointes, selon le dispositif décrit dans la section précédente. Une fois le contact réalisé, l'ensemble timbre/puce est mis sous presse pendant 30 minutes afin d'appliquer la pression nécessaire à l'effondrement des creux et ainsi transférer les molécules sondes à la surface des leviers (cf. figure 3.21 (6B)).



**Figure 3.21** Schémas du procédé de fonctionnalisation des nanoleviers. Deux approches sont présentées : (A) les leviers sont d'abord fonctionnalisés par  $\mu$ CP puis la surface de la puce est passivée selon la méthode « *dip-and-dry* » ; (B) fonctionnalisation et passivation sont réalisées en une seule et même étape via la méthode du  $\mu$ CP double-niveau. (1) Encre(s) du timbre avec les molécules sondes (IgG1). (2) Rinçage et séchage du timbre. (3) Elimination des molécules sondes des protrusions du timbre grâce à de multiples dépôts sacrificiels. (4A) Fonctionnalisation des nanoleviers par  $\mu$ CP après alignement du timbre et de la puce. (5A) Passivation « *dip-and-dry* » de la puce (BSA). (4B) Encre(s) du timbre avec l'agent passivant (BSA). (5B) Fonctionnalisation et passivation des nanoleviers par  $\mu$ CP double-niveau après alignement du timbre et de la puce. (6) Puce fonctionnalisée et passivée.

Le résultat du dépôt réalisé est illustré sur la figure 3.22. L'image en fluorescence montre une zone d'environ  $400 \mu\text{m} \times 280 \mu\text{m}$  comportant 126 nanoleviers fonctionnalisés et passivés. Elle est la superposition des deux images obtenues correspondant à l'observation des molécules sondes Alexa Fluor® 660 IgG1 (couleur rouge) et de l'agent passivant BSA conjuguée avec de la

fluorescéine (couleur verte). Les intensités brutes de fluorescence (*i.e.* sans soustraction du bruit de fond) apportent une information qualitative sur la localisation des sondes au niveau des nanoleviers tandis que le reste de la puce est entièrement recouvert par la BSA. Ces résultats témoignent indéniablement du succès de l'approche de  $\mu$ CP mise en œuvre afin de réaliser en une seule étape la biofonctionnalisation et la passivation d'un réseau de nanoleviers sans dommages apparents. Malgré la tolérance prévue au moment du design, l'alignement reste toutefois l'étape délicate de ce procédé. La principale raison est la présence de l'agent passivant au niveau des protrusions qui empêche toute correction d'alignement une fois le contact réalisé.



**Figure 3.22** Réseau de nanoleviers biofonctionnalisés et passivés par  $\mu$ CP double-niveau. L'image est le résultat de la superposition de deux images obtenues en microscopie à fluorescence correspondant respectivement à l'observation des molécules sondes Alexa Fluor® 660 IgG1 (couleur rouge) et de l'agent passivant BSA conjuguée avec de la fluorescéine (couleur verte). La barre d'échelle correspond à une distance réelle de 50  $\mu$ m. L'encart montre un agrandissement au niveau d'une zone particulière du réseau ainsi que les profils d'intensité de fluorescence mesurés dans les deux filtres.

### 3.6.3 Validation de l'activité biologique

L'étape suivante de notre démarche expérimentale vise à évaluer la fonctionnalité biologique des molécules déposées à travers la spécificité de leur reconnaissance (objectif 2)). En effet, la méthode de dépôt doit pour être viable garantir la préservation des capacités de détection du biorécepteur. Cette activité biologique est évaluée par la mise en œuvre d'un essai immunologique impliquant l'exposition des sondes IgG1 immobilisées à la surface des leviers à des anticorps cibles spécifiques IgG2 (test) et non spécifiques IgG3 (contrôle), afin d'évaluer la sélectivité de l'interaction. En pratique, l'incubation est réalisée par immersion de la puce dans la solution contenant les molécules d'intérêt.

Par soucis de clarté et afin de faciliter la compréhension du protocole mis en œuvre, l'attention du lecteur est attirée sur les différents points suivants :

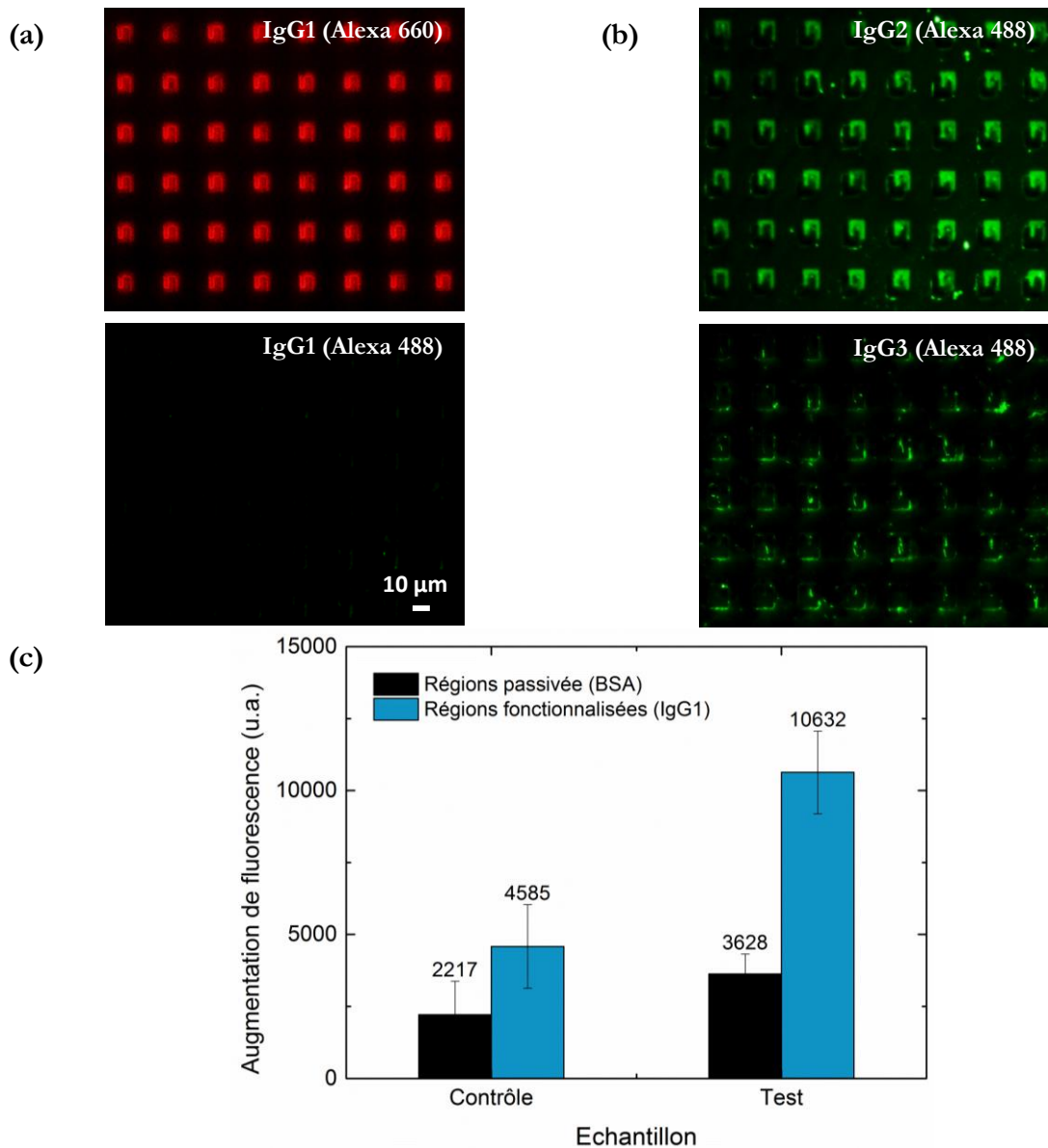
- l'immobilisation de sondes mises en œuvre dans ces travaux repose sur un mécanisme d'adsorption non spécifique. Cette méthode de greffage est avantageuse par sa simplicité de mise en œuvre, la présence d'interactions (électrostatiques, Van der Waals, hydrophobes) conduisant généralement à une accroche satisfaisante et relativement stable dans des conditions d'opération peu sévères (en termes de pH, de température, ...). Cette stratégie d'immobilisation a cependant pour inconvénient majeur d'empêcher la réutilisation du substrat après interaction, car la régénération de surface nécessaire à la dissociation du complexe sonde/cible afin de rendre les biorécepteurs disponibles conduit généralement à leur désorption. Par conséquent, il est impossible dans ce contexte d'utiliser la même puce pour réaliser successivement l'interaction avec les cibles spécifiques (test) et les cibles non spécifiques (contrôle). C'est pourquoi **les résultats présentés ci-après ont été obtenus à partir de deux puces distinctes, la fonctionnalisation et la passivation de chaque puce ayant été réalisées dans des conditions similaires ;**
- les résultats précédents ont permis de démontrer la faisabilité d'utilisation du  $\mu$ CP double-niveau pour réaliser en une seule étape la fonctionnalisation et la passivation de la surface d'un substrat. Cette approche semble néanmoins plus appropriée pour la passivation de surfaces planes de type nanomembranes ou nanoélectrodes par exemple. Dans notre situation, les leviers sont suspendus au-dessus d'une cuve, dont la présence est inhérente au procédé de libération par gravure d'un oxyde sacrificiel. Cette stratégie ne permet donc pas de passiver la face inférieure des nanolevier. Ces régions sont donc sujettes à l'adsorption non spécifique des molécules cibles lors de l'étape d'incubation, pouvant conduire à des réponses en fluorescence et en masse erronées de type faux-positif. **L'approche alternative de passivation « dip-and-dry » (cf. figure 3.21 A) est donc préférée à la méthode double niveau dans la suite de ces travaux ;**
- l'évaluation de l'activité biologique des sondes et de l'efficacité de passivation est caractérisée par fluorescence. Un même marqueur en fluorescence (Alexa Fluor® 488) a été choisi pour les cibles spécifiques IgG2 et non spécifiques IgG3 afin d'avoir des intensités de fluorescence similaires et comparables d'un échantillon à l'autre. Ce



marqueur a également été sélectionné pour son éloignement en termes d'émission de fluorescence par rapport à celui des sondes IgG1 (Alexa Fluor® 660). Le signal de fluorescence de chaque fluorophore est ainsi découplé lors de la mesure. En revanche, la BSA conjuguée à la fluorescéine utilisée dans la partie précédente pour visualiser la qualité du dépôt par  $\mu$ CP, possède un marqueur dont le spectre d'émission présente un recouvrement important avec celui du fluorophore des molécules cibles. **Pour cette raison, il a donc été délibérément décidé d'utiliser dans la suite du protocole de la BSA non marquée.**

Le protocole de fonctionnalisation et de passivation décrit dans la figure 3.21 A est mis en œuvre pour les deux échantillons test et contrôle. Après encrage du timbre avec uniquement les anticorps IgG1 et transfert des molécules sondes à la surface des nanoleviers par  $\mu$ CP, la puce entière est incubée pendant 30 minutes dans une solution de BSA non marquée à 1 mg/ml dans du PBS 1x. Après rinçage, chaque échantillon est respectivement incubé avec 200  $\mu$ l de la solution d'intérêt à 50  $\mu$ g/ml dans du PBS 1x pendant 2 heures. L'échantillon test est incubé avec la solution d'anticorps IgG2 spécifiques tandis que l'échantillon contrôle est incubé avec la solution d'anticorps IgG3 non spécifiques. Chaque puce est ensuite rincée avec une solution de PBS 1x pendant 45 minutes et sous agitation lente avant d'être caractérisée en fluorescence.

La figure 3.23 montre les résultats obtenus suite à l'incubation de l'échantillon test et du contrôle. Les images en fluorescence correspondent à différentes observations réalisées avec le jeu de filtres dédié au marqueur des sondes (Alexa Fluor® 660, couleur rouge) et avec le jeu de filtres dédié au marqueur des cibles (Alexa Fluor® 488, couleur verte). Les images en fluorescence (a) correspondent à l'observation respective du dépôt des molécules sondes avec les deux jeux de filtres. La première image (image du haut) témoigne de l'adéquante fonctionnalisation de la surface des leviers au niveau de la région considérée tandis que la seconde (image du bas) montre l'absence d'émission du marqueur des sondes dans le filtre dédié à l'observation des cibles. Les images (b) correspondent respectivement à la fluorescence émise par les molécules cibles spécifiques IgG2 pour l'échantillon test (image du haut), et à l'émission de fluorescence des cibles non spécifiques IgG3 dans le cas du contrôle (image du bas). L'interaction spécifique est nettement visible au niveau des nanoleviers de l'échantillon test. L'analyse quantitative des données de fluorescence (c) confirme les observations visuelles. Le graphique compare l'augmentation de l'intensité de fluorescence suite à l'incubation des molécules cibles, pour les deux échantillons, au niveau des régions fonctionnalisées (nanoleviers) et des régions passivées. Les mesures ont été réalisées avec le dispositif décrit dans la section 3.6.1 et avec les mêmes paramètres d'acquisition (intensité : 100%, gain : 0, exposition : 5 s, binning : 1 $\times$ 1). Les valeurs d'intensité indiquées correspondent à la moyenne de plusieurs mesures réalisées au niveau des régions d'intérêt, *i.e.* vingt mesures au niveau des régions fonctionnalisées et trois mesures au niveau des régions passivées. Les barres d'erreur correspondent à l'écart type des séries de mesures.



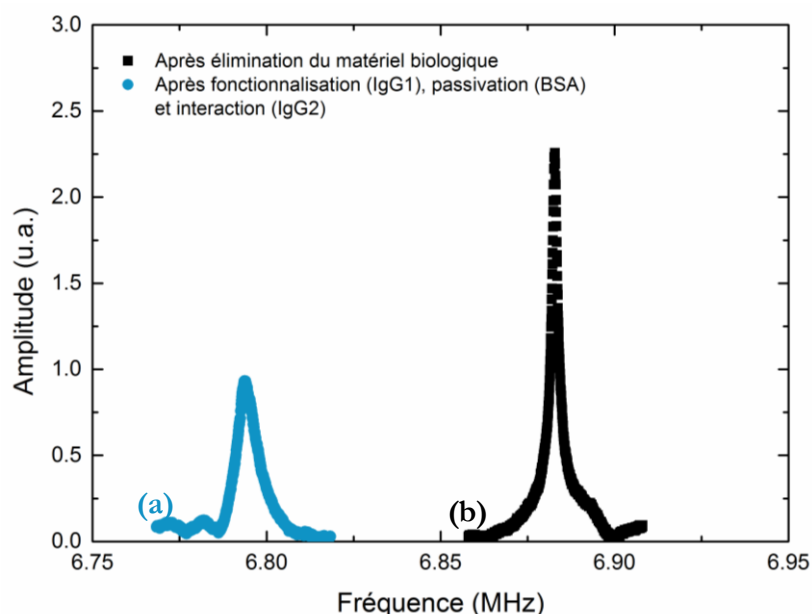
**Figure 3.23** Validation de l'activité biologique des sondes par microscopie en fluorescence. (a) Images en fluorescence de l'échantillon après fonctionnalisation avec le jeu de filtres dédié à l'observation des sonde (Alexa Fluor® 660, image du haut) et celui dédié à l'observation des cibles (Alexa Fluor® 488, image du bas). (b) Images en fluorescence de l'échantillon test après incubation des cibles spécifiques IgG2 (image du haut), et de l'échantillon contrôle après incubation des cibles non spécifiques IgG3. (c) Graphe comparant les augmentations moyennes d'intensité de fluorescence des échantillons test et contrôle au niveau des régions fonctionnalisées et des régions passivées.

Le graphe indique pour l'échantillon test une augmentation de fluorescence au niveau des nanoleviers près de deux fois supérieure à celle observée pour l'échantillon contrôle, dont l'augmentation est comparable à celle des zones passivées. Cette différence de sélectivité traduisant une affinité privilégiée des sondes envers les cibles spécifiques témoigne de la préservation de l'activité biologique des biorécepteurs suite au dépôt par  $\mu$ CP.

### 3.6.4 Validation de l'intégrité mécanique

L'activité biologique des sondes immobilisées à la surface des nanoleviers ayant été démontrée, il reste cependant encore deux questions à adresser : l'intégrité mécanique des nanoleviers est-elle préservée à l'issue des étapes de fonctionnalisation et de passivation ? La réponse mécanique des nanoleviers est-elle cohérente avec les étapes réalisées ?

L'évaluation de l'intégrité mécanique est intensivement étudiée en réalisant des caractérisations gravimétriques sur seize nanoleviers choisis aléatoirement au sein du réseau. Pour chaque acquisition, une méthode de fitting non linéaire de minimisation des moindres carrés implémentée dans le logiciel Origin, basée sur l'algorithme Levenberg-Marquardt, est utilisée afin d'extraire les valeurs de fréquence de résonance et de facteur de qualité. La figure 3.24 correspond aux réponses dynamiques typiques d'un levier en particulier, après interaction (dépôts des sondes IgG1, passivation BSA et interaction IgG2) et après élimination du matériel biologique. La régénération de la surface est réalisée par immersion de la puce dans un bain Piranha ( $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1:1 v/v, 10 min).



**Figure 3.24** Fréquences de résonance mesurées pour un nanolevier du réseau de l'échantillon test. (a) Réponse dynamique après dépôt des sondes (IgG1), passivation (BSA) et incubation avec les cibles spécifiques (IgG2). (b) Réponse mécanique de la structure après élimination du matériel biologique.

Ces mesures de fréquence de résonance attestent indéniablement de la préservation de l'intégrité mécanique des structures, qui ont résisté à l'ensemble du protocole mis à œuvre sans dommages apparents. La présence de la masse ajoutée à la surface des nanoleviers se traduit par une chute de la fréquence de résonance ainsi qu'une diminution du facteur de qualité, attribuée à

un effet dissipatif lié à la présence du matériel biologique. La fréquence de résonance mesurée pour le nanolevier, après élimination du matériel biologique, est de 6.88 MHz avec un facteur de qualité de 4952. Cette valeur est relativement proche de la fréquence théorique de 7.12 MHz, recalculée à partir de l'équation (3.1) en tenant compte des dimensions mesurées du nanolevier après fabrication ( $L = 7.99 \mu\text{m}$ ,  $b = 2.63 \mu\text{m}$ ,  $h_{Si} = 327 \text{ nm}$  et  $h_{SiO_2} = 9 \text{ nm}$ ). L'écart très acceptable de 3 % est attribué à l'incertitude sur la détermination de l'épaisseur du silicium ainsi qu'à la présence d'une sous-gravure à l'encastrement, d'environ  $2 \mu\text{m}$ , ayant pour effet de modifier la longueur effective du levier [81].

Les mesures réalisées au niveau des seize nanoleviers de l'échantillon test sont relativement homogènes avec une chute systématique observée de la fréquence de résonance et du facteur de qualité suite à l'interaction biologique. Les résultats statistiques de l'ensemble de ces mesures sont rapportés dans le tableau 3.3. Le calcul de la masse ajoutée est réalisé à partir de l'équation (3.5) en considérant la masse ajoutée comme uniformément distribuée à la surface des nanoleviers et en négligeant un effet de raideur. Cette dernière hypothèse est supportée par le fait que l'épaisseur du matériel biologique déposé représente une fraction infime de l'épaisseur totale du nanolevier [82]. La valeur moyenne de masse ajoutée ramenée à la surface du levier de  $22 \text{ fg}/\mu\text{m}^2$  est significativement plus importante que celle obtenue dans des travaux préliminaires juste après dépôt des sondes IgG1 [65], à savoir  $11.2 \text{ fg}/\mu\text{m}^2$ . Cet écart est en accord avec la présence supplémentaire des cibles ayant interagi spécifiquement avec les sondes immobilisées à la surface des nanoleviers, et la présence éventuelle de l'agent passivant adsorbé au niveau de la face arrière des structures. Ce résultat tend donc à supporter la cohérence biologique entre le comportement mécanique et les étapes du protocole mis en œuvre.

**Tableau 3.3** Valeurs moyennes du décalage de fréquence de résonance, d'ajout de masse et de chute du facteur de qualité calculées à partir des mesures réalisées sur seize nanoleviers de l'échantillon test, à l'issue des étapes de fonctionnalisation (IgG1), de passivation (BSA, « *dip-and-dry* ») et d'incubation de l'anticorps spécifique (IgG2). Les valeurs entre parenthèses correspondent à l'écart type de la série de mesures.

Décalage fréquentiel $\delta f_0$ (kHz)	Masse surfacique ajoutée $\delta M$ ( $\text{fg}/\mu\text{m}^2$ )	Chute du facteur de qualité $Q$ (%)
-97.8 (15.5)	22.4 (3.4)	-66.3 (10.2)

Dans l'idéal, la mesure du décalage de fréquence de résonance d'une même structure après chaque étape du protocole permettrait de démontrer de manière rigoureuse les capacités de biodétection des nanoleviers fonctionnalisés. Malheureusement cette approche est impossible du fait de l'environnement particulier d'opération pour les mesures de résonance, à savoir un vide secondaire ( $10^{-6} \text{ mbar}$ ). En effet, les protéines sont du matériel biologique fragile dont l'activité est extrêmement sensible à leur environnement. Etant donné que les différentes étapes du protocole (fonctionnalisation, passivation et incubation) sont réalisées sur la même puce, cette démarche impliquerait donc d'exposer les nanoleviers fonctionnalisés à des conditions sévères

avant de réaliser l'étape d'incubation des molécules cibles. Il serait alors particulièrement hasardeux de supposer que les molécules sondes immobilisées n'aient pas été irréversiblement dénaturées. Pour ne pas courir ce risque, nous avons donc délibérément choisi de mesurer les fréquences de résonance en fin de protocole. C'est pourquoi nous ne sommes pas en mesure de fournir une comparaison directe des décalages de fréquence de résonance résultant de l'interaction des cibles spécifiques et non spécifiques.

### 3.7 Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre, un moyen de biofonctionnalisation post-fabrication d'un réseau grande échelle de résonateurs NEMS a été présenté. Cette méthode est une version modifiée du  $\mu$ CP classique, basée sur l'utilisation d'un timbre double-niveau. Une première preuve de concept de ce procédé a pu être établie via la fonctionnalisation d'un réseau dense ( $10^5$  structures/cm<sup>2</sup>) de nanoleviers libérés. Outre l'avantage indéniable de préserver l'intégrité mécanique des structures, cette méthode permet également de réaliser la fonctionnalisation et la passivation des capteurs en une seule étape grâce au dépôt multiplexé et auto-aligné de deux types de molécules. Des caractérisations en fluorescence ont permis de mettre en évidence la localisation du dépôt du matériel biologique, avec une qualité d'alignement relativement étendue à l'échelle d'une centaine de nanoleviers. Ces caractérisations ont également permis de démontrer la fonctionnalité de la couche bioréceptrice immobilisée via la mise en œuvre d'un essai biologique. La différence notable observée dans la sélectivité de reconnaissance des cibles spécifiques par rapport aux cibles non spécifiques atteste de la préservation de l'activité biologique des sondes. Les caractérisations gravimétriques réalisées sont également en accord avec le comportement mécanique attendu suite à un ajout de masse lié à la présence du matériel biologique.

Les conditions actuelles d'opération constituent cependant un frein à l'étude plus approfondie des performances des nanoleviers pour des applications de biodétection. La principale limitation est liée à la compatibilité de molécules biologiques fragiles avec un environnement sous vide nécessaire à l'acquisition des réponses dynamiques des structures. Outre l'inconvénient de ne pas permettre une détection en temps réel, la caractérisation du comportement mécanique après chaque étape du protocole est également proscrite. Une première alternative serait donc de réaliser l'interaction en milieu liquide avec des résonateurs présentant une géométrie plus favorable à une opération en mode dynamique au sein d'environnements dissipatifs. Le développement de nouvelles stratégies de fabrication pour la réalisation de nanomembranes est l'une des approches actuellement étudiées au sein du groupe de recherche [18]. L'utilisation d'une couche bioréceptrice physiquement plus stable et donc potentiellement compatible avec un environnement d'opération sous vide est une seconde perspective envisagée. L'intégration de polymère à empreinte moléculaire (MIP) comme couche sensible au sein de résonateurs NEMS fait l'objet du quatrième chapitre de ce manuscrit. Si l'emploi de résonateurs NEMS pour des applications de biodétection reste encore une perspective à plus ou moins long terme, la méthode de  $\mu$ CP présentée ici permet sans nul doute d'adresser la problématique liée à la biofonctionnalisation de ces systèmes et constituera, nous l'espérons, un premiers pas vers leur développement.

# Bibliographie

---

- [1] Hanay M S, Kelber S, Naik A K, Chi D, Hentz S, Bullard E C, Colinet E, Duraffourg L and Roukes M L 2012 Single-protein nanomechanical mass spectrometry in real time *Nat. Nanotechnol.* **7** 602–8
- [2] Arlett J L, Myers E B and Roukes M L 2011 Comparative advantages of mechanical biosensors *Nat. Nanotechnol.* **6** 203–15
- [3] Li M, Bhiladvala R B, Morrow T J, Siooss J A, Lew K-K, Redwing J M, Keating C D and Mayer T S 2008 Bottom-up assembly of large-area nanowire resonator arrays *Nat. Nanotechnol.* **3** 88–92
- [4] Morrow T J, Li M, Kim J, Mayer T S and Keating C D 2009 Programmed Assembly of DNA-Coated Nanowire Devices *Science* **323** 352
- [5] Bargatin I, Myers E B, Aldridge J S, Marcoux C, Brianceau P, Duraffourg L, Colinet E, Hentz S, Andreucci P and Roukes M L 2012 Large-Scale Integration of Nanoelectromechanical Systems for Gas Sensing Applications *Nano Lett.* **12** 1269–74
- [6] Fischer L M, Wright V A, Guthy C, Yang N, McDermott M T, Buriak J M and Evoy S 2008 Specific detection of proteins using nanomechanical resonators *Sens. Actuators B Chem.* **134** 613–7
- [7] Ilic B, Yang Y and Craighead H G 2004 Virus detection using nanoelectromechanical devices *Appl. Phys. Lett.* **85** 2604
- [8] Gu J, Xiao X, Takulapalli B R, Morrison M E, Zhang P and Zenhausern F 2008 A new approach to fabricating high density nanoarrays by nanocontact printing *J. Vac. Sci. Technol. B* **26** 1860–5
- [9] Decre M M J, Schneider R, Burdinski D, Schellekens J, Saalmink M and Dona R 2004 Wave Printing(I): Towards Large-Area, Multilayer Microcontact Printing. *Nontradit. Approaches Patterning* **2** 59–64
- [10] Bernard A, Delamarche E, Schmid H, Michel B, Bosshard H R and Biebuyck H 1998 Printing Patterns of Proteins *Langmuir* **14** 2225–9
- [11] Lipomi D J, Martinez R V, Cademartiri L and Whitesides G M 2012 7.11 - Soft Lithographic Approaches to Nanofabrication *Polymer Science: A Comprehensive Reference* ed K M Möller (Amsterdam: Elsevier) pp 211–31

- [12] Xia Y and Whitesides G M 1998 Soft Lithography *Angew. Chem. Int. Ed.* **37** 550–75
- [13] Briseno A L, Mannsfeld S C B, Ling M M, Liu S, Tseng R J, Reese C, Roberts M E, Yang Y, Wudl F and Bao Z 2006 Patterning organic single-crystal transistor arrays *Nature* **444** 913–7
- [14] Loo Y-L, Lang D V, Rogers J A and Hsu J W P 2003 Electrical Contacts to Molecular Layers by Nanotransfer Printing *Nano Lett.* **3** 913–7
- [15] Lee T-W, Zaumseil J, Bao Z, Hsu J W P and Rogers J A 2004 Organic light-emitting diodes formed by soft contact lamination *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** 429–33
- [16] Cherng Y-S and Su G-D J 2014 Fabrication of polydimethylsiloxane microlens array on spherical surface using multi-replication process *J. Micromechanics Microengineering* **24** 015016
- [17] Keum H, Carlson A, Ning H, Mihi A, Eisenhaure J D, Braun P V, Rogers J A and Kim S 2012 Silicon micro-masonry using elastomeric stamps for three-dimensional microfabrication *J. Micromechanics Microengineering* **22** 055018
- [18] Bhaswara A, Keum H, Rhee S, Legrand B, Mathieu F, Kim S, Nicu L and Leichle T 2014 Fabrication of nanoplate resonating structures via micro-masonry *J. Micromechanics Microengineering* **24** 115012
- [19] Lehnert D, Wehrle-Haller B, David C, Weiland U, Ballestrem C, Imhof B A and Bastmeyer M 2004 Cell behaviour on micropatterned substrata: limits of extracellular matrix geometry for spreading and adhesion *J. Cell Sci.* **117** 41–52
- [20] Bernard A, Renault J P, Michel B, Bosshard H R and Delamarche E 2000 Microcontact Printing of Proteins *Adv. Mater.* **12** 1067–70
- [21] Tegenfeldt J O, Prinz C, Cao H, Chou S, Reisner W W, Riehn R, Wang Y M, Cox E C, Sturm J C, Silberzan P and Austin R H 2004 The dynamics of genomic-length DNA molecules in 100-nm channels *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **101** 10979–83
- [22] Kim S, Wu J, Carlson A, Jin S H, Kovalsky A, Glass P, Liu Z, Ahmed N, Elgan S L, Chen W, Ferreira P M, Sitti M, Huang Y and Rogers J A 2010 Microstructured elastomeric surfaces with reversible adhesion and examples of their use in deterministic assembly by transfer printing *Proc. Natl. Acad. Sci.* **107** 17095–100
- [23] Welsh A J, Wilke R H T, Hickner M A and Troler-McKinstry S 2013 Low-Cost, Damage-Free Patterning of Lead Zirconate Titanate Films *J. Am. Ceram. Soc.* **96** 2799–805
- [24] Gates B D, Xu Q, Love J C, Wolfe D B and Whitesides G M 2004 Unconventional Nanofabrication *Annu. Rev. Mater. Res.* **34** 339–72
- [25] Kumar A and Whitesides G M 1993 Features of gold having micrometer to centimeter dimensions can be formed through a combination of stamping with an elastomeric stamp and an alkanethiol "ink" followed by chemical etching *Appl. Phys. Lett.* **63** 2002–4
- [26] Xia Y, Zhao X-M, Kim E and Whitesides G M 1995 A Selective Etching Solution for Use with Patterned Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates on Gold *Chem. Mater.* **7** 2332–7

- [27] Wendeln C and Ravoo B J 2012 Surface Patterning by Microcontact Chemistry *Langmuir* **28** 5527–38
- [28] Li X-M, Péter M, Huskens J and Reinhoudt D N 2003 Catalytic Microcontact Printing without Ink *Nano Lett.* **3** 1449–53
- [29] Heller M J 2002 DNA Microarray Technology: Devices, Systems, and Applications *Annu. Rev. Biomed. Eng.* **4** 129–53
- [30] Lange S A, Benes V, Kern D P, Hörber J K H and Bernard A 2004 Microcontact Printing of DNA Molecules *Anal. Chem.* **76** 1641–7
- [31] Rozkiewicz D I, Brugman W, Kerkhoven R M, Ravoo B J and Reinhoudt D N 2007 Dendrimer-Mediated Transfer Printing of DNA and RNA Microarrays *J. Am. Chem. Soc.* **129** 11593–9
- [32] MacBeath G and Schreiber S L 2000 Printing Proteins as Microarrays for High-Throughput Function Determination *Science* **289** 1760–3
- [33] Biasco A, Pisignano D, Krebs B, Pompa P P, Persano L, Cingolani R and Rinaldi R 2005 Conformation of Microcontact-Printed Proteins by Atomic Force Microscopy Molecular Sizing *Langmuir* **21** 5154–8
- [34] Renault J P, Bernard A, Juncker D, Michel B, Bosshard H R and Delamarche E 2002 Fabricating Microarrays of Functional Proteins Using Affinity Contact Printing *Angew. Chem.* **114** 2426–9
- [35] Bernard A, Fitzli D, Sonderegger P, Delamarche E, Michel B, Bosshard H R and Biebuyck H 2001 Affinity capture of proteins from solution and their dissociation by contact printing *Nat. Biotechnol.* **19** 866–9
- [36] Singhvi R, Kumar A, Lopez G P, Stephanopoulos G N, Wang D I, Whitesides G M and Ingber D E 1994 Engineering cell shape and function *Science* **264** 696–8
- [37] Chen C S, Mrksich M, Huang S, Whitesides G M and Ingber D E 1997 Geometric control of cell life and death *Science* **276** 1425–8
- [38] Larsen N B, Biebuyck H, Delamarche E and Michel B 1997 Order in Microcontact Printed Self-Assembled Monolayers *J. Am. Chem. Soc.* **119** 3017–26
- [39] B. Michel A B 2001 Printing meets lithography: Soft approaches to high-resolution patterning *IBM J. Res. Dev.* **45** 697–719
- [40] Bietsch A and Michel B 2000 Conformal contact and pattern stability of stamps used for soft lithography *J. Appl. Phys.* **88** 4310–8
- [41] Tan J L, Tien J and Chen C S 2002 Microcontact Printing of Proteins on Mixed Self-Assembled Monolayers *Langmuir* **18** 519–23
- [42] Thibault C, Séverac C, Mingotaud A-F, Vieu C and Mauzac M 2007 Poly(dimethylsiloxane) Contamination in Microcontact Printing and Its Influence on Patterning Oligonucleotides *Langmuir* **23** 10706–14



- [43] Drummond C J and Chan D Y C 1997 van der Waals Interaction, Surface Free Energies, and Contact Angles: Dispersive Polymers and Liquids *Langmuir* **13** 3890–5
- [44] Kaufmann T and Ravoo B J 2010 Stamps, inks and substrates: polymers in microcontact printing *Polym. Chem.* **1** 371–87
- [45] Tan S H, Nguyen N-T, Chua Y C and Kang T G 2010 Oxygen plasma treatment for reducing hydrophobicity of a sealed polydimethylsiloxane microchannel *Biomicrofluidics* **4**
- [46] Donzel C, Geissler M, Bernard A, Wolf H, Michel B, Hilborn J and Delamarche E 2001 Hydrophilic Poly(dimethylsiloxane) Stamps for Microcontact Printing *Adv. Mater.* **13** 1164–7
- [47] McDonald J C and Whitesides G M 2002 Poly(dimethylsiloxane) as a Material for Fabricating Microfluidic Devices *Acc. Chem. Res.* **35** 491–9
- [48] Piruska A, Nikcevic I, Lee S H, Ahn C, Heineman W R, Limbach P A and Seliskar C J 2005 The autofluorescence of plastic materials and chips measured under laser irradiation *Lab. Chip* **5** 1348–54
- [49] Sylgard® 184 silicone elastomer kit, Dow Corning Corp., Midland, MI, USA, juin 2015, [www.dowcorning.com](http://www.dowcorning.com)
- [50] Johnston I D, McCluskey D K, Tan C K L and Tracey M C 2014 Mechanical characterization of bulk Sylgard 184 for microfluidics and microengineering *J. Micromechanics Microengineering* **24** 035017
- [51] Mirkin C A and Rogers J A 2001 Emerging Methods for Micro- and Nanofabrication *MRS Bull.* **26** 506–9
- [52] Lee J N, Park C and Whitesides G M 2003 Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices *Anal. Chem.* **75** 6544–54
- [53] Hassler C, Boretius T and Stieglitz T 2011 Polymers for neural implants *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.* **49** 18–33
- [54] Halldorsson S, Lucumi E, Gómez-Sjöberg R and Fleming R M T 2015 Advantages and challenges of microfluidic cell culture in polydimethylsiloxane devices *Biosens. Bioelectron.* **63** 218–31
- [55] Delamarche E, Schmid H, Bietsch A, Larsen N B, Rothuizen H, Michel B and Biebuyck H 1998 Transport Mechanisms of Alkanethiols during Microcontact Printing on Gold *J. Phys. Chem. B* **102** 3324–34
- [56] Schmid H and Michel B 2000 Siloxane Polymers for High-Resolution, High-Accuracy Soft Lithography *Macromolecules* **33** 3042–9
- [57] Delamarche E, Schmid H, Michel B and Biebuyck H 1997 Stability of molded polydimethylsiloxane microstructures *Adv. Mater.* **9** 741–6
- [58] Qin D, Xia Y and Whitesides G M 2010 Soft lithography for micro- and nanoscale patterning *Nat. Protoc.* **5** 491–502

- [59] Graham D J, Price D D and Ratner B D 2002 Solution Assembled and Microcontact Printed Monolayers of Dodecanethiol on Gold: A Multivariate Exploration of Chemistry and Contamination *Langmuir* **18** 1518–27
- [60] Eichinger C D, Hsiao T W and Hlady V 2012 Multiprotein Microcontact Printing with Micrometer Resolution *Langmuir* **28** 2238–43
- [61] Inerowicz H D, Howell S, Regnier F E and Reifenger R 2002 Multiprotein Immunoassay Arrays Fabricated by Microcontact Printing *Langmuir* **18** 5263–8
- [62] Delamarche E, Bernard A, Schmid H, Michel B and Biebuyck H 1997 Patterned Delivery of Immunoglobulins to Surfaces Using Microfluidic Networks *Science* **276** 779–81
- [63] Chalmeau J, Thibault C, Carcenac F and Vieu C 2008 Self-aligned patterns of multiple biomolecules printed in one step *Appl. Phys. Lett.* **93** 133901
- [64] Lalo H, Cau J-C, Thibault C, Marsaud N, Severac C and Vieu C 2009 Microscale multiple biomolecules printing in one step using a PDMS macrostamp *Microelectron. Eng.* **86** 1428–30
- [65] Guillon S, Salomon S, Seichepine F, Dezest D, Mathieu F, Bouchier A, Mazenq L, Thibault C, Vieu C, Leiché T and Nicu L 2012 Biological functionalization of massively parallel arrays of nanocantilevers using microcontact printing *Sens. Actuators B Chem.* **161** 1135–8
- [66] Arndt G, Defay E, Rhun G L, Rey P, Perruchot F, Aid M, Liu L and Miller M 2010 Dynamic analytical modelling and piezoelectric characterization of a Pb(Zr, Ti)O<sub>3</sub>/SiN cantilever with losses *J. Micromechanics Microengineering* **20** 115019
- [67] Chen G Y, Thundat T, Wachter E A and Warmack R J 1995 Adsorption-induced surface stress and its effects on resonance frequency of microcantilevers *J. Appl. Phys.* **77** 3618
- [68] Varshney M, Waggoner P S, Tan C P, Aubin K, Montagna R A and Craighead H G 2008 Prion Protein Detection Using Nanomechanical Resonator Arrays and Secondary Mass Labeling *Anal. Chem.* **80** 2141–8
- [69] Hauer B D, Doolin C, Beach K S D and Davis J P 2013 A general procedure for thermomechanical calibration of nano/micro-mechanical resonators *Ann. Phys.* **339** 181–207
- [70] Waggoner P S and Craighead H G 2007 Micro- and nanomechanical sensors for environmental, chemical, and biological detection *Lab. Chip* **7** 1238–55
- [71] Ekinici K L, Yang Y T and Roukes M L 2004 Ultimate limits to inertial mass sensing based upon nanoelectromechanical systems *J. Appl. Phys.* **95** 2682
- [72] Fanget S, Hentz S, Puget P, Arcamone J, Matheron M, Colinet E, Andreucci P, Duraffourg L, Myers E and Roukes M L 2011 Gas sensors based on gravimetric detection—A review *Sens. Actuators B Chem.* **160** 804–21
- [73] Young W C, Roark R J and Budynas R G 2002 *Roark's formulas for stress and strain* (McGraw-Hill)
- [74] Hopcroft M A, Nix W D and Kenny T W 2010 What is the Young's Modulus of Silicon? *J. Microelectromechanical Syst.* **19** 229–38

- [75] Ayela C, Nicu L, Soyer C, Cattan E and Bergaud C 2006 Determination of the d31 piezoelectric coefficient of  $\text{PbZr}_x\text{Ti}_{1-x}\text{O}_3$  thin films using multilayer buckled micromembranes *J. Appl. Phys.* **100** 054908–054908 – 9
- [76] Wiggenius J A, Fransson S, Post F von and Inganäs O 2008 Protein biochips patterned by microcontact printing or by adsorption-soft lithography in two modes *Biointerphases* **3** 75–82
- [77] Tan Y H, Liu M, Nolting B, Go J G, Gervay-Hague J and Liu G 2008 A Nanoengineering Approach for Investigation and Regulation of Protein Immobilization *ACS Nano* **2** 2374–84
- [78] Buijs J, Lichtenbelt J W T, Norde W and Lyklema J 1995 Adsorption of monoclonal IgGs and their F(ab')<sub>2</sub> fragments onto polymeric surfaces *Colloids Surf. B Biointerfaces* **5** 11–23
- [79] MarkT Swihart 2007 Silicon Nanoparticles for Biophotonics *Nanotechnology in Biology and Medicine* (CRC Press)
- [80] Lisensky G C, Campbell D J, Beckman K J, Calderon C E, Doolan P W, Rebecca M. Ottosen and Ellis A B 1999 Replication and Compression of Surface Structures with Polydimethylsiloxane Elastomer *J. Chem. Educ.* **76** 537
- [81] Guillon S, Saya D, Mazenq L, Perisanu S, Vincent P, Lazarus A, Thomas O and Nicu L 2011 Effect of non-ideal clamping shape on the resonance frequencies of silicon nanocantilevers *Nanotechnology* **22** 245501
- [82] Tamayo J, Ramos D, Mertens J and Calleja M 2006 Effect of the adsorbate stiffness on the resonance response of microcantilever sensors *Appl. Phys. Lett.* **89** 224104

# 4

## Intégration d'un MIP sur des résonateurs NEMS : résultats préliminaires

---

### 4.1 Introduction

Les biomolécules et en particulier les anticorps sont les récepteurs d'affinité naturels les plus couramment employés par les plateformes de biodétection en raison de leur grande spécificité de reconnaissance [1]. En revanche, le recours à des molécules biologiques comporte plusieurs désavantages inhérents à ce type de matériel dont notamment un coût élevé, une disponibilité limitée ainsi qu'une forte instabilité en dehors de leur environnement naturel. La tendance à la miniaturisation des dispositifs de détection pose également le problème d'intégration de la couche sensible. Si les technologies de micro et nanofabrication traditionnelles permettent sans nul doute d'assurer l'assemblage rapide des différentes fonctionnalités d'un système, elles sont cependant incompatibles avec la structuration du biorécepteur dont l'intégration est typiquement réalisée post-fabrication et selon d'autres méthodes. Outre l'avantage essentiel de simplifier les procédés de fabrication, une approche de fonctionnalisation « process-compatible » permettrait d'étendre l'utilisation et le champ d'applications des systèmes de biodétection.

Le remplacement des biomolécules par des récepteurs synthétiques plus robustes et capables d'assurer la reconnaissance moléculaire d'une cible est l'un des principaux enjeux de l'impression moléculaire [2] [3]. Cette technique de synthèse permet de générer au sein d'un polymère artificiel des cavités, dont la conformation spatiale et chimique est complémentaire d'une molécule imprimée. Ces sites constituent l'empreinte de la molécule avec laquelle ils sont capables d'interagir selon une spécificité et une affinité comparables à celles de récepteurs biologiques. Bénéficiant également d'une grande stabilité physico-chimique intrinsèque, ces polymères à empreintes moléculaires (MIPs pour *Molecularly Imprinted Polymers*) sont considérés comme une alternative prometteuse à l'utilisation de matériel biologique comme couche sensible au sein de plateformes de biodétection [4]. Pour constituer une solution viable, la structuration d'un MIP de format approprié à la surface d'un transducteur et compatible avec une intégration grande échelle et multiplexée reste encore un défi à adresser.

Dans ces travaux, la faisabilité d'intégration d'une couche sensible de MIP au sein d'un procédé de fabrication de résonateurs NEMS est étudiée. Une approche d'intégration par photolithographie est mise en œuvre, avec pour avantage une capacité de structuration parallèle et multiplexée inhérente à cette méthode, et potentiellement adaptée à la fonctionnalisation de réseaux de structures. L'un des objectifs de cette démarche vise à tirer profit de la stabilité physico-chimique de ces polymères afin de proposer une alternative de fonctionnalisation

« process-compatible », où l'intégration du dépôt de la couche sensible au sein du procédé de fabrication, et notamment avant la libération des résonateurs, permettrait de limiter les risques associés à la fonctionnalisation de structures mécaniques libérées et fragiles. Un autre objectif consiste également à tirer parti de la robustesse de ces matériaux synthétiques afin de disposer d'une couche sensible potentiellement plus adaptée que du matériel biologique à des conditions sévères telles qu'un environnement sous vide, nécessaire à l'opération dynamique de nanorésonateurs. Une première partie de ce chapitre est consacrée à la validation de la formulation du MIP afin de s'assurer de sa viabilité avant son intégration à la surface de résonateurs. Des résultats préliminaires de fonctionnalisation multiplexée de réseaux de nanoleviers sont ensuite présentés, où l'intégrité mécanique des structures fonctionnalisées ainsi que les capacités de détection du système envers une cible modèle seront évaluées.

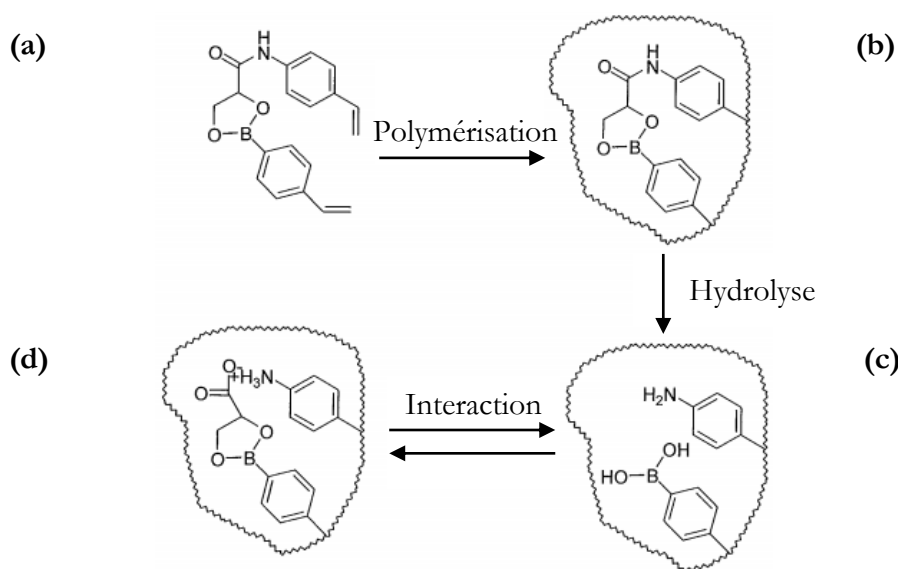
## 4.2 Les polymères à empreintes moléculaires (MIPs)

### 4.2.1 Introduction et historique

La reconnaissance moléculaire est un mécanisme biologique fondamental omniprésent dans la nature. Il est en effet impliqué dans une grande variété de processus biologiques, dont notamment l'interaction anticorps/antigène dans le système immunitaire, la catalyse enzymatique, l'interaction entre acides nucléiques permettant la synthèse des protéines (réplication, transcription, translation), ... Le principe de reconnaissance moléculaire repose sur la formation d'un complexe entre un récepteur et un analyte, par le biais d'interactions intermoléculaires au niveau de groupements fonctionnels complémentaires. L'analogie « clé-serrure », proposée par Emil Fischer il y a plus d'un siècle pour décrire l'action spécifique d'une enzyme, traduit bien le concept de correspondance spatiale et chimique intervenant dans le mécanisme d'interaction. Les principaux biorécepteurs naturels capables de reconnaissance spécifique sont les anticorps, les enzymes, les acides nucléiques et les cellules. Les anticorps peuvent notamment interagir avec leur cible avec une affinité extraordinairement forte, compte tenu de la complexité de l'environnement biologique, avec des constantes de dissociation  $K_D$  dans la gamme  $10^{-8} - 10^{-10}$  M [5]. C'est pourquoi ces récepteurs biologiques naturels constituent le choix par excellence pour de nombreux tests de diagnostic en laboratoire, comme le test ELISA (*Enzyme-Linked Immunosorbant Assay*) [6], ainsi que pour des applications de biodétection [1]. L'utilisation de biorécepteurs naturels comporte cependant certains inconvénients : un manque de robustesse lié à une faible stabilité physico-chimique, des conditions particulières de réfrigération pour éviter la dégradation à long terme ou la dénaturation, des méthodes de production relativement complexes conduisant à un coût élevé du matériel biologique dont la disponibilité pour une cible en particulier n'est pas toujours garantie, ... [1] [4]. Des efforts considérables ont été mis en œuvre afin de développer des méthodes de synthèse de récepteurs artificiels capables de reconnaissance spécifique. L'impression moléculaire en particulier fait partie des techniques les plus étudiées.

Le premier effet d'impression, à savoir l'empreinte laissée par une molécule au sein d'un matériau synthétique, a été observé par le chimiste russe Polyakov en 1931 dans ses travaux portant sur l'étude de matrices de silice poreuse pour des applications de chromatographie [7].

Après plusieurs dizaines d'années de recherches intensives, l'impression moléculaire au sein de matériaux organiques apparaît en 1972 avec les travaux de Wulff et Sarhan sur la synthèse d'enzymes artificielles [8]. En polymérisant une molécule « template » d'acide D-glycérique, préalablement fonctionnalisée avec des groupements polymérisables, en présence d'un agent réticulant et d'un solvant organique, ils obtiennent un polymère macroporeux. L'extraction de l'acide D-glycérique par clivage chimique conduit à l'apparition de cavités au sein du polymère, caractérisées par un arrangement asymétrique de groupements fonctionnels complémentaires de la molécule extraite. Ils démontrent alors que non seulement le polymère est capable de reconnaître l'acide D-glycérique, mais qu'il est aussi capable de le différencier d'un énantiomère, l'acide L-glycérique, témoignant ainsi de la sélectivité forte des sites de reconnaissance. Ils observent également une perte d'affinité en cas de gonflement du polymère, soulignant le rôle joué par la forme des sites d'interactions dans le processus de reconnaissance moléculaire.



**Figure 4.1** Approche d'impression covalente au sein de polymères organiques introduite par Wulff, mise en œuvre dans le cas de l'impression de l'acide D-glycérique. (a) Les groupements fonctionnels sont liés de manière covalente au template afin de former un composé polymérisable par le biais de deux groupements vinyliques. (b) Le composé est ensuite co-polymérisé en présence d'un agent réticulant et d'un solvant. (c) Le clivage chimique (hydrolyse) du template permet de révéler des cavités complémentaires en forme et en fonctionnalité de la molécule imprimée, capables (d) d'interagir sélectivement avec la molécule cible via la formation de liaisons covalentes (reproduit d'après [9]).

Dans les années 1980, le domaine de l'impression moléculaire fait l'objet d'une petite révolution grâce à une nouvelle stratégie d'impression proposée par l'équipe du professeur Mosbach [10]. Cette méthode, baptisée alors polymérisation « hôte-invité », repose sur la copolymérisation de monomères, dont les groupements fonctionnels sont susceptibles d'interagir avec le template via des interactions non covalentes conduisant à la formation de complexes, en

présence d'un agent réticulant et d'un solvant. La polymérisation permet de figer au sein du polymère des sites d'interaction tridimensionnels complémentaires de la molécule imprimée. Après extraction du template avec des solvants, ces sites assurent la reconnaissance spécifique du template contrairement à un polymère identique mais non imprimé (NIP pour *Non-Imprinted Polymer*). L'énantiospécificité de ce type de polymère est également démontrée quelques années plus tard par incubation d'un mélange racémique et la discrimination des énantiomères L et D d'un ester de phénylalanine.

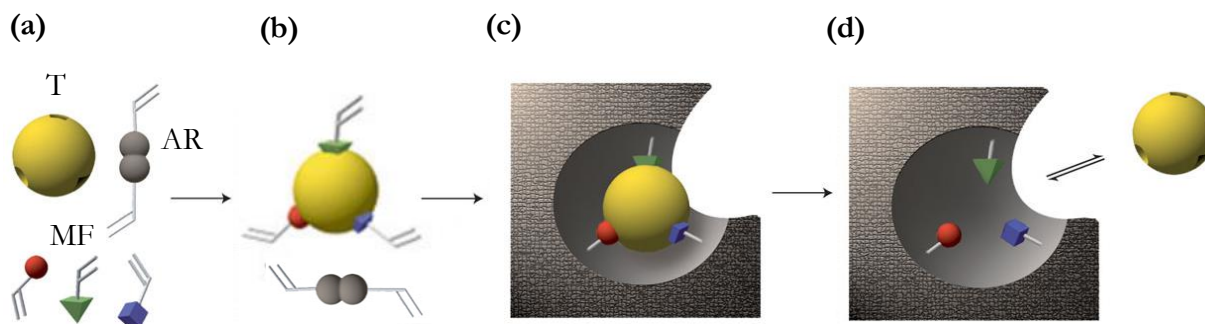
Les MIPs ont longtemps été étudiés en chimie analytique pour leur potentiel d'utilisation dans des applications de séparation. Jusqu'à récemment, ce type d'application était d'ailleurs le seul exemple de commercialisation de ces matériaux synthétiques. Depuis plus d'une dizaine d'années, les entreprises suédoise Biotage et française PolyIntell emploient en effet des MIPs comme matériaux de séparation pour de l'extraction en phase solide, essentiellement pour de la préparation d'échantillons avant leur analyse en laboratoire. Plus récemment, les MIPs se sont illustrés dans le domaine de la défense avec la mise sur le marché du *Falcon First Responder Kit* par l'entreprise américaine Wheatley SPI LLC. Ce kit bas coût et ultraportable permet la détection rapide de différents résidus d'explosifs grâce à une réaction chimique impliquant un changement de couleur détectable à l'œil nu. Grâce à leurs attributs avantageux, les MIPs font l'objet d'intenses recherches afin de développer des méthodes de synthèse et d'intégration permettant d'élargir leur utilisation au sein de diverses applications telles que la catalyse enzymatique, l'analyse immunologique, le criblage pharmaceutique, l'administration de médicaments, ou encore la biodétection.

### 4.2.2 L'impression moléculaire

#### 4.2.2.1 Principe général

Les MIPs sont des récepteurs artificiels dont le principe de fonctionnement repose sur l'impression moléculaire. En bref, ce mécanisme est basé sur la co-polymérisation de monomères fonctionnels et d'un agent réticulant en présence de la molécule cible (ou d'un analogue) qui joue le rôle de « template ». La formation de complexes entre le template et les monomères fonctionnels définit des sites d'interaction chimiques qui se retrouvent figés au sein du matériau à l'issue de la polymérisation par un fort degré de réticulation. L'extraction du template révèle alors des cavités tridimensionnelles complémentaires en taille, en forme et en fonctionnalité chimique de la molécule imprimée. Ces cavités constituent les empreintes du template, et confèrent au MIP une « mémoire » moléculaire et la faculté d'interagir spécifiquement avec la cible. Cette capacité à reproduire la fonctionnalité de reconnaissance moléculaire, à la base de nombreux processus biologiques, fait des MIPs des matériaux synthétiques biomimétiques, souvent qualifiés d'anticorps « artificiels » ou « imitateurs » d'anticorps [11].

L'étape clé du processus d'impression est la formation du complexe template/monomères fonctionnels. Il existe principalement deux stratégies selon la nature des interactions mises en jeu : (i) une approche non covalente et (ii) une approche covalente.



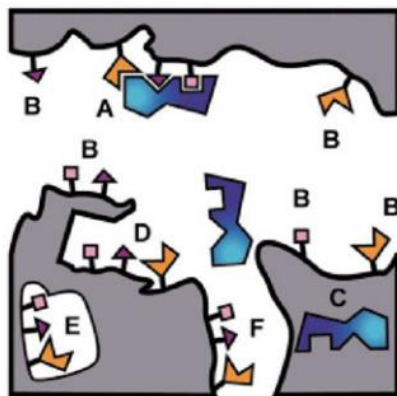
**Figure 4.2** Principe de l'impression moléculaire (approche non covalente). (a) Des monomères fonctionnels (MF) et un agent réticulant (AR) sont mis en présence de la molécule cible ou d'un analogue appelé template (T). (b) Les monomères fonctionnels s'auto-assemblent pour former un complexe avec le template par le biais d'interactions non covalentes. (c) La polymérisation fige la conformation spatiale et les sites d'interaction du complexe au sein d'un réseau polymérique fortement réticulé. (d) L'extraction du template permet de révéler des cavités complémentaires, qui constituent l'empreinte du template et qui sont capables d'assurer la reconnaissance moléculaire de la cible (adapté d'après [12]).

#### 4.2.2.2 Stratégie d'impression non covalente

L'approche « biochimiste » non covalente a été développée par Mosbach [10], en partant du constat que la plupart des mécanismes biologiques de reconnaissance reposent sur des interactions faibles non covalentes. Dans cette approche, la formation du complexe est obtenue par auto-assemblage des monomères fonctionnels autour du template via des interactions faibles de type électrostatiques, hydrogènes, Van der Waals ou hydrophobes. L'assemblage des monomères fonctionnels avec le template est gouverné par un équilibre d'association/dissociation, qui nécessite généralement d'introduire les monomères en excès (typiquement quatre fois la proportion du template voire davantage) afin de « forcer » le déplacement de l'équilibre vers la formation du complexe, selon le principe de Le Chatelier. Après polymérisation et extraction du template à l'aide de solvants, la reconnaissance de la cible s'opère via les mêmes interactions faibles au niveau des sites d'interaction.

Dans cette approche, l'absence de proportions stœchiométriques entre les monomères fonctionnels et le template conduit à une population hétérogène de sites de reconnaissance au sein du MIP polymérisé, avec différentes constantes d'affinité. L'excès de monomères fonctionnels se traduit notamment par la présence aléatoire de sites non imprimés caractérisés par une complémentarité partielle du template et responsables d'interactions non spécifiques (cf. figure 4.3). L'efficacité d'impression, définie comme le rapport entre le nombre de sites formés par rapport au nombre de molécules template, est généralement faible pour cette méthode du fait de la faiblesse des liaisons mises en jeu. La relaxation mécanique du polymère conduit généralement à la destruction d'un grand pourcentage de sites avant qu'ils ne soient figés par la polymérisation. Cette stratégie d'impression reste néanmoins la plus employée du fait de sa simplicité de mise en œuvre et d'une grande flexibilité dans le choix des monomères fonctionnels et donc de la gamme de molécules imprimables [13].





**Figure 4.3** Représentation schématique de la distribution hétérogène des sites de reconnaissance au sein d'un MIP synthétisé selon une approche d'impression non covalente : (A) sites de forte affinité au niveau de macropores et (F) de micropores, (B) sites de faible affinité au niveau de macropores, (C) template piégé dans la matrice polymérique, (E) sites inaccessibles et (D) sites de plus grande affinité avec complémentarité de la forme du template (reproduit d'après [14]).

#### 4.2.2.3 Stratégie d'impression covalente

L'approche « chimiste » covalente a quant à elle été développée par Wulff [8] et Shea [15]. Cette méthode, dont le principe est schématisé sur la figure 4.1, est basée sur la formation préalable de complexes de pré-polymérisation obtenus par greffage du template à une molécule polymérisable. Les interactions mises en jeu sont des liaisons covalentes réversibles. Après copolymérisation en présence d'un agent réticulant, le template est extrait par clivage chimique laissant des groupements fonctionnels au niveau des cavités permettant la reconnaissance de la molécule cible via les mêmes interactions covalentes.

Cette méthode présente plusieurs avantages. Les liaisons fortes mises en jeu assurent une plus grande stabilité du complexe et donc une meilleure efficacité d'impression que dans le cas de l'approche non covalente. La localisation des monomères fonctionnels autour du template dans des conditions stœchiométriques permet d'obtenir une population de sites de reconnaissance plus homogène, et limite le nombre de sites de faible affinité responsables d'interactions non spécifiques. Cette méthode est cependant moins directe à mettre en œuvre que l'approche non covalente puisqu'elle nécessite la synthèse délicate d'un complexe de pré-polymérisation. La gamme de molécules imprimables est également plus restreinte puisque toutes les molécules ne peuvent pas facilement être modifiées afin de porter des groupements polymérisables. De plus, les cinétiques d'interaction sont généralement plus faibles du fait de la nécessité d'établir des liaisons covalentes. Pour contourner cette limitation, Whitecombe *et al* [16] ont proposé une stratégie d'impression alternative semi-covalente, où l'impression du template est réalisée de manière covalente tandis que la reconnaissance de la cible résulte d'interactions faibles non covalentes. Dans leurs travaux, ils ont démontré la faisabilité de cette approche hybride, qui combine les avantages des approches covalente et non covalente, avec la synthèse d'un MIP dédié à la détection du cholestérol.

La stratégie d'impression non-covalente étant la plus répandue, la suite de cette discussion se limitera donc à cette approche en particulier.

### 4.2.3 Rôle des différents constituants

La synthèse d'un MIP est obtenue à partir d'une formulation constituée de plusieurs réactifs : un template, un ou plusieurs monomères fonctionnels, un agent réticulant, un amorceur de polymérisation et un solvant. L'un des enjeux majeurs dans la synthèse d'un MIP réside dans le choix de la bonne combinaison de ces différents constituants afin d'obtenir les meilleures performances de reconnaissance possibles.

#### 4.2.3.1 Les monomères fonctionnels

L'impression moléculaire non covalente repose sur la formation d'un complexe par auto-assemblage du template et des monomères fonctionnels via des interactions faibles de type électrostatiques, hydrogènes, Van der Waals ou hydrophobes. Les monomères fonctionnels doivent donc être sélectionnés judicieusement selon leur complémentarité avec les groupements chimiques du template, afin de créer des cavités de reconnaissance hautement spécifiques. Par exemple, un monomère fonctionnel comportant un groupement basique, comme le 4-vinylpyridine (4-VP), peut interagir avec un template comportant un groupement acide via des interactions électrostatiques résultant d'un échange de proton et *vice-versa*. L'un des monomères fonctionnels les plus répandus est l'acide méthacrylique (MAA) dont le groupement acide carboxylique permet de réaliser des liaisons hydrogène ainsi que des interactions électrostatiques une fois déprotoné. Dans certains cas, plusieurs monomères fonctionnels peuvent être combinés afin d'augmenter la sélectivité. Par exemple, la combinaison MAA/2-VP est utilisée pour interagir avec des dérivés du L-phénylalanine [17]. Les monomères fonctionnels peuvent également jouer un rôle dans la structure globale du polymère en modifiant ses propriétés. Les MIPs sont généralement des matériaux hydrophobes mais dont la compatibilité avec un environnement aqueux peut être améliorée par addition de monomères hydrophiles comme le 2-hydroxyethylmethacrylate (HEMA) [18].

#### 4.2.3.2 L'agent réticulant

La nature et la proportion de l'agent réticulant jouent également un rôle important dans l'impression moléculaire. Il permet de stabiliser les complexes template/monomères fonctionnels au cours de la polymérisation, et d'assurer au polymère la stabilité mécanique nécessaire au maintien de la mémoire moléculaire après extraction, grâce à un fort degré de réticulation. Si une certaine rigidité est donc requise pour maintenir la conformation tridimensionnelle des empreintes, un degré de réticulation trop important peut néanmoins nuire à l'accessibilité des sites de reconnaissance et rallonger les cinétiques d'interaction pour des raisons de transport de masse. Typiquement, la proportion de l'agent réticulant représente entre 70 et 90 % du volume total des monomères. Les agents réticulant les plus couramment utilisés sont le divinylbenzène (DVB) et l'éthylène glycol diméthacrylate (EDMA) qui contiennent deux groupements polymérisables. Ils peuvent également permettre d'améliorer la compatibilité du MIP avec

certains environnements. Le pentaerythritol triacrylate (PETIA), qui est un monomère hydrophile, est souvent utilisé pour favoriser l'utilisation d'un MIP au sein d'un milieu aqueux [19].

### 4.2.3.3 L'amorceur

L'amorceur, ou initiateur, constitue la source de radicaux nécessaires pour initier la réaction de polymérisation. Il est généralement présent en faible quantité dans le mélange de pré-polymérisation, avec une proportion de l'ordre de 1 % du nombre de moles total de double liaisons polymérisables [20]. Selon sa nature chimique, la décomposition de l'initiateur en radicaux peut être déclenchée et contrôlée par énergie thermique, par rayonnement UV ou par réactions électrochimiques. L'azobisisobutyronitrile (AIBN) fait partie des amorceurs les plus utilisés [21].

### 4.2.3.4 Le solvant

Le rôle du solvant est de solubiliser l'ensemble des réactifs de la solution de pré-polymérisation, ainsi que de générer de la porosité au sein du polymère, indispensable à l'élution du template et à l'accessibilité des sites de reconnaissance. Pour cette raison, le solvant est généralement qualifié de « porogène ». La porosité résulte d'une séparation de phases au cours de la polymérisation. La réticulation des chaînes conduit à la formation d'une structure polymérique amorphe insoluble dans la phase liquide et à la génération de pores occupés par le volume du solvant. Le choix du porogène doit également prendre en compte la nature des interactions mises en jeu dans le mécanisme d'impression, notamment afin de ne pas interférer avec la formation du complexe. La reconnaissance entre le template et les monomères fonctionnels repose principalement sur des interactions faibles de type électrostatique et hydrogène. Par conséquent, la plupart des synthèses sont réalisées dans des solvants aprotiques et apolaires comme le chloroforme, le dichlorométhane ou le toluène [22]. Cependant, des solvants modérément polaires comme l'acétonitrile (ACN), le diméthylsulfoxyde (DMSO) ou le diméthylformamide (DMF) sont couramment employés pour favoriser la solubilité des réactifs. Bien que les interactions électrostatiques soient plus faibles dans ces solvants, ils s'avèrent néanmoins adaptés lorsque les interactions hydrogènes sont prédominantes. En règle générale, les solvants protiques polaires, comme l'eau ou les alcools, sont exclus en raison de la forte compétition de ces molécules avec le template au niveau des interactions avec les monomères fonctionnels. Il existe toutefois des exceptions. Haupt *et al* [23] ont ainsi rapporté la détection d'un herbicide, l'acide 2,4-dichlorophenoxyacétique (2,4-D), à l'aide d'un MIP synthétisé dans un mélange méthanol/eau. Le choix du solvant peut également être dicté par l'application. Pour des films de MIPs préparés par *spin-coating*, un solvant faiblement volatil est nécessaire afin de limiter le phénomène d'évaporation lors du dépôt, conduisant à l'absence de porosité au sein du polymère final [24]. Enfin, l'incubation de la cible est généralement réalisée dans le même solvant que celui utilisé lors de l'impression afin d'optimiser les performances d'interaction [21]. Des conditions de solvation similaires à celles de la synthèse permettraient de conserver la géométrie et l'accessibilité des sites de reconnaissance.

#### 4.2.4 Stratégies de développement et d'optimisation de formulations

La stabilité du complexe de pré-polymérisation template/monomère fonctionnel est l'élément clé du succès de l'impression moléculaire. Par conséquent, le choix des monomères en fonction de leur affinité pour le template mais aussi des autres réactifs est capital afin de favoriser la formation du complexe. La mise au point d'une nouvelle formulation de MIP pour l'impression d'une molécule donnée est généralement un processus complexe qui nécessite une bonne compréhension de la chimie des polymères, des interactions moléculaires, des équilibres chimiques, de la thermodynamique, ... Le grand nombre de réactifs impliqués complique généralement le développement et l'optimisation d'une formulation dans le cas d'une approche empirique.

D'autres stratégies plus élégantes que l'approche classique par « essais et erreurs » fastidieuse et chronophage ont plus récemment été proposées. Des méthodes de chimie combinatoire couplées à du criblage haut débit, des méthodes computationnelles ou encore la mise en œuvre de plans d'expérience ont ainsi été rapportées dans la perspective de rationaliser le design des MIPs. L'approche combinatoire est une approche pragmatique, développée indépendamment par les groupes de Takeuchi [25] et Sellergen [26], qui consiste à synthétiser et à évaluer des dizaines voire des centaines de formulations de MIPs de manière semi-automatisée, afin d'en sélectionner la plus performante en termes d'affinité et de sélectivité vis-à-vis de la molécule imprimée. Si l'approche combinatoire a fait ses preuves, elle devient relativement délicate à mettre en œuvre pour des bibliothèques comptant plusieurs milliers de monomères. L'approche computationnelle vise à répondre à cette limitation. Cette méthode d'optimisation repose sur l'utilisation de logiciels de simulation de dynamique moléculaire, permettant de passer au crible des bibliothèques virtuelles de monomères fonctionnels pour une cible donnée. Après identification des meilleurs candidats potentiels en termes d'impression (*i.e.* ceux conduisant à la plus grande stabilité du complexe de pré-polymérisation), les formulations théoriquement idéales correspondantes sont synthétisées pour validation expérimentale [27]. Le potentiel de cette méthode reste malgré tout limité du fait de l'inaptitude à prendre en compte la dynamique de la réaction polymérisation dans la modélisation. La combinaison des approches computationnelles et combinatoires présenterait un atout certain. Enfin, une démarche expérimentale rationalisée basée sur l'utilisation de plans d'expérience a également été rapportée comme stratégie d'optimisation [28] [29]. Un plan d'expérience est une stratégie d'essais optimale permettant l'étude systématique des effets simultanés de plusieurs facteurs sur une réponse donnée, en minimisant le nombre d'expériences et tout en maximisant la précision. Cette approche multi-variables peut servir à identifier les principaux paramètres d'influence sur les performances d'interaction d'un MIP, détecter d'éventuelles corrélations entre les paramètres ainsi qu'à optimiser efficacement la formulation et les conditions de polymérisation (proportions relatives des réactifs, degré de réticulation, température, pression...).

### 4.2.5 Processus de polymérisation

La réaction de polymérisation joue un rôle essentiel dans la morphologie d'un MIP, et a donc une influence sur ses propriétés et ses performances. Les MIPs sont principalement synthétisés par polymérisation radicalaire libre (FRP pour *Free Radical Polymerization*), qui est l'approche la plus directe et la plus flexible à mettre en œuvre en termes de pureté des réactifs, des conditions expérimentales, de choix des monomères, .... Il s'agit d'un type de polymérisation en chaîne dont le mécanisme, décrit sur la figure 4.4, comporte trois étapes élémentaires indépendantes pouvant se produire simultanément [13]:

**(a) l'amorçage** : la polymérisation est initiée avec la génération de radicaux libres ( $R\bullet$ ) en solution à partir de la décomposition d'un amorceur sous l'effet de la température, d'un rayonnement UV, ou d'une réaction chimique. Le radical attaque la double liaison polymérisable d'un monomère ( $M$ ), générant un radical intermédiaire ( $M_1\bullet$ ). L'étape d'amorçage est l'étape limitante de la réaction de polymérisation ;

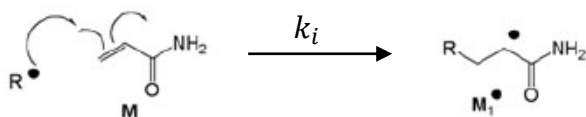
**(b) la propagation** : formation de la chaîne polymérique par additions successives de monomères au niveau du macroradical en croissance ( $M_n\bullet$ ), avec propagation du site réactif ;

**(c) la terminaison** : étape de désactivation du site actif entraînant l'arrêt de la croissance de la chaînes polymérique. Il existe deux principaux mécanismes de terminaison : la recombinaison de deux macroradicaux entre eux ( $M_n\bullet$  et  $M_p\bullet$ ) pour former une macrochaîne ( $M_{n+p}$ ) ; la dismutation impliquant un transfert de proton et conduisant à deux chaînes inactives ( $M_n=$  et  $M_pH$ ).

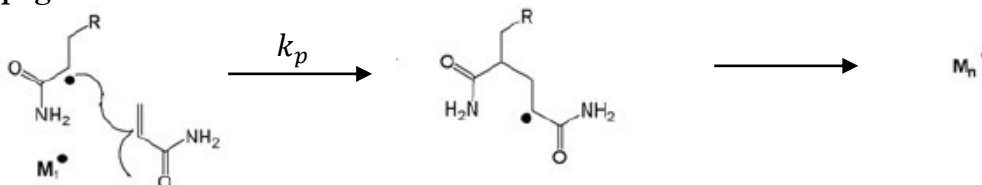
D'autres mécanismes peuvent également stopper la croissance polymérique, comme des réactions de transfert de chaîne où l'activité de la chaîne en croissance est transférée à une autre molécule (solvant, autre chaîne ou template), ou encore des réactions secondaires avec des impuretés (oxygène, inhibiteurs). Ces phénomènes d'interruption de croissance irréversibles et quasi-aléatoires sont responsables d'une grande dispersion dans la longueur des chaînes polymériques et d'une morphologie globalement chaotique du polymère. L'obtention d'une distribution homogène des sites d'interaction au sein d'un MIP synthétisé par FRP est impossible du fait de la nature aléatoire du processus de polymérisation.

Pour faire face à ces limitations, de nouvelles stratégies de polymérisation contrôlée, regroupées sous l'abréviation CLRP (*Controlled/Living Radical Polymerization*), sont développées depuis plusieurs années [30]. En bref, ces techniques reposent sur l'établissement d'un équilibre entre des chaînes actives en croissance et des chaînes dormantes, permettant notamment de garantir la réversibilité des phénomènes de terminaison. La maîtrise de la dynamique de polymérisation offre la possibilité de synthétiser de façon plus reproductible des films minces d'épaisseur nanométrique avec une architecture et une morphologie contrôlées, et donc potentiellement une plus grande performance de reconnaissance du fait d'une meilleure homogénéité ainsi qu'une plus grande accessibilité des sites d'interactions. Si ces méthodes représentent très certainement l'avenir de l'impression moléculaire, elles sont relativement complexes à mettre en œuvre et encore relativement peu abouties à l'heure actuelle.

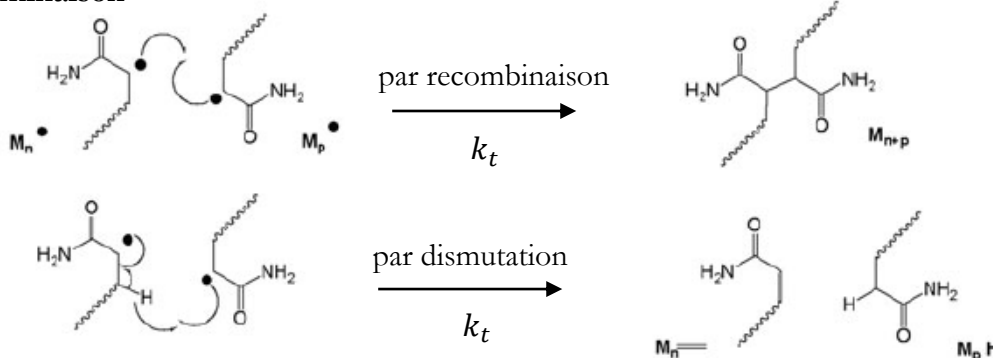
## (a) Amorçage



## (b) Propagation



## (c) Terminaison



**Figure 4.4** Représentation schématique du mécanisme de la polymérisation radicalaire libre (FRP) (adapté d'après [13]).

#### 4.2.6 Avantages et limitations

Grâce à leur nature polymérique fortement réticulée, les MIPs possèdent une grande stabilité physico-chimique et sont donc particulièrement robustes vis-à-vis de conditions sévères de température, de pression, de contraintes mécaniques, de solvants et de traitements chimiques [4]. Ils peuvent être stockés dans des conditions ambiantes pendant de longues périodes de temps (plusieurs années) sans montrer de dégradations particulières [21]. Matériaux artificiels, ils sont relativement peu coûteux à produire, donc très disponibles, et offrent la possibilité d'être synthétisés « sur-mesure » pour interagir avec une molécule donnée. Leur capacité de reconnaissance moléculaire a été rapportée comme présentant une spécificité et une affinité comparables à celles de biorécepteurs naturels [11]. Ils présentent également l'avantage unique de pouvoir envisager une détection par fluorescence s'affranchissant du marquage de la molécule cible, grâce à l'incorporation de monomères fluorescents dont l'intensité émise peut soit être augmentée [31] soit réduite [32] du fait de l'interaction avec l'analyte. Avec de tels attributs, les MIPs constituent notamment des candidats très prometteurs comme alternative à l'utilisation de matériel biologique, en particulier pour des applications de biodétection.

Bien qu'ils partagent la même fonctionnalité de reconnaissance moléculaire, les MIPs restent malgré tout très différents des récepteurs biologiques d'un point de vue structurel. Dans le cas des protéines, les monomères (acides aminés) sont organisés selon une séquence bien particulière et les chaînes polypeptidiques sont repliées selon une structure secondaire et tertiaire bien définie. A l'inverse, l'incorporation des monomères au sein de MIPs est aléatoire, la longueur de chaîne n'est généralement pas contrôlée et l'aspect chaotique est renforcé par un fort degré de réticulation. Si des sites de reconnaissance spécifique sont effectivement présents, l'hétérogénéité de leur population conduit généralement à la dégradation de leur performance en termes d'interactions non spécifiques et de problèmes de transport de masse.

Contrairement aux récepteurs biologiques, les MIPs souffrent généralement d'un manque de compatibilité avec un environnement aqueux, principalement pour deux raisons : (1) la création de cavités de reconnaissance au sein d'un MIP repose sur l'auto-assemblage de monomères fonctionnels autour du template via des liaisons faibles non covalentes. La présence de molécules d'eau polaires peut considérablement affecter la formation des complexes en entrant en compétition avec les interactions hydrogène et/ou électrostatiques mises en jeu ; (2) la présence d'eau a également tendance à exacerber les interactions hydrophobiques entre les monomères et le template, et donc à favoriser les interactions non spécifiques diminuant la sélectivité globale du MIP. De nombreuses stratégies tentent d'adresser cette sérieuse limitation mais restent encore peu abouties [33].

L'une des caractéristiques avantageuses des MIPs est leur capacité à pouvoir adresser une large gamme de molécules, même celles pour lesquelles il n'existe pas de récepteurs naturels ou qui sont difficiles à obtenir [12]. Les méthodes d'impression de petites molécules organiques (< 1500 Da) telles que des molécules médicamenteuses [11] [34], des pesticides [23] [35] [36], des acides aminés [17] [37] et des peptides [38], des nucléotides [39] , des stéroïdes [40], des sucres [41], ... ont largement été rapportées. Si la synthèse de MIPs pour l'impression de petites molécules est considérée comme routinière, l'impression de macromolécules (> 1500 Da) telles que des protéines ou des cellules constitue encore un défi majeur [42]. En effet, leur taille, leur flexibilité et la complexité de leur structure compliquent grandement la formation de cavités complémentaires lors de l'impression. De plus, les macromolécules sont généralement insolubles et incompatibles avec la plupart des solvants organiques utilisés pour la synthèse des MIPs, et peuvent être dénaturées par les conditions de polymérisation.

**Tableau 4.1** Résumé des avantages et limitations des MIPs (adapté d'après [26]).

Avantages	Limitations
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Stabilité physico-chimique :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- résistance à des environnements sévères (température, pression, produits chimiques)</li> <li>- stockage à long terme dans des conditions ambiantes</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Mauvaise compatibilité avec un environnement aqueux :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- faiblesse des interactions (compétition du solvant)</li> <li>- interactions hydrophobiques non spécifiques favorisées</li> </ul> </li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Matériaux artificiels :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- bas coût</li> <li>- synthèse « sur-mesure »</li> <li>- grande disponibilité</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Manque de stratégies générales permettant d'adresser l'impression de macromolécules (&gt; 1500 Da)</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Reconnaissance moléculaire :               <ul style="list-style-type: none"> <li>- affinité et sélectivité comparables à celles de récepteurs biologiques (anticorps « synthétiques »)</li> <li>- séparation chirale</li> </ul> </li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Manque de contrôle sur l'hétérogénéité de la population de sites de reconnaissance</li> </ul>
<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Détection en fluorescence sans marquage de l'analyte</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>▪ Cinétiques d'interaction faibles (problème de transport de masse)</li> </ul>

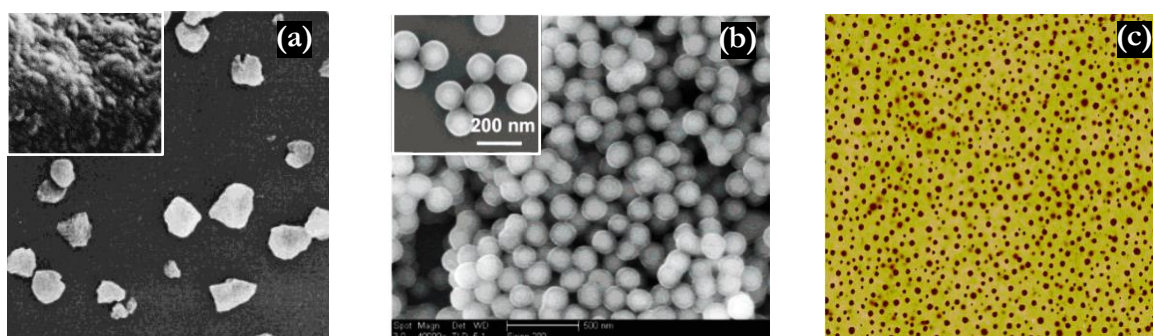
#### 4.2.7 Formes physiques, applications et stratégies d'intégration

Traditionnellement, les MIPs sont obtenus par polymérisation « *bulk* » à partir d'une solution de pré-polymérisation pauvre en solvant (< 50% du volume total). La polymérisation conduit à la formation d'un monolithe qui est ensuite soumis à des cycles de broyage mécanique et de tamisage afin d'obtenir des particules exploitables, généralement de taille micrométrique (5 - 50  $\mu\text{m}$ ). Les MIPs préparés sous ce format ont été largement employés pour des applications de séparation, notamment en tant que phase stationnaire au sein de techniques d'extraction en phase solide [34] [35] et de chromatographie en phase liquide [37] [43], ainsi que comme catalyseurs [44]. Malgré sa simplicité, l'approche *bulk* est une méthode fastidieuse, avec de faibles rendements, et qui n'offre qu'un contrôle limité sur la régularité en taille et en forme des particules obtenues limitant ainsi l'efficacité et la résolution des MIPs synthétisés sous ce format [45].

De nombreux efforts ont donc été consacrés à la préparation de particules sphériques de MIPs de taille uniforme afin d'adresser ces limitations. Différentes méthodes de synthèse ont été développées afin de produire des billes de dimensions micro et nanométriques, dont notamment la polymérisation en suspension [46], par dispersion/ précipitation [47], par émulsion [48] ou encore par « *core-shell* » [49]. De manière générale, ces méthodes assurent de meilleurs rendements ainsi qu'une plus grande reproductibilité. Elles offrent également un meilleur contrôle de la



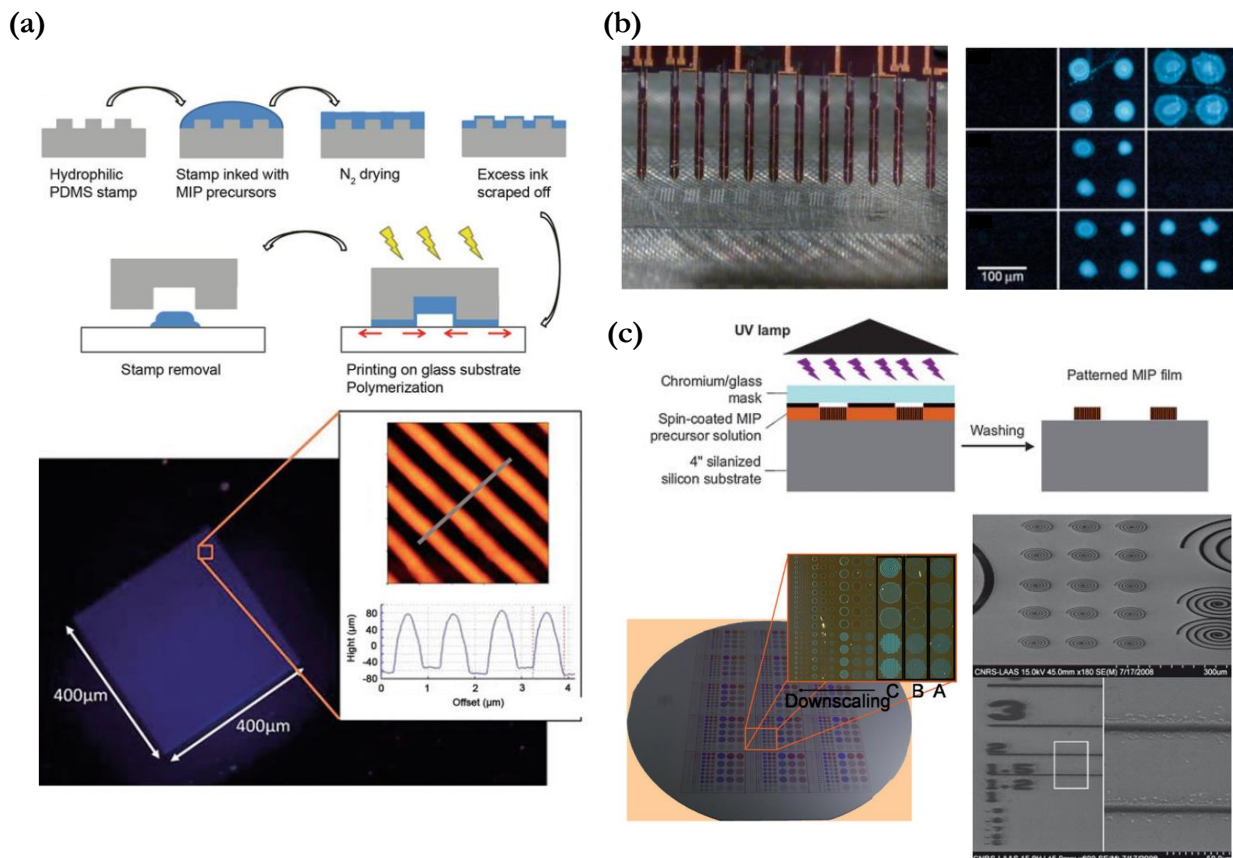
dispersion des particules, ainsi qu'une plus grande accessibilité des cavités de reconnaissance du fait de l'augmentation du rapport surface sur volume. Elles possèdent donc généralement des capacités de reconnaissance accrues et des cinétiques d'interaction plus rapides que dans le cas du format *bulk*. Les micro/nanobilles de MIPs sont ainsi employées pour des applications de chromatographie [50], d'analyse immunologique [51] ou encore d'administration de médicaments [52]. Il n'existe pas de format universel permettant de répondre aux besoins de l'ensemble des applications pour lesquelles les MIPs suscitent un réel intérêt. De manière générale, le choix d'un format physique particulier est avant tout dicté par l'application.



**Figure 4.5** Illustrations de différents formats de MIPs : (a) Images MEB de particules irrégulières de MIP (5 – 50  $\mu\text{m}$ ) obtenues par broyage d'un monolithe (format *bulk*) et grossissement montrant la morphologie du polymère [47]. (b) Images MEB de nanobilles de MIP (100 nm) au format *core-shell*, obtenues par synthèse d'un MIP directement à la surface de nanoparticules de silice [49]. (c) Image AFM (15  $\mu\text{m}$   $\times$  15  $\mu\text{m}$ , *Z-range* 25 nm) en mode contact de la morphologie d'une couche de MIP obtenue par *spin-coating* et photopolymérisation [53].

L'utilisation des MIPs s'est largement répandue dans le domaine de la biodétection comme alternative potentielle à l'utilisation de molécules biologiques. Deux stratégies d'immobilisation du MIP sur une surface sont généralement rapportées : (i) une approche *in-situ* et (ii) une approche *ex-situ*. Dans l'approche *ex-situ*, le MIP est synthétisé sous forme de particules qui sont ensuite assemblées à la surface du capteur par « collage » à l'aide de polymères utilisés pour leurs propriétés adhésives [54]. Cette stratégie n'offre qu'une solution limitée à l'intégration du MIP au sein d'un biocapteur puisqu'elle ne permet pas de contrôler la localisation du polymère. À l'inverse, l'approche *in-situ* permet de synthétiser directement le MIP à la surface du transducteur, généralement sous la forme d'un film mince. L'utilisation de techniques de structuration par contact telles que les robots de dépôt [55] ou la lithographie douce [56] [57] ont ainsi été rapportées. Le confinement du MIP est obtenu grâce au dépôt localisé de la solution de pré-polymérisation suivi d'une photopolymérisation. D'autres approches sans contact comme la microstéréolithographie ( $\mu\text{SL}$ ) [58], la polymérisation par ondes évanescentes [59] ou à l'extrémité d'une fibre optique [60] ont également été mises en œuvre avec succès. Dans ce cas, la solution de polymérisation est photopolymérisée localement à la surface du transducteur. Hormis les techniques de lithographie douce, les autres technologies sont séquentielles et donc présentent un intérêt limité pour des applications nécessitant des besoins de réalisation en masse et à bas coût.

Par ailleurs, la lithographie douce qui repose sur l'utilisation du PDMS souffre de l'incompatibilité de ce matériau avec de nombreux solvants organiques apolaires pourtant largement utilisés dans la formulation des MIPs [61]. Une approche prometteuse pour la microstructuration de MIP est la photolithographie. Cette approche, initialement introduite par Schmidt *et al* [24], a notamment démontré son potentiel grâce aux travaux de Guillon *et al* [62] pour la réalisation de biopuces multiplexées à base de MIPs. Enfin, l'électropolymérisation [63] [64] ou le greffage covalent de l'amorceur [65] permettent également de confiner la polymérisation *in-situ* d'un MIP. Ces approches orientées chimie de surface sont généralement basées sur l'utilisation d'une surface d'or structurée permettant de localiser sélectivement la synthèse par rapport aux autres régions du substrat. Ces techniques ont pour avantage d'offrir un meilleur contrôle de la polymérisation, et donc une meilleure reproductibilité en termes d'épaisseur de la couche de MIP obtenue. Elles présentent en revanche des capacités de multiplexage limitées et nécessitent des conditions particulières (pistes d'interconnexions métalliques, réactifs spécifiques). Une fois de plus, le choix de la méthode de structuration dépend du type d'application.



**Figure 4.6** Différentes méthodes de structuration (synthèse *in-situ*) permettant de localiser un film mince de MIP à la surface d'un transducteur. (a) Structuration d'une couche de MIP selon un réseau de lignes nanométriques (660 nm de large) par *microtransfer molding* ( $\mu$ TM) [56]. (b) Images en fluorescence de motifs de MIPs obtenus via un robot de dépôt [55]. (c) Dépôt multiplexé de motifs micrométriques de MIPs de différentes formes géométriques obtenus à l'échelle d'un wafer 100 mm par photolithographie [62].

### 4.3 Contexte et objectifs de ces travaux

A notre connaissance, seulement deux exemples d'intégration post-fabrication de récepteurs artificiels à base de MIPs sur des résonateurs MEMS ont été rapportés dans la littérature. Dans leurs travaux, Ayela *et al* [66] rapportent la structuration d'un MIP à la surface de micromembranes de 200  $\mu\text{m}$  de diamètre à l'aide d'un robot de dépôt. La fonctionnalité du MIP est démontrée via la détection gravimétrique de l'herbicide 2,4-D, à une concentration de 10  $\mu\text{M}$  dans du PBS, avec une sélectivité validée par rapport à une molécule de structure similaire (POAc), et avec une bonne répétabilité des mesures après plusieurs cycles d'extraction et d'interaction. Ces travaux démontrent le potentiel d'utilisation des MIPs comme couche sensible intégrée sur des transducteurs électromécaniques pour la détection d'analytes de faibles poids moléculaires. En revanche, la technique de structuration employée est séquentielle donc relativement peu adaptée à la fonctionnalisation d'un grand nombre de structures. Elle n'offre qu'un contrôle limité sur la structuration du MIP en termes de forme et de dimensions des motifs, et les volumes de dépôt mis en jeu sont généralement incompatibles avec la fonctionnalisation de structures de dimensions inférieures à plusieurs dizaines de micromètres. Plus récemment, Holthoff *et al* [67] ont rapporté la réalisation de capteurs de gaz basés sur la combinaison MIP/MEMS. Grâce à l'immobilisation de MIPs au format xérogel à la surface de microponts ( $> 100 \mu\text{m}$  de long), ils démontrent la détection en temps réel ( $< 10 \text{ min}$ ) de quantités résiduelles ( $< 1 \text{ ppb}$ ) de vapeurs de 2,4-dinitrotoluène (2,4-DNT), molécule issue de la dégradation de l'explosif 2,4,6-trinitrotoluène (TNT), ainsi que de vapeurs de dimethyl methyl phosphonate (DMMP), gaz organophosphoré utilisé comme agent simulant la menace chimique. Ces résultats préliminaires sont particulièrement prometteurs pour des applications de type défense. Cependant, l'absence de moyens de structuration et de multiplexage inhérents à la stratégie d'immobilisation du MIP mise en œuvre pourrait constituer une réelle limitation.

Ces travaux ont pour finalité d'évaluer la faisabilité d'intégration d'un MIP comme couche sensible de reconnaissance sur des leviers NEMS. L'intérêt majeur de cette approche est de proposer un récepteur synthétique comme alternative à l'utilisation de matériel biologique, théoriquement plus adapté à un environnement d'opération sous vide des résonateurs. La stabilité physico-chimique du polymère permet également d'envisager une stratégie d'intégration « process-compatible », et donc de réaliser l'étape de fonctionnalisation des nanoleviers avant leur libération, limitant ainsi les risques liés à manipulation de structures mécaniques fragiles. Ce point reste cependant à démontrer. Dans la perspective d'établir une première preuve de concept, plusieurs objectifs sont à valider :

- 1) **valider la formulation de MIP avant intégration sur des résonateurs ;**
- 2) **valider la faisabilité de mise en œuvre d'une stratégie d'intégration process-compatible de MIP sur des nanoleviers ;**
- 3) **démontrer la préservation de l'intégrité des structures mécaniques ainsi que de l'activité de reconnaissance de la couche sensible.**

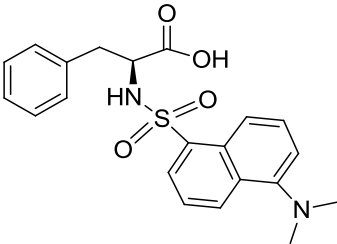
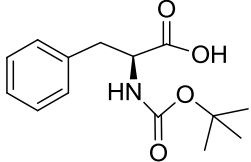
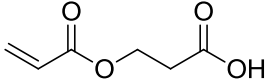
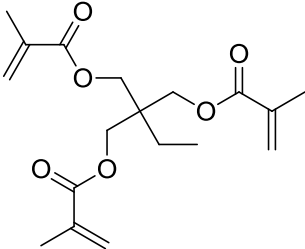
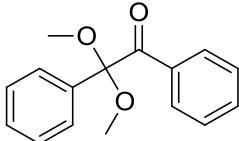
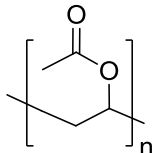
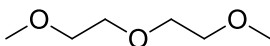
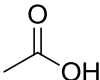
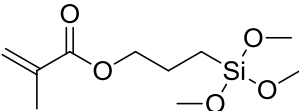
Parmi l'ensemble des stratégies de fonctionnalisation de biocapteurs avec des MIPs rapportées dans la littérature, nous avons fait le choix de retenir l'approche de photopolymérisation *in-situ* par photolithographie. Malgré une capacité d'intégration restreinte avec une résolution latérale de motifs limitée à 1-2  $\mu\text{m}$  à cause des phénomènes de diffraction, elle reste néanmoins intéressante pour ses atouts de multiplexage, de fonctionnalisation grande échelle, ainsi que pour une question de disponibilité des équipements au sein de notre laboratoire. Cette méthode a déjà été implémentée au sein du groupe pour la réalisation de biopuces [62], avec une formulation de MIP dédiée et développée en collaboration avec le groupe de Génie Enzymatique et Cellulaire (GEC) dirigé par le professeur Karsten Haupt de l'université technologique de Compiègne. Le développement d'une nouvelle formulation de MIP n'est donc a priori pas nécessaire ce qui devrait faciliter grandement la mise en œuvre expérimentale de cette approche. Il est important de souligner que cette méthode n'a encore jamais été mise en œuvre sur des surfaces structurées, et que donc ces travaux constituent des résultats préliminaires. Dans cette étude, nous avons fait le choix d'utiliser un analyte modèle, le dansyl-L-phénylalanine (D-L-Phe), dérivé fluorescent d'un acide aminé.

## 4.4 Matériel et méthodes

Les structures moléculaires des composés chimiques utilisés dans ces travaux sont représentées dans le tableau 4.2. Le template analogue N-(tert-butoxycarbonyl)-L-phenylalanine (BOC-L-Phe) a été commandé chez Alfa Aesar. L'analyte fluorescent dansyl-L-phénylalanine (D-L-Phe) a été commandé chez MP Biomedicals. Le monomère fonctionnel 2-carboxyethyl acrylate (CEA), l'agent réticulant triméthylolpropane triméthacrylate (TRIM), l'amorceur 2,2-diméthoxy-2-phenylacetophenone (DPAP), le co-porogène poly(vinyl acetate) (PVAc), les solvants diéthylène glycol diméthyl ether (diglyme), acétonitrile (ACN), ainsi que l'acide acétique (AcOH) ont été commandés chez Sigma-Aldrich. Le solvant méthanol (MeOH) a été commandé chez VWR.

Les étapes d'insolation sont réalisées sur un équipement standard de photolithographie (EVG 620, EV Group Inc.), avec une intensité lumineuse mesurée à 39  $\text{mW}/\text{cm}^2$  à une longueur de 365 nm (*i-line*). Les caractérisations en fluorescence sont réalisées à l'aide d'un microscope à fluorescence inversé (Olympus IX 70), équipé d'une source de lumière blanche (Lumencor SOLA light engine®) et d'objectifs  $\times 20$  (Olympus, N.A. 0.4) et  $\times 40$  (Olympus, N.A. 0.6). Les acquisitions sont obtenues grâce à un jeu de filtres dédié à l'observation du D-L-Phe, assemblé artisanalement (cf. section 4.5.1), une caméra CCD (Clara CCD DR-328G-C01-SIL, Andor) et le logiciel Andor Solis®. Les images brutes au format Andor sont ensuite converties au format TIF (16 bits, niveaux de gris) afin d'être analysées quantitativement à l'aide du logiciel libre ImageJ. Les caractérisations gravimétriques du comportement mécanique des nanoleviers sont réalisées sous vide grâce au banc d'interférométrie optique décrit dans le chapitre 2 de ce manuscrit, en mode actionnement/détection externe, et à température ambiante. Les caractérisations AFM (Dimension Icon, Bruker Inc.) sont réalisées en mode *tapping* avec une pointe de fréquence nominale de résonance 285 kHz et de raideur 42 N/m. (Arrow™ NC, NanoWorld Inc.) [68].

**Tableau 4.2** Structures chimiques des différents composés utilisés dans ces travaux.

Réactif	Rôle	Structure
Dansyl-L-phénylalanine (D-L-Phe)	Cible	
N-(tert-butoxycarbonyl)- L-phenylalanine (Boc-L-Phe)	Template (analogue à la cible)	
2-carboxyethyl acrylate (CEA)	Monomère fonctionnel	
Triméthylolpropane triméthacrylate (TRIM)	Agent réticulant	
2,2-diméthoxy-2- phénylacétophénone (DPAP)	Amorceur	
Poly(vinyl acetate) (PVAc)	Co-porogène	
Diethylene glycol diméthyl éther (diglyme)	Solvant	
Acétonitrile (ACN)	Solvant	$\text{N}\equiv\text{C}-$
Méthanol (MeOH)	Solvant	$-\text{OH}$
Acide acétique (AcOH)	Acide	
3-(triméthoxysilyl)propyl méthacrylate	Silane	

## 4.5 Synthèse et validation du MIP D-L-Phe

Le premier objectif de notre démarche expérimentale consiste à valider la formulation du MIP avant son intégration sur des nanoleviers. L'atteinte de cet objectif implique donc de s'assurer de la faisabilité de synthèse et de structuration par photolithographie à partir de la formulation mise en œuvre, ainsi que des capacités de détection du MIP.

La spécificité de reconnaissance d'un MIP est généralement évaluée dans la littérature par rapport à un NIP, à savoir un polymère synthétisé dans les mêmes conditions que le MIP mais en l'absence du template. Ce type de contrôle permet de s'assurer que l'interaction observée est principalement due à la présence d'empreintes au sein du MIP et non pas à des interactions non spécifiques avec le polymère. Dans cette perspective, l'intégration multiplexée du MIP D-L-Phe et du NIP associé est donc réalisée sur la même puce, afin d'être dans la configuration de comparaison la plus favorable en termes de détection. La microstructuration de motifs de MIP et de NIP sera dans un premier temps réalisée sur des substrats plans en silicium, et l'activité de reconnaissance sera évaluée par des caractérisations en fluorescence.

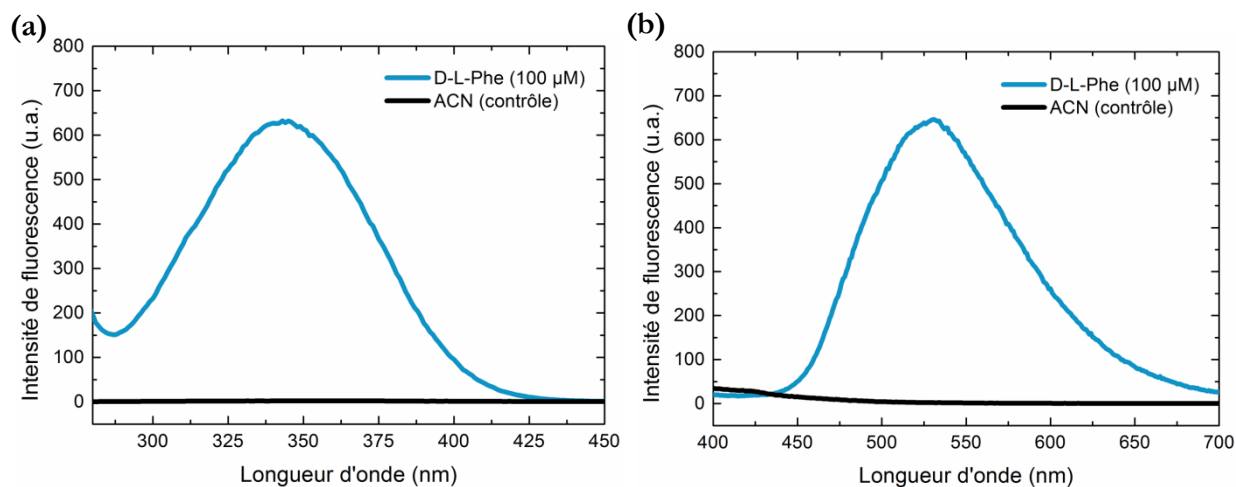
### 4.5.1 Caractérisations préliminaires du D-L-Phe

La formulation du MIP mise en œuvre dans ces travaux est dédiée à la détection d'un analyte fluorescent (D-L-Phe). Le marquage en fluorescence de la molécule a pour avantage d'offrir un moyen de caractérisation optique supplémentaire aux caractérisations gravimétriques envisagées. Dans un premier temps, la caractérisation des spectres d'excitation et d'émission en fluorescence a été réalisée afin de déterminer le jeu de filtres le plus approprié à l'observation du D-L-Phe dans la suite de ces travaux (données non communiquées par le fournisseur).

Les spectres représentés sur la figure 4.7 ont été obtenus par spectrofluorométrie (Varioskan Flash, Thermo Scientific Inc.) pour une solution test de D-L-Phe à 100  $\mu$ M dans de l'acétonitrile (ACN) et une solution contrôle comportant uniquement le solvant. Le spectre d'excitation est obtenu pour une longueur d'onde d'émission fixée à 530 nm, correspondant au maximum d'émission, et par balayage de la longueur d'onde d'excitation dans la gamme 280 – 450 nm. Le spectre d'émission est obtenu pour une longueur d'onde d'excitation fixée à 345 nm, correspondant au maximum d'excitation, et par balayage d'une plage de longueurs d'onde comprises entre 400 nm et 700 nm par le détecteur.

Le D-L-Phe possède donc un maximum d'émission de fluorescence centré sur 530 nm avec une bande passante d'environ 110 nm centrée sur le maximum d'émission, pour un optimum d'excitation à 345 nm avec une bande passante d'environ 70 nm ; la bande passante est calculée comme la largeur à mi-hauteur du pic. L'absence de fluorescence pour l'échantillon contrôle permet de s'assurer que la fluorescence observée est bien due au D-L-Phe et non au solvant. La molécule fluorescente possède donc un large décalage de Stokes (185 nm) et une absence de recouvrement des spectres permettant de séparer facilement les signaux d'excitation et d'émission. Ces caractérisations permettent d'assembler artisanalement le jeu de filtres le plus

approprié à l'observation du D-L-Phe, à savoir : un filtre d'excitation passe bande (370/36 nm), un miroir dichroïque passe haut (405 nm) et un filtre d'émission passe bande (470/100 nm).



**Figure 4.7** Spectres (a) d'excitation et (b) d'émission de fluorescence d'une solution test de D-L-Phe à 100 µM dans de l'acétonitrile et d'une solution contrôle ( $\lambda_{em} = 530$  nm,  $\lambda_{ex} = 345$  nm).

#### 4.5.2 Formulation du MIP D-L-Phe

La composition du MIP dédié à la reconnaissance de la cible D-L-Phe est décrite dans le tableau 4.3. Le Boc-L-Phe, molécule analogue au D-L-Phe mais non fluorescente, est utilisé comme template pour l'impression. Cette approche est généralement employée [59] [60] [69] afin d'éviter l'auto-fluorescence du polymère qui résulterait du piégeage permanent d'une partie des molécules marquées dans le cas de l'impression avec un template fluorescent (cf. figure 4.3), et qui perturberait par la suite la détection. La similarité des structures chimiques entre l'analogue et la cible permet toutefois d'assurer une certaine sélectivité de reconnaissance.

Pour pouvoir structurer un MIP par photolithographie, une formulation dédiée doit être utilisée. Les solvants classiquement utilisés dans la synthèse de MIP, tels que l'acétonitrile, le chloroforme ou le toluène, sont inadaptés pour un dépôt par *spin-coating* en raison de leurs pressions de vapeur saturante élevées à température ambiante [24]. Les dépôts résultant conduisent généralement à la précipitation des monomères sous forme d'agrégats à la surface du substrat à cause du phénomène d'évaporation du solvant induit par l'enduction. Schmidt *et al* [24] [70] ont développé un nouveau système porogénique adapté au *spin-coating*, basé sur l'utilisation d'un solvant peu volatil, le diglyme, combiné avec un co-porogène (PVAc). Le co-porogène est un polymère linéaire non réactif dont le rôle est d'accélérer la séparation de phases lors de la polymérisation, du fait de l'immiscibilité entre le MIP en croissance et le porogène polymérique. En effet, avec des monomères comportant des groupements polymérisables de type vinyle ou acrylique, la polymérisation est généralement trop rapide pour que le phénomène de séparation de phases entre le MIP en croissance et le solvant se produise, conduisant généralement à l'obtention de films non poreux et donc avec une faible capacité de

reconnaissance. Avec cette formulation, Schmidt *et al* ont démontré qu'il était possible d'obtenir des films de MIP d'épaisseur et de morphologie contrôlées.

La solution de pré-polymérisation est préparée selon un ratio molaire de 1:8:16 entre le template Boc-L-Phe (82 mM), le monomère fonctionnel CEA (661 mM, 1 groupement polymérisable) et l'agent réticulant TRIM (1323 mM, 3 groupements polymérisables). La quantité de photoinitiateur DPAP utilisée correspond à 0.66 % du nombre de moles total de groupements polymérisables (monomères fonctionnels et agent réticulant). Un volume de solvant (diglyme) de 2283  $\mu\text{l}$  est ajouté, avec du PVaC ( $M_w \sim 140\,000$  g/mol) comme co-porogène selon une fraction massique de 1 % par rapport à la masse du solvant. Les proportions solvants/monomères sont choisies de manière à avoir un ratio volumique de 2/1. Après mélange des différents réactifs, la solution est filtrée afin d'en éliminer les résidus non dissous puis dégazée pendant trois minutes sous atmosphère d'azote pour en éliminer l'oxygène. La solution de pré-polymérisation du NIP (contrôle) est préparée de la même manière mais en l'absence du template.

**Tableau 4.3** Proportions des différents réactifs utilisés dans la formulation du MIP D-L-Phe (masse molaire  $M_w$ , masse volumique  $\rho$ , nombre de moles  $n$ , masse  $m$ , volume  $V$  et concentration  $C$ ).

	Ratio molaire (par rapport au template)	% mol (du nombre total de groupements polymérisables)	Ratio volumique (solvant par rapport aux monomères)	% massique (par rapport au solvant)
Template	1	-	-	-
Monom. fonct.	8	-	-	-
Agent réticulant	16	-	-	-
Amorceur	-	0.66	-	-
Solvant	-	-	2	-
Co-porogène	-	-	-	1

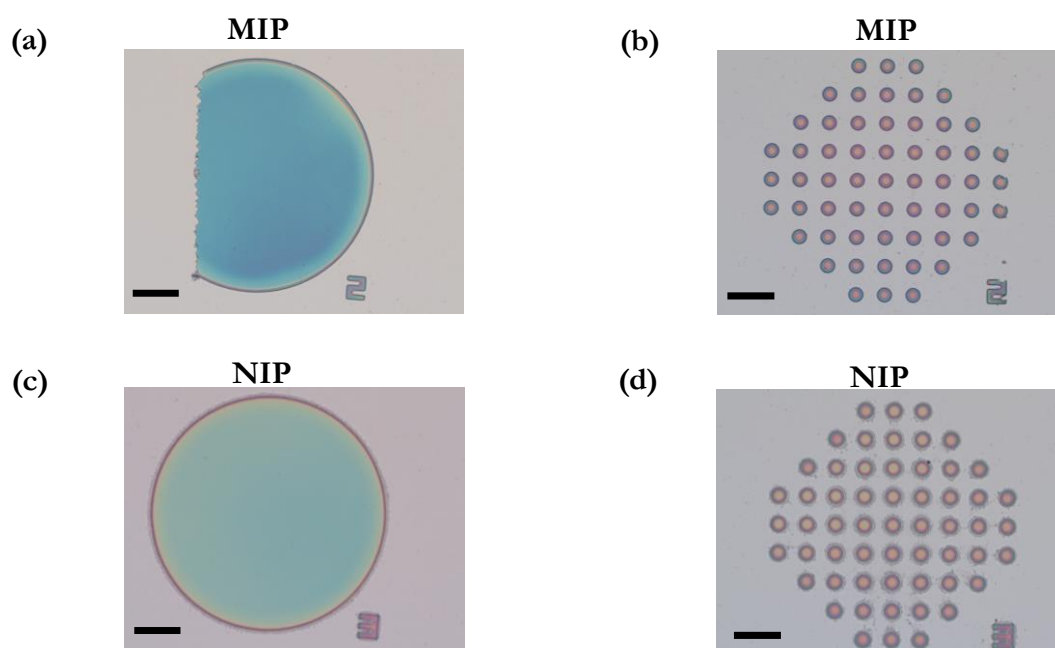
Réactif	Fonction	$M_w$ (g/mol)	$\rho$ (g/ml)	$m$ (mg)	$V$ ( $\mu\text{l}$ )	$n$ (mmol)	$C$ (mM)
Boc-L-Phe	Template	265.30	-	49.95	-	$1.88 \times 10^{-1}$	82
CEA	Monom. fonct.	144.13	1.214	217.31	179	1.51	661
TRIM	Agent réticulant	338.40	1.06	1020.78	963	3.02	1323
Diglyme	Solvant	134.17	0.937	2139.17	2283	15.94	-
PVaC	Co-porogène	140 000	-	21.39	-	$1.53 \times 10^{-4}$	0.07
DPAP	Amorceur	256.30	-	17.71	-	$6.91 \times 10^{-2}$	30

### 4.5.3 Essais de structuration par photolithographie

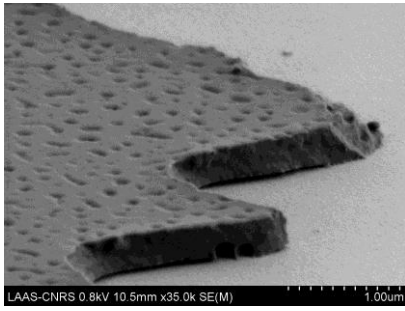
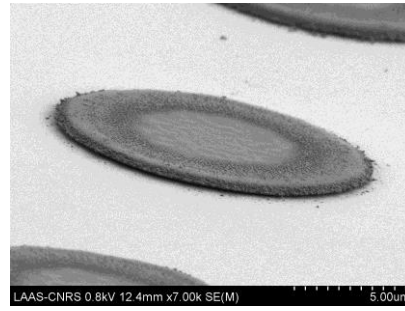
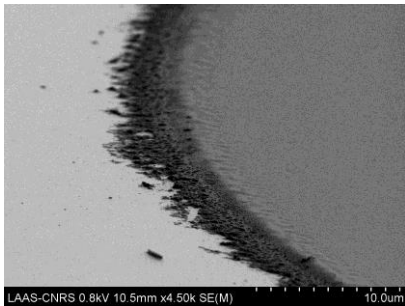
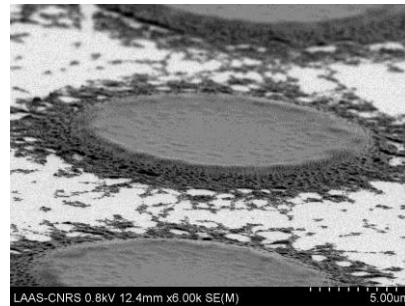
Des puces de 14 mm  $\times$  14 mm obtenues par découpe d'un wafer standard en silicium de diamètre 100 mm d'orientation (100), de type P ( $10^{15}$  at/cm<sup>3</sup>) et d'épaisseur 500  $\mu\text{m}$  sont utilisées comme échantillons. Avant la structuration du MIP, une silanisation préalable des substrats à



base de 3-(triméthoxysilyl)propyl méthacrylate est nécessaire afin d'améliorer la mouillabilité du substrat et de favoriser l'adhésion du polymère grâce à l'introduction de groupements polymérisables (cf. tableau 4.2) permettant l'encrage covalent du MIP. Les échantillons sont d'abord nettoyés par immersion dans un bain Piranha ( $\text{H}_2\text{O}_2:\text{H}_2\text{SO}_4$ , 1:1 v/v, 5 min), puis rincés à l'eau DI et séchés à l'azote avant une activation de surface par plasma oxygène (PVA TePla 300, 1000 ml/min ( $\text{O}_2$ ), 800 W, 5 min). Les puces sont alors immédiatement placées dans une solution à 1 % en volume de 3-(triméthoxysilyl)propyl méthacrylate dans du toluène anhydre, comportant 0.1 % en volume de triéthylamine déshydratée à l'hydroxyde de sodium. Après 12 h d'incubation, les échantillons sont intensivement rincés dans des bains successifs de toluène, d'acétone et d'éthanol pendant 5 min aux ultra-sons, puis séchés sur une plaque chauffante à 150 °C. Un volume de 50  $\mu\text{l}$  de solution de pré-polymérisation est ensuite étalé par enduction (5000 rpm/s, 5000 rpm, 30 s) afin d'obtenir une couche mince homogène à la surface de l'échantillon. L'insolation est réalisée en mode contact (2 bar, 20 s) avec une purge à l'azote de 60 s avant le début de l'exposition, l'azote étant ensuite continuellement injecté pendant toute la durée d'insolation. Le MIP se comporte comme une résine de polarité négative, et polymérise au niveau des ouvertures du masque de photolithographie. Après polymérisation, l'échantillon est placé dans deux bains successifs d'acétone et d'éthanol pendant 2 min afin de dissoudre les parties non polymérisées et révéler les motifs de polymère à la surface de la puce. Afin de pouvoir structurer sur le même échantillon le MIP et le NIP (contrôle), ces étapes sont séquentiellement répétées avec la solution de pré-polymérisation et le masque dédiés. Des images optiques et des images MEB des motifs de MIP et de NIP synthétisés sur un même échantillon sont respectivement présentées figure 4.8 et figure 4.9.



**Figure 4.8** Images optiques de motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie en mode contact à la surface d'un échantillon en silicium silanisé. Les motifs (a) et (c) sont des cercles de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre tandis que les motifs (b) et (d) sont des réseaux de cercles de 15  $\mu\text{m}$  de diamètre. La barre d'échelle correspond à une distance de 50  $\mu\text{m}$ .

(a) MIP (motif  $\Phi$  250  $\mu\text{m}$ )(b) MIP (motif  $\Phi$  15  $\mu\text{m}$ )(c) NIP (motif  $\Phi$  250  $\mu\text{m}$ )(d) NIP (motif  $\Phi$  15  $\mu\text{m}$ )

**Figure 4.9** Images MEB des mêmes motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie.

La structuration des motifs est relativement bonne avec une définition des motifs respectant les côtes du masque. Plusieurs types de défauts sont néanmoins observés. Le premier est lié au phénomène de « *popping* », dont l'effet est clairement visible sur l'image (a) de la figure 4.8. Ce phénomène est inhérent au mode d'insolation par contact où l'adhésion du polymère au masque est responsable de l'arrachement d'une partie des motifs. Des tentatives d'insolation en mode proximité se sont malheureusement avérées infructueuses du fait de la difficulté de maintenir le confinement de l'atmosphère d'azote au niveau de l'équipement. L'atmosphère d'azote est indispensable afin d'empêcher l'inhibition de polymérisation radicalaire du fait de la présence d'oxygène. Ce type de défaut peut être réduit jusqu'à un certain degré en diminuant la force de contact pendant l'insolation, mais reste néanmoins relativement aléatoire, puisque seulement certains motifs d'un même substrat sont affectés, et variable d'un échantillon à l'autre. De manière générale, un compromis est à déterminer puisque la bonne définition des motifs dépend directement de la qualité du contact. On peut également noter que des essais d'insolation en mode vacuum contact, où un vide primaire est réalisé entre le masque et le substrat avant l'insolation, n'ont pas permis de réduire suffisamment la quantité d'oxygène présente pour garantir la polymérisation.

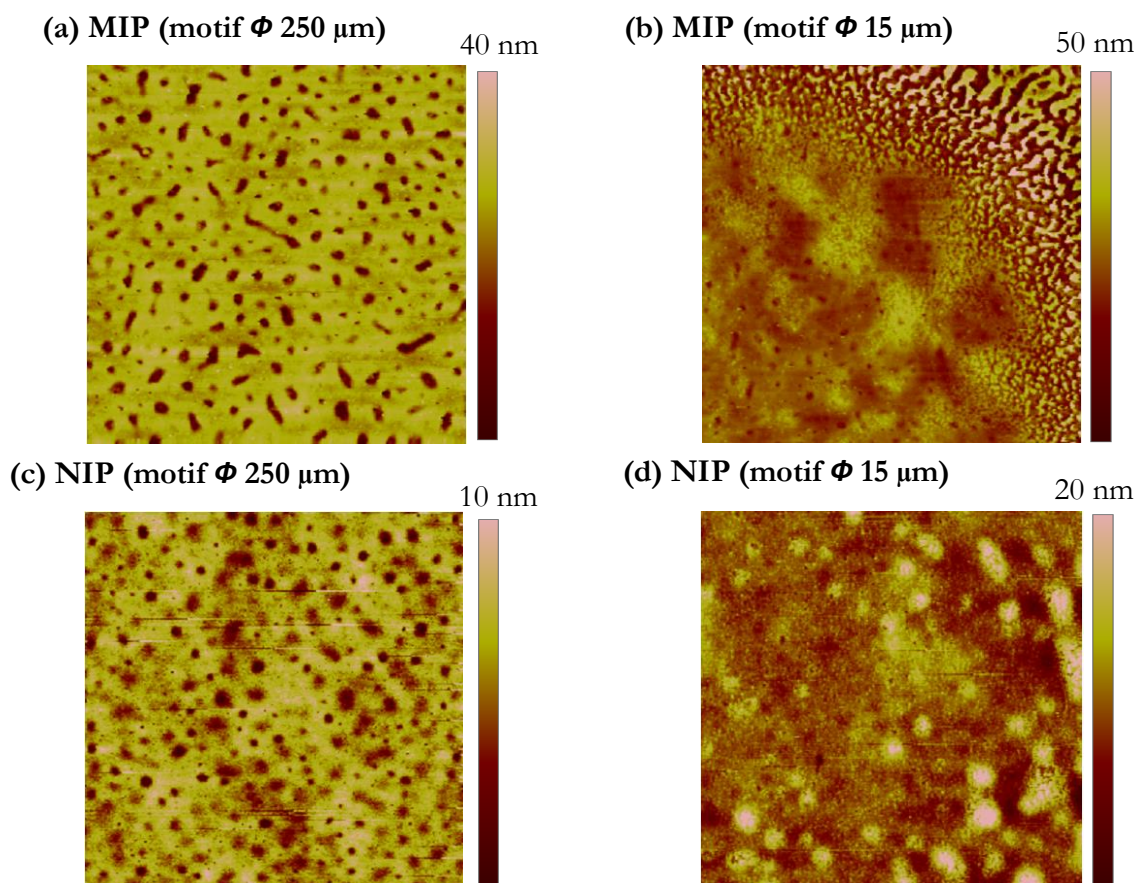
Un second type de défaut observé est la polymérisation inter-motifs. Des résidus de polymère sont en effet présents en dehors des zones insolées, comme en témoigne notamment l'image MEB (d) de la figure 4.9. Différents essais de structuration réalisés tendent à montrer l'influence de paramètres comme la pression de contact et la durée d'insolation sur ce type de défauts. Une augmentation de la force de contact entre le masque et le substrat tendrait à réduire ce

phénomène, de même que la diminution du temps de polymérisation. Cette polymérisation inter-motifs est probablement le reflet de la diffusivité de la solution de pré-polymérisation pendant l'insolation, malgré une formulation dédiée au dépôt par *spin-coating* visant à limiter ce phénomène. Une hétérogénéité de type « *coffee ring effect* » a également pu être observée lors de caractérisations d'épaisseur des motifs par profilométrie mécanique (P15, KLA-Tencor Inc.). Des mesures réalisées au niveau des motifs de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre révèlent en effet une surépaisseur en périphérie d'environ 26 % par rapport à l'épaisseur moyenne du motif.

En dépit de ces quelques défauts, les épaisseurs du MIP et du NIP mesurées pour cet échantillon sont très similaires, avec une épaisseur de MIP d'environ 315 nm et une épaisseur de NIP d'environ 331 nm. Ces valeurs sont légèrement inférieures aux 400 nm rapportés par Guillon *et al* [62] avec la même formulation. L'épaisseur d'un dépôt pour une formulation de MIP donnée, avec un solvant et une viscosité propres, dépend de la vitesse d'enduction et de la durée de polymérisation. La vitesse d'enduction sélectionnée pour les dépôts (5000 rpm) correspond à la vitesse maximale de rotation autorisée par la tournette, de manière à obtenir une couche de polymère la plus fine possible. Des essais de structuration avec différentes durées de polymérisation ont montré la difficulté d'obtenir des couches plus fines. Pour une insolation de 5 s, une épaisseur de l'ordre de 200 nm a été mesurée mais avec une très forte hétérogénéité des motifs à l'échelle de la puce témoignant d'une polymérisation incomplète. Une amélioration de l'homogénéité des motifs est observée à partir de 10 s de polymérisation mais l'épaisseur mesurée est déjà dans ce cas d'environ 293 nm. Au-delà de 20 s de polymérisation, l'épaisseur mesurée est généralement constante autour de 320 nm indiquant donc que le film a atteint son épaisseur maximale. Avec cette formulation, l'obtention de films de MIP d'épaisseur inférieure à 300 nm paraît donc difficilement envisageable en tout cas de manière reproductible.

### 4.5.4 Caractérisations de la morphologie

Des images AFM ont également été réalisées afin de caractériser la morphologie du MIP et du NIP synthétisés (cf. figure 4.10). Au niveau des motifs de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre, la présence d'un réseau de pores pour le MIP et le NIP est en accord avec la morphologie attendue pour des films déposés par *spin-coating* et avec utilisation du PVaC comme co-porogène [24] [53] [62]. Ces pores sont nécessaires afin d'assurer la bonne accessibilité des sites de reconnaissance au sein du MIP. Si les pores semblent moins marqués pour le NIP que pour le MIP, la morphologie globale reste néanmoins similaire. La comparaison des scans AFM obtenus pour des motifs de différentes dimensions met cependant en évidence une différence de morphologie significative en fonction de la taille des motifs. Si les pores sont bien visibles pour un motif de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre, ils sont beaucoup moins marqués dans le cas de motifs de 15  $\mu\text{m}$  de diamètre. L'origine de cette différence de morphologie n'est pas encore identifiée.



**Figure 4.10** Images AFM (scans de  $5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ ) de la morphologie de motifs de MIP et de NIP obtenus par photolithographie.

#### 4.5.5 Validation de la formulation

La structuration du MIP et du NIP ayant été réalisée et caractérisée, les capacités de reconnaissance ainsi que la spécificité d'interaction restent à évaluer.

Après synthèse, l'éluion du template est nécessaire afin de rendre les sites d'interaction présents au sein du MIP disponibles pour la capture de la cible. Selon la nature des interactions template/monomères fonctionnels, l'extraction est classiquement réalisée à l'aide d'un mélange constitué d'un solvant polaire et d'un acide permettant de rompre ces liaisons. Dans ces travaux, la méthode d'extraction a été préalablement validée via la synthèse d'un MIP imprimé directement avec le D-L-Phe (résultats non présentés ici). Une chute de fluorescence d'environ 90 % a pu être observée après extraction témoignant de l'efficacité du protocole. La procédure d'extraction mise en œuvre est la suivante. L'échantillon comportant les motifs de MIP et de NIP est immergé successivement dans trois bains d'une solution de méthanol:acide acétique (MeOH:AcOH, 4:1, v/v) pendant 1 h sous agitation. La solution d'extraction est renouvelée entre chaque bain. La même procédure est ensuite répétée pour rincer l'échantillon à l'aide d'une solution de MeOH. Le rinçage est nécessaire afin d'éliminer toute trace d'AcOH, susceptible d'entrer en compétition avec l'analyte lors de l'interaction.

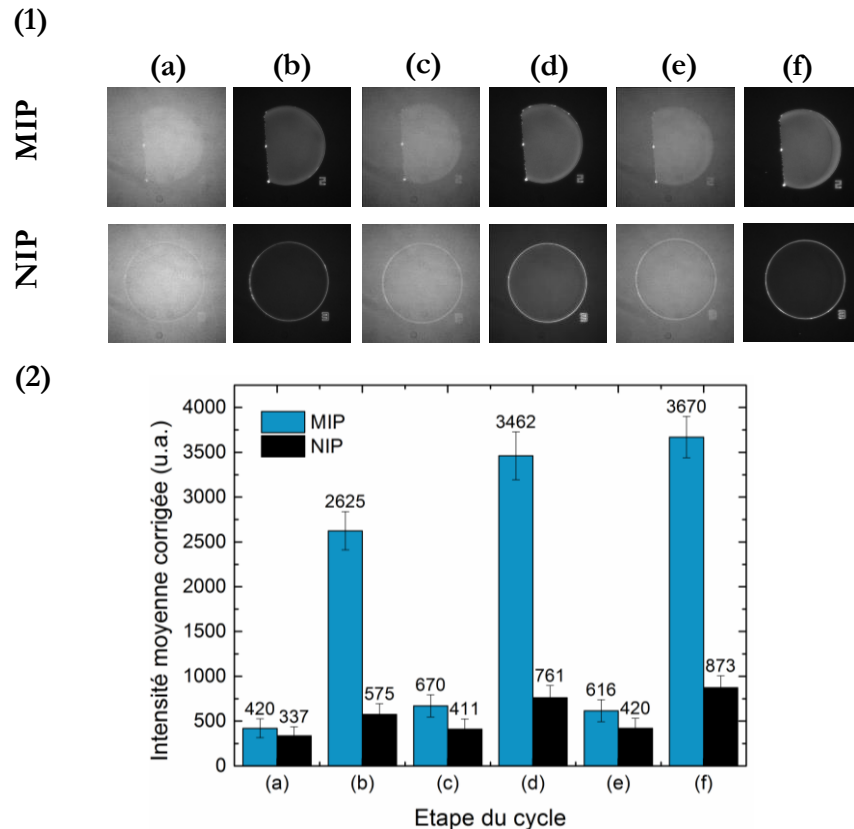
L'interaction est réalisée selon la méthode « *dip-and-dry* ». La puce est immergée dans une solution de D-L-Phe à 10  $\mu\text{M}$  dans de l'ACN pendant 12 h, avant d'être directement séchée sous azote. Afin d'évaluer la robustesse et la fiabilité de la reconnaissance du MIP, les cycles extraction/interaction sont répétés trois fois. A chaque cycle, des caractérisations en fluorescence des motifs de MIP et de NIP sont réalisées avant et après interaction. Les mêmes paramètres d'acquisition sont utilisés pour chaque acquisition (intensité : 100 %, exposition : 5 s, gain : 0). Les résultats obtenus au niveau des motifs circulaires de 250  $\mu\text{m}$  et de 15  $\mu\text{m}$  de diamètre (cf. figure 4.8) sont respectivement rapportés sur les figures 4.11 et 4.12. Les valeurs tracées dans les graphes correspondent à des intensités de fluorescence moyennes corrigées. En bref, l'intensité d'un motif est calculée à partir de la moyenne statistique des intensités  $I_i$  mesurées au niveau de différentes régions d'intérêt (ROIs) prises au niveau des motifs en excluant la zone de surépaisseur en périphérie. Pour le motif de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre, 52 ROIs sont ainsi mesurées (20  $\mu\text{m} \times 20 \mu\text{m}$ ), tandis que pour la matrice de cercles de 15  $\mu\text{m}$  de diamètre 57 ROIs (10  $\mu\text{m} \times 10 \mu\text{m}$ ) sont mesurées (1 ROI par cercle). Une valeur moyenne d'intensité  $I$  ainsi qu'un écart-type  $\sigma$ , calculé à partir de la dispersion des valeurs de l'ensemble des ROIs, sont obtenus d'après les relations :

$$I = \frac{1}{N} \sum_{i=1}^N I_i \quad \sigma = \sqrt{\frac{1}{N-1} \sum_{i=1}^N (I_i - I)^2} \quad (4.1)$$

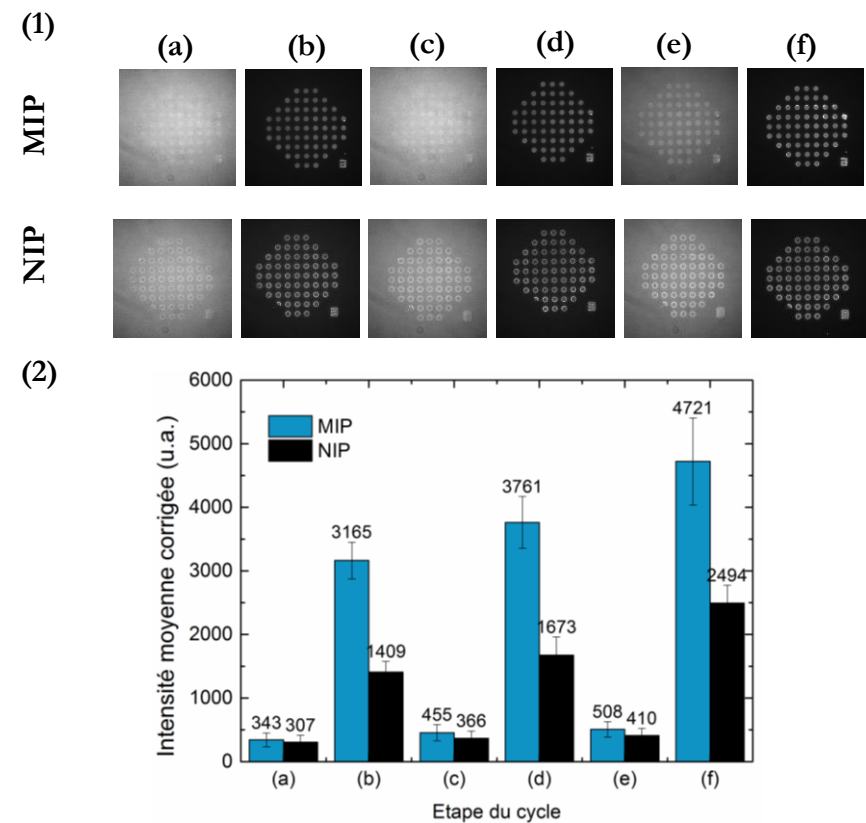
Afin de tenir compte des fluctuations aléatoires de la fluorescence résiduelle de l'échantillon entre les différentes acquisitions, une intensité moyenne du bruit de fond est également déterminée selon la même procédure, en mesurant les intensités de 24 ROIs (14  $\mu\text{m} \times 14 \mu\text{m}$ ) en dehors des motifs. Une valeur moyenne d'intensité  $I_b$  ainsi qu'un écart type  $\sigma_b$  sont obtenus via les mêmes relations (4.1). L'intensité moyenne du bruit de fond  $I_b$  est alors soustraite à l'intensité moyenne d'un motif  $I$  afin d'obtenir une intensité moyenne corrigée  $I_{corr}$ . Les barres d'erreur des graphes des figures 4.11 et 4.12 correspondent à l'écart-type corrigé  $\sigma_{corr}$ , obtenu à partir de la somme quadratique des écarts-types  $\sigma$  et  $\sigma_b$ . Les relations utilisées pour calculer  $I_{corr}$  et  $\sigma_{corr}$  sont :

$$I_{corr} = I - I_b \quad \sigma_{corr} = \sqrt{\sigma^2 + \sigma_b^2} \quad (4.2)$$

Quel que soit le motif, les intensités de fluorescence mesurées montrent une différence d'interaction significative entre le MIP et le NIP après incubation du D-L-Phe, et ce au cours des différents cycles d'extraction/interaction avec une bonne répétabilité dans les niveaux de fluorescence. Après chaque étape d'extraction, le MIP retrouve un niveau de fluorescence comparable au NIP confirmant également l'efficacité du protocole d'extraction. La spécificité d'interaction, définie comme le rapport entre les niveaux d'interaction du MIP et du NIP, est d'environ 4 pour le motif de 250  $\mu\text{m}$  de diamètre ce qui est similaire aux résultats obtenus par Guillon *et al* [62]. En revanche, une spécificité plus faible ( $\sim 2$ ) est observée pour les motifs de 15  $\mu\text{m}$  de diamètre, qui pourrait s'expliquer par la différence de morphologie observée sur les caractérisations AFM.



**Figure 4.11** Images (1) et intensités (2) de fluorescence de motifs circulaires de MIP et de NIP (250  $\mu\text{m}$  de diamètre) au cours des cycles d'extraction et d'interaction avec le D-L-Phe à 10  $\mu\text{M}$  : (a) après extraction 1, (b) après interaction 1, (c) après extraction 2, (d) après interaction 2, (e) après extraction 3, (f) après interaction 3. Les intensités de fluorescence correspondent aux intensités moyennes corrigées, *i.e.* après soustraction du bruit de fond (objectif :  $\times 20$ , intensité : 100 %, exposition : 5 s, gain : 0).



**Figure 4.12** Images (1) et intensités (2) de fluorescence de matrices de motifs circulaires de MIP et de NIP (15  $\mu\text{m}$  de diamètre) au cours des cycles d'extraction et d'interaction avec le D-L-Phe à 10  $\mu\text{M}$  : (a) après extraction 1, (b) après interaction 1, (c) après extraction 2, (d) après interaction 2, (e) après extraction 3, (f) après interaction 3. Les intensités de fluorescence correspondent aux intensités moyennes corrigées, *i.e.* après soustraction du bruit de fond (objectif :  $\times 20$ , intensité : 100 %, exposition : 5 s, gain : 0).

### 4.5.6 Bilan des résultats obtenus

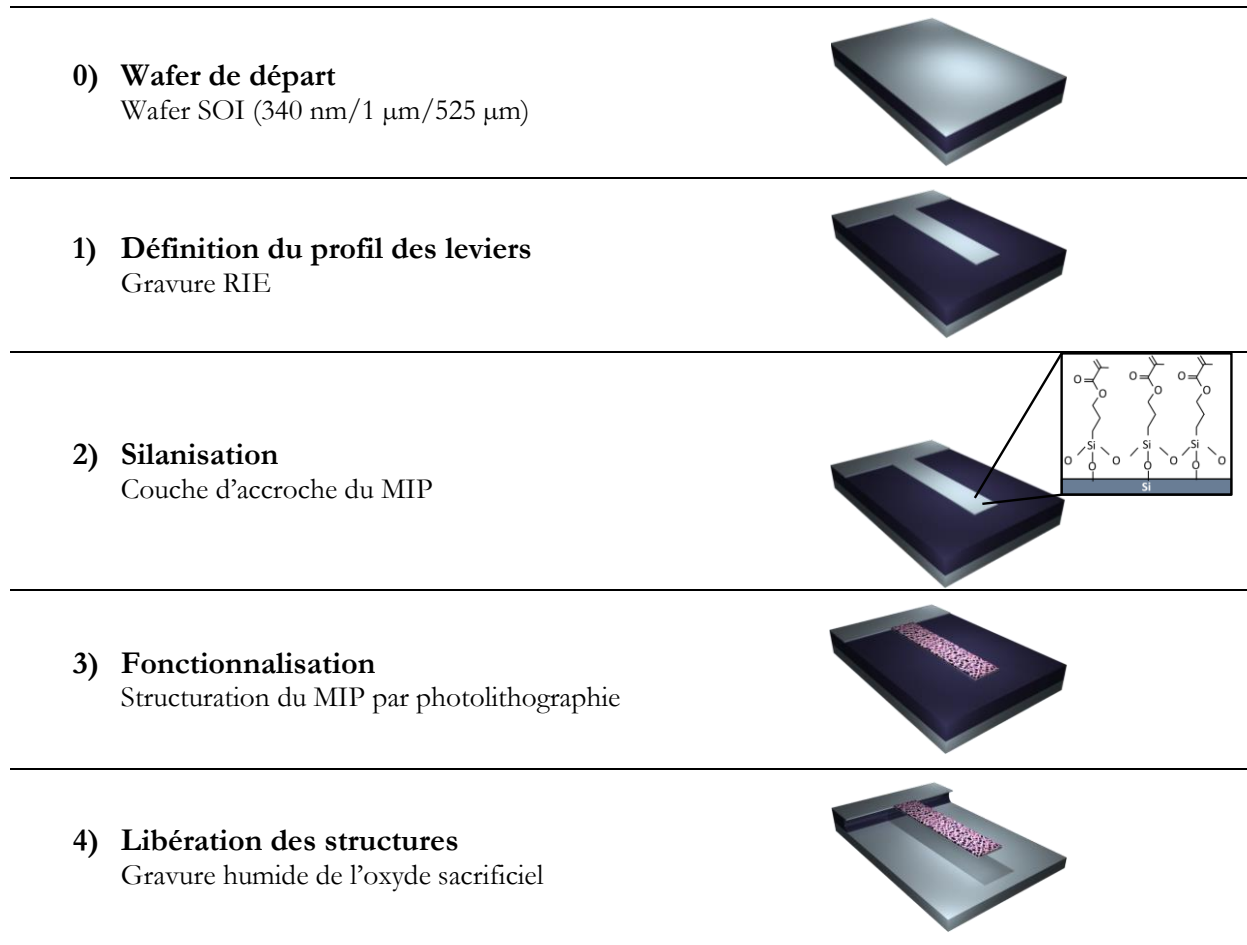
De premiers essais ont permis de structurer des motifs géométriques simples de MIP et de NIP sur des substrats plans silanisés. La structuration par photolithographie a pu être validée avec la formulation sélectionnée pour différentes dimensions de motifs, et avec des caractéristiques comparables en termes d'épaisseur et de morphologie entre MIP et NIP. Si la présence de différents types de défauts a pu être observée au cours des essais de structuration, ils ne constituent pas à priori un verrou technologique majeur dans la suite de cette étude dont la finalité n'est pas l'optimisation de la formulation ou du procédé de structuration mais bien l'étude de la faisabilité d'intégration d'une couche de MIP à la surface de nanoleviers. Des caractérisations en fluorescence ont permis de vérifier la capacité de détection de l'analyte D-L-Phe du MIP synthétisé ainsi que d'évaluer la spécificité d'interaction par rapport à un polymère contrôle non imprimé (NIP). Ces résultats démontrent donc la viabilité de la formulation sélectionnée et permettent de valider le premier objectif de notre démarche expérimentale.

## 4.6 Intégration du MIP D-L-Phe sur des leviers NEMS

L'objectif suivant de notre feuille de route est d'évaluer la faisabilité de mise en œuvre d'une stratégie d'intégration du MIP D-L-Phe (et du NIP associé) sur des nanoleviers avec la formulation précédemment validée.

### 4.6.1 Approche envisagée

La stratégie d'intégration du MIP envisagée est une approche d'intégration « process-compatible » visant à structurer la couche sensible à la surface de nanoleviers avant leur libération. Les étapes principales de cette approche sont schématisées sur la figure 4.13. Contrairement à une approche de fonctionnalisation post-fabrication, l'intérêt de cette stratégie est de simplifier l'étape de structuration de la couche sensible en évitant de manipuler des structures mécaniques libérées et donc fragiles.



**Figure 4.13** Principales étapes de l'approche de fonctionnalisation « process-compatible » de nanoleviers avec une couche de MIP.

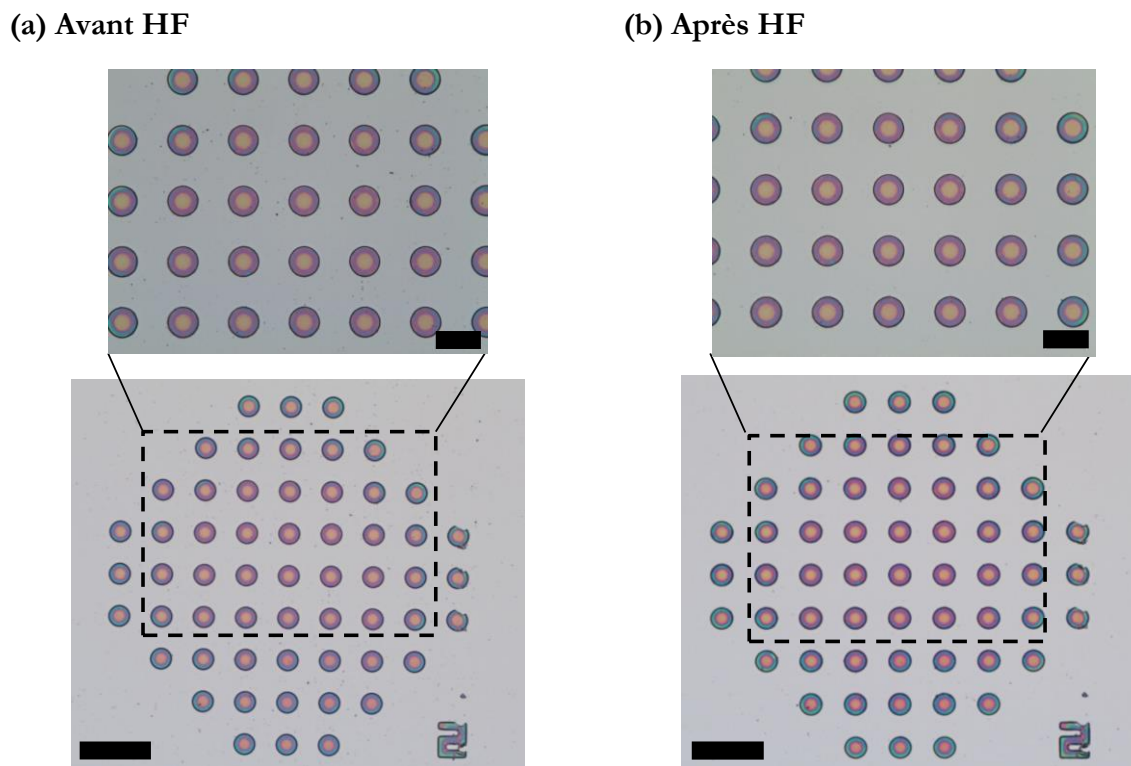
#### 4.6.2 Evaluation de la stabilité du MIP face au HF

Le succès de l'approche envisagée repose étroitement sur la compatibilité du polymère avec la méthode de libération par gravure humide. Si la grande stabilité physico-chimique des MIPs est l'un des atouts principalement mis en avant dans la littérature pour promouvoir l'utilisation de ces polymères, la résistance des MIPs à une exposition à l'acide fluorhydrique (HF), réactif chimique utilisé pour la libération des structures, n'a à notre connaissance jamais été rapportée. Afin d'évaluer la faisabilité de mise en œuvre de notre approche d'intégration, cette question doit être préalablement adressée.

Pour cela, l'échantillon précédent ayant permis de valider la formulation ainsi que les capacités de reconnaissance du MIP est utilisé comme témoin afin de simuler les conditions de gravure. L'échantillon est immergé dans un bain d'HF tamponné (BOE 7-1), mélange d'acide fluorhydrique (HF) et de fluorure d'ammonium ( $\text{NH}_4\text{F}$ ) selon un ratio volumique HF: $\text{NH}_4\text{F}$  de 7:1, pendant une durée de 30 min. Les caractérisations optiques des motifs avant et après exposition à la solution de gravure sont présentées sur la figure 4.14. Aucune différence

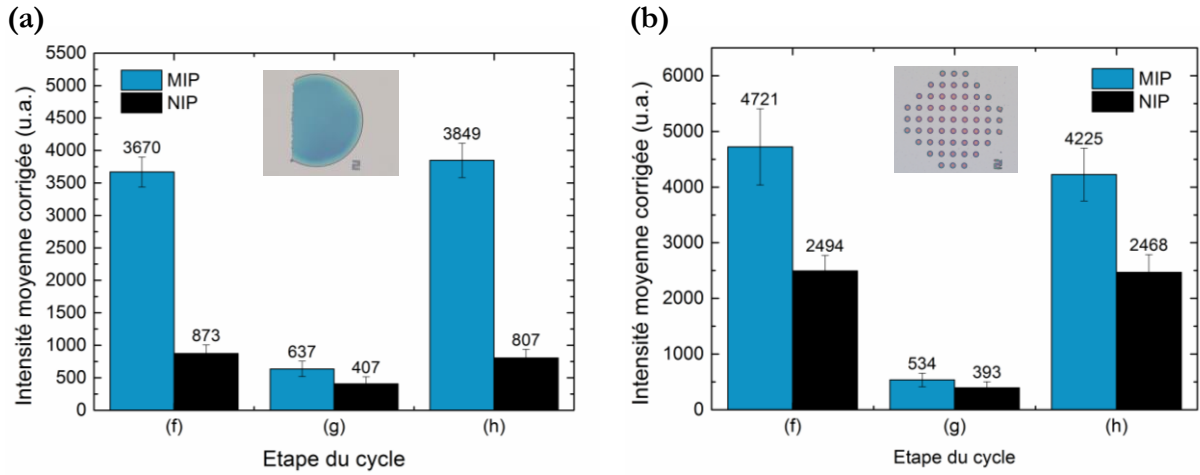


macroscopique n'est observable sur les images, témoignant de la bonne stabilité du MIP face au HF ainsi que de la qualité du traitement d'adhésion.



**Figure 4.14** Images optiques des motifs circulaires de MIP avant (a) et après (b) immersion dans une solution d'HF tamponné pendant 30 min. Les barres d'échelles des agrandissements correspondent à une distance de 20  $\mu\text{m}$  tandis que les barres d'échelles des images inférieures correspondent à une distance de 50  $\mu\text{m}$ .

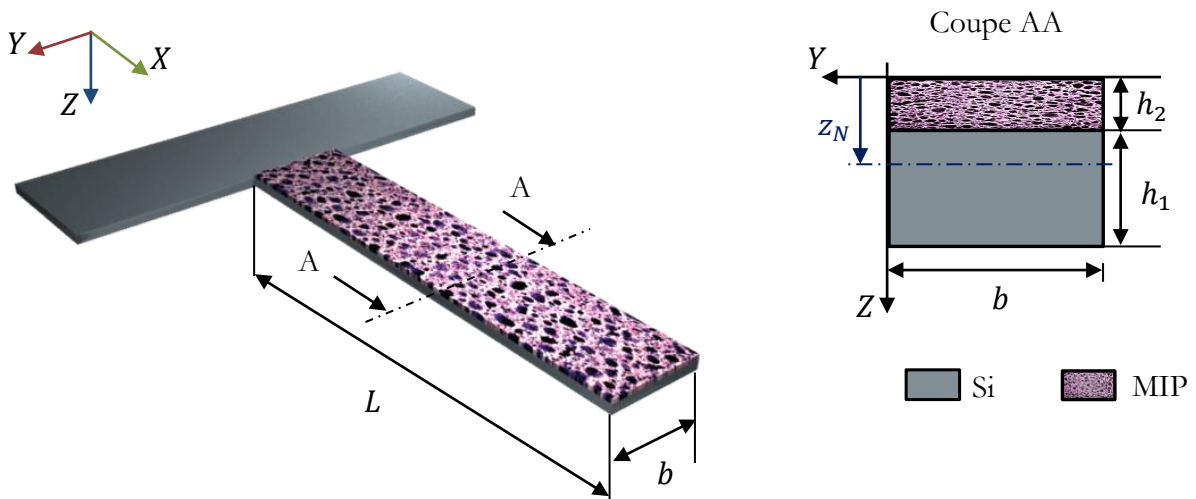
Afin de s'assurer de l'absence de détérioration microscopique, et notamment de la préservation des empreintes garant des capacités de reconnaissance du polymère, un essai d'interaction est mis en œuvre selon le même protocole que celui décrit section 4.5.5. Les résultats du test sont présentés sur la figure 4.15. Les niveaux d'intensité de fluorescence mesurées au niveau des différents motifs de MIP ne montrent aucune variation significative suite à l'interaction avec du D-L-Phe à 10  $\mu\text{M}$  avant et après immersion dans un bain d'HF tamponné pendant 30 min. De même, la spécificité d'interaction est préservée puisque la même différence entre la fluorescence du MIP et du NIP est également observée. Ces résultats témoignent de la préservation de l'intégrité physique ainsi que des capacités de reconnaissance du MIP suite à une exposition à la solution de gravure chimique employée pour la libération des nanoleviers. Ils démontrent donc la faisabilité de l'approche d'intégration « process-compatible » envisagée, et confirment l'avantage indéniable de stabilité physico-chimique de ces récepteurs synthétiques en comparaison de leurs homologues biologiques.



**Figure 4.15** Evaluation de l'intégrité des capacités de reconnaissance de motifs de MIP (a) de 250 µm de diamètre et (b) de 15 µm de diamètre après immersion dans un bain d'HF tamponné pendant 30 min pour la détection du D-L-Phe (10 µM): (f) après interaction, (g) après HF et extraction, (h) après interaction. Les intensités de fluorescence correspondent aux intensités moyennes corrigées, *i.e.* après soustraction du bruit de fond (objectif :  $\times 20$ , intensité : 100 %, exposition : 5 s, gain : 0).

### 4.6.3 Design

La géométrie des leviers, les grandeurs caractéristiques ainsi que l'empilement bicouche faisant apparaître la couche de polymère sont représentées sur la figure 4.16.



**Figure 4.16** Géométrie d'un levier faisant apparaître les notations caractéristiques et l'empilement bicouche considéré.

Les MIPs sont des matériaux viscoélastiques caractérisés par un module d'élasticité complexe, qui, dans le cadre des notations de la figure 4.16, s'écrit selon :

$$E_2(\omega) = E_2'(\omega) + jE_2''(\omega) \quad (4.3)$$

La composante réelle  $E_2'$  appelée module de conservation caractérise la rigidité du matériau viscoélastique et sa capacité à stocker et à restituer une énergie mécanique, tandis que la partie imaginaire  $E_2''$  correspond au module de perte et est associé à la dissipation du polymère sous forme de chaleur. Ces deux paramètres ont une dépendance en fréquence. La raideur équivalente du levier hybride élastique/viscoélastique est une grandeur complexe définie par :

$$D = (EI)_{eq} = E_1 I_1 + E_2'(\omega) I_2 + jE_2''(\omega) I_2 \quad (4.4)$$

La fréquence de résonance naturelle fondamentale du levier est obtenue à partir de la partie réelle de la raideur complexe selon [71]:

$$f_0 = \frac{1.875^2}{2\pi L^2} \sqrt{\frac{E_1 I_1 + E_2' I_2}{m_L}} \quad (4.5)$$

Où :  $L$  la longueur du levier (en m),  $E_1$  le module d'élasticité du silicium (en Pa),  $E_2'$  la composante réelle du module d'élasticité du polymère (en Pa),  $m_L = b(\rho_1 h_1 + \rho_2 h_2)$  la masse linéique du levier bicouche (en kg/m), avec  $b$  la largeur du levier (en m),  $\rho_1$  et  $\rho_2$  désignant respectivement la masse volumique du silicium et du polymère (en kg/m<sup>3</sup>), et  $h_1$  et  $h_2$  désignant respectivement l'épaisseur du silicium et du polymère (en m). Les moments quadratiques d'inertie  $I_1$  et  $I_2$  (en m<sup>4</sup>) associés à chacune des couches par rapport à l'axe neutre du levier sont définis par [71]:

$$I_1 = \frac{bh_1^3}{12} + bh_1 \left( z_N - h_2 - \frac{h_1}{2} \right)^2 \quad (4.6)$$

$$I_2 = \frac{bh_2^3}{12} + bh_2 \left( z_N - \frac{h_2}{2} \right)^2$$

Où :  $z_N$  est la position de l'axe neutre du levier (en m) au sein de la section transverse, avec la partie supérieure de l'empilement prise comme référence des altitudes, définie par [71]:

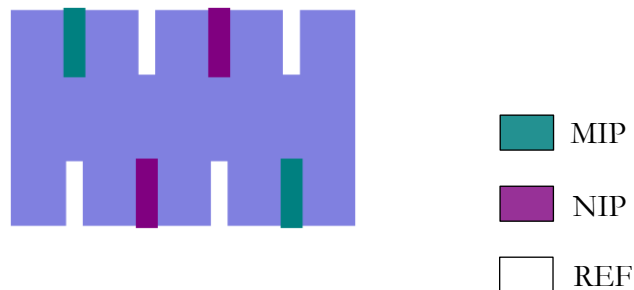
$$z_N = \frac{h_2}{2} + \frac{h_1 E_1}{2} \frac{(h_1 + h_2)(h_1 E_1 + h_2 E_2')}{(h_1 E_1 + h_2 E_2')^2 + h_2^2 E_2''^2} \quad (4.7)$$

A ce stade de notre étude, le dimensionnement des nanoleviers pour la détection de l'analyte est difficilement réalisable. En effet, si les essais de structuration par photolithographie rapportés précédemment ont montré qu'une couche de MIP avec une épaisseur de l'ordre de 300 nm était envisageable avec la formulation sélectionnée, les paramètres matériaux du MIP, tels que la masse volumique  $\rho_2$  ainsi que les composantes du module d'élasticité complexe  $E_2$ , sont en revanche inconnus. De manière générale, ce type de données est relativement absent de la littérature témoignant de l'intérêt potentiel des résonateurs comme outils analytiques de caractérisation des

propriétés mécaniques de ces matériaux, sous réserve de la maîtrise d'un procédé de structuration et d'intégration.

Dans ces travaux, des dimensions de nanoleviers similaires à celles employées pour la détection de molécules biologiques ont été choisies (cf. chapitre 3). Le design a néanmoins été modifié afin de prendre en compte les conditions de structuration du MIP. Ce dernier devant être polymérisé sous azote, le choix d'un équipement de photolithographie compatible est directement conditionné par ce critère. La lithographie optique par projection étant inenvisageable, les dimensions latérales minimales théoriquement atteignables sont donc imposées par la limite de diffraction en photolithographie classique, à savoir 1-2  $\mu\text{m}$ . Une largeur  $b$  de 4  $\mu\text{m}$  et une longueur  $L$  de 15  $\mu\text{m}$  ont donc été choisies pour la réalisation des nanoleviers. L'approche de structuration proposée permet d'envisager la fonctionnalisation séquentielle des résonateurs. Pour des essais de détection, la présence sur la même puce de leviers fonctionnalisés et de leviers « contrôle » est une configuration généralement désirable afin d'évaluer la spécificité de l'interaction, tout en garantissant que les deux types de leviers soient soumis aux mêmes conditions expérimentales. Dans le présent design, deux types de contrôle sont implémentés au voisinage des leviers fonctionnalisés MIP: des leviers de référence sans polymère et des leviers fonctionnalisés avec une couche de NIP. La figure 4.17 illustre les deux configurations de réseaux de leviers intégrées sur une même puce. Des mirettes permettant l'alignement des différents niveaux de photolithographie ainsi que les mêmes motifs géométriques de tests que ceux présentés section 4.5.3 sont implémentés au niveau de chaque puce pour permettre de réaliser des mesures d'épaisseur.

**Configuration A**



**Configuration B**



**Figure 4.17** Illustration des deux configurations implémentées dans le design montrant la position relative des différents leviers fonctionnalisés MIP, des leviers contrôle fonctionnalisés NIP et des leviers de référence dépourvus de polymère.

#### 4.6.4 Procédé de fabrication

Un wafer SOI (*Silicon-On-Insulator*: Si/SiO<sub>2</sub>/Si (340 nm/1 µm/525 µm), Soitec Inc.) de diamètre 100 mm d'orientation (100) et de type P est utilisé pour la fabrication des nanoleviers. Ce type de substrat permet une libération des structures par gravure chimique de l'oxyde sacrificiel. Le procédé de fabrication comporte quatre étapes principales schématisées sur la figure 4.13.

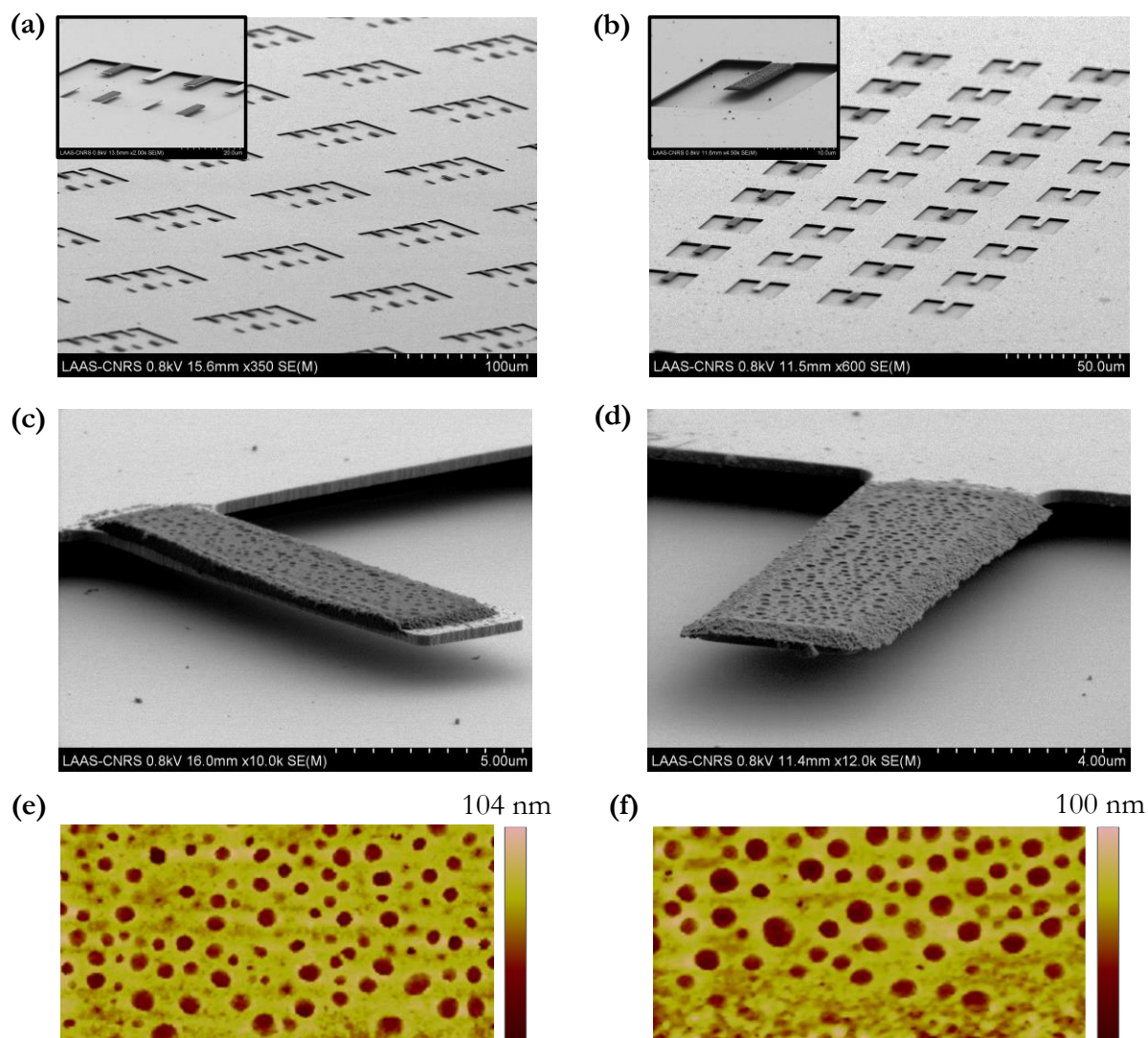
Après nettoyage du wafer par plasma oxygène (PVA TePla 300, 1000 ml/min (O<sub>2</sub>), 800 W, 5 min), les profils des nanoleviers ainsi que les mires d'alignement sont définis par photolithographie (MA-150, Karl Suss Inc.) en mode vacuum contact. Du fait des faibles dimensions latérales des nanoleviers (4 µm de large), l'enduction préalable d'une couche anti-réfléctive de BARC (AZ® Barli® II 200) ainsi que l'utilisation d'optiques de correction d'illumination (MO Optics, Karl Suss Inc.) sont nécessaires afin de réduire la distorsion des motifs du fait des phénomènes de diffraction, et pour obtenir des profils de leviers acceptables. Les motifs définis dans le masque en résine sont ensuite transférés dans le silicium par gravure ionique réactive (AMS4200, Alcatel Inc.) avec arrêt sur la couche d'oxyde enterré. Le wafer est découpé en puces individuelles de 14 mm × 14 mm qui sont silanisées par immersion dans une solution de 3-(triméthoxysilyl)propyl méthacrylate à 1 % en volume dans du toluène, selon la procédure décrite dans la section 4.5.3. Deux étapes séquentielles de photolithographie sont ensuite réalisées afin d'intégrer les couches de MIP et de NIP à la surface des nanoleviers selon le design prévu, et à partir des paramètres de procédé présentés section 4.5.3.

Les leviers sont ensuite libérés par gravure chimique de l'oxyde sacrificiel dans un bain d'HF tamponné pendant une durée de 30 min. Un séchage par CO<sub>2</sub> supercritique (Automegasamdri®-915B, Tousimis Inc.) est réalisé afin d'éviter le phénomène de « *sticking* ». Ce problème fréquent dans le domaine des MEMS [72] correspond au phénomène d'adhésion d'une structure libérée par gravure chimique d'une couche sacrificielle avec la surface sous-jacente du substrat en silicium. Il se produit au moment du séchage, suivant un rinçage à l'eau DI ou avec un autre solvant de forte tension superficielle. L'évaporation du solvant entraîne la formation d'un ménisque entre la surface inférieure du levier et le substrat, dont la réduction de volume est responsable de la déflexion de la structure par le biais de forces capillaires. Une fois le contact réalisé, le collage est irréversible si les forces intermoléculaires d'adhésion sont supérieures aux forces de rappel élastiques. Le principe du séchage supercritique est d'éviter la transition directe liquide-gaz, et l'apparition des tensions superficielles associées, par contournement du point critique. En bref, le volume de solvant dans lequel baigne l'échantillon est remplacé par du CO<sub>2</sub> liquide, choisi pour sa faible tension de surface et ses faibles valeurs de pression et de température critiques. Des cycles de pression et de température sont ensuite appliqués pour permettre le passage de l'état liquide à l'état supercritique et enfin à l'état gazeux par contournement du point critique du CO<sub>2</sub>. L'absence de collage des structures et de dégradation de la couche polymérique sont contrôlées par des caractérisations optiques. La nécessité de réaliser cette étape est directement dépendante de la raideur des structures.

Avant de procéder à l'extraction du template, un dernier traitement est encore essentiel. En effet, l'exposition des leviers libérés à différents solvants utilisés durant les protocoles d'extraction

et d'interaction a révélé un collage systématique des structures suite à l'immersion dans la solution d'extraction, et plus précisément du fait de la présence d'acide acétique au sein du mélange. Ce composé étant indispensable, et la mise en œuvre d'un séchage supercritique après chaque étape d'extraction étant inenvisageable en pratique, une autre alternative a dû être étudiée. Une chimie de surface basée sur une silanisation FDTS (perfluorododecyltrichlorosilane) en phase vapeur (Orbis<sup>TM</sup> 1000 module Aurix<sup>TM</sup>, Memstar Inc.) destinée à passiver les surfaces en silicium a été finalement retenue. Ce procédé rapide et simple à mettre en œuvre (40 Torr, 40 °C, H<sub>2</sub>O : 100 sccm, FDTS : 50 sccm, 2 min) permet d'obtenir une monocouche auto-assemblée par réaction avec des groupements hydroxyles et formation de liaisons covalentes siloxanes. Grâce à sa longue chaîne fluorée, cette molécule de formule chimique F<sub>17</sub>C<sub>10</sub>H<sub>4</sub>SiCl<sub>3</sub> permet de réduire l'énergie de surface du silicium et ainsi empêcher le collage des nanostructures même en cas de contact avec le substrat. Des mesures d'angles de goutte de l'ordre de 108° sont typiquement obtenues après silanisation. La mise en œuvre de ce traitement a permis d'assurer l'absence de collage des structures avec un rendement proche de 100 %. Ici encore la nécessité de réalisation de cette étape est directement dépendante de la raideur des structures.

Des résultats d'intégration de couches de MIP et de NIP à la surface de nanoleviers sont présentés figure 4.18. Les images MEB montrent la qualité d'alignement des couches de polymères à l'échelle de plusieurs leviers au sein d'une même puce et attestent de l'intégrité physique des structures mécaniques. Contrairement aux résultats obtenus précédemment, une morphologie poreuse est clairement visible sur les caractérisations AFM (cf. figure 4.18 (b)) en dépit des petites dimensions des motifs. Idéalement, des caractérisations intermédiaires plus systématiques après chaque étape du procédé de fabrication permettraient de suivre l'évolution de l'état de surface des couches polymériques. De manière générale, des épaisseurs de film moins importantes que les 300 nm obtenus précédemment sont également observées, avec des variations relativement marquées d'un échantillon à l'autre (entre 60 nm et 300 nm). La présence d'un relief autour des leviers lors de l'induction du polymère pourrait expliquer en partie ces différences observées, mais à ce stade elles restent relativement difficiles à interpréter du fait de la non optimisation du procédé de dépôt. Ces premiers résultats restent néanmoins encourageants et particulièrement prometteurs quant au potentiel d'intégration de notre approche pour la fonctionnalisation « process-compatible » de résonateurs.



**Figure 4.18** Images MEB de premiers résultats d'intégration de couches de MIP et de NIP à la surface de nanoleviers (largeur  $4\ \mu\text{m}$ , longueur  $14\ \mu\text{m}$ ) au niveau des deux types de réseaux implémentés : (a) configuration A et (b) configuration B. Gros plans d'un levier fonctionnalisé MIP (c) et d'un levier fonctionnalisé NIP (d). Images AFM (scans de  $2.5\ \mu\text{m} \times 5\ \mu\text{m}$ ) montrant la morphologie poreuse des films de MIP (e) et de NIP (f).

#### 4.6.5 Bilan des résultats obtenus

Dans un premier temps, la stabilité physico-chimique du MIP synthétisé a été évaluée afin de s'assurer de la compatibilité d'utilisation du polymère avec l'approche d'intégration envisagée. Des caractérisations optiques et un essai de détection du D-L-Phe ont permis de démontrer la préservation de l'intégrité physique, de la capacité de reconnaissance et de la spécificité d'interaction du MIP après une exposition de 30 min dans une solution d'HF. La structuration séquentielle d'une couche de MIP et de NIP à la surface de nanoleviers avant libération a ensuite été mise en œuvre. Une étape de silanisation FDTS a dû être intégrée au procédé de fabrication afin d'adresser le problème de collage des structures libérées du fait de la faible raideur des

structures mécaniques. Des caractérisations MEB et AFM post-fabrication ont mis en évidence l'intégrité physique des couches de MIP et de NIP ainsi que des leviers. Si une optimisation du procédé sera dans le futur nécessaire afin de maîtriser la reproductibilité des dépôts, les premiers résultats d'intégration obtenus sont particulièrement encourageant dans la fonctionnalisation « process-compatible » de résonateurs, approche qui aurait été totalement inenvisageable sans la robustesse de ces polymères.

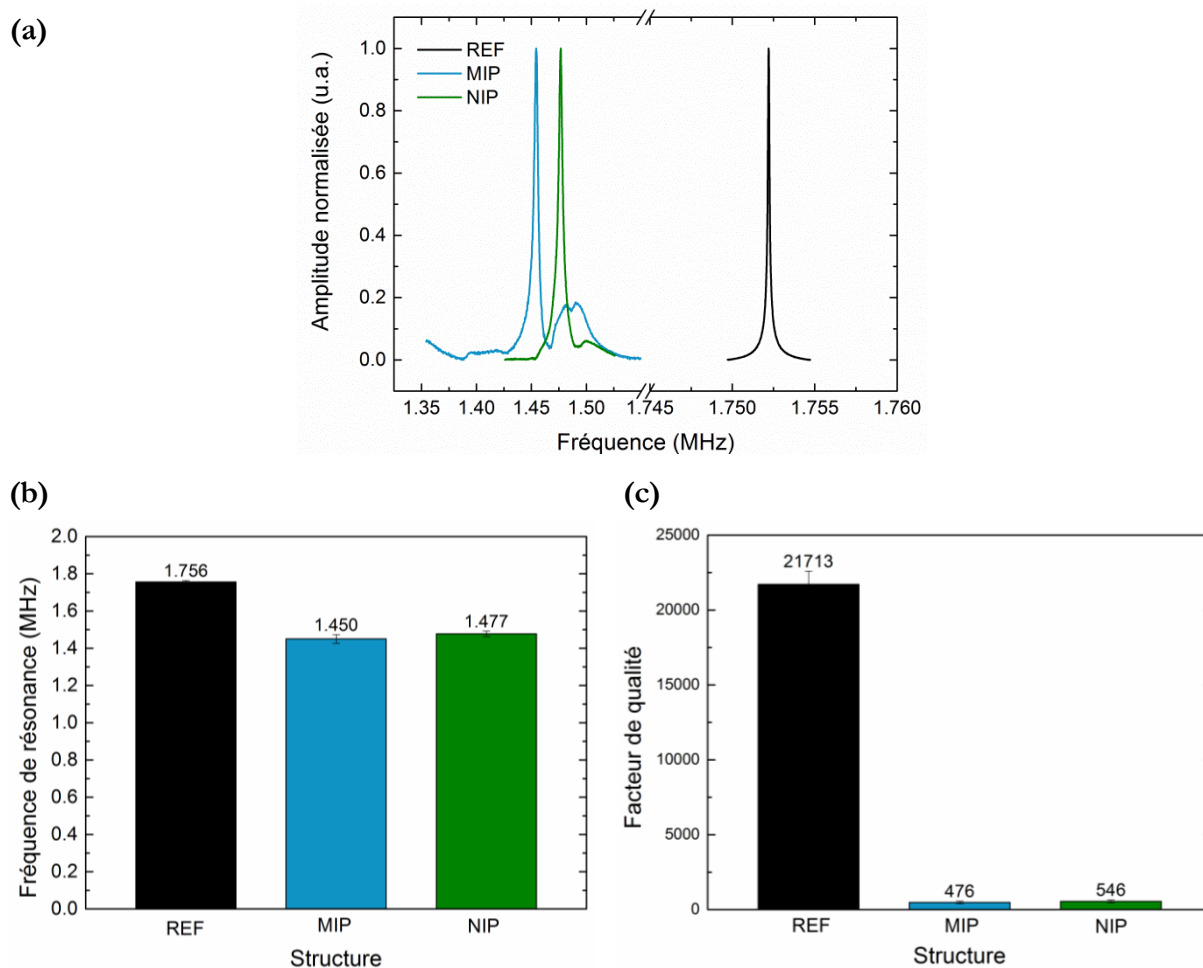
## 4.7 Evaluation de l'intégrité mécanique des leviers et essais de détection

Le dernier objectif de notre démarche expérimentale qui permettrait de valider une première preuve de concept est d'une part de s'assurer de l'intégrité mécanique des structures fonctionnalisées, et d'autre part évaluer les capacités de détection des leviers fonctionnalisés.

Des mesures de fréquence de résonance sous vide primaire ( $6 \times 10^{-2}$  mbar) et à température ambiante ont été réalisées sur différents leviers à l'issue du procédé de fabrication et de l'extraction du template, selon la procédure décrite section 4.5.5. Des courbes de résonance typiques de leviers fonctionnalisés MIP, NIP et d'un levier de référence (sans polymère) sont présentées sur le graphe (a) de la figure 4.19. La mesure des fréquences de résonance témoigne de l'intégrité mécanique des structures fonctionnalisées après l'intégration de la couche sensible. Des mesures réalisées au niveau de 8 leviers de chaque type (MIP, NIP et référence) apportent également une estimation statistique des décalages de fréquence de résonance induits par la présence d'une couche de polymère et la chute du facteur de qualité associée. Pour chaque acquisition, une méthode de fitting non linéaire de minimisation des moindres carrés implémentée dans le logiciel Origin, basée sur l'algorithme Levenberg-Marquardt, est utilisée afin d'extraire les valeurs de fréquence de résonance et de facteur de qualité. Les valeurs moyennes ainsi que les écarts types correspondant aux mesures sont rapportées au niveau des graphes (b) et (c) de la figure 4.19.

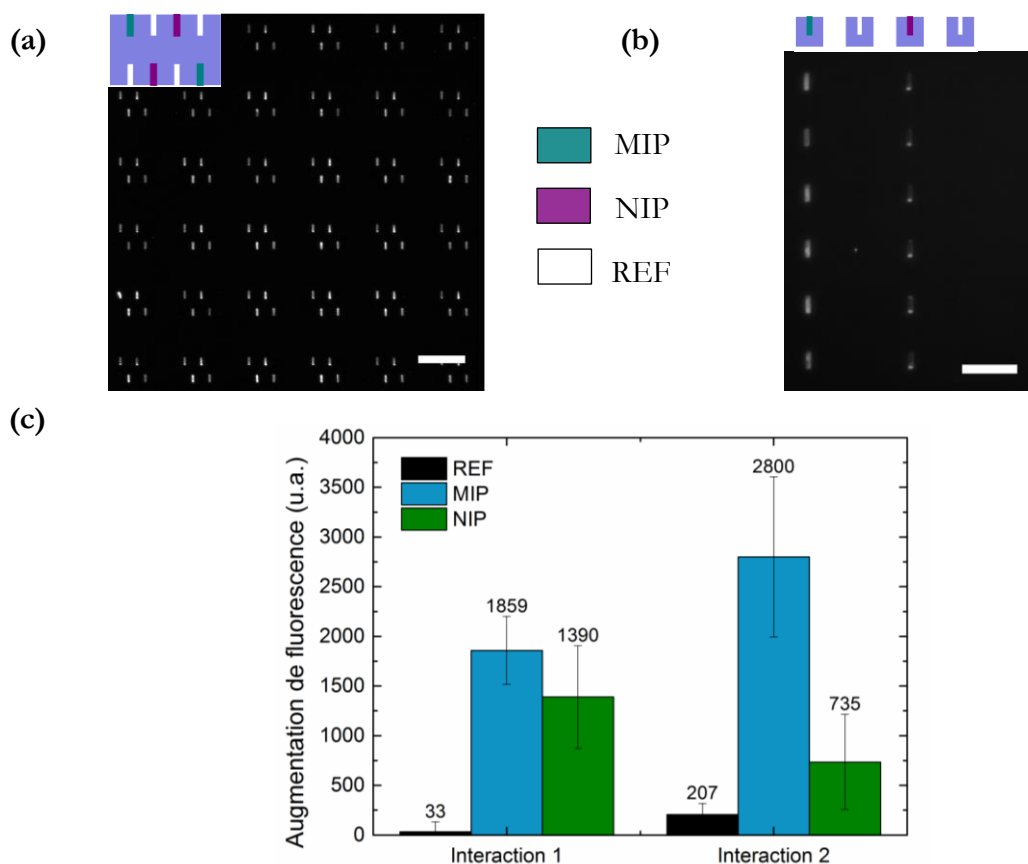
Si les différences MIP-NIP restent négligeables, des écarts importants sont observés entre les leviers fonctionnalisés et les leviers de référence. Une chute de la fréquence de résonance de l'ordre de 17 % pour le MIP et de l'ordre de 16 % pour le NIP sont ainsi constatés, témoignant d'un effet prédominant d'ajout de masse du polymère sur le comportement dynamique du résonateur. La variation la plus importante concerne la chute spectaculaire du facteur de qualité, d'un facteur d'environ 40, associée aux pertes viscoélastiques au sein de la couche polymérique. Une telle chute était difficilement prédictible et pourrait constituer une sérieuse limitation au niveau de la détection par ajout de masse d'analytes de faible poids moléculaire. Si le facteur de qualité augmente théoriquement avec la masse du résonateur, et donc à priori avec l'épaisseur du polymère, la nature viscoélastique de la couche a un effet inverse. Dufour *et al* [71] rapportent une dépendance directe de l'amortissement viscoélastique avec l'épaisseur de couche, dont l'optimisation peut toutefois en limiter l'impact.





**Figure 4.19** Résultats de caractérisations gravimétriques réalisées à l'issue du procédé de fabrication. (a) Courbes de résonance typiques de structures fonctionnalisées MIP, NIP et de référence (sans polymère) obtenues sous vide primaire. (b) Valeurs moyennes et écarts types de fréquence de résonance et (c) de facteur de qualité obtenues à partir de la mesure de 8 structures de chaque type sur un même échantillon.

Des essais de détection du D-L-Phe sont ensuite mis en œuvre, et les résultats d'interaction sont dans un premier temps mesurés par fluorescence. Le graphe de la figure 4.20 représente l'augmentation moyenne de fluorescence au niveau de 6 leviers de chaque type (MIP, NIP et REF) présents au sein du réseau de configuration B (cf. figure 4.20 (b)), à l'issue de deux cycles d'extraction et d'interaction. La procédure expérimentale est identique à celle décrite section 4.5.5, à l'exception de la concentration de la cible D-L-Phe, ici de 100  $\mu\text{M}$ . De manière générale, on observe une fluorescence significativement supérieure au niveau des leviers fonctionnalisés par rapport aux leviers de référence après chaque interaction. En revanche, la sélectivité d'interaction est beaucoup moins marquée que dans les expériences précédentes. La différence MIP/NIP est d'autant plus difficile à caractériser du fait de la variabilité des niveaux de fluorescence entre les interactions. L'optimisation des conditions de dépôt et de la formulation de MIP utilisées devrait permettre d'améliorer la sélectivité.



**Figure 4.20** Résultats d'essais de détection du D-L-Phe obtenus en microscopie en fluorescence. Images en fluorescence du réseau de leviers (a) en configuration A (objectif :  $\times 10$ , intensité : 100 %, exposition : 3 s, gain : 0, barre d'échelle : 100  $\mu\text{m}$ ) et (b) en configuration B (objectif :  $\times 20$ , intensité : 100 %, exposition : 3 s, gain : 0, barre d'échelle : 50  $\mu\text{m}$ ) après interaction avec une solution de D-L-Phe à 100  $\mu\text{M}$  dans de l'ACN. (c) Graphe de l'augmentation moyenne de l'intensité de fluorescence corrigée (après soustraction du bruit de fond) du MIP, du NIP et de la référence (levier sans polymère) mesurées au niveau de 6 leviers du réseau après deux essais d'interaction avec le D-L-Phe.

En parallèle des caractérisations en fluorescence, des caractérisations gravimétriques ont également été réalisées. A ce stade de notre étude, les résultats obtenus n'ont toutefois pas encore permis de valider la détection de la cible par mesure du décalage de fréquence de résonance. De faibles variations de fréquence de résonance, de l'ordre de 1 kHz ( $< 0.01\%$ ), sont typiquement observées rendant difficile la discrimination des variations résultant d'un ajout de masse et de celles issues de la mesure. Les décalages fréquentiels mesurés semblent relativement aléatoires entre les structures d'un même échantillon, et fluctuent de manière non reproductible au niveau d'un même levier entre différents essais de détection. Des tendances sont donc très difficiles à dégager, d'autant plus que contrairement à la fluorescence aucune sélectivité MIP/référence n'est observée. Cela reste toutefois cohérent avec l'écart important des valeurs de facteur de qualité entre les structures de référence et les structures fonctionnalisées, les pertes viscoélastiques affectant grandement la sensibilité de détection de ces dernières. De plus, notre approche « *dip-*

*and-dry* » présente plusieurs inconvénients majeurs, dont notamment l'absence d'informations sur l'interaction pendant l'étape d'incubation ou encore l'aspect relativement aléatoire de l'état de l'échantillon lors de sa sortie de la solution d'incubation et après séchage. Ces limitations peuvent s'avérer problématiques d'autant plus si la finalité est de détecter des molécules de faibles poids moléculaires, comme c'est le cas ici (398.5 g/mol pour le D-L-Phe, en comparaison de 150 000 g/mol pour un anticorps). Malheureusement, l'absence de moyens actuels permettant de réaliser une détection en temps réel rend difficile la mise en œuvre d'essais de détection dans des conditions optimales.

Si le dernier objectif de notre étude n'a que partiellement été atteint, la préservation de l'intégrité mécanique des structures et les bons résultats de structuration de la couche sensible obtenus ont néanmoins permis de démontrer la faisabilité de notre approche de fonctionnalisation « process-compatible » de MIP sur des résonateurs NEMS, qui reste bien la principale finalité de ces travaux préliminaires.

## 4.8 Conclusions et perspectives

Dans ces travaux, nous avons étudié la faisabilité d'intégration d'un polymère à empreinte moléculaire (MIP) comme couche sensible à la surface de résonateurs de type nanoleviers selon une approche de photolithographie. L'intérêt de ces biorécepteurs synthétiques par rapport à leurs homologues biologiques est double : la grande stabilité physico-chimique du polymère permet à la fois d'envisager des conditions d'opération sous vide, mais aussi une approche d'intégration « process-compatible » avec pour avantage d'éviter la manipulation de structures mécaniques fragiles pendant l'étape de fonctionnalisation. Une première étude a permis de s'assurer de la viabilité de la formulation du MIP mise en œuvre, et notamment de sa compatibilité avec l'étape de libération par gravure humide du procédé de fabrication des résonateurs. Des résultats préliminaires encourageant de fonctionnalisation multiplexée de réseaux de nanoleviers avec un MIP et un NIP ont été obtenus, et la démonstration de l'intégrité mécanique des nanostructures et de l'intégrité physique de la couche sensible permet de valider la faisabilité de notre approche d'intégration.

A ce stade, plusieurs perspectives sont envisageables. Dans un premier temps, l'optimisation du procédé de dépôt et de la formulation permettrait d'améliorer la robustesse du procédé de fabrication, de même que de diminuer l'épaisseur de la couche sensible. Par exemple, réduire la concentration des monomères pourrait permettre de diminuer la viscosité de la solution et obtenir ainsi films plus minces. La réduction de la proportion de l'amorceur et/ou de la puissance d'insolation est également une piste à explorer afin de trouver un compromis entre une cinétique de polymérisation plus lente, et donc potentiellement plus « contrôlable », et la diffusion des espèces réactives inter-motifs. L'amélioration du facteur de qualité associée à la réduction de l'épaisseur du film devrait alors permettre de déterminer si un changement de design est nécessaire. La localisation du polymère à l'extrémité libre du levier pourrait notamment être ainsi envisagée afin de réduire les pertes de la couche au niveau de l'encastrement.

A l'heure actuelle, si cette approche de synthèse est assez directe à mettre en œuvre pour de gros motifs (plusieurs centaines de microns), elle semble toutefois plus délicate à maîtriser dans le cadre de leur miniaturisation. L'une des raisons est l'absence de contrôle du processus de polymérisation, inhérente à la polymérisation radicalaire libre (FRP) dont les phénomènes d'interruption de croissance irréversibles et quasi-aléatoires sont responsables d'une grande dispersion dans la longueur des chaînes polymériques et d'une morphologie globalement chaotique du polymère. Le développement de stratégies de polymérisation contrôlées (CLRP) permettrait une plus grande maîtrise de la dynamique de polymérisation, et donc la possibilité de synthétiser de manière plus reproductible des films minces d'épaisseur nanométrique. Une approche potentiellement prometteuse rapportée par Rozkiewicz *et al* [73] combine la structuration par microcontact printing d'une monocouche auto-assemblée avec une terminaison azoture et le greffage covalent par chimie « *click* » d'une molécule possédant un groupement fonctionnel propargylique. Cette stratégie de structuration par lithographie douce, ayant déjà démontré son potentiel comme outil de fonctionnalisation de structures NEMS libérées (cf. chapitre 3), pourrait ainsi être appliquée à l'immobilisation localisée du photoinitiateur directement à la surface de nanorésonateurs, et à partir duquel la synthèse contrôlée du MIP par voie ascendante pourrait ainsi être réalisée.

# Bibliographie

---

- [1] Sapsford K E, Bradburne C, Delehanty J B and Medintz I L 2008 Sensors for detecting biological agents *Mater. Today* **11** 38–49
- [2] Mosbach K 1994 Molecular imprinting *Trends Biochem. Sci.* **19** 9–14
- [3] Wulff G 1995 Molecular Imprinting in Cross-Linked Materials with the Aid of Molecular Templates— A Way towards Artificial Antibodies *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **34** 1812–32
- [4] Haupt K and Mosbach K 2000 Molecularly Imprinted Polymers and Their Use in Biomimetic Sensors *Chem. Rev.* **100** 2495–504
- [5] Roost H P, Bachmann M F, Haag A, Kalinke U, Pliska V, Hengartner H and Zinkernagel R M 1995 Early high-affinity neutralizing anti-viral IgG responses without further overall improvements of affinity. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **92** 1257–61
- [6] Gan S D and Patel K R 2013 Enzyme Immunoassay and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay *J. Invest. Dermatol.* **133** e12
- [7] Polyakov M V 1931 Adsorption properties and structure of silica gel *Zhur Fiz. Khim* **2** 799–805
- [8] Wulff G and Sarhan A 1972 The use of Polymers with Enzyme-Analogous Structures for the Resolution of Racemates *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.* **11** 334–42
- [9] Håkan S. Andersson I A N 2000 Chapter 1 A historical perspective of the development of molecular imprinting *Tech. Instrum. Anal. Chem.* **23** 1–19
- [10] Arshady R and Mosbach K 1981 Synthesis of substrate-selective polymers by host-guest polymerization *Makromol. Chem.* **182** 687–92
- [11] Vlatakis G, Andersson L I, Müller R and Mosbach K 1993 Drug assay using antibody mimics made by molecular imprinting *Nature* **361** 645–7
- [12] Haupt K 2003 Peer Reviewed: Molecularly Imprinted Polymers: The Next Generation *Anal. Chem.* **75** 376-83
- [13] Haupt K, Linares A V, Bompert M and Bui B T S 2012 Molecularly imprinted polymers *Top. Curr. Chem.* **325** 1–28

- [14] Zimmerman S C and Lemcoff N G 2004 Synthetic hosts via molecular imprinting—are universal synthetic antibodies realistically possible? *Chem. Commun.* 5–14
- [15] Shea K J and Thompson E 1978 Template synthesis of macromolecules. Selective functionalization of an organic polymer *J. Org. Chem.* **43** 4253–5
- [16] Whitcombe M J, Rodriguez M E, Villar P and Vulfson E N 1995 A New Method for the Introduction of Recognition Site Functionality into Polymers Prepared by Molecular Imprinting: Synthesis and Characterization of Polymeric Receptors for Cholesterol *J. Am. Chem. Soc.* **117** 7105–11
- [17] Ramstroem O, Andersson L I and Mosbach K 1993 Recognition sites incorporating both pyridinyl and carboxy functionalities prepared by molecular imprinting *J. Org. Chem.* **58** 7562–4
- [18] Dirion B, Cobb Z, Schillinger E, Andersson L I and Sellergren B 2003 Water-Compatible Molecularly Imprinted Polymers Obtained via High-Throughput Synthesis and Experimental Design *J. Am. Chem. Soc.* **125** 15101–9
- [19] Manesiotis P, Borrelli C, Aureliano C S A, Svensson C and Sellergren B 2009 Water-compatible imprinted polymers for selective depletion of riboflavine from beverages *J. Mater. Chem.* **19** 6185–93
- [20] Yan H and Row K H 2006 Characteristic and Synthetic Approach of Molecularly Imprinted Polymer *Int. J. Mol. Sci.* **7** 155–78
- [21] Vasapollo G, Sole R D, Mergola L, Lazzoi M R, Scardino A, Scorrano S and Mele G 2011 Molecularly Imprinted Polymers: Present and Future Prospective *Int. J. Mol. Sci.* **12** 5908–45
- [22] Pichon V and Haupt K 2006 Affinity Separations on Molecularly Imprinted Polymers with Special Emphasis on Solid-Phase Extraction *J. Liq. Chromatogr. Relat. Technol.* **29** 989–1023
- [23] Haupt K, Dzgoev A and Mosbach K 1998 Assay System for the Herbicide 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid Using a Molecularly Imprinted Polymer as an Artificial Recognition Element *Anal. Chem.* **70** 628–31
- [24] Schmidt R H, Mosbach K and Haupt K 2004 A Simple Method for Spin-Coating Molecularly Imprinted Polymer Films of Controlled Thickness and Porosity *Adv. Mater.* **16** 719–22
- [25] Takeuchi T, Fukuma D and Matsui J 1999 Combinatorial Molecular Imprinting: An Approach to Synthetic Polymer Receptors *Anal. Chem.* **71** 285–90
- [26] Lanza F and Sellergren B 1999 Method for Synthesis and Screening of Large Groups of Molecularly Imprinted Polymers *Anal. Chem.* **71** 2092–6
- [27] Chianella I, Lotierzo M, Piletsky S A, Tothill I E, Chen B, Karim K and Turner A P F 2002 Rational Design of a Polymer Specific for Microcystin-LR Using a Computational Approach *Anal. Chem.* **74** 1288–93
- [28] Navarro-Villoslada F, Vicente B S and Moreno-Bondi M C 2004 Application of multivariate analysis to the screening of molecularly imprinted polymers for bisphenol A *Anal. Chim. Acta* **504** 149–62

- [29] Rossi C and Haupt K 2007 Application of the Doehlert experimental design to molecularly imprinted polymers: surface response optimization of specific template recognition as a function of the type and degree of cross-linking *Anal. Bioanal. Chem.* **389** 455–60
- [30] Braunecker W A and Matyjaszewski K 2007 Controlled/living radical polymerization: Features, developments, and perspectives *Prog. Polym. Sci.* **32** 93–146
- [31] Niu C-G, Zeng G-M, Chen L-X, Shen G-L and Yu R-Q 2004 Proton 'off-on' behaviour of methylpiperazinyl derivative of naphthalimide: a pH sensor based on fluorescence enhancement *The Analyst* **129** 20
- [32] Matsui J, Higashi M and Takeuchi T 2000 Molecularly Imprinted Polymer as 9-Ethyladenine Receptor Having a Porphyrin-Based Recognition Center *J. Am. Chem. Soc.* **122** 5218–9
- [33] Zhang H 2014 Water-compatible molecularly imprinted polymers: Promising synthetic substitutes for biological receptors *Polymer* **55** 699–714
- [34] Sellergren B 1994 Direct Drug Determination by Selective Sample Enrichment on an Imprinted Polymer *Anal. Chem.* **66** 1578–82
- [35] Muldoon M T and Stanker L H 1997 Molecularly Imprinted Solid Phase Extraction of Atrazine from Beef Liver Extracts *Anal. Chem.* **69** 803–8
- [36] Jenkins A L, Yin R and Jensen J L 2001 Molecularly imprinted polymer sensors for pesticide and insecticide detection in water *Analyst* **126** 798–802
- [37] Kempe M, Fischer L and Mosbach K 1993 Chiral separation using molecularly imprinted heteroaromatic polymers *J. Mol. Recognit. JMR* **6** 25–9
- [38] Hart B R and Shea K J 2001 Synthetic Peptide Receptors: Molecularly Imprinted Polymers for the Recognition of Peptides Using Peptide–Metal Interactions *J. Am. Chem. Soc.* **123** 2072–3
- [39] L. Longo G V 2008 Molecularly Imprinted Polymers as Nucleotide Receptors *Mini-Rev. Org. Chem.* **5** 163–70
- [40] Sreenivasan K 1998 Effect of the type of monomers of molecularly imprinted polymers on the interaction with steroids *J. Appl. Polym. Sci.* **68** 1863–6
- [41] Striegler S 2001 Selective discrimination of closely related monosaccharides at physiological pH by a polymeric receptor *Tetrahedron* **57** 2349–54
- [42] Kryscio D R and Peppas N A 2012 Critical review and perspective of macromolecularly imprinted polymers *Acta Biomater.* **8** 461–73
- [43] Kempe M and Mosbach K 1995 Separation of amino acids, peptides and proteins on molecularly imprinted stationary phases *J. Chromatogr. A* **691** 317–23
- [44] Liu J and Wulff G 2008 Functional Mimicry of Carboxypeptidase A by a Combination of Transition State Stabilization and a Defined Orientation of Catalytic Moieties in Molecularly Imprinted Polymers *J. Am. Chem. Soc.* **130** 8044–54

- [45] Remcho V T and Tan Z J 1999 Peer Reviewed: MIPs as Chromatographic Stationary Phases for Molecular Recognition. *Anal. Chem.* **71** 248A – 255A
- [46] Mayes A G and Mosbach K 1996 Molecularly Imprinted Polymer Beads: Suspension Polymerization Using a Liquid Perfluorocarbon as the Dispersing Phase *Anal. Chem.* **68** 3769–74
- [47] Ye L, Weiss R and Mosbach K 2000 Synthesis and Characterization of Molecularly Imprinted Microspheres *Macromolecules* **33** 8239–45
- [48] Vaihinger D, Landfester K, Kräuter I, Brunner H and Tovar G E M 2002 Molecularly imprinted polymer nanospheres as synthetic affinity receptors obtained by miniemulsion polymerisation *Macromol. Chem. Phys.* **203** 1965–73
- [49] Gao D, Zhang Z, Wu M, Xie C, Guan G and Wang D 2007 A Surface Functional Monomer-Directing Strategy for Highly Dense Imprinting of TNT at Surface of Silica Nanoparticles *J. Am. Chem. Soc.* **129** 7859–66
- [50] Spégel P, Schweitz L and Nilsson S 2001 Molecularly imprinted microparticles for capillary electrochromatography: Studies on microparticle synthesis and electrolyte composition *ELECTROPHORESIS* **22** 3833–41
- [51] Surugiu I, Danielsson B, Ye L, Mosbach K and Haupt K 2001 Chemiluminescence Imaging ELISA Using an Imprinted Polymer as the Recognition Element Instead of an Antibody *Anal. Chem.* **73** 487–91
- [52] Wang N X and von Recum H A 2011 Affinity-based drug delivery *Macromol. Biosci.* **11** 321–32
- [53] Belmont A-S, Jaeger S, Knopp D, Niessner R, Gauglitz G and Haupt K 2007 Molecularly imprinted polymer films for reflectometric interference spectroscopic sensors *Biosens. Bioelectron.* **22** 3267–72
- [54] Ton X-A, Acha V, Bonomi P, Tse Sum Bui B and Haupt K 2015 A disposable evanescent wave fiber optic sensor coated with a molecularly imprinted polymer as a selective fluorescence probe *Biosens. Bioelectron.* **64** 359–66
- [55] Vandeveldel F, Leïchlé T, Ayela C, Bergaud C, Nicu L and Haupt K 2007 Direct Patterning of Molecularly Imprinted Microdot Arrays for Sensors and Biochips *Langmuir* **23** 6490–3
- [56] Lalo H, Ayela C, Dague E, Vieu C and Haupt K 2010 Nanopatterning molecularly imprinted polymers by soft lithography: a hierarchical approach *Lab. Chip* **10** 1316
- [57] Lin H-Y, Hsu C-Y, Thomas J L, Wang S-E, Chen H-C and Chou T-C 2006 The microcontact imprinting of proteins: The effect of cross-linking monomers for lysozyme, ribonuclease A and myoglobin *Biosens. Bioelectron.* **22** 534–43
- [58] Conrad P g., Nishimura P t., Aherne D, Schwartz B j., Wu D, Fang N, Zhang X, Roberts M j. and Shea K j. 2003 Functional Molecularly Imprinted Polymer Microstructures Fabricated Using Microstereolithography *Adv. Mater.* **15** 1541–4



- [59] Fuchs Y, Linares A V, Mayes A G, Haupt K and Soppera O 2011 Ultrathin Selective Molecularly Imprinted Polymer Microdots Obtained by Evanescent Wave Photopolymerization *Chem. Mater.* **23** 3645–51
- [60] Ton X-A, Tse Sum Bui B, Resmini M, Bonomi P, Dika I, Soppera O and Haupt K 2013 A Versatile Fiber-Optic Fluorescence Sensor Based on Molecularly Imprinted Microstructures Polymerized in Situ *Angew. Chem. Int. Ed.* **52** 8317–21
- [61] Lee J N, Park C and Whitesides G M 2003 Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices *Anal. Chem.* **75** 6544–54
- [62] Guillon S, Lemaire R, Linares A V, Haupt K and Ayela C 2009 Single step patterning of molecularly imprinted polymers for large scale fabrication of microbiochips *Lab. Chip* **9** 2987
- [63] Pietrzyk A, Suriyanarayanan S, Kutner W, Chitta R and D'Souza F 2009 Selective Histamine Piezoelectric Chemosensor Using a Recognition Film of the Molecularly Imprinted Polymer of Bis(bithiophene) Derivatives *Anal. Chem.* **81** 2633–43
- [64] Malitesta C, Losito I and Zambonin P G 1999 Molecularly Imprinted Electrosynthesized Polymers: New Materials for Biomimetic Sensors *Anal. Chem.* **71** 1366–70
- [65] Piacham T, Josell Å, Arwin H, Prachayasittikul V and Ye L 2005 Molecularly imprinted polymer thin films on quartz crystal microbalance using a surface bound photo-radical initiator *Anal. Chim. Acta* **536** 191–6
- [66] Ayela C, Vandeveldel F, Lagrange D, Haupt K and Nicu L 2007 Combining Resonant Piezoelectric Micromembranes with Molecularly Imprinted Polymers *Angew. Chem.* **119** 9431–4
- [67] Holthoff E L, Li L, Hiller T and Turner K L 2015 A molecularly imprinted polymer (MIP)-coated microbeam MEMS sensor for chemical detection *Proc. SPIE 9455 Chemical, Biological, Radiological, Nuclear, and Explosives (CBRNE) Sensing XVI* 94550W (Baltimore, USA)
- [68] Arrow™ NC AFM Probe, [www.nanoworld.com/tapping-mode-afm-tip-arrow-nc](http://www.nanoworld.com/tapping-mode-afm-tip-arrow-nc)
- [69] Boysen R I, Li S, Chowdhury J, Schwarz L J and Hearn M T W 2012 Selectivity optimisation of biomimetic molecularly imprinted polymer thin films *Microelectron. Eng.* **97** 81–4
- [70] Schmidt R H, Belmont A-S and Haupt K 2005 Porogen formulations for obtaining molecularly imprinted polymers with optimized binding properties *Anal. Chim. Acta* **542** 118–24
- [71] Dufour I, Lochon F, Heinrich S M, Josse F and Rebiere D 2007 Effect of Coating Viscoelasticity on Quality Factor and Limit of Detection of Microcantilever Chemical Sensors *IEEE Sens. J.* **7** 230–6
- [72] Tas N, Sonnenberg T, Jansen H, Legtenberg R and Elwenspoek M 1996 Stiction in surface micromachining *J. Micromechanics Microengineering* **6** 385
- [73] Rozkiewicz D I, Jańczewski D, Verboom W, Ravoo B J and Reinhoudt D N 2006 “Click” Chemistry by Microcontact Printing *Angew. Chem. Int. Ed.* **45** 5292–6

# Conclusion générale

---

Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons adressé deux problématiques majeures dans le développement de NEMS comme outils de biodétection ultra-sensibles et sans marquage, à savoir l'intégration d'un moyen de transduction et le développement d'outils de fonctionnalisation adaptés à des réseaux grande échelle de NEMS, et plus spécifiquement de nanoleviers.

Une première partie de ces travaux de thèse a été dédiée à la problématique d'intégration d'un moyen de transduction au sein de résonateurs NEMS. La structuration d'un matériau piézoélectrique de 150 nm d'épaisseur à base de PZT, compatible avec un procédé de fabrication grand échelle, a ainsi été rapportée. La stratégie d'intégration mise en œuvre s'est avérée prometteuse puisque la capacité d'actionnement des nanoleviers via la couche piézoélectrique intégrée a pu être démontrée. Des fréquences de résonance de l'ordre de 10 MHz avec des facteurs de qualité sous vide de l'ordre de 900 ont ainsi été obtenus. Des caractérisations expérimentales couplées avec un modèle par éléments finis ont néanmoins mis en évidence une altération significative des propriétés diélectriques et piézoélectriques du matériau. Avec une valeur du coefficient piézoélectrique estimée à 15 fm/V, la faisabilité de mesure des oscillations mécaniques des structures via la détection des charges générées n'a pas pu être validée. Ces résultats ont néanmoins permis d'envisager plusieurs perspectives d'amélioration en termes de conception, mais aussi en termes de structuration du matériau piézoélectrique. Un nouveau procédé basé sur l'intégration d'un PZT sol-gel est actuellement en cours de développement, et nous avons bon espoir de pouvoir réaliser des dispositifs entièrement fonctionnels à court terme.

Un second volet de ces travaux a adressé la problématique relative au développement de moyens de fonctionnalisation adaptés à un réseau grande échelle de NEMS. Dans un premier temps, une méthode de fonctionnalisation post-fabrication, basée sur une version modifiée de la technique de microcontact printing ( $\mu$ CP), a été mise en œuvre. L'effectivité de cette méthode a été démontrée avec la fonctionnalisation et la passivation en une seule étape d'un réseau dense de NEMS ( $10^5$  structures /cm<sup>2</sup>). La validation de l'intégrité mécanique des structures fonctionnalisées, ainsi que de l'activité biologique des molécules déposées a permis d'établir une première preuve de concept. Dans un second temps, une méthode de fonctionnalisation « process-compatible » basée sur une structuration par photolithographie a été présentée. Le principal enjeu était ici d'évaluer la faisabilité d'intégration d'un biorécepteur à base de polymère à empreinte moléculaire (MIP) à la surface de résonateurs NEMS, avec comme finalité de développer une couche sensible de stabilité physico-chimique supérieure à celle de molécules biologiques, et donc potentiellement plus adaptée à un environnement d'opération sous vide. L'atout majeur de cette approche est sans aucun doute la possibilité de réaliser l'intégration de la

couche sensible avant la libération des résonateurs, limitant ainsi les risques liés à la manipulation de structures mécaniques fragiles. Les premiers résultats obtenus sont particulièrement encourageants, avec notamment l'intégration multiplexée d'un MIP et d'un NIP à la surface de nanoleviers, la préservation de l'intégrité mécanique des structures ainsi que de l'intégrité physique de la couche sensible, et la validation en fluorescence des capacités de reconnaissance du biorécepteur. Cette approche est certes prometteuse mais nécessite cependant encore d'être optimisée, notamment en termes d'épaisseur de couche afin de limiter les effets d'amortissement importants observés au niveau de la réponse mécanique des dispositifs. Dans ce sens, différentes perspectives d'amélioration ont été discutées, avec notamment l'optimisation de la formulation de MIP actuelle ainsi que le développement d'une approche de synthèse ascendante. Nous sommes convaincus que les méthodes d'intégration de la couche sensible présentées ici possèdent le potentiel nécessaire pour répondre à la problématique de biofonctionnalisation de réseaux grande échelle de NEMS, et constitueront, nous l'espérons, un premier pas vers leur utilisation pour des applications de biodétection.

**Author :** Denis DEZEST

**Title :** Nanoelectromechanical systems for biodetection : development of an integrated transducer and biofunctionalization strategies

**Thesis directors :** Liviu NICU and Thierry LEICHLE

**Date and place of the defense :** LAAS-CNRS, 16th November 2015

---

**Summary :**

With an ultimate limit of detection down to the yoctogram regime ( $1 \text{ yg} = 10^{-24} \text{ g}$ ), nanoelectromechanical systems (NEMS) resonators used as ultra-sensitive and label-free gravimetric sensors have a high potential for biodetection applications. To date, several challenges currently limit their widespread use as viable biosensing tools. This PhD thesis addresses the issues related to the transducer integration and the biofunctionalization. A Lead Zirconate Titanate (PZT)-based piezoelectric transducer has been implemented according to a top-down approach compatible with collective fabrication of NEMS arrays. Two biofunctionalization strategies, suitable for a NEMS array organization and based on the localized deposition of biological material assisted by microcontact printing and the patterning of molecularly imprinted polymers (MIP) by photolithography, have also been investigated and first proof-of-concept biosensors were demonstrated. These various contributions have the potential to drive future advancements in the realm of NEMS as effective biosensing tools.

---

**Keywords :** nanoelectromechanical systems, biosensing, integrated piezoelectric transduction, biofunctionalization, microcontact printing, molecularly imprinted polymers

---

**Discipline :** Micro and Nanosystems

**Auteur :** Denis DEZEST

**Titre :** Nanosystèmes électromécaniques pour la biodétection : intégration d'un moyen de transduction et stratégies de biofonctionnalisation

**Directeurs de thèse :** Liviu NICU et Thierry LEICHLE

**Lieu et date de soutenance :** LAAS-CNRS, le 16 novembre 2015

---

**Résumé :**

Avec une limite de détection ultime pouvant atteindre le yoctogramme ( $1 \text{ yg} = 10^{-24} \text{ g}$ ), les nanosystèmes électromécaniques (NEMS) employés comme capteurs gravimétriques présentent un fort potentiel pour la détection ultra-sensible et sans marquage de molécules biologiques. A l'heure actuelle, plusieurs défis restent cependant à relever avant de pouvoir envisager de manière réaliste leur utilisation comme outils de biodétection. Ces travaux de thèse adressent en particulier l'intégration du moyen de transduction et le développement de stratégies de biofonctionnalisation. En vue de répondre à la première problématique, l'intégration d'une couche piézoélectrique à base de Titano-Zirconate de Plomb (PZT) selon une approche de fabrication collective de réseaux de NEMS par voie descendante a été développée et caractérisée. Deux approches de biofonctionnalisation adaptées à une organisation de NEMS en réseaux, respectivement basées sur le dépôt localisé de matériel biologique par impression moléculaire et sur la structuration par photolithographie d'une couche bioréceptrice à base de polymères à empreintes moléculaires (MIP), ont ensuite été mises en œuvre et ont permis de démontrer une première preuve de concept. Ces différentes contributions constituent un premier pas dans le développement des NEMS pour des applications de biodétection.

---

**Mots-clés :** nanosystèmes électromécaniques, biodétection, transduction piézoélectrique intégrée, biofonctionnalisation, tamponnage moléculaire, polymères à empreintes moléculaires

---

**Discipline :** Micro et Nanosystèmes