



Synthèse d'électrodes carbonées pour la détection électrochimique et insertion dans un système microfluidique

Julien Pézard

► To cite this version:

Julien Pézard. Synthèse d'électrodes carbonées pour la détection électrochimique et insertion dans un système microfluidique. Autre. Ecole Centrale de Lyon, 2015. Français. NNT : 2015ECDL0048 . tel-01289080

HAL Id: tel-01289080

<https://theses.hal.science/tel-01289080>

Submitted on 16 Mar 2016

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

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

THÈSE DE L'ÉCOLE CENTRALE DE LYON

Délivrée par

L'ÉCOLE CENTRALE DE LYON

ÉCOLE DOCTORALE Électronique, Électrotechnique et Automatique

Pour l'obtention du

DIPLÔME DE DOCTORAT

(Arrêté du 7 août 2006)

Soutenue publiquement le 18/12/15 par

M. JULIEN PEZARD

**SYNTHESE D'ELECTRODES CARBONEES POUR
LA DETECTION ELECTROCHIMIQUE ET
INSERTION DANS UN SYSTÈME
MICROFLUIDIQUE**

Directeur de thèse : Mr François BURET

Co-Encadrant : Mr Naoufel HADDOUR

Co-Encadrant : Mr Mihai LAZAR

Jury :

Mr BOUKHERROUB Rabah, IRI-CNRS Lille
Mr BERGONZO Philippe, CEA-LIST Paris sud
Mr HAPPY Henry, Université de Lille
Mr BURET François, Ecole centrale de Lyon
Mr LAZAR Mihai, INSA de Lyon
Mr HADDOUR Naoufel, Ecole centrale de Lyon

Rapporteur
Rapporteur

N. Ordre : 2015-48

***Share what you know,
learn what you don't.***

REMERCIEMENTS

Je tiens à remercier les personnes ayant contribué à ces travaux et m'ayant encouragé au cours de ce travail de thèse.

En premier lieu, je remercie mon directeur de thèse, François Buret, qui, de par son expérience, son optimisme et sa patience, m'a orienté dans les bonnes directions.

Merci également à Naoufel Haddour mon co-encadrant dans le domaine de l'électrochimie, qui m'a ouvert les portes de ce vaste domaine et m'a permis de mieux comprendre les rouages des différentes techniques de caractérisations électrochimiques. Je salue aussi sa sagesse et sa bienveillance qui sont apparues à travers ses conseils et le temps consacré à m'aiguiller au sein de l'organisation du monde scientifique.

Je souhaite remercier Mihai Lazar, qui m'a épaulé sur le travail technologique réalisé en salle blanche, mais qui a aussi toujours su orienter mon regard vis-à-vis des résultats obtenus, pour en tirer le maximum. Je lui suis reconnaissant pour sa sérénité face à l'organisation des travaux effectués, sa patience face aux difficultés rencontrées tant sur le plan humain que technologique. Je le remercie également d'avoir toujours cherché à m'offrir le meilleur possible, tant sur la facilité d'accès au matériel, mais également de m'avoir permis de participer à de multiples projets durant cette thèse. Je lui suis gré de ses qualités humaines, de son pragmatisme et de son optimisme.

Mes remerciements vont également vers Philippe Bergonzo, Rabah Boukheroub et Henri Happy, pour avoir accepté de participer à mon jury de thèse et pour les discussions que nous avons pu avoir pour faire progresser ce manuscrit jusqu'à atteindre sa forme actuelle.

Je suis infiniment gré à Pedro Rojo Romeo et Bertrand Vilquin qui ont élargi le champ des possibles de mes travaux, et qui m'ont donné goût au travail en microélectronique et éveillé ma curiosité sur de divers domaines tant bien sur le plan scientifique que culturel. Je les remercie de m'avoir donné l'opportunité de travailler

avec leur soutien et de pouvoir entrer dans le monde scientifique avec un partage de connaissance important, m'ayant permis de consolider mes connaissances. Je les remercie de m'avoir confié l'encadrement de travaux pratiques, mais aussi d'élèves ingénieurs lors de projets d'activité recherche et d'une étudiante en stage de master. Ils ont su m'apprendre à apprécier travailler dans un environnement complexe avec panache et générosité.

Mon travail de recherche a été particulièrement facilité par le personnel de la plateforme Nanolyon qui m'a permis d'accéder à la salle blanche de l'INL (Institut des Nanotechnologies de Lyon), et à son matériel dans les meilleures conditions possible.

Ces remerciements seraient incomplets si je n'en adressais pas à l'ensemble de mes collègues du laboratoire Ampère pour leur soutien, leur gentillesse et leur humour qui m'a permis de travailler dans une ambiance et des conditions idéales pour avancer dans mes travaux de recherche.

J'exprime ma gratitude à tous mes amis qui m'ont aidé à surmonter les difficultés morales ou scientifiques lors de mes travaux de thèse. En particulier je tiens à remercier Arnaud Bréard pour le temps passé à m'accompagner dans les différentes étapes de ma thèse et le soutien qu'il m'a apporté dans les moments difficiles. Merci à Kévin, Johan, Pitou, Sylvain, Olivier Anne-Sophie et Hassan pour les moments passés ensemble dans et hors du bureau et pour les échanges culturels et scientifiques que nous avons pu avoir, Lucie, Nasser et Baba pour avoir partagé des moments d'encadrement et de partage de méthodes d'enseignement, Bérenger, Ludwig, Anthony, Guillaume, Rémi, Thomas et Jean-Raphaël et ma famille pour leur soutien moral et leur investissement tout au long de ce travail de thèse.

TABLE DES MATIÈRES

REMERCIEMENTS	iv
TABLE DES MATIÈRES	vi
LISTE DES FIGURES.....	ix
LISTE DES TABLEAUX.....	xvii
RÉSUMÉ	xx
ABSTRACT	xxii
INTRODUCTION	25
CHAPITRE I Capteurs électrochimiques et matériaux carbonés	29
1.1 Capteurs électrochimiques	29
1.1.1 Les différents types de capteurs électrochimiques.....	30
1.1.2 Nature des électrodes de travail	34
1.1.3 Modifications de surface : Intérêt et méthode.....	44
1.1.4 Conclusion sur les capteurs électrochimiques	54
1.2 Matériaux carbonés : méthodes de synthèse et caractéristiques	55
1.2.1 SiC.....	55
1.2.2 Résine pyrolysée	63
1.2.3 Graphène	68
1.2.4 Diamant	76
1.2.5 CPDMS	81
1.2.6 Conclusion	85
CHAPITRE II Elaboration et caractérisation d'électrodes carbonées macroscopiques	86

2.1 Introduction	86
2.2 Synthèse d'électrodes carbonées	87
2.2.1 Résine pyrolysée	87
2.2.2 Graphène	90
2.2.3 Diamant	93
2.3 Caractérisations des électrodes	96
2.3.1 Caractérisations de surface	96
2.3.2 Caractérisations électriques	106
2.3.3 Caractérisations électrochimiques	116
2.4 Utilisation des électrodes carbonées pour la biodétection	139
2.4.1 Choix du biorécepteur	139
2.4.2 Méthode d'immobilisation	141
2.4.3 Caractérisations	145
2.4.4 Conclusion sur les biocapteurs enzymatiques	152
2.5 Utilisation des couches de graphène pour l'élaboration de transistors	152
2.6 Conclusion	154
 CHAPITRE III élaboration d'électrodes à base de microfibres de carbone	156
3.1 Introduction	156
3.2 Caractéristiques électriques et électrochimiques des électrodes composites	160
3.3 Synthèse d'électrodes composites à base de PDMS et de fibres de carbone	163
3.4 Caractérisations électriques	164
3.5 État de surface	166
3.6 Caractérisations électrochimiques	168
3.6.1 Domaine d'électroactivité et capacité d'interface	169
3.6.2 Étude de la réactivité électrochimique des électrodes composites	171
3.7 Utilisation des électrodes composites pour la biodétection	185
3.8 Conclusion sur le CPDMS	188
 CHAPITRE IV Microcapteurs dans un canal microfluidique	190
4.1 Introduction	190
4.2 Fabrication et intégration des microélectrodes en PPF, graphène et diamant	191

4.2.1	Ordre du procédé – compatibilité des étapes technologiques	191
4.2.2	Etapes du procédé	192
4.2.3	Caractérisations électrochimiques.....	204
4.3	Intégration des électrodes en CPDMS dans un dispositif microfluidique	207
4.3.1	Elaboration du dispositif	207
4.3.2	Caractérisations	209
4.4	Conclusion sur les électrodes carbonées dans un canal microfluidique	214
CONCLUSION generale et perspectives.....		217
Annexe A Spectrométrie photoélectronique X		221
Annexe B Gravure ionique réactive.....		223
Annexe C Interférométrie		225
Annexe D Pulvérisation Cathodique		227
Annexe E Méthode TBO.....		229
Annexe F Article sur les transistors à base de graphène.....		231
RÉFÉRENCES.....		246

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Schéma d'un ISFET selon [5]	32
Figure 2 : Schéma d'un montage de détection par ampérométrie	33
Figure 3 : Comparaison des voltampérométries cycliques (VC) de différentes électrodes (diamants, or, platine et carbone vitreux) pour l'électrolyse de l'eau dans une solution à 0,5M H ₂ SO ₄ . VC de différentes électrodes de diamant : deux électrodes de diamant polycristallin dopé au bore B:PCD(NRL) 5.10 ¹⁹ cm ⁻³ et B:PCD(USU) 5.10 ²⁰ cm ⁻³ ainsi que deux électrodes de diamant monocristallin dopé B:(H)SCD 3.10 ²⁰ cm ⁻³ et non dopé (H)SCD [59].	40
Figure 4 : A : Schéma de diffusion linéaire B: Schéma de diffusion radiale [63]	42
Figure 5 : Schéma d'adsorption des enzymes.....	49
Figure 6 : Schéma de réticulation d'enzymes en surface d'un transducteur	50
Figure 7 : Schéma de piégeage d'enzymes en surface d'un transducteur	51
Figure 8 : Exemple de fonctionnalisation de surface par la méthode EDC/NHS	52
Figure 9 : Schéma de la molécule de biotine modifiée avec un groupement amine (A), Schéma du greffage sur le diamant hydrogéné (B), issu de C. Agnès et al. [96].....	53
Figure 10 : Évolution de la taille des wafers de SiC chez Cree	56
Figure 11 : Schéma d'un réacteur utilisant la méthode Lely modifiée selon Camassel [102], issu de [103]	58
Figure 12 : Illustration de différents polytypes du SiC issue de [104].....	59
Figure 13 : Dureté de différents matériaux : variation selon les liaisons et les structures selon Nickel & Nichols [105]. (Il n'y a pas d'échelle verticale, les matériaux sont placés de façon à être facilement observables).....	59
Figure 14 : Échantillon de résine pyrolysée à la surface d'un substrat de SiC.....	63

Figure 15 : Illustration de la lithographie d'une résine positive (en haut) et d'une résine négative (en bas).....	65
Figure 16 : a) Spectre Raman de la résine OIR-897 pyrolysée à différentes températures. b) Spectre XPS du pic C1s pour du HOPG, et de la résine OIR-897 pyrolysée à 600 °C et 1100°C [124]	66
Figure 17 : Dépôt simple d'une couche contenant du graphène.....	69
Figure 18 : Méthode de sublimation du silicium issu de [142]. (A) Schéma d'un wafer de SiC sous UHV, permettant la croissance rapide de graphène du fait que le silicium ne soit pas confiné, (B) Schéma de la méthode de sublimation du silicium,(C) photographie du four à induction,(D) Schéma de du graphène formé à partir de carbure de silicium hexagonal.....	71
Figure 19 : Schéma de formation du graphène lors d'un recuit sous UHV (a), et sous flux d'azote et silicium (b), issu de [150].	72
Figure 20 : Schéma d'une couche de graphène	74
Figure 21 : Structure du diamant.....	78
Figure 22 : Conductivité du diamant dopé au bore en fonction du taux de dopage (issu de [171])	79
Figure 23 : Structure chimique du polydiméthylsiloxane	81
Figure 24 : Structure du PDMS réticulé.....	82
Figure 25 : Photographie d'une tournette permettant des dépôts de résine sur échantillons	88
Figure 26 : Échantillon de résine AZ-5214 sur SiC avant (a) et après (b) recuit à 750 °C	89
Figure 27 : Photographie de l'enceinte du four à induction utilisé pour le recuit des résines (plateforme Nanolyon – équipement AMPERE).....	89
Figure 28 : Schéma de l'enceinte d'un évaporateur dans le cas d'un dépôt métallique (a) et du recuit d'un échantillon de SiC (b). (issu du CeNSE).....	91

Figure 29 : Photographies d'échantillons de 4H-SiC recuits par le canon à électrons dans le Leybold à 50 mA (a) et 60 mA (b)	92
Figure 30 : Photographies du réacteur du LSPM (a) et du plasma pendant le dépôt de diamant (b)	94
Figure 31 : Schéma du réacteur du LSPM et du procédé utilisé.....	95
Figure 32 : Images AFM d'échantillons de résine pyrolysée (1650°C) (A), de graphène (B) et de diamant dopé bore (C).....	97
Figure 33 : Spectroscopies Raman des échantillons de PPF recuits à 750, 1050, 1150, 1250, 1450 et 1650 °C.....	99
Figure 34 : Spectre Raman d'un échantillon de graphène sur SiC, issu d'un recuit à 50mA dans l'évaporateur	102
Figure 35 : Spectres Raman des échantillons recuits à 40 mA (a), 50 mA (b) et 60 mA (c)	103
Figure 36 : Observation Raman d'un échantillon de graphène recuit à 1350 °C	105
Figure 37 : Spectre Raman d'un échantillon de diamant dopé bore sur SiC.....	105
Figure 38 : Spectre XPS du niveau de cœur C1s d'un échantillon de graphène sur SiC (recuit à 1550°C sous argon).....	106
Figure 39 : Schéma d'une mesure quatre pointes.....	107
Figure 40 : Courant I appliqué à la surface d'une couche, propagation des lignes de courant. (a) coupe verticale, (b) vue de dessus, schéma issu du site de Microworld	107
Figure 41 : Photographie du montage pour une caractérisation quatre pointes	108
Figure 42 : Caractérisation 4 pointes d'échantillons de PPF sur SiC recuit à différentes températures	109
Figure 43 : Motifs TLM, présentation schématique issue de la thèse de Simone Montanari [198]	114
Figure 44 : Représentation des différentes résistances lors d'une mesure I-V, issu de la thèse de M. Lazar [199]	114

Figure 45 : Résistance en fonction de la distance entre les plots de TLM sur une couche de graphène	116
Figure 46 : Potentiostat Origastat OGS 100 et électrodes en solution.....	117
Figure 47 : Échantillon de PPF sur SiC après dépôt du contact en platine.....	118
Figure 48 : Voltammétries cycliques dans une solution de KCl 0,1M (a et b) et PBS 10X (c et d) pour différentes électrodes carbonées	119
Figure 49 : Schéma de la distribution des charges et variation du potentiel à l'intérieur de la double couche électronique, issu de [203]	122
Figure 50 : Voltammétrie cyclique d'une électrode de diamant dans une solution de PBS 10X à différentes vitesses de balayage (a) et un zoom entre 0 et 0.2V (b).....	123
Figure 51 : Observations microscopiques des échantillons de PPF sur SiC recuits à 1050 °C (a) et 1150 °C (b) dégradés après caractérisations électrochimiques.....	125
Figure 52 : Représentation de Lewis du ferricyanure (a), l'hexamine de ruthénium (b) et du catéchol (c)	129
Figure 53 : Exemple de voltammétrie cyclique à différentes vitesses de balayage en présence d'une sonde électrochimique	129
Figure 54 : Courbes des courants de pics anodique et cathodique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.....	131
Figure 55 : Voltammétrie cyclique (100 mV/s) dans des solutions de Ferrocyanure (a), Hexamine de ruthénium (b) et catéchol (c) à 1 mM dans du PBS 10X par des électrodes de PPF recuites à 1250, 1450 et 1650 °C.....	132
Figure 56 : Réaction de détection de l'acétylthiocholine sur un biocapteur doté d'acétylcholinestérase	141
Figure 57 : Représentation schématique du protocole de greffage des enzymes.....	142
Figure 58 : Représentation de la chitosane	143
Figure 59 : Schéma de l'adsorption d'enzymes sur une couche de chitosane en surface d'une électrode	144

Figure 60 : Échantillon de résine pyrolysée avec une goutte de solution de chitosane déposée en surface avant (a) et après séchage (b).....	144
Figure 61 : Exemple d'une courbe d'étalonnage obtenue avec un biocapteur ampérométrique.....	146
Figure 62 : Chronoampérométrie d'une électrode de diamant fonctionnalisée par de l'acétylcholinestérase sur chitosane dans une solution de PBS 10X avec ajouts d'acétylcholine	148
Figure 63 : Courbes de Michaelis Menten obtenues pour du diamant, du graphène et du PPF	149
Figure 64 : Courbes de Lineweaver Burk issues de la Figure 63.....	149
Figure 65 : Schéma du transistor.....	153
Figure 66 : Caractérisations d'un transistor de 90 μm de large et de 16 μm de long. A droite, le courant de drain en fonction de la tension de grille pour une tension drain-source de 5 V.....	153
Figure 67 : Image d'un dispositif proposé par Dropsens (électrode de 4 mm de diamètre)	157
Figure 68 : Évolution des profils des couches de diffusion au cours du temps (figure inspirée des travaux de Davies et al. [256])	161
Figure 69 : Représentation de microfibres de carbone en surface, proches (a) et éloignées (b) et l'influence sur la couche de diffusion en régime établi.....	162
Figure 70 : Couche de CPDMS et emporte-pièce	163
Figure 71 : Courbes de tension en fonction du courant pour une série d'électrodes de CPDMS à différents dopages.....	164
Figure 72 : Photographie de la série d'électrodes de CPDMS	166
Figure 73 : Photographies MEB de surfaces d'électrodes de CPDMS dont le taux de carbone est de 2 % (a), 4 % (b), 6 % (c) et 8 % (d)	167
Figure 74: Photographie au microscope électronique des microfibres sortant de la matrice de PDMS à leur sortie (a) et à l'extrémité de la fibre (b).....	168

Figure 75 : Capsule avec son joint et le contact métallique	169
Figure 76 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS dans une solution de PBS 10X à 100mV/s (a) et zoom sur les courants capacitifs (b)	170
Figure 77 : Voltammétrie cyclique du ferrocène à 0.6mM dans de l'acétonitrile et 0.1M tetrabutylammonium hexafluorophosphate pour une électrode de carbone vitreux de 3 mm de diamètre (à gauche) et une électrode de carbone vitreux de 10µm de diamètre (à droite). Issu de Analytical Electrochemistry: The Basic Concepts...	173
Figure 78 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS à plusieurs concentrations de fibre de carbone dans une solution de ferricyanure et ferrocyanure (a) et hexamine de ruthénium (b) à 1 mM dans du PBS 10X à 100 mV/s.....	175
Figure 79 : Origatrod avec la capsule vissée à son embout	177
Figure 80 : Voltammétrie linéaire d'une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 1X contenant 1 mM de Ferricyanure à différentes vitesses de rotation.....	179
Figure 81 : Courbe de Levich pour une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 1X contenant 1 mM de Ferricyanure	181
Figure 82 : Courbes de Levich pour des électrodes de CPDMS (2 à 8%) dans une solution à 1 mM de Ferri-ferrocyanure comparées à du carbone vitreux	182
Figure 83 : Courbes de Koutecky-Levich pour une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 10X contenant 1 mM de Ferricyanure.....	183
Figure 84 : Courbes de Koutecki Levich à 0,7 V pour les électrodes de 2 à 8%.....	184
Figure 85: Comparaison de la courbe de Michaelis Menten du CPDMS avec les électrodes de PPF, graphène et diamant pour une densité de courant en rapport avec la surface géométrique (a) et la surface active (b).	186
Figure 86 : Schéma du dispositif, un bloc de PDMS est observable dans lequel un canal est formé en surface des électrodes. Les contacts sont en bleu.	193
Figure 87 : Schéma du masque des marques d'alignement observé sur le logiciel Klayout.....	194
Figure 88 : Observation au microscope des marques d'alignement gravées.....	195

Figure 89 : Schéma du masque utilisé pour le PPF aligné sur les marques d'alignement.....	196
Figure 90 : Masque protégeant le graphène et le PPF aligné sur les marques	196
Figure 91 : Observation au microscope de la résine masquant les électrodes de PPF et graphène.	197
Figure 92 : Motif de l'électrode de diamant aligné avec les marques	198
Figure 93 : Masque pour le dépôt d'oxyde de silicium aligné avec les marques.	198
Figure 94 : Observation en microscopie optique de la silice gravée au niveau de l'électrode de graphène (non visible à l'œil nu), de PPF, de platine, d'argent et de diamant (non déposée), respectivement de haut en bas (a). observation de l'échantillon complet à cette étape (b).	199
Figure 95 : Masque pour le dépôt d'argent aligné sur les marques	200
Figure 96 : Observation au microscope du dépôt d'argent après lift off	200
Figure 97 : Masque utilisé pour le dépôt de platine aligné avec les marques.....	201
Figure 98 : Photographie d'un échantillon après le dépôt de platine et son lift off ..	201
Figure 99 : Évolution de l'épaisseur du PDMS déposé à 4500 rpm pendant 1 minute en fonction du pourcentage de PDMS dans de l'heptane	202
Figure 100 : Schéma du niveau de masque utilisé pour la lithographie utilisée pour la formation du canal en PDMS	203
Figure 101 : Électrodes incluses dans le canal microfluidique en PDMS	204
Figure 102 : Montage utilisé pour les caractérisations.....	204
Figure 103 : Réaction de formation de chlorure d'argent.....	205
Figure 104 : Représentation du ferrocène	206
Figure 105 : Photographie de la prise de contacts sur l'échantillons sous flux	206
Figure 106 : Schéma des pochoirs utilisés pour les dépôt d'électrodes. A gauche le motif pour l'électrode d'argent, à droite les motifs pour les électrodes de CPDMS	208
Figure 107 : Schéma des différentes étapes de préparation du dispositif	208
Figure 108 : Photographie de la prise de contact du système à trois électrodes	209

Figure 109 : Domaine d'électroactivité d'une électrode de CPDMS dans une solution de KCl 0,1 M à 100 mV/s (a) et zoom (b)	210
Figure 110 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS macroscopique (rouge) et microscopique (bleu) dans une solution de 1 mM de ferrocène dans du KCl 0,1 M	211
Figure 111 : Évolution du bruit en fonction du flux	212
Figure 112 : Détection de Ferrocène à différentes concentrations dans du KCl 0,1M	213
Figure 113 : Gamme de linéarité de la détection de ferrocène	214
Figure 114 : Schéma de l'effet photoélectrique pour la détection en XPS.....	222
Figure 115 : Schéma d'une gravure fluorée, issu du site de Brigham Young University	223
Figure 116: Schéma d'une gravure anisotrope (A) et isotrope (B)	224
Figure 117 : Schéma d'un interféromètre utilisé en RIE, issu du site de Cystec	225
Figure 118 : Exemple d'un interférogramme d'une gravure de GaAs issu du site de l'université de Lille	226
Figure 119 : Schéma d'une enceinte de pulvérisation cathodique en fonctionnement, issu du site de Clear Metals.....	227
Figure 120 : Courbe de calibration d'un dosage au TBO	230

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Exemples de la littérature de l'utilisation du carbone vitreux dans la détection électrochimique de molécules cibles	36
Tableau 2 : État de l'art sur la détection d'espèces avec une électrode de PPF	37
Tableau 3 : Regroupement d'articles utilisant le graphène comme transducteur selon Pumera et al. [52]	38
Tableau 4 : Présentation non exhaustive de détection de différents substrats avec une électrode de BDD	39
Tableau 5 : Utilisation de composites pour la détection électrochimique	43
Tableau 6 : Caractéristiques de différents matériaux semi-conducteurs, ces valeurs peuvent varier en fonction du niveau de dopage des matériaux [102], [106]–[111] ..	60
Tableau 7 : Facteurs de mérite KMF et BMF de matériaux semiconducteurs [115] et [116]	61
Tableau 8 : Résumé des différentes méthodes de synthèse de PPF [32], [36], [42], [121], [123]–[127]	64
Tableau 9 : Exemples de conductivités dans des matériaux composites	83
Tableau 10 : Évolution de la rugosité d'un échantillon de SiC avec la température de recuit	93
Tableau 11: Évolution du ratio I_D/I_G en fonction de la température de recuit sur nos échantillons de PPF	100
Tableau 12 : Évolution de la taille des cristallites en fonction de la température de recuit	101
Tableau 13 : Résistances carrées des échantillons de résine pyrolysée sur carbure de silicium	110

Tableau 14: Résistances carrées d'échantillons de PPF issu des travaux de Ranganathan et al.[128]	111
Tableau 15 : Épaisseurs des échantillons de résine pyrolysée sur SiC	112
Tableau 16 : Résistivités des échantillons de résine pyrolysée sur SiC.....	112
Tableau 17 : Résistance carrée et résistivité des échantillons de diamant sur SiC ...	113
Tableau 18 : Domaines d'électroactivité des électrodes dans une solution de KCl 0,1 M et une solution de PBS 10X.....	120
Tableau 19 : Capacités mesurées pour les électrodes synthétisées dans une solution de PBS et de KCl	124
Tableau 20 : Observation de la surface active des électrodes carbonées en pourcentage par rapport à la surface apparente.....	131
Tableau 21 : Observation de la réversibilité électrochimique en fonction des sondes et matériaux des électrodes	133
Tableau 22 : Paramètre cinétiques des électrodes carbonées pour différentes sondes	135
Tableau 23 : Valeurs des vitesses maximum de réaction et des constantes de Michaelis Menten de l'acétylcholinestérase sur des électrodes de PPF, diamant et graphène recouvertes de chitosane.....	150
Tableau 24 : Résistance carrée et résistivité des couches de CPDMS en fonction de la densité de fibre de carbone.....	165
Tableau 25 : Capacité des électrodes de CPDMS en fonction de la densité de fibre de carbone dans la matrice.....	170
Tableau 26 : Surfaces actives de CPDMS en fonction de la concentration de carbone dans le PDMS.....	172
Tableau 27 : Observation de la réversibilité	176
Tableau 28 : Vitesses de rotation et nombre de Reynolds pour les électrodes tournantes	179
Tableau 29 : Paramètres des courbes de Levich de la Figure 82	182

Tableau 30 : Paramètres des droites obtenues dans la Figure 83	184
Tableau 31 : Paramètres des droites de Koutecky Levich pour des électrodes de 2 à 8 % à 0,7 V et courant cinétique.	185
Tableau 32 : Valeurs des vitesses maximum de réaction et des constantes de Michaelis Menten de l'acétylcholinestérase sur des électrodes de CPDMS.....	187
Tableau 33 : Réponse en courant pour la détection d'une concentration en ferrocène	213
Tableau 34 : Gaz principalement utilisés pour la RIE	224

RÉSUMÉ

L'objectif de ce travail de thèse est de préparer des microélectrodes à base carbone, montrant des propriétés électrochimiques adéquates pour réaliser des dispositifs microfluidiques qui pourraient servir à la détection de polluants en milieu aqueux. Ce travail décrit la réalisation d'électrodes carbonées de graphène, résine pyrolysée et diamant sur support SiC, permettant leur structuration et intégration dans un procédé d'étapes technologiques. L'élaboration de ces éléments implique la mise en œuvre de techniques utilisées dans la microélectronique : les procédés de mise en forme tels que la lithographie et la gravure sèche, mais aussi des techniques de dépôt ou encore de traitements thermiques. Cette thèse expose également l'élaboration d'électrodes composites à base de fibres de carbone et de polydiméthylsiloxane (PDMS) pour la réalisation de dispositifs microfluidiques simples et peu onéreux, permettant l'analyse électrochimique en flux continu. Les propriétés électrochimiques (cinétique, surface active, réversibilité, domaine d'électroactivité...) ainsi que physiques (rugosité, résistivité électrique...) de ces matériaux ont été déterminées. L'objectif principal de ce travail de caractérisation étant de définir les conditions optimales de synthèse menant à des matériaux viables pour des applications électrochimiques et bioélectrochimiques. Les performances de ces électrodes pour la détection électrochimique d'espèces en solution ont été étudiées sur des modèles de molécules redox et confrontées à la littérature. La biocompatibilité de ces électrodes a également été vérifiée à travers la réalisation de biocapteurs enzymatiques pour la détection de l'acétylthiocholine. L'activité de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) déposée à la surface de nos différents matériaux carbonés a été conservée et a permis l'utilisation

de ces électrodes modifiées comme transducteurs pour la détection de l'acétylthiocholine.

Mots clés : Graphène, Résine Pyrolysée, SiC, Diamant, Electrochimie, Microfluidique, CPDMS.

ABSTRACT

This thesis work is aimed at preparing novel carbon based microelectrodes, revealing adequate electrochemical characteristics for the realization of microfluidic devices which could apply for the detection of biological pollutants in aqueous environment. This work describes the realization of carbon based electrodes made of graphene, pyrolyzed photoresist films, and diamond on silicon carbide, allowing their structuration and integration in a process formed by multiple technological steps. The elaboration of these elements implies the use of techniques used in microelectronics. Processes of patterning such as lithography and dry etching, but also deposition techniques or even thermal treatments were used. This thesis also shows the elaboration of carbon microfibers and polydiméthylsiloxane (PDMS) based composite electrodes for the realization of simple and cheap microfluidic devices for electrochemical analysis in continuous flow. The electrochemical properties (kinetics, active surface, reversibility, potential range...) but also physical properties (rugosity, electrical resistivity...) of these materials have been determined. The main aim of the characterizations work has been to determine the optimal synthesis conditions leading to viable materials for electrochemical and bioelectrochemical applications. The performances of these electrodes for electrochemical detection of species in solution were investigated on classical redox molecules used in literature for comparison. The biocompatibility of these electrodes was also verified through the realization of enzymatic biosensors for the detection of acétylthiocholine. The activity of the enzyme acetylcholinesterase's (AChE), deposited on the surface of our different carbon materials, was kept and permitted the use of these modified electrodes as transducers for acetylthiocholine detection.

Keywords : Graphene, pyrolyzed photoresist films, SiC, diamond, electrochemistry, microfluidics, CPDMS.

INTRODUCTION

Depuis plusieurs années, le recours à l'utilisation de capteurs pour la détection d'espèces chimiques ou biologiques en des termes qualitatifs et quantitatifs dans le milieu hospitalier, dans l'industrie ou plus généralement dans l'environnement est en constante évolution. Sur les trente dernières années, l'intérêt s'est principalement porté sur les techniques d'analyse de qualité selon des procédures dont les critères sont de plus en plus ciblés. La sélectivité et la précision des capteurs sont des caractéristiques mises en avant pour détecter au mieux les espèces voulues. Il existe actuellement de nombreuses manières de faire ces détections, de la plus simple, comme un changement de couleur qualitatif, pour les éthylotests par exemple, aux plus élaborées comme une détection électrochimique des espèces en solution dans des systèmes de chromatographie en phase liquide. Parmi les différentes méthodes d'analyse, l'électrochimie semble être une alternative séduisante pour une détection simple, fiable, rapide, et à faible coût. Cette technique présente l'avantage de pouvoir être miniaturisée et donc de permettre une portabilité qui, pour des techniques de détection aussi précises, est rarement possible.

L'insertion de cette technique de détection au sein d'une puce permet de rassembler des technologies de laboratoires d'analyse actuels sur une seule puce de quelques centimètres. A l'heure actuelle, les équipements de détection industriels sont de plus en plus évolués, mais confrontés à des enjeux économiques, spatiaux, ou encore de rapidité d'obtention de résultats fiables. Sur un autre plan, le développement de point of care ou tests réalisés et interprétés sur place connaît un succès important, impliquant leurs rapides évolutions. Ces outils d'analyse délocalisée doivent

permettre le diagnostic avec un échantillon de faible volume à tester, avec une haute sensibilité, et offrir un résultat rapidement.

De tels dispositifs font évidemment appel à une réduction d'échelle des différentes fonctions nécessaires à l'analyse d'un échantillon. L'élaboration d'outils analytiques de ce type requiert donc une connaissance multidisciplinaire allant de la détection électrochimique à la microfluidique, en passant par la microstructuration. L'insertion de systèmes électrochimiques dans un canal microfluidique demande une maîtrise de la structuration d'électrodes et par la suite de leur incorporation dans le dispositif. Le comportement de ces électrodes dépend essentiellement du choix du matériau utilisé ainsi que de leur géométrie. Elles sont généralement métalliques ou carbonées. Les contraintes réduisant le choix des matériaux pour la synthèse d'électrodes viennent de leur coût et de leur instabilité dans les milieux d'analyse, mais aussi de la complexité de leur méthode de synthèse et leur structuration.

Le travail de thèse présenté dans ce manuscrit s'inscrit dans l'optique de structurer des électrodes carbonées de différentes natures pour l'insertion et la détection dans un dispositif microfluidique. Le choix du carbone comme matériau principal pour toutes ces électrodes vient de ses propriétés exceptionnelles en électrochimie et de sa stabilité chimique dans différents milieux d'analyse. Deux approches seront étudiées dans ce travail de structuration. La première repose sur la synthèse d'électrodes carbonées à des dimensions micrométriques à partir d'étapes technologiques nécessitant l'utilisation d'équipements sophistiqués. La deuxième approche est une méthode simple et rapide d'élaboration de matériaux composites carbonés n'exigeant que peu de matériel. Avec ces deux méthodes d'élaboration, ces matériaux seront structurés afin de les insérer dans un système microfluidique. Les différentes électrodes synthétisées seront évaluées par des caractérisations électroniques,

optiques et électrochimiques. Elles seront également employées dans une application de biocapteur électrochimique afin d'évaluer leurs performances analytiques.

Le premier chapitre de ce manuscrit va rendre compte, dans une première partie, de l'état de l'art des capteurs électrochimiques, et de leurs différentes utilisations dans le domaine de la détection. Leurs natures seront également décrites et comparées pour expliquer leur utilisation dans cette thèse. Dans une deuxième partie, seront présentés les matériaux choisis pour former et structurer les électrodes, leurs propriétés physiques ainsi que leurs méthodes d'élaboration.

Le deuxième chapitre proposera une optimisation des méthodes de synthèse d'électrodes carbonées à base de résine pyrolysée, de graphène et de diamant, utilisant des techniques élaborées. Les propriétés de ces matériaux seront comparés par des caractérisations de surface, de la microscopie électronique, et des analyses électrochimiques. Une application pour la biodétection électrochimique d'une molécule cible en utilisant ces matériaux comme électrodes est décrite dans la dernière partie de ce chapitre.

Le troisième chapitre sera focalisé sur la synthèse d'électrodes composites carbonées à base de fibres de carbone et de polymère (le polydiméthylsiloxane ou PDMS). Il sera également présenté l'optimisation de son élaboration pour une meilleure détection électrochimique. Les performances électrochimiques de ce matériau composite seront comparées à celles d'autres matériaux composites carbonés décrits dans la littérature. Une application biocapteur a également été effectuée et présentée dans une dernière partie.

Le quatrième chapitre montrera comment structurer et insérer les électrodes précédemment élaborées dans un système microfluidique à base de PDMS. Les différentes étapes de lithographie utilisées pour parvenir à l'intégration des

microélectrodes en PPF et en graphène seront présentées. La méthode d'insertion d'électrodes de composites carbonés dans un système microfluidique est également décrite. Les caractéristiques de ces deux types de dispositifs seront commentées.

Le manuscrit se terminera par la conclusion générale suivie des perspectives qui nous semble intéressantes pour la suite de ce travail. La maîtrise de la structuration de ces matériaux carbonés et leur intégration dans des dispositifs microfluidiques sont une première étape qui nous semble très prometteuse pour aller vers des capteurs implantables ou des dispositifs de détection portatifs et réutilisables qui auront leur place dans la médecine moderne ou l'analyse environnementale.

CHAPITRE I

CAPTEURS ÉLECTROCHIMIQUES ET MATÉRIAUX CARBONÉS

1.1 Capteurs électrochimiques

Plusieurs techniques de détection électrochimique existent, et leurs caractéristiques sont étudiées pour pouvoir en distinguer leurs atouts. La diminution du seuil de détection offre un intérêt dans la détection des plus faibles concentrations de molécules cibles. La médecine et l'environnement sont des domaines qui cherchent à repousser cette frontière et améliorer au mieux les performances des capteurs pour répondre à leurs différents besoins dans l'analyse des échantillons. La sensibilité des capteurs est un autre paramètre important dans les applications analytiques et correspond à une variation du signal significative correspondant à la modification de concentration d'une espèce détectée. La sélectivité trouve son importance dans la détection d'une espèce cible en présence d'un groupe d'espèces. Il est essentiel en matière de détection de s'assurer que le signal observé est uniquement dû à la présence de l'espèce visée. Un capteur électrochimique se doit d'être reproductible. Il doit offrir une même réponse en détection pour des mesures répétées. Ce paramètre est à mettre en lien avec l'exactitude, qui correspond à l'accord du signal observé et la concentration réelle de l'espèce en solution.

1.1.1 Les différents types de capteurs électrochimiques

1.1.1.a Capteurs conductimétriques

La conductimétrie est une technique qui permet de mesurer la capacité d'une solution à conduire le courant entre deux électrodes. C'est en 1874 que Friedrich Kohlrausch observa qu'un électrolyte possédait une résistance électrique propre à sa composition. En faisant varier la dilution de cet électrolyte et en observant sa conductivité il parvint à déterminer la vitesse de transfert des ions en solution, et formula la loi qui porte son nom :

$$\sigma_i = \sum_i z_i \lambda_i \cdot C_i$$

Équation 1 : Loi de Kohlrausch

où σ_i , C_i , z_i , et λ_i sont respectivement la conductivité, la concentration, le nombre de charges et la conductivité électrique molaire de l'espèce i . La conductivité de la solution étant la somme des conductivités partielles σ_i .

La conductance observée dépend de la surface immergée des deux électrodes nécessaires à la mesure, et de la distance qui les sépare. Ces paramètres sont en général fixés et parfaitement connus pour déterminer directement la conductivité des solutions.

La mesure s'effectue par l'application d'une tension sinusoïdale (pour éviter le phénomène d'électrolyse) entre deux électrodes en solution, et l'observation du courant en résultant permet de remonter à la résistivité ou la conductivité du milieu.

Le grand désavantage de ces capteurs est qu'ils n'ont aucune sélectivité intrinsèque. Ils détectent toutes les espèces ioniques en solution. Il y a nécessité de bien connaître

la composition ionique des solutions étudiées pour sortir des informations intéressantes.

Ce type de capteur peut servir, par exemple, à mesurer la salinité de l'eau ainsi que tester la pureté de l'eau.

1.1.1.b Capteurs potentiométriques

Ces capteurs mesurent la différence de potentiel à courant nul, présente entre deux électrodes plongées dans une solution: l'électrode de travail et l'électrode de référence. La réponse du capteur suit la loi de Nernst :

$$E = E_0 + \frac{RT}{nF} \times \ln\left(\frac{A_{ox}}{A_{red}}\right)$$

Équation 2 : Loi de Nernst

Avec E la différence de potentiel à l'équilibre entre l'électrode de travail et la solution (en V), E_0 le potentiel standard de l'espèce dosée (en V), R la constante des gaz parfaits (en $\text{J.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$), T la température en solution (en K), n le nombre d'électrons, F la constante de Faraday (en C/mol) et A l'activité de l'espèce.

Ces électrodes peuvent être utilisées pour un dosage de CO_2 , pH, ions (nécessite une membrane). L'électrode de référence la plus utilisée est en verre, saturée en calomel. Ces électrodes sont majoritairement utilisées en milieu aqueux pour des applications environnementales ou agroalimentaires.

Cette technique a l'avantage d'être peu coûteuse, simple d'utilisation et rapide, cependant elle est peu sensible et manque de reproductibilité.

Une évolution de cette technique est basée sur des capteurs type ISFET (Ion Selective Field Effect Transistor, schéma en Figure 1), où la grille d'un MOSFET (Metal Oxyde Semiconductor Field Effect Transistor) a été modifiée pour laisser place à une surface permettant la détection d'espèces [1],[2]. En poussant plus loin cette technique, il est possible de former un biocapteur en fonctionnalisant la surface de la grille à l'aide de biorécepteurs [3]. Dans la littérature on peut retrouver des EnFET (Enzyme Field Effect Transistor), où des enzymes sont directement liés à la surface. Des travaux récents associent la méthode ELISA (Enzyme-linked immunosorbent assay) et un ISFET [4]. Cette méthode offre initialement un signal optique, mais son exploitation sur transistor permet de récupérer un signal électrique qui étend le champ d'application des équipements portables.

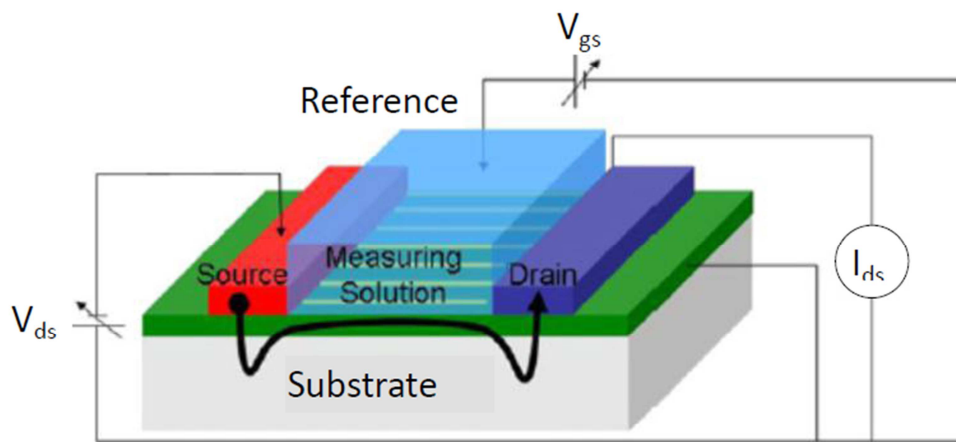


Figure 1 : Schéma d'un ISFET selon [5]

Les transducteurs type ISFET se singularisent dans les détecteurs potentiométriques en permettant d'obtenir des seuils de détection plus faibles comme cela est mentionné par Jang et al. [4] où le seuil de détection est de seulement 1 pg/L.

1.1.1.c Capteurs ampérométriques

Un capteur ampérométrique fonctionne par oxydation ou réduction d'une espèce en solution sur une électrode de travail. On applique à cette dernière une différence de potentiel par rapport à une électrode de référence (schéma en Figure 2). Le courant d'oxydation ou de réduction mesuré sur une troisième électrode, l'électrode auxiliaire, est directement proportionnel à la concentration de l'espèce étudiée.

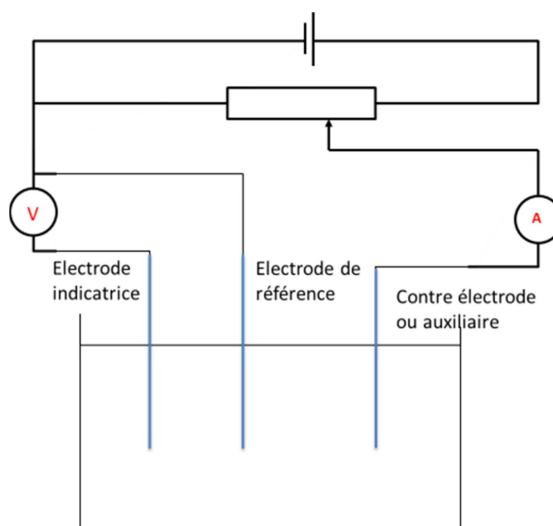


Figure 2 : Schéma d'un montage de détection par ampérométrie

Nous avons orienté notre thèse vers ce type de capteurs. En effet, ceux-ci présentent les deux caractéristiques essentielles que l'on attend d'un capteur dans les domaines que nous avons mentionné précédemment. Ils sont sélectifs en termes d'espèces puisque le niveau de surtension permet de discerner une espèce caractérisée par ce potentiel. Ils permettent également de quantifier les espèces cibles avec une assez bonne précision et pour des seuils de détection assez bas.

1.1.2 Nature des électrodes de travail

Les performances d'un dispositif électrochimique dépendent grandement de la nature de l'électrode de travail utilisée. Le matériau choisi doit montrer un comportement favorable à la réalisation d'une réaction d'oxydoréduction sur la sonde électrochimique utilisée. Une réaction rapide, reproductible, sans modification de la surface, est un critère efficace de sélection. La fenêtre de potentiel sur laquelle l'électrode peut travailler sans provoquer l'électrolyse de l'électrolyte est aussi importante, plus elle sera large et plus l'électrode utilisée sera intéressante. Le coût et la possibilité de structurer facilement le matériau sont également des critères à prendre en compte. Dans la littérature, il existe une grande variété de matériaux utilisés à cet effet. Parmi ceux-ci, quelques-uns dénotent par leur grande conductivité et robustesse face aux réactions d'oxydoréduction. De ce fait l'or, le platine et le carbone sont les plus communément utilisés.

1.1.2.a Platine

Le platine est un métal noble, inerte chimiquement, facile à structurer sous différentes formes (fils, plaques...). C'est le matériau qui semble le mieux adapté à l'électrochimie, et pourtant, en dehors de son coût élevé, il conserve un désavantage majeur concernant sa capacité à réduire l'hydrogène ionique en gaz en milieu aqueux (favorisé en milieu acide), même à un potentiel très faible, ce qui rend difficile l'observation de signaux analytiques pour des molécules se réduisant à des potentiels inférieurs au potentiel de réduction de l'hydrogène.

Dans la littérature, le platine est souvent utilisé, en tant que sujet d'étude, mais également comme élément de comparaison avec de nouvelles électrodes. On retrouve l'utilisation de ce type d'électrode dans la détection de métaux lourds, de pesticides, mais également en qualité de transducteur dans un biocapteur [6]–[12].

1.1.2.b Or

Les électrodes d'or ont un comportement similaire à celui du platine, mais leur surface s'oxyde dans une gamme de potentiels positifs. La limitation de l'utilisation de cette électrode vient avec la présence de sulfures en solution dont l'adsorption en surface de l'or est favorisée, modifiant ainsi l'état de surface de l'électrode [13]. Son utilisation reste tout de même très importante, notamment dans la formation de structure en monocouches assemblées ou SAM pour self assembled monolayers.

On trouve beaucoup de travaux de recherche autour des électrodes d'or, structurées en microélectrodes, nanoparticules ou en tant qu'électrode macroscopique, avec ou sans fonctionnalisation. Ces électrodes fonctionnalisées sont utilisées dans de multiples domaines d'application allant de l'agroalimentaire pour détecter des pesticides ou des métaux lourds, à la médecine pour identifier des séquences d'ADN en passant par l'environnement pour quantifier les différents types de micropolluants [7]–[9], [14]–[26].

1.1.2.c Carbone

La fenêtre de potentiel des matériaux carbonés permet de descendre à des potentiels plus négatifs que ceux possibles avec une électrode d'or ou de platine. Ceci offre la possibilité d'analyser et de détecter une plus grande gamme de molécules. Le matériau carboné le plus utilisé en électrochimie est le carbone vitreux. Ce matériau peu onéreux est difficile à structurer à l'échelle micrométrique (matériau cassant). Le carbone a la possibilité d'exister sous plusieurs structures qui offrent des caractéristiques électrochimiques différentes. Parmi celles-ci, on trouve le graphène, le diamant, les composites carbonés, ou encore le carbone vitreux. Toutes ces formes de carbone montrent de bons comportements en électrochimie. En plus d'avoir une large fenêtre d'électroactivité, ces matériaux sont aussi inertes chimiquement, peu coûteux, structurables et permettent de travailler en environnements sévères (haute

température, pH extrêmes...). Ces avantages donnent une réelle motivation pour les intégrer dans les différentes configurations de systèmes électrochimiques sous forme de microélectrodes et dans des dispositifs microfluidiques. C'est sur cet objectif que s'est orienté notre travail de thèse.

1.1.2.c.α Carbone vitreux

Complètement composé de carbones sp^2 , le carbone vitreux est un matériau non graphitique dont la structure serait apparentée à des fullerènes (sphères de 60 atomes de carbone, dont la forme ressemble à un ballon de football) [27]. Résistant à de très hautes températures (jusque 3000 °C) et inerte chimiquement, il est très utilisé en électrochimie pour la détection de très nombreuses cibles avec ou sans médiateurs à sa surface. Le Tableau 1 présente quelques résultats de la littérature obtenus avec le carbone vitreux.

Espèce détectée		Limite de détection	Gamme de détection	Auteur	Référence
Acetaminophène et Tramadol		$4,71.10^{-9}$ M	$3,34.10^{-8}$ - $4,22.10^{-5}$ M	Bankim J. Sanghavi	[28]
Acetaminophene, Aspirine Caféine		$2,58.10^{-8}$ M $8,47.10^{-8}$ M $8,83.10^{-8}$ M	$2,91.10^{-7}$ - $6,27.10^{-5}$ M	Bankim J. Sanghavi	[29]
Venlafaxine et Desvenlafaxine		$1,24 \times 10^{-8}$ M $2,11 \times 10^{-8}$ M	$3,81.10^{-8}$ - $6,22.10^{-5}$ M $5,33.10^{-8}$ - $3,58.10^{-5}$ M	Bankim J. Sanghavi	[30]

Tableau 1 : Exemples de la littérature de l'utilisation du carbone vitreux dans la détection électrochimique de molécules cibles

Ce matériau est bien plus attractif que le graphite par sa haute densité (i.e. faible porosité), et des surfaces très peu rugueuses après polissage. Cependant, ce matériau très cassant est peu adapté pour la structuration de micro électrodes de forme et taille désirée.

1.1.2.c.β Résine pyrolysée

Après sa découverte en 1984, la résine pyrolysée a été étudiée électriquement par Lyons et al. [31]. Ce n'est qu'en 1998 que ce matériau a été envisagé comme électrode de travail par Kim et al. [32]. Ils ont montré que cette couche qui ne se dégradait pas dans le temps offrait un signal similaire à celui du carbone vitreux, très reproductible. Aujourd'hui ce matériau a trouvé sa place dans les laboratoires de recherches en électrochimie, où il est utilisé en tant qu'électrode biocompatible pouvant être insérée dans un système microfluidique [33], [34], ou encore comme électrode très sensible et sélective pour la détection de métaux lourds [35]. Del Campo et al. ont même montré la possibilité d'inclure ce type d'électrode en technologie CMOS (complementary metal oxide semiconductor) [36]. Le Tableau 2 donne quelques exemples de la littérature d'utilisation de résines pyrolysées dans la détection électrochimique d'espèces cibles.

Analyte	Matériau d'électrode	Limite de détection	Gamme de détection	référence
Pb ²⁺	PPF	$1,8 \cdot 10^{-8}$ M	$1 \cdot 10^{-8}$ - $9 \cdot 10^{-8}$ M	[37]
Cd ²⁺	PPF	$1 \cdot 10^{-8}$ M	$1 \cdot 10^{-8}$ - $9 \cdot 10^{-8}$ M	[37]
Zn ²⁺	PPF	$1 \cdot 10^{-8}$ M	$1 \cdot 10^{-8}$ - $9 \cdot 10^{-8}$ M	[37]
Thrombin	aptamer-modified PPF	0.5 nM	0.5nM - 500nM	[38]
Glucose	PPF	0.5 mM	0.5 mM - 20 mM	[39]
Dopamine	PPF	1 μ m	1 μ M – 5 μ M	[40]

Tableau 2 : État de l'art sur la détection d'espèces avec une électrode de PPF

La résine pyrolysée apparaît comme une bonne alternative au carbone vitreux. Elle présente des propriétés électrochimiques proches de celui-ci, et peut être structurée facilement par lithographie optique [41]. Sa surface est elle aussi très peu rugueuse, mais les méthodes de synthèse de cette couche sont très variées en terme de conditions de recuit et de résine utilisée (Tableau 2 et [42]).

1.1.2.c.γ Graphène

Depuis sa découverte récente, le graphène a bousculé les méthodes de détection dans différents domaines, et notamment en électrochimie. La plupart des capteurs utilisant du graphène comme transducteur utilisent un graphène exfolié ou obtenu par dépôt chimique en phase vapeur ou CVD, car il est possible de le déposer sur des surfaces conductrices et de récupérer le signal électrique.

Analyte	Matériau d'électrode	Limite de détection	Gamme linéaire	référence
Pb ²⁺	Graphene	0.02 µg/L	0.5–50 µg/L	[43]
Cd ²⁺	Graphene	0.02 µg/L	1.5–30 µg/L	[43]
H ₂ O ₂	Graphene/AuNPs/chitosan	180 µM	0.2–4.2 mM	[17]
H ₂ O ₂	Reduced graphene oxide	0.05 µM	0.01–10 mM	[44]
Dopamine	Graphene	NA	5–200 µM	[45]
Dopamine	Graphene	2.64 µM	4–100 µM	[46]
NADH	Ionic liquid-graphene	5 µM (ethanol)	0.25–2 mM	[47]
Glucose	Graphene/Au/Nafion	5 µM	0.015–5.8 mM	[48]
Glucose	Reduced graphene oxide	2 µM	0.01–10 mM	[44]
Glucose	Graphite nanosheet/Nafion	NA	0.2–1.4 mM	[49]
Glucose	N-doped graphene	0.01 mM	0.1–1.1 mM	[50]
Glucose	Graphene oxide	1 µM	1–20 µM	[51]

Tableau 3 : Regroupement d'articles utilisant le graphène comme transducteur selon Pumera et al. [52]

Le graphène a été désigné comme un matériau pouvant aller jusqu'à la détection d'un atome dans un gaz (1ppm dans 5 litres) [53]. C'est un matériau dont les caractéristiques sont prometteuses, notamment il permet l'obtention d'un bon rapport signal sur bruit améliorant les seuils de détection à de très basses concentrations (Tableau 3). Sa croissance épitaxiale le rend compatible avec les procédés d'élaborations industriels. Cependant, il reste encore très difficile à obtenir à l'heure actuelle et ses méthodes de synthèses en limitent son utilisation.

1.1.2.c.δ Diamant

Le diamant offre en électrochimie une très large fenêtre d'électroactivité allant de -1,5 V à 1,5 V. De plus les travaux de Strojek et al. ont montré un rapport signal sur bruit très important 8 à 16 fois supérieur à celui du carbone vitreux[54]. L'utilisation du diamant comme électrode dans des mesures électrochimiques implique une amélioration de sa conductivité par un dopage de bore (Boron Doped Diamond ou BDD). Son utilisation a visé la détection de multiples molécules cibles (Tableau 4).

Analyte	Matériau d'électrode	Limite de détection	Gamme linéaire	référence
Zn ²⁺	BDD	1,6 ppb	5-20 ppb	[56]
Cd ²⁺	BDD	0,36 ppb	1,2-25 ppb	[56]
Pb ²⁺	BDD	1,15 ppb	3,8-45 ppb	[56]
Cu ²⁺	BDD	0,9 ppb	3-20 ppb	[56]
CAD (cadaverine)	BDD	20 pM	1.0μM à 1.0 mM	[57]
PUT (putrescine)	BDD	20 pM	1.0μM à 1.0 mM	[57]
SPMD (spermidine)	BDD	20 pM	1.0μM à 1.0 mM	[57]
SPM (spermine)	BDD	6.3 pM	0.32μM à 1.0 mM	[57]
Sulfadiazine	BDD	50 nM	0.05-50 μM	[58]
Sulfadiazine	BDD	50 nM	0.05-50 μM	[58]
Sulfadiazine	BDD	50 nM	0.05-50 μM	[58]

Tableau 4 : Présentation non exhaustive de détection de différents substrats avec une électrode de BDD

Les électrodes de diamant dopé au bore sont utiles pour fabriquer de bons capteurs électrochimiques. Elles sont fiables dans le temps et ne se dénaturent pas. Le comportement électrochimique de cette électrode dépend fortement du taux de dopage au bore. La fenêtre d'électroactivité de ce matériau diminue avec un taux de dopage croissant, permettant néanmoins d'obtenir une meilleure cinétique en électrochimie.

La Figure 3 publiée par Nebel et al. [59] compare les voltampérométries cycliques (VC) de plusieurs électrodes en diamant avec celles de platine, or et carbone vitreux. Les courbes sont décalées sur l'échelle des ordonnées. Par rapport à l'or et le platine, on observe une fenêtre de potentiel plus large pour le diamant mais qui varie avec le dopage. Quatre électrodes en diamant sont comparées. Deux électrodes sont en diamant polycristallin: B:PCD(NRL) avec un dopage de bore de $5.10^{19} \text{ cm}^{-3}$ et B:PCD(USU) avec un dopage de $5.10^{20} \text{ cm}^{-3}$, comparées avec des électrodes en diamant monocristallin, B:(H)SCD avec un dopage de $3.10^{20} \text{ cm}^{-3}$ ainsi qu'une électrode en diamant non dopé (H)SCD. On observe aussi que la cristallinité peut également influencer ses propriétés électriques et électrochimiques [55].

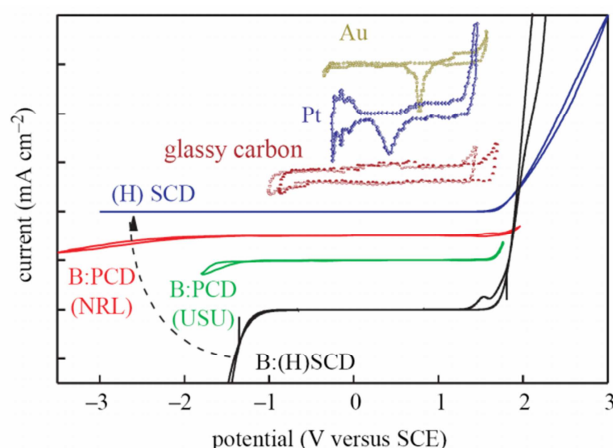


Figure 3 : Comparaison des voltampérométries cycliques (VC) de différentes électrodes (diamants, or, platine et carbone vitreux) pour l'électrolyse de l'eau dans une solution à 0,5M H_2SO_4 . VC de différentes électrodes de diamant : deux électrodes de diamant polycristallin dopé au bore B:PCD(NRL) $5.10^{19} \text{ cm}^{-3}$ et B:PCD(USU) $5.10^{20} \text{ cm}^{-3}$ ainsi que deux électrodes de diamant monocristallin dopé B:(H)SCD $3.10^{20} \text{ cm}^{-3}$ et non dopé (H)SCD [59].

1.1.2.c.ε Composites à base de carbone

Les matériaux composites sont composés de matériaux conducteurs carbonés au sein d'une matrice diélectrique. Ils permettent d'obtenir des surfaces composées de microélectrodes dispersées, offrant un intérêt dans le domaine de l'électrochimie.

De manière générale, les matériaux composites présentent des intérêts majeurs en électrochimie. Ils peuvent être facilement structurés en microélectrodes et insérés dans des structures microfluidiques. Leur biocompatibilité leur permet également de participer à des détections bioélectrochimiques. La particularité de ces électrodes provient de la possibilité de minimiser la dépendance du signal électrochimique au flux présent. Avec des électrodes macroscopique, à base de matériaux carbonés classiques (graphène, diamant, PPF, carbone vitreux...), la diffusion des espèces oxydées ou réduites à la surface est majoritairement linéaire (Figure 4 A). En effet, lorsqu'un potentiel d'oxydation ou de réduction est appliqué à l'électrode, une consommation des espèces a lieu et un gradient de concentration se forme à la surface de l'électrode. Plus le potentiel est appliqué longtemps, plus le gradient s'étend sur une longue distance de la surface de l'électrode dans la solution. Cela induit une diffusion d'espèces de la région à forte concentration (cœur de la solution) vers la région à faible concentration (surface de l'électrode). Cette diffusion peut être expliquée simplement par la loi de Fick (Équation 3).

$$\vec{J}_A = -D_{AB} \cdot \overrightarrow{grad} C_A$$

Équation 3 : Loi de Fick pour une espèce A dans un milieu B

Avec J_A le vecteur densité de courant de particules (mol/m²/s), D_{AB} le coefficient de diffusion de l'espèce A dans le milieu B (m²/s) et C_A la concentration de l'espèce A.

Dans le cas d'un réseau de microélectrodes, comme cela peut être le cas pour certaines structures de matériaux composites, la diffusion en surface est radiale (Figure 4 B), permettant d'atteindre un régime stationnaire qui réduit la dépendance du signal électrochimique de l'électrode à la convection et donc aux flux des solutions. Cette indépendance au flux est un paramètre important dans la réalisation de détecteurs électrochimiques dans des systèmes chromatographiques mais aussi dans l'élaboration de dispositifs microfluidiques pour l'analyse électrochimique [60]–[62].

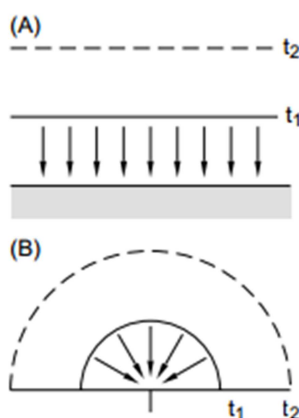


Figure 4 : A : Schéma de diffusion linéaire B: Schéma de diffusion radiale [63]

Les matériaux composites ont vu un nombre croissant d'études sur les 30 dernières années (Tableau 5). Différents polymères ou matériaux conducteurs utilisés ont été caractérisés et étudiés sur différentes sondes électrochimiques. Un avantage indéniable de ces électrodes est de pouvoir minimiser l'influence du flux sur le signal électrochimique. Cela dépend néanmoins du taux de dopage en matériau conducteur et de sa nature.

Polymère	Matériau conducteur	Substrat détecté	Gamme linéaire	Limite de détection	référence
Resine Epon 828	Fibre de carbone	DHBA (3,4-dihydroxybenzylamine Hydrobromide)	-	5 pM	[64]
Resine Epon 828	Fibre de carbone	Dopamine	-	5 pM	[64]
Resine Epon 828	Fibre de carbone	Tyrosine	-	5 pM	[64]
Resine Epon 828	Fibre de carbone	Fluphenazine	-	20 pM	[65]
PDMS	Fibre de carbone	Catéchol	1 – 600 μM	500 nM	[66]
PDMS	Poudre de graphite	Glucose	4 - 40 mM	3 mM	[67]
Resine epoxy grade RX	Graphite	Phenol	10 – 110 μM	1 μM	[68]

Tableau 5 : Utilisation de composites pour la détection électrochimique

1.1.2.c.ζ Choix des matériaux carbonés pour l'élaboration de capteurs électrochimiques

De tous les matériaux carbonés présentés précédemment, seul le carbone vitreux est difficile à structurer. La plateforme de travail Nanolyon à l'Ecole Centrale de Lyon (à laquelle le laboratoire Ampère a accès) utilise des résines pouvant être étudiées pour la synthèse d'électrodes en PPF. Le département Energie Electrique du Laboratoire Ampère travaille de son côté sur le carbure de silicium qui est un matériau inerte chimiquement, sur lequel il est possible de former du graphène par épitaxie. En collaboration avec le laboratoire LSPM (Laboratoire des Sciences des Procédés et des Matériaux) de Villetaneuse, il est également possible de déposer du diamant dopé au bore. Dans le département bioingénierie du laboratoire Ampère, la structuration de composites à base de particules de graphite et de PDMS pour l'intégration de microélectrodes dans des systèmes microfluidiques est également étudiée [69]. La thèse de Matthieu Brun traitait de PDMS dopé au noir de carbone.

Dans ce travail de thèse nous avons souhaité pouvoir élaborer et microstructurer des électrodes carbonées de natures différentes au sein d'un même dispositif. La résine pyrolysée semble être apte à la structuration et les méthodes de synthèses peuvent être adaptées à nos besoins. Le graphène, fait également l'objet de beaucoup de recherches en électrochimie, et le plus souvent par l'utilisation de feuillets en suspension déposés en surface d'électrode. Nous proposons de former ce matériau à même le substrat utilisé pour supporter toutes les microélectrodes prévues dans ce travail. Le diamant est un matériau référence, qui pourra être utilisé comme élément de comparaison. Nous avons également voulu dans un même temps simplifier la méthode de synthèse du matériau composite au sein du département bioingénierie et améliorer ses propriétés électriques et électrochimiques. Un matériau composite de polydiméthylsiloxane et de fibres de carbone pourrait convenir comme alternative, puisque les microfibrilles de carbone ne nécessitent pas de protection pour les utiliser, et leur aspect filiforme permettrait d'obtenir une percolation à plus faible dopage, donc en consommant moins de fibres.

1.1.3 Modifications de surface : Intérêt et méthode

Dans l'étude précédente, nous avons vu différents matériaux utilisés pour l'électrochimie. Dans les publications citées, beaucoup d'entre-elles n'utilisent pas ces électrodes en l'état. De manière générale, des couches sont ajoutées en surface de celles-ci pour modifier leur capacité à détecter différentes espèces. On parle de modification de surface. En effet, une électrode ne permet pas forcément de détecter toutes les espèces voulues. Il s'agit souvent d'une espèce dont le potentiel d'oxydation ou de réduction est en dehors de la fenêtre d'électroactivité de l'électrode en question. Pour résoudre ce problème, beaucoup de travaux se sont attelés à modifier les surfaces des électrodes utilisées en ajoutant des catalyseurs. Ceci afin de limiter les problèmes de surtension et abaisser le potentiel d'oxydation ou de réduction de l'espèce cible pour qu'elle soit détectable dans le domaine

d'électroactivité de l'électrolyte. Cette catalyse peut également se faire en déposant des enzymes en surface qui réagissent spécifiquement avec l'espèce cible pour former un produit électroactif facilement détectable par l'électrode. Ainsi la fonctionnalisation de la surface de l'électrode peut alors être faite de deux manières :

- Chimiquement, par des dépôts de matériaux qui pourront catalyser la réaction électrochimique et permettre directement la détection de l'espèce cible.
- Biologiquement, par dépôt d'entités biologiques réagissant avec les espèces cibles pour les détecter indirectement à travers la réponse électrochimique du produit de la réaction.

1.1.3.a Fonctionnalisation chimique d'électrodes carbonées

1.1.3.a.α Fonctionnalisation avec du bismuth

L'utilisation du bismuth en tant qu'électrode ou comme médiateur pour l'électrochimie remonte aux années 2000 [70], et se place dans le contexte du remplacement du mercure pour une détection efficace de métaux lourds. Il est principalement utilisé à l'état de nanoparticules ou de film déposé en surface d'électrodes [8], [35], [43], [71], [72]. Ces électrodes ont essentiellement été utilisées dans le domaine clinique, environnemental et agroalimentaire pour la détection de métaux lourds.

1.1.3.a.β Fonctionnalisation avec du cobalt

Le cobalt est un catalyseur électrochimique puissant qui permet de diminuer le potentiel d'oxydation d'électrolyse d'espèces en solution. Souvent utilisé au sein de molécules comme les sélénocyanates de cobalt ou encore en phthalocyanine de cobalt. Il est déposé en surface d'électrodes. C'est son électrolyse qui fournira ou utilisera les électrons nécessaires à la détection électrochimique [73]–[82].

1.1.3.a. γ Fonctionnalisation avec des nanoparticules d'or

Plusieurs travaux ont décrit la possibilité de modifier des électrodes carbonées avec des nanoparticules d'or afin de détecter à des faibles concentrations différents ions métalliques tels que le chrome [83], l'arsenic [84]–[86], le sélénium [87] et le plomb [88].

Des électrodes carbonées fonctionnalisées avec des nanoparticules d'or ont également été utilisées pour réaliser des biocapteurs à base d'enzymes oxydoréductases [14], [16], [89], [90]. En effet, la plupart des enzymes oxydoréductases sont isolées électriquement sous une couche protéinée. Des médiateurs redox sont souvent utilisés pour faciliter la communication électronique entre les enzymes immobilisées et la surface de l'électrode. Les nanoparticules d'or permettent de s'affranchir de l'utilisation de médiateurs en créant un environnement qui permet aux protéines de conduire électriquement.

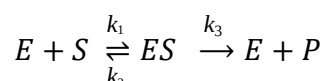
1.1.3.b Fonctionnalisation enzymatique

Une enzyme est une protéine visant à catalyser des réactions biochimiques. Elle participe donc à une réaction sans être altérée. Pour se faire, elle abaisse l'énergie d'activation nécessaire pour que la réaction s'effectue, ce qui a pour effet direct d'augmenter la cinétique réactionnelle. Une enzyme peut réagir spécifiquement avec un seul composé (l'uréase ne reconnaît que l'urée) comme elle peut être spécifique à une famille de composés (exemple de l'hexokinase qui agit avec plusieurs hexoses).

Les enzymes sont classées en six catégories :

- Les hydrolases : hydrolysent les liaisons ester, peptidiques, oligosaccharides, polysaccharides et les produits phosphorylés
- Les isomérases : réarrangent les molécules pour en obtenir des isomères
- Les ligases : forment des liaisons covalentes entre deux molécules
- Les lyases (synthétases) : favorisent la formation d'une double liaison aboutissant à une fixation ou au départ d'un groupement
- Les oxydoréductases : catalysent des réactions d'oxydoréduction en favorisant le transfert d'ions hydronium et d'électrons.
- Les transférases : favorisent le transfert d'un groupement d'une molécule sur une autre

La réaction catalysée par une enzyme s'effectue le plus souvent en deux étapes (équation 1). Le substrat (S) s'attache de façon réversible au site spécifique de l'enzyme (E) pour former un complexe (ES). La deuxième étape consiste en la catalyse de la réaction formant le produit (P) à partir du substrat.



Le renouvellement de l'enzyme est l'étape limitante de la réaction et liée à la constante de réaction k_3 . Cette mesure correspond au nombre de molécules pouvant être converties par unité de temps. L'équation de Michaelis-Menten permet de décrire la vitesse de cette réaction :

$$v = \frac{k_3[E][S]}{K_M + [S]}$$

Équation 4 : Équation de Michaelis-Menten

La vitesse de réaction dépend donc de la concentration de l'enzyme, mais aussi de celle du substrat, de la constante k_3 et de la constante de Michaelis-Menten « K_M ».

L'activité des enzymes dépend également de paramètres tels que le pH, la température, la force ionique ou encore la présence d'inhibiteurs...

Dans ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la fonctionnalisation des électrodes carbonées avec l'enzyme Acétylcholinestérase qui est une enzyme de la famille des hydrolases. Cette enzyme catalyse l'hydrolyse du neurotransmetteur acétylcholine en choline. Cette enzyme représente un bon modèle pour les applications visées par les matériaux étudiés dans cette thèse. En effet, l'acétylcholinestérase est souvent immobilisée sur des microélectrodes pour quantifier l'acétylcholine au niveau d'une synapse [91]. Elle est également employée pour réaliser des biocapteurs capables de détecter des pesticides et des métaux lourds [92]. Afin d'assurer le bon fonctionnement des enzymes et convenir de la méthode de fixation qui pourrait conserver au mieux leur activité, une étude des méthodes d'immobilisation d'enzymes a été réalisée.

1.1.3.c Méthodes d'immobilisation

Dans un biocapteur enzymatique, l'enzyme et le transducteur (l'électrode) sont fortement liés. Ainsi, l'évènement de reconnaissance (enzyme/analyte) est transformé de façon quasi-immédiate par le transducteur en un signal électrique facilement interprétable. La fixation de l'enzyme sur la surface du transducteur permet également une réutilisation des biocapteurs ou leur utilisation sous flux sans risque de perdre les biorécepteurs à long terme. Il existe différentes méthodes d'immobilisation pour fixer les enzymes sur la surface d'un transducteur. Il est nécessaire d'évaluer l'utilisation d'un type d'immobilisation plutôt qu'un autre en fonction de la nature de la surface d'immobilisation, de la méthode de transduction et du milieu de détection. La cohérence du coût, ou encore de la conservation de l'activité du biorécepteur en font partie. Ainsi cette partie présentera les techniques majeures d'immobilisation de biorécepteurs sur des surfaces de transducteurs.

1.1.3.c.α Immobilisation par adsorption

L'adsorption met en œuvre des liaisons faibles, de type Van der Waals, liaisons hydrogène, liaisons ioniques ou des interactions hydrophiles/hydrophobes. Ces liaisons s'établissent entre des molécules en solution et des surfaces de corps minéraux ou organiques (Figure 5). En modifiant des paramètres tels que la température, le pH ou la force ionique, il est possible de favoriser ou de défavoriser ces interactions entre une surface ciblée et une molécule donnée. Cette méthode présente l'avantage d'être très simple à mettre en œuvre. De plus, cette méthode ne requiert aucun réactif chimique pouvant dénaturer l'enzyme. Toutefois, cette méthode souffre des problèmes d'instabilité dus à la désorption des enzymes fixées par des liaisons faibles au transducteur. Ce type d'immobilisation pourrait néanmoins très bien convenir à des capteurs jetables ou à usage unique dans des milieux contrôlés. Des étapes de modification de surface sont parfois nécessaires afin de permettre l'adsorption des enzymes.

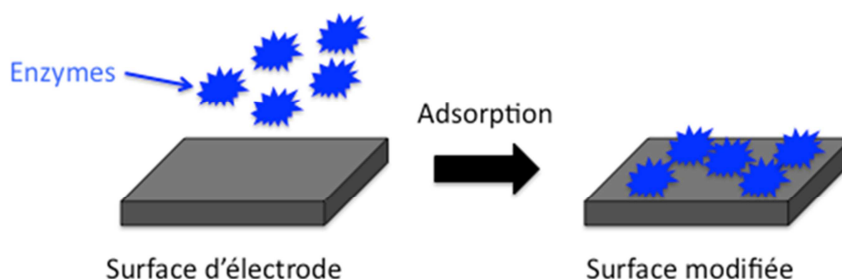


Figure 5 : Schéma d'adsorption des enzymes

1.1.3.c.β Immobilisation par réticulation

L'immobilisation des biorécepteurs par réticulation implique l'utilisation d'agents réticulants qui ont pour rôle de lier chimiquement les enzymes entre elles. Il résulte de cette réticulation un réseau enzymatique tridimensionnel dont la masse moléculaire augmente considérablement au cours de la réaction. Ceci donne lieu à

une structure insoluble qui précipite et adhère d'une manière stable sur la surface du transducteur (Figure 6). Cette technique d'immobilisation offre une fixation stable des enzymes sur la surface du transducteur et permet la fixation d'une forte quantité d'enzymes. Toutefois, une perte de l'activité enzymatique peut être observée à cause de l'utilisation de réactifs chimiques qui ont tendance à dénaturer les enzymes [93],[94].

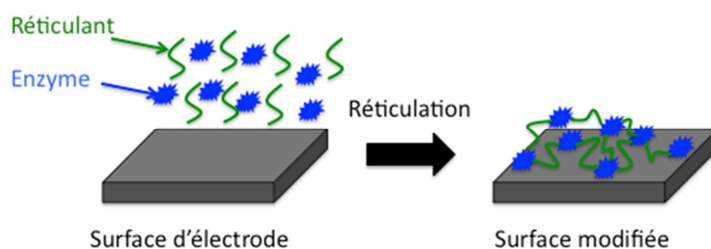


Figure 6 : Schéma de réticulation d'enzymes en surface d'un transducteur

1.1.3.c.γ Immobilisation par piégeage

L'immobilisation des biorécepteurs par piégeage se fait le plus souvent par polymérisation. Ainsi, les enzymes sont piégées dans la matrice polymère formée à la surface du transducteur. Un exemple connu est celui du polymère rouge neutre qui permet la fixation de biorécepteurs sur la surface des électrodes pour une transduction électrochimique [95]. Par une méthode de polymérisation électrochimique d'une solution contenant le monomère et le biorécepteur, il est possible de former une couche de polymère en surface du transducteur piégeant dans son volume les entités de biorécepteurs (Figure 7). L'avantage de cette technique réside dans la conduction rémanente du polymère déposé en surface, contribuant ainsi au passage du courant dans le volume de la matrice. Cette dernière doit permettre uniquement la diffusion des petites molécules (analyte et produits de la réaction enzymatique) pour éviter que les enzymes puissent s'échapper. Cette méthode présente l'avantage de permettre l'immobilisation d'une grande quantité d'enzymes. Ce pendant l'enzyme n'étant pas

liée chimiquement à la matrice, elle peut diffuser à travers la couche de polymère au cours de l'utilisation. De plus, cette méthode n'est applicable que pour les analytes de petites tailles. Par ailleurs, cette technique peut limiter l'activité de l'enzyme à cause de l'interaction des sites catalytiques avec la matrice.

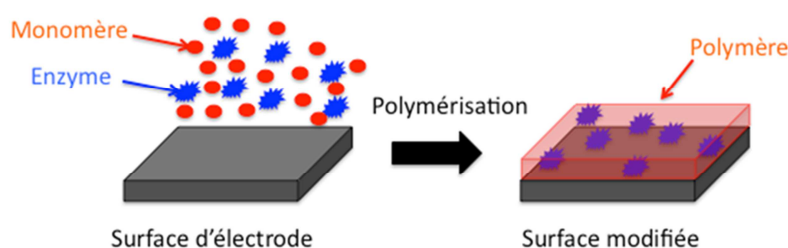


Figure 7 : Schéma de piégeage d'enzymes en surface d'un transducteur

1.1.3.c.δ Immobilisation par greffage covalent

Cette méthode d'immobilisation consiste à lier les biorécepteurs à la surface du transducteur via des liaisons covalentes. Cette technique d'immobilisation permet une fixation très solide des biorécepteurs en surface du transducteur. Généralement, la liaison utilisée pour ce greffage est une liaison amide qui résulte de la réaction d'une fonction amine de l'enzyme avec une fonction acide carboxylique de la surface ou inversement. Elle nécessite néanmoins une étape de fonctionnalisation de surface. Cette étape induit la formation de groupements de surface tels que des groupements carboxyles (-COOH). S'en suit alors une étape d'activation en utilisant de l'EDC (1-Ethyl-3-(3-diméthylaminopropyl)carbodiimide) et du NHS (N-Hydroxysuccinimide) pour former un ester activé plus réactif que le groupement carboxylique. Cet ester activé réagit plus rapidement avec les groupements amines des enzymes en formant la liaison covalente amide (Figure 8).

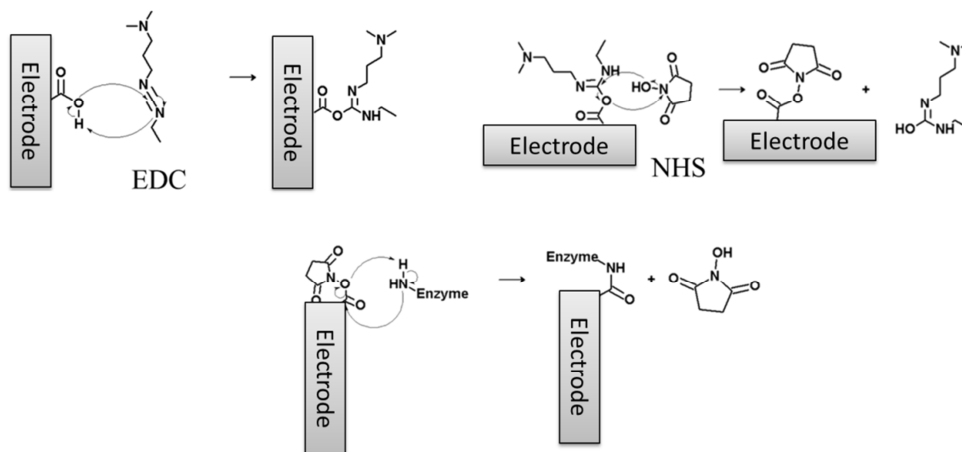


Figure 8 : Exemple de fonctionnalisation de surface par la méthode EDC/NHS

Parmi les autres méthodes de greffage covalent, il existe une technique mettant en jeu des surfaces carbonées hydrogénées et des fonctions amines. Cette méthode particulièrement novatrice, et mise au point tout particulièrement dans le cas du diamant par [96],[97], permet de greffer des groupements en une seule étape sur une surface de diamant polycristallin, quel que soit son taux de dopage ou sa cristallinité.

Le diamant utilisé est un diamant dopé au bore, formé par MPCVD (Microwave Enhanced Plasma CVD). Sa surface a été au préalable hydrogénée par passage dans un plasma d'hydrogène pendant une heure à 750 °C. Dans les travaux précédemment cités, la biotine (vitamine B8) ou encore le ferrocène ont été utilisés pour montrer l'efficacité de cette méthode de greffage. Les molécules de biotine ou de ferrocène doivent en premier lieu être modifiées pour obtenir un groupement amine, qui participera alors à la réaction permettant le greffage (Figure 9).

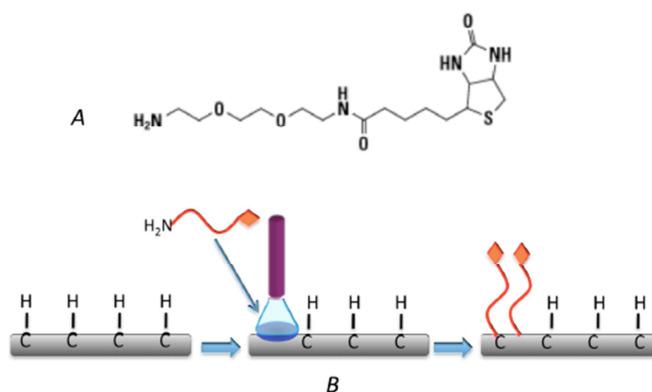


Figure 9 : Schéma de la molécule de biotine modifiée avec un groupement amine (A), Schéma du greffage sur le diamant hydrogéné (B), issu de C. Agnès et al. [96].

Les méthodes d'immobilisation covalentes sont irréversibles et stables dans le temps. Cependant, cette technique est contraignante en terme de manipulation, et de temps. En outre, les réactifs employés peuvent entraîner la dénaturation des molécules immobilisées.

1.1.3.c.ε Choix de la méthode d'immobilisation

Nous avons choisi de tester deux méthodes d'immobilisation pour fixer l'enzyme acétylcholinestérase sur la surface de nos matériaux carbonés. D'un côté, il est intéressant de pouvoir fonctionnaliser de façon permanente et stable les matériaux pour obtenir un capteur avec un signal stable dans le temps. Par ailleurs, pour une fonctionnalisation rapide des matériaux avec les enzymes, une fixation par adsorption peut être adaptée. Ces deux méthodes d'immobilisation seront donc testées.

1.1.4 Conclusion sur les capteurs électrochimiques

Nous avons vu dans cette partie, une présentation des différents types de capteurs électrochimiques et la diversité des matériaux utilisés pour les fabriquer. Notre choix s'est porté sur l'utilisation de matériaux carbonés aux vues de leurs caractéristiques séduisantes et de leur compétitivité par rapport à leurs concurrentes, en platine et en or. L'utilité de fonctionnaliser ce type de surface a été exposée ainsi que les méthodes d'immobilisation en vue de la formation de capteurs bioélectrochimiques. Ce travail trouvera son originalité dans deux parties distinctes :

- La synthèse de matériaux carbonés sélectionnés sur support SiC, leur caractérisation, et leur structuration en vue d'une insertion dans un système microfluidique.
- La synthèse d'électrodes composites à base de fibres de carbone, leurs caractérisations et leur insertion dans un système microfluidique souple, orienté vers une utilisation point of care.

Partant de ces objectifs, nous verrons par la suite, dans la dernière partie de ce chapitre les méthodes de synthèse de ces différents matériaux, ainsi que leur structuration mais aussi leurs caractéristiques dans leurs domaines respectifs d'utilisation.

1.2 Matériaux carbonés : méthodes de synthèse et caractéristiques

De l'étude bibliographique précédente, la méthode de détection a été sélectionnée, ainsi que les matériaux composant ces capteurs. Le graphène, la résine pyrolysée et le diamant dopé bore sont adaptés à la structuration de motifs de taille réduite et de résolution contrôlée. Le matériau composite de fibres de carbone et de PDMS ne peut pas être structuré de cette manière et sera formé indépendamment des autres électrodes. Le graphène pouvant être formé directement à partir du SiC et ce matériau étant biocompatible et inerte chimiquement, il servira de support pour les différentes électrodes synthétisées.

1.2.1 SiC

1.2.1.a Généralités

Un des intérêts majeurs du SiC réside dans son grand « gap » qui lui permet de supplanter le silicium dans le domaine de l'électronique de puissance haute tension. Il est également très prisé en médecine, car très inerte chimiquement, non toxique. On le retrouve, par exemple, comme revêtement de prothèses osseuses internes (hanches...). Matériau également très dur (9,5 en dureté Mohs), il fut longtemps utilisé comme le diamant pour la découpe de matériaux ou encore comme abrasif.

La biocompatibilité du SiC est soulignée par S. Sadow dans le livre qu'il a édité en 2012, « Silicon carbide biotechnology », et cela pour de la croissance neuronale, de la culture de cellules, ou de la biofonctionnalisation [98]. Dans le Chapitre 6 de C.L Frewin et al., "Biocompatibility of SiC for neurological applications" et tout particulièrement dans la partie 6.3.1 "SiC biocompatibility", on montre que le SiC est un matériau offrant une surface de haute qualité pour la culture cellulaire quel que soit son polytype.

Les travaux de Coletti et al. ont observé l'adhésion des cellules et leur prolifération par microscopie à fluorescence. Un deuxième test, le MTT, utilisant le sel de tétrazolium, a permis d'observer de manière quantitative la prolifération des cellules en surface du SiC. Ces travaux ont montré que le SiC offre des performances assez proches de celles du polystyrène, lui-même étant très utilisé dans la culture cellulaire, une fois rendu hydrophile.

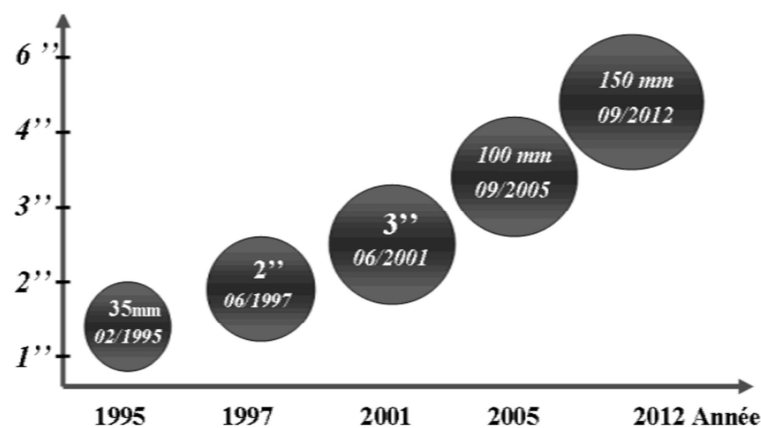


Figure 10 : Évolution de la taille des wafers de SiC chez Cree¹

En revenant sur le SiC d'une manière générale, on peut affirmer aujourd'hui que les méthodes de synthèse continuent de s'améliorer et permettent d'obtenir des substrats (wafers) de meilleure qualité, de plus grande taille (Figure 10), et de moins en moins chers.

¹ www.cree.com

1.2.1.b Synthèse

Le carbure de silicium n'existe pas à l'état naturel sur terre. Les seuls substrats naturels connus sont issus de météorites. Après des débuts de synthèse difficiles mettant en jeu de hautes températures (supérieurs à 2000°C), pour obtenir des matériaux polycristallins, la méthode de « Lely » s'impose en 1955 comme la technique de synthèse de SiC par condensation pour obtenir une structure monocristalline de pureté électronique [99]. Cette technique repose sur la sublimation d'une poudre de SiC à 2300 °C, qui en se condensant formera du SiC monocristallin. Tairov et Tsvetkov amélioreront cette technique en 1978 en ajoutant dans le réacteur un germe monocristallin de SiC sur lequel le matériau croîtra (Figure 11) [100]. Le défaut majeur de cette technique est qu'elle induit des défauts structuraux dans la maille cristalline. Certains de ces défauts peuvent éventuellement se retrouver sous la forme de microtubes ou micropores traversant de part en part le substrat empêchant alors la structuration de composants. Des lingots monocristallins (sous forme de boules) sont ainsi obtenus et sont ensuite sciés pour former des plaquettes (wafers). La Figure 10 présente l'évolution chronologique de la taille des plaquettes jusqu'à nos jours.

A la surface de ces plaquettes, des couches épitaxiales sont réalisés , en contrôlant le type et le dopage, par des techniques qui reposent sur le principe utilisé en « chemical vapor deposition », CVD, qui est un dépôt en phase vapeur [101].

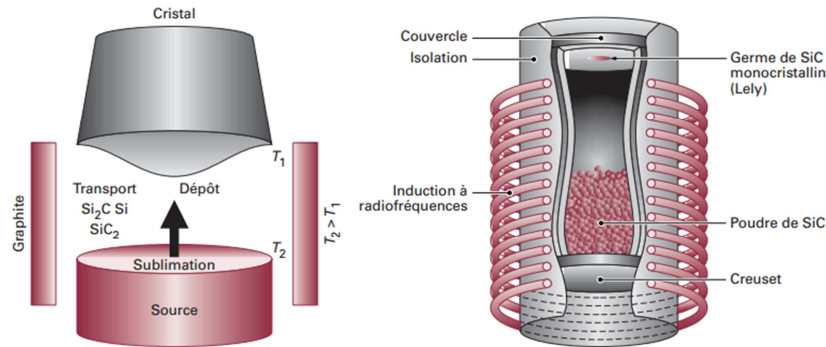


Figure 11 : Schéma d'un réacteur utilisant la méthode Lely modifiée selon Camassel [102], issu de [103]

Ce type de dépôt s'effectue, comme pour la croissance Lely modifiée, dans une enceinte tubulaire encerclé de spires inductives, offrant de hautes températures (HTCVD), permettant de faire une homoépitaxie de SiC avec une température très bien contrôlée. Les vitesses de croissance atteintes peuvent aller jusqu'à 50 μm par heure. Ces techniques sont actuellement utilisées par des entreprises telles que Cree, Dow Corning, SiCrystal, Novasic, Tankeblue, etc... A l'heure actuelle il est possible d'obtenir des substrats ou wafers monocristallins d'un diamètre de 6 pouces avec une densité de micropores inférieure à 1 cm^{-2} .

1.2.1.c Structure

Le SiC peut se trouver sous plusieurs structures appelées polytypes (Figure 12). Les plus répandues de ces structures sont les SiC-4H, 6H et 3C. Les polytypes 4H et 6H, hexagonaux supplantent le 3C, cubique, car la croissance monocristalline du 3C est plus difficile que celle de ses concurrents.

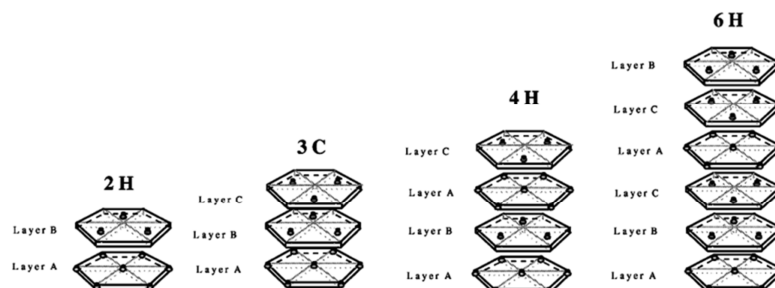


Figure 12 : Illustration de différents polytypes du SiC issue de [104]

Le caractère fortement covalent des liaisons entre le carbone et le silicium conduit à une forte énergie de cohésion qui se situe aux alentours de 1200 kJ/mol. Remarquons aussi que le point de fusion du SiC est très élevé (fusion autour de 2700°C). Ce matériau est très peu déformable en raison de la directionnalité des liaisons et de l'arrangement spatial des atomes, cela a également un impact sur sa dureté, qui le classe comme l'un des matériaux les plus durs connus, après le diamant (Figure 13).

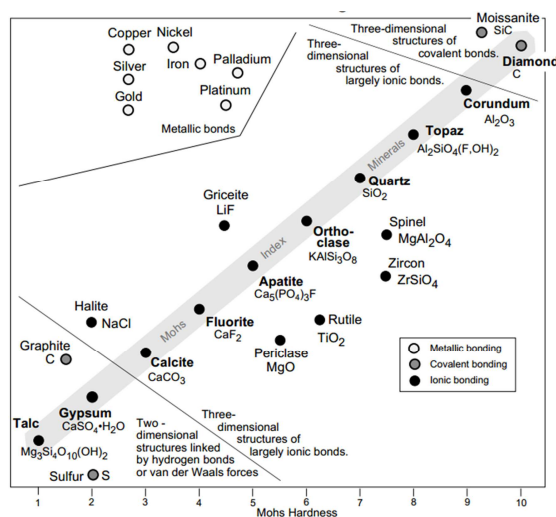


Figure 13 : Dureté de différents matériaux : variation selon les liaisons et les structures selon Nickel & Nichols [105]. (Il n'y a pas d'échelle verticale, les matériaux sont placés de façon à être facilement observables)

1.2.1.d Caractéristiques physiques

Les propriétés physiques du SiC sont différentes pour chaque polytype. Ce semi-conducteur est attrayant pour son grand gap (2.2 - 3.3 eV). Il est souvent comparé au silicium et à des matériaux prometteurs tels que le GaN, GaAs ou encore le diamant (Tableau 6).

Matériau	E _g (eV)	ε _r	μ _n (cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	μ _p (cm ² .V ⁻¹ .s ⁻¹)	E _c (MV.cm ⁻¹)	v _{sat} (10 ⁷ cm.s ⁻¹)	λ (W.cm ⁻¹ .K ⁻¹)
Si	1,1	11,8	1450	500	0,2-0,8	1	1,5
2H-GaN	3,39	9	900	350	3,3	2,5	1,3
GaAs	1,42	12,9	8000	400	0,4-0,9	0,7	0,46
3C-SiC	2,2	9,6	900	45	1,2	2	4,5
6H-SiC	3	9,7	370	90	2,4	2	4,5
4H-SiC	3,26	10	600	115	2	2	4,5
Diamant	5,45	5,5	1900	3800	5,6	2,7	2

Tableau 6 : Caractéristiques de différents matériaux semi-conducteurs, ces valeurs peuvent varier en fonction du niveau de dopage des matériaux [102], [106]–[111]

E_g : énergie du gap, ε_r : permittivité relative, μ_n : mobilité des électrons, μ_p : mobilité des trous, E_c : champ critique (de claquage), V_{sat} : vitesse de saturation des électrons, λ : conductivité thermique. Les mobilités indiquées sont à titre indicatif, car elles peuvent varier fortement en fonction du dopage.

L'observation d'un gap en énergie très supérieur à celui du silicium permet d'expliquer l'intérêt du SiC comme alternative au silicium dans l'électronique de puissance. Ainsi il sera possible d'avoir des composants qui fonctionnent à plus haute température si tant est qu'il soit possible d'obtenir les mêmes architectures que celle actuelles dans le silicium. C'est ce qui a permis aux entreprises telles que Cree, Semisouth, Rohm, Infineon, Vishay, ou encore Cissoid de développer des diodes, transistors et thyristors en SiC pour l'électronique de puissance.

Pour comparer ces matériaux et pouvoir les classer selon la performance désirée par un constructeur, des facteurs de mérite ont été élaborés pour cibler les applications les plus propices à chacun des matériaux étudiés. Parmi ceux-ci on retrouve les facteurs de mérite de Baliga ($BMF = \mu\epsilon_r E_c^3$) [112] qui est utilisé dans les applications basses fréquences sensible aux pertes en conduction, de Johnson ($JMF = \frac{E_c v_{sat}}{2\pi}$) [113] qui informe sur la tenue du matériau à haute fréquence et haute puissance ou encore de Keyes ($KMF = \lambda \sqrt{\left(\frac{Cv_{sat}}{4\pi\epsilon_r}\right)}$) [114] qui permet de donner une information sur les performances thermiques et fréquentielles du semi-conducteur. Deux de ces facteurs de mérite sont regroupés dans le Tableau 7 pour plusieurs semiconducteurs.

Matériau	KMF	BMF
Si	1	1
2H-GaN	1,6	186,7
GaAs	0,45	14,8
3C-SiC	1,6	33,4
6H-SiC	4,68	125,3
4H-SiC	4,61	223,1
Diamant	32,1	25106

Tableau 7 : Facteurs de mérite KMF et BMF de matériaux semiconducteurs [115] et [116]

1.2.1.e Conclusions autour du SiC

L'utilisation du SiC comme support pour la synthèse d'électrodes tient son origine dans plusieurs de ses caractéristiques. La faible conductivité du SiC intrinsèque nous assure que les signaux obtenus en électrochimie seront uniquement dus aux matériaux carbonés plus conducteurs présents à sa surface. Sa tenue en température ($T_f \approx 2700^\circ\text{C}$, correspondant à sa sublimation [117]) permet également de travailler les couches carbonées conductrices en surface sur une large gamme de température. Dans la suite du chapitre, nous verrons que cette propriété m'a permis de former des couches de résine pyrolysée et de synthétiser du graphène en surface du SiC. La possibilité de travailler à des tailles de l'ordre du micromètre par des méthodes technologiques expliquées dans le chapitre IV) permettraient à terme une insertion dans un procédé industriel pour une réduction du coût de fabrication. Non seulement biocompatible, le SiC est également inerte chimiquement. Déposé par pulvérisation, dépôt laser pulsé (PLD), CVD ou encore évaporation sur différentes surfaces (SiC amorphe), il permet d'enrober des éléments afin de les rendre biocompatibles. On retrouve des objets tels que des stents [118], des sondes de détection d'infarctus [119], des prothèses osseuses [120], etc... . Au vu de ces différentes caractéristiques variées, il est aisément concevable de vouloir utiliser ce matériau comme substrat pour l'élaboration de biocapteurs.

1.2.2 Résine pyrolysée

1.2.2.a Généralités

Les premières études menées sur la résine pyrolysée (Pyrolyzed Photoresist Film ou PPF) ont eu lieu dans les années 80, où Lyons et al. ont étudié des PPF obtenus par décomposition thermique de la résine HPR-206 [121]. Cette technique a depuis été largement étendue, sur différentes résines, à différentes températures. Le PPF est une couche noire opaque, d'une rugosité très faible et d'une épaisseur très homogène (photographie en Figure 14). Les utilisations de ces films vont d'une couche protectrice du SiC lors de recuits post implantation ionique [122], à une électrode bon marché pour l'électrochimie [36].

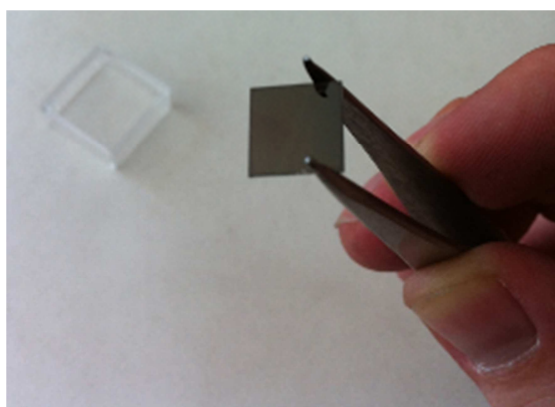


Figure 14 : Échantillon de résine pyrolysée à la surface d'un substrat de SiC

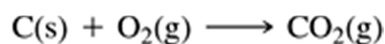
1.2.2.b Méthodes de synthèse

La littérature offre la possibilité d'observer l'utilisation d'une grande quantité de résines différentes pour la synthèse de PPF (Tableau 8). La résine est déposée le plus souvent par spin-coating en surface d'un substrat, suivi par un recuit haute température dans une atmosphère exempte d'oxygène. Les résines utilisées sont des polymères à chaîne carbonée, ainsi la formation de la couche carbonée s'effectue par rupture des liaisons covalentes de ces polymères par apport calorifique.

Papier	Lyons, 1984	Schueller, 1999	Kinoshita, 1999	Ranganathan, 2001	Kosteki, 2001	Singh, 2002	Hebert, 2003	Fairman, 2008	Del Campo, 2011	Larsen, 2013
Résine utilisée	HPR-206	H-resins, with a phenylene diacetylene repeat unit	AZ-4330 Et OCG-825	AZ4330	AZ-4330 OIR-897 XPSU	SU-8	AZ4330	AZ 4620	AZ 4652	AZ5214 et AZ4562
épaisseur	2,3µm	10-150µm	8-10µm	5-6µm	8-10µm	-	4-6µm	-	Ar ou N2	
Atmosphère	N2 ou Ar	Ar	N2	10 ⁻⁷ Torr, 10 ⁻⁵ Torr, N2 et N2(0,95)+H2(0,05)	He	N2(0,95)+H2(0,05)	N2(0,95)+H2(0,05)	N2(0,95)+H2(0,05)		Sans oxygène
Rampe de température	80°C/h	-	50°C/min jusqu'à 500°C puis 20°C/min	20°C/min	5°C/min	1-5°C/min	10°C/min	-	143°C/min	3 ° C/min puis 2 ° C/min avec paliers de 1h à 200, 500, 700 et 900 ° C
Tmax	350-1050°C	1100°C	600-1100°C	600-1100°C	1000°C	600-1100°C	1000°C	1050-1100°C	1000°C	900 ° C
Temps passé à Tmax	-	-	1h	1h	1h	1h	1h	1h-1h30	1h	1h
substrat	SiO2	Cr(400Å)/Si	Si	Si	Si3N4(1000Å)/Si	Si	quartz	Si	Si	Si et quartz

Tableau 8 : Résumé des différentes méthodes de synthèse de PPF [32], [36], [42], [121], [123]–[127]

Il est indispensable d'éliminer toute présence d'oxygène dans l'enceinte de formation de la couche de PPF, car le carbone réagira avec celui-ci pour former du gaz carbonique.



Selon Ranganathan et al.[128], la température de recuit influence la conductivité du PPF, ainsi plus la température de recuit est haute et plus le matériau sera conducteur. Ceci implique une limitation évidente : il ne faut pas détériorer le substrat supportant la couche de résine. Dans notre cas, le carbure de silicium reste solide jusqu'à 2700°C, de plus la couche de résine préserve l'évaporation préférentielle du silicium présent dans le matériau SiC.

1.2.2.c Structuration des PPF

L'un des atouts majeurs de cette couche réside dans la possibilité de la structurer géométriquement à l'échelle macroscopique, mais aussi micrométrique, voire nanométrique. En premier lieu, lorsque la résine est déposée, elle peut être insolée à travers un masque de photolithographie, puis développée pour obtenir les motifs correspondants au masque. C'est ce que l'on appelle une résine photosensible, impliquant la modification de ses propriétés lorsqu'elle se retrouve éclairée par une source ultra-violette. Une résine positive sera soluble dans un développeur lorsqu'elle sera insolée, à l'inverse une résine négative insolée sera insoluble (Figure 15). C'est par ce processus que sont préparées les couches avant pyrolyse.

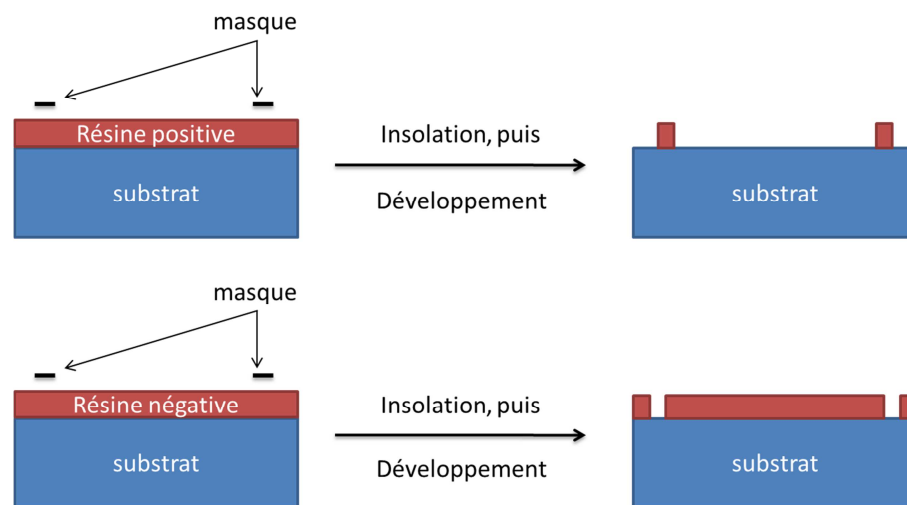


Figure 15 : Illustration de la lithographie d'une résine positive (en haut) et d'une résine négative (en bas)

1.2.2.d Structure des couches de résine pyrolysée

La structure d'une couche de PPF s'apparente à celle du graphite, mais dépend fortement des méthodes employées pour sa synthèse. Kostecki et al. [124] offrent une étude de la surface des couches carbonées synthétisées à partir de la résine OIR-897 (Figure 16). On y retrouve notamment des observations Raman et XPS en comparaison à du HOPG (Highly Ordered Pyrolytic Graphite).

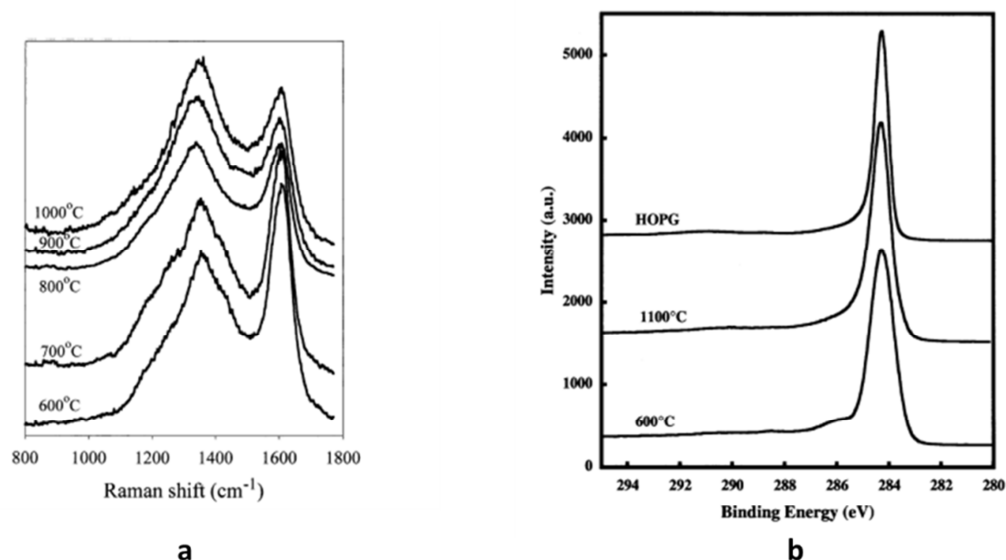


Figure 16 : a) Spectre Raman de la résine OIR-897 pyrolysée à différentes températures. b) Spectre XPS du pic C1s pour du HOPG, et de la résine OIR-897 pyrolysée à 600 °C et 1100°C [124]

Le PPF reste cependant un matériau polycristallin où il est néanmoins possible de calculer la taille de ses cristallites grâce au spectre Raman de l'échantillon [129].

1.2.2.e Conclusions autour du PPF

Les matériaux carbonés sont connus pour leur large fenêtre d'électroactivité dans des milieux aqueux, et les couches de résine carbonisée ne font pas exception, puisque leur comportement électrochimique est très souvent associé à celui du carbone vitreux. Tout au long de cette partie nous avons vu que ce matériau était en tout point avantageux dans l'élaboration d'électrodes de travail de par leur facilité de synthèse, de structuration pouvant aller jusqu'à l'échelle nanométrique, mais aussi par leur possibilité à s'inscrire dans une thématique de microfluidique et de biodétection grâce à leur biocompatibilité. C'est donc un matériau très complet et très prometteur dans l'électrochimie et la bioélectrochimie, et c'est pour toutes ces raisons qu'il a été inclus dans cette étude.

1.2.3 Graphène

1.2.3.a Généralités

Le graphène est une monocouche d'atomes de carbone arrangés en une maille hexagonale en deux dimensions (2D). L'accumulation de couches de graphène mène à la formation de graphite (3D). Cela fait maintenant presque soixante-dix ans que le graphène a été étudié de façon théorique [130], [131] bien souvent pour tenter de décrire le comportement électronique de matériaux carbonés. L'intérêt scientifique autour du graphène augmente au fil du temps pour en faire un modèle théorique en matière condensée. Jusqu'en 2004, il était impensable de pouvoir observer du graphène dans un état stable car il était supposé se réarranger automatiquement en nanotube, ou encore en fullerène. Pourtant, Novoselov, Geim et al. ont réussi à l'isoler [132], [133], et observer un effet hall quantique, caractéristique d'un gaz d'électrons bidimensionnel [134], [135].

1.2.3.b Synthèse

Les diverses applications du graphène sont limitées par les différentes manières de le produire. Il existe aujourd'hui plus d'une dizaine de méthodes pour obtenir du graphène, chacune de ces possibilités offre un graphène différent en forme, taille et qualité. Selon Novoselov [136], cette progression risque de durer encore une dizaine d'années jusqu'à l'obtention d'une technologie mature de ce matériau dans ses différents domaines d'application. Quelques-unes de ces possibilités de synthèse seront évoquées afin de comprendre la diversité de fabrication et d'utilisation du graphène.

1.2.3.b.α Exfoliation du graphite

Dans son étude sur le graphène, Novoselov [133] décrit l'obtention du graphène par frottement d'un morceau de graphite sur une surface, de la même façon qu'une craie sur un tableau, ou un crayon sur une feuille (Figure 17). A l'issue de cette

manipulation il est possible d'observer par endroits des monocouches de graphite : du graphène. Cette observation confirmée par STM (microscope à effet tunnel ou Scanning Tunneling Microscope), des études successives ont mené à l'obtention de feuillets de graphène par exfoliation.

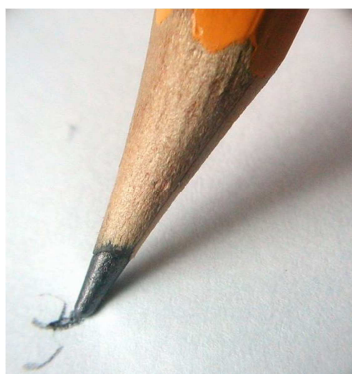


Figure 17 : Dépôt simple d'une couche contenant du graphène

Cette fois-ci plus question de frotter le graphite précurseur, mais il est alors question de l'oxyder dans une solution d'acide sulfurique, nitrique et de chlorure de potassium, puis de chauffer rapidement la solution à 1050 °C [137], ou encore de disperser du graphite dans une solution en bain à ultrasons.

Cette technique peu coûteuse permet d'obtenir de multiples nano-paillettes de graphène en solution, de bonne qualité, et peut s'appliquer dans des peintures de graphène déposées au pinceau. Son principal défaut réside dans la taille des feuillets obtenus qui reste jusqu'à aujourd'hui très restreinte puisqu'elle s'apparente à quelques centaines de nanomètres.

1.2.3.b.β Dépôt chimique en phase vapeur (CVD)

Le dépôt chimique en phase vapeur ou CVD pour Chemical Vapor Deposition permet d'obtenir de larges couches polycristallines uniformes de graphène. Elle repose sur l'admission et la décomposition de méthane, ou de propane dans une enceinte de CVD. Le composé C_xH_y se dépose alors sur le substrat choisi (en cuivre le plus souvent) [138].

La difficulté de cette méthode réside dans le fait qu'il est indispensable de transférer cette couche sur d'autres substrat. Cette opération s'avère très délicate mais néanmoins faisable comme le montre les études de Lee et al. [139], qui ont séparé le métal du graphène dans un bain à ultrasons puis par dissolution du métal.

Les limites de cette méthode sont prévisibles de par la polycristallinité du graphène formé, impliquant des limites de mobilité de porteur, donc de qualité de graphène. Il est cependant remarquable de noter la possibilité de former cette couche sur une surface proche du mètre carré [140].

1.2.3.b.γ Formation de graphène à partir de SiC par sublimation de silicium

Comme présenté précédemment, le carbure de silicium est principalement utilisé dans l'électronique de puissance pour son grand gap électronique et les champs électriques intenses qu'il peut supporter. Le recuit à une température supérieure à 1250°C de ce matériau (SiC-6H ou SiC-4H) permet la sublimation du silicium en surface et ainsi la formation d'une couche carbonique en surface. Ce phénomène a été observé depuis plusieurs dizaines d'années, pendant la fabrication des composants de puissance en SiC, lors des traitements thermiques à très haute température (jusqu'à 1700°C) nécessaires pour activer les dopants introduits par implantation ionique. Plus récemment il a été montré surtout par l'équipe de Claire Berger, de l'Institut Néel de Grenoble et Georgia Institute of Technology, qu'il est possible, en utilisant des

équipements spécifiques, de contrôler la sublimation du Si pour former des monocouche de graphène en surface du SiC aussi bien sur sa face Si aini que celle C [141]. La Figure 19 présente des schéma et une photographie du four à induction utilisé par cette équipe pour la synthèse du graphène par sublimation du Si à partir du SiC ainsi qu'une célèbre présentation schématique de ce procédé technologique qui illustre une monocouche de graphène formée au-dessus d'une structure cristalline hexagonale en SiC.

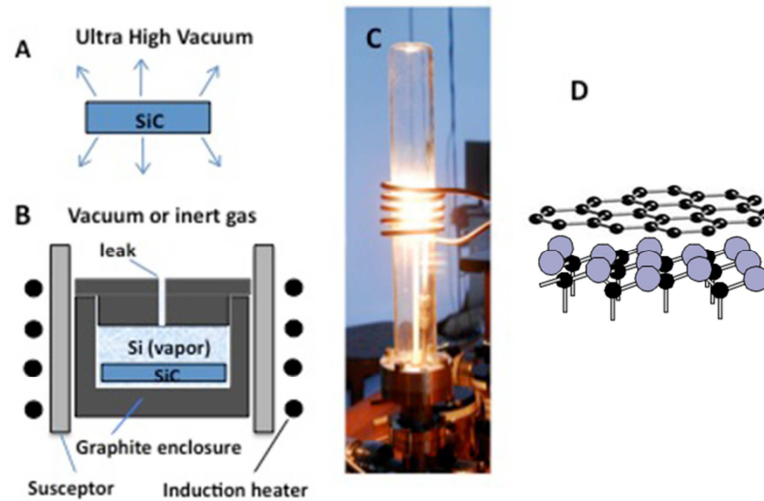


Figure 18 : Méthode de sublimation du silicium issu de [142]. (A) Schéma d'un wafer de SiC sous UHV, permettant la croissance rapide de graphène du fait que le silicium ne soit pas confiné, (B) Schéma de la méthode de sublimation du silicium, (C) photographie du four à induction, (D) Schéma de du graphène formé à partir de carbure de silicium hexagonal.

Plusieurs techniques ont été évoquées comme un recuit sous ultravide (UHV) (Figure 18 a), sous légère dépression et présence d'azote, de silicium (sous forme de silane), d'argon et/ou hydrogène [143]–[149].

Si d'une manière générale des substrats SiC on-axis ont été utilisés pour la synthèse du graphène, récemment A. Ouerghi du LPN Marcoussis a montré et étudié la formation de couches de graphène à partir de substrats SiC off-axis [150]. La figure ci-dessous présente un schéma de principe et explicatif extrait de son étude.

C'est un fait que nous soulignons puisque nous avons pris la décision d'utiliser ce type de substrats SiC pour notre étude, des substrats disponibles au laboratoire AMPERE, qui a une expérience dans la technologie de fabrication de composants de puissance sur ce type de substrats.

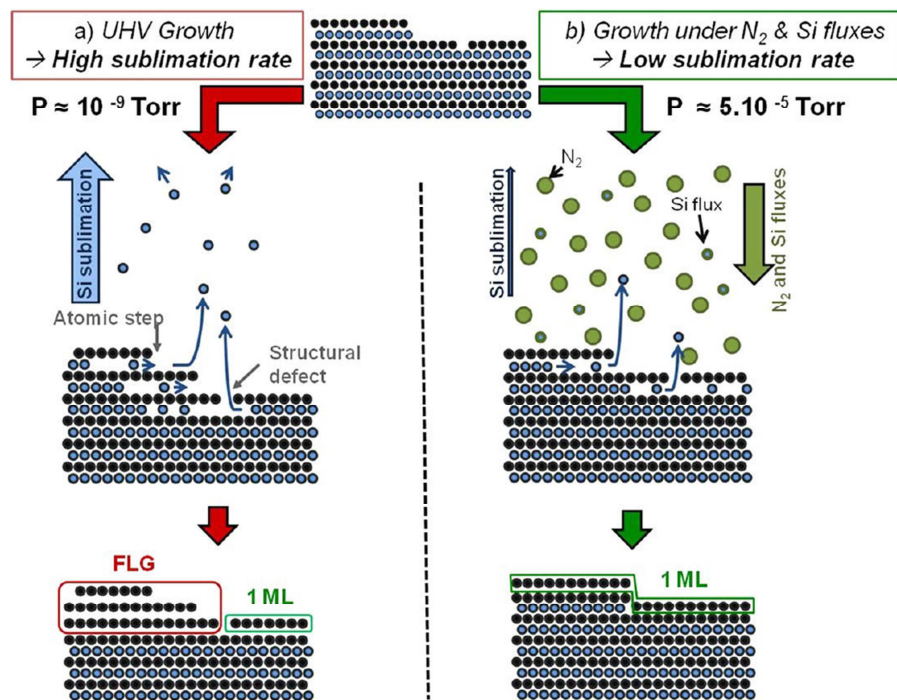


Figure 19 : Schéma de formation du graphène lors d'un recuit sous UHV (a), et sous flux d'azote et silicium (b), issu de [150].

La consommation énergétique importante consacrée au recuit du SiC reste un des obstacles à la synthèse du graphène par ce biais. Cependant ce type de production permet l'obtention d'une couche complètement intégrable dans un procédé technologique dans l'optique de fabriquer des transistors à grille de graphène, comme l'évoque Lin et al. [151].

Aujourd'hui encore, l'utilisation de ce type de couche directement synthétisée sur un matériau biocompatible pour une utilisation en bioélectrochimie n'est pas encore populaire (principalement à cause du prix élevé des substrats de SiC mais qui est fortement à la baisse ces dernières années) alors que les résultats obtenus par cette méthode sont très prometteurs [152]–[154].

1.2.3.b.δ Autres méthodes

Les méthodes présentées dans cette partie sont relativement difficiles à mettre en œuvre et représentent à l'heure actuelle des recherches de niche dans la mesure où les techniques de synthèse sont encore restreintes ou adaptées à des utilisations trop spécifiques. On y retrouve le couplage surfacique de monomères précurseurs en polyphénylènes linéaires suivi d'une cyclohydrogenation, pouvant former des nanorubans de graphène [155], l'épitaxie par jet moléculaire [156] dont la formation de graphène sur de grandes surface reste bien plus chère que la CVD et l'ablation laser qui pourrait permettre le dépôt de graphène sur de multiples surfaces [157].

1.2.3.c Structure et propriétés physiques

Comme on peut l'imaginer de par la nature de sa synthèse, le graphène est une monocouche d'atomes de carbone arrangés de manière hexagonale (Figure 20).

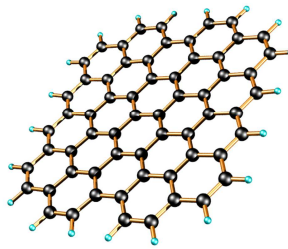


Figure 20 : Schéma d'une couche de graphène

Le graphène bénéficie d'un intérêt croissant car beaucoup de ses caractéristiques obtenues par voie expérimentale sont bien meilleures que celle de tout autre matériau, avec des limites d'ores et déjà prévues : une mobilité d'électrons de $3.10^5 \text{ cm}^2.\text{V}^{-1}\text{s}^{-1}$ à température ambiante [158], un module d'Young de 1TPa et [159], une haute conductivité thermique (supérieure à 3000 W.mK^{-1} [160]), une imperméabilité aux gaz [161], la possibilité de résister à de très fortes densités de courants (un million de fois plus que le cuivre [162]). Ce cristal à deux dimensions montre des propriétés électriques, mécaniques et optiques fascinantes.

1.2.3.d Conclusions sur le graphène

Bien qu'encore difficile à mettre en œuvre, la synthèse du graphène commence à prendre une ampleur considérable dans la mesure où ce matériau est très prisé dans des domaines multiples. Dans le cas de l'électrochimie, les possibilités d'accrocher ce matériau sur des surfaces et l'utiliser en tant que transducteur ou électrode offre des limites de détections intéressantes et une gamme de potentiel de travail importante. La possibilité de lier des biorécepteurs à la surface de ce matériau ajoute un intérêt supplémentaire pour la détection d'éléments biologiques sous forme de traces en solution. Même si sa biocompatibilité semble encore controversée [163], le graphène trouve sa place dans le domaine des biocapteurs et a un grand avenir en matière de recherche et d'applications. Ce matériau, au même titre que les PPF, fera l'objet d'une étude en électrochimie et bioélectrochimie dans les prochains chapitres.

1.2.4 Diamant

1.2.4.a Généralités

Le diamant est un matériau existant à l'état naturel sur notre planète. Son coût élevé reflète sa rareté, et explique la nécessité de le synthétiser. Ses propriétés exceptionnelles telles que sa densité atomique élevée, sa dureté et son grand gap en font un matériau de choix pour de multiples applications comme l'électronique, l'optique, ou encore l'électrochimie. Son intérêt dans le domaine de l'électrochimie a émergé sur la fin des années 80. Ce phénomène est apparu grâce à la possibilité de le synthétiser en couches minces par une technique de CVD à faible pression. Un autre aspect intéressant vient de la possibilité de doper le diamant avec du bore, permettant ainsi de rendre ce matériau initialement isolant en un conducteur allant jusqu'à un semi-métal acceptable pour l'électrochimie.

1.2.4.b Synthèse

Depuis les travaux de John C. Angus [164], pionnier de la synthèse du diamant, la synthèse de diamant en couches minces par CVD reste une des méthodes de fabrication les plus répandues. Parmi les recherches les plus importantes sur l'évolution de cette méthode, on note les travaux de Derjaguin et al. [165], mettant en jeu le dépôt de diamant en phase gazeuse par introduction de composés volatiles à base de carbone et d'hydrogène dans une enceinte sous pression inférieure à l'atmosphère. Cette méthode requiert deux conditions pour que la couche déposée ait une structure diamant. Il faut une concentration suffisamment élevée de composés carbonés qui se décomposeront et prendront la structure diamant à la surface du substrat chauffé, dans un second temps il faut également la présence d'une espèce empêchant la formation d'un matériau carboné dont la structure serait différente du diamant. Pour cela de l'hydrogène gazeux est ajouté dans des proportions appropriées. Le gaz dans l'enceinte est activé par plasma [166] (électriquement, PECVD ou plasma enhanced CVD) ou par hausse de température avec un filament

montant jusqu'à 2000°C. Des nano et microcristaux sont utilisés comme germes pour la cristallisation. Une pâte contenant ces précurseurs est préalablement déposée sur les substrats. L'épaisseur des films ainsi formés se situe aux alentours de quelques micromètres. Cependant on peut également trouver des travaux reportant des épaisseurs allant jusqu'au millimètre. Dans l'industrie on peut également trouver des surfaces de diamant déposé allant jusqu'à 1 m², comme le fait l'entreprise Neocoat².

En France il existe plusieurs équipes de recherche qui travaillent depuis plus de 20 ans notamment sur la synthèse et la croissance du diamant, sur son dopage avec des domaines d'applications maintenant sur un éventail assez large (nucléaire, biologie, électronique de puissance). Nous citons ainsi l'Institut Néel de Grenoble, le CEA-LIST de Saclay, le GEMAC de Versailles ainsi que le LSPM de Villetaneuse. Sans s'attarder davantage sur les techniques de synthèse, nous précisons que la méthode de croissance du LSPM sera décrite et détaillée dans la partie 2.2.3 du Chapitre II. Nous avons notamment utilisé ces couches de diamant réalisées au LSPM par l'équipe d'Alexandre Tallaire.

Etienne Gheeraert et Alain Deneuville de l'Institut Néel (ex LEPES) de Grenoble ont également travaillé sur le dopage du diamant, avec des études sur le dopage au bore depuis les années 1990 [167]. Plus récemment, les études remarquables au laboratoire GEMAC qui ont permis de montrer qu'avec un traitement plasma de deutérium, la formation des complexes B-H induisent une modification de la conductivité du diamant de type p en type n. Sans oublier les études réalisées au CEA-LIST de Saclay sur le fort dopage au bore du diamant nanocristallin [168].

² <http://www.neocoat.ch/fr>

1.2.4.c Structure et caractéristiques physiques

Le diamant a une structure cristalline de type « diamant » ou « blende » (Figure 21). Les atomes de carbone hybridés sp^3 forment 4 liaisons covalentes avec leurs plus proches voisins. C'est une structure cubique faces centrées où 4/8 sites tétraédriques sont occupés.

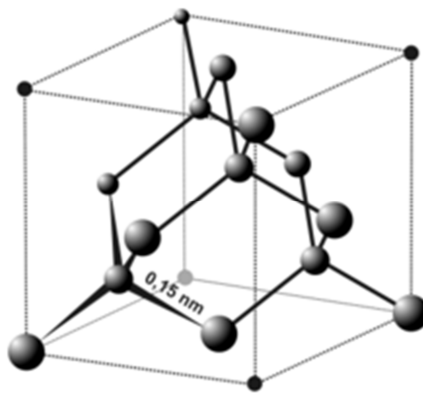


Figure 21 : Structure du diamant

Comme évoqué lors de l'introduction sur le diamant, nous avons affaire à un isolant naturel. Pour le rendre conducteur (type p), des dopages au bore ont été élaborés par introduction dans l'enceinte de CVD un composé volatile de bore (TMB ou triméthyl de bore). Lors du dopage, le bore vient s'insérer majoritairement sur les faces $\{111\}$ et moins intensément sur les faces $\{100\}$ [169], [170].

La résistivité du diamant va dépendre du taux de dopage au bore. Une augmentation de la concentration impliquera une variation de la résistivité de 10^4 ohm.cm (pour une concentration de 10^{18} atomes de bore.cm³) à 10^{-2} ohm.cm (pour 10^{21} atomes de bore.cm³). Cette observation a été mise en relief dans les travaux de Garrido et al. [171], et est présentée en Figure 22.

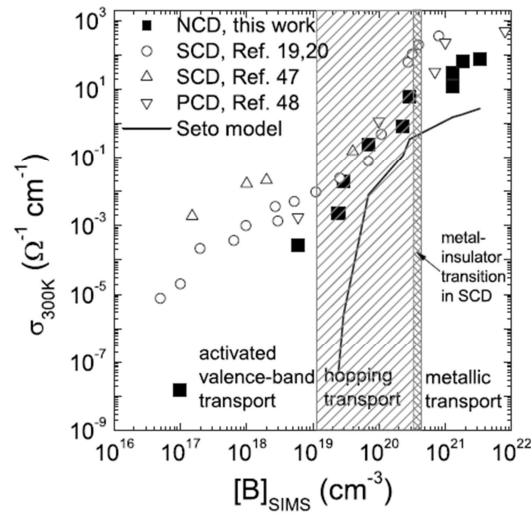


Figure 22 : Conductivité du diamant dopé au bore en fonction du taux de dopage (issu de [171])

1.2.4.d Conclusions sur le Diamant

Le diamant est un matériau pouvant être synthétisé sur différents matériaux avec la possibilité de former les motifs voulus. Ses caractéristiques électrochimiques font de lui un matériau de choix pour cette application, et les limites de détections qu'offrent celui-ci s'avèrent très intéressantes. La possibilité de gérer son taux de dopage en bore permet l'obtention d'un matériau aux différentes propriétés. En particulier, sa conductivité va augmenter avec le taux de dopage en bore. L'utilisation de ce matériau carboné s'inscrit complètement dans ce travail de thèse puisqu'il peut également être inséré dans un procédé technologique permettant d'obtenir plusieurs électrodes de consistances différentes sur un même substrat. Les applications variées que ce matériau offre sont également un atout et pourront être étudiées par la suite.

Ces applications sont illustrées en particulier par l'article de Nebel et al., "Diamond for bio-sensor applications" [59], cité pour la Figure 3, ainsi que l'étude remarquable sur la biocompatibilité et la fonctionnalisation du diamant faite dans le cadre de la thèse de Charles Agnès qui est le fruit d'une collaboration entre les équipes des laboratoires de l'Institut Néel et le CEA-LIST [168].

1.2.5 CPDMS

1.2.5.a Généralités

Le CPDMS ou « Conductive PolyDiMethylSiloxane » est un polymère composite formé de particules conductrices piégées dans une matrice de PDMS. Initialement le PDMS est un polymère mou, utilisé principalement pour la synthèse de canaux micro-fluidiques, mais aussi comme additif dans la nourriture (E900), dans les shampoings, et comme agent de démoussage dans les boissons et huiles lubrifiantes. La synthèse des premiers polymères polyalkylsiloxanes remonte à la fin du XIX^{ème} siècle grâce à Friedel et Craft. Depuis cette synthèse a évolué et la possibilité de le rendre conducteur a ouvert la voie vers l'incorporation d'électrodes conductrices au sein d'un dispositif micro-fluidique entièrement fait de polymère. Le PDMS est l'un des matériaux les plus utilisés pour la formation de canaux microfluidiques à l'heure actuelle. La possibilité de le rendre conducteur permet l'élaboration de détecteurs électrochimiques à bas coût dans la mesure où le PDMS est un matériau bon marché.

1.2.5.b Synthèse et structure

Le PDMS est formé à partir d'un monomère, le diméthylsiloxane, qui par polymérisation formera le polydiméthylsiloxane, ou PDMS (Figure 23).

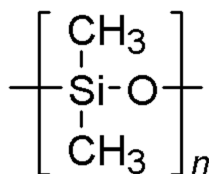


Figure 23 : Structure chimique du polydiméthylsiloxane

Tel quel, le PDMS est sous forme liquide, visqueux. La réticulation ou « cross linking » du PDMS s'effectue par ajout d'un agent réticulant permettant la formation de liaisons entre les chaînes de polymère (

Figure 24), cela influera sur l'état physique du matériau : il passera de l'état liquide à solide, plus ou moins dur en fonction du taux de liaisons formées.

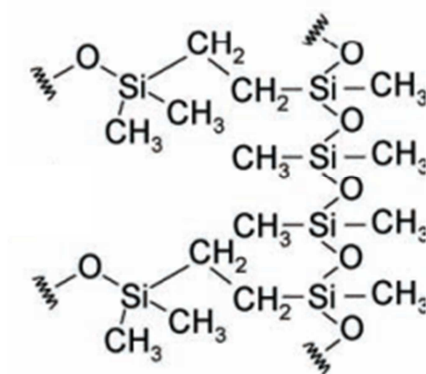


Figure 24 : Structure du PDMS réticulé

Le CPDMS est produit de la même façon, si ce n'est que lors de l'ajout du réticulant, une poudre de matériau conducteur est ajoutée. Ce type de composite n'est pas récent et a fait l'objet d'études avec différents polymères et différents conducteurs pouvant aller du métal, à de multiples matériaux carbonés comme les nanotubes de carbone, le noir de carbone, du graphite voire du graphène [134]–[145], et l'application première de ces composites reste avant tout la détection électrochimique.

1.2.5.c Caractéristiques physiques

Les propriétés physiques du CPDMS découlent de sa méthode de synthèse. Un composite très réticulé sera très dur, à l'inverse il pourra être très souple tout en

gardant ses propriétés intrinsèques. La concentration des espèces conductrices permettra de faire varier la conductivité du matériau, comme pour tout composite [184]. Ceci étant, un taux trop important implique la perte des propriétés mécaniques évoquées précédemment. Le PDMS est un polymère naturellement hydrophobe, il s'opposera fortement au dépôt d'une goutte aqueuse à sa surface. Pour remédier à ce problème important pour l'électrochimie, il est possible d'oxyder sa surface à l'aide d'un passage, d'une durée déterminée, dans un plasma contenant de l'oxygène [185]. Lors de la réticulation, le passage de l'état liquide à solide, il est important de noter que le PDMS peut être coulé dans un moule qui lui offrira sa forme définitive, ainsi ce polymère peut être modelé, et offrir des motifs avec une précision de quelques centaines de nanomètres [186].

Polymère	Matériau conducteur	Conductivité	Taux de conducteur (% massique)	référence
PDMS	Argent	1 - 1000 S/cm	12 % - 26 %	[175]
PAA/PEI (acide polyacrylique/polyéthylèneimine)	CNT (nanotubes de carbone)	$10^{-5} - 10^2$ S/m	0.5 % - 4 %	[187]
PDMS	Noir de carbone	0 - 25 S/m	10 % - 26 %	[69]
PDMS	Noir de Carbone	0 - 35 S/m	8 % - 27 %	[188]
PDMS	Argent	$10^{-2} - 5.10^4$ S/m	83 % - 86 %	[188]
PDMS	Noir de carbone	$8,4.10^{-5} - 10.3$ S/m	10 % - 25 %	[189]

Tableau 9 : Exemples de conductivités dans des matériaux composites

Selon Li et al. [172], la conductivité d'un matériau composite est égale à celle du polymère utilisé avant que le taux de conducteur soit suffisant pour observer la percolation. Autrement dit, avant que le pourcentage massique permette le passage du courant, le composite reste isolant (entre 10^{-10} et 10^{-15} S/m). Lorsque la concentration atteint une limite à laquelle la conductivité augmente considérablement, il y a percolation, c'est-à-dire que les espèces conductrices dispersées uniformément dans la matrice de polymère ont atteint un seuil permettant le passage du courant. La conductivité observée à partir de ce moment est souvent proche de celle du conducteur utilisé et varie de quelques ordres de grandeur pour l'atteindre à une concentration maximale. Différents matériaux composites issus de la littérature sont exposés dans le Tableau 9.

Le caractère inerte de ce matériau est mis en valeur par sa biocompatibilité et son utilisation pour la synthèse micro-canaux pour la micro-fluidique et la détection électrochimique [190].

1.2.5.d Conclusions sur le CPDMS

Le CPDMS est un matériau qui a trouvé sa place au sein des composites, tant par sa facilité de production, mais aussi par la possibilité de l'inclure dans des microsystemes. L'ajustement de la méthode de synthèse pour l'obtention de microélectrodes est un point critique permettant d'obtenir une indépendance du signal électrochimique vis-à-vis du flux imposé. Le bas coût et la facilité de mise en œuvre de ces électrodes sont des atouts importants, favorisant leurs utilisations dans le domaine industriel et dans le monde des point of care. La robustesse et la biocompatibilité du CPDMS lui octroient la possibilité d'être utilisé en tant qu'électrode ou microélectrodes dans des capteurs électrochimiques microfluidique.

1.2.6 Conclusion

Basés sur un besoin industriel de techniques de détections de pointe pour une utilisation dans des domaines variés, nous nous sommes intéressés à des méthodes fiables et efficaces pouvant être miniaturisées et utilisées sur des systèmes portatifs. L'électrochimie semble correspondre à cette demande, et plus précisément les méthodes de détection ampérométriques montrent un potentiel important dans ce type d'utilisation. De cette constatation, nous avons recherché des matériaux pour concevoir des capteurs robustes, offrant des signaux très compétitifs en comparaison de la littérature actuelle. Les matériaux carbonés répondant à ces critères, nous avons recherché dans les différentes déclinaisons structurales de ce matériau, celles qui permettraient d'être incluses dans un microsystème biocompatible. Deux dispositifs sont d'ores et déjà discernables :

- Un système solide à base de carbure de silicium permettant la synthèse directe de couches carbonées en surface utilisant des appareillages sophistiqués. Cette technique permet la structuration des différentes couches carbonées pour en obtenir des motifs définis avec une précision allant jusqu'au micromètre.
- Un système souple et à bas coût, demandant peu d'infrastructure pour sa conception, et permettant l'utilisation de capteurs inclus dans une matrice isolante.

Cette thèse a pour objectif de réaliser des capteurs électrochimiques carbonés en vue de les microstructurer et de les inclure dans un système microfluidique et permettre une détection fiable et précise, sollicitant les atouts des matériaux utilisés en terme de détection, de robustesse, mais aussi de structuration. La méthode de synthèse pour chacun de ces matériaux sera optimisée, et leurs caractéristiques physico-chimiques ainsi qu'électrochimiques seront analysées et comparées à la littérature.

CHAPITRE II

ELABORATION ET CARACTERISATION D'ELECTRODES CARBONEES MACROSCOPIQUES

2.1 Introduction

Dans ce chapitre, les méthodes de synthèse des matériaux carbonés choisies pour la réalisation de capteurs électrochimiques sont présentées. Nous verrons comment nous les avons optimisées pour obtenir des couches avec les caractéristiques électriques, surfaciques et électrochimiques les plus adaptées à notre application. Les différents matériaux formés dans cette thèse ont d'abord été élaborés à une échelle macroscopique pour faciliter leurs caractérisations physicochimiques. Les méthodes optiques et électroniques d'analyse de ces matériaux sont peu adaptées à des tailles microscopiques, ainsi nous avons décidé d'étudier des surfaces plus larges, adaptées à ces techniques. Les paramètres caractérisés sont fondamentaux pour une utilisation électrochimique. Les caractérisations électriques rendront compte de la résistivité des couches formées, sous-entendant qu'une couche plus conductrice sera plus intéressante pour ces travaux. La structure et l'état de surface sont également des paramètres qui affectent le comportement de ces électrodes. La rugosité et la nature du matériau utilisé ont des impacts sur la réponse électrochimique. Les caractérisations électrochimiques rendront compte de l'efficacité des couches en tant qu'électrodes, pour la détection d'espèces dont les propriétés physico-chimiques

(charge, polarité, propriétés redox...) différent en milieu électrolytique. L'obtention de biocapteurs à partir de ces matériaux sera décrite dans une dernière partie. Dans une démarche de comparaison, les résultats obtenus seront confrontés à ceux de la littérature.

2.2 Synthèse d'électrodes carbonées

2.2.1 Résine pyrolysée

2.2.1.a Contexte

Les résines utilisées et les méthodes de synthèses de PPF (Pyrolyzed Photoresist Film) varient sur les paliers de température, la pression, le temps de recuit et les atmosphères utilisées. Dans la littérature, les rampes de températures, les débits de gaz et les temps de recuit sont souvent très différents, offrant un matériau donnant une large diversité de comportements physico-chimiques suivant chaque « recette ». Cette multiplicité de méthodes de synthèse est reflétée par le Tableau 8, inspiré de la publication de Del Campo [36]. Aucun des auteurs cités ne s'accorde à considérer qu'une résine serait meilleure qu'une autre pour un quelconque champ d'application. De même, les techniques de synthèse ne montrent pas un mode de travail préférentiel en dehors de la nécessité absolue d'absence d'oxygène lors du recuit. Il semble tout de même que la température de recuit ait un impact suffisamment important pour être étudiée. Les travaux menés sont limités par le matériel présent dans les différents laboratoires (en termes de résine ou de fours utilisés). Dans ce sens, un travail sera réalisé sur une résine connue et très utilisée au sein de la plateforme Nanolyon : L'AZ-5214E, une résine photosensible destinée à des étapes de lithographies. Des études ont déjà été menées sur cette résine; parmi elles celles de Larsen et al. [33], donnant en conclusion la possibilité d'utiliser cette résine pyrolysée en électrochimie. Une attention particulière a été portée sur la température de recuit, un facteur décisif sur les propriétés physico-chimiques de la couche issue du traitement thermique.

Dans sa publication, Larsen a comparé le comportement de deux résines, dont la cuisson se fait sur une rampe de température allant de 200 °C à 900 °C en passant par des paliers de température de 500 °C et 700 °C durant une heure chacun. Dans d'autres travaux les températures utilisées sont aux alentours de 1000 °C. Notre étude portera sur des températures allant de 750 °C à 1650 °C, afin d'observer l'évolution des caractéristiques des couches issues de ce traitement.

2.2.1.b Procédé expérimental

Cette résine s'étale par « spin-coating » ou étalement par rotation. Une goutte est déposée sur l'échantillon (dans notre cas un substrat de 1 cm² de 4H-SiC) qui va alors tourner à 5500 tours par minute pendant 30 s (photographie d'une « tournette » en Figure 25). Cette manipulation permet d'obtenir une épaisseur homogène de résine de 1µm.

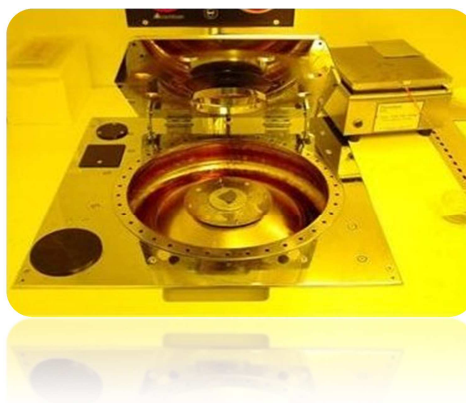


Figure 25 : Photographie d'une tournette permettant des dépôts de résine sur échantillons

Un premier recuit est effectué sous un vide primaire dans une enceinte chauffée à 750 °C pendant 30 minutes. Cette étape permet d'éliminer la majorité des solvants contenus dans la résine, et amoindrir la pollution du four à induction où la pyrolyse

aura lieu. C'est à cette étape que la résine passe d'une couleur translucide, rouge à opaque et noire (Figure 26).

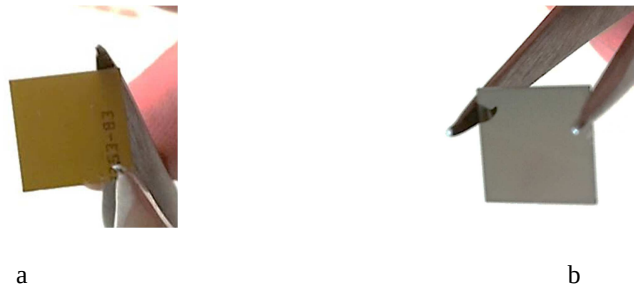


Figure 26 : Échantillon de résine AZ-5214 sur SiC avant (a) et après (b) recuit à 750 °C

Le seul équipement de la plateforme Nanolyon pouvant répondre aux critères de synthèse haute température de ces couches est un four à induction JIPELEC possédant une unique entrée de gaz : de l'argon. Initialement, ce four était déjà utilisé pour des recuits post implantation ionique [191],[122], au laboratoire AMPERE. Lors et dans le cadre de ma thèse, ce four a été transféré de l'INSA de Lyon à l'Ecole centrale de Lyon dans la salle blanche de la plateforme Nanolyon. J'ai participé directement à ce transfert et à l'installation de l'équipement en salle blanche.

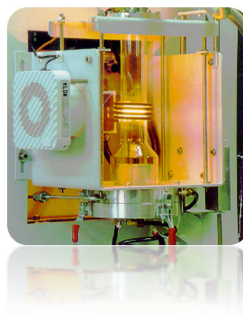


Figure 27 : Photographie de l'enceinte du four à induction utilisé pour le recuit des résines (plateforme Nanolyon – équipement AMPERE)

L'échantillon de résine est alors introduit dans le four à induction pour un recuit à une température supérieure à 1000 °C pendant typiquement 30 minutes. Le pyromètre installé sur le four fonctionne uniquement pour des températures supérieures à 1000 °C, la régulation ne peut donc être fonctionnelle qu'au-dessus de cette valeur. L'échantillon inséré, une mise sous vide primaire est effectuée pour évacuer l'oxygène présent. Le suscepteur en graphite, formant l'enceinte du four se trouverait fortement endommagé si un recuit s'effectuait sous oxygène. Ensuite, la vanne d'argon est ouverte pour saturer l'enceinte de ce gaz neutre. Un clapet anti-retour placé à la sortie du four, régule la pression dans l'enceinte à 2 PSI au-dessus de la pression atmosphérique. Lorsqu'un débit stable en argon est établi, le recuit peut commencer. La rampe de température est gérée automatiquement, et l'on passe de la température ambiante à plus de 1000 °C en quelques secondes. Il en est de même pour le refroidissement. Les températures choisies pour les recuits sont 1050 °C, 1150 °C, 1250 °C, 1450 °C et 1650 °C. De cette manière il sera possible d'observer la modification des couches formées en fonction de leurs températures de recuit.

2.2.2 Graphène

En pleine effervescence dans le milieu scientifique, le graphène peut être synthétisé de multiples manières (Chapitre 1). Durant cette thèse, le graphène est formé par sublimation du silicium présent dans le SiC, et cela pour plusieurs raisons. En premier lieu, cela vient de la possibilité directe d'obtenir du graphène à la surface de l'échantillon, sans technique de dépôt (CVD ou solutions contenant du graphène). Ces techniques rendent difficile la possibilité de structurer le graphène et de contrôler sa pureté (cristallinité, nombre de couches...). De plus, le laboratoire Ampère dispose d'équipements au sein de la plateforme technologique Nanolyon, où sont présents des dispositifs pouvant être utilisés pour la synthèse du graphène sur SiC. Le four utilisé pour recuire les PPFs à haute température est un candidat potentiel à cette synthèse, mais la lecture de la publication Berger et al. [146] montre qu'il est également

possible de former du graphène sous ultra vide par d'autres équipements. Un appareil en salle blanche de Nanolyon ECL donne accès à de telles pressions : un évaporateur Leybold possédant un canon à électron. Il paraît donc intéressant de mettre en relief une étude de la méthode de synthèse entre ces deux appareils.

L'évaporateur a la capacité de descendre autour de 10^{-7} mbar, soit 3 ordres de grandeur de plus que la pression utilisée par Berger et al. Le fonctionnement classique de cet appareil se résume en un bombardement d'électrons d'une cible contenant un métal, résultant en une hausse de sa température et de sa sublimation et son dépôt dans l'ensemble de l'enceinte (Figure 28). En substituant la cible de métal par des échantillons de SiC sur un support en graphite, j'ai pu bombarder ces échantillons et effectuer un recuit dans cette enceinte.

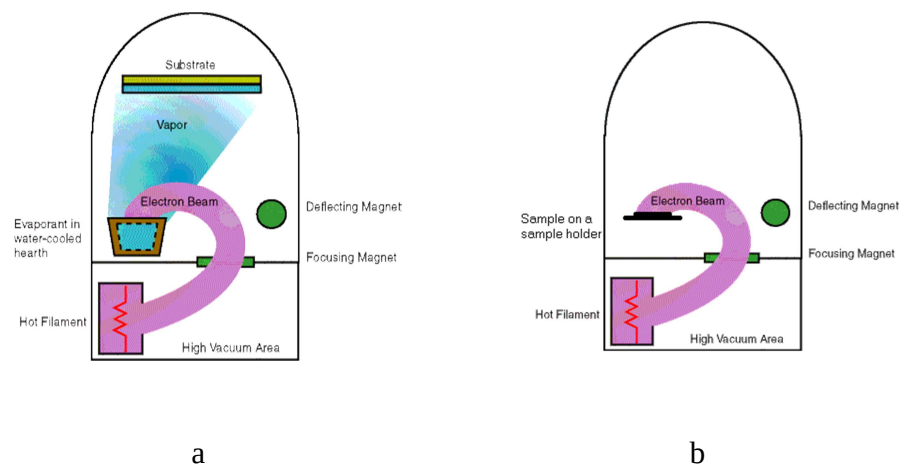


Figure 28 : Schéma de l'enceinte d'un évaporateur dans le cas d'un dépôt métallique (a) et du recuit d'un échantillon de SiC (b). (issu du CeNSE³)

³ <http://www.engr.uky.edu/~cense/equipment/ebeam.html>

Hormis la pression à laquelle la manipulation est effectuée, il est possible de gérer le balayage du faisceau sur l'échantillon, ainsi que l'intensité du courant établi par le canon à électrons. Aucun dispositif n'est présent pour connaître la température de recuit. Par le hublot de l'évaporateur il est possible d'observer l'échantillon. Lorsque le courant est suffisant, l'échantillon commence à émettre un rayonnement. C'est ce début d'émission qui a servi de repère de température et plusieurs échantillons ont été recuits à cette intensité correspondant à un courant de 50mA. Au-dessus de cette température, l'échantillon présente une surface poudreuse noire avec, au centre de l'endroit où le faisceau balayait, une tache brillante comparable à une mine de crayon (graphite) (Figure 29).



Figure 29 : Photographies d'échantillons de 4H-SiC recuits par le canon à électrons dans le Leybold à 50 mA (a) et 60 mA (b)

En parallèle, la synthèse de graphène par sublimation a été étudiée dans le four à induction présenté dans la partie sur le PPF, sous atmosphère d'argon. Ce travail s'approche de la publication d'Emstev et al. [143] où du graphène avait été synthétisé sur du SiC-6H. Les températures de recuit ont varié entre 1350 et 1650 °C pour une durée de 30 minutes. Contrairement aux échantillons recuits au Leybold, il n'était pas possible d'observer une couche en surface à l'œil nu.

Une différence de rugosité de surface a été cependant observée au profilomètre (Tableau 10) :

Température (°C)	Rugosité (Å)	Ecart type (Å)
Sans recuit	42,27	12,56
1350	57,67	20,07
1450	69,42	31,57
1550	143,08	50,45
1650	211,33	81,92

Tableau 10 : Évolution de la rugosité d'un échantillon de SiC avec la température de recuit

Les mesures ont été effectuées 12 fois par échantillons, comprenant 3 mesures dans 4 directions perpendiculaires. La rugosité montre une tendance à augmenter avec la température de recuit, mais les écarts types augmentent de la même manière. Des techniques d'observations en AFM (microscope à force atomique) pourront donner plus d'informations sur cette modification surfacique.

2.2.3 Diamant

Le diamant fait maintenant partie des matériaux largement étudiés en électrochimie. Sa robustesse et sa surface inerte lui permettent de s'insérer directement dans cette étude d'électrodes carbonées pour utilisation en électrochimie. La plateforme Nanolyon ne bénéficie cependant pas d'un équipement pouvant effectuer des dépôts de diamant sur substrats. Nous avons pu obtenir des couches de diamant dopées au bore sur carbure de silicium avec le docteur Alexandre Tallaïre du laboratoire des sciences des procédés et des matériaux (LSPM).

Le dépôt s'effectue par un dépôt chimique en phase vapeur ou CVD, dans un bâti PECVD Plassys, dans une atmosphère de 100 mbar sous une concentration de 1500 ppm de B₂H₆ à une température inférieure à 500 °C pour obtenir une couche d'épaisseur 1 µm avec un taux de dopage atteignant 10²⁰ atomes de bore/cm³.

Le bâti utilisé est décrit dans les figures suivantes qui proviennent de la thèse LSPM de Riadh Issaoui obtenue avec l'amabilité d'Alexandre Tallaire [192].

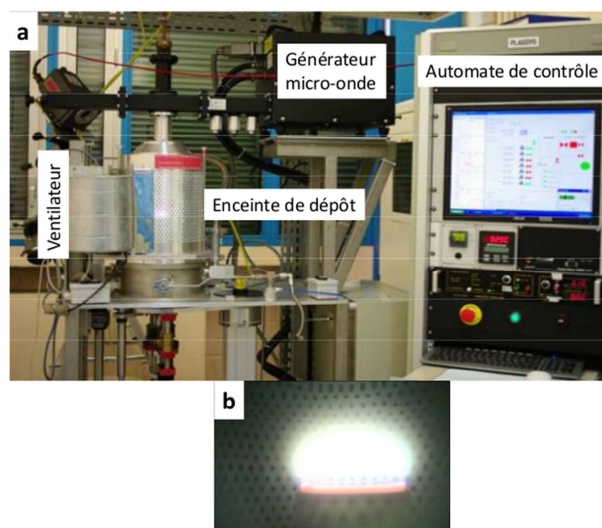


Figure 30 : Photographies du réacteur du LSPM (a) et du plasma pendant le dépôt de diamant (b)

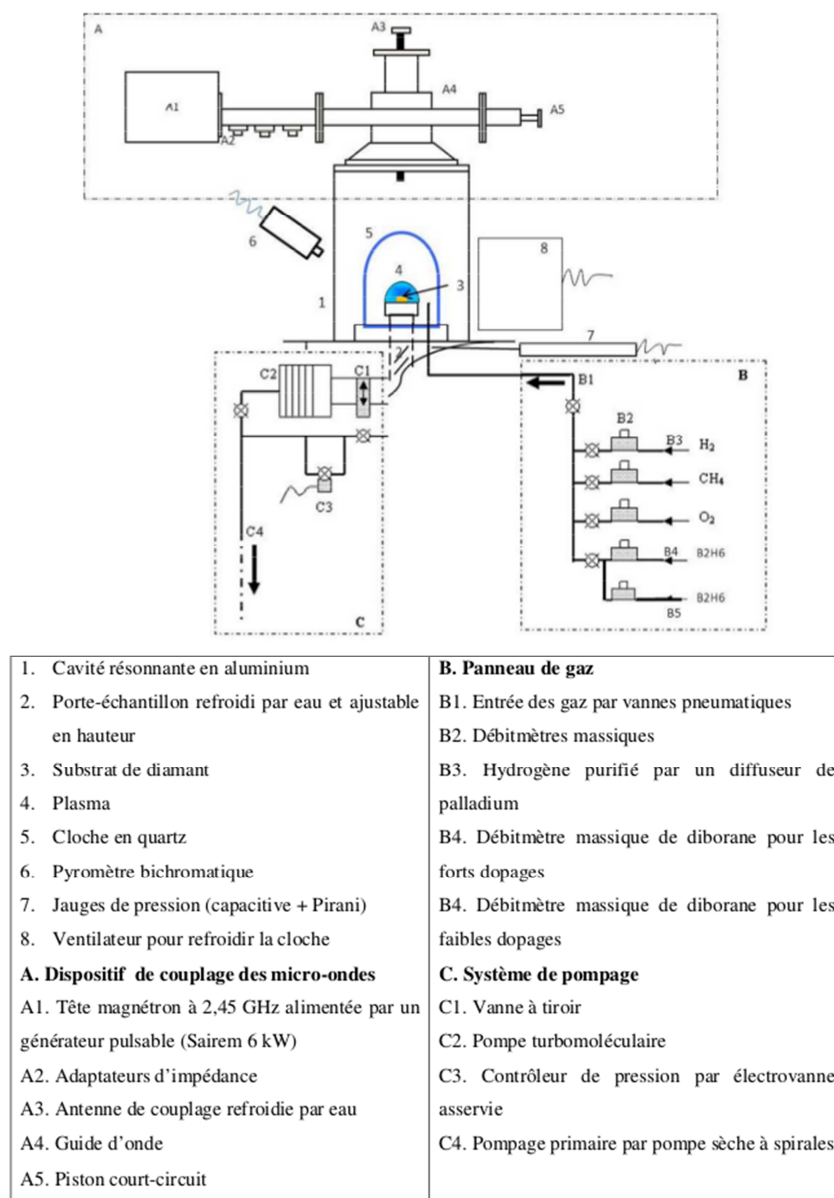


Figure 31 : Schéma du réacteur du LSPM et du procédé utilisé

2.3 Caractérisations des électrodes

2.3.1 Caractérisations de surface

2.3.1.a Microscopie à force atomique (AFM)

Les échantillons subissant des traitements modifiant la surface (recuits), il est important de s'assurer qu'elle ne soit pas détériorée. Pour cela une technique permet de sonder la surface à l'aide d'une pointe très proche ou en contact. On retire de cette manipulation une information topologique, permettant de connaître l'aspect de surface à une dimension de l'ordre du nanomètre. La Figure 32 montre l'aspect de surface de ces trois matériaux. Les différentes températures de recuit des résines n'ont pas montré de modification d'état de surface, ce qui est cohérent avec la littérature qui indique que cette couche est peu rugueuse. Le graphène quant à lui a montré la même structure selon les deux techniques de synthèse. On observe une rugosité très faible pour les PPF et le graphène ($<10\text{nm}$), tandis que le diamant montre une légère hausse due à sa cristallinité. Connaître la structure de surface des échantillons étudiés est utile pour comprendre les caractéristiques électrochimiques des électrodes. Ici c'est un cas quasi idéal qui favorise grandement la diffusion linéaire en surface lors d'observations électrochimiques.

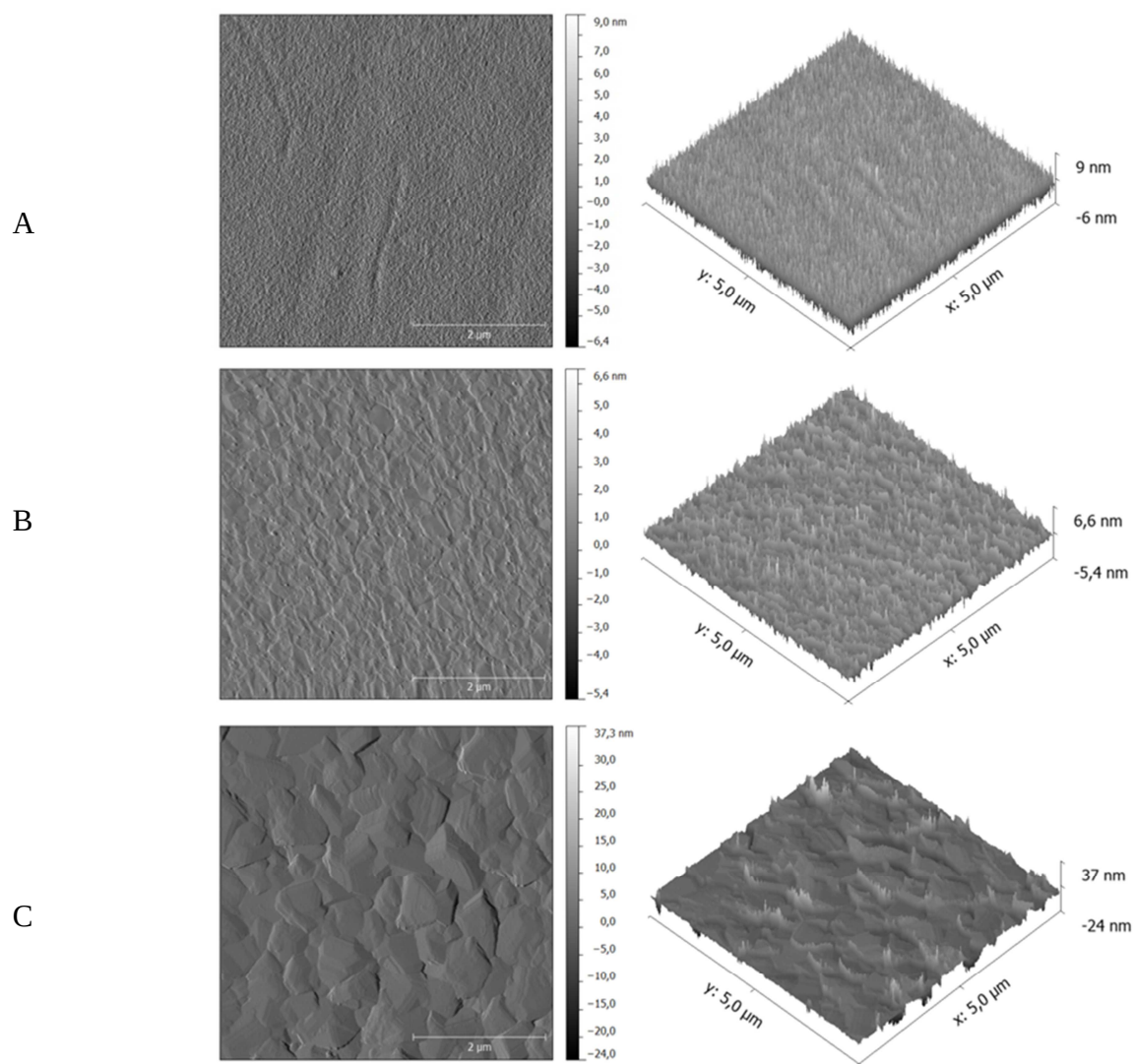


Figure 32 : Images AFM d'échantillons de résine pyrolysée (1650°C) (A), de graphène (B) et de diamant dopé bore (C)

2.3.1.b Spectroscopie Raman

2.3.1.b.α Principe

Il est possible d'observer la composition ainsi que la structure de surface d'éléments à partir d'une spectroscopie Raman. L'effet Raman est obtenu par l'interaction des photons d'une source de lumière monochromatique avec les atomes de l'échantillon. Très rarement (1/100 000 000) un photon est diffusé inélastiquement avec perte d'énergie, c'est l'effet Raman. Puisque ce phénomène est très faiblement présent, il faut un signal très puissant, d'où l'utilisation de lasers intenses.

Les différentes liaisons vont vibrer à différents niveaux d'énergie et absorber à des fréquences correspondantes. Les pics qui découlent de ces absorptions seront caractéristiques des liaisons, donc du matériau étudié [193].

Ces observations ont été menées avec un microspectromètre Raman Horiba Jobin-Yvon ARAMIS à une longueur d'onde de 633 nm au sein de la plateforme du centre commun de microspectrométrie optique (CECOMO) avec la participation de Véronique Soulière du laboratoire des multimatériaux et interfaces (LMI).

2.3.1.b.β PPF

Cette méthode non destructive a permis notamment de suivre l'évolution de la couche de PPF en fonction de sa température de recuit (Figure 33).

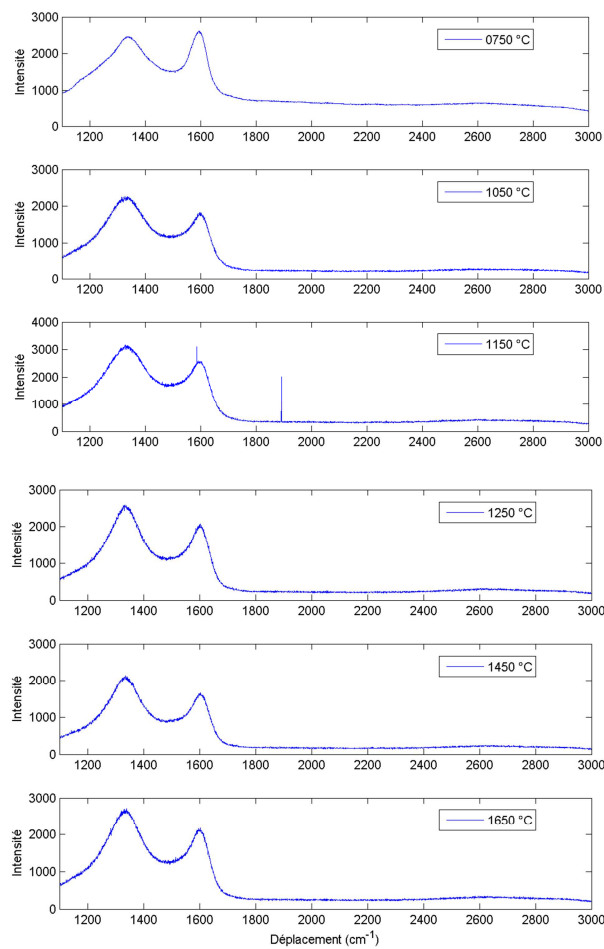


Figure 33 : Spectroscopies Raman des échantillons de PPF recuits à 750, 1050, 1150, 1250, 1450 et 1650 °C

Selon Tuinstra et Koenig [194], il est possible de déterminer la taille des nanocristaux graphitiques formés dans cette couche, grâce au rapport d'intensité du pic D de désordre à 1350 cm^{-1} , sur le pic G, graphitique à 1580 cm^{-1} (I_D/I_G). Cette technique

utilisée par Kostecki et al. [124] sur des résines pyrolysées offre la même tendance que nous observons dans le Tableau 11 construit à partir de mes mesures. Le ratio I_D/I_G augmente avec la température de recuit utilisée. Cette observation rend compte de la formation de nano-cristaux et de l'augmentation du nombre d'interfaces entre les cristaux. Comme en rend compte Kostecki dans son article, l'origine de ce désordre est un vestige de la structure en cycles aromatiques du polymère constituant la résine.

T (°C)	I_D/I_G
750	0,946
1050	1,235
1150	1,25
1250	1,265
1450	1,275
1650	1,289

Tableau 11: Évolution du ratio I_D/I_G en fonction de la température de recuit sur nos échantillons de PPF

Pimenta et al. [195] offre une version révisée du calcul de la taille des cristallites de graphite par interprétation des spectres Raman:

$$L_a(nm) = (2.4 \times 10^{-10}) \lambda_{laser}^4 (I_D/I_G)^{-1}$$

Équation 5 : Calcul de la taille d'une cristallite

Avec L_a , la taille moyenne des cristallites (en nm), λ_{laser} la longueur d'onde du laser, I_D et I_G les intensités respectives des pics D et G.

Cette formule permet alors d'obtenir la taille des cristallites des échantillons observés :

Température (°C)	Taille des cristallites (nm)
750	40,7
1050	31,2
1150	30,8
1250	30,5
1450	30,2
1650	29,9

Tableau 12 : Évolution de la taille des cristallites en fonction de la température de recuit

Bien que la taille des cristallites soit décroissante avec la température de recuit, on a pu observer une baisse de la résistivité. Ce résultat semble incohérent car l'augmentation des défauts/joints de grains devrait nuire à la conductivité de cette couche. Dans ce cas, il est probable que les défauts accumulés lors des recuits puissent offrir des chemins privilégiés pour le courant sur les nano-cristaux de graphite. Cette possibilité induit la présence de zones électro-actives et non électro-actives au sein d'une même couche. L'importance de cette observation prend sens dans les caractérisations électrochimiques où la surface active de l'électrode est un paramètre particulièrement important.

2.3.1.b. γ Graphene

Il est possible de déterminer la présence de graphène sur une surface par une observation Raman. De la même façon que pour le PPF nous observerons les pics D et G correspondant au désordre et au réseau hexagonal graphitique, mais un nouveau pic nommé « 2D » sera présent au déplacement 2680 cm^{-1} (Figure 34). Il donne une information, par sa position, son intensité et sa forme, sur le nombre de couches de graphène ou encore des contraintes appliquées sur cette couche dues à la différence de structure cristalline du SiC et du graphène. Cette observation a été faite par Chakraborty et al. pour du graphène déposé sur SiO_2 et de l'ITO [196].

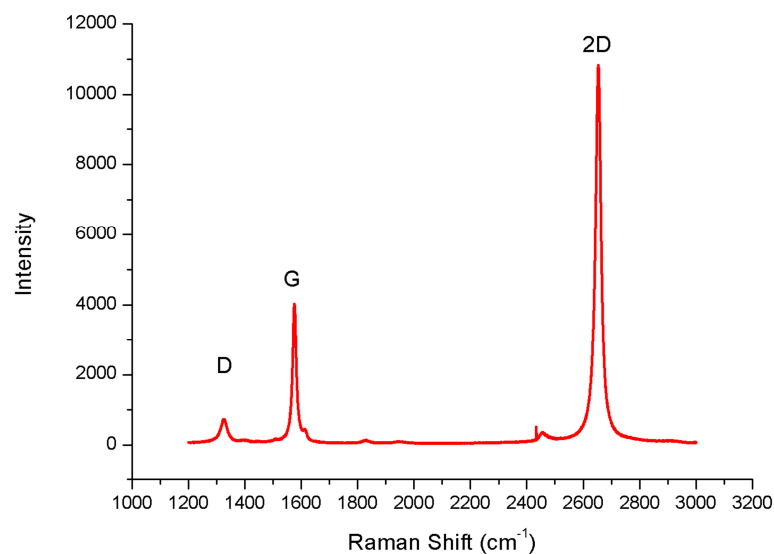


Figure 34 : Spectre Raman d'un échantillon de graphène sur SiC, issu d'un recuit à 50mA dans l'évaporateur

Dans un premier temps la synthèse de ces couches a été faite par bombardement d'électrons sous ultravide ($< 10^{-7}$ mbar), à 40mA, 50 mA et 60mA pendant 5 minutes. En dessous de 50 mA, la surface ne présente pas de modification. À 50 mA il est possible d'observer une couche homogène correspondant au domaine de balayage du faisceau. À 60 mA, une couche non homogène est présente et on observe une tache

similaire à une pointe de crayon au centre de la couche et le reste de l'échantillon offrait une surface poudreuse noire (Figure 29). L'observation Raman de ces échantillons, faite à une longueur d'onde de 632 nm, nous renseigne sur la présence d'une couche graphitique, et plus précisément si cette couche correspond à du graphène ou du graphite (en fonction du nombre de couches présentes).

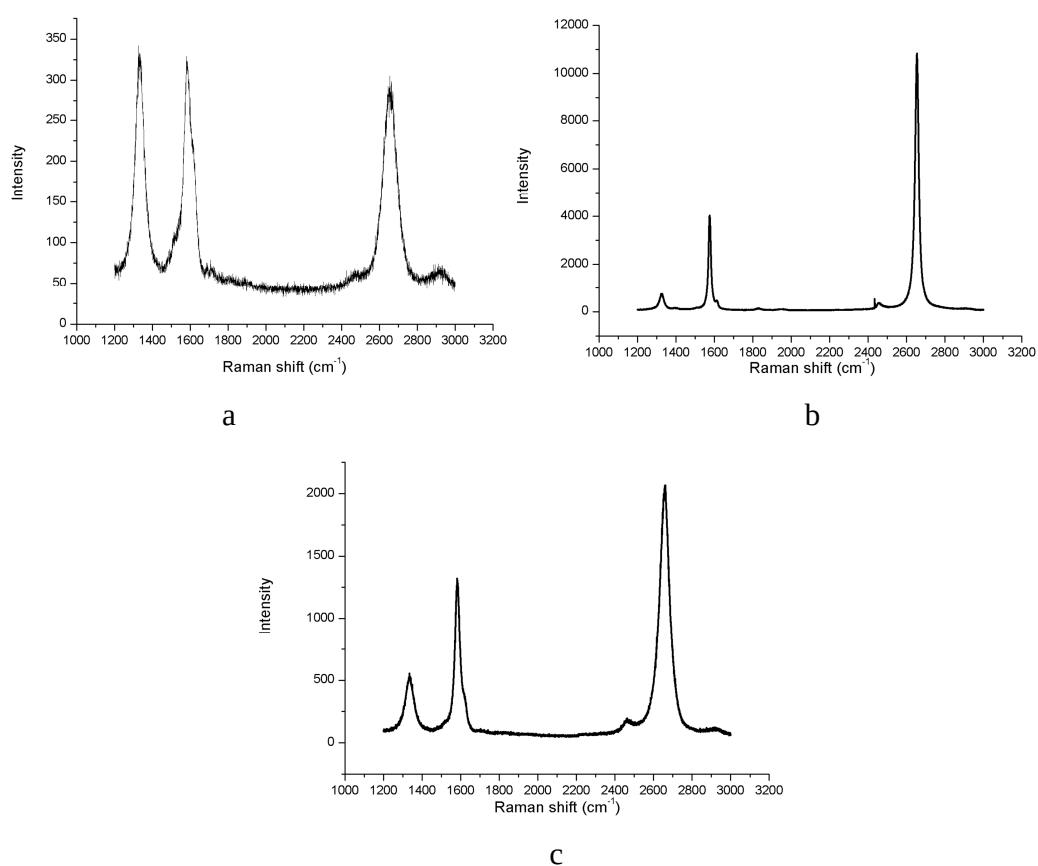


Figure 35 : Spectres Raman des échantillons recuits à 40 mA (a), 50 mA (b) et 60 mA (c)

Le rapport d'intensité entre le pic G et 2D représente le critère le plus significatif pour la détermination du nombre de couches de graphène en surface du SiC. Le rapport I_G / I_{2D} , reflète la présence de graphène [196]. On observe un fort désordre pour le recuit à 40 mA, aux vues des pics D et G de même intensité (Figure 35). De plus le

pic 2D est assez large à mi-hauteur et de même intensité que le pic G. On peut considérer avoir de multiples couches graphitiques désordonnées en surface de l'échantillon. A une intensité de recuit de 50 mA, un pic 2D très fin avec un rapport I_G / I_{2D} de 0.36 nous permet de supposer qu'une feuille de graphène est présente en surface de l'échantillon. A une intensité plus importante (60 mA), le rapport de ces deux pics augmente à nouveau laissant supposer la synthèse de couches sous-jacentes formant alors de multiples couches de graphène.

Très précise, cette technique reflète l'état de surface correctement. Cependant, l'observation de couches noires en surface des échantillons nous montre clairement que ces spectres ne permettent pas d'avoir toutes les informations. En effet, il est fort probable que la surface du SiC soit recouverte de graphite après recuit, mais qu'à 50 mA il est possible d'obtenir une couche de graphène désolidarisée du substrat, ce qui en permet l'observation en spectroscopie Raman. A 60 mA, la température atteinte et les conditions de recuit sont telles que la couche obtenue est structurée en multi-feuillets. Dans le but d'obtenir une couche de graphène et non de graphite, lors de la suite de ce travail le courant utilisé pour synthétiser les couches de graphène sera de 50 mA.

Dans un second temps, des échantillons de SiC ont été recuits dans le four à induction. Non seulement l'état de surface s'en est vu modifié, mais la présence de graphène a été confirmé par Raman, en Figure 36, pour des températures égales et supérieures à 1350 °C. Pour exemple, cette figure montre le spectre Raman d'un échantillon recuit à 1350 °C.

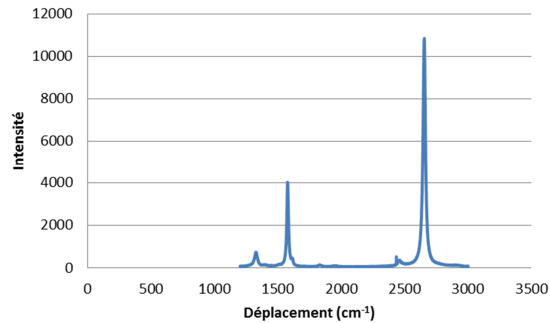


Figure 36 : Observation Raman d'un échantillon de graphène recuit à 1350 °C

2.3.1.b.δ Diamant

Les échantillons de diamant ont été caractérisés par spectroscopie Raman par Alexandre Tallaire et la courbe présentée en Figure 37 vient de sa caractérisation. Cette courbe présente un pic autour de 500 cm^{-1} correspondant au taux de dopage de bore. Plus un échantillon sera dopé, plus ce pic sera bas en nombre d'ondes. En Figure 37, l'épaule observable à 1330 cm^{-1} correspond au pic du diamant.



Figure 37 : Spectre Raman d'un échantillon de diamant dopé bore sur SiC

2.3.1.c Spectrométrie photoélectronique X (XPS)

Une caractérisation en spectrométrie photoélectronique ou XPS (annexe A) des échantillons de graphène a été effectuée, cette méthode permettant de discerner la présence d'une couche graphitique en surface de ces échantillons. Le pic observé en Figure 38 correspond aux niveaux de cœur C1s. Il montre l'existence d'une couche transitoire avec liaisons covalentes entre la surface de graphène et le substrat de SiC. On y observe un pic intense correspondant aux liaisons Si-C et un épaulement à 285 eV indiquant la présence d'autres liaisons C-C comme l'explique la publication de Ferrah et al. [197].

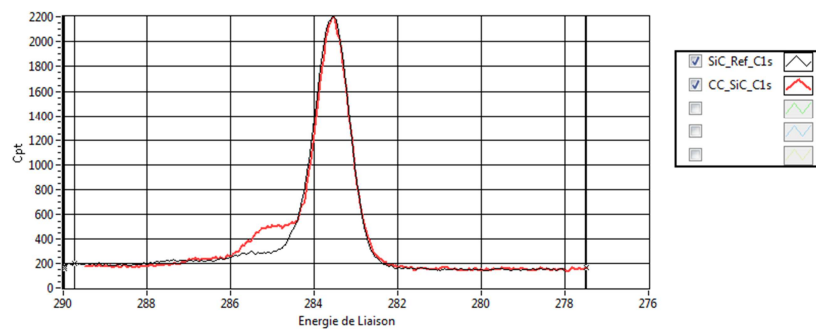


Figure 38 : Spectre XPS du niveau de cœur C1s d'un échantillon de graphène sur SiC (recuit à 1550°C sous argon)

2.3.2 Caractérisations électriques

2.3.2.a Mesure quatre pointes

2.3.2.a.α Principe

La méthode « mesure quatre pointes » met en œuvre quatre pointes de tungstène alignées et toutes espacées d'une longueur L connue sur l'échantillon. Les pointes extérieures permettent de faire passer du courant, tandis que les deux pointes centrales relèvent une différence de potentiel (Schéma Figure 39).

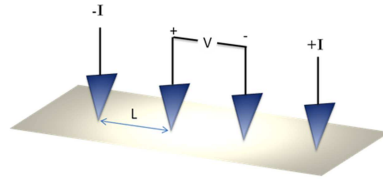


Figure 39 : Schéma d'une mesure quatre pointes

Le tracé de toute une caractéristique $V=f(I)$ permet d'obtenir la résistance carrée par la formule :

$$R_{\square} = \frac{\rho}{\varepsilon} = \frac{\pi}{\ln(2)} \frac{V}{I}$$

Équation 6 : Expression de la résistance carrée

Où $R_{\square}$ est la résistance carrée, ρ , la résistivité et ε l'épaisseur de la couche.

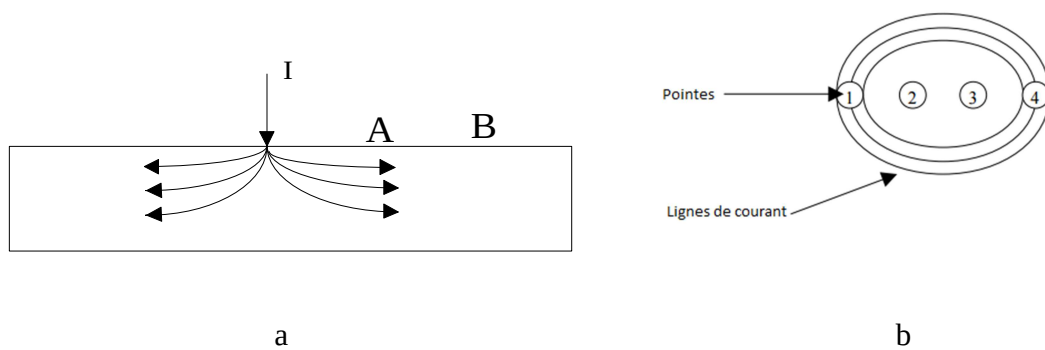


Figure 40 : Courant I appliqué à la surface d'une couche, propagation des lignes de courant. (a) coupe verticale, (b) vue de dessus, schéma issu du site de Microworld⁴

⁴ <http://www.microworld.eu/>

Dans cette équation, on suppose que l'épaisseur de la couche (ϵ) est très inférieure à la distance entre les pointes. Les lignes de courant se répartissent de manière homogène sur l'épaisseur de la couche (Figure 40). Le contact entre les pointes et la surface doit être ohmique, la force appliquée sur la surface ne doit pas percer la couche et la mesure doit être effectuée loin des bords de l'échantillon. Une photographie du dispositif est affichée Figure 41.

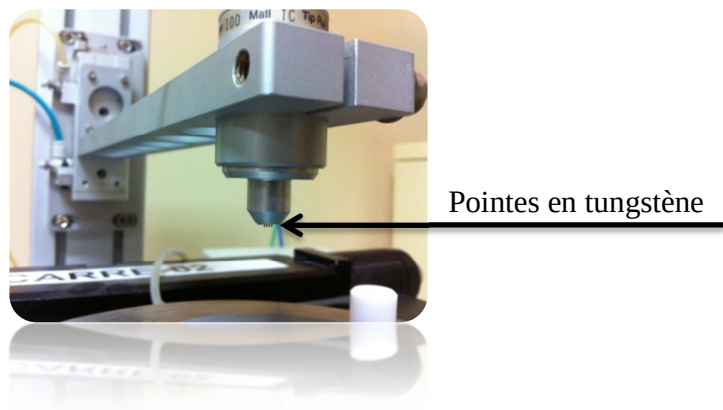


Figure 41 : Photographie du montage pour une caractérisation quatre pointes

2.3.2.a.β PPF

Quinze échantillons de 4H-SiC recouverts de résine ont été recuits à 750 °C puis pyrolysés à 1050 °C, 1150 °C, 1250 °C, 1450 °C et 1650 °C, soit trois échantillons pour chaque température. Les échantillons recuits à 750 °C montrent un comportement isolant. Pour les températures dépassant les 1000 °C les caractérisations en mesure quatre pointes ont fourni les courbes de la Figure 42.

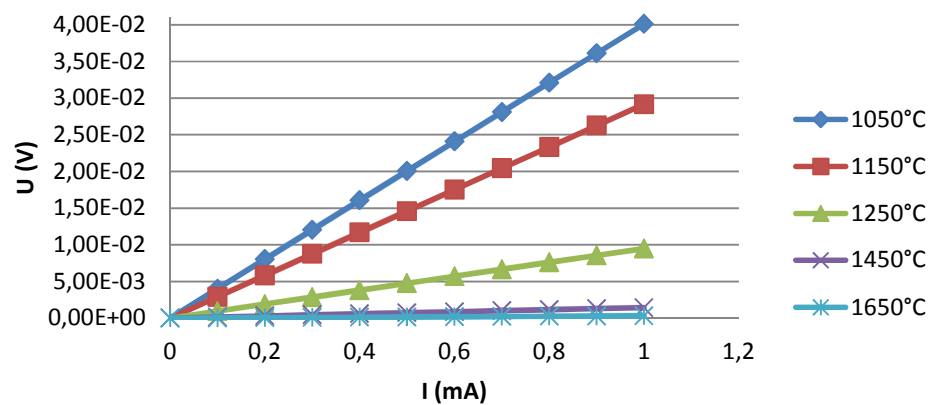


Figure 42 : Caractérisation 4 pointes d'échantillons de PPF sur SiC recuit à différentes températures

Cette mesure a été effectuée sur trois séries d'échantillons de PPF sur SiC. De ces courbes découlent les résistances carrées des différents échantillons (Tableau 13).

Température de recuit (°C)	R_□ (Ω.□⁻¹)⁵	Ecart type (Ω.□⁻¹)
1050	216,33	41,19
1150	167,00	41,61
1250	114,33	35,39
1450	28,77	6,41
1650	3,20	1,61

Tableau 13 : Résistances carrées des échantillons de résine pyrolysée sur carbure de silicium

On observe une certaine régularité sur ces échantillons. Non seulement la résistance carrée diminue avec la température de recuit, mais sur les trois séries, on observe peu d'écart entre les résultats. Comparées à la littérature, les résistances carrées observées à 1050°C sont plus élevées, mais avec des plus hautes températures de recuit, on arrive à obtenir des résistivités plus faibles que celles présentées dans l'article de revue de Del Campo qui avait des valeurs de résistance carrée allant de 10 à 50 Ω.□⁻¹ [32],[128],[41],[36]. De même, les travaux de Ranganathan et al. (Tableau 14) montrent une évolution similaire mais avec de meilleures résistances carrées pour une température de recuit similaire mais pour de la résine AZ4330.

⁵ Unité classiquement utilisée dans la littérature

Table II. Sheet resistance of the AZ carbon films pyrolyzed at various temperatures.	
Temperature of pyrolysis (°C)	Sheet resistance ($\Omega/\square$)
600	146.4
700	845.8
800	244.8
900	94.3
1000	57.1
1100	51.2

Tableau 14: Résistances carrées d'échantillons de PPF issu des travaux de Ranganathan et al.[128]

Il est maintenant possible de calculer la résistivité de cette couche suivant son épaisseur. Pour se faire, il est nécessaire de détériorer ces échantillons en effectuant une gravure dans un bâti de RIE ou Reactive Ion Etching. Cette technique est expliquée en annexe B . Une partie de l'échantillon est masquée pendant une gravure sous oxygène. La détérioration totale de la couche est observée par interférométrie expliquée en annexe C .

Suite à cela, les échantillons sont observés à l'aide d'un profilomètre, où une pointe va balayer la surface de l'échantillon et afficher son altitude au cours de l'observation. En se plaçant à l'interface de la surface protégée et la surface gravée, on observera une marche correspondante à l'épaisseur de la couche. Cette observation a été faite sur trois endroits différents sur chaque échantillon. Les couches déposées sont très homogènes, cependant on peut observer des écarts conséquents d'un échantillon à l'autre.

Le Tableau 15 résume les résultats obtenus :

Température (°C)	Épaisseur (nm)	Ecart type (nm)
1050	243,00	46,67
1150	98,50	2,12
1250	91,50	2,12
1450	82,50	10,61
1650	74,50	20,51

Tableau 15 : Épaisseurs des échantillons de résine pyrolysée sur SiC

La température de recuit influe sur l'épaisseur de la couche, et cela avait déjà été noté par Lee et al. [38]. Cette équipe observait une couche dont l'épaisseur correspondait à entre 19 % et 15% de l'épaisseur initiale pour un recuit à 1000 °C. Dans notre cas l'épaisseur initiale est aux alentours de 1µm, ce qui implique que nos résultats offrent une épaisseur entre 7,45 % et 24.3 % de celle initiale. À partir de l'Équation 6 et connaissant l'épaisseur de la couche (ϵ), on peut obtenir la résistivité des couches de PPF :

Température (°C)	Résistivité ($\Omega.m$)	Ecart type ($\Omega.m$)
1050	5,26E-05	1,92E-06
1150	1,64E-05	8,82E-08
1250	1,05E-05	7,50E-08
1450	2,37E-06	6,80E-08
1650	2,38E-07	3,30E-08

Tableau 16 : Résistivités des échantillons de résine pyrolysée sur SiC

En suivant la même démarche de comparaison, les résistivités obtenues à 1650°C sont bien plus faibles que celles observées dans la littérature ([36] et les travaux de Lee et al. [38]).

2.3.2.a. γ Diamant

Comme pour le PPF une mesure quatre pointes est effectuée pour obtenir la résistance carrée puis la résistivité de la couche de diamant. Cette caractérisation a été faite sur quatre échantillons de diamant dopé bore sur SiC (Tableau 17).

	Moyenne	Ecart type
$R_{\square}$ ($\Omega.\square^{-1}$)	38,41	7,93
Résistivité ($\Omega.cm$)	3,84E-03	7,93E-04
Conductivité ($\Omega^{-1}.cm^{-1}$)	2,60E02	0,45E02

Tableau 17 : Résistance carrée et résistivité des échantillons de diamant sur SiC

La conductivité des échantillons de diamant dopé au bore utilisés rentre dans la gamme exposée dans la Figure 22, issue de [172], rassemblant la conductivité observée pour différents taux de dopage.

2.3.2.b Mesures TLM ou Transfer Length Method

Il est difficile de mettre en œuvre la méthode 4 pointes sur du graphène, dans la mesure où les pointes ne doivent pas perforer la couche à caractériser. Pour pallier ce problème, et dans une étude s'inscrivant parfaitement dans la littérature, il est intéressant de déposer des contacts métalliques en surface du graphène et d'en étudier le comportement électronique dans un premier temps, puis de déterminer la résistivité du graphène dans un deuxième temps. Pour effectuer ces observations, un métal est déposé en surface de l'échantillon, puis structuré par étapes de lithographie, pour obtenir des motifs à analyser par la méthode de longueur de transfert ou TLM. Ces motifs ont pour forme des rectangles métalliques parallèles éloignés de distances connues sur une surface de graphène (Figure 43).

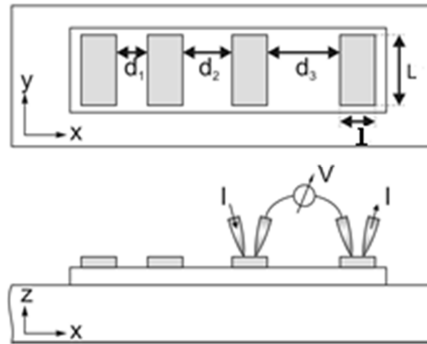


Figure 43 : Motifs TLM, présentation schématique issue de la thèse de Simone Montanari [198]

Sur ces motifs, des caractérisations courant-tension sont faites entre deux plots pour évaluer la résistance et tracer la courbe de la résistance en fonction de la distance entre les plots (Figure 44).

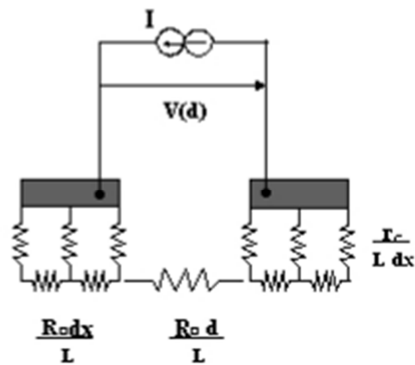


Figure 44 : Représentation des différentes résistances lors d'une mesure I-V, issu de la thèse de M. Lazar [199]

La distribution en potentiel sous un contact s'exprime par :

$$\varphi(x) = IR_{sh} \frac{L_T}{L} \frac{\cosh(x/L_T)}{\sinh(l/L_T)}$$

Équation 7 : Distribution spatiale en potentiel sous un contact

Avec R_{sh} la résistance carrée ($\Omega.\square^{-1}$), l la largeur d'un plot (mm), L la longueur d'un plot (mm), et L_T la longueur de transfert (mm):

$$L_T = \frac{r_c}{R_{sh}}$$

Équation 8 : Expression de L_T

Avec r_c la résistance de contact ($\Omega.mm$).

Ainsi la tension entre deux plots peut s'exprimer :

$$V(d) = 2\varphi(l) + IR_{sh} \frac{d}{l}$$

Équation 9 : Expression du potentiel entre deux plots

Pour $L_T \ll l$ et une distance d entre deux plots, on peut écrire la résistance mesurée comme :

$$R \cong R_{sh} \left(\frac{d}{L} + 2 \frac{L_T}{L} \right)$$

Équation 10 : Approximation de la résistance globale entre deux plots

Alors la résistance totale est dépendante de la distance entre les plots et on peut tracer $R=f(d)$ dont la pente nous donnera la résistance carrée et l'ordonnée à l'origine permettra de déduire la résistance de contact métal/graphène (Figure 45).

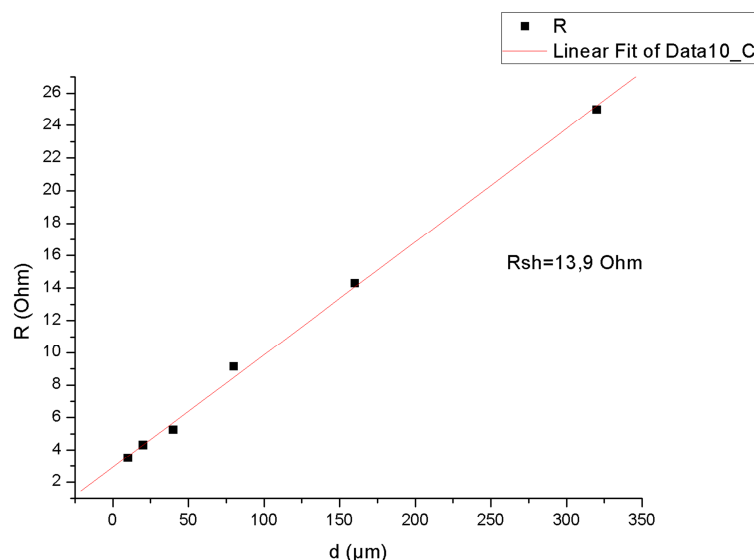


Figure 45 : Résistance en fonction de la distance entre les plots de TLM sur une couche de graphène

Sur nos couches de graphène produites à 1650 °C, à partir de plots TLM réalisés avec une largeur de 200μm, on obtient une résistance carrée de 13,9 Ω. Pour une épaisseur d'un nanomètre. Cela donne une résistivité du graphène de $13,9 \cdot 10^{-9} \Omega \cdot m$ ce qui s'approche des meilleures résistivités obtenues pour ce matériau ($\approx 100 \cdot 10^{-9} \Omega \cdot m$) [200].

2.3.3 Caractérisations électrochimiques

Notre choix des différents matériaux carbonés s'est basé sur des études déjà effectuées dans la littérature sur le plan électrochimique, comme évoqué dans le chapitre précédent. Il est ainsi essentiel de pouvoir comparer les caractéristiques électrochimiques de nos couches carbonées à ces études pour évaluer l'efficacité de nos protocoles de synthèse et de convenir d'une température de recuit adéquate pour la préparation des couches PPF et de graphène avec pour objectif de les utiliser comme matériaux optimisés pour la détection électrochimique.

Dans toutes les études électrochimiques faites durant cette thèse, l'électrolyte utilisé est du PBS 10X. Cette solution offre un pH de 7,4 qui permet non seulement un travail à un pH connu, mais aussi l'utilisation d'enzymes ne se dénaturant pas dans ce milieu. L'électrode de référence est en Ag/AgCl et l'électrode auxiliaire est en platine. De même que pour l'électrolyte, ce type d'électrode sera toujours utilisé au cours de nos travaux. Les caractérisations électrochimiques ont été menées au moyen d'un potentiostat Origastat OGS 100 avec le logiciel Origamaster 5 de chez Origalys (Figure 46).



Figure 46 : Potentiostat Origastat OGS 100 et électrodes en solution

Récupérer le signal électrique de ces électrodes, un contact métallique a été déposé par pulvérisation cathodique (méthode expliquée en annexe D) sur une partie des échantillons (Figure 47). En premier lieu de l'aluminium a été utilisé mais son adhérence était très faible et les contacts se détérioraient facilement. Un dépôt de platine a permis d'obtenir des contacts viables.

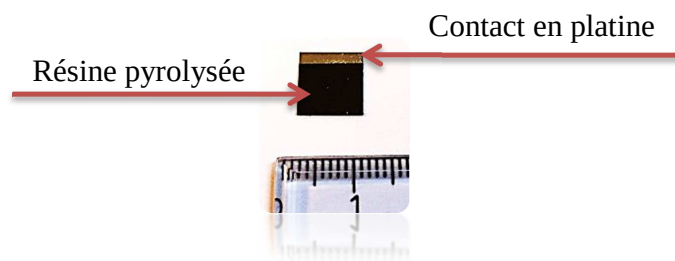
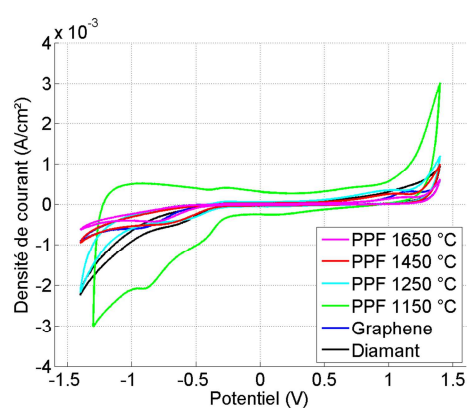


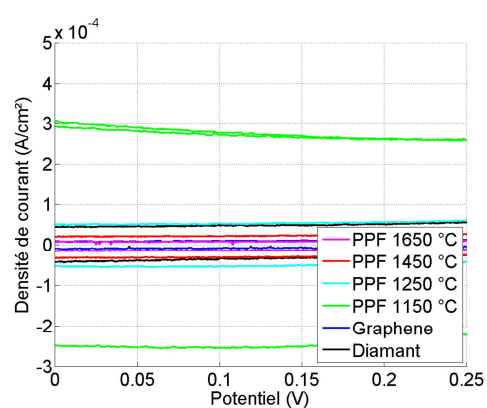
Figure 47 : Échantillon de PPF sur SiC après dépôt du contact en platine

2.3.3.a Domaine d'électroactivité

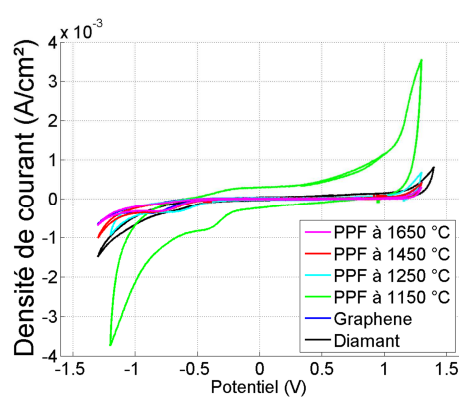
Le domaine d'électroactivité est la fenêtre de potentiel de travail d'une électrode dans un électrolyte particulier dans lequel le courant mesuré est nul. Ce domaine de potentiel détermine dans une large mesure, l'application analytique. Une telle connaissance informe si un analyte peut être étudié sans interférences d'oxydation et de réduction de l'électrode elle-même ou celle de l'électrolyte. Une fenêtre de potentiel plus large indique la possibilité d'étudier un plus large éventail d'analytes. Nous avons donc procédé à l'étude du domaine d'électroactivité des différents matériaux carbonés dans du PBS 10X. Cette étude a été menée par voltampérométrie cyclique qui consiste à imposer différentes valeurs de potentiel à l'électrode de travail, l'électrode carbonée, par rapport à l'électrode de référence et de mesurer le courant d'oxydation ou de réduction pour chaque valeur de potentiel appliquée. Les voltamogrammes obtenus résultent ainsi d'un balayage de potentiel aller-retour dans une gamme définie. Cette gamme est élargie progressivement jusqu'à l'observation d'un courant anodique positif, 3 fois supérieur au courant capacitif, pour les hautes valeurs de potentiel et un courant de réduction négatif pour les basses valeurs de potentiel, également 3 fois supérieur au courant capacitif. Le domaine d'électroactivité correspond à toute la gamme en potentiel dans laquelle le courant faradique est nul (Figure 48).



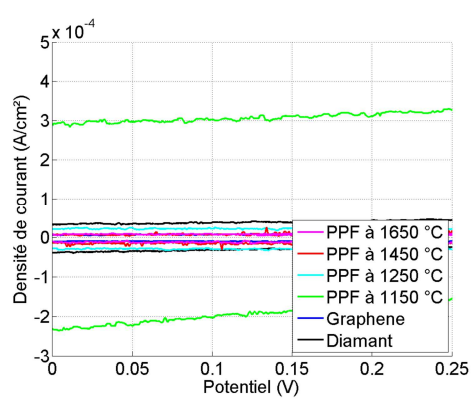
a



b



c



d

Figure 48 : Voltammétries cycliques dans une solution de KCl 0,1M (a et b) et PBS 10X (c et d) pour différentes électrodes carbonées

Electrode	Domaine de potentiel dans KCl	Domaine de potentiel dans PBS
	0,1 M	10X
PPF recuit à 1150 °C	-0,5 à 1,1 V	-1,08 à 0,95 V
PPF recuit à 1250 °C	-1,2 à 1,35 V	-1,2 à 1,15 V
PPF recuit à 1450 °C	-1,4 à 1,37 V	-1,25 à 1,2 V
PPF recuit à 1650 °C	-1,6 à 1,39 V	-1,4 à 1,25 V
Graphène	-1,4 à 1,39 V	-1,4 à 1,25 V
Diamant	-1 à 1,37 V	-1,1 à 1,25 V

Tableau 18 : Domaines d'électroactivité des électrodes dans une solution de KCl 0,1 M et une solution de PBS 10X

On observe une augmentation du domaine d'électroactivité du PPF avec la température de recuit (Tableau 18). Dans les travaux de Hermans [201], des PPF obtenus à partir de la résine AZ P4330-RS recuite à 1000 °C a permis d'obtenir des électrodes dont le domaine d'électroactivité s'étend de -0,4 V à 1,3V dans du PBS 10X. Ici nos électrodes montrent un domaine pouvant s'étendre de -1,6 à 1,39 V (dans du PBS), une large gamme en potentiel, qui pourrait permettre la détection d'une grande variété d'analytes. Le graphène montre un comportement similaire à celui du PPF recuit à 1450 °C. Dans un article de Bo et al. [202], il est possible de distinguer le domaine d'électroactivité d'un échantillon de graphène sur carbone vitreux, allant de -1 V à 1 V dans du PBS.

Dans un article de Granger et al. [55], du diamant dopé au bore (à 10^{19} cm^{-3}) montre un domaine allant de -0,5 V à 1 V dans une solution de KCl et PBS, ce qui est bien plus faible que nos résultats [59]. Dans une autre étude, Siangproh et al. ont observé un domaine pouvant aller jusqu'à 1,4V, pour du diamant dopé à 10^{21} cm^{-3} . L'évolution du domaine d'électroactivité a un lien avec le taux de dopage du diamant. Dans notre cas les échantillons utilisés se situent à 10^{20} cm^{-3} , et les caractérisations ont été effectuées dans du PBS et du KCl. Classiquement les domaines d'électroactivité du diamant sont plus étendus, mais dans des électrolytes différents. L'utilisation d'un électrolyte en particulier dépend de l'utilisation qui sera faite des électrodes observées. Dans notre cas la réponse électrochimique des électrodes a été étudiée dans du PBS, qui est une solution tamponnée à pH contrôlé (pH =7,4), offrant la possibilité de travailler dans un environnement adapté aux récepteurs biologiques (enzymes).

2.3.3.b Capacité d'interface

Il est intéressant d'étudier la capacité d'interface de nos électrodes qui résulte, d'une accumulation de charges à sa surface suite à sa polarisation. En effet, les charges de surface ou les charges de polarisation de l'électrode sont neutralisées par des ions de charges opposées qui se concentrent à la surface de l'électrode selon une distribution en double couche. Cette distribution des charges représentée sur la Figure 49, produit l'équivalent d'un condensateur de plaques parallèles caractérisé par la capacité de la double couche C_{dc} . Cette capacité est exprimée en fonction de la surface d'électrode S et de l'épaisseur de la double couche d selon l'Équation 11.

$$C_{dc} = \frac{\epsilon_r \epsilon_0 S}{d}$$

Équation 11 : Expression de la capacité de la double couche

Où ϵ_r est la permittivité relative de la double couche et ϵ_0 est la permittivité du vide ($8,85 \cdot 10^{-4} \text{ F.cm}^{-1}$).

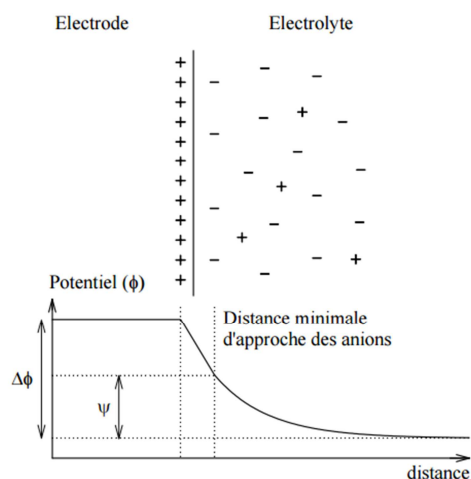


Figure 49 : Schéma de la distribution des charges et variation du potentiel à l'intérieur de la double couche électronique, issu de [203]

Plus la capacité de la double couche d'une électrode est faible, et plus il sera aisé d'obtenir un bon rapport signal sur bruit et de descendre en limite de détection seuil de l'analyte. En effet, le courant capacitif qui résulte de cette accumulation de charge peut interférer et faire de l'ombre aux faibles courants faradiques résultant de l'oxydation ou de la réduction des faibles concentrations d'analytes.

Pour observer cet effet, une caractérisation en voltammétrie cyclique à différentes vitesses de balayage est effectuée. Il est à noter que la capacité de la double couche observée dépend de l'aire et de la nature de la surface étudiée mais aussi de l'électrolyte utilisé.

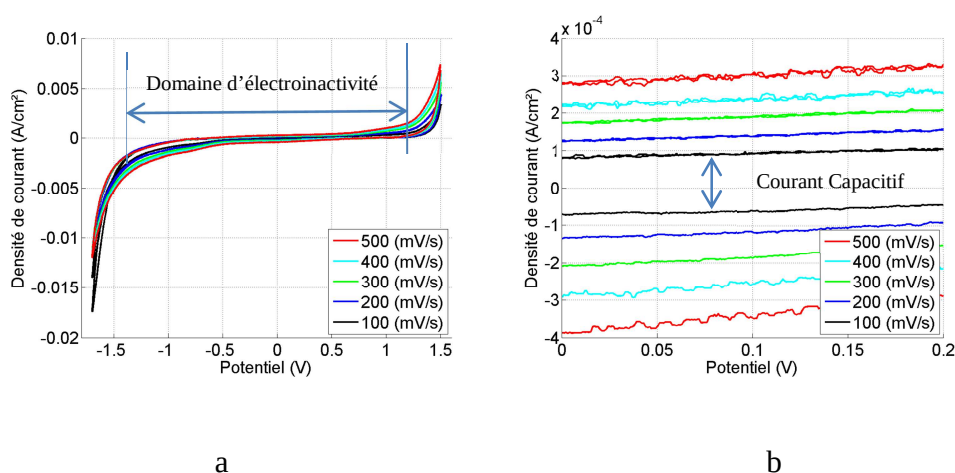


Figure 50 : Voltammétrie cyclique d'une électrode de diamant dans une solution de PBS 10X à différentes vitesses de balayage (a) et un zoom entre 0 et 0.2V (b)

Le courant capacitif est déterminé à partir de l'écart de courant entre le balayage aller et retour sur le domaine d'électroactivité (Figure 50). Ce courant est mesuré pour différentes vitesses de balayage. En traçant la valeur du courant capacitif en fonction de la vitesse de balayage on obtient une droite dont la pente correspond à la valeur de la capacité de la double couche. En effet le courant capacitif I_{dc} est directement proportionnel à la vitesse de balayage v selon l'Équation 12.

$$I_{dc} = \frac{dQ}{dt} = C_{dc} \frac{dE}{dt} = C_{dc} \cdot v$$

Équation 12 : Expression du courant de double couche

Où Q est la charge et E est le potentiel.

Matériau	KCl		PBS	
	Capacité (μF)	Ecart type (μF)	Capacité (μF)	Ecart type (μF)
PPF 1150	360,5	45,60	233	75,66
PPF 1250	238	45,25	76,5	0,35
PPF 1450	134,5	43,48	57	9,89
PPF 1650	33,45	1,09	23,25	6,54
Graphène	41	9,0	53,75	18,56
Diamant	146	41,71	96	38,18

Tableau 19 : Capacités mesurées pour les électrodes synthétisées dans une solution de PBS et de KCl

Le Tableau 19 regroupe les résultats obtenus par cette caractérisation pour les matériaux synthétisés, dans des solutions de PBS et KCl qui sont classiquement utilisées dans la littérature. Les prochaines sous-parties de ce mémoire traiteront de l'interprétation de ces résultats. La capacité exprimée sera rapportée à la surface immergée des électrodes qui est de 0,1 cm² pour obtenir la capacité surfacique des électrodes.

2.3.3.a.α PPF

La capacité de la double couche des électrodes de PPF a été étudiée pour les différentes températures de recuits de 1150, 1250, 1450 et 1650°C. Cette caractérisation a été effectuée sur deux séries d'échantillons et les résultats sont affichés dans le Tableau 19. Pendant les mesures électrochimiques, il a été toutefois observé que l'utilisation prolongée des électrodes recuites à 1050°C et à 1150°C avec l'application de balayages successifs en potentiel entraîne une forte détérioration des

couches carbonées. Les couches recuites à 1050 °C se sont détériorées d'une manière non homogène, faisant apparaître des fragments de résine pyrolysée sur la surface. Par contre, les couches recuites à 1150 °C se sont dissoutes dans l'électrolyte conduisant à l'apparition d'une limite de détérioration au niveau de la limite d'immersion de l'échantillon (Figure 51).

Cette détérioration des couches carbonées pour ces deux températures de recuit est probablement due à un échauffement par effet joule causé par la forte résistivité de ces couches durant le passage du courant. La différence de résistivité des couches aux deux températures de recuit peut également expliquer ces différences d'homogénéité dans la destruction des couches. Notons que pour ces températures la résistivité est relativement élevée comparée aux températures supérieures. Il a été toutefois possible de déterminer la capacité de double couche de ces deux couches carbonées en réduisant le nombre de mesures et en utilisant un nombre plus grand d'échantillons.

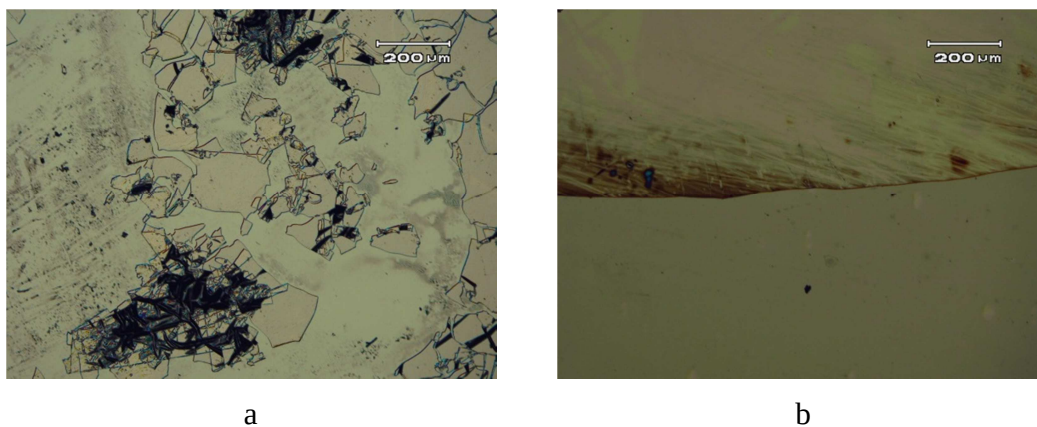


Figure 51 : Observations microscopiques des échantillons de PPF sur SiC recuits à 1050 °C (a) et 1150 °C (b) dégradés après caractérisations électrochimiques

A partir des valeurs de capacité de double couche indiquées sur le Tableau 19, on remarque une diminution du courant capacitif et de la capacité de la double couche avec l'augmentation de la température de recuit des électrodes carbonées. Cette baisse de la capacité est probablement due à l'élimination des oxydes dans les matériaux carbonés qui augmente avec la température de recuit et qui réduit la densité des groupements chargés à la surface des électrodes. Ce phénomène d'élimination d'oxyde dans les matériaux carbonés dépendant de la température de recuit a déjà été décrit par Kostecki [124].

Par ailleurs, les valeurs de capacités de double couche des électrodes carbonées recuites à 1150 °C et 1250 °C s'apparentent à celles ayant pu être décrites par Barsan et al. pour des matériaux composites carbonés pour les températures de 1150 °C et 1250 °C, puisqu'ils indiquent des valeurs de capacité de double couche comprises entre 5 et 10 mF/cm² [177]. Par contre, les échantillons recuits à 1450 °C et 1650 °C offrent une capacité plus élevée que celle obtenue par Larsen et al. qui ont pu obtenir une valeur de 60 µF/cm² pour la même résine, mais recuite à 900 °C [33]. Cette différence est peut être due à une surface active générée par notre protocole de synthèse, plus importante que celle obtenue par Larsen et al. avec leur protocole. En effet, la capacité de la double couche augmente avec le pourcentage de surface active. Toutefois, ce courant capacitif, assimilé à un bruit de fond, pourrait impacter négativement la limite seuil de détection des analytes cibles. Ce point sera abordé dans la partie 2.3.3.b, qui s'intéresse à la réactivité électrochimique des électrodes jugées les plus aptes à la détection d'analytes modèles.

2.3.3.a.β Graphène

De la même manière que pour les couches de PPF, les électrodes en graphène ont été caractérisées par voltampérométrie cyclique. De ces courbes sont calculées les capacités de double couche pour plusieurs échantillons de graphène sur SiC. Il résulte de cette caractérisation une valeur moyenne de capacité de double couche de $410 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ avec un écart type assez important de $90 \mu\text{F}/\text{cm}^2$. Ces valeurs de capacités sont bien plus faibles que celles observées par Tang et al. [170], où du graphène déposé sur une électrode de carbone vitreux donnait une valeur de capacité de double couche de $3,73 \text{ mF}/\text{cm}^2$. Le comportement de notre couche de graphène diffère de ce qui est écrit dans cet article, car sa méthode de synthèse est différente et le graphène formé dans ce cas ne comporte pas le même état de surface. Il est probable que cette couche soit formée de multiples feuillets, ou encore qu'elle soit composée d'une grande quantité de nanocristaux. Dans la littérature, les capacités élevées du graphène sont essentiellement connues et utilisées pour la conception de supercondensateurs en vue de remplacer le charbon actif [136].

2.3.3.a.γ Diamant

A travers les courbes de voltampérométrie cyclique réalisées sur plusieurs électrodes de diamant, la valeur moyenne de la capacité de double couche est de $1,46 \text{ mF}/\text{cm}^2$ avec un écart type de $0,13 \text{ mF}/\text{cm}^2$. Ces valeurs de capacités sont bien plus élevées que celles observées dans la littérature, étant comprises entre quelques nanofarads à quelques microfarads [171]. La différence observée dépend essentiellement de la composition du diamant dopé au bore, et de son traitement de surface. Dans la publication de Trouillon et al., le diamant est dopé à 0,1 % et a subi un polissage puis un traitement de surface à l'acide perchlorique. Nos électrodes n'ont pas subi ces traitements, ce qui pourrait expliquer cette différence.

2.3.3.b Etude de la réactivité électrochimique des électrodes carbonées

Afin d'évaluer la réactivité électrochimique de nos électrodes carbonées, une caractérisation par voltampérométrie cyclique en présence de différentes sondes redox a été menée. Trois molécules ont été choisies comme modèles de systèmes redox à étudier sur la surface de nos électrodes :

- Le couple ferrocyanure $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{2-}/[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$ qui est un système redox anionique monoélectronique à sphère externe (Figure 52 a).
- L'hexamine de ruthénium $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ qui est une molécule hydrophile chargée positivement avec un transfert à un électron (Figure 52 b).
- Le catéchol qui est une molécule neutre qui s'oxyde en orthoquinone via un transfert à deux électrons (Figure 52 c).

Toutes ces sondes redox ont été étudiées à une concentration de 1mM dans du PBS 0,1M (pH=7,4).

Le but de cette étude est d'avoir des informations sur la cinétique des réactions d'oxydo-réduction des sondes redox sur la surface de nos matériaux carbonés et de déterminer la surface électro-active de ces électrodes. La réponse électrochimique d'une grande variété de matériaux carbonés vis-à-vis des sondes redox que nous avons choisies étant bien décrite dans la littérature, il sera également possible de comparer la réactivité de nos électrodes à la leur.

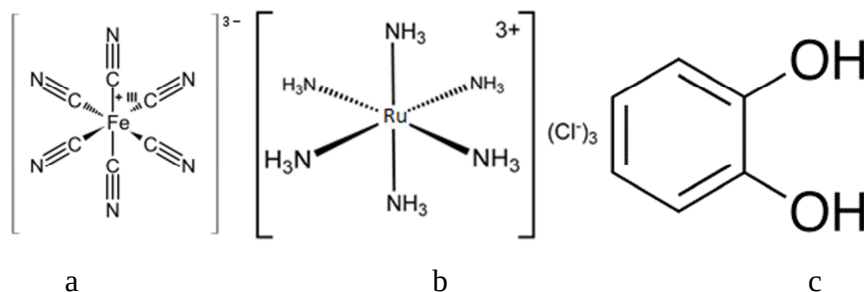


Figure 52 :Représentation de Lewis du ferricyanure (a), l'hexamine de ruthénium (b) et du catéchol (c)

Pour chaque matériau carboné et pour chaque sonde redox des voltammétries cycliques ont été effectuées à différentes vitesses de balayage allant de 100 à 500 mV/s. Pour le PPF à différentes température de recuit, pour le graphène ainsi que pour le diamant, les deux pics de courants anodiques et cathodiques des trois sondes redox évoluent linéairement avec la racine carré de la vitesse de balayage sur l'ensemble gamme de vitesses de balayage examiné, (Figure 53 et Figure 54) ce qui suggèrent que les processus d'oxydo-réduction sur nos électrodes carbonées pour les trois sondes sont principalement contrôlée par la diffusion [204].

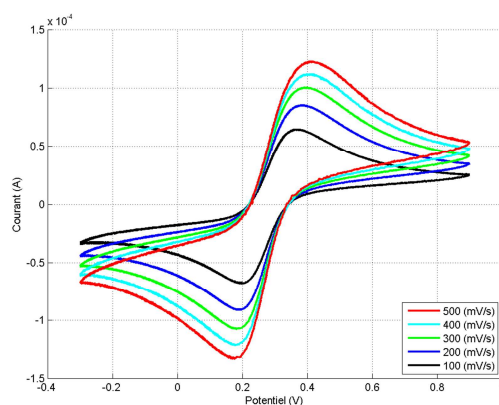


Figure 53 : Exemple de voltammétrie cyclique à différentes vitesses de balayage en présence d'une sonde électrochimique

Il a été également possible d'obtenir la surface active de nos électrodes à partir de ces courbes de voltammétrie cyclique en utilisant l'équation Randles-Sevcik (Équation 13) et les coefficients de diffusion des trois sondes redox $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{3-}$, $[\text{Ru}(\text{NH}_3)_6]^{3+}$ et catéchol dans le PBS 0,1M, qui sont respectivement $7,6 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [205], $6,3 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [206] et $4,8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2/\text{s}$ [207].

La relation de Randles-Sevcik exprime le courant de pic d'oxydation ou de réduction en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage :

$$I_p = 0.4463 * nFAC \left(\frac{nFvD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}}$$

Équation 13 : Expression du courant de pic en fonction de la vitesse de balayage

Avec I_p l'intensité du pic (A), n le nombre d'électrons de la réaction électrochimiques, F la constante de Faraday (C/mol), A la surface active (cm^2), C la concentration de la sonde électrochimique ($\text{mol} \cdot \text{cm}^{-3}$), v la vitesse de balayage en potentiel (V/s), D le coefficient de diffusion de la sonde électrochimique (cm^2/s), R la constante des gaz parfaits ($\text{VC} \cdot \text{K}^{-1} \cdot \text{mol}^{-1}$) et T la température (K).

En traçant la valeur d'intensité des pics d'oxydation et de réduction en fonction de la racine carrée de balayage en potentiel (Figure 54), on obtient des droites dont la pente permet de remonter à la surface active de l'électrode (Équation 14).

$$A = \frac{\text{pente}}{0,4463 \times nFC \left(\frac{nFD}{RT} \right)^{\frac{1}{2}}}$$

Équation 14 : Expression de la surface active, issue de l'Équation 13

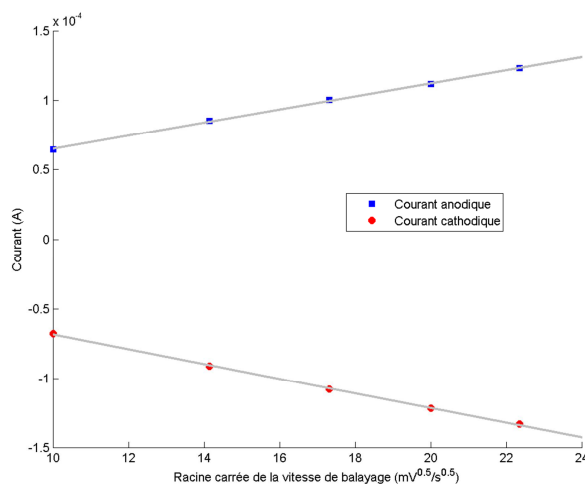


Figure 54 : Courbes des courants de pics anodique et cathodique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage

Sur le Tableau 20 sont indiquées les valeurs calculées de pourcentage de surfaces actives par rapport à la surface géométrique des électrodes carbonées. De ces valeurs, on remarque que la surface active des électrodes en PPF ne varie pratiquement pas avec la température de recuit. Les valeurs obtenues montrent aussi que la quasi-totalité des surfaces carbonées est active et peut participer à des échanges électroniques avec des molécules redox quelle que soit leur charge.

Matériau	Surface active/surface apparente (%)		
	Ferricyanure	Catéchol	Hexamine de ruthénium
1250	89,2 ± 6	73,9 ± 3	92,2 ± 2,3
1450	91,3 ± 3,2	85,7 ± 6,9	91,3 ± 3,3
1650	92,8 ± 1,6	75,6 ± 1,5	94,4 ± 1,7
Graphène	95,4 ± 2,8	94,6 ± 2	95,0 ± 2,6
Diamant	93,8 ± 5,5	97,2 ± 0,3	96,2 ± 1,2

Tableau 20 : Observation de la surface active des électrodes carbonées en pourcentage par rapport à la surface apparente

2.3.3.b.α Réversibilité

Les courbes de voltammétrie cyclique des électrodes en PPF en présence des sondes redox ont également montré une diminution de la différence de potentiel séparant les pics d'oxydation et de réduction ΔE_p en augmentant la température de recuit (Figure 55).

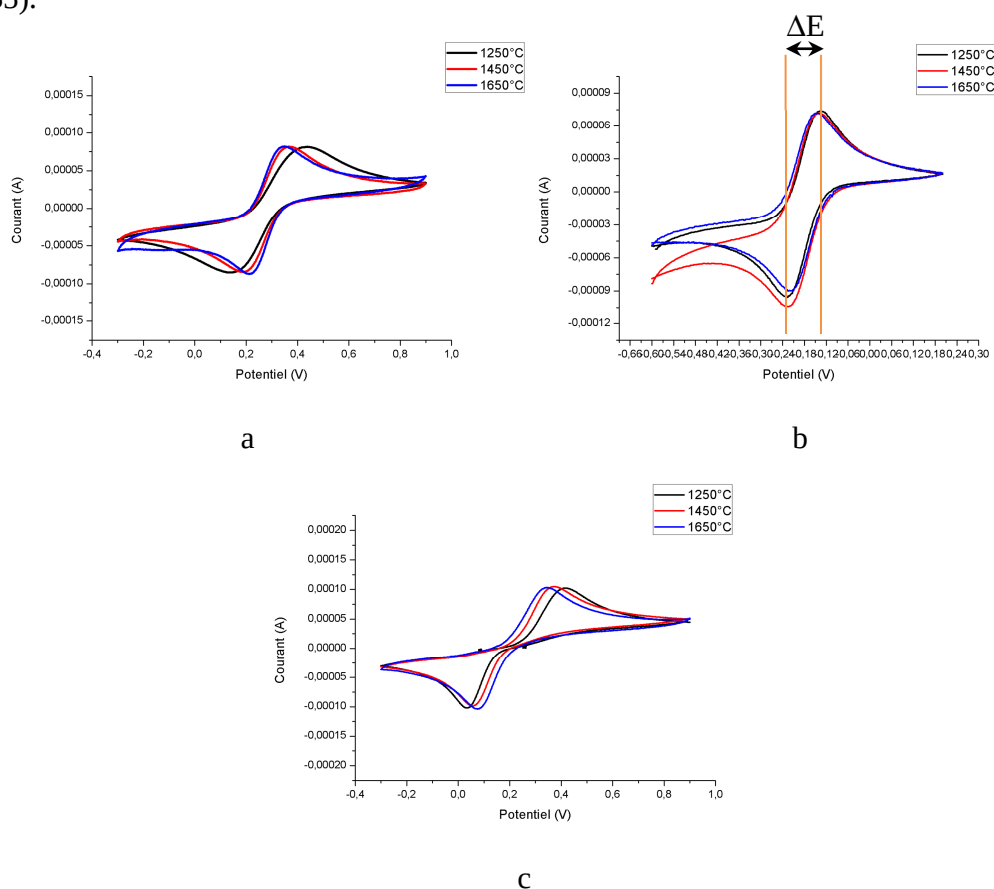


Figure 55 : Voltammétrie cyclique (100 mV/s) dans des solutions de Ferrocyanure (a), Hexamine de ruthénium (b) et catéchol (c) à 1 mM dans du PBS 10X par des électrodes de PPF recuites à 1250, 1450 et 1650 °C

Ce ΔE_p est lié au coefficient de transfert d'électrons et sa diminution indique une amélioration de la cinétique électrochimique sur la surface des électrodes en PPF en augmentant la température de recuit. Ces résultats confirment à nouveau que la température de recuit la plus élevée est la plus intéressante pour les analyses électrochimiques. Toutefois, les valeurs de ΔE_p observées sont loin de celle d'un système redox réversible qui doit être inférieur $0,058/n$, où n est le nombre d'électrons échangés lors de la réaction électrochimique. Pour les électrodes de PPF, seule l'hexamine de ruthénium semble s'approcher d'une réaction réversible (Tableau 21). Ceci est probablement dû à la présence de charges négatives sur la surfaces des électrodes portées par les groupements hydroxyles et carboxyles qui sont plus favorable à l'interaction des molécules chargées positivement que les molécules chargées négativement avec la surface.

Sonde	Matériau	ΔE (V)
Catéchol	PPF 1250°C	$0,337 \pm 6,29E-02$
	PPF 1450°C	$0,303 \pm 1,91E-02$
	PPF 1650°C	$0,269 \pm 3,54E-03$
	Graphène	$0,470 \pm 5,60E-02$
	Diamant	$0,515 \pm 5,37E-02$
Ferricyanure	PPF 1250°C	$0,261 \pm 5,59E-02$
	PPF 1450°C	$0,177 \pm 2,83E-03$
	PPF 1650°C	$0,133 \pm 6,36E-03$
	Graphène	$0,467 \pm 2,96E-02$
	Diamant	$0,465 \pm 6,37E-02$
Hexamine de ruthénium	PPF 1250°C	$0,089 \pm 4,95E-03$
	PPF 1450°C	$0,081 \pm 4,95E-03$
	PPF 1650°C	$0,073 \pm 1,41E-03$
	Graphène	$0,080 \pm 9,42E-03$
	Diamant	$0,089 \pm 9,92E-03$

Tableau 21 : Observation de la réversibilité électrochimique en fonction des sondes et matériaux des électrodes

En se référant aux travaux de Granger et al. [55], notre diamant dopé au bore semble avoir un ΔE plus grand pour le ferricyanure, tandis que celui observé pour l'hexamine ruthénium est similaire à la littérature. De manière analogue à la déduction faite pour le PPF, il est probable que des groupements oxygénés soient présents en surface des électrodes, du fait que ces électrodes stockées à l'air libre, n'ont pas subi de traitement chimique pour modifier leur surface. Le graphène montre le même comportement que les autres matériaux utilisés.

2.3.3.b.γ Paramètres cinétiques

Nous avons vu que les surfaces utilisées ne permettent pas d'avoir des réactions complètement réversibles avec les différentes sondes testées. Selon Bard [208], il est possible de remonter aux paramètres cinétiques de ces surfaces à partir de l'Équation 15, issue de la relation de Butler Volmer :

$$I_p = 0,227 \times nFACk^0 \exp\left(\alpha_{app} n \frac{F}{RT} (E_p - E^0)\right)$$

Équation 15 : Courant de pic en fonction de la surtension

De cette équation, il est possible de récupérer la constante cinétique globale de la réaction, k^0 . L'évolution de ce paramètre en fonction de la température de recuit est présentée dans le Tableau 22. Toutes les valeurs obtenues découlent du pic anodique des voltammétries cycliques précédemment présentées.

Matériau	Cinétique globale de réaction k^0 (cm/s)		
	Ferricyanure	Catechol	Hexamine de ruthénium
1250	$4,22 \pm 0,002 \text{ E-03}$	$5,66 \pm 0,375 \text{ E-03}$	$8,16 \pm 1,60\text{E-03}$
1450	$3,32 \pm 0,771 \text{ E-03}$	$4,30 \pm 0,10 \text{ E-03}$	$9,89 \pm 1,54\text{E-03}$
1650	$3,86 \pm 1,54 \text{ E-03}$	$7,16 \pm 1,22 \text{ E-03}$	$2,29 \pm 1,63\text{E-03}$
Graphène	$6,85 \pm 1,63 \text{ E-03}$	$8,70 \pm 1,90\text{E-03}$	$2,69 \pm 0,472\text{E-03}$
Diamant	$3,46 \pm 0,714\text{E-03}$	$2,04 \pm 0,396\text{E-03}$	$1,31 \pm 0,120\text{E-03}$

Tableau 22 : Paramètre cinétiques des électrodes carbonées pour différentes sondes

Concernant le PPF, on observe pour le ferricyanure une constante cinétique assez stable entre $3\text{-}4.10^{-3}$ cm/s, ce qui est cohérent avec les travaux de Ranganathan et al. [42] et Singh et al. [209], ainsi qu’avec les travaux de Del Campo et al.[36]. De même, le catéchol offre une constante cinétique proche de $3\text{-}8.10^{-3}$ cm/s, soit équivalente à la cinétique sur une électrode d’or [210].

Pour le graphène on observe des constantes standards apparentes de transferts nettement inférieures à celles de Tang et al. [211] qui ont des constantes dix fois supérieures à celle obtenues dans cette étude, mais nous avons le même ordre de grandeur que celui observé dans la publication de Valota et al. [212] où la constante est de $1,2.10^{-3} \text{ cm.s}^{-1}$. La différence entre ces résultats vient probablement de la nature du graphène, qui dans le premier cas a été obtenu par réduction d’oxyde de graphène, tandis que Valota et al. ont utilisé du graphite exfolié. La méthode de synthèse utilisée dans cette thèse, montre des résultats similaires à l’étude sur le graphite exfolié pour les valeurs des constantes cinétiques.

Pour le diamant, le ferricyanure montre une vitesse de transfert meilleure que celle observée par Ilaria Duo dans ses travaux de thèse (4.10^{-4} – 3.10^{-5} cm/s) [213]. Cependant, la caractérisation se faisait avec de l'acide sulfurique comme électrolyte et le taux de dopage utilisé était de 9.10^{20} atomes/cm³ alors que dans notre étude nous nous situons aux alentours de 3.10^{20} atomes/cm³. Dans la thèse d'Ilaria Duo, les paramètres cinétiques du couple benzoquinone/hydroquinone ont été étudiés. Ce couple est très proche du couple catéchol/benzoquinone puisque ces espèces sont des isomères. Les résultats obtenus vont d'une vitesse de transfert allant de 1.10^{-6} à 7.10^{-5} cm/s, ce qui nous permet d'affirmer que le niveau de dopage en bore de nos électrode et leur état de surface leurs permet d'avoir une plus grande vitesse de transfert.

2.3.3.c Conclusions sur les électrodes pour l'électrochimie

2.3.3.c.α PPF

Les couches de résine pyrolysée ont été caractérisées de manière électronique, optique et électrochimique.

Les observations électroniques ont montré une nette augmentation de la conductivité de cette couche avec la température de recuit, ce qui est très important pour obtenir un bon signal en détection électrochimique.

La caractérisation par spectroscopie Raman a montré un matériau dont le désordre augmente avec la température de recuit, et cela est courant et inévitable sur ces matériaux comme le montre notamment la littérature.

Du point de vue électrochimique et de l'observation faite dans du PBS sur trois sondes de propriétés différentes, il apparaît que les électrodes synthétisées offrent un signal proche de celui obtenu dans la littérature. L'étude de l'influence de la température de recuit sur la réponse électrochimique pousse à conclure sur l'utilisation de la température la plus élevée pour une meilleure réversibilité des réactions électrochimiques, mais aussi pour sa stabilité en milieu aqueux (pas de détérioration pour une température supérieure à 1150 °C). L'utilisation d'une couche de PPF comme électrode pour des mesures électrochimiques a été validée dans cette partie et la température de recuit qui paraît optimale est de 1650 °C.

2.3.3.c.β Graphène

Le savoir-faire apporté lors de cette étude a permis de lever un verrou technologique pour l'insertion du graphène dans de multiples étapes de structurations pour des applications diverses et variées, notamment au sein des laboratoires de l'INL et Ampère.

Les caractérisations de ces échantillons ont permis de démontrer, que par deux méthodes de synthèse haute température, il était possible d'obtenir du graphène en surface du SiC. L'utilisation de ces couches en tant qu'électrodes n'a pas offert de résultat exceptionnel sur le plan de la détection électrochimique et de sa cinétique. En effet, les liaisons covalentes présentes entre graphène et SiC, diminuent le nombre de liaisons π de la couche et affectent énormément la mobilité des porteurs dans ce matériau.

Ces électrodes n'en restent pas moins viables pour une utilisation en électrochimie, voire bioélectrochimie, puisque ce matériau carboné a principalement été sélectionné pour cette étude pour ses propriétés de biocompatibilité.

2.3.3.c.γ Diamant dopé bore

Initialement, le diamant a été sélectionné pour nos travaux de thèse comme un matériau de référence. C'est un matériau qui a été très étudié et dont on connaît les caractéristiques dans de multiples domaines. Les caractérisations effectuées ont mis en évidence des performances moins bonnes que dans la littérature pour nos électrodes. Ces différences sont à mettre en relation avec les méthodes de travail utilisées ainsi que l'état de surface des électrodes qui peuvent être bien différents de ceux décrits dans les travaux cités.

Ainsi, nous avons vu que sa résistivité s'apparente à ce qui est rapporté dans la littérature. La spectroscopie Raman a mis en évidence la présence d'une maille diamant dans cette couche, et les observations électrochimiques ont montré des valeurs de domaine d'électroactivité et de capacité de double couche moins bonnes que dans la littérature... De la difficulté d'obtenir de nouvelles couches de diamant dopé au bore, ce matériau sera tout de même utilisé dans la suite de cette thèse.

2.4 Utilisation des électrodes carbonées pour la biodétection

La synthèse d'une bioélectrode repose sur la fonctionnalisation d'une surface transductrice par des éléments biorécepteurs. La réalisation d'une bioélectrode implique l'utilisation d'un matériau biocompatible. Ce matériau doit être suffisamment conducteur pour mesurer un signal électrique et ne doit pas se détériorer lors de l'application d'une différence de potentiel. Il doit également être inerte chimiquement et ne pas dénaturer les biorécepteurs déposés à sa surface. C'est dans le but de vérifier que nos matériaux carbonés respectent ces critères, que nous avons entrepris la réalisation de biocapteurs enzymatiques. Les études mentionnées dans cette partie de chapitre ont également pour objectif d'évaluer les performances analytiques de nos matériaux en termes de limite de détection et de rapport signal sur bruit.

2.4.1 Choix du biorécepteur

L'utilisation de biocapteurs est principalement ciblée pour des applications dans le domaine médical [51], [89], [214]–[217], ou environnemental [11], [20], [218]–[221], pour détecter et connaître la concentration de biomolécules cibles nocives pour l'homme et son environnement. En effet, énormément d'espèces nocives issues de l'activité humaine, tels que les métaux lourds, des molécules médicamenteuses, des pesticides, etc... diffusent dans notre environnement pour se retrouver dans nos

aliments, l'eau qu'on boit et l'air qu'on respire. Ces molécules peuvent jouer le rôle de perturbateurs endocriniens et peuvent être cancérigènes. Par exemple, la directive cadre sur l'eau (DCE) a établi une liste de 45 molécules (des micropolluants) qui présentent un risque pour la santé de l'homme et qui doivent être détruites dans le traitement des effluents et des eaux usées avant de rejeter l'eau traitée dans l'environnement [222]. Dans cette liste figure un grand nombre de pesticides, ce qui explique l'effort que portent plusieurs laboratoires de recherche à développer des capteurs pour détecter et quantifier ces polluants. Nous avons ainsi choisi de tester nos matériaux carbonés dans la réalisation d'un biocapteur qui pourrait être utile dans la détection des pesticides. Pour cela, notre choix s'est orienté vers l'utilisation de l'enzyme acétylcholinestérase (AChE) comme modèle de biorécepteur pour détecter l'acétylthiocholine. En effet, plusieurs études de la littérature ont été menées sur la détection de pesticides neurotoxiques par l'utilisation de l'enzyme acétylcholinestérase [10], [74], [76], [77], [79], [82], [223]–[231]. Ces biocapteurs reposent sur la diminution de l'activité de l'enzyme AChE en présence de pesticides organophosphorés ou chlorés. Cette diminution de la réponse étant proportionnelle à la concentration des pesticides, il est ainsi possible de les détecter mais aussi de les quantifier.

L'enzyme AChE appartient à la famille des hydrolases et fait partie des enzymes les plus efficaces et les plus actives en hydrolyse [232]. Elle joue un rôle important dans la transmission de l'influx nerveux dans le système nerveux central et dans les muscles en hydrolysant le neurotransmetteur acétylcholine [233].

L'activité de l'enzyme AChE est déterminée électrochimiquement en utilisant l'acétylthiocholine comme substrat et en se basant sur la réponse électrochimique du produit de la réaction enzymatique, la thiocholine. En effet, l'AChE hydrolyse l'acétylthiocholine pour former de l'acide acétique et la thiocholine. Ce dernier est un

composé thiolé qui s'oxyde électrochimiquement à partir d'un potentiel de 0,7 V/ENH pour former son dimère (Figure 56) [234].

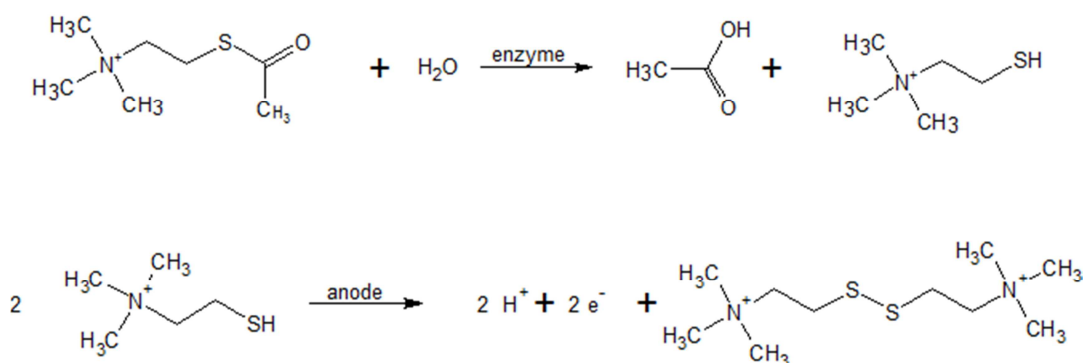


Figure 56 : Réaction de détection de l'acétylthiocholine sur un biocapteur doté d'acétylcholinestérase

2.4.2 Méthode d'immobilisation

Deux méthodes d'immobilisation ont été testées dans cette étude. La première est une accroche par liaisons covalentes et la deuxième est une immobilisation par adsorption.

2.4.2.a Immobilisation covalente

Pour immobiliser de manière covalente l'enzyme AChE sur la surface de nos électrodes carbonées nous avons choisi d'utiliser les groupements carboxyliques qui pourraient être présents à la surface des couches carbonées. Cette méthode repose sur un couplage peptidique entre les fonctions COOH de la surface d'électrode et les fonctions NH₂ de l'enzyme. L'agent de couplage utilisés pour la réaction est l'EDCI

(1-[3-Diméthylamino)propyl]-3-éthylcarbodiimide methiodid, Sigma-aldrich). Le rôle de l'EDCI est d'activer les groupements COOH vis-à-vis de l'attaque nucléophile de l'amine formant ainsi une O-acylurée qui a une réactivité analogue à celle des anhydrides. Elle peut donc aussi être attaquée facilement par l'eau. C'est pourquoi, on fait réagir ensuite la NHS (N-Hydrosuccinimide) qui forme un intermédiaire réactionnel plus stable (Figure 57).

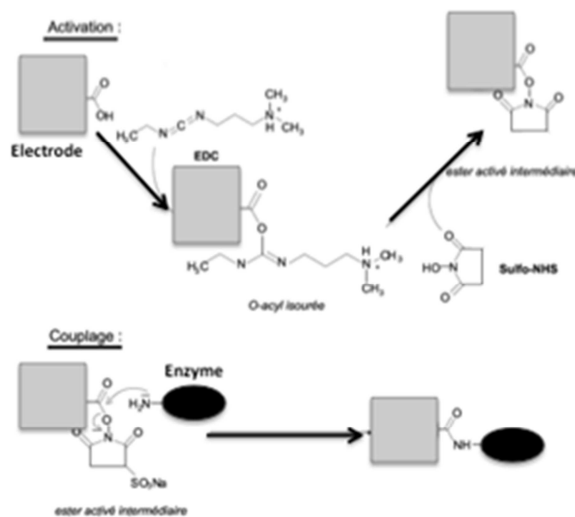


Figure 57 : Représentation schématique du protocole de greffage des enzymes

Nous avons ainsi suivi le protocole décrit par le groupe de Fischer [235]. Les échantillons ont été plongés dans une solution de 50 mM de NHS et 200 mM d'EDC pendant 10 minutes puis après lavage dans du PBS 10X, ils ont été plongés dans une solution de PBS 10X contenant 0,8 mg/mL d'acétylcholinestérases pendant 3 heures sous agitation à 30 °C. Plusieurs rinçages de la surface avec une solution de PBS 0,1M (pH=7,4) ont été effectués puis l'électrode fonctionnalisée a été conservée dans le PBS 0,1M (pH=7,4) avant de les tester dans la détection électrochimique de d'acétylthiocholine.

2.4.2.b Immobilisation par adsorption

Nous nous sommes également intéressés à l'utilisation de l'adsorption comme méthode simple d'immobilisation. Pour cela nous avons utilisé la chitosane comme élément naturel permettant l'adsorption des enzymes en surface. Ce polymère naturel est cité dans plusieurs articles pour immobiliser différentes enzymes [6], [74], [76], [82], [223], [225], [226], [229], [231], [236], [237]. La chitosane est biocompatible, porteur de groupements amines qui, à des pH neutres, sont pour la plupart protonés et chargés positivement (Figure 58).

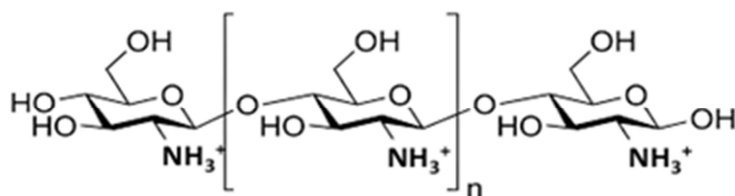


Figure 58 : Représentation de la chitosane

La chitosane est déposée sur la surface des électrodes pour charger positivement la surface. Par la suite, les enzymes sont adsorbées par interaction électrostatique sur la surface (Figure 59). En effet, les enzymes sont pour la plupart chargées négativement à pH neutre. La chitosane reste toutefois perméable à la diffusion des produits de la réaction enzymatique ce, qui prend tout son intérêt dans la synthèse de ces biocapteurs, comme le souligne le livre « Chitosan for biomaterials II » [238].

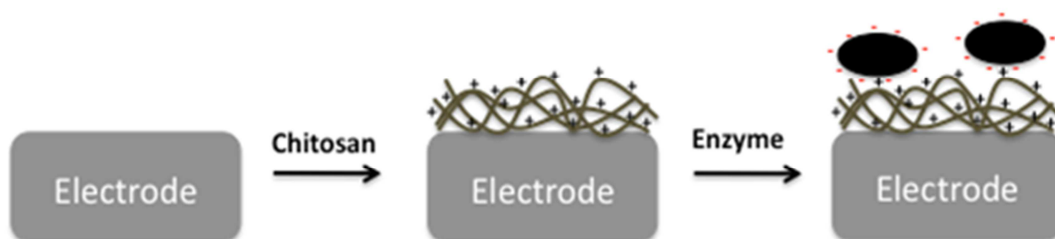


Figure 59 : Schéma de l'adsorption d'enzymes sur une couche de chitosane en surface d'une électrode

Dans le protocole que nous avons utilisé, l'immobilisation de l'enzyme AChE a tout d'abord été initiée par le dépôt d'une couche de chitosane en surface des électrodes carbonées à l'aide d'une solution de chitosane (0,5 % massique) dans de l'acide acétique à 2 M ajusté à un pH de 5 par de la soude. Ce mélange est déposé sous forme d'une goutte sur la surface de chaque électrode puis laissé à sécher à l'air (Figure 60).

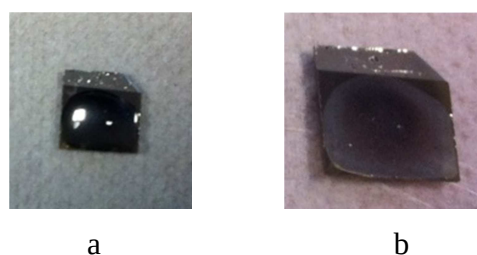


Figure 60 : Échantillon de résine pyrolysée avec une goutte de solution de chitosane déposée en surface avant (a) et après séchage (b)

Après plusieurs rinçages avec une solution de PBS 10X, une goutte d'une solution contenant 10 mg/mL d'acétylcholinestérase (500 Unités) est déposée de la même façon que précédemment et laissée à sécher à l'air libre. Une fois secs les échantillons sont conservés dans une solution de PBS 10X à 4 °C dans un congélateur.

2.4.3 Caractérisations

Les différentes électrodes carbonées (PPF, graphène et diamant) fonctionnalisées avec les deux méthodes d'immobilisation ont été testées dans la détection de l'acétylthiocholine. Cette étude a été réalisée dans une cellule électrochimique à trois électrodes, en utilisant les surfaces fonctionnalisées avec l'enzyme comme électrode de travail. Une solution de PBS 0,1M (pH=7,4) a été employée comme électrolyte pour la mesure et un potentiel de 0,85 V/AgCl/Ag a été imposé à l'électrode de travail. Ce potentiel légèrement supérieur au potentiel d'oxydation de la thiocholine (produit de la réaction enzymatique), permet de détecter la présence de l'acétylthiocholine dégradée par l'enzyme immobilisée à la surface de l'électrode. Une mesure chronoampérométrique qui consiste en un suivi du courant dans le temps est ensuite réalisée. Des ajouts de concentrations connues d'acétylthiocholine sont effectués à intervalles réguliers sous agitation homogène pendant la mesure chronoampérométrique. Ces injections successives de substrat acétylthiocholine pour un biocapteur électrochimique qui fonctionne correctement, entraînent l'évolution de la réponse en courant de l'électrode fonctionnalisée avec l'AChE. La courbe d'étalonnage classiquement obtenue pour des biocapteurs ampérométriques résulte du suivi de la réponse en courant en fonction de la concentration du substrat (Figure 61).

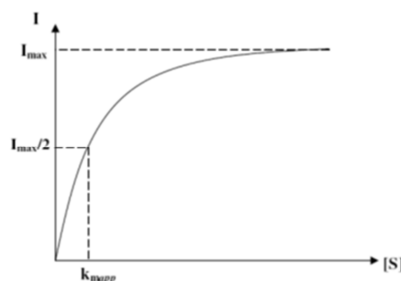


Figure 61 : Exemple d'une courbe d'étalonnage obtenue avec un biocapteur ampérométrique

Cette courbe d'étalonnage dépend de la vitesse de la réaction enzymatique qui est exprimée par l'équation de Michaelis Menten (Équation 16).

$$I = \frac{I_{max} \times [S]}{K_{Mapp} + [S]}$$

Équation 16 : Equation de Michaelis Menten

Avec I, le courant observé, I_{max} le courant maximal observé au cours de la réaction, [S] la concentration de substrat et K_{Mapp} la constante de Michaelis Menten apparent.

Cette courbe d'étalonnage permet de déterminer plusieurs paramètres cinétique de la réaction enzymatique tels que la constante apparente de la réaction K_{Mapp} , appelée également constante de Michaelis Menten apparente. Le K_{Mapp} a la dimension d'une concentration et s'exprime en molarité. Elle correspond à la concentration en substrat nécessaire pour atteindre une vitesse réactionnelle égale à la moitié de la vitesse maximale. Des valeurs basses de K_{Mapp} traduisent une bonne activité enzymatique. Etant donné que le courant mesuré dans le tracé de la courbe d'étalonnage est directement proportionnel à la vitesse de la réaction enzymatique, comme cela est décrit dans les travaux de Turdean et al. [10], v_{max} est remplacé par i_{max} pour la détermination du K_{Mapp} . Ainsi, le K_{Mapp} de l'enzyme immobilisée correspond à la concentration en substrat qui donne la moitié du courant maximal. Pour déterminer

avec plus de précision ces constantes cinétiques, la méthode de Lineweaver-Burk est souvent utilisée. Cette méthode, consiste à tracer l'inverse du courant en fonction de l'inverse de la concentration en substrat, ce qui donne une droite dont l'intersection avec l'axe des abscisses donne le K_{mapp} et l'intersection avec l'axe des ordonnées donne la vitesse initiale maximale de la réaction enzymatique (Équation 17).

$$\frac{1}{v} = \frac{K_M}{v_{max}[S]} + \frac{1}{v_{max}}$$

Équation 17 : Equation de Lineweaver-Burk

Le courant maximal de la courbe d'étalonnage correspond au courant de plateau et donne les concentrations les plus fortes en substrat que le biocapteur est capable de doser. A ces concentrations, les sites actifs des enzymes immobilisées sont saturés et la réaction enzymatique atteint sa vitesse maximale. La sensibilité du biocapteur est $\Delta I/\Delta[S]$ et correspond à la pente de la partie linéaire de la courbe d'étalonnage. Cette gamme en concentration pour laquelle la réponse est linéaire, détermine également le domaine de linéarité du biocapteur. Typiquement, la première dilution donnant une réponse trois fois plus intense que le bruit du biocapteur est considérée comme le seuil de détection.

Nous avons donc entrepris l'analyse de la réponse ampérométrique de nos biocapteurs. Dans un premier temps, nous avons étudié la réponse de nos électrodes carbonées fonctionnalisées avec la méthode covalente. Les ajouts d'acétylthiocholine n'ont donné aucune réponse ampérométrique pour ces différentes électrodes carbonées, PPF à différentes températures de recuit, graphène et diamant. De cette expérience, peuvent ressortir deux hypothèses : soit trop peu de groupements carboxyles sont présents à la surface de nos couches carbonées, ce qui n'a pas permis d'immobiliser suffisamment d'enzymes à la surface de nos électrodes, soit les

groupements carboxyles ne sont pas suffisamment accessibles pour réagir avec les fonctions amines des enzymes. De ces deux possibilités, seule la deuxième paraît cohérente, puisque l'observation par la méthode spectrophotométrique au TBO (voir annexe E) a révélé une densité surfacique de groupements carboxyles comprise entre 5 et $8,5 \cdot 10^{-9}$ moles. cm^{-2} , ce qui est cohérent avec ce qui est décrit dans la littérature [239].

L'étude de la réponse des électrodes carbonées fonctionnalisées par adsorption en utilisant la chitosane comme couche d'accroche, a montré quant à elle des résultats assez satisfaisants. En effet, les ajouts d'acétylthiocholine entraînaient l'apparition d'un courant anodique dont l'intensité augmentait de façon linéaire avec la concentration du substrat dans une certaine gamme en concentration puis atteignait un plateau pour les fortes concentrations en acétylthiocholine (En exemple la Figure 62).

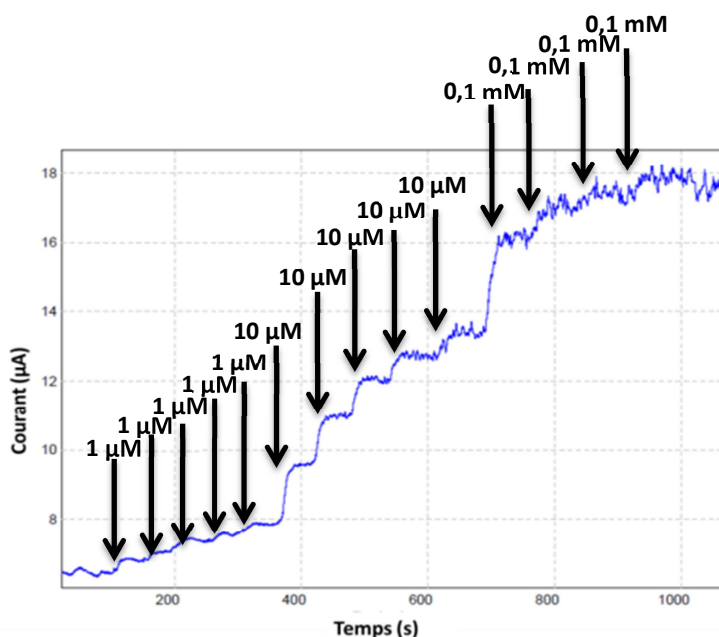


Figure 62 : Chronoampérométrie d'une électrode de diamant fonctionnalisée par de l'acétylcholinestérase sur chitosane dans une solution de PBS 10X avec ajouts d'acétylcholine. L'augmentation de concentration est indiquée.

De cette réponse il a été possible de tracer les courbes d'étalonnage (Figure 63) et les droites de Lineweaver-Burk (Figure 64) des biocapteurs à base des différents matériaux carbonés.

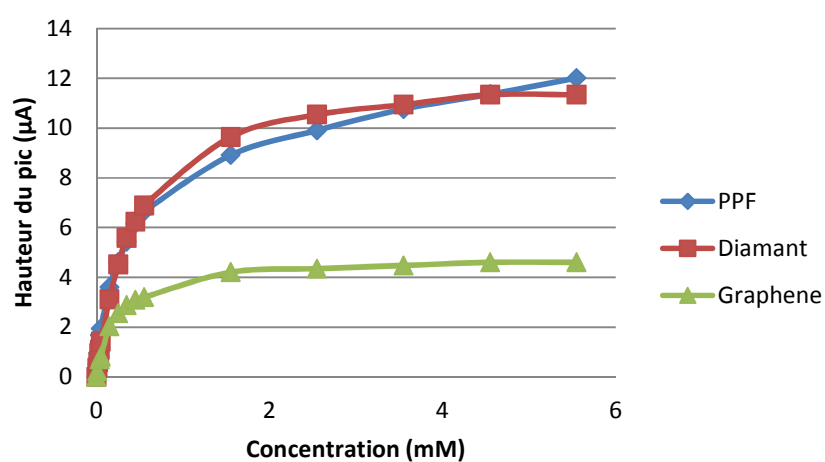


Figure 63 : Courbes de Michaelis Menten obtenues pour du diamant, du graphène et du PPF

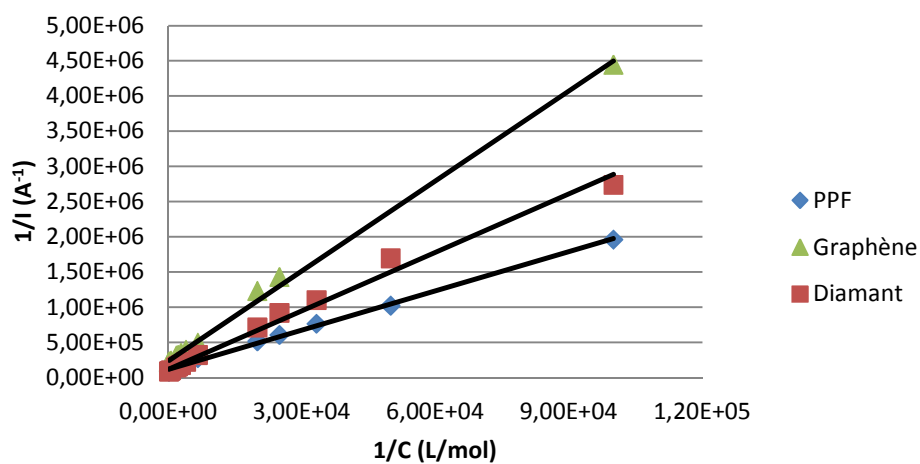


Figure 64 : Courbes de Lineweaver Burk issues de la Figure 63

Ce travail a été effectué sur les électrodes de diamant, de PPF recuit à 1650 °C et de graphène . Le tableau suivant regroupe les résultats obtenus :

	PPF	Graphène	Diamant
$i_{\max}$ (A)	$8,67\text{E-}06 \pm 2,25\text{E-}08$	$4,20\text{E-}06 \pm 4,15\text{E-}08$	$8,31\text{E-}06 \pm 2,08\text{E-}08$
K_M (mM)	$0,161 \pm 4,19 \text{ E-}04$	$0,179 \pm 17,6 \text{ E-}04$	$0,23 \pm 5,75 \text{ E-}04$
Seuil de détection (M)	$2,98 \text{ E-}05 \pm 7,76 \text{ E-}08$	$6,98 \text{ E-}06 \pm 6,98 \text{ E-}08$	$2,28 \text{ E-}05 \pm 5,70 \text{ E-}08$
Sensibilité ($\mu\text{A}/\text{mM}$)	$11,21 \pm 0,58$	$5,91 \pm 0,67$	$12,83 \pm 0,44$
Gamme de linéarité (M)	$2,98 \text{ E-}05 \text{ à } 0,55 \text{ E-}03$	$6,98 \text{ E-}06 \text{ à } 0,55 \text{ E-}03$	$2,28 \text{ E-}05 \text{ à } 0,45 \text{ E-}03$

Tableau 23 : Valeurs des vitesses maximum de réaction et des constantes de Michaelis Menten de l'acétylcholinestérase sur des électrodes de PPF, diamant et graphène recouvertes de chitosane

Il apparaît de ces résultats que les biocapteurs à base de PPF et de diamant permettent d'atteindre des valeurs de $I_{\max}$ plus grandes que celles obtenues avec le graphène. Ceci indique qu'il est possible de doser des concentrations plus fortes en substrat avec le PPF et le diamant qu'avec le graphène. Les K_M obtenues avec les trois matériaux sont dans la même gamme de valeurs. Ces résultats indiquent que l'enzyme immobilisée présente pratiquement la même activité sur les trois matériaux. Ceci n'est pas surprenant, étant donné que la même méthode d'immobilisation a été employée pour fixer les enzymes sur les surfaces des trois matériaux. Les travaux de Chen et al. décrivant un biocapteur à base de la même enzyme immobilisée sur un film de nanotubes de carbone et employant un médiateur redox ont montré une constante de Michaelis de 0,25 mM, ce qui est relativement proche de nos résultats [240]. Li et al. ont montré une constante de 0,77 mM pour la détection de l'acetylthiocholine sur électrode de graphène [82]. Dans cette étude, le graphène était fonctionnalisé et déposé en surface d'une électrode de carbone vitreux [82]. Dans notre étude, nous visons à obtenir une faible constante de Michaelis, puisqu'une

faible valeur est synonyme d'une activité enzymatique maximale atteinte avec de faibles concentrations de substrat. Cela indique que la fonctionnalisation permet une bonne disposition spatiale du site de détection de l'enzyme, ce qui est apparemment le cas avec la méthode d'immobilisation que nous avons choisie. En terme de sensibilité, le PPF et le diamant présentent des valeurs supérieures à celle du graphène. Nos résultats se trouvent relativement proches de la littérature où la sensibilité est environ autour de 10 $\mu\text{A}/\text{mM}$ [231]. Le seuil de détection observé sur nos trois matériaux est compris entre 7 à 30 μM . Les meilleures valeurs de seuil ont été obtenues avec le graphène. Ces valeurs correspondent bien aux seuils de détection décrits dans la littérature pour une détection par des électrodes non modifiées par des médiateurs. Par exemple, du graphène fonctionnalisé a permis l'obtention d'une limite de détection de 3 μM [241]. Kesik et al. ont pu obtenir une limite de 0,09 mM pour des nanotubes de carbone, et ils ont établi une gamme de linéarité de 0,05 mM à 8 mM [76]. Avec des médiateurs redox, les seuils de détection sont plus faibles. Par exemple, Song et al. ont obtenu une limite de détection de l'acétylthiocholine à 3 nM sur électrode de carbone vitreux modifiée. Du et al. ont travaillé sur des capteurs à nanotubes de carbone permettant d'obtenir un seuil de détection à 0,1 μM [231]. Ainsi, les limites de détection observées dépendent essentiellement de la modification de surface des électrodes, visant à faciliter la détection d'espèces à de faibles concentrations. Il serait sûrement possible d'améliorer les seuils de détection de nos biocapteurs en intégrant des médiateurs redox dans la couche de fonctionnalisation. En ce qui concerne, la gamme de linéarité obtenue avec nos trois matériaux, elle est limitée à une concentration maximale de 0,5 mM. Le graphène permet, toutefois, de descendre à une faible concentration minimale de 7 μM . A titre d'exemple, Kesik et al. ont établi pour des biocapteurs utilisant la même enzyme et à base de nanotubes de carbone une gamme de linéarité de 0,05 mM à 8 mM [76].

2.4.4 Conclusion sur les biocapteurs enzymatiques

L'élaboration de capteurs enzymatiques n'a pas pu être réalisée par une fonctionnalisation covalente. Cependant, l'immobilisation par adsorption a pu aboutir à l'obtention de biocapteurs dont l'activité enzymatique est très encourageante pour des applications analytiques. Ces matériaux montrant un comportement permettant la détection électrochimique, ils seront utilisés pour la microstructuration de matériaux carbonés et leur insertion dans un système microfluidique dans le chapitre IV.

2.5 Utilisation des couches de graphène pour l'élaboration de transistors

Le graphène synthétisé pour l'obtention de capteurs électrochimiques peut également être utilisé pour la formation de capteurs ISFET. Avant d'observer ce type de dispositif, ce matériau a été incorporé dans l'élaboration d'un transistor à effet de champ, afin d'observer son comportement. La méthode de synthèse de ce matériau à même un substrat de SiC offre la possibilité de le structurer et de l'inclure dans un dispositif microélectronique tel qu'un transistor. Il a été montré que la conduction de ce matériau peut s'avérer très intéressante en vue de l'utilisation de ce type de transistor à haute fréquence. C'est dans cette optique que nous avons développé, en partenariat avec l'institut des nanotechnologies de Lyon (INL), des transistors à canal de graphène (Annexe F).

Les transistors obtenus (Figure 65) sont fonctionnels et ont montré la possibilité de moduler le courant de drain par application d'une tension sur la grille de graphène (Figure 66).

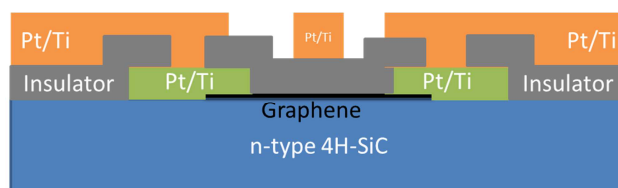


Figure 65 : Schéma du transistor

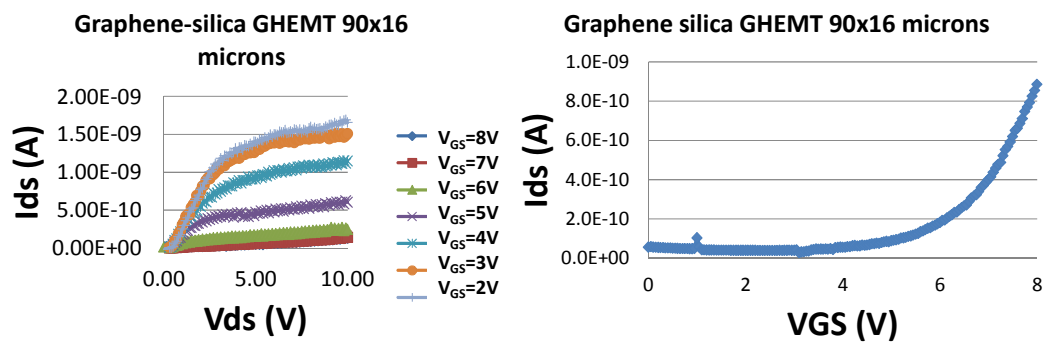


Figure 66 : Caractérisations d'un transistor de 90 μm de large et de 16 μm de long. A droite, le courant de drain en fonction de la tension de grille pour une tension drain-source de 5 V.

2.6 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons pu observer le développement et l'optimisation d'une couche de résine pyrolysée. Cette couche a donné de meilleurs résultats lorsque la température de recuit était la plus forte. Cette couche a fait l'objet d'un intérêt particulier pour son contact ohmique avec le carbure de silicium et sa possibilité d'être utilisé pour des étapes technologiques en microélectronique.

La synthèse du graphène a été effectuée par plusieurs méthodes et cela a permis de fournir un nouveau savoir-faire à la plateforme Nanolyon pour la mise en forme de graphène et son insertion dans des dispositifs, tels que des transistors où cette couche y formerait le canal [242]. Ses caractéristiques électroniques ont montré un comportement proche de la littérature et les observations Raman et XPS ont montré sa bonne qualité.

Le diamant déposé par CVD par le Dr. Tallaire du LSPM a montré des caractéristiques moins bonnes que celles observées dans la littérature en terme de domaine d'électroactivité et de capacité de double couche, cela pouvant être éventuellement dû à un état de surface ou un encrassement nécessitant un nettoyage. Néanmoins, sa faible résistivité et la possibilité de le structurer grâce à sa méthode de dépôt pourront être utiles pour une microstructuration et utilisation comme microbiocapteur.

Ces trois couches formées en surface d'échantillons de carbure de silicium ont offert des électrodes dont le comportement est cohérent vis-à-vis de celui rapporté dans la littérature comme l'a montré l'étude menée en première partie de ce chapitre.

L'utilisation de la chitosane pour fonctionnaliser ces électrodes par adsorption d'une enzyme en surface a permis l'obtention de biocapteurs fonctionnels dont la caractérisation a montré un comportement proche de celui qui est décrit dans la littérature.

Ces biocapteurs maintenant synthétisés et montrant des comportements cohérents et reproductibles, nous verrons dans le dernier chapitre comment les structurer pour obtenir ces différentes couches en surface d'un même substrat de carbure de silicium. Ces électrodes pourront alors être insérées dans un système microfluidique qui sera également décrit dans ce chapitre.

Le prochain chapitre traitera d'un autre type d'électrode carbonée composée d'un polymère isolant et de microfibres de carbone. Sa structure lui permettant d'obtenir des signaux caractéristiques, nous nous pencherons sur son élaboration, puis sa caractérisation physique et électrochimique. Ce matériau ne nécessitant pas de substrat en SiC. Il est adapté à une utilisation pour la biodétection et à une intégration dans des dispositifs microfluidique présentés dans le dernier chapitre.

CHAPITRE III

ELABORATION D'ELECTRODES A BASE DE MICROFIBRES DE CARBONE

3.1 Introduction

Les matériaux carbonés décrits dans le chapitre précédent sont des matériaux qui peuvent être finement structurés à des résolutions micrométriques grâce à nos protocoles de fabrication. La réduction des dimensions des électrodes à l'échelle micrométrique permet d'obtenir de plus grandes sensibilités, des courants résiduels et des pertes ohmiques moindres et donc un rapport signal sur bruit meilleur en comparaison avec des macroélectrodes équivalentes [9], [62], [243]. Nos électrodes en PPF, en graphène et en diamant peuvent être réalisées dans une large gamme de tailles et de formes et peuvent très bien s'adapter à des analyses ultrarapides pour de très faibles volumes d'échantillon dans des solutions résistives ou in vivo avec une très bonne résolution spatiale. Ces critères sont indispensables dans la mesure électrochimique de l'activité biologique de cellules uniques. Par exemple, plusieurs travaux décrivent l'utilisation de microélectrodes pour suivre l'activité des cellules nerveuses à partir de la concentration de neurotransmetteurs [9], [80].

Toutefois, les protocoles de fabrication des électrodes carbonées citées précédemment se basent sur des technologies issues de la photolithographie et des étapes de traitement thermique imposant l'utilisation d'un substrat en SiC qui peut résister aux températures élevées. Ces techniques qui nécessitent un environnement de salle blanche et des équipements lourds et onéreux ne sont pas accessibles à tous les laboratoires. Ainsi, pour les applications où la mesure électrochimique ne nécessite pas de localiser finement la zone d'analyse, il n'est pas forcément nécessaire d'avoir la sensibilité et les performances analytiques d'une microélectrode. Des électrodes millimétriques moins coûteuses et plus simples à fabriquer sont souvent décrites pour des analyses électrochimiques. Par exemple, la société Dropsens propose des dispositifs avec des électrodes de travail de 4 mm ou 1,6 mm (Figure 67) qui peuvent servir dans différentes applications. Il est même possible d'améliorer les performances électrochimiques d'électrodes millimétriques en utilisant des matériaux composites. Par exemple, les praticiens de la chromatographie en phase liquide avec détection électrochimique ont longtemps remarqué une amélioration du rapport signal sur bruit de l'électrodes de travail lorsqu'elle est constituée de particules de graphite immobilisées dans un liant inerte tel que le Kel-F (le Polychlorotrifluoroéthylène) [64], [243]–[245].



Figure 67 : Image d'un dispositif proposé par Dropsens (électrode de 4 mm de diamètre)

Avec ce type d'électrode le meilleur rapport signal sur bruit a été obtenu avec des électrodes contenant un pourcentage assez élevé de Kel-F où la surface active était bien inférieure à la surface géométrique des électrodes. Dans ces conditions la surface de l'électrode est constituée d'ilots conducteurs en carbone séparés par un espace d'isolant avec une configuration qui ressemble à celle d'un réseau de microélectrodes éparpillées de manière aléatoire sur la surface du matériau composite. Il a été montré que ces surfaces donnent un signal électrochimique peu sensible au flux ce qui réduit le bruit du signal [64].

Plus récemment, des électrodes en CPDMS constituées d'un mélange de particules de carbone et de polydiméthylsiloxane (PDMS) ont été intégrées dans des dispositifs microfluidiques pour faire de la détection électrochimique mais aussi pour appliquer des champs électriques [66], [69], [174], [188]–[190], [246]–[249]. Le PDMS est un polymère largement utilisé dans le domaine de la microfluidique. Ses qualités en tant que matériau biocompatible et la facilité avec laquelle il est possible de le modeler en font un matériau de choix pour l'élaboration de matériaux composites. Dans le cas de son utilisation comme électrode composite, il sert de diélectrique dans lequel les particules conductrices doivent percoler pour obtenir un matériau suffisamment conducteur pour être utilisé dans des mesures électrochimiques.

Les composites à base de PDMS s'adaptent donc à la réalisation d'électrodes biocompatibles, souples, simples à structurer et à intégrer dans des dispositifs microfluidiques. Toutefois, les quelques travaux décrivant l'utilisation d'électrodes composites en PDMS, les ont réalisées avec un maximum de taux dopage en carbone de manière à avoir la meilleure conductivité de matériau [174], [189]. Dans ces conditions, la densité de particules est trop importante pour avoir une répartition en microélectrodes des zones conductrices sur la surface. Par ailleurs, la forme sphérique des nanoparticules utilisées pour la préparation de ces matériaux composites imposait

des taux de dopage important pour arriver à la percolation de ces particules conductrices et obtenir une conductivité correcte pour l'analyse électrochimique.

Dans ce chapitre, nous traiterons de la réalisation de composites carbonés à base de PDMS et de fibres de carbone de 50 μm de long et de 200 nm de diamètre. Ce choix de forme allongée de particule de carbone a pour but d'atteindre la percolation pour des taux plus faibles de dopage et avoir ainsi un espacement suffisamment grand entre les zones conductrices pour s'approcher d'une organisation d'un réseau de microélectrodes. Différents taux de dopage ont été testés de manière à déterminer le plus faible taux de dopage permettant d'avoir une conductivité suffisante pour une mesure électrochimique correcte.

Nous décrirons brièvement dans une première partie les caractéristiques électrochimiques des matériaux composites. Nous présenterons par la suite la réalisation des électrodes en CPDMS à base de fibres de carbone. Nous décrirons enfin dans une dernière partie les propriétés physico-chimiques de ces électrodes étudiées par différentes méthodes de caractérisations physiques, optiques, électriques et électrochimiques.

3.2 Caractéristiques électriques et électrochimiques des électrodes composites

Les matériaux composites semblent offrir de multiples avantages dans le domaine de l'électrochimie, il faut cependant rester vigilant quant à leur qualité et leur fonctionnement inhérent à leur méthode de fabrication et de leur composition.

La concentration en matériaux conducteurs, ainsi que leur forme et taille sont des facteurs importants. On parlera de taux de dopage pour la concentration en espèces conductrices dans la matrice de diélectrique. On observe des transitions dans le comportement électrochimique d'une électrode composite pour différents taux de dopage, permettant de passer de l'état isolant à conducteur. Le passage de l'état isolant à l'état conducteur correspond au seuil de percolation. Le taux de dopage du seuil de percolation dépend de la nature du polymère utilisé ainsi que du matériau conducteur, ou encore de la température employée pour la réticulation. L'article de Carmona et al. donne des indications sur les méthodes de synthèse de ces matériaux, ainsi que les caractéristiques découlant de ces procédés [250]. Au-dessus du seuil de percolation, les taux de dopage permettent une utilisation du matériau composite dans l'étude des phénomènes électrochimiques.

Il est courant aujourd'hui d'utiliser ce type d'électrode en sortie de chromatographie phase liquide ou encore sous flux dans des lab-on-chip, puisque leur qualité de réseau de microélectrodes confère à leur signal électrochimique une certaine indépendance du flux [64], [65], [243], [244], [251]–[255]. Cette relative indépendance au flux est fonction de la densité des zones conductrices présentes en surface, de leur forme et ainsi que de leur espacement.

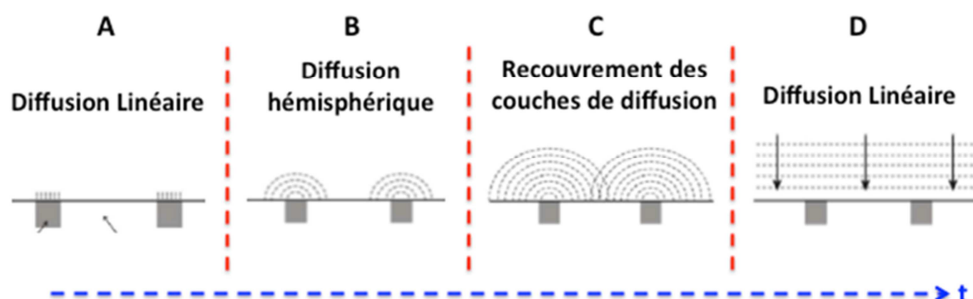


Figure 68 : Évolution des profils des couches de diffusion au cours du temps (figure inspirée des travaux de Davies et al. [256])

L'explication de ce phénomène se base sur la modification de la forme de la couche de diffusion en surface de ces électrodes. Pour une électrode macroscopique, une diffusion linéaire est établie sur le long terme, permettant d'obtenir des résultats observés classiquement en électrochimie (pics d'oxydation ou de réduction en voltammétrie cyclique, dépendance du courant faradique au flux...). Dans le cas d'un réseau de microélectrodes, ou d'un matériau composite avec des zones conductrices espacées, une diffusion radiale des espèces détectées se forme en surface de celles-ci, modifiant largement le comportement de la diffusion en surface. Pour obtenir la meilleure réponse électrochimique, l'écartement entre les zones conductrices doit être suffisamment large par rapport à l'épaisseur de la couche de diffusion. En effet, en imposant un potentiel à une électrode la couche de diffusion croît au cours du temps. Sur une électrode composite la croissance des couches de diffusion hémisphériques au niveau des zones conductrices entraîne un recouvrement avec les couches voisines (Figure 68). Si la distance qui sépare les zones conductrices n'est pas suffisante, ce recouvrement induit une couche de diffusion plane, comparable à une macroélectrode (Figure 68).

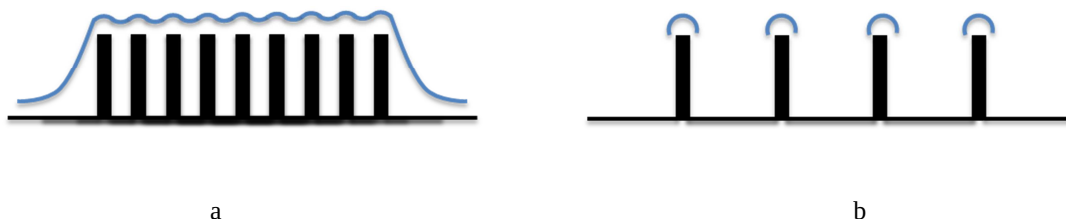


Figure 69 : Représentation de microfibres de carbone en surface, proches (a) et éloignées (b) et l'influence sur la couche de diffusion en régime établi

Sur la Figure 69 (a), on observe une représentation schématique d'un système de microélectrodes proches, correspondant à une surface dense en microfibres de carbone. La diffusion dans ce cas sera assimilée à une diffusion linéaire et le comportement de l'électrode sera le même que celui d'une électrode dont la surface conductrice est ininterrompue. Dans le cas (b), l'espacement entre les fibres permettrait l'obtention d'une diffusion radiale et c'est cette dernière configuration que nous visons dans ce travail d'élaboration de ce matériau composite.

Dans de précédents travaux réalisés au laboratoire Ampère, Matthieu Brun a formé des électrodes de C-PDMS (Conducting PDMS) à base de noir de carbone comme matériau conducteur [69]. La dimension nanométrique de particules de noir de carbone et leur forme sphérique imposait l'utilisation d'un fort taux de dopage pour atteindre le seuil de percolation et obtenir un matériau suffisamment conducteur pour des mesures électrochimiques. La dimension nanométrique des particules de noir de carbone rend également ce matériau difficile à manipuler et impose pour leur utilisation le respect de consignes de sécurité assez contraignantes. Outre la réduction du taux de dopage pour atteindre le seuil de percolation, la longueur micrométrique des fibres de carbone est sensée réduire l'effet pulvérulent des particules et les risques de diffusion dans l'organisme.

3.3 Synthèse d'électrodes composites à base de PDMS et de fibres de carbone

Le PDMS utilisé pour la préparation des électrodes a été acheté chez Down Corning dont la référence est Sylgard 184. C'est un kit contenant du PDMS non réticulé et sa bouteille de réticulant. Un mélange en masse de PDMS et d'agent réticulant avec un rapport massique de 10 :1 permet l'obtention, après recuit à 80°C pendant une heure, d'un PDMS rigide. Dans notre cas lorsque le réticulant est ajouté dans le PDMS, un pourcentage massique de microfibres de carbone (de chez Sigma Aldrich) est ajouté au mélange en fonction du taux de dopage souhaité. La pâte noire et visqueuse qui résulte de cette mixture est étalée sur une surface plane à l'aide d'une spatule et étalées avec une épaisseur contrôlée grâce à un dépôt de résine sur les bords du support et à une raclette (Figure 70). Lorsque le recuit est effectué, les échantillons sont découpés à l'emporte-pièce dans la couche de CPDMS.



Figure 70 : Couche de CPDMS et emporte-pièce

Plusieurs échantillons de CPDMS ont été formés à des pourcentages massiques de 2 %, 4 %, 6 % et 8 % (carbone/PDMS). Au-dessus de 8 %, le volume de fibre de carbone ajouté est si important que le mélange n'est plus homogène, mais comporte des amas de fibres qui ne sont plus liés entre eux.

3.4 Caractérisations électriques

Pour étudier la résistivité de ce matériau, des mesures quatre pointes ont été effectuées sur des électrodes de 80 μ m d'épaisseur. Les coefficients de corrélation des droites $I=f(V)$ effectuées sont très bons et les résistances carrées et résistivités sont obtenues à partir de la Figure 71 et sont présentées sur le Tableau 24. La méthode employée pour obtenir ces résultats est la même que celle utilisée dans le chapitre précédent pour le PPF, le graphène et le diamant.

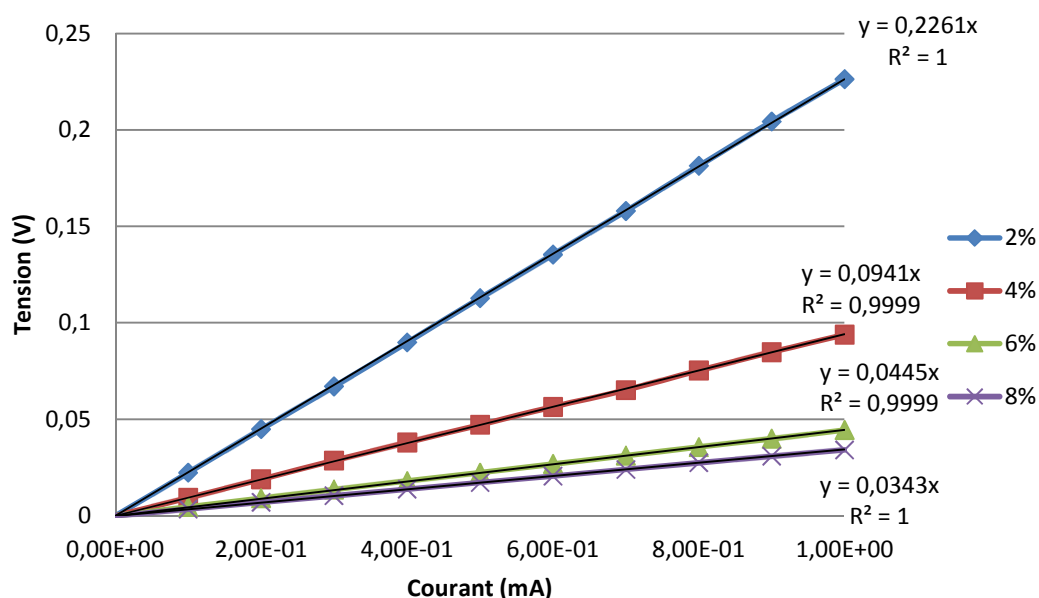


Figure 71 : Courbes de tension en fonction du courant pour une série d'électrodes de CPDMS à différents dopages

Pourcentage massique de carbone	$R_{\square}$ ($\Omega \cdot \square^{-1}$)	Ecart type ($\Omega \cdot \square^{-1}$)	Résistivité ($\Omega \cdot m$)	Ecart type ($\Omega \cdot m$)
2%	1024,95	219,45	8,20E-02	1,76E-02
4%	426,30	43,82	3,41E-02	3,51E-03
6%	201,88	2,93	1,62E-02	2,34E-04
8%	155,42	19,16	1,24E-02	1,53E-03
25% noir de carbone (Thèse M. Brun)	-	-	10E-02	-

Tableau 24 : Résistance carrée et résistivité des couches de CPDMS en fonction de la densité de fibre de carbone

A partir de ces résultats, nous observons que plus la concentration en fibres de carbone est importante, plus la résistivité diminue. Comparés aux travaux de Heiser et al. [257], où ils ont étudié les propriétés d'un composite à base de Nylon et de fibre de carbone de 3 mm de long et de 7 μm de diamètre pour des applications d'interférences électromagnétiques, la résistivité observée pour nos échantillons est plus faible de 8 ordres de grandeur à pourcentage massique. Comparativement à un échantillon de CPDMS au noir de carbone, pour un taux de dopage très inférieur (8% de fibre de carbone contre 25% de noir de carbone), la résistivité de notre matériau est dix fois plus faible que celle observée avec le noir de carbone. Ces résultats indiquent que la percolation et le contact interparticules est bien plus efficace avec les dimensions et la forme allongée des fibres de carbone que nous avons choisies qu'avec la forme sphérique des nanoparticules de noir de carbone. On peut d'ores et déjà considérer que les électrodes formées à partir des fibres de carbone suscitent un intérêt, ne serait-ce que pour ses meilleures caractéristiques électriques.

3.5 État de surface

La surface des électrodes préparées dépend du taux de dopage en fibres de carbones. En apparence, les électrodes sont toutes noires allant de surfaces brillantes à mate plus la densité de fibres est importante (Figure 72).

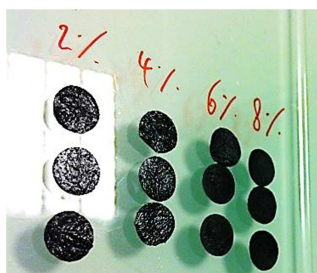


Figure 72 : Photographie de la série d'électrodes de CPDMS

Pour mieux comprendre les caractéristiques électrochimiques de ces matériaux, nous avons caractérisé les surfaces de ces électrodes à différents taux de dopage par microscope électronique à balayage (MEB) (Figure 73). Les images obtenues indiquent que la distribution des fibres à la surface est globalement homogène quel que soit le taux de dopage. Par ailleurs on observe que plus le taux de dopage est important, plus les fibres sont visibles à la surface. Ces images sont très semblables à celles observées par Al-Saleh et al. pour des fibres de carbone emprisonnées dans du polypropylène [258].

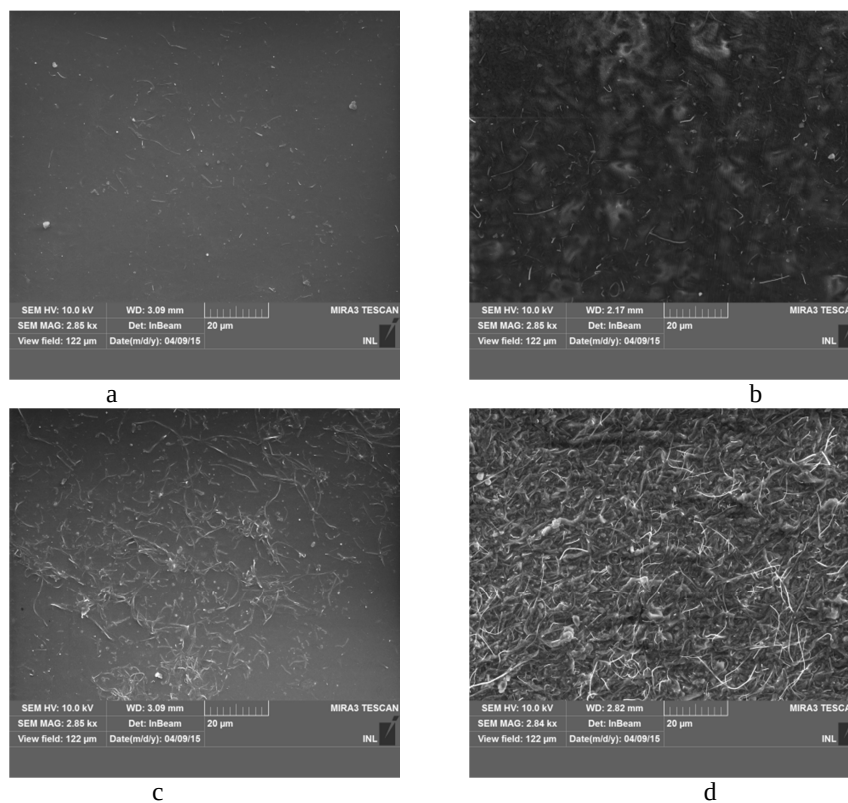


Figure 73 : Photographies MEB de surfaces d'électrodes de CPDMS dont le taux de carbone est de 2 % (a), 4 % (b), 6 % (c) et 8 % (d)

En observant ces fibres d'un peu plus près (Figure 74), on constate qu'à leur sortie de la matrice en PDMS leur diamètre est plus élevé que prévu (200 nm indiqué par le fournisseur). Ces fibres sont en fait enrobées de PDMS, ce qui doit les passiver ou réduire leur conduction. Cependant on remarque qu'à leur extrémité, le diamètre est plus faible, et correspond pratiquement à la valeur indiquée par le fournisseur, ce qui veut probablement dire qu'elles sont dénudées et donc conductrices.

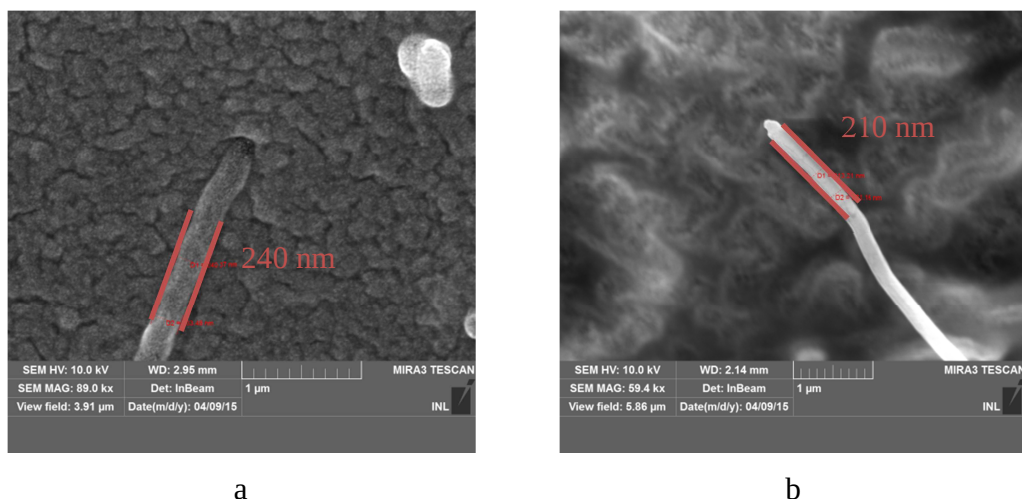


Figure 74: Photographie au microscope électronique des microfibres sortant de la matrice de PDMS à leur sortie (a) et à l'extrémité de la fibre (b)

Cette observation révèle que l'organisation des parties conductrices au sein de la matrice isolante donne lieu à un réseau de microélectrodes avec un espacement dépendant du taux de dopage.

3.6 Caractérisations électrochimiques

Afin de déterminer le meilleur taux de dopage pour utiliser le composite carboné pour une application électrochimique, nous avons procédé à la caractérisation électrochimique de ce matériau de la même façon que pour les électrodes carbonées décrites dans le chapitre précédent. Nous avons toutefois, utilisé une méthode électrochimique supplémentaire, la voltammétrie linéaire avec des électrodes tournantes, afin d'observer la dépendance de la réponse électrochimique au flux. Dans ces mesures électrochimiques, le contact pour récupérer le signal de ces électrodes est fait en face arrière du CPDMS. L'échantillon est inséré dans un porte échantillon qui peut se visser sur un support tournant pour réaliser les mesures à différentes vitesses de rotation en voltammétrie linéaire (Figure 75). Le porte

échantillon permet également de contrôler la surface de contact avec l'électrolyte. Cette surface est de forme circulaire de 6 mm de diamètre, ainsi la surface totale en contact avec l'électrolyte pour les différents échantillons étudiés est de 0.2827 cm².

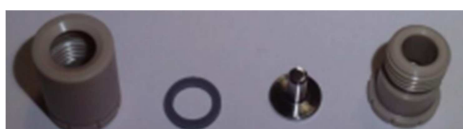


Figure 75 : Capsule avec son joint et le contact métallique⁶

3.6.1 Domaine d'électroactivité et capacité d'interface

Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, la première étape de caractérisation consiste à déterminer le domaine d'électroactivité des matériaux et leur capacité de double couche. Comme pour les matériaux carbonés du chapitre précédent, cette caractérisation a été faite dans une solution de PBS 10X par voltammétrie cyclique (Figure 76).

⁶ <http://www.origalys.com/>

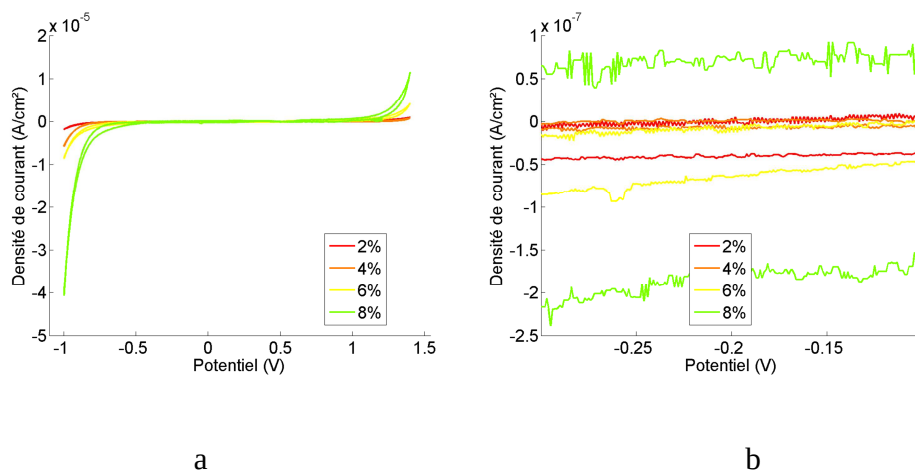


Figure 76 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS dans une solution de PBS 10X à 100mV/s (a) et zoom sur les courants capacitifs (b)

En premier lieu, il est intéressant d'observer une diminution de la taille du domaine d'électroactivité de ces électrodes, due à la modification de la surface active du CPDMS. De ces courbes nous pouvons également observer l'augmentation de l'effet capacitif, i.e. du courant capacitif dans le Tableau 25.

	Domaine d'électroactivité	Capacité ($\mu\text{F.cm}^{-2}$)	Ecart type ($\mu\text{F.cm}^{-2}$)
2%	-0,98 V à 1,33 V	10,360	6,0343
4%	-0,84 V à 1,32 V	25,733	17,1644
6%	-0,82 V à 1,17 V	52,367	20,380
8%	-0,77 V à 1,08 V	159,63	21,086

Tableau 25 : Capacité des électrodes de CPDMS en fonction de la densité de fibre de carbone dans la matrice

Le domaine d'électroactivité semble rétrécir en augmentant le taux de dopage du matériau. Cette évolution témoigne de la modification de l'état de surface des électrodes, en terme de charges et de nature des matériaux présents. Comparées aux

électrodes de PPF (-1,6 V à 1,39 V), graphène (-1,4 V à 1,35 V) et diamant (-1 V à 1,37 V), ces électrodes présentent un domaine d'électroactivité plus faible, réduisant la fenêtre de potentiel permettant de détecter des espèces électroactives en solution.

La capacité de la double couche augmente fortement avec le taux de dopage. Cette augmentation de la valeur de capacité est sûrement due à l'augmentation de la surface active avec le taux de dopage. En effet, une plus grande surface active implique un courant capacitif plus important, et cela est souligné par Garcia et al. [179]. Dans cette étude axée sur des matériaux composites de graphite et d'araldite ou de silice, les résultats de capacité de la double couche sont comparables aux nôtres avec des valeurs allant de 20 à 60 $\mu\text{F}/\text{cm}^2$. Les valeurs de capacité obtenues sont toutefois inférieurs à celles observées avec le PPF, le diamant et le graphène.

3.6.2 Étude de la réactivité électrochimique des électrodes composites

Les trois sondes redox (le couple ferrocyanure, l'hexamine de ruthénium et le catéchol) ont été utilisées pour évaluer la réactivité électrochimique de nos électrodes composites, comme dans le chapitre précédent. Toutes ces sondes ont été étudiées à une concentration de 1mM dans du PBS 0,1M (pH=7,4).

Une caractérisation par voltampérométrie cyclique en présence de ces différentes sondes redox a été menée afin de déterminer la surface active de nos matériaux et leur réponse sans flux. Une caractérisation par voltampérométrie linéaire a également été réalisée afin d'évaluer la dépendance de leur réponse au flux.

3.6.2.a Surface active

La surface de ces électrodes est composée majoritairement de polymère isolant, et d'ilots conducteurs qui pourraient être assimilés à un réseau de microélectrodes. La surface active est déterminée comme dans le chapitre précédent par l'équation de

Randles-Sevcik, pour 12 électrodes de CPDMS (3 électrodes pour chaque taux de dopage de carbone dans le PDMS). Ces résultats ont été obtenus et moyennés sur des voltammétries cycliques dans des solutions d'hexamine de ruthénium, de catéchol et de ferricyanure (Tableau 26).

Concentration de carbone dans le PDMS	Surface active (cm ²)	Ecart type (cm ²)	Surface active/Surface app
2%	3,683E-03	1,320E-03	1,30%
4%	6,520E-03	4,172E-03	2,31%
6%	9,747E-03	2,682E-03	3,45%
8%	2,383E-02	9,245E-03	8,43%

Tableau 26 : Surfaces actives de CPDMS en fonction de la concentration de carbone dans le PDMS.

On observe une surface active qui augmente avec le taux de dopage. Néanmoins, pour un taux de dopage de 8 %, la surface active correspond à seulement 8,43 % de la surface apparente.

3.6.2.b Allure et comportement des voltamogrammes sans flux

Nous avons étudié la réponse électrochimique par voltammétrie cyclique des trois sondes redox sur la surface des électrodes de CPDMS en fonction du taux de dopage en fibre de carbone.

Le voltamogramme de la Figure 77 A présente un pic en oxydation et en réduction lorsqu'il s'agit de macroélectrodes. En effet, avec des macroélectrodes, la diffusion est linéaire et la couche de diffusion s'étend avec le temps. La concentration des molécules redox à la surface de l'électrode devient de plus en plus faible. L'intensité diminue après avoir atteint un maximum ce qui se traduit par l'apparition d'un pic. Avec des microélectrodes, la diffusion est hémisphérique et un régime stationnaire ou

quasi-stationnaire s'établit assez rapidement (Figure 77 B). Ceci assure un flux continu de molécules redox et génère un palier de courant ou un courant limite sans diminution au lieu d'un pic.

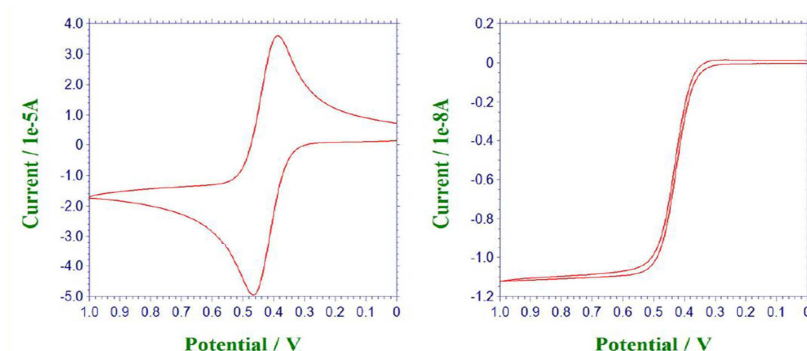


Figure 77 : Voltammétrie cyclique du ferrocène à 0.6mM dans de l'acétonitrile et 0.1M tetrabutylammonium hexafluorophosphate pour une électrode de carbone vitreux de 3 mm de diamètre (à gauche) et une électrode de carbone vitreux de 10μm de diamètre (à droite). Issu de Analytical Electrochemistry: The Basic Concepts⁷

Les courbes de voltammétrie cyclique obtenues avec nos électrodes composites à différents dopages montrent des courbes avec des courants limites pour des taux de dopages massique allant de 2 à 6% (Figure 78). Avec un taux de dopage de 8%, la densité de courant diminue après un maximum donnant plus une allure de pic indiquant qu'une diffusion linéaire commence à prendre le dessus. On observe un courant de pic et un courant limite plus faible à taux de dopage équivalent pour la détection de l'hexamine de ruthénium par rapport au ferrocyanure. Cette différence peut provenir d'un état de surface favorisant les réactions d'oxydoréduction du ferrocyanure. Cependant les ΔE observés montrent que la cinétique de ces réactions est plus favorable pour l'hexamine de ruthénium (ΔE plus faible). L'écart en intensité reste tout de même acceptable entre ces deux sondes électrochimiques et on considèrera que l'observation prépondérante reste la différence de potentiel observée

⁷ http://www.asdlib.org/onlineArticles/ecourseware/Kelly_Potentiometry/EC_CONCEPTS1.HTM

entre les pics d'oxydation et de réduction. Ainsi on peut supposer que la surface du CPDMS est majoritairement chargée négativement et favorise la détection d'espèces chargées positivement.

Ces résultats montrent qu'à ce taux de dopage, l'espacement entre les zones conductrices n'est pas suffisant pour conserver une diffusion hémisphérique. On en conclura que pour des concentrations à 8% et plus, l'électrode de CPDMS se comporte comme une électrode macroscopique de microfibres de carbone. Toutefois, on observe une forte diminution de l'intensité des pics redox en diminuant le taux de dopage. Ceci est dû à une réduction du pourcentage de la surface active par rapport à une même surface géométrique utilisée pour les différents taux de dopage.

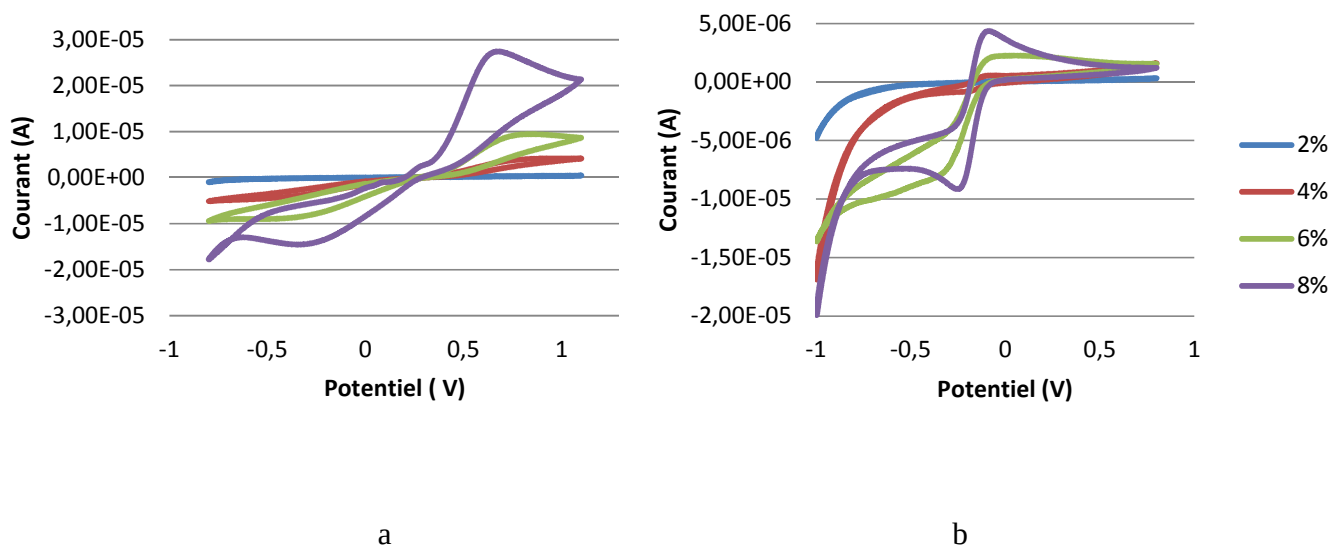


Figure 78 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS à plusieurs concentrations de fibre de carbone dans une solution de ferricyanure et ferrocyanure (a) et hexamine de ruthénium (b) à 1 mM dans du PBS 10X à 100 mV/s

Le Tableau 27 rend compte de la réversibilité observée pour ces électrodes de CPDMS en fonction du taux de dopage en fibre de carbone. Le catéchol, doté d'une cinétique électrochimique complexe à deux électrons, son oxydation ou réduction n'ont pas été observable avec les électrodes utilisées. Les surtensions nécessaires à la réalisation de cette réaction d'oxydoréduction se trouvent vraisemblablement en dehors de la zone d'électroactivité de ces électrodes. Hormis l'augmentation de l'intensité des pics, correspondant à l'augmentation de la surface active, ces électrodes ne montrent pas une importante évolution au niveau de la réversibilité pour l'hexamine de ruthénium. En revanche, le ferricyanure montre une diminution de la différence de potentiel entre le pic d'oxydation et de réduction, ce qui montre une amélioration de la réversibilité de la réaction électrochimique en augmentant le taux de dopage. Toutefois, les valeurs de ΔE_p pour les deux sondes sont bien supérieures à celles observées avec le PPF, le graphène et le diamant. Ceci indique une moins bonne cinétique rédox sur ce matériau composite que sur les trois autres matériaux carbonés.

Electrode	ΔE dans du ferricyanure	ΔE dans de l'hexamine de ruthénium
CPDMS 2 %	Non observé à 0,95 V	-0,2 à -0,1 V
CPDMS 4 %	-0,55 à 0,90 V	-0,2 à 0,1 V
CPDMS 6 %	-0,44 à 0,83 V	-0,4 à 0,1 V
CPDMS 8 %	-0,34 à 0,67 V	-0,2 à 0,1 V

Tableau 27 : Observation de la réversibilité

3.6.2.c Allure et comportement des voltamogrammes en présence de flux

Pour s'affranchir des effets du flux ou de la convection sur les mesures électrochimiques, Amatore et al. ont montré que la taille des microélectrodes devait vérifier l'équation suivante [259]:

$$d/\delta_{\text{conv}} < 0,2$$

Équation 18 : Rapport du diamètre d'une électrode sur l'épaisseur de la couche de diffusion

Où d est le diamètre de la microélectrode et δ_{conv} est l'épaisseur de la couche de convection.

Pour des conditions expérimentales classiques l'épaisseur de la couche de convection ne dépasse pas les 250 μm . Selon l'Équation 18, une microélectrode de taille inférieure à 50 μm devrait être peut sensible à la convection. Les dimensions de nos fibres de carbones sont comprises entre 200 nm (diamètre) et 50 μm (longueur). Ces dimensions sont dans la gamme de validité de l'Équation 18. L'espacement entre les microélectrodes est un autre facteur qui détermine la sensibilité de la réponse électrochimique à la convection. Dans le cas de nos matériaux composites, cet espacement dépend du taux de dopage. Pour vérifier la sensibilité de la réponse de

nos électrodes composites au flux en fonction du taux de dopage, nous avons procédé à la caractérisation de nos électrodes par voltampérométrie linéaire au moyen d'électrode tournante à différentes vitesses de rotation.

Le dispositif utilisé pour prendre le contact électrique de l'électrode et l'isoler de la solution en face arrière est une partie d'un appareillage destiné à l'utilisation en électrode tournante (Origatrod) fourni par Originalys (Figure 75 et Figure 79).



Figure 79 : Origatrod avec la capsule vissée à son embout⁸

De cette manière il est possible de travailler en régime permanent (à contrario du régime transitoire observé jusqu'à maintenant), avec une convection forcée, due à la rotation de l'électrode.

Dans cette situation, le courant observé pour une réaction redox à un potentiel donné sera dépendant de la vitesse de rotation de l'électrode. Ce courant sera dépendant du flux des espèces arrivant à la surface et sera donc constant pour une vitesse de rotation donnée. Le courant obtenu est également un courant constant et est appelé courant limite.

⁸ <http://www.originalys.com/>

Ce courant limite est exprimé par l'équation de Levich (Équation 19):

$$i_L = 0.62nFAD^{2/3} \nu^{-1/6} C \omega^{1/2}$$

Équation 19 : Expression du courant limite

Avec i_L le courant limite (A), n le nombre d'électrons échangés, F la constante de Faraday (C/mol), A la surface active de l'électrode (cm^2), D le coefficient de diffusion de la sonde en solution (cm^2/s), ν la viscosité de la solution (cm^2/s), C la concentration de la sonde (mol/cm^3), ω la vitesse de rotation de l'électrode (rad/s).

Les vitesses de rotation des électrodes utilisées permettront d'obtenir des flux connus, avec un nombre de Reynolds qui peut être calculé en utilisant l'Équation 20:

$$Re = \frac{r^2 \cdot \Omega}{\nu}$$

Équation 20 : Calcul du nombre de Reynolds pour une électrode tournante dans une solution

Où Re est le nombre de Reynolds, r le rayon de l'électrode (m^2), ν la viscosité cinématique du fluide (m^2/s) et Ω la vitesse de rotation angulaire de l'électrode (rad/s).

Les vitesses de rotation que nous avons utilisées varient entre 100 et 1000 tours par minute. Les nombres de Reynolds correspondant aux vitesses de rotation que nous avons employées sont indiqués sur le Tableau 28.

Tours par minute	Nombre de Reynolds
100	94,25
200	188,50
300	282,74
400	376,99
500	471,24
600	565,49
700	659,73
800	753,98
900	848,23
1000	942,48

Tableau 28 : Vitesses de rotation et nombre de Reynolds pour les électrodes tournantes

Pour ce tableau, les calculs ont été effectués pour une viscosité proche de celle de l'eau et un rayon de 3 mm pour l'électrode. De 0 à 2000 le régime est laminaire, puis transitoire et enfin turbulent. Les vitesses utilisées offrent donc un flux laminaire entre 100 et 1000 tours par minute.

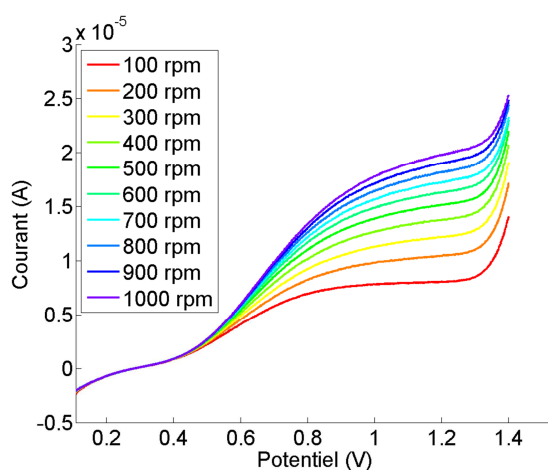


Figure 80 : Voltammétrie linéaire d'une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 1X contenant 1 mM de Ferricyanure à différentes vitesses de rotation

L'observation de la réponse électrochimique de ces électrodes en voltammétrie linéaire (Figure 80) montre entre 0,2 V et 0,4V, que le courant est indépendant de la vitesse d'agitation de la solution et le transfert de charge est alors l'étape limitante pour la vitesse de la réaction électrochimique. Au-dessus de cette surtension, l'établissement d'un plateau de courant limite augmente pour des potentiels plus élevés avec la vitesse de rotation.

Cela est dû à la modification de l'épaisseur de la couche de diffusion :

$$i_{lim} = \frac{nFADC}{\delta}$$

Équation 21: Courant limite en fonction de l'épaisseur de la couche de diffusion

Avec n le nombre d'électrons échangés, F la constante de Faraday, A la surface active de l'électrode, D le coefficient de diffusion de l'espèce concernée, C la concentration de la sonde électroactive, δ l'épaisseur de la couche de diffusion.

Grace à l'équation de Levich il est possible d'observer la variation de la diffusion à la surface de ces électrodes en traçant $I_L = f(\omega^{1/2})$ (Figure 81). L'obtention d'une droite permet de s'assurer du contrôle purement diffusionnel en surface de l'électrode.

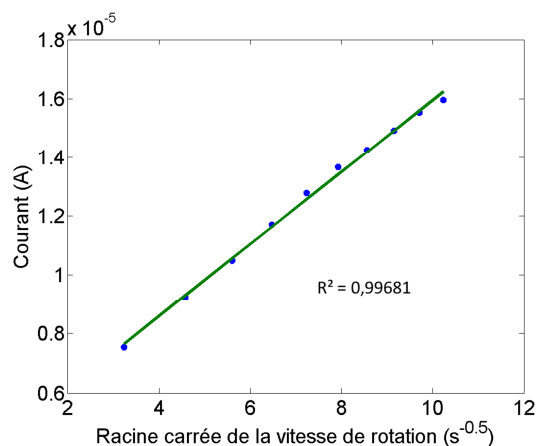


Figure 81 : Courbe de Levich pour une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 1X contenant 1 mM de Ferricyanure

Pour comparer la dépendance du flux des électrodes dont la surface active est multiplié par 10 entre 2 % et 8 %, il est nécessaire de normaliser les valeurs de courant. Pour cela, et de la même manière que dans la publication de Kusiak et al. [253], un ratio de courant est établi par division du courant à chaque vitesse de rotation sur celui observé à la vitesse de rotation la plus faible qui est de 100 tours/min (I_{100}). La Figure 82 montre ainsi les courbes obtenues par cette méthode et le Tableau 29 reprend les pentes et ordonnées à l'origine des droites obtenues. Plus la réponse électrochimique d'une électrode est dépendante au transport de matière plus la pente de la droite est importante. De cela on observe une diminution de la pente avec la diminution du taux de dopage en carbone, montrant une diminution de la dépendance au flux du signal électrochimique [253].

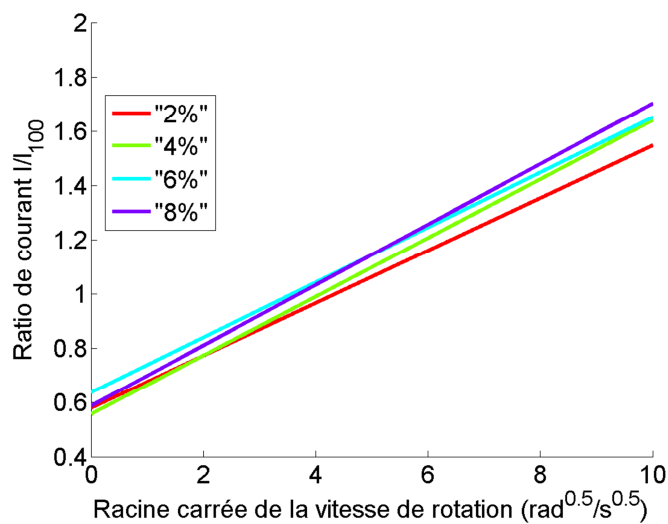


Figure 82 : Courbes de Levich pour des électrodes de CPDMS (2 à 8%) dans une solution à 1 mM de Ferri-ferrocyanure comparées à du carbone vitreux

Electrode	Pente ($\text{cm}^{-2} \cdot \text{s}^{-0,5}$)	Ordonnée à l'origine	Coefficient de corrélation
2 %	9,67E-02	5,80E-01	0,9676
4 %	1,08E-01	5,58E-01	0,9591
6 %	1,01E-01	6,38E-01	0,9534
8 %	1,11E-01	5,88E-01	0,9609

Tableau 29 : Paramètres des courbes de Levich de la Figure 82

Une autre méthode permettant d'observer le comportement électrochimique d'une électrode en solution, est d'observer l'inverse du courant à un potentiel donné en fonction de l'inverse de la vitesse de rotation.

Cela correspond à la méthode de Koutecky Levich dont la partie linéaire s'exprime suivant l'Équation 22 :

$$\frac{1}{i_{lim}} = \frac{1}{i_k} + \left(\frac{1}{0.620nFAD^{2/3}\nu^{-1/6}C} \right) \omega^{-1/2}$$

Équation 22 : Relation de Koutecky Levich

Avec i le courant, ω la vitesse angulaire, i_k le courant cinétique, n le nombre d'électrons échangés, F la constante de Faraday, A l'aire de l'électrode, D la diffusion de l'espèce électroactive, ν la viscosité cinématique de la solution et C la concentration de l'espèce électroactive.

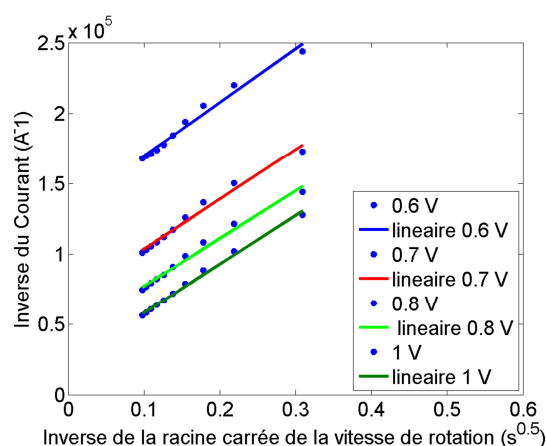


Figure 83 : Courbes de Koutecky-Levich pour une électrode à 4% CPDMS dans une solution de PBS 10X contenant 1 mM de Ferricyanure

On observe des droites relativement parallèles, en notant cependant une baisse de la pente entre 0,6 V et 0,7 (Figure 83). Dans le Tableau 30 on voit la diminution de l'ordonnée à l'origine, qui n'est pas nulle pour le courant limite, ce qui implique une cinétique lente.

Tension (V)	Pente (A ⁻¹ .s ^{0,5})	Ordonnée à l'origine (A ⁻¹)	Coefficient de corrélation
0,6	3,80E+05	1,31E+05	0,9864
0,7	3,54E+05	6,80E+04	0,9984
0,8	3,38E+05	4,37E+04	0,9992
1	3,40E+05	2,40E+04	0,9989

Tableau 30 : Paramètres des droites obtenues dans la Figure 83

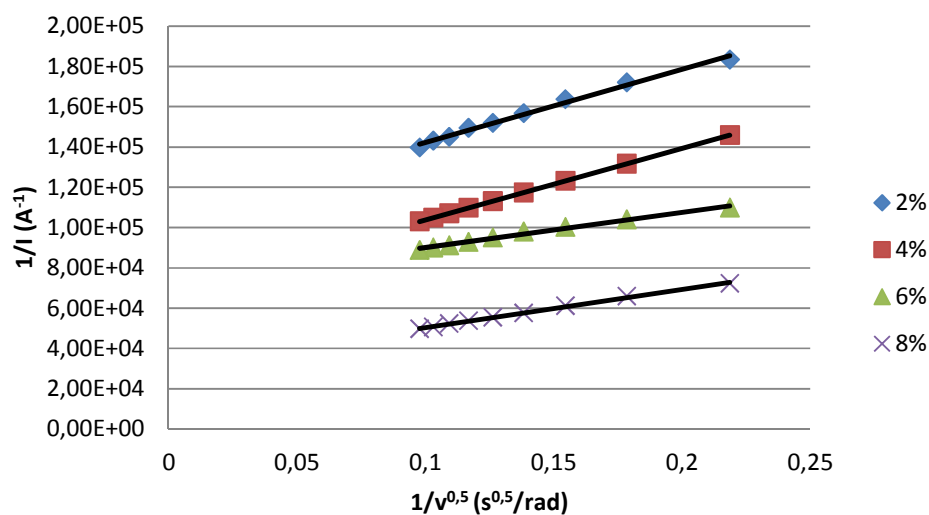


Figure 84 : Courbes de Koutecky Levich à 0,7 V pour les électrodes de 2 à 8%

A partir des résultats obtenus par la méthode de Koutecky Levich, on observe une amélioration de la cinétique de réaction avec l'augmentation du taux de dopage dans le CPDMS.

Taux de dopage	Pente (A ⁻¹ .s ^{0,5})	Ordonnée à l'origine (A ⁻¹)	Coefficient de corrélation	I _k (A)
2 %	3,62E+05	1,06E+05	0,9923	9,43E-06
4 %	3,54E+05	6,80E+04	0,9900	1,38E-05
6 %	1,75E+05	7,25E+04	0,9984	1,96E-05
8 %	1,89E+05	3,16E+04	0,9975	3,16E-05

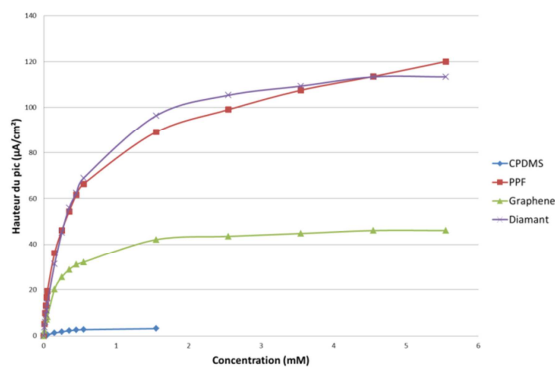
Tableau 31 : Paramètres des droites de Koutecky Levich pour des électrodes de 2 à 8 % à 0,7 V et courant cinétique.

Des interprétations faites à partir des courbes de Levich et Koutecky-Levich (Figure 84 et Tableau 31), l'électrode avec un taux de dopage de 2 % semble la moins sensible au flux mais présente la moins bonne cinétique rédox. L'électrode à 8% permet d'obtenir une meilleure cinétique mais présente la plus forte dépendance au flux. Dans l'optique d'obtenir des résultats avec un courant suffisamment élevé et une sensibilité au flux réduite, les électrodes de 4 % et 6 % de fibres de carbone, dont les propriétés sont intermédiaires, semblent un bon compromis.

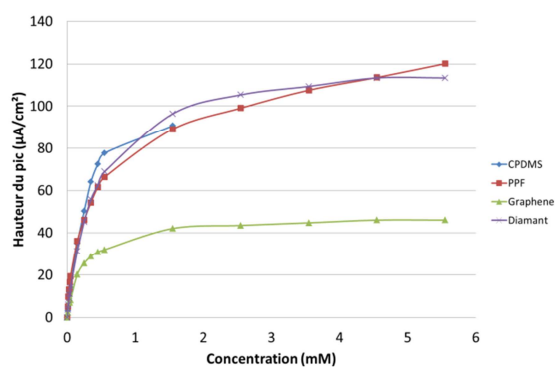
3.7 Utilisation des électrodes composites pour la biodétection

Le CPDMS utilisé pour former des biocapteurs a été sélectionné suivant les résultats obtenus dans la partie précédente. Pour conserver un mode de diffusion hémisphérique et obtenir un signal électrochimique suffisant, les électrodes composites en CPDMS avec un taux de dopage de 6 % ont été sélectionnées. Suivant la même procédure que dans le chapitre précédent, les électrodes de CPDMS ont été fonctionnalisées par l'enzyme acétylcholinestérase adsorbée sur une couche de chitosane. Pour permettre la comparaison entre les bioélectrodes du chapitre précédent et ces bioélectrodes composites, sur la Figure 85, le courant a été divisé par la surface géométrique des échantillon pour travailler en densité de courant (a). Le CPDMS offre un signal bien plus faible que les matériaux carbonés utilisés dans le

chapitre précédent, cependant lorsque l'on compare les densités de courant obtenues avec la surface active, on observe des résultats proches.



a



b

Figure 85: Comparaison de la courbe de Michaelis Menten du CPDMS avec les électrodes de PPF, graphène et diamant pour une densité de courant en rapport avec la surface géométrique (a) et la surface active (b).

Le Tableau 32 rend compte des résultats obtenus pour ce capteur.

CPDMS	
$i_{\max}$ (A)	$1,23\text{E-}06 \pm 2,21\text{E-}09$
K_M (mM)	$0,407 \pm 7,3 \text{ E-}04$
Seuil de détection (M)	$5,02 \text{ E-}06 \pm 9,03 \text{ E-}09$
Sensibilité ($\mu\text{A}/\text{mM}$)	$1,79 \pm 3,22 \text{ E-}03$
Gamme de linéarité (M)	$5,02 \text{ E-}06 \text{ à } 0,35 \text{ E-}03$

Tableau 32 : Valeurs des vitesses maximum de réaction et des constantes de Michaelis Menten de l'acétylcholinestérase sur des électrodes de CPDMS

Comparées aux électrodes de PPF, graphène et diamant, le courant maximum observé est plus faible. Le K_M est plus élevé, signe d'un fonctionnement moins bon des enzymes en surface. Le seuil de détection est cependant plus faible, ceci est étant dû à un plus faible bruit. La sensibilité est cependant plus faible et la gamme de linéarité est du même ordre que pour le graphène (données issues du Tableau 23 dans le chapitre II). Dans la littérature on peut observer des constantes de Michaelis Menten descendant jusqu'à 0,132 mM pour des composites utilisant des composites dopés par des nanotubes de carbone [231]. Dans ce papier, Du et al. mesurent une limite seuil de détection de 0,1 μM avec un domaine de linéarité allant de 2 à 400 μM . Notre gamme de linéarité est bien plus large mais ne permet pas de descendre à un seuil limite de détection aussi faible.

3.8 Conclusion sur le CPDMS

Durant ce chapitre nous avons élaboré des électrodes composites carbonées. Ces électrodes, facilement et rapidement formées, ont été caractérisées de manière électrique, montrant des avantages quant à la facilité de formation et l'obtention de résistivités à faible taux de dopage. Une observation au microscope électronique à balayage a permis d'observer une homogénéité dans la répartition des microfibrilles de carbone, et cela pour chaque taux de dopage concerné.

Suite à cela, l'utilisation de ces électrodes dans le domaine de l'électrochimie a permis d'observer une surface active attitrée à chaque taux de dopage. Plus la densité de fibres de carbone est élevée dans la matrice de PDMS, alors plus sa surface active augmente, ce qui est cohérent avec les observations MEB.

Le signal électrochimique en voltammétrie cyclique observé pour des électrodes composites à fibre de carbone de 2 à 6 % a montré que la contribution de la diffusion linéaire est peu observable, contrairement au pic électrochimique observable à 8 %.

La possibilité de monter ces électrodes sur un dispositif rotatif a permis d'étudier la cinétique des réactions rédox, où le contrôle est mitigé entre le contrôle diffusionnel et le contrôle par échanges électroniques. On a observé que pour un taux de dopage plus élevé, le courant cinétique s'approche de 0, impliquant une cinétique rapide. Pour conserver un comportement permettant de minimiser l'influence du flux sur la réponse électrochimique, l'électrode dont le taux de dopage est de 6 % a été sélectionnée pour ses courants relativement élevés comparées aux autres taux de dopages, mais également pour l'observation de bonnes constantes cinétiques et d'un comportement offrant majoritairement des contributions de diffusion radiale en voltammétrie cyclique.

Des biocapteurs électrochimiques à base d'acétylcholinestérase déposée sur chitosane sur l'électrode composite à 6 % de fibre de carbone ont été formés. Les caractéristiques moins bonnes en terme de cinétique enzymatique (K_M) montrent que l'activité de l'enzyme sur la surface de ce matériau est moins bonne que pour les électrodes observées dans le chapitre précédent. Cependant les caractéristiques observées pour ces électrodes sont proches de la littérature, et il a été possible d'utiliser ces électrodes pour la détection d'acétylthiocholine jusqu'à une concentration de 5,02 μM .

Compte tenu de la facilité et du faible coût de fabrication de ce matériau composite et de ses propriétés électrochimiques ainsi que de la possibilité de l'intégrer dans un dispositif microfluidique en PDMS, il semble être un bon compromis pour une utilisation en tant qu'électrode insérée dans des systèmes microfluidiques électrochimiques.

CHAPITRE IV

MICROCAPTEURS

DANS UN CANAL MICROFLUIDIQUE

4.1 Introduction

Les précédents chapitres ont montré que le fonctionnement des couches carbonées que nous avons synthétisées est similaire à celui rapporté dans la littérature. Nous avons vu pour le PPF, le graphène et le diamant que ces matériaux peuvent être structurées en surface d'un support SiC. Le CPDMS est également un matériaux structurable et simple à intégrer dans des dispositifs microfluidiques. Dans ce chapitre, nous montrerons dans une première par l'application d'étapes technologiques permettant d'obtenir des microsurfaces actives constituées de trois matériaux, PPF, graphène et diamant, en surface d'un même substrat de carbure de silicium. Ces étapes nécessitent une réflexion sur l'enchaînement des différentes phases de structuration afin d'obtenir des couches viables suivant un procédé maîtrisé. Suite à leur structuration, ces dispositifs seront insérés dans un système microfluidique, réalisé en PDMS. Dans une deuxième partie nous présenterons, un

moyen simple est rapide d'intégration d'électrodes en CPDMS dans des dispositifs microfluidiques. Nous verrons comment utiliser ce dispositif pour la détection instantanée d'espèces électrochimiques.

4.2 Fabrication et intégration des microélectrodes en PPF, graphène et diamant

L'objectif initial de ce travail était d'intégrer dans le même dispositif microfluidique les trois matériaux carbonés sous forme de microélectrodes afin de les tester dans les mêmes conditions de travail. Ceci aurait aussi permis de proposer dans un même dispositif des matériaux avec des propriétés électrochimiques différentes offrant la possibilité d'analyser simultanément et sélectivement une large variété de molécules. La fabrication de ce dispositif ayant été entreprise en fin de thèse, il a été difficile de procéder à l'intégration des microélectrodes de diamant. En effet, cette dernière étape de fabrication aurait nécessité l'envoi des dispositifs au laboratoire LSPM ce qui n'a pas été possible par manque de temps. Nous présenterons néanmoins, l'ensemble des étapes technologiques envisagées pour la fabrication de ce dispositif.

4.2.1 Ordre du procédé – compatibilité des étapes technologiques

Afin de déterminer la méthode de synthèse des électrodes sur substrat SiC, il faut avoir à l'esprit chaque étape de formation et de structuration de ces matériaux. En premier lieu, il faut prendre en compte que la couche de diamant se forme par PECVD à une température inférieure à 500 °C, le PPF à 1650 °C et le graphène à des températures voisines.

Parmi ces couches, le diamant ne peut pas être structuré après son dépôt. Il faut donc procéder à une préparation préalable pour que le dépôt ne se fasse que sur une zone bien définie qui correspond à la structure souhaitée. Pour se faire, une étape préalable de photolithographie est nécessaire. Dans le cas du PPF et du graphène, c'est après

synthèse de la couche qu'une étape de lithographie s'impose pour éliminer le matériau en dehors de la zone concernée. Le diamant peut se trouver sensibilisé par les étapes de recuit haute température. C'est donc le dernier matériau qui sera déposé.

Dépendant de la méthode de synthèse du graphène, deux étapes peuvent être interverties. Si l'on décide de synthétiser le graphène par e-beam, le faisceau d'électron peut avoir un effet destructif sur le PPF, ce qui incite à commencer à former le graphène en premier lieu. Dans un second temps, si le graphène est synthétisé par recuit sous argon, les températures utilisées sont similaires pour le graphène et le PPF, ainsi ces deux matériaux peuvent être réalisés en même temps.

A partir de cette réflexion, le graphène et le PPF seront formés en premier sur la surface de SiC, puis viendra le diamant. Un dépôt d'argent servira d'électrode de référence. Une fois les électrodes formées sur le substrat, il faut également pouvoir récupérer le signal électrochimique obtenu à leur surface. Pour cela un contact en platine sera déposé sur chaque électrode. Lors de ce même dépôt, une électrode auxiliaire de platine sera formée. Afin qu'aucune limitation en courant ne soit due à cette électrode, celle-ci aura une surface quatre fois supérieure à celle des trois électrodes de travail réunies.

4.2.2 Etapes du procédé

Le dispositif doit pouvoir accueillir un canal microfluidique passant le long de sa surface, sans toucher les contacts métalliques. Cela implique un alignement des électrodes et un éloignement des contacts. Pour avoir une distance inter-électrode à peu près équivalente, les électrodes de référence et auxiliaire seront placées au milieu de toutes les électrodes de travail (les électrodes carbonées). La Figure 86 représente un schéma du prototype du dispositif.

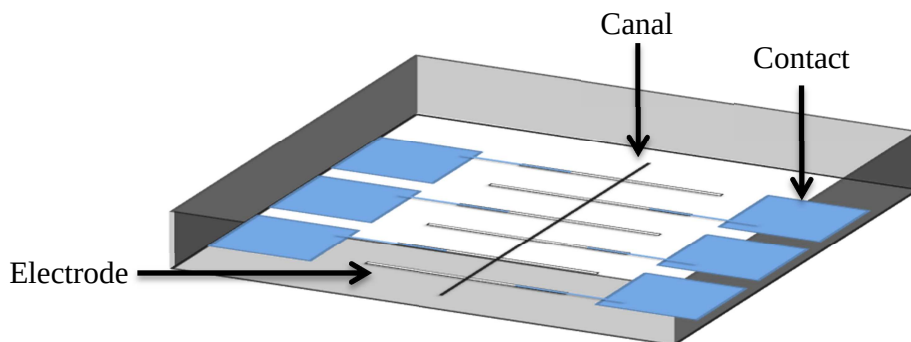


Figure 86 : Schéma du dispositif, un bloc de PDMS est observable dans lequel un canal est formé en surface des électrodes. Les contacts sont en bleu.

4.2.2.a Marques d'alignement

Lors d'un procédé technologique, il est essentiel de pouvoir former les structures aux endroits désirés. Afin d'effectuer des lithographies aux endroits voulus et obtenir un dispositif correct, il est indispensable de former avant toute manipulation des marques qui permettront un alignement, avec l'échantillon, du masque utilisé en lithographie. Pour réaliser un alignement en x et en y, des croix sont un bon moyen de pouvoir obtenir des résultats satisfaisant. Ainsi, ce procédé a débuté par la gravure de marques d'alignement dont le schéma est en Figure 87.

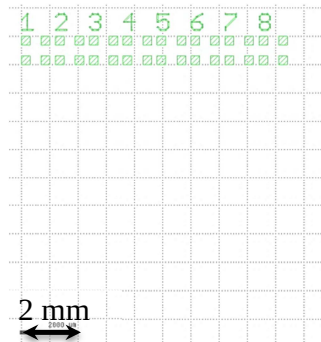


Figure 87 : Schéma du masque des marques d'alignement observé sur le logiciel Klayout

Des croix seront présentes sur les masques de chaque étape de lithographie, permettant de s'aligner à chaque fois. Les masques sont fabriqués sur la plateforme Nanolyon (INL-UCB ou université Claude Bernard) ou transférés directement par photolithographie laser UV en utilisant l'équipement Heidelberg μ PG101.

Préalablement, les échantillons sont nettoyés par une solution Caro (2 :1 de H_2SO_4 95 % et 3 :4 d'eau oxygénée à 40 % pendant 10 minutes) puis désoxydés par une solution de fluorure d'hydrogène HF à 30 % (10 minutes). De la résine AZ5214 est déposée par spin coating à 5500 tours/minute sur les échantillons de SiC 4H pour obtenir une épaisseur de 1 μm . Ce dépôt est suivi d'un recuit d'une minute à 110 °C, puis d'une insolation aux UV à travers le masque dans un photomasqueur MJB4 de Suss MicroTec pendant 4 secondes. Un second recuit à 120 °C permet d'obtenir une inversion, c'est-à-dire permettre après une seconde insolation pleine plaque (sans masque) de 20 secondes de pouvoir développer la résine masquée (dans ce cas on dit que la résine AZ5214 est inversible puisqu'elle est d'abord positive, mais on peut la rendre négative par les étapes citées).

Après insolation la résine est développée pendant 30 secondes dans du développeur MIF726, révélant alors des trous de résine par dissolution, aux endroits masqués par le masque et laissant la résine partout ailleurs.

Cette première étape de définition des croix d'alignement a été créée par écriture directe Laser-UV dans la résine photosensible. Cette résine a servi directement de masque lors du transfert de ces motifs dans le SiC par gravure plasma. La gravure plasma a été réalisée en ICP (Inductively Coupled Plasma) avec SF₆ 20 sccm, à une pression de 10mTorr à faible puissance (50W RF1) pour améliorer la sélectivité du masque en résine. La gravure dure 60 minutes pour une profondeur de gravure de 500 nm.

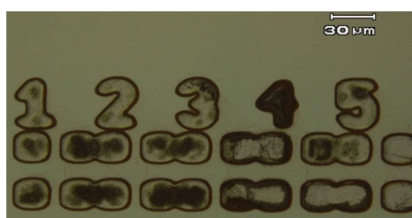


Figure 88 : Observation au microscope des marques d'alignement gravées.

Sur la Figure 88 sont présentées les marques d'alignement réalisées en SiC. On remarque des fonds de gravure foncés, dus à un redépôt lors de la gravure, mais qui ne gênera pas pour les prochaines étapes. En revanche, les motifs sont plutôt mal définis, et cela témoigne d'une surinsolation (temps ou dose d'insolation trop longs en Laser-UV). Cela a été moins gênant pour l'alignement puisque nous avons prévu plusieurs motifs d'alignement répartis sur l'échantillon. Ce problème a été résolu pour les prochaines étapes en utilisant le photomasqueur à lampe UV, MJB4 de Suss MicroTec, et un masque chrome sur verre réalisé au préalable avec les motifs des structures que nous voulons transférer.

4.2.2.b Electrodes de PPF et graphène

Puisque la température de formation et les conditions de synthèse sont les mêmes pour le graphène et le PPF, ces deux électrodes sont synthétisées en même temps.

De la résine AZ5214 est déposée par spin coating comme précédemment et recuite à 110 °C une minute, puis insolée à travers le masque de la Figure 89 pendant 10 secondes, et développée. Dans ce cas la résine est positive et tout ce qui n'a pas été masqué est développé par la résine MIF 523 pendant 30 secondes.

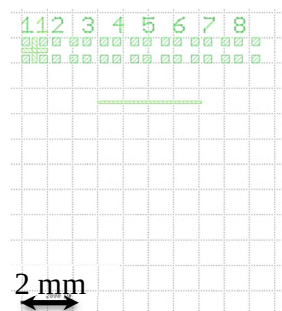


Figure 89 : Schéma du masque utilisé pour le PPF aligné sur les marques d'alignement

L'échantillon est recuit à 750 °C une demi-heure sous vide primaire puis à 1650 °C pendant 30 minutes sous flux d'argon dans le four à induction. La surface est alors complètement recouverte de graphène en dehors de l'électrode de PPF.

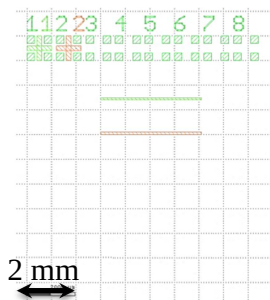


Figure 90 : Masque protégeant le graphène et le PPF aligné sur les marques

Un troisième masque, permettant de masquer à la fois le PPF et la future électrode de graphène (Figure 90), est utilisé et aligné aux motifs visibles sur l'échantillon. Le procédé met en œuvre une gravure en RIE avec un plasma oxygène (20 sccm) pour

éliminer le graphène. Le graphène exposé au plasma est observé par interférométrie (Annexe C) et lorsque le signal du graphène disparaît la gravure est terminée (inférieure à 2 minutes). La résine restante est éliminée avec de l'acétone et ainsi les deux premières électrodes sont prêtes. Le résultat de cette manipulation peut être observé sur la Figure 91.

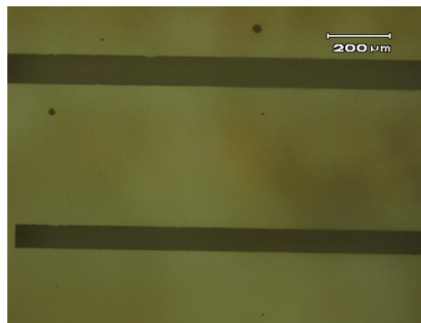


Figure 91 : Observation au microscope de la résine masquant les électrodes de PPF et graphène.

4.2.2.c Electrode de Diamant

L'accès au laboratoire LSPM étant difficile, il n'a pas été possible de déposer nous-même du diamant. Néanmoins, l'étape technologique prévue est présentée. Pour former le diamant, une pâte diamantée est utilisée comme précurseur pour la croissance en PECVD. L'idée est de déposer de la résine par étape de lithographie (Figure 92) et d'ouvrir la résine à l'endroit de l'électrode. La pâte est alors déposée dans l'ouverture et la résine et le reste de pâte éliminés par lift off dans l'acétone.

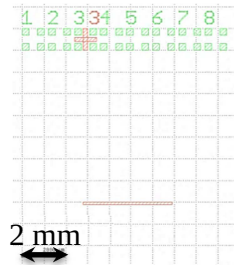


Figure 92 : Motif de l'électrode de diamant aligné avec les marques

Le dépôt CVD est ensuite réalisé et est censé se faire uniquement sur la zone sur laquelle la pâte diamantée était présente.

4.2.2.d Isolation des composants

Les courants de détection étant très faibles pour des électrodes micrométriques, il est indispensable de s'affranchir d'un éventuel courant parcourant le substrat entre les contacts. Pour se faire, un dépôt d'isolant, de la silice, est effectué au niveau des contacts pour éviter ce problème (motif en Figure 93).

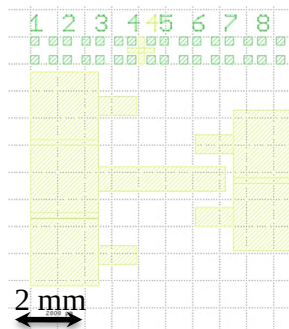


Figure 93 : Masque pour le dépôt d'oxyde de silicium aligné avec les marques.

De la silice est déposée par pulvérisation cathodique d'une cible de silicium sous oxygène (20 sccm, 200 °C) pour obtenir une couche de 200 nm. Suite à ce dépôt, de la résine AZ5214 est déposée par spincoating comme précédemment décrit. Utilisée en résine en positive, celle-ci va protéger la silice sur les motifs et le reste sera gravé

de façon humide (5 minutes) par une solution saline contenant du HF (Buffered Oxide Etchant ou BOE). Sur le motif, des ouvertures dans la silice permettent de prendre le contact avec les électrodes (visible sur la Figure 94).

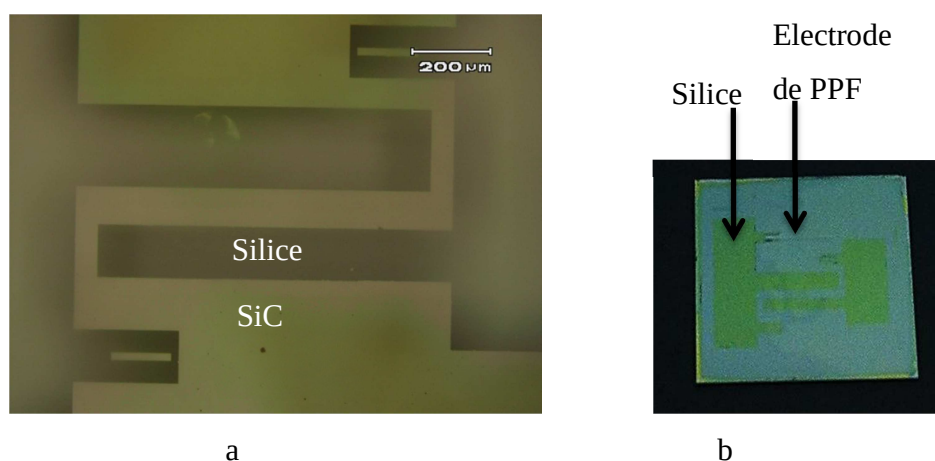


Figure 94 : Observation en microscopie optique de la silice gravée au niveau de l'électrode de graphene (non visible à l'œil nu), de PPF, de platine, d'argent et de diamant (non déposée), respectivement de haut en bas (a). observation de l'échantillon complet à cette étape (b).

4.2.2.e Dépôt d'argent

L'électrode de référence qui sera utilisée est une électrode de chlorure d'argent (AgCl/Ag). L'électrode d'argent a été déposée par évaporation sous vide. La définition des motifs a été réalisée par "lift-off" en utilisant préalablement au dépôt d'argent, une étape de lithographie avec de la résine AZ5214 en polarité négative comme décrite précédemment et en utilisant le masque présenté en Figure 95. Pour le dépôt d'argent, nous avons utilisé l'équipement Leybold de la plateforme. Pour cela le vide est poussé à 10^{-7} mbar et par bombardement d'électrons par canon e-beam, les creusets contenant le métal (argent dans ce cas) chauffent et le métal se sublime dans toute l'enceinte. L'épaisseur du dépôt est contrôlée par cristal de quartz.

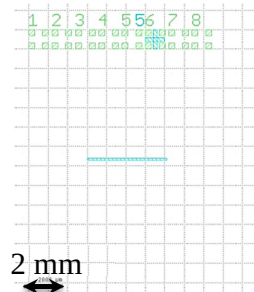


Figure 95 : Masque pour le dépôt d'argent aligné sur les marques

La surface de l'échantillon est maintenant totalement recouverte de métal, et pour ne garder que les marques d'alignement définies au préalable, l'échantillon est placé dans de l'acétone pour effectuer l'étape dite de "lift-off". La résine sous-jacente au métal va se dissoudre dans l'acétone et emporter le métal à sa surface, ce qui permettra de conserver le métal restant au niveau des motifs comme observé en Figure 96.

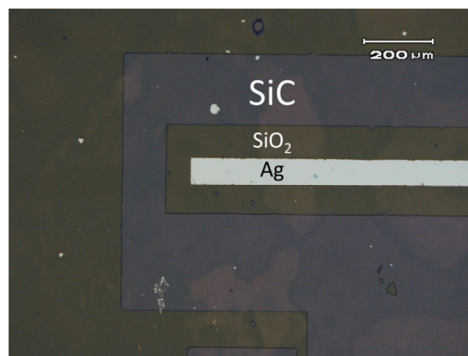


Figure 96 : Observation au microscope du dépôt d'argent après lift off

Du chlorure d'argent sera ensuite formé sur le dépôt d'argent après les étapes technologiques par oxydation chimique en utilisant une solution de FeCl_3 .

4.2.2.f Prises de contact et électrode auxiliaire

Le contact utilisé a été fait en platine, le même métal utilisé pour l'électrode auxiliaire. Ainsi, ces deux étapes sont faites en même temps (Figure 97).

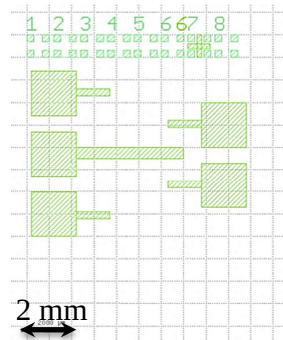


Figure 97 : Masque utilisé pour le dépôt de platine aligné avec les marques

Comme pour l'argent, le platine est déposé par évaporation e-beam et par lift off, en faisant une photolithographie négative de la résine et en supprimant le platine en dehors des masques par lift off dans l'acétone.

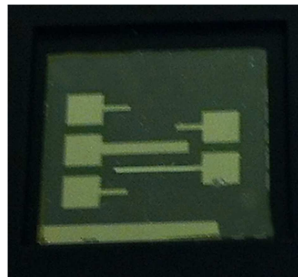


Figure 98 : Photographie d'un échantillon après le dépôt de platine et son lift off

La partie structuration des électrodes sur support SiC est alors terminée et la prochaine partie traitera de l'insertion de ces dispositifs dans un système microfluidique (échantillon observable en Figure 98).

4.2.2.g Intégration du dispositif dans un système microfluidique en PDMS

L'intégration de nos microélectrodes dans d'un dispositif microfluidique passe par un collage d'un canal en PDMS sur la surface du support en SiC. L'adhésion directe d'un canal en PDMS sur la surface du SiC n'est pas très forte. Afin de renforcer ce collage, il est possible d'obtenir de fonctionnaliser la surface du SiC avec fines couches de PDMS par étalement en spin coating. Le PDMS est préparé par un mélange de polydiméthylsiloxane avec son réticulant pour un rapport de 10 :1. L'épaisseur de la fine couche peut descendre jusqu'à quelques microns par ajout d'heptane dans le mélange de PDMS pour le fluidifier (Figure 99).

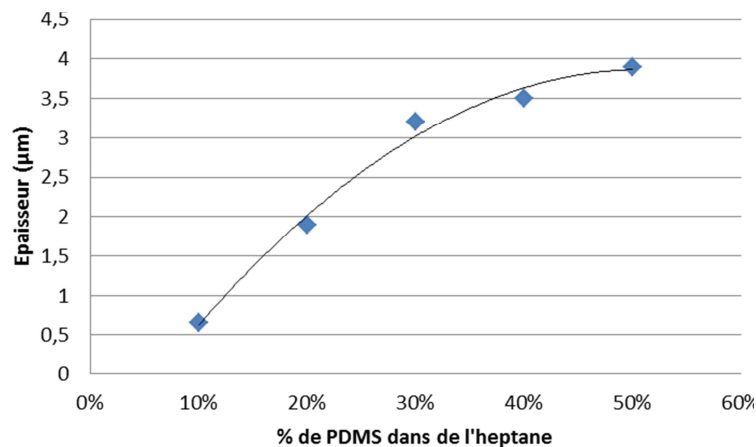


Figure 99 : Évolution de l'épaisseur du PDMS déposé à 4500 rpm pendant 1 minute en fonction du pourcentage de PDMS dans de l'heptane

Cette fine couche peut être structurée par micro-tamponnage. Cette technique déjà utilisée dans le laboratoire Ampère [260], consiste à faire un collage d'un moule en PDMS en surface de cette couche, puis d'arracher les zones collées en retirant le moule après coup. Le collage de PDMS sur PDMS est effectué par passage au préalable dans un plasma oxygène pendant une minute, puis mise en contact des

surfaces exposées. Sur le dispositif formé précédemment, une fine couche de PDMS (20% de PDMS dans de l'heptane) est déposée. Un moule en PDMS a été au préalable formé, permettant d'arracher le canal et également d'ouvrir des fenêtres permettant d'accéder aux contacts métalliques.

Le canal microfluidique est préparé par dépôt de PDMS sur un masque en résine développée en utilisant un dernier niveau de masque (Figure 100):

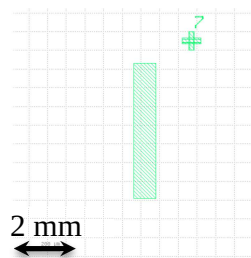


Figure 100 : Schéma du niveau de masque utilisé pour la lithographie utilisée pour la formation du canal en PDMS

De la résine sous forme de film de 50 μm d'épaisseur est utilisée (LAMINAR E9220 de chez Eternal). Cette résine est déposée sur une lame de verre de microscope et est insolée 10 secondes à puissance maximale (110 mj/cm^2 dans un appareil UV-kub) puis développée dans une solution de 300 ppm de Na_2CO_3 . Cette lame de verre est alors déposée dans un récipient rectangulaire et du PDMS est versé dessus. Après recuit, le bloc de PDMS est démoulé et la lame de verre décollée du bloc, laissant ainsi la marque du microcanal d'épaisseur 50 μm . Un collage par contact est effectué et la différence de composition des deux PDMS permet un collage immédiat. Le dispositif final est alors prêt et une photographie montre sa constitution en Figure 101.

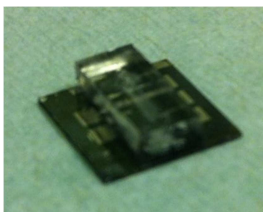


Figure 101 : Électrodes incluses dans le canal microfluidique en PDMS

4.2.3 Caractérisations électrochimiques

Des tuyaux sont insérés à chaque extrémité du canal microfluidique et le fluide est acheminé par utilisation d'un pousse seringue.

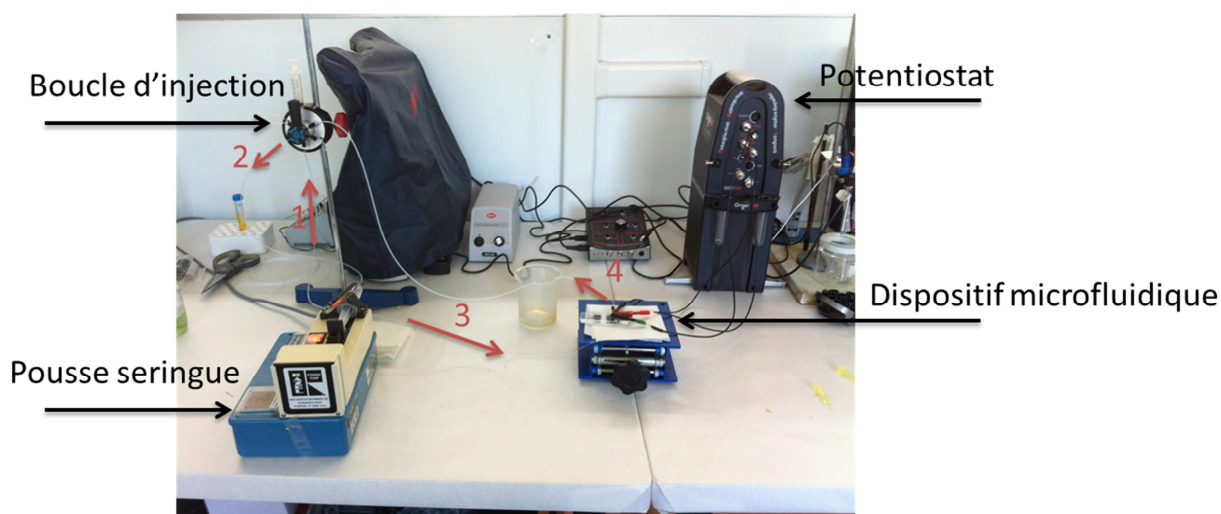


Figure 102 : Montage utilisé pour les caractérisations

Sur la Figure 102, on peut voir le montage utilisé pour effectuer la caractérisation électrochimique en flux continu. L'électrolyte (KCl à 0,1M dans notre cas) monte dans la boucle d'injection (1), puis part vers le dispositif (2 et 3), et en ressort en 4. Lorsqu'un ajout de solution est souhaité, la boucle est sur la position « load » et l'on

peut injecter 100 μ L de solution. Une fois chargée, la boucle est basculée de manière à entraîner le fluide dans le circuit.

Juste avant d'utiliser le dispositif pour une analyse électrochimique en flux, l'électrode de référence est finalisée en formant un dépôt de chlorure d'argent sur l'électrode en argent par introduction pendant une minute d'une solution de chlorure de fer (50 mM). Cette solution permet d'oxyder l'argent en ions Ag^+ puis de former des cristaux de chlorure d'argent à la surface de l'électrode (Figure 103).

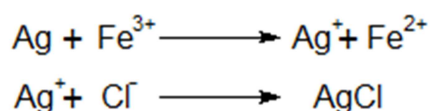


Figure 103 : Réaction de formation de chlorure d'argent

L'utilisation d'électrodes de taille réduite diminue l'intensité du signal électrochimique qui pourrait résulter de l'analyse d'une molécule cible. La sonde redox utilisée pour les caractérisations électrochimiques dans ce chapitre a été sélectionnée pour son oxydation à faible potentiel ainsi qu'une bonne réversibilité en milieu aqueux. Nous nous sommes ainsi tournés vers l'utilisation du ferrocène (Figure 104) pour la caractérisation des électrodes carbonées dans notre système microfluidique.

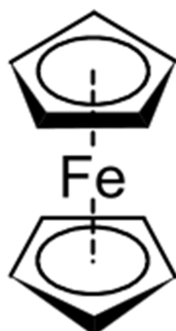


Figure 104 : Représentation du ferrocène

Pour cette analyse électrochimique des sondes dans ce système microfluidique en PDMS, nous avons sélectionné un électrolyte défavorisant la dissolution de l'électrode de chlorure d'argent. Une solution de chlorure de potassium (KCl) 0,1 M est alors utilisée comme électrolyte pour les détections par ce dispositif.

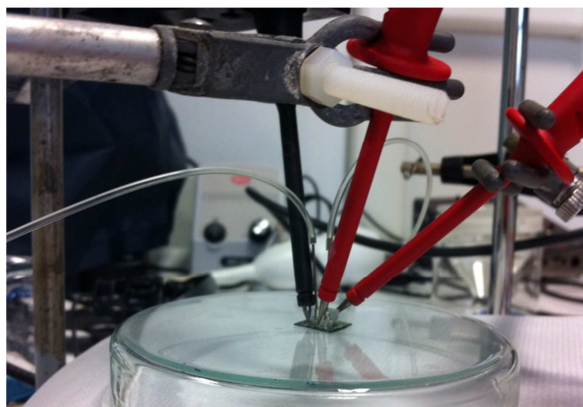


Figure 105 : Photographie de la prise de contacts sur l'échantillons sous flux

La Figure 105 montre la prise de contacts sur les plots en platine structurés par photolithographie. L'utilisation de ce dispositif en électrochimie n'a pas donné de signal viable, que ce soit dans une solution de KCl ou en présence de ferrocène. Il est

probable que lors du dépôt et du tamponnage de la fine couche de PDMS, un résidu de ce polymère est resté en surface des électrodes, isolant alors leurs surfaces de la solution.

Malheureusement, cette dernière étape ayant vraisemblablement isolé nos microélectrodes, cela nous empêche de montrer le fonctionnement de notre capteur avec les couches carbonées intégrés. Par manque de temps, il nous a été difficile de refaire cette étude.

4.3 Intégration des électrodes en CPDMS dans un dispositif microfluidique

L'objectif de ce travail est de proposer une méthode simple pour intégrer des électrodes en CPDMS dans un dispositif microfluidique. La méthode d'intégration qui est proposée dans cette partie est beaucoup plus simple que celle décrite précédemment. Cette méthode est également beaucoup plus accessible dans le sens où elle ne nécessite aucun accès aux installations d'une salle blanche et aux technologies de lithographie. Toutefois, les dimensions des électrodes possibles à structurer par cette méthode sont loin de la résolution des microélectrodes décrites plus haut.

4.3.1 Elaboration du dispositif

En premier lieu, une couche de PDMS est réticulée dans un moule suivant les protocoles cités dans le chapitre précédent (Figure 107 a). Un pochoir possédant deux ouvertures, permettant d'y étaler du CPDMS, est déposé sur la surface du PDMS puis retiré (Figure 107 b et c).

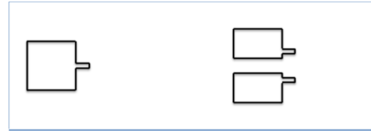


Figure 106 : Schéma des pochoirs utilisés pour les dépôt d'électrodes. A gauche le motif pour l'électrode d'argent, à droite les motifs pour les électrodes de CPDMS

Dans un second temps, de la laque d'argent est déposée à travers un second motif (Figure 107 d et e), et après le retrait de celui-ci, un tube métallique de 0,6 mm de diamètre est déposé à la surface de ces couches (Figure 107 g), puis du PDMS est coulé par-dessus (Figure 107 h). Les dispositifs sont alors prêts pour un recuit de une heure à 80 °C. Une fois sortis du four, les tubes sont extraits du PDMS par poussée d'un côté ou de l'autre de la tranche du PDMS, et nous obtenons le modèle représenté sur la Figure 107 i. La surface des trois électrodes dans le canal microfluidique est estimée à 1 mm².

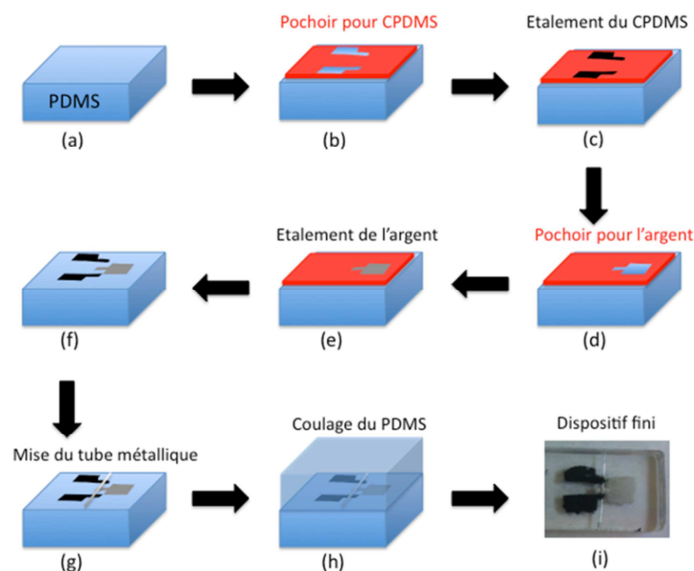


Figure 107 : Schéma des différentes étapes de préparation du dispositif

4.3.2 Caractérisations

Le montage utilisé pour la caractérisation des électrodes de CPDMS sera le même que celui observé dans la partie précédente pour les couches carbonées. La Figure 108 montre en détail la prise de contact sur les électrodes, réalisée par l'insertion d'aiguilles métalliques directement dans le CPDMS ou l'argent, à travers le PDMS.

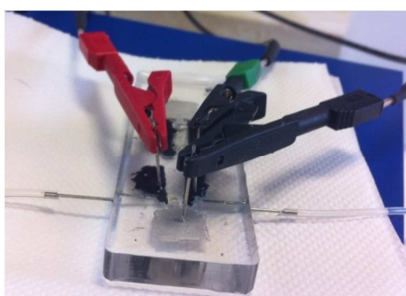


Figure 108 : Photographie de la prise de contact du système à trois électrodes

4.3.2.a Domaine d'électroactivité

Dans un premier temps, nous avons déterminé le domaine d'électroactivité des électrodes de CPDMS intégrées dans le dispositif microfluidique en remplissant le canal d'une solution de KCl à 0,1 M (Figure 109).

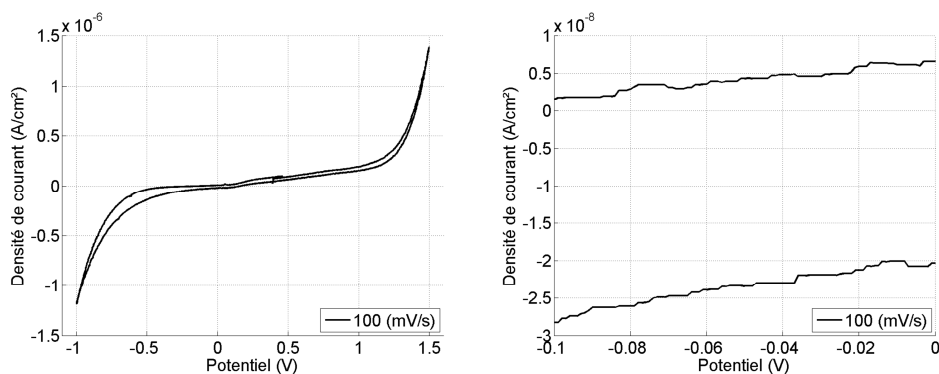


Figure 109 : Domaine d'électroactivité d'une électrode de CPDMS dans une solution de KCl 0,1 M à 100 mV/s (a) et zoom (b)

Le domaine d'électroactivité est sensiblement le même que celui obtenu avec les macroélectrodes. De la même manière, les macro et microélectrodes offrent un $E_{1/2}$ aux alentours de 220 mV (Figure 110). Ces résultats indiquent également que l'électrode de référence intégrée présente un potentiel similaire aux macroélectrodes de références AgCl/Ag et qu'elle est fiable pour une application en analyse électrochimique.

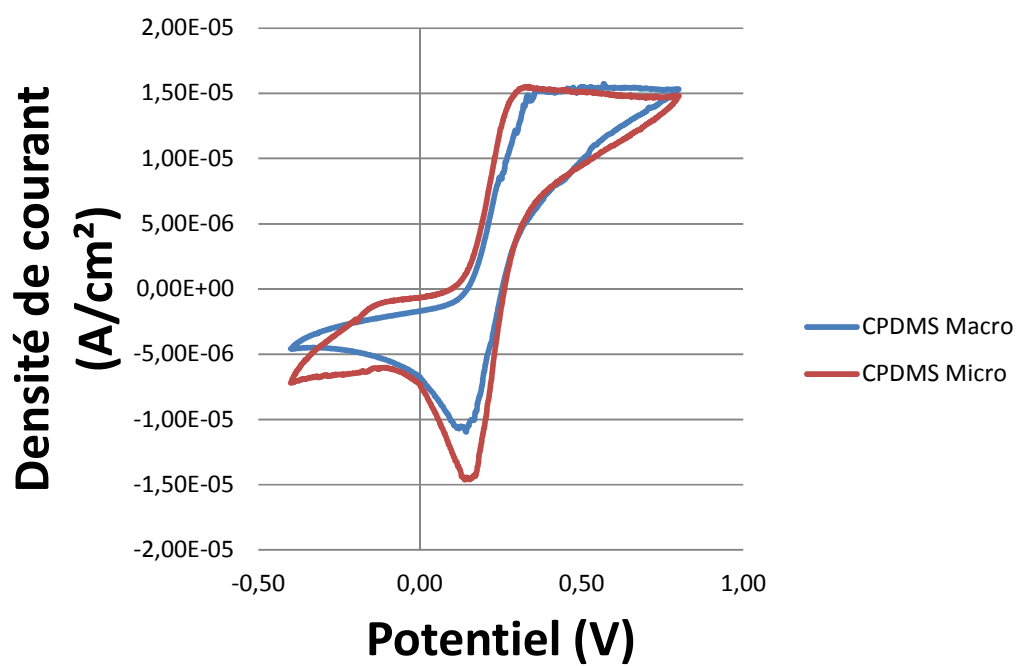


Figure 110 : Voltammétrie cyclique d'électrodes de CPDMS macroscopique (rouge) et microscopique (bleu) dans une solution de 1 mM de ferrocène dans du KCl 0,1 M

4.3.2.b Étude de l'influence du débit

Une attention particulière a été portée sur le bruit électrochimique dans cet électrolyte. Dans cette optique, le bruit dû au courant capacitif a été mesuré pour différent flux (Figure 111). Le courant observé varie entre 30 et 120 pA, mais l'influence du débit est négligeable.

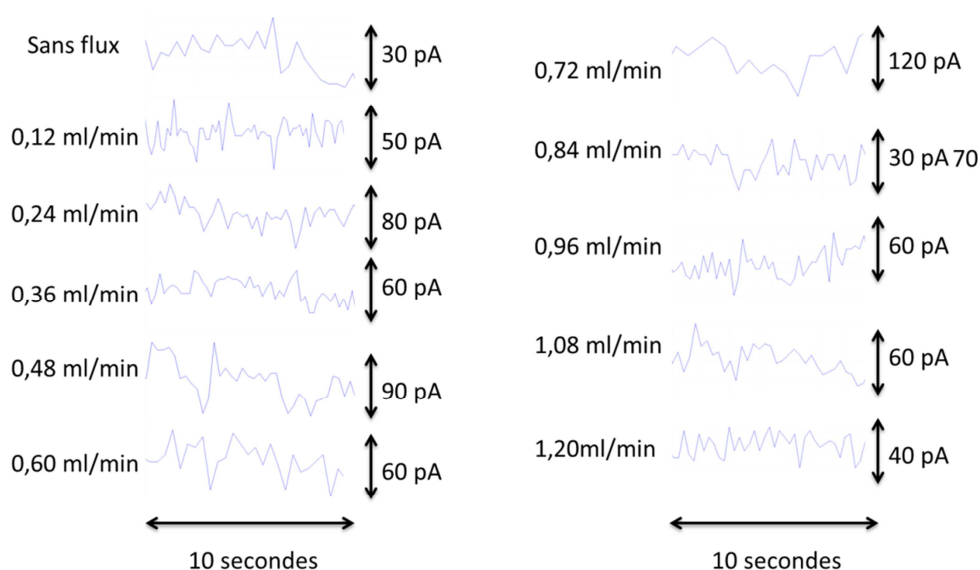


Figure 111 : Évolution du bruit en fonction du flux

4.3.2.c Etude de la détection électrochimique sous flux

Nous avons poursuivi nos observations en tentant de déceler la limite de détection qu'offre ce dispositif pour le ferrocène, en utilisant le flux le plus élevé possible (1,20 ml/min). La détection électrochimique du ferrocène s'est effectuée par chronoampérométrie en imposant un potentiel de 800 mV/AgCl/Ag. Cette valeur de potentiel est supérieure au potentiel d'oxydation du ferrocène.

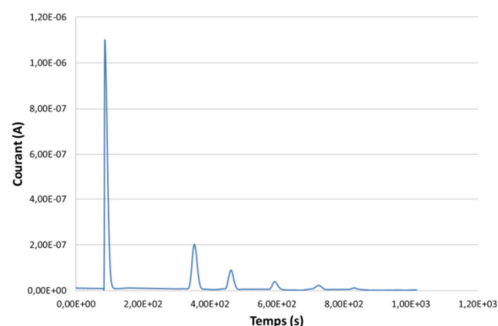


Figure 112 : Détection de Ferrocène à différentes concentrations dans du KCl 0,1M

La Figure 112 montre la réponse électrochimique obtenue pour plusieurs injections de différentes concentrations de ferrocène ajouté sous flux à travers la boucle d'injection. Le Tableau 33 résume les courants de pic observés pour les concentrations correspondantes utilisées dans la Figure 112.

Concentration (mM)	Courant (μ A)
2,00E+00	1,10E+00
1,00E+00	2,02E-01
5,00E-01	7,50E-02
2,50E-01	3,91E-02
1,25E-01	2,27E-02
6,25E-02	1,37E-02
3,13E-02	8,50E-03

Tableau 33 : Réponse en courant pour la détection d'une concentration en ferrocène

La Figure 113 tracée à partir du tableau met en évidence un comportement linéaire de la détection dans une gamme de concentration allant de 31,3 μ M à 500 μ M.

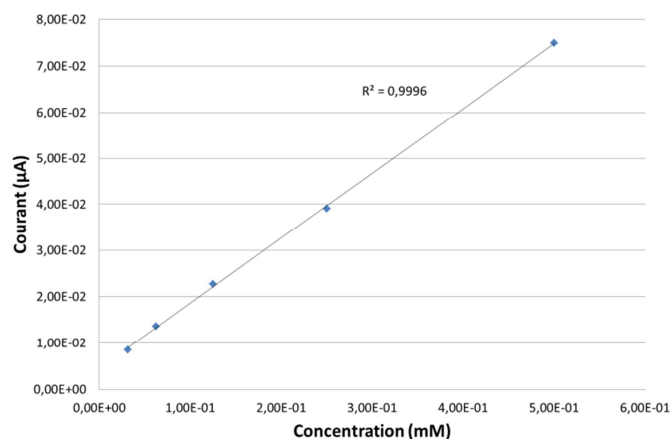


Figure 113 : Gamme de linéarité de la détection de ferrocène

La sensibilité obtenue est de $140,6 \mu\text{A}/\mu\text{M}$, et la limite de détection est de $2,56 \mu\text{M}$ (avec un rapport signal sur bruit de 3).

A notre connaissance, peu d'auteurs utilisent des sondes électrochimiques simples comme élément de caractérisation de microélectrodes sous flux. Beaucoup de travaux utilisent cependant le ferrocène comme médiateur allié à des matériaux composites lors de l'élaboration de capteurs électrochimiques [261]–[264]. Toutefois, les résultats obtenus dans cette partie sont encourageants pour utiliser ce dispositif microfluidique pour d'autres analyse électrochimiques et bioélectrochimiques pour étudier la détection d'autres molécules d'intérêt.

4.4 Conclusion sur les électrodes carbonées dans un canal microfluidique

Dans ce chapitre, nous avons entrepris de développer deux types de dispositifs microfluidiques de nature différentes. Le premier consiste à structurer différentes électrodes carbonées à la surface d'un même substrat, afin de les inclure dans un

canal microfluidique pour étudier leurs comportement sous flux pour une éventuelle utilisation, par exemple, dans des analyses fines de la réponse biologique de cellules, comme détecteurs en sortie de chromatographie phase liquide, ou encore pour la détection de micropolluants dans des milieux corrosifs (monitoring d'effluents). Le deuxième type de capteur est un capteur souple de matériaux composite, ce qui lui permet de minimiser les effets du flux sur sa réponse électrochimique. Ce dispositif serait adapté à des dispositifs point of care ou à des détections à usage unique pour la médecine à domicile.

L'élaboration du dispositif à base d'électrodes de PPF et de graphène est le résultat d'une réflexion importante sur l'organisation des étapes de structuration des différents matériaux utilisés. La synthèse, la photolithographie, les dépôts et la gravure de ces matériaux nécessitent l'utilisation de nombreux appareils de pointe habituellement employés pour la microélectronique.

La première tentative d'intégrer un canal microfluidique à ce dispositif en utilisant la méthode de microtamponnage s'est soldée par un échec. L'alignement d'un canal microfluidique en surface d'un échantillon est assez délicat. De plus l'utilisation d'une fine couche de PDMS pour permettre au canal d'adhérer à la surface de l'échantillon a assurément laissé une couche de polymère isolante en surface des électrodes dans le canal. Cela a malheureusement mené à l'impossibilité d'observer la réponse électrochimique des microélectrodes utilisées sous flux. Un travail d'optimisation est ainsi nécessaire pour mettre en place un protocole fiable permettant le collage du microcanal sur la surface du dispositif électrochimique tout en évitant la passivation des microélectrodes.

L'intégration d'électrodes en CPDMS dans un canal microfluidique peut être réalisé en trois étapes simples :

- Le dépôt d'une première couche de PDMS dans le fond d'un moule
- Le dépôt de CPDMS et de laque d'argent à travers des pochoirs
- Le dépôt d'un tube formant le canal et le recouvrement par une couche de PDMS

Une fois ces étapes réalisées, il ne reste qu'à ôter le tube par pression, et le dispositif est prêt.

La caractérisation de ce dernier dispositif a mis en évidence un bruit très faible, de l'ordre du picoampère, un seuil de détection bas, une large gamme de linéarité de la réponse par rapport à la concentration et une bonne sensibilité.

A la fin de ce chapitre, nous pouvons conclure que le dispositif intégrant des électrodes en CPDMS dans un canal microfluidique montre un avantage certain face aux électrodes sur support SiC par rapport à son coût et à la simplicité de sa réalisation. Toutefois, la limitation au niveau des dimensions d'électrodes en CPDMS possibles de structurer avec cette méthode ne permet de viser les applications nécessitant des résolutions micrométriques d'électrodes. La structuration d'électrodes carbonées sur le support SiC permet d'atteindre ces résolutions et de répondre à ce besoin. Cependant, il est nécessaire d'optimiser la méthode de collage du canal en PDMS afin de pouvoir finaliser la caractérisation de ces microélectrodes et comparer correctement ces deux dispositifs de détection électrochimiques sous flux.

CONCLUSION GENERALE ET PERSPECTIVES

Ce manuscrit relate l'utilisation et la comparaison de matériaux carbonés macroscopiques et microscopiques pour la détection électrochimique d'espèces en solution stagnante ou sous flux.

Dans le premier chapitre, une étude bibliographique mène au choix de l'utilisation d'une méthode ampérométrique pour détecter des molécules cibles en solution de manière sélective et quantitative. En comparaison avec des électrodes de travail utilisées classiquement en électrochimie, les électrodes carbonées offrent des avantages liés à leur large fenêtre de potentiel, leur coût avantageux, la possibilité de les structurer assez facilement et leur stabilité liée à leur résistance aux attaques chimiques. Parmi ces matériaux, la résine pyrolysée, le graphène, le diamant et un matériau composite ont été sélectionnés pour leur compatibilité avec des étapes de structuration technologies, permettant d'obtenir des microcapteurs. Dans l'optique d'utiliser ces électrodes pour la détection d'espèces biologiques, les différentes méthodes de fonctionnalisation de surface classiquement utilisées dans la littérature ont été présentées.

Dans une deuxième partie, les matériaux sélectionnés pour la synthèse de capteurs ont été décrits. Leurs utilisations dans de multiples domaines, leurs méthodes de synthèse et leurs caractéristiques physiques ont fait l'objet d'une présentation détaillée. Finalement ce chapitre présente l'objectif de cette thèse, qui se propose d'optimiser la

synthèse puis de caractériser ces électrodes carbonées de taille macroscopique, et dans un deuxième temps de structurer ces couches pour en obtenir un système électrochimique pouvant être inséré dans un canal microfluidique. Un premier dispositif utilisant des méthodes de synthèse et de structuration de matériaux carbonés élaborées, faisant appel à des équipements de pointe est évoqué. Un deuxième outil de détection électrochimique basé sur du PDMS et du CPDMS, préparé par des méthodes simples, rapides et à bas coût est également proposé.

Le deuxième chapitre traite du développement et de l'optimisation des méthodes de synthèse des matériaux carbonés que nous avons sélectionnés. Leurs performances sont évaluées par des techniques de caractérisation électriques, optiques et électrochimiques. Les performances obtenues sont comparables avec celles qui sont rapportées par les publications du domaine. Les électrodes de PPF recuites à 1650 °C ont montré les domaines de potentiels les plus larges et une capacité de double couche plus faible par rapport aux électrodes de graphène et diamant. Une fois leurs caractéristiques décrites, ces électrodes ont été fonctionnalisées par dépôt de chitosane et de l'enzyme acétylcholinestérase, permettant d'observer la réponse électrochimique de ces électrodes pour un biocapteur enzymatique biocompatible. Suite à cela, nous avons montré la possibilité d'utiliser ces couches carbonées pour la détection de molécules d'intérêt en employant des biorécepteurs immobilisés à leur surface.

Le troisième chapitre se focalise sur l'élaboration d'un matériau composite à fibres de carbone, dont les étapes de synthèse sont moins contraignantes et plus rapides que pour les couches carbonées formées dans le chapitre 2. Une étude sur le taux de dopage en fibres de carbone d'une matrice de polydiméthylsiloxane a été menée. Des caractérisations électriques, optiques et électrochimiques ont permis d'opter pour l'utilisation d'un taux de dopage de 6% en masse de fibres de carbone, offrant un

compromis entre une bonne cinétique électrochimique, un courant important et la conservation d'un régime de diffusion majoritairement radial, permettant de minimiser l'influence du flux sur la réponse de ces capteurs. De la même manière que dans le chapitre 2, ces électrodes ont été utilisées dans la conception d'un biocapteur. Ces dispositifs ont montré de moins bonnes performances, en terme de cinétique enzymatique que ceux utilisant les couches carbonées du chapitre 2 ; performances qui restent cependant proches de celles rapportées dans la littérature.

Le quatrième et dernier chapitre décrit le développement de deux systèmes électrochimiques insérés dans des dispositifs microfluidiques. Le premier dispositif intègre des électrodes carbonées microscopiques structurées sur support SiC et obtenues grâce à plusieurs étapes de structuration utilisant la photolithographie. Ce procédé comportant huit étapes technologiques a mené à l'obtention d'un dispositif qui n'a, pour l'instant, pas été caractérisé électrochimiquement à cause d'un problème de passivation d'électrode produit par l'étape de collage du canal microfluidique. Le deuxième procédé visant à obtenir un dispositif souple incluant des électrodes de travail en composite de fibre de carbone a permis d'aboutir à un résultat fonctionnel en seulement trois étapes d'élaboration. Les caractéristiques de ce dispositif ont montré de bonnes propriétés électrochimiques sous flux, et notamment une très faible influence du flux de la solution électrolytique sur le signal de détection.

Dans des travaux pouvant donner suite à l'utilisation de ces capteurs, il est possible d'envisager plusieurs perspectives. En premier lieu, pour permettre de caractériser les microélectrodes de résine pyrolysée et de graphène sur SiC dans un système microfluidique, un nouveau protocole ou une nouvelle méthode de collage du canal microfluidique en surface du substrat en SiC devraient être étudiés. Il est également envisageable de fonctionnaliser les surfaces des électrodes utilisées en y immobilisant des médiateurs rédox comme du ferrocène ou encore du bleu de prusse pour

améliorer leur réactivité électrochimique. Ces capteurs ont donné des résultats intéressants en biodétection et d'autres biorécepteurs pourraient être immobilisés en surface de ces électrodes pour la détection de polluants ou encore de substances médicamenteuses. L'utilisation des électrodes sous flux pourrait également être adaptée à la détection de différentes espèces, de manière à observer leur sélectivité. Concernant les dispositifs souples d'électrodes de CPDMS dans un canal microfluidique, l'élaboration d'un mécanisme de prise de contacts facile dans l'optique de réaliser un système simple d'utilisation est à l'étude.

ANNEXE A

SPECTROMETRIE PHOTOELECTRONIQUE X

La spectrométrie photoélectronique X ou XPS est une technique de caractérisation permettant de déterminer la nature des atomes présents dans un échantillon. Elle est principalement utilisée pour l'étude des surfaces, interfaces et analyse des couches minces.

En XPS, l'échantillon est irradié de rayons X à faible énergie ($<1,5$ keV) dans une enceinte sous ultravide. Les atomes, ionisés par cette irradiation, vont se désexciter en émettant des photoélectrons correspondants à des niveaux d'énergie atomique propres à l'atome ciblé, offrant alors une précision de détection, par la signature caractéristique de chaque élément atomique. Les photoélectrons sont alors récoltés par un détecteur et le signal est alors observable.

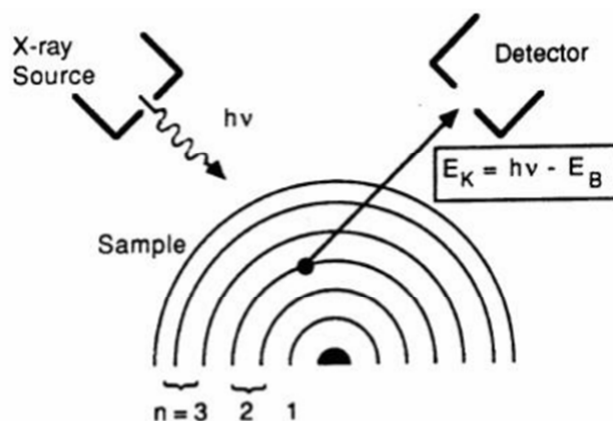


Figure 114 : Schéma de l'effet photoélectrique pour la détection en XPS

Sur la Figure 114, nous observons le schéma de principe de l’XPS et E_K est l’énergie cinétique, dépendant de l’énergie du photon ($h\nu$) et de l’énergie de liaison E_B .

Cette technique permet également de connaître l’environnement des éléments détectés par leurs réponse à cette irradiation.

La caractérisation d’un échantillon est faite par un balayage en énergie des rayons X émis sur la surface (de 0 à 1100 eV). Il en résulte un diagramme avec pour abscisse l’énergie de liaison et ordonnée l’intensité du signal observé. Pour obtenir une meilleure résolution il est possible d’opérer en fenêtres d’énergie plus restreintes pour mieux observer la déconvolution des pics éventuels.

ANNEXE B

GRAVURE IONIQUE REACTIVE

Cette technique de gravure est mise en œuvre le plus souvent en microtechnologie, pour la gravure de wafers de silicium et des couches minces.

Un plasma est formé dans une enceinte sous vide primaire en présence de gaz ionisés par un champ électromagnétique. Les ions accélérés par ce champ électromagnétique vont heurter l'échantillon et le graver de cette manière.

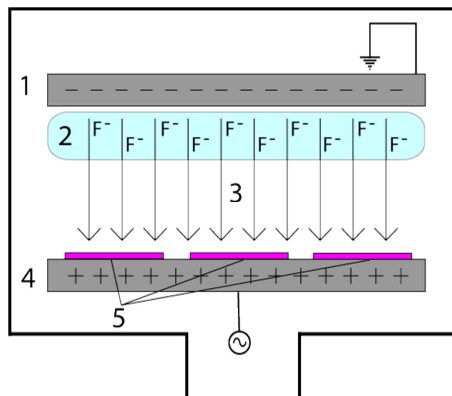


Figure 115 : Schéma d'une gravure fluorée, issu du site de Brigham Young University⁹

⁹ http://www.cleanroom.byu.edu/rie_etching.phtml

La Figure 115 est un schéma d'une installation classique d'une RIE. On y voit deux électrodes (anode en 1 et cathode en 4) générant un champ électrique (3) accélérant des ions fluorés (2) vers la surface des échantillons (5).

Matériau gravé	Gaz utilisés pour la gravure
Silicium polycristallin	HBr/Cl ₂ /O ₂ , HBr/O ₂ , BCl ₃ /Cl ₂ ,
Aluminium	BCl ₃ /Cl ₂ , SiCl ₄ /Cl ₂ , HBr/Cl ₂
Tungstène	SF ₆ , NF ₃ /Cl ₂
Silice	CF ₄ /O ₂ , CF ₄ /CHF ₃ /Ar, C ₂ F ₆ , C ₃ F ₈ , C ₄ F ₈ /CO, C ₅ F ₈ , CH ₂ F ₂

Tableau 34 : Gaz principalement utilisés pour la RIE

La gravure sèche est anisotrope. Les ions se dirigent de manière parallèle vers l'échantillon, et permettent d'obtenir des flancs de gravure droits. C'est cet avantage qui l'a rendu plus intéressante que la gravure en milieu humide, isotrope en microtechnologies, car cela évite des cas de sous gravures observées en gravures humides où le matériau se trouvait gravé sous le masque censé le protéger (Figure 116).

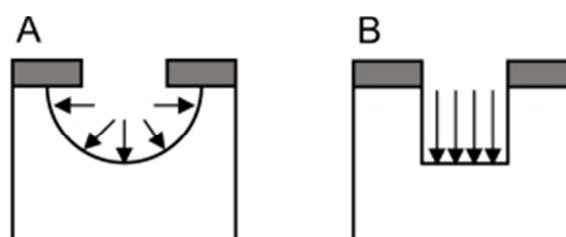


Figure 116: Schéma d'une gravure anisotrope (A) et isotrope (B)

ANNEXE C

INTERFEROMETRIE

L'interférométrie, dans le cas de cette thèse, a été utilisée pour détecter la fin de gravure d'une couche en RIE. Un faisceau laser est dirigé perpendiculairement vers la couche à graver à travers un hublot. Le balayage aller et retour interfèrent et un détecteur observe ces variations (Figure 117) .

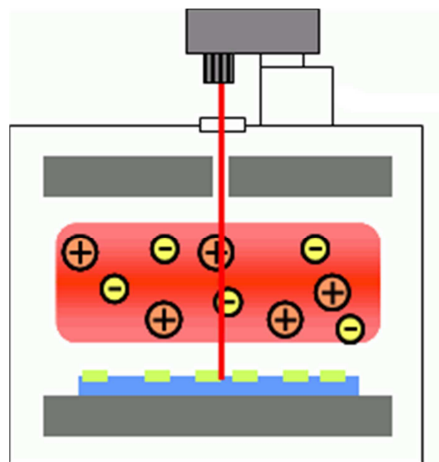


Figure 117 : Schéma d'un interféromètre utilisé en RIE, issu du site de Cystec¹⁰

¹⁰ <https://www.crystec.com/triende.htm>

Puisque la couche sur laquelle le laser pointe se réduit en épaisseur, le parcours effectué par ce faisceau augmente et les interférences peuvent varier de constructives à destructives. Suivant le temps de gravure, cette interférence est observée et forme des oscillations. Lorsque le signal ne varie plus, la couche n'est plus gravée puisqu'il n'y a plus d'évolution dans les interférences (Figure 118).

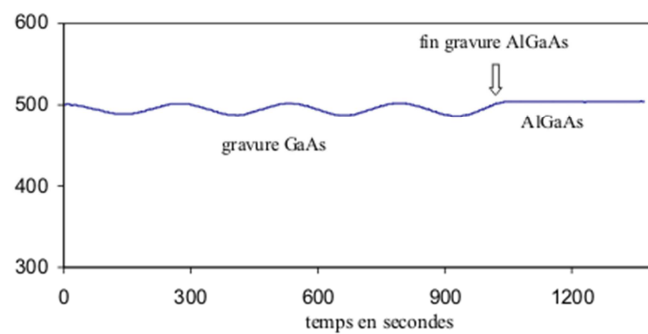


Figure 118 : Exemple d'un interférogramme d'une gravure de GaAs issu du site de l'université de Lille¹¹

¹¹ <http://iemn.univ-lille1.fr/base-web/plateforme/plasmas.htm>

ANNEXE D

PULVERISATION CATHODIQUE

La pulvérisation cathodique est une méthode de dépôt utilisée en microtechnologies. Elle met en œuvre l'utilisation d'un plasma établi par un champ électrique, de la même manière que pour la RIE (Annexe A). Le plasma formé, les ions se dirigent vers une cible (cathode) d'un matériau choisi, et par échange d'énergie cinétique, les atomes délogés par cette attaque, viennent se déposer sur la surface de l'échantillon posé sur l'anode.

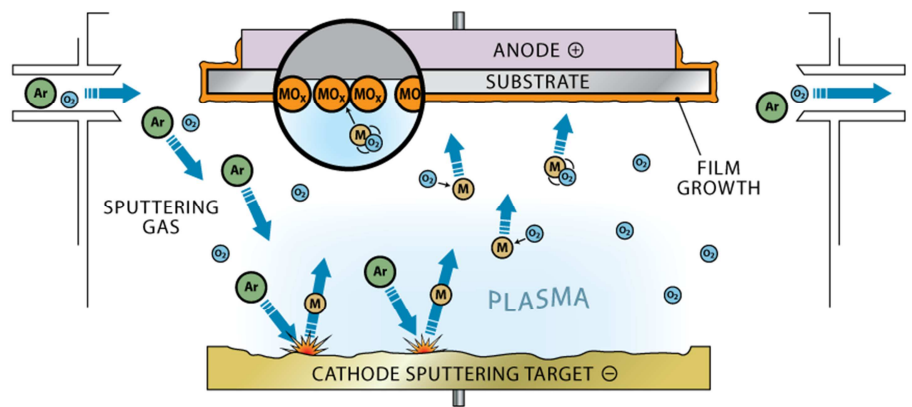


Figure 119 : Schéma d'une enceinte de pulvérisation cathodique en fonctionnement, issu du site de Clear Metals¹²

¹² <http://clearmetalsinc.com/technology/>

On observe sur la Figure 119 un dépôt d'oxyde de molybdène par pulvérisation cathodique. Sous un vide primaire, de l'argon et de l'oxygène sont introduits dans l'enceinte, participants à la formation du plasma. Les ions formés vont venir taper la cible de molybdène et envoyer ces atomes en surface de l'échantillon. L'oxygène présent dans ce cas, va réagir avec le molybdène lors de son parcours vers l'échantillon pour permettre de déposer l'oxyde de molybdène.

Le matériau ne nécessite pas d'être métallique ou conducteur pour pouvoir être déposé, c'est ce qui donne de l'impact à cette technique qui a alors moins contrainte qu'un évaporateur classiquement utilisé pour effectuer des dépôts.

Neyco, un fournisseur en cibles pour la pulvérisation cathodique, offre un catalogue de cibles et de leurs potentielles utilisations dans différentes techniques de dépôt¹³. Ce fichier permet d'avoir un bon aperçu du grand nombre de matériaux pouvant être déposés par pulvérisation cathodique.

13

<http://www.pascaltechnologies.com/files%5CWhitepapers%5CThin%20Film%20Deposition%20Guide%20Neyco.PDF>

ANNEXE E

METHODE TBO

Une technique par dosage au TBO ou bleu de toluidine oxydé permet d'obtenir la densité surfacique de groupements carboxyliques sur un échantillon. Une solution de TBO à 0,1% massique et de soude (pH 10) est déposée sur les échantillons et s'en suit une agitation à 40 °C pendant 15 minutes. Passé cette étape, un lavage dans une solution de soude à pH 10 est effectué pour évacuer l'excédent de TBO non complexé. Ensuite un volume connu d'eau acidifiée (avec de l'acide acétique pour atteindre un pH de 5) est ajoutée en surface des échantillons pour désorber le TBO complexé, pendant 30 minutes à l'abri de la lumière. La concentration TBO est déterminée par dosage spectrophotométrique à une longueur d'onde de 634 nm.

En premier lieu une calibration est effectuée avec des concentrations de TBO connues dans des solutions d'acide acétique à pH 5.

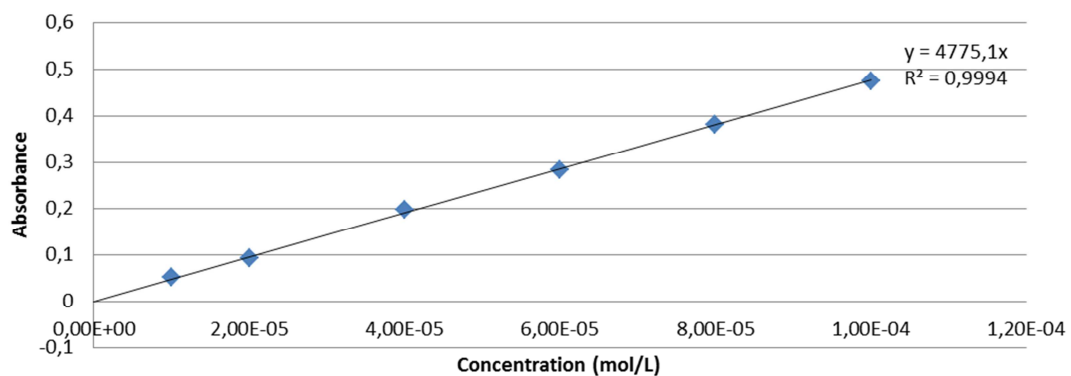


Figure 120 : Courbe de calibration d'un dosage au TBO

Les absorbances sont reportées sur cette courbe de calibration (Figure 120) et on peut alors distinguer la concentration en TBO en solution, puis son nombre de moles et enfin la densité surfacique de groupements en surface d'un échantillon.

ANNEXE F

ARTICLE SUR LES TRANSISTORS A BASE DE GRAPHENE

Realization of a single layer graphene field effect transistor for electrochemical detection and biosensors

Julien Pezard^a, Mihai Lazar^a, Naoufel Haddour^a, Claude Botella^b, Pascale Roy^c, Jean-Blaise Brubach^c, D. Wysocka^b, Bertrand Vilquin^b, Pedro Rojo Romeo^b, François Buret^a

^aLaboratoire AMPERE, Ecole Centrale de Lyon, 36 avenue Guy de Collongue 69134 Ecully cedex France

^bINL, Ecole Centrale de Lyon, 36 avenue Guy de Collongue 69134 Ecully cedex France

^cLigne Ailes, synchrotron Soleil, L'orme des merisiers, Saint-Aubin - BP 48 91192 Gif-sur-Yvette cedex

Abstract

A study in temperature of 4H-SiC annealing determined the optimal conditions to obtain suitable single layer graphene using high temperature rf-induction furnace. Planar structure of GFET (Graphene Field-Effect Transistors) has been fabricated, with source and drain contacts formed directly on the graphene by lift-off of Ti/Pt electron-beam evaporated layers. For the insulated gate, SiO₂ and Al₂O₃ layers have been deposited by sputtering and ALD. The graphene layer has been identified and confirmed by electrical measurements and physico-chemical analyses as Atomic Force Microscopy, X-Ray Photoelectron Spectroscopy and Infra-Red reflection measurements. Our graphene layers have been also investigated for electrochemical detection with Fe₃(CN)₆, Ru(NH₃)₆ and Catechol. Graphene electrodes have also tested as transducers for biosensors.

Keywords: Graphene, transistor, sensor ;

1. Introduction

Graphene is a semiconductor with zero band gap, linear energy dispersion, and linear density of electronic states. One of its most important properties is a strong electric field effect which leads to an electrostatically tunable carrier density in the range of $n < 1 \cdot 10^{14} \text{ cm}^{-2}$. Together with high carrier mobility for both electrons and holes (as high as $10000 \text{ cm}^2/\text{V.s}$ at room temperature), graphene is considered as a possible material for a future high-speed field effect transistor (FET). In another hand, this material is also used for low noise electrodes in the field of electrochemistry for applications in medicine, environment and industry. A study toward graphene utilization for transistor channel has already been published [1]. A normally-off switch has been obtained with source and drain contacts made on p-type SiC mesa-etched layers up to the SiC n-type layer where the graphene layer has been created. An SiO_2 functional oxide has been deposited on the graphene and patterned for the gate metal contact. This transistor structure allowing drain current modulation with gate voltage, relatively high lateral on-state current is obtained up to 0.1 A/mm (4 mA for a $40 \mu\text{m}$ channel width). The switching on seems to not be due to the p/n junction between the p+-source and the n-layer below the gate, this junction being polarized in reverse bias and thus the channel conduction is due to the presence of the graphene layer.

For the presented work in this paper, a new structure of the transistor has been established, simplified, to better understand the mechanisms involved by the presence of the graphene layer during transistor electrical operation. We focused on the synthesized graphene by complementary physico-chemical and electrical analyses. The investigation of graphene has been extended to characterize its behavior for electrochemical detection of well-known molecules such as $\text{Fe}_3(\text{CN})_6$, $\text{Ru}(\text{NH}_3)_6$ and Catechol. The use of this layer as a transducer for biodetection has finally been studied with functionalization of this surface with the use of Acetylcholinesterase adsorbed on chitosan.

2. Experimental

2.1. Instruments

X-Ray Photoelectron Spectroscopy (XPS) measurements were carried out in a Vacuum Science Workshop (VSW) chamber equipped with a monochromatic X-ray source $\text{AlK}\alpha$ at 1486.6 eV . The optical properties were checked using Infra-Red reflection measurements at the AILES (Advanced Infrared Line Exploited for Spectroscopy) infrared beamline, Synchrotron SOLEIL. Exploiting the high brightness of the synchrotron radiation, IR spectra in the $5000\sim 600 \text{ cm}^{-1}$ range (1 cm^{-1} resolution) were obtained using a Bruker E55 Fourier transform spectrometer under vacuum combined with a bolometer.

A potentiostat OGS 100 from Orignalys was used for electrochemical characterizations. Acetylcholinesterase from *Electrophorus electricus* (electric eel, $200\text{-}1000 \text{ U/mg}$), chitosan, ferricyanide, ferrocyanide, ruthenium hexamine, catechol and Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (PBS) 10X were bought from Sigma Aldrich.

Current-voltage electrical measurements were performed at room temperature on the transistors with a probe station and a Keithley 4200 Source Measure Unit (SMU). The graphene layers were also electrically analyzed on TLM (Transfer Length Method) structures fabricated during the technological process of the transistors.

2.2. Synthesis of graphene and transistor structure

4H-SiC commercial substrates with n-type epilayers were provided from CREE™ [2]. Samples of 1 cm² were cut from the substrate. Graphene was synthesized on the (0001-Si) face of the 4H-SiC n-type epilayers by high temperature annealings in a JIPELEC rf-induction furnace [3] for 30 minutes under argon at atmospheric pressure. In our previous work [1], graphene was synthesized on 4H-SiC by the use of an electron beam in ultra-high vacuum (UHV). Considering the lack of precision upon the temperature of annealing in these conditions, we turned to an alternative solution using a JIPELEC rf-induction furnace, able to go at high temperatures (>1700 °C) under inert atmosphere (Ar).

For the present work, using the high temperature JIPELEC rf- furnace allows us to realize a study of the temperature of annealing to determine the optimal conditions to obtain suitable single layer graphene. Annealings between 1250 and 1650 °C were made on different samples. After finding the optimal condition for graphene synthesis a run of GFET (Graphene Field-Effect Transistors) has been fabricated. The simplified structure is presented in Figure 1. We note the lack of the SiC p-type layer under the drain and source contacts we utilized in our previous runs. We obtain a planar structure where source and drain contacts are formed directly on the graphene created on the n-type low doped 4H-SiC epilayer. After the graphene is formed on the whole surface, the channel has been patterned with AZ5214 photoresist. This photoresist has been used as mask to etch (Reactive Ion Etching in O₂ chemistry) the graphene layer outside the channel area. The electrode contacts have been patterned by lift-off of Ti/Pt electron-beam evaporated layers. A Scanning Electron Microscopy (SEM) image of the transistors at this technological step is presented in Figure 2. The source and drain metal pads are surrounded by the channel graphene layer (black layer). For the insulated gate, SiO₂ and Al₂O₃ layers have been deposited by Si sputtering on Ar/O₂ plasma and by ALD (atomic layer deposition).

2.3. Preparation of carbon acetylcholinesterase/chitosan/graphene electrode

A solution of chitosan 0.5 % in acetic acid adjusted to pH 5 with NaOH was prepared and deposited on the surface of graphene. The droplet deposited was let to dry in ambient room. The deposited layer was rinsed with PBS 10% three times before deposition of a 10 mg/mL of acetylcholinesterase (500 U) in PBS. After being completely dry, the samples were stored in PBS 10 X solutions at 4 °C.

3. Results

3.1. I-V modulations

Figure 3 presents $I_{DS}(V_{DS}, V_{GS})$ current-voltage characterizations obtained on fabricated GFET with a 90 μm width and 16 μm graphene channel length. Drain current modulation with gate voltage in the $I_D(V_{DS})$ curves is observed. The on-state current for the lateral conduction channel is lower compared to the previous fabricated transistors [1]. As we utilized a different method to create the graphene, the lower current is due to the decreasing of the graphene channel thickness and then to the increasing of the layer resistance. The electrical and physico-chemical characteristics of this graphene layer are detailed here after.

3.2. Transfer Length Method (TLM)

I-V measurements were performed on TLM structures fabricated together with the GFET transistors. The resistance extracted from the I-V measurements between two adjacent 200 μm width Ti/Pt contacts pads is plotted versus the distance between pads in Figure 4. A linear variation is obtained for the extracted resistance versus the distance between contact pads. From the slope curve we determine a sheet resistance of the graphene layer of 13.9 Ω/sq . By estimating the thickness ~ 1 nm we obtain a graphene resistivity of $13.9 \cdot 10^{-9} \Omega\cdot\text{m}$ which is near the best results observed for this layer ($\sim 100 \cdot 10^{-9} \Omega\cdot\text{m}$ by Murali et al. [5]).

3.3. Roughness

In order to confirm the presence of the graphene layer in surface by physico-chemical analyses we started by Atomic Force Microscopy (AFM) measurements on SiC annealed samples. We identified a linear increasing of the SiC surface roughness with the annealing temperature, from 1350°C to 1650°C (Figure 5). The Si sublimation from the SiC surface seems therefore to clearly occur with probably carbonic layer generation as graphene.

3.4. XPS

XPS analysis of graphene samples showed signs of presence of graphene through the C_{1s} peak revealing a transient layer with covalent bonds between the graphene surface and the SiC substrate (Figure 6). The intense peak observed corresponds to Si-C bonds, whereas the shouldering at 285 eV indicates the presence of C-C bonds of a graphene layer [4].

3.5. Infra-red reflectometry

The reflectance $R(\omega)$ of graphene on SiC sample and SiC substrate were investigated at 10K (Figure 7). The ratio between the two reflectance values is dominated by a minimum around 5500 cm^{-1} . This behavior was already observed with an undoped monolayer of graphene deposited on SiO_2/Si substrate [6] with a similar variation of the reflectance by 15%.

3.6. Electrochemical properties of graphene

The goal of our study is to utilize the graphene layer as a transducer for biodetection on SiC which is also a biocompatible material. For electrochemical determination of the properties of the graphene layer synthesized, a platinum contact was deposited at the top of the 1 cm² graphene-SiC sample.

3.6.1. Potential range

Bo et al. [7], offered a graphene sample that gave a potential window from -1 V to 1 V in PBS. Here we propose a graphene sample that gives -1.4 to 1.39 V in KCl and -1.4 to 1.25 V in PBS 10 X windows. This larger range is adapted for a wider possibility to detect species at higher potentials.

3.6.2. Capacitive effect

Graphene electrodes were characterized by cyclic voltammetry in KCl 0.1 M solution and PBS 10X in order to determine the double layer capacitance. The presented electrode gave a $410 \pm 90 \mu\text{F}/\text{cm}^2$ (Figure 8) which is ten times lower than what was observed in Wang et al. publication ($3.73 \text{ mF}/\text{cm}^2$) [8].

3.6.3. Active area

Active area was observed for cyclic voltammetry for 1 mM in PBS 10X solutions of ferrocyanide, ruthenium hexamine and catechol. Randles Sevcik equation was used with corresponding diffusion coefficients to estimate the active area of the electrodes. A mean value of 95 % of the surface was determined to be active for these species, which means the surface is rather homogeneous and nearly all of it contributes to electronic exchanges.

3.6.4. Kinetics of graphene surfaces

Apparent global kinetic parameter was determined with Butler Volmer equation for cyclic voltammetries.

Ferricyanide gave a k^0 of $6.85 \pm 1.63 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$, Ruthenium hexamine $8.70 \pm 1.90 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$ and catechol gave $2.69 \pm 0.472 \cdot 10^{-3} \text{ cm/s}$ (Figure 9).

We observe a ten times higher value of kinetics for our electrodes compared to Wang et al.[8], nevertheless our graphene keeps the same behavior as what was observed by Valota et al. [9], where k^0 is $1.2 \times 10^{-3} \text{ cm.s}^{-1}$.

This difference must come from the inherent nature of graphene. Wang et al. obtained theirs by reduction of oxidized graphene, whereas Valota et al. got it from graphite exfoliation. The synthesis method of graphene in this paper gave similar results as can be observed for exfoliated graphene. One can also note that from these results, ruthenium hexamine seems more favorable to oxidation than ferricyanide and catechol, which could lead to consider negative charges naturally present on the surface of the electrode.

3.6.5. AChE functionalized graphene acetylthiocholine detection

Graphene electrodes were used in chronoamperometry at 850 mV for detection of acetylthiocholine in PBS 10X. From this experiment a reaction speed of $i_{\max} = 4.20 \cdot 10^{-6}$ A, a Michaelis Menten constant of $0.179 \pm 17.6 \cdot 10^{-4}$ mM, a limit of detection of $6.98 \cdot 10^{-6}$ M, a sensitivity of 5.91 ± 0.67 and linearity range of $6.98 \cdot 10^{-6}$ to $0.55 \cdot 10^{-3}$ were obtained. (Figure 10).

Functionalized graphene gave a limit of detection of 0.8 mM in the work of Kesik and al. with a limit of detection of 0.09 mM for modified surfaces with carbon nanotubes [10]. Their linearity range was obtained between 0.05 mM and 8 mM.

Our sensitivity is relatively near literature as it is around $10 \mu\text{A}/\text{mM}$ for Du et al. [11], with a limited linear ranged at 0.5 mM. Li et al. [12] showed a Michaelis constant of 0.77 mM for detection of acetylthiocholine on a graphene electrode.

In our study, we aimed observing direct behavior of graphene functionalized with acetylcholinesterase. In order to improve the results obtained, a further study will be aimed by adding mediators with the deposition of the enzymes.

Conclusion

GFET transistors have been fabricated with a planar and basic structure in order to study the graphene channel conduction. Drain current is modulated with gate voltage obtaining a relatively low on-state lateral current due to the decreasing of the graphene channel thickness and then to the increasing of the layer resistance. Graphene layer has been synthesized by controlled high temperature rf-induction furnace annealing of 4H-SiC samples, under Ar at atmospheric pressure. Nevertheless TLM electrical measurements estimate a quite low resistivity of the graphene layers, the presence of the graphene layers being also confirmed by XPS and IR reflection measurements. These same graphene layers investigated for electrochemical detection and electrode transducers for biosensors allow us to obtain values close to the literature and even better in terms of detection limit, complementary ranges and sensitivity.

Acknowledgements

The authors gratefully thank NanoLyon Technological Platform team for technological means and for training our staff.

References

- [1] J. Pezard, J. Lhuillier, Z. El-Friakh, V. Soulière, B. Vilquin, P. Rojo Romeo, M. Lazar, "Realization and characterization of Graphene on 4H-SiC for Tera-Hertz transistors", *Materials Science Forum* Vols 821-823 (2015) pp 941-944
- [2] www.cree.com
- [3] Laurent Ottaviani, Mihai Lazar, Marie-Laure Locatelli, Dominique Planson, Jean-Pierre Chante, Christiane Dubois, "Characteristics of aluminum-implanted 6H-SiC samples after different thermal treatments", *Materials Science and Engineering: B*, Volume 90, Issue 3, 29 March 2002, Pages 301-308
- [4] D. Ferrah, J. Penelas, C. Bottela, G. Grenet, and A. Ouerghi, "X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and diffraction (XPD) study of a few layers of graphene on 6H-SiC (0001)," *Surf. Sci.*, 2013.
- [5] R. Murali, K. Brenner, Y. Yang, T. Beck, and J. D. Meindl, "Resistivity of graphene nanoribbon interconnects," *IEEE Electron Device Lett.*, vol. 30, no. 6, pp. 611–613, 2009.
- [6] Z.Q. Li, E.A. Henriksen, Z. Jiang, Z. Hao, M.C. Martin, P. Kim, H.L. Stormer, D. Basov, "Dirac charge dynamics in graphene by infrared spectroscopy », *Nature Physics* 4, 532 (2008).
- [7] Y Bo, H Yang, Y Hu, T Yao, S Huang -, " A novel electrochemical DNA biosensor based on graphene and polyaniline nanowires", *Electrochimica Acta*, 2011, Volume 56, Issue 6, 15 February 2011, Pages 2676–2681
- [8] Y. Wang, Y. Li, L. Tang, J. Lu, and J. Li, "Application of graphene-modified electrode for selective detection of dopamine," *Electrochem. commun.*, vol. 11, no. 4, pp. 889–892, 2009.
- [9] A. T. Valota, I. a Kinloch, K. S. Novoselov, C. Casiraghi, A. Eckmann, E. W. Hill, and R. a W. Dryfe, "Electrochemical behavior of monolayer and bilayer graphene," *ACS Nano*, vol. 5, pp. 8809–8815, 2011.
- [10] M. Kesik, F. Ekiz Kanik, J. Turan, M. Kolb, S. Timur, M. Bahadir, and L. Toppare, "An acetylcholinesterase biosensor based on a conducting polymer using multiwalled carbon nanotubes for amperometric detection of organophosphorous pesticides," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 205, pp. 39–49, Dec. 2014.
- [11] D. Du, X. Huang, J. Cai, and A. Zhang, "Comparison of pesticide sensitivity by electrochemical test based on acetylcholinesterase biosensor," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 23, pp. 285–289, 2007.
- [12] Y. Li and G. Han, "Ionic liquid-functionalized graphene for fabricating an amperometric acetylcholinesterase biosensor," *Analyst*, vol. 137, no. August, p. 3160, 2012.

Figures caption

Figure 1: Structure of the fabricated GFET.

Figure 2: GFET source and drain Ti-Pt contacts surrounded by the graphene layer recorded during technological fabrication process.

Figure 3: Current-voltage characterizations of a 90 μm width and 16 μm length transistor. . For the Id- V_{GS} characteristic (right), $V_{\text{DS}} = 5\text{V}$

Figure 4: Resistance extracted from I-V TLM measurements made from Pt/Ti contact pads at the surface of graphene versus the distance between the pads.

Figure 5: AFM measurements on SiC samples annealed to create graphene layer. Roughness measured in SiC surface increases linearly from 1350 to 1650°C. Micrographs after 1650°C annealing are presented.

Figure 6: XPS spectrum of C1s core level of a sample of graphene on SiC annealed at 1550 °C under argon atmosphere (red) compared to SiC signal (black).

Figure 7: The reflectance $R(\omega)$ of the graphene layers normalized by that of the SiC substrate $R_{\text{SiC}}(\omega)$ measured at 10K.

Figure 8: Cyclic voltammetry at different scan rates in KCl 0.1 M (a) and PBS 10X (b)

Figure 9: Cyclic voltammetry at different scan rates in Ferricyanide (a), Ruthenium Hexamine (b) and Catechol (c) in PBS 10X

Figure 10: Chronoamperometry for detection of Acetylthiocholine at 800 mV (a) and Michaelis-Menten curve (b)

Figure 1

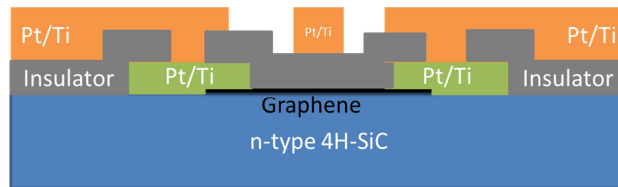


Figure 2

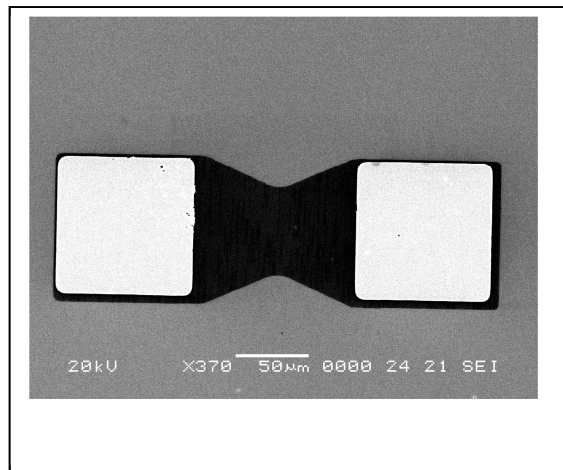


Figure 3

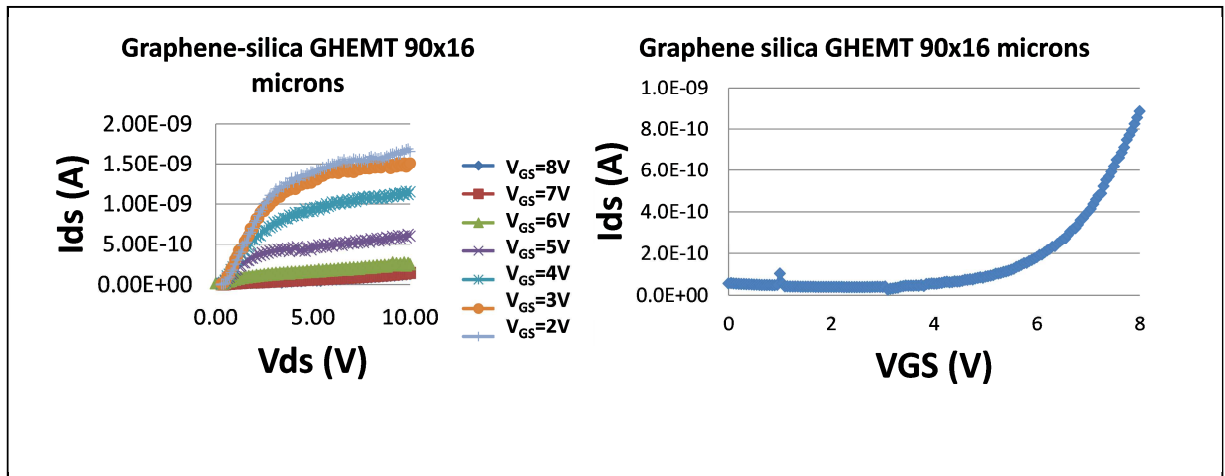


Figure 4

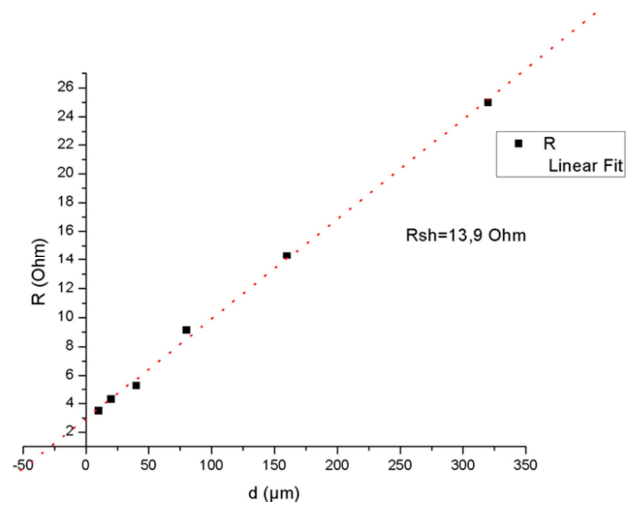


Figure 5

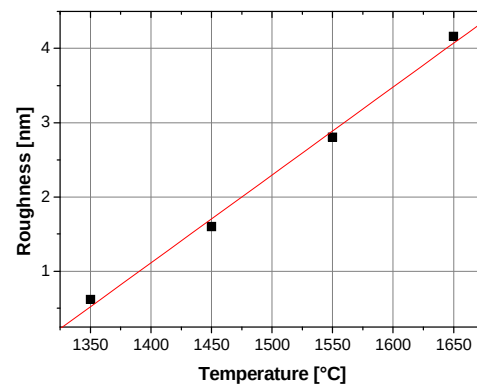
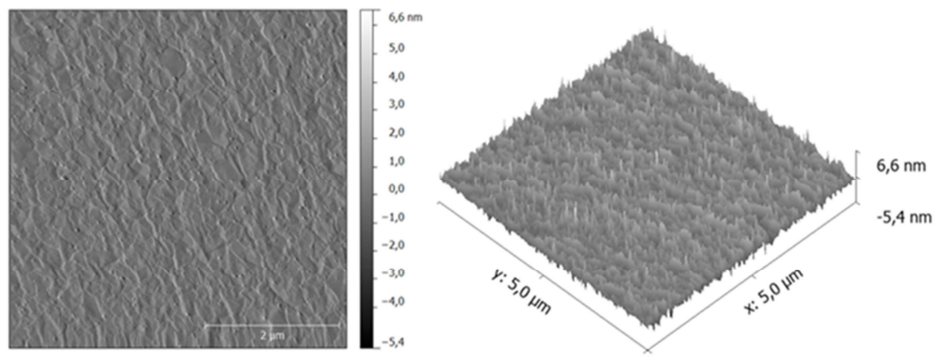


Figure 6

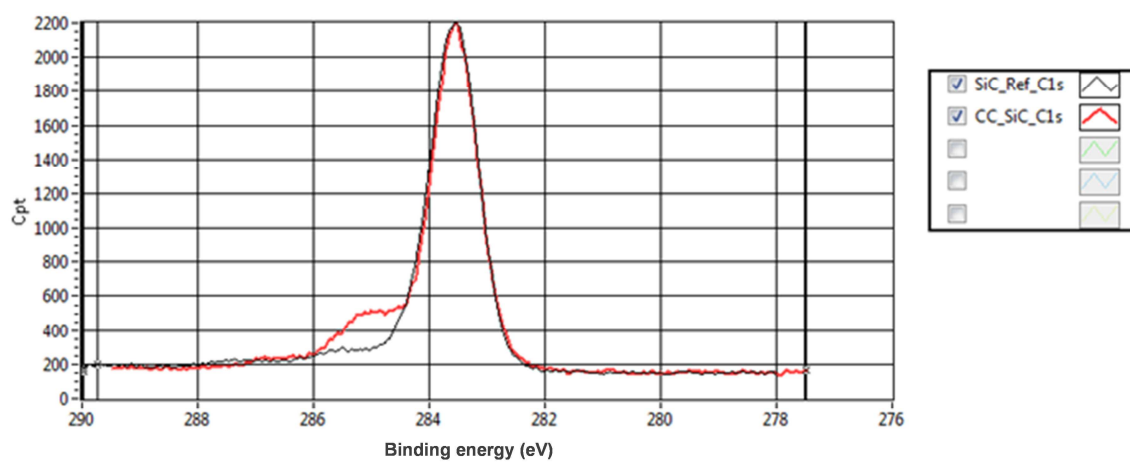


Figure 7

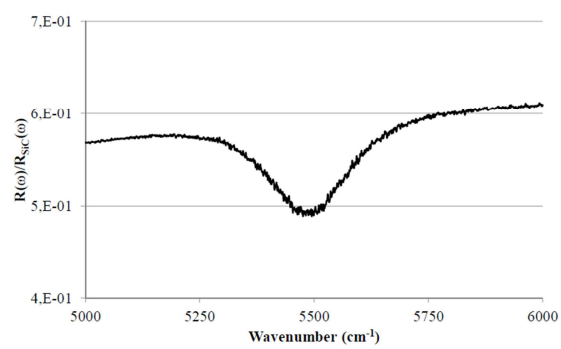
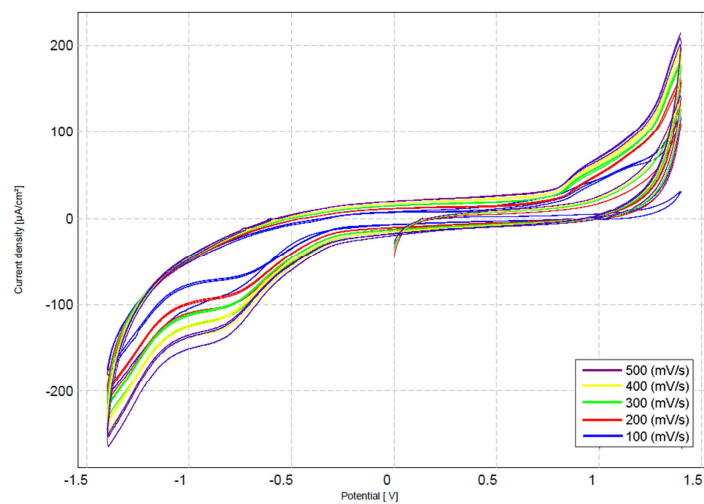


Figure 8

a



b

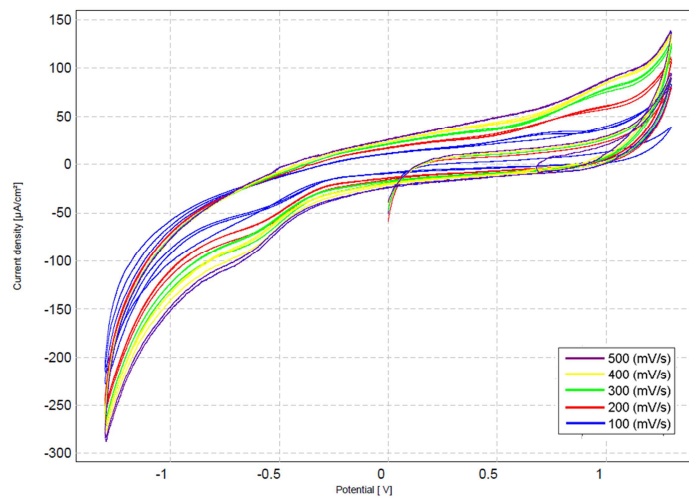


Figure 9

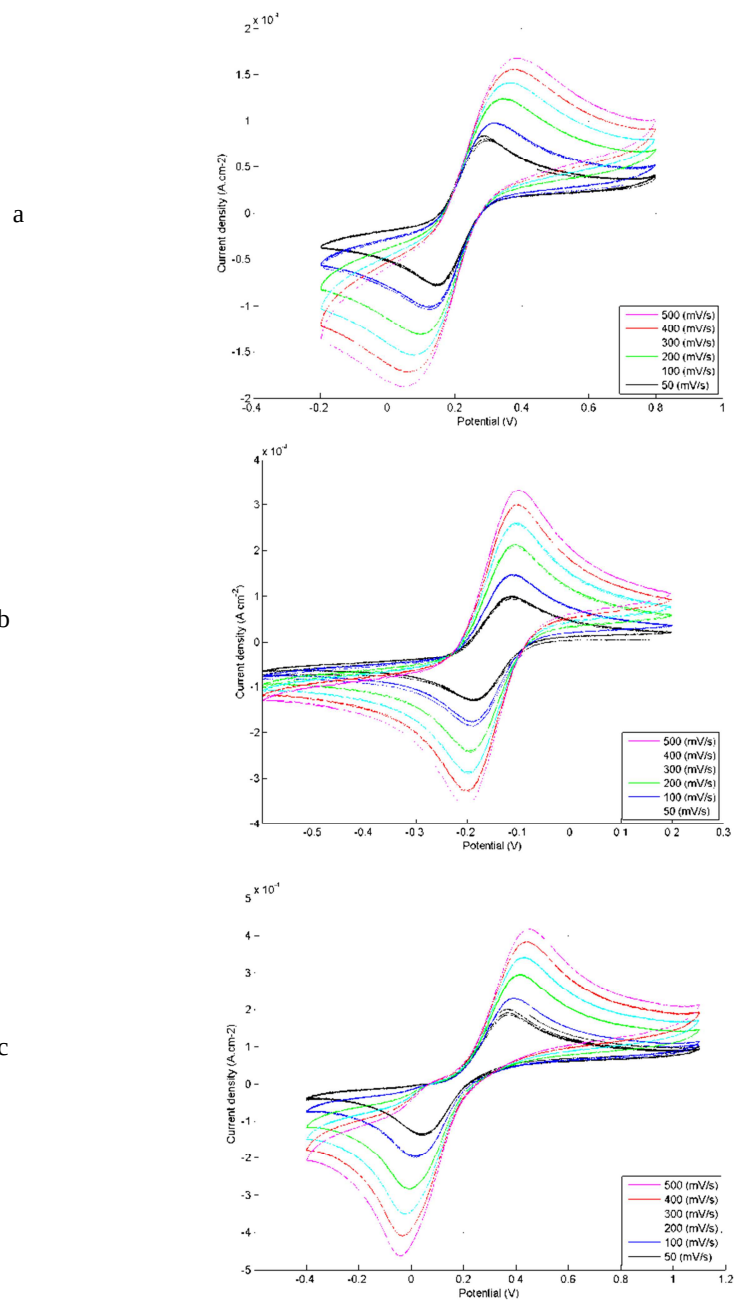
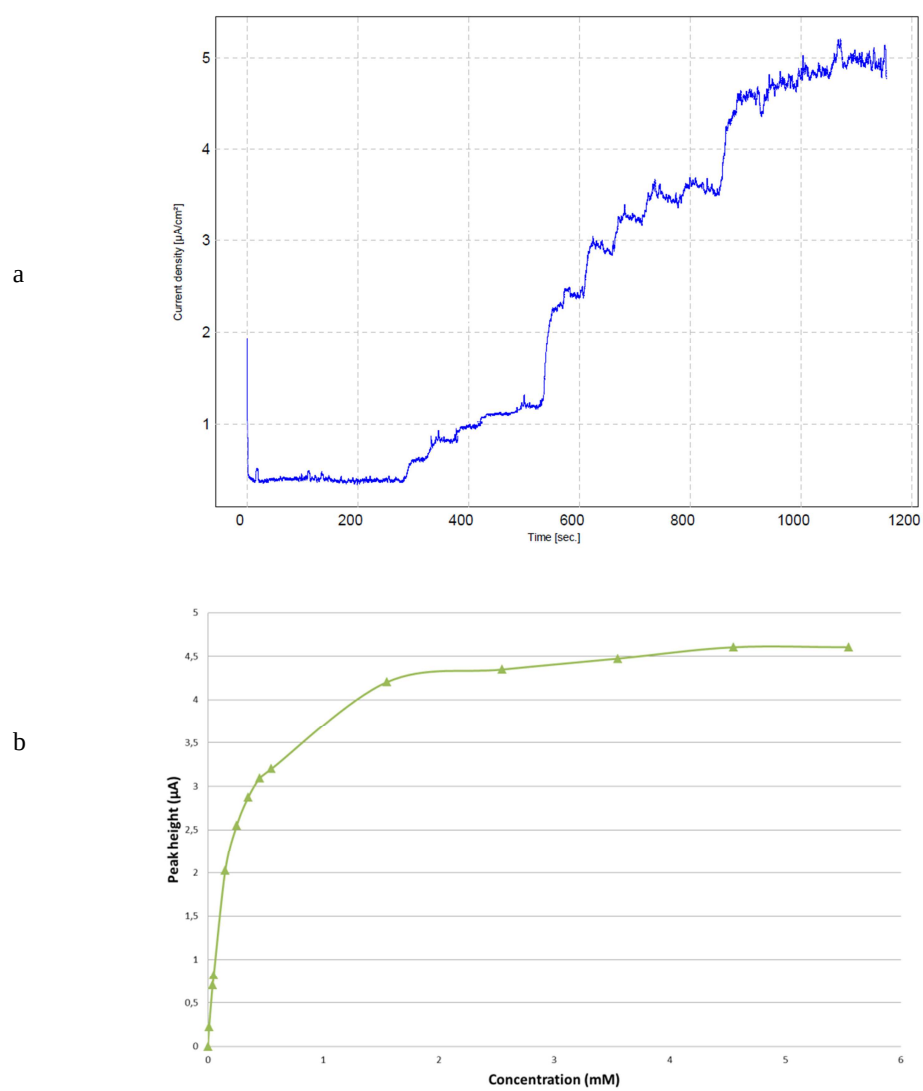


Figure 10



RÉFÉRENCES

- [1] C. Jimenez-Jorquera, J. Orozco, and A. Baldi, "ISFET based microsensors for environmental monitoring,," *Sensors (Basel)*, vol. 10, no. 1, pp. 61–83, Jan. 2010.
- [2] M. Yuqing, G. Jianguo, and C. Jianrong, "Ion sensitive field effect transducer-based biosensors,," *Biotechnol. Adv.*, vol. 21, no. 6, pp. 527–534, Sep. 2003.
- [3] M. J. Schöning and A. Poghossian, "Recent advances in biologically sensitive field-effect transistors (BioFETs),," *Analyst*, vol. 127, no. 9, pp. 1137–1151, Sep. 2002.
- [4] H.-J. Jang, J. Ahn, M.-G. Kim, Y.-B. Shin, M. Jeun, W.-J. Cho, and K. H. Lee, "Electrical signaling of enzyme-linked immunosorbent assays with an ion-sensitive field-effect transistor.,," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 64C, pp. 318–323, Sep. 2014.
- [5] K.-W. Kao, Y.-W. Su, Y.-S. Lu, S. Gwo, and J. A. Yeh, "Calcium Ion Detection Using Miniaturized InN-based Ion Sensitive Field Effect Transistors,," *Int. J. Autom. Smart Technol.*, vol. 2, no. 1, pp. 49–54, Mar. 2012.
- [6] H. Wu, J. Wang, X. Kang, C. Wang, D. Wang, J. Liu, I. a Aksay, and Y. Lin, "Glucose biosensor based on immobilization of glucose oxidase in platinum nanoparticles/graphene/chitosan nanocomposite film.,," *Talanta*, vol. 80, no. 1, pp. 403–6, Nov. 2009.
- [7] a. Uhlig, U. Schnakenberg, and R. Hintsche, "Highly sensitive heavy metal analysis on platinum- and gold-ultramicroelectrode arrays,," *Electroanalysis*, vol. 9, no. 2, pp. 125–129, 1997.

-
- [8] M. a. El Mhammedi, M. Achak, and M. Bakasse, "Evaluation of a platinum electrode modified with hydroxyapatite in the lead(II) determination in a square wave voltammetric procedure," *Arab. J. Chem.*, vol. 6, no. 3, pp. 299–305, 2013.
- [9] M. E. Sandison, "Micro- and nano-electrode arrays for electroanalytical sensing," 2010.
- [10] G. L. Turdean, I. C. Popescu, L. Oniciu, and D. R. Thevenot, "Sensitive detection of organophosphorus pesticides using a needle type amperometric acetylcholinesterase-based bioelectrode. Thiocholine electrochemistry and immobilised enzyme inhibition.," *J. Enzyme Inhib. Med. Chem.*, vol. 17, no. 2, pp. 107–115, 2002.
- [11] K. Pharmaceuticals, "Environmental Chemistry," *Environ. Toxicol.*, vol. 26, no. 4, pp. 573–582, 2007.
- [12] J. Clavilier, R. Faure, G. Guinet, and R. Durand, "Preparation of monocrystalline Pt microelectrodes and electrochemical study of the plane surfaces cut in the direction of the {111} and {110} planes," *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, vol. 107, no. 1, pp. 205–209, 1979.
- [13] D. G. Wierse, M. M. Lohrengel, and J. W. Schultze, "Electrochemical properties of sulfur adsorbed on gold electrodes," *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, vol. 92, no. 2, pp. 121–131, 1978.
- [14] H. Zhang, Z. Meng, Q. Wang, and J. Zheng, "A novel glucose biosensor based on direct electrochemistry of glucose oxidase incorporated in biomediated gold nanoparticles–carbon nanotubes composite film," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 158, no. 1, pp. 23–27, Nov. 2011.
- [15] X. Luo, J. Xu, Y. Du, and H. Chen, "A glucose biosensor based on chitosan–glucose oxidase–gold nanoparticles biocomposite formed by one-step electrodeposition," *Anal. Biochem.*, 2004.
- [16] D. Li, Q. He, Y. Cui, L. Duan, and J. Li, "Immobilization of glucose oxidase

onto gold nanoparticles with enhanced thermostability.,” *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, vol. 355, no. 2, pp. 488–93, Apr. 2007.

- [17] C. Shan, H. Yang, D. Han, Q. Zhang, A. Ivaska, and L. Niu, “Graphene/AuNPs/chitosan nanocomposites film for glucose biosensing,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, pp. 1070–1074, 2010.
- [18] C. Shan, H. Yang, D. Han, Q. Zhang, A. Ivaska, and L. Niu, “Graphene/AuNPs/chitosan nanocomposites film for glucose biosensing,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, no. 5, pp. 1070–4, Jan. 2010.
- [19] K. Wang, J. Lu, and L. Zhuang, “Direct determination of diffusion coefficient for borohydride anions in alkaline solutions using chronoamperometry with spherical Au electrodes,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 585, no. 2, pp. 191–196, Nov. 2005.
- [20] M. Badihi-Mossberg, V. Buchner, and J. Rishpon, “Electrochemical biosensors for pollutants in the environment,” *Electroanalysis*, vol. 19, no. 19–20, pp. 2015–2028, 2007.
- [21] T. J. Davies, R. R. Moore, C. E. Banks, and R. G. Compton, “The cyclic voltammetric response of electrochemically heterogeneous surfaces,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 574, no. 1, pp. 123–152, Dec. 2004.
- [22] L. Gugoasa, R.-I. Staden, A. Ciucu, and J. Staden, “Influence of Physical Immobilization of dsDNA on Carbon Based Matrices of Electrochemical Sensors,” *Curr. Pharm. Anal.*, vol. 10, no. 1, pp. 20–29, Jan. 2014.
- [23] J.-H. Yang, K.-S. Song, S. Kuga, and H. Kawarada, “Characterization of Direct Immobilized Probe DNA on Partially Functionalized Diamond Solution-Gate Field-Effect Transistors,” *Jpn. J. Appl. Phys.*, vol. 45, no. No. 42, pp. L1114–L1117, Oct. 2006.
- [24] S. Libertino, V. Aiello, A. Scandurra, M. Renis, and F. Sinatra, “Immobilization of the Enzyme Glucose Oxidase on Both Bulk and Porous SiO₂ Surfaces,” *Sensors*, vol. 8, no. 9, pp. 5637–5648, Sep. 2008.

-
- [25] C. Moina and G. Ybarra, *Advances in Immunoassay Technology*. InTech, 2012.
- [26] R. Pal, M. Yang, R. Lin, B. N. Johnson, N. Srivastava, S. Z. Razzacki, K. J. Chomistek, D. C. Heldsinger, R. M. Haque, V. M. Ugaz, P. K. Thwar, Z. Chen, K. Alfano, M. B. Yim, M. Krishnan, a O. Fuller, R. G. Larson, D. T. Burke, and M. a Burns, "An integrated microfluidic device for influenza and other genetic analyses.," *Lab Chip*, vol. 5, no. 10, pp. 1024–32, Oct. 2005.
- [27] P. J. F. Harris †, "Fullerene-related structure of commercial glassy carbons," *Philos. Mag.*, vol. 84, no. 29, pp. 3159–3167, 2004.
- [28] B. J. Sanghavi and A. K. Srivastava, "Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen and tramadol using Dowex50wx2 and gold nanoparticles modified glassy carbon paste electrode," *Anal. Chim. Acta*, vol. 706, no. 2, pp. 246–254, 2011.
- [29] B. J. Sanghavi and A. K. Srivastava, "Simultaneous voltammetric determination of acetaminophen, aspirin and caffeine using an in situ surfactant-modified multiwalled carbon nanotube paste electrode," *Electrochim. Acta*, vol. 55, no. 28, pp. 8638–8648, 2010.
- [30] B. J. Sanghavi and A. K. Srivastava, "Adsorptive stripping differential pulse voltammetric determination of venlafaxine and desvenlafaxine employing Nafion-carbon nanotube composite glassy carbon electrode," *Electrochim. Acta*, vol. 56, no. 11, pp. 4188–4196, 2011.
- [31] A. M. Lyons, "Photodefinable carbon films: Control of image quality," *Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures*, vol. 3. p. 447, 1985.
- [32] J. Kim, X. Song, K. Kinoshita, M. Madou, and R. Whiteb, "Electrochemical Studies of Carbon Films from Pyrolyzed Photoresist," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 145, no. 7, p. 2314, 1998.

-
- [33] S. T. Larsen, a. Argyraki, L. Amato, S. Tanzi, S. S. Keller, N. Rozlosnik, and R. Taboryski, "Pyrolyzed Photoresist Electrodes for Integration in Microfluidic Chips for Transmitter Detection from Biological Cells," *ECS Electrochem. Lett.*, vol. 2, no. 5, pp. B5–B7, 2013.
- [34] A. Dector, N. Arjona, M. Guerra-Balcázar, J. P. Esquivel, F. J. Del Campo, N. Sabaté, J. Ledesma-García, and L. G. Arriaga, "Non-Conventional Electrochemical Techniques for Assembly of Electrodes on Glassy Carbon-Like PPF Materials and Their Use in a Glucose Microfluidic Fuel-Cell," *Fuel Cells*, vol. 14, pp. 810–817, 2014.
- [35] A. Mardegan, M. Cettolin, R. Kamath, V. Vascotto, A. M. Stortini, P. Ugo, P. Scopece, M. Madou, and L. M. Moretto, "Speciation of Trace Levels of Chromium with Bismuth Modified Pyrolyzed Photoresist Carbon Electrodes," *Electroanalysis*, vol. 27, pp. 128–134, 2015.
- [36] F. J. del Campo, P. Godignon, L. Aldous, E. Pausas, M. Sarrión, M. Zabala, R. Prehn, and R. G. Compton, "Fabrication of PPF Electrodes by a Rapid Thermal Process," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 158, no. 1, p. H63, 2011.
- [37] V. Řeháček, I. Hotový, M. Vojs, M. Kotlár, T. Kups, and L. Spiess, "Pyrolyzed Photoresist Film Electrodes for Application in Electroanalysis," *J. Electr. Eng.*, vol. 62, no. 1, Jan. 2011.
- [38] J. A. Lee, S. Hwang, J. Kwak, S. Il Park, S. S. Lee, and K. C. Lee, "An electrochemical impedance biosensor with aptamer-modified pyrolyzed carbon electrode for label-free protein detection," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 129, no. 1, pp. 372–379, Jan. 2008.
- [39] H. Xu, K. Malladi, C. Wang, L. Kulinsky, M. Song, and M. Madou, "Carbon post-microarrays for glucose sensors," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 23, pp. 1637–1644, 2008.
- [40] M. K. Zachek, P. Takmakov, B. Moody, R. M. Wightman, and G. S. McCarty, "Simultaneous decoupled detection of dopamine and oxygen using pyrolyzed carbon microarrays and fast-scan cyclic voltammetry," *Anal. Chem.*, vol. 81, no. 15, pp. 6258–6265, 2009.

-
- [41] A. J. Downard, D. J. Garrett, and E. S. Q. Tan, "Microscale Patterning of Organic Films on Carbon Surfaces Using Electrochemistry and Soft Lithography †," no. 20, pp. 10739–10746, 2006.
- [42] S. Ranganathan and R. L. McCreery, "Electroanalytical Performance of Carbon Films with Near-Atomic Flatness," *Anal. Chem.*, vol. 73, no. 5, pp. 893–900, Mar. 2001.
- [43] J. Li, S. Guo, Y. Zhai, and E. Wang, "High-sensitivity determination of lead and cadmium based on the Nafion-graphene composite film," *Anal. Chim. Acta*, vol. 649, pp. 196–201, 2009.
- [44] C. Shan, H. Yang, J. Song, D. Han, A. Ivaska, and L. Niu, "Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Graphene Direct Electrochemistry of Glucose Oxidase and Biosensing for Glucose Based on Graphene," *Anal. Chem.*, 2009.
- [45] Y.-R. Kim, S. Bong, Y.-J. Kang, Y. Yang, R. K. Mahajan, J. S. Kim, and H. Kim, "Electrochemical detection of dopamine in the presence of ascorbic acid using graphene modified electrodes," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, no. 10, pp. 2366–2369, 2010.
- [46] Y. Wang, Y. Li, L. Tang, J. Lu, and J. Li, "Application of graphene-modified electrode for selective detection of dopamine," *Electrochem. commun.*, vol. 11, no. 4, pp. 889–892, 2009.
- [47] C. Shan, H. Yang, D. Han, Q. Zhang, A. Ivaska, and L. Niu, "Electrochemical determination of NADH and ethanol based on ionic liquid-functionalized graphene," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 25, pp. 1504–1508, 2010.
- [48] T. T. Baby, S. S. J. Aravind, T. Arockiadoss, R. B. Rakhi, and S. Ramaprabhu, "Metal decorated graphene nanosheets as immobilization matrix for amperometric glucose biosensor," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 145, no. 1, pp. 71–77, 2010.

-
- [49] X. Chen, H. Ye, W. Wang, B. Qiu, Z. Lin, and G. Chen, "Electrochemiluminescence biosensor for glucose based on Graphene/Nafion/GOD film modified glassy carbon electrode," *Electroanalysis*, vol. 22, pp. 2347–2352, 2010.
- [50] Y. Shao, S. Zhang, M. H. Engelhard, G. Li, G. Shao, Y. Wang, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, "Nitrogen-doped graphene and its electrochemical applications," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 20, p. 7491, 2010.
- [51] Y. Song, K. Qu, C. Zhao, J. Ren, and X. Qu, "Graphene oxide: Intrinsic peroxidase catalytic activity and its application to glucose detection," *Adv. Mater.*, vol. 22, pp. 2206–2210, 2010.
- [52] M. Pumera, A. Ambrosi, A. Bonanni, E. L. K. Chng, and H. L. Poh, "Graphene for electrochemical sensing and biosensing," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 29, no. 9, pp. 954–965, Oct. 2010.
- [53] F. Schedin, a K. Geim, S. V Morozov, E. W. Hill, P. Blake, M. I. Katsnelson, and K. S. Novoselov, "Detection of individual gas molecules adsorbed on graphene.," *Nat. Mater.*, vol. 6, no. 9, pp. 652–655, 2007.
- [54] J. W. Strojek, M. C. Granger, G. M. Swain, T. Dallas, and M. W. Holtz, "Enhanced Signal-to-Background Ratios in Voltammetric Measurements Made at Diamond Thin-Film Electrochemical Interfaces.," *Anal. Chem.*, vol. 68, pp. 2031–2037, 1996.
- [55] M. C. Granger, "The Influence of Surface Interactions on the Reversibility of Ferri/Ferrocyanide at Boron-Doped Diamond Thin-Film Electrodes," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 146, no. 12, p. 4551, 1999.
- [56] O. El Tall, N. Jaffrezic-Renault, M. Sigaud, and O. Vittori, "Anodic stripping voltammetry of heavy metals at nanocrystalline boron-doped diamond electrode," *Electroanalysis*, vol. 19, pp. 1152–1159, 2007.
- [57] M. a. Witek and G. M. Swain, "Aliphatic polyamine oxidation response variability and stability at boron-doped diamond thin-film electrodes as studied

-
- by flow-injection analysis,” *Anal. Chim. Acta*, vol. 440, pp. 119–129, 2001.
- [58] T. N. Rao, B. V. Sarada, D. a. Tryk, and a. Fujishima, “Electroanalytical study of sulfa drugs at diamond electrodes and their determination by HPLC with amperometric detection,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 491, pp. 175–181, 2000.
- [59] C. E. Nebel, B. Rezek, D. Shin, H. Uetsuka, and N. Yang, “Diamond for bio-sensor applications,” *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 40, no. 20, pp. 6443–6466, 2007.
- [60] M. A. Dayton, A. G. Ewing, and R. M. Wightman, “Diffusion processes measured at microvoltammetric electrodes in brain tissue,” *Journal of Electroanalytical Chemistry and Interfacial Electrochemistry*, vol. 146, no. 1, pp. 189–200, 1983.
- [61] J. E. Baur and R. M. Wightman, “Microcylinder electrodes as sensitive detectors for high-efficiency, high-speed liquid chromatography.,” *J. Chromatogr.*, vol. 482, no. 1, pp. 65–73, 1989.
- [62] D. Wipf, A. C. Michael, and R. M. Wightman, “Microdisk electrodes Part II . Fast-scan cyclic voltammetry with very smaI1 electrodes,” *J. Electroanal. Chem.*, vol. 269, pp. 15–25, 1989.
- [63] A. W. Bott, “Mass Transport,” vol. 4, pp. 104–109, 1973.
- [64] W. Caudill, J. Howell, and R. Wightman, “Flow rate independent amperometric cell,” *Anal. Chem.*, vol. 54, no. 14, pp. 2532–2535, Dec. 1982.
- [65] F. Belal and J. L. Anderson, “Flow injection analysis of three N-substituted phenothiazine drugs with amperometric detection at a carbon fibre array electrode,” *Analyst*, vol. 110, no. 12, p. 1493, Dec. 1985.
- [66] a J. Gawron, R. S. Martin, and S. M. Lunte, “Fabrication and evaluation of a carbon-based dual-electrode detector for poly(dimethylsiloxane) electrophoresis chips.,” *Electrophoresis*, vol. 22, no. 2, pp. 242–8, Jan. 2001.

-
- [67] J. Wang, S. Li, J. Mo, J. Porter, M. M. Musameh, and P. K. Dasgupta, "Oxygen-independent poly(dimethylsiloxane)-based carbon-paste glucose biosensors," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 17, no. 11–12, pp. 999–1003, Dec. 2002.
- [68] J. Wang, L. Fang, and D. Lopez, "Amperometric biosensor for phenols based on a tyrosinase-graphite-epoxy biocomposite.," *Analyst*, vol. 119, no. March, pp. 455–458, 1994.
- [69] M. BRUN, "Electrodes nanocomposites pour applications en microfluidique," 2011.
- [70] J. Wang, "Stripping analysis at bismuth electrodes: A review," *Electroanalysis*, vol. 17, no. 15–16, pp. 1341–1346, 2005.
- [71] Y. Shao, J. Wang, H. Wu, J. Liu, I. A. Aksay, and Y. Lin, "Graphene Based Electrochemical Sensors and Biosensors: A Review," *Electroanalysis*, vol. 22, no. 10, pp. 1027–1036, May 2010.
- [72] E. Majid, K. B. Male, and J. H. T. Luong, "Boron doped diamond biosensor for detection of Escherichia coli.," *J. Agric. Food Chem.*, vol. 56, no. 17, pp. 7691–5, Sep. 2008.
- [73] P. Skladal, "Detection of organophosphate and carbamate pesticides using disposable biosensors based on chemically modified electrodes and immobilized cholinesterase," *Anal. Chim. Acta*, vol. 269, pp. 281–287, 1992.
- [74] M. P. Bucur, B. Bucur, and G. L. Radu, "Critical evaluation of acetylthiocholine iodide and acetylthiocholine chloride as substrates for amperometric biosensors based on acetylcholinesterase," *Sensors (Switzerland)*, vol. 13, pp. 1603–1613, 2013.
- [75] I. Lauermann, R. Memming, and D. Meissner, "Electrochemical properties of silicon carbide," ... *Electrochem. ...*, vol. 144, no. 1, 1997.

-
- [76] M. Kesik, F. Ekiz Kanik, J. Turan, M. Kolb, S. Timur, M. Bahadir, and L. Toppare, "An acetylcholinesterase biosensor based on a conducting polymer using multiwalled carbon nanotubes for amperometric detection of organophosphorous pesticides," *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 205, pp. 39–49, Dec. 2014.
- [77] G. S. Nunes, D. Barceló, and B. S. Grabaric, "Evaluation of a highly sensitive amperometric biosensor with low cholinesterase charge immobilized on a chemically modified carbon paste electrode for trace determination of carbamates in fruit , vegetable and water samples," vol. 399, pp. 37–49, 1999.
- [78] U. Yogeswaran and S. Chen, "A Review on the Electrochemical Sensors and Biosensors Composed of Nanowires as Sensing Material," pp. 290–313, 2008.
- [79] P. C. Pandey, S. Upadhyay, H. C. Pathak, C. M. D. Pandey, and I. Tiwari, "Acetylthiocholine/acetylcholine and thiocholine/choline electrochemical biosensors/sensors based on an organically modified sol-gel glass enzyme reactor and graphite paste electrode," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 62, pp. 109–116, 2000.
- [80] R. L. McCreery, "Advanced carbon electrode materials for molecular electrochemistry," *Chem. Rev.*, vol. 108, no. 7, pp. 2646–2687, 2008.
- [81] R. S. Martin, A. J. Gawron, S. M. Lunte, B. a. Fogarty, F. B. Regan, and E. Dempsey, "Carbon paste-based electrochemical detectors for microchip capillary electrophoresis/electrochemistry," *Analyst*, vol. 126, no. 3, pp. 277–280, 2001.
- [82] Y. Li and G. Han, "Ionic liquid-functionalized graphene for fabricating an amperometric acetylcholinesterase biosensor," *Analyst*, vol. 137, no. August, p. 3160, 2012.
- [83] B. K. Jena and C. R. Raj, "Highly sensitive and selective electrochemical detection of sub-ppb level chromium(VI) using nano-sized gold particle," *Talanta*, vol. 76, no. 1, pp. 161–165, 2008.

-
- [84] R. Baron, B. Šljukić, C. Salter, a. Crossley, and R. G. Compton, "Electrochemical detection of arsenic on a gold nanoparticle array," *Russ. J. Phys. Chem. A*, vol. 81, no. 9, pp. 1443–1447, 2007.
- [85] L. Xiao, G. G. Wildgoose, and R. G. Compton, "Sensitive electrochemical detection of arsenic (III) using gold nanoparticle modified carbon nanotubes via anodic stripping voltammetry," *Anal. Chim. Acta*, vol. 620, no. 1–2, pp. 44–49, 2008.
- [86] X. Dai and R. G. Compton, "Gold nanoparticle modified electrodes show a reduced interference by Cu(II) in the detection of As(III) using anodic stripping voltammetry," *Electroanalysis*, vol. 17, no. 14, pp. 1325–1330, 2005.
- [87] S. Fierro, T. Watanabe, K. Akai, M. Yamanuki, and Y. Einaga, "Anodic Stripping Voltammetry of Se⁴⁺ on Gold-Modified Boron-Doped Diamond Electrodes," *Int. J. Electrochem.*, vol. 2012, pp. 1–5, 2012.
- [88] S. Laschi, I. Palchetti, and M. Mascini, "Gold-based screen-printed sensor for detection of trace lead," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 114, no. 1, pp. 460–465, 2006.
- [89] IMAGINENANO, "NANOBIO&MED 2011," in *Mass Spectrom*, 2011.
- [90] F. Kurniawan, "New Analytical Applications of Gold Nanoparticles," p. 145, 2008.
- [91] M. Pohanka, M. Hrabínová, J. Fusek, D. Hynek, V. Adam, J. Hubálek, and R. Kizek, "Electrochemical Biosensor Based on Acetylcholinesterase and Indoxylacetate for Assay of Neurotoxic Compounds Represented by Paraoxon," vol. 7, pp. 50–57, 2012.
- [92] V. Dhull, A. Gahlaut, N. Dilbaghi, and V. Hooda, "Acetylcholinesterase biosensors for electrochemical detection of organophosphorus compounds: A review," *Biochem. Res. Int.*, vol. 2013, 2013.

-
- [93] J. Wang, "Sol – gel materials for electrochemical biosensors," vol. 399, no. April, pp. 21–27, 1999.
- [94] R. Pauliukaite, M. Schoenleber, P. Vadgama, and C. M. a Brett, "Development of electrochemical biosensors based on sol-gel enzyme encapsulation and protective polymer membranes.," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 390, no. 4, pp. 1121–31, Feb. 2008.
- [95] M. E. Ghica and C. M. A. Brett, "Development of Novel Glucose and Pyruvate Biosensors at Poly(Neutral Red) Modified Carbon Film Electrodes. Application to Natural Samples," *Electroanalysis*, vol. 18, no. 8, pp. 748–756, Apr. 2006.
- [96] C. Agnès, S. Ruffinatto, E. Delbarre, A. Roget, J.-C. Arnault, F. Omnès, and P. Mailley, "New one step functionalization of polycrystalline diamond films using amine derivatives," *IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.*, vol. 16, no. 1, p. 012001, 2010.
- [97] R. Manai, E. Scorsone, L. Rousseau, F. Ghassemi, M. Possas Abreu, G. Lissorgues, N. Tremillon, H. Ginisty, J.-C. Arnault, E. Tuccori, M. Bernabei, K. Cali, K. C. Persaud, and P. Bergonzo, "Grafting odorant binding proteins on diamond bio-MEMS," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 60, pp. 311–317, 2014.
- [98] S. Sadow, *Silicon Carbide Biotechnology: A Biocompatible Semiconductor for Advanced Biomedical Devices and Applications*. 2011.
- [99] J. A. Lely, "Sublimation process for manufacturing silicon carbide crystals," 492-385, 1955.
- [100] Y. M. Tairov and V. Tsvetkov, "Investigation of growth processes of ingots of silicon carbide single crystals," *J. Cryst. Growth*, vol. 43, no. 2, pp. 209–212, Mar. 1978.
- [101] T. Kimoto, A. Itoh, and H. Matsunami, "Step-Controlled Epitaxial Growth of

-
- High-Quality SiC Layers,” *Phys. status solidi*, vol. 202, no. 1, pp. 247–262, Jul. 1997.
- [102] S. CONTRERAS and J. CAMASSEL, “Matériaux semiconducteurs à grand gap : le carbure de silicium (SiC),” *Tech. l’ingénieur Technol. des Dispos. actifs*, vol. base docum, no. ref. article : e1990, 2014.
- [103] F. NALLET, “SiC pour l’électronique de puissance du futur,” *Tech. l’ingénieur. Génie électrique*, 2002.
- [104] M. Florian, L. E. De Carvalho, C. Alberto, and A. Cairo, *Ceramic Materials - Progress in Modern Ceramics*. InTech, 2012.
- [105] E. Nickel and M. Nichols, *Mineral Reference Manual*. 1991.
- [106] S. Sze and K. Ng, *Physics of semiconductor devices*. 2006.
- [107] S. Rumyantsev, “MATERIALS PROPERTIES OF NITRIDES: SUMMARY,” *Int. J. ...*, 2004.
- [108] F. Nallet, “Conception, Réalisation et Caractérisation d’un composant limiteur de courant en carbure de silicium,” 2001.
- [109] F. NALLET, “SiC pour l’électronique de puissance du futur,” *Tech. l’ingénieur. Génie électrique*, 2002.
- [110] M. E. Levinshtein, S. L. Rumyantsev, and M. Shur, *Properties of advanced semiconductor materials : GaN, AlN, InN, BN, SiC, SiGe*. Wiley, 2001.
- [111] F. Laariedh, “Technologie d ’ intégration monolithique des JFET latéraux,” 2013.
- [112] B. J. Baliga, “Semiconductors for high-voltage, vertical channel field-effect transistors,” *J. Appl. Phys.*, vol. 53, no. 3, p. 1759, 1982.

-
- [113] E. Johnson, "Physical limitations on frequency and power parameters of transistors," in *IRE International Convention Record*, vol. 13, pp. 27–34.
- [114] R. W. Keyes, "Figure of merit for semiconductors for high-speed switches," *Proc. IEEE*, vol. 60, no. 2, pp. 225–225, 1972.
- [115] L. Tolbert and B. Ozpineci, "Wide bandgap semiconductors for utility applications," ..., pp. 1–5, 2003.
- [116] M. Rami, "Caractérisation, modélisation et intégration de JFET de puissance en carbure de silicium dans des convertisseurs haute température et haute tension," 2001.
- [117] R. P. Elliot, *Constitution of Binary Alloys*. McGraw-Hill, New York, 1965.
- [118] A. Rzany and M. Schaldach, "Smart Material Silicon Carbide: Reduced Activation of Cells and Proteins on a-SiC:H-coated Stainless Steel," *Prog. Biomed. Res.*, vol. 6, no. 5, pp. 182–194, Oct. 2001.
- [119] R. Yakimova, R. M. Petoral, G. R. Yazdi, C. Vahlberg, a Lloyd Spetz, and K. Uvdal, "Surface functionalization and biomedical applications based on SiC," *J. Phys. D. Appl. Phys.*, vol. 40, no. 20, pp. 6435–6442, Oct. 2007.
- [120] S. Santavirta, M. Takagi, L. Nordsletten, A. Anttila, R. Lappalainen, and Y. T. Kontinen, "Biocompatibility of silicon carbide in colony formation test in vitro. A promising new ceramic THR implant coating material.," *Arch. Orthop. Trauma Surg.*, vol. 118, no. 1–2, pp. 89–91, Jan. 1998.
- [121] a. M. Lyons, "Photodefinable carbon films: Control of image quality," *J. Vac. Sci. Technol. B Microelectron. Nanom. Struct.*, vol. 3, no. 1, p. 447, Jan. 1985.
- [122] K. V Vassilevski, N. G. Wright, I. P. Nikitina, A. B. Horsfall, A. G. O'Neill, M. J. Uren, K. P. Hilton, A. G. Masterton, A. J. Hydes, and C. M. Johnson, "Protection of selectively implanted and patterned silicon carbide surfaces with

-
- graphite capping layer during post-implantation annealing,” *Semicond. Sci. Technol.*, vol. 20, no. 3, pp. 271–278, Mar. 2005.
- [123] O. J. A. Schueller, S. T. Brittain, and G. M. Whitesides, “Fabrication of glassy carbon microstructures by soft lithography,” no. April 1998, pp. 125–139, 1999.
- [124] R. Kostecki, B. Schnyder, D. Alliata, X. Song, K. Kinoshita, and R. Kötz, “Surface studies of carbon films from pyrolyzed photoresist,” *Thin Solid Films*, vol. 396, no. 1–2, pp. 36–43, Sep. 2001.
- [125] A. Singh, J. Jayaram, M. Madou, and S. Akbar, “Pyrolysis of Negative Photoresists to Fabricate Carbon Structures for Microelectromechanical Systems and Electrochemical Applications,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 149, no. 3, p. E78, 2002.
- [126] N. Hebert, B. Snyder, and R. McCreery, “Performance of pyrolyzed photoresist carbon films in a microchip capillary electrophoresis device with sinusoidal voltammetric detection,” *Anal. Chem.*, 2003.
- [127] C. Fairman, S. S. C. Yu, G. Liu, A. J. Downard, D. B. Hibbert, and J. J. Gooding, “Exploration of variables in the fabrication of pyrolysed photoresist,” *J. Solid State Electrochem.*, vol. 12, no. 10, pp. 1357–1365, Jun. 2008.
- [128] S. Ranganathan and R. McCreery, “Photoresist Derived Carbon for Microelectromechanical Systems and Electrochemical Applications,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 147, no. 1, pp. 277–282, 2000.
- [129] L. G. Cançado, K. Takai, T. Enoki, M. Endo, Y. a. Kim, H. Mizusaki, a. Jorio, L. N. Coelho, R. Magalhães-Paniago, and M. a. Pimenta, “General equation for the determination of the crystallite size L_{a} of nanographite by Raman spectroscopy,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 88, no. 16, p. 163106, 2006.
- [130] J. C. Slonczewski and P. R. Weiss, “Band structure of graphite,” *Phys. Rev.*, vol. 109, no. 2, pp. 272–279, Jan. 1958.

-
- [131] P. R. Wallace, “The band theory of graphite,” *Phys. Rev.*, vol. 71, pp. 622–634, 1947.
- [132] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, Y. Zhang, S. V. Dubonos, I. V. Grigorieva, and A. A. Firsov, “Electric field effect in atomically thin carbon films,” *Science* (80-.), vol. 306, pp. 666–669, 2004.
- [133] K. S. Novoselov, D. Jiang, F. Schedin, T. J. Booth, V. V. Khotkevich, S. V. Morozov, and A. K. Geim, “Two-dimensional atomic crystals,” *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, vol. 102, no. 30, pp. 10451–10453, 2005.
- [134] K. S. Novoselov, A. K. Geim, S. V. Morozov, D. Jiang, M. I. Katsnelson, I. V. Grigorieva, S. V. Dubonos, and A. A. Firsov, “Two-dimensional gas of massless Dirac fermions in graphene,” *Nature*, vol. 438, no. November, pp. 197–200, 2005.
- [135] Y. Zhang, Y. Tan, H. L. Stormer, and P. Kim, “ $\hbar = h / 2 \pi$,” pp. 1–5.
- [136] K. S. Novoselov, V. I. Fal’ko, L. Colombo, P. R. Gellert, M. G. Schwab, and K. Kim, “A roadmap for graphene,” *Nature*, vol. 490, no. 7419, pp. 192–200, Oct. 2012.
- [137] H. C. Schniepp, J. L. Li, M. J. McAllister, H. Sai, M. Herrera-Alonson, D. H. Adamson, R. K. Prud’homme, R. Car, D. A. Seville, and I. A. Aksay, “Functionalized single graphene sheets derived from splitting graphite oxide,” *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, pp. 8535–8539, 2006.
- [138] X. Li, C. W. Magnuson, A. Venugopal, J. An, J. W. Suk, B. Han, M. Borysiak, W. Cai, A. Velamakanni, Y. Zhu, L. Fu, E. M. Vogel, E. Voelkl, L. Colombo, and R. S. Ruoff, “Graphene films with large domain size by a two-step chemical vapor deposition process,” p. 13, 2010.
- [139] Y. Lee, S. Bae, H. Jang, S. Jang, S.-E. Zhu, S. H. Sim, Y. Il Song, B. H. Hong,

and J.-H. Ahn, “supporting info Wafer-Scale Synthesis and Transfer of graphene films,” *Nano Lett.*, vol. 10, pp. 490–3, 2010.

- [140] S. Bae, H. Kim, Y. Lee, X. Xu, J.-S. Park, Y. Zheng, J. Balakrishnan, T. Lei, H. R. Kim, Y. Il Song, Y.-J. Kim, K. S. Kim, B. Ozyilmaz, J.-H. Ahn, B. H. Hong, and S. Iijima, “Roll-to-roll production of 30-inch graphene films for transparent electrodes,” *Nat. Nanotechnol.*, vol. 5, no. August, pp. 574–578, 2010.
- [141] C. Berger, Z. Song, T. Li, X. Li, A. Y. Ogbazghi, R. Feng, Z. Dai, A. N. Marchenkov, E. H. Conrad, P. N. First, and W. a de Heer, “Ultrathin Epitaxial Graphite: 2D Electron Gas Properties and a Route toward Graphene-based Nanoelectronics,” vol. 108, no. 0001, pp. 19912–19916, 2004.
- [142] W. a. de Heer, C. Berger, M. Ruan, M. Sprinkle, X. Li, Y. Hu, B. Zhang, J. Hankinson, and E. H. Conrad, “Large area and structured epitaxial graphene produced by confinement controlled sublimation of silicon carbide,” 2011.
- [143] K. V Emtsev, A. Bostwick, K. Horn, J. Jobst, G. L. Kellogg, L. Ley, J. L. McChesney, T. Ohta, S. a Reshanov, J. Röhl, E. Rotenberg, A. K. Schmid, D. Waldmann, H. B. Weber, and T. Seyller, “Towards wafer-size graphene layers by atmospheric pressure graphitization of silicon carbide,” *Nature materials*, vol. 8, no. 3, pp. 203–7, Mar-2009.
- [144] E. Rollings, G.-H. Gweon, S. Y. Zhou, B. S. Mun, J. L. McChesney, B. S. Hussain, a. V. Fedorov, P. N. First, W. a. de Heer, and a. Lanzara, “Synthesis and characterization of atomically thin graphite films on a silicon carbide substrate,” *J. Phys. Chem. Solids*, vol. 67, no. 9–10, pp. 2172–2177, Sep. 2006.
- [145] K. V. Emtsev, F. Speck, T. Seyller, and L. Ley, “Interaction, growth, and ordering of epitaxial graphene on SiC{0001} surfaces: A comparative photoelectron spectroscopy study,” *Phys. Rev. B*, vol. 77, no. 15, p. 155303, Apr. 2008.
- [146] W. a. de Heer, C. Berger, X. Wu, P. N. First, E. H. Conrad, X. Li, T. Li, M. Sprinkle, J. Hass, M. L. Sadowski, M. Potemski, and G. Martinez, “Epitaxial graphene,” *Solid State Commun.*, vol. 143, no. 1–2, pp. 92–100, Jul. 2007.

-
- [147] J. Borysiuk, R. Bożek, W. Strupiński, and J. M. Baranowski, “Graphene Growth on C and Si-Face of 4H-SiC – TEM and AFM Studies,” *Mater. Sci. Forum*, vol. 645–648, pp. 577–580, Apr. 2010.
- [148] N. Camara, G. Rius, J.-R. Huntzinger, a. Tiberj, L. Magaud, N. Mestres, P. Godignon, and J. Camassel, “Early stage formation of graphene on the C face of 6H-SiC,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 93, no. 26, p. 263102, 2008.
- [149] a. Castaing, O. J. Guy, M. Lodzinski, and S. P. Wilks, “Investigation of Graphene Growth on 4H-SiC,” *Mater. Sci. Forum*, vol. 615–617, pp. 223–226, 2009.
- [150] A. Ouerghi, M. G. Silly, M. Marangolo, C. Mathieu, and M. Eddrief, “Large-Area and High-Quality Epitaxial Graphene on Off -Axis SiC Wafers,” no. JUNE, 2012.
- [151] Y.-M. Lin, C. Dimitrakopoulos, K. a. Jenkins, D. B. Farmer, H.-Y. Chiu, A. Grill, and P. Avouris, “100 GHz Transistors from Wafer Scale Epitaxial Graphene,” 2010.
- [152] O. J. Guy, G. Burwell, Z. Tehrani, A. Castaing, K. A. Walker, and S. H. Doak, “Graphene Nano-Biosensors for Detection of Cancer Risk,” *Mater. Sci. Forum*, vol. 711, pp. 246–252, Jan. 2012.
- [153] O. J. Guy, A. Castaing, Z. Tehrani, and S. H. Doak, “Fabrication of ultrasensitive graphene nanobiosensors,” in *2010 IEEE Sensors*, 2010, pp. 907–912.
- [154] S. Teixeira, G. Burwell, A. Castaing, D. Gonzalez, R. S. Conlan, and O. J. Guy, “Epitaxial graphene immunosensor for human chorionic gonadotropin,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 190, pp. 723–729, Jan. 2014.
- [155] J. Cai, P. Ruffieux, R. Jaafar, M. Bieri, T. Braun, S. Blankenburg, M. Muoth, A. P. Seitsonen, M. Saleh, X. Feng, K. Müllen, and R. Fasel, “Atomically

-
- precise bottom-up fabrication of graphene nanoribbons.,” *Nature*, vol. 466, no. July, pp. 470–473, 2010.
- [156] J. Park, W. C. Mitchel, L. Grazulis, H. E. Smith, K. G. Eyink, J. J. Boeckl, D. H. Tomich, S. D. Pacley, and J. E. Hoelscher, “Epitaxial graphene growth by Carbon Molecular Beam Epitaxy (CMBE),” *Adv. Mater.*, vol. 22, pp. 4140–4145, 2010.
- [157] S. Dhar, a. R. Barman, G. X. Ni, X. Wang, X. F. Xu, Y. Zheng, S. Tripathy, Ariando, a. Rusydi, K. P. Loh, M. Rubhausen, a. H. C. Neto, B. Zyilmaz, and T. Venkatesan, “A new route to graphene layers by selective laser ablation,” *AIP Adv.*, vol. 1, no. 2011, pp. 0–8, 2011.
- [158] A. S. Mayorov, R. V. Gorbachev, S. V. Morozov, L. Britnell, R. Jalil, L. a. Ponomarenko, P. Blake, K. S. Novoselov, K. Watanabe, T. Taniguchi, and a. K. Geim, “Micrometer-scale ballistic transport in encapsulated graphene at room temperature,” *Nano Lett.*, vol. 11, pp. 2396–2399, 2011.
- [159] C. Lee, X. Wei, J. W. Kysar, and J. Hone, “Measurement of the elastic properties and intrinsic strength of monolayer graphene.,” *Science*, vol. 321, pp. 385–388, 2008.
- [160] A. a Balandin, “Thermal properties of graphene and nanostructured carbon materials.,” *Nat. Mater.*, vol. 10, pp. 569–581, 2011.
- [161] J. S. Bunch, S. S. Verbridge, J. S. Alden, A. M. Van Der Zande, J. M. Parpia, H. G. Craighead, and P. L. McEuen, “Impermeable atomic membranes from graphene sheets,” *Nano Lett.*, vol. 8, pp. 2458–2462, 2008.
- [162] J. Moser, a. Barreiro, and a. Bachtold, “Current-induced cleaning of graphene,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 91, pp. 4–6, 2007.
- [163] A. Bianco, “Graphene: Safe or toxic? the two faces of the medal,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 52, no. 19, pp. 4986–4997, 2013.

-
- [164] J. C. Angus, "Growth of Diamond Seed Crystals by Vapor Deposition," *J. Appl. Phys.*, vol. 39, no. 6, p. 2915, 1968.
- [165] B. V. Derjaguin and D. V. Fedoseev, "Physico-chemical synthesis of diamond in metastable range," *Progress in Surface Science*, vol. 45, pp. 71–80, 1994.
- [166] M. K. Hassan, "Plasma Enhanced Chemical Vapor Deposition and Electrical Characterization of Diamond-Like Carbon Thin Films," 2007.
- [167] E. Gheeraert, P. Gonon, a. Deneuville, L. Abello, and G. Lucazeau, "Effect of boron incorporation on the quality of MPCVD diamond films," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 2, no. 5–7, pp. 742–745, 1993.
- [168] C. Agnes, "Le diamant dopé au bore pour la bioélectronique: Biocompatibilité et Fonctionnalisation," 2011.
- [169] K. Ushizawa, K. Watanabe, T. Ando, I. Sakaguchi, M. Nishitani-Gamo, Y. Sato, and H. Kanda, "Boron concentration dependence of Raman spectra on {100} and {111} facets of B-doped CVD diamond," *Diam. Relat. Mater.*, vol. 7, no. 11–12, pp. 1719–1722, 1998.
- [170] H. Kawarada, Y. Yokota, Y. Mori, K. Nishimura, and a. Hiraki, "Cathodoluminescence and electroluminescence of undoped and boron-doped diamond formed by plasma chemical vapor deposition," *J. Appl. Phys.*, vol. 67, no. 2, p. 983, 1990.
- [171] W. Gajewski, P. Achatz, O. a. Williams, K. Haenen, E. Bustarret, M. Stutzmann, and J. a. Garrido, "Electronic and optical properties of boron-doped nanocrystalline diamond films," *Phys. Rev. B*, vol. 79, no. 4, p. 045206, 2009.
- [172] C. Li, E. T. Thostenson, and T.-W. Chou, "Sensors and actuators based on carbon nanotubes and their composites: A review," *Compos. Sci. Technol.*, vol. 68, no. 6, pp. 1227–1249, May 2008.

-
- [173] C. M. F. Calixto, R. K. Mendes, A. C. de Oliveira, L. A. Ramos, P. Cervini, and É. T. G. Cavalheiro, "Development of graphite-polymer composites as electrode materials," *Mater. Res.*, vol. 10, no. 2, pp. 109–114, Jun. 2007.
- [174] X. Gong and W. Wen, "Polydimethylsiloxane-based conducting composites and their applications in microfluidic chip fabrication," *Biomicrofluidics*, vol. 3, pp. 1–14, 2009.
- [175] V. J. Larmagnac Alexandre, Eggenberger Samuel, Janossy H, "Stretchable electronics based on Ag-PDMS composites.," *Sci Rep.*, pp. 1–7, 2014.
- [176] S. Stankovich, D. a Dikin, G. H. B. Dommett, K. M. Kohlhaas, E. J. Zimney, E. a Stach, R. D. Piner, S. T. Nguyen, and R. S. Ruoff, "Graphene-based composite materials.," *Nature*, vol. 442, no. 7100, pp. 282–6, Jul. 2006.
- [177] M. M. Barsan, E. M. Pinto, M. Florescu, and C. M. a Brett, "Development and characterization of a new conducting carbon composite electrode.," *Anal. Chim. Acta*, vol. 635, no. 1, pp. 71–8, Mar. 2009.
- [178] F. Céspedes, "New materials for electrochemical sensing II. Rigid carbon–polymer biocomposites," *TrAC Trends Anal. Chem.*, vol. 19, no. 4, pp. 276–285, Apr. 2000.
- [179] S. Ramirez-Garcia, S. Alegret, F. Céspedes, and R. J. Forster, "Carbon composite electrodes: surface and electrochemical properties," *Analyst*, vol. 127, no. 11, pp. 1512–1519, Oct. 2002.
- [180] S. Ramírez-García, F. Céspedes, and S. Alegret, "Development of Conducting Composite Materials for Electrochemical Sensing in Organic Media," *Electroanalysis*, vol. 13, no. 7, pp. 529–535, May 2001.
- [181] C. Fu, W. Yang, X. Chen, and D. G. Evans, "Direct electrochemistry of glucose oxidase on a graphite nanosheet–Nafion composite film modified electrode," *Electrochem. commun.*, vol. 11, no. 5, pp. 997–1000, May 2009.

-
- [182] H. Wakiwaka, M. Kodani, M. Endo, and Y. Takahashi, "Non-contact measurement of CNT compounding ratio in composite material by eddy current method," *Sensors Actuators A Phys.*, vol. 129, no. 1–2, pp. 235–238, May 2006.
- [183] M. Gerard, A. Chaubey, and B. D. Malhotra, "Application of conducting polymers to biosensors.," *Biosensors & bioelectronics*, vol. 17, no. 5, pp. 345–59, May-2002.
- [184] W. Lu, H. Lin, D. Wu, and G. Chen, "Unsaturated polyester resin/graphite nanosheet conducting composites with a low percolation threshold," *Polymer (Guildf)*, vol. 47, pp. 4440–4444, 2006.
- [185] D. Bodas and C. Khan-Malek, "Hydrophilization and hydrophobic recovery of PDMS by oxygen plasma and chemical treatment-An SEM investigation," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 123, pp. 368–373, 2007.
- [186] N. Koo, M. Bender, U. Plachetka, A. Fuchs, T. Wahlbrink, J. Bolten, and H. Kurz, "Improved mold fabrication for the definition of high quality nanopatterns by Soft UV-Nanoimprint lithography using diluted PDMS material," *Microelectron. Eng.*, vol. 84, pp. 904–908, 2007.
- [187] C. Li, E. T. Thostenson, and T. W. Chou, "Dominant role of tunneling resistance in the electrical conductivity of carbon nanotube-based composites," *Appl. Phys. Lett.*, vol. 91, no. 2007, pp. 7–10, 2007.
- [188] X. Niu, S. Peng, L. Liu, W. Wen, and P. Sheng, "Characterizing and patterning of PDMS-based conducting composites," *Adv. Mater.*, vol. 19, pp. 2682–2686, 2007.
- [189] M. Brun, J. F. Chateaux, A. L. Deman, P. Pittet, and R. Ferrigno, "Nanocomposite Carbon-PDMS Material for Chip-Based Electrochemical Detection," *Electroanalysis*, vol. 23, pp. 321–324, 2011.
- [190] G. M. Whitesides, "The origins and the future of microfluidics.," *Nature*, vol. 442, no. July, pp. 368–373, 2006.

-
- [191] E. Oliviero, M. Lazar, H. Vang, C. Dubois, P. Cremillieu, J. L. Leclercq, J. Dazord, and D. Planson, "Use of Graphite Cap to Reduce Unwanted Post-Implantation Annealing Effects in SiC," *Mater. Sci. Forum*, vol. 556–557, pp. 611–614, 2007.
- [192] R. Issaoui, "Elaboration de films épais de diamant monocristallin dopé au bore par MPACVD pour la réalisation de substrats de diamant p+," 2011.
- [193] P. DHAMELIN COURT, J. BARBILLAT, D. BOUGEARD, G. BUNTINX, M. DELHAYE, and F. FILLAUX, "Spectrométrie Raman," *Techniques de l'ingénieur CND : méthodes surfaciques*, vol. base docum, no. ref. article : p2865, 2015.
- [194] F. Tuinstra, "Raman Spectrum of Graphite," *J. Chem. Phys.*, vol. 53, no. 3, p. 1126, 1970.
- [195] M. a Pimenta, G. Dresselhaus, M. S. Dresselhaus, L. G. Cançado, a Jorio, and R. Saito, "Studying disorder in graphite-based systems by Raman spectroscopy.," *Physical chemistry chemical physics : PCCP*, vol. 9, no. 11, pp. 1276–91, 21-Mar-2007.
- [196] A. Das, B. Chakraborty, and a. K. Sood, "Raman spectroscopy of graphene on different substrates and influence of defects," *Bull. Mater. Sci.*, vol. 31, no. 3, pp. 579–584, 2008.
- [197] D. Ferrah, J. Penuelas, C. Bottela, G. Grenet, and A. Ouerghi, "X-ray photoelectron spectroscopy (XPS) and diffraction (XPD) study of a few layers of graphene on 6H-SiC (0001)," *Surf. Sci.*, 2013.
- [198] S. Montanari, *Fabrication and characterization of planar Gunn diodes for Monolithic Microwave Integrated Circuits*. 2004.
- [199] M. Lazar, "Etude du Dopage par Implantation Ionique d'Aluminium dans le Carbure de Silicium pour la Réalisation de Composants de Puissance," vol. 6,

2002.

- [200] R. Murali, K. Brenner, Y. Yang, T. Beck, and J. D. Meindl, "Resistivity of graphene nanoribbon interconnects," *IEEE Electron Device Lett.*, vol. 30, no. 6, pp. 611–613, 2009.
- [201] A. Hermans, "FABRICATION AND APPLICATIONS OF DOPAMINE SENSITIVE ELECTRODES," 2007.
- [202] Y. M. Liu, C. Punckt, M. a. Pope, A. Gelperin, and I. a. Aksay, "Electrochemical sensing of nitric oxide with functionalized graphene electrodes," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 5, no. 23, pp. 12624–12630, 2013.
- [203] Denise Krulic (UNIVERSITE PIERRE ET MARIE CURIE Laboratoire liquides ioniques et interfaces chargées – LI2C Pôle électrochimie and Principes), "Principes De La Cinetique Electrochimique," 2007.
- [204] W.-J. Lin, C.-S. Liao, J.-H. Jhang, and Y.-C. Tsai, "Graphene modified basal and edge plane pyrolytic graphite electrodes for electrocatalytic oxidation of hydrogen peroxide and β -nicotinamide adenine dinucleotide," *Electrochem. commun.*, vol. 11, no. 11, pp. 2153–2156, Nov. 2009.
- [205] Y. S. Grewal, M. J. a Shiddiky, S. a Gray, K. M. Weigel, G. a Cangelosi, and M. Trau, "Label-free electrochemical detection of an *Entamoeba histolytica* antigen using cell-free yeast-scFv probes.," *Chem. Commun. (Camb).*, vol. 49, no. 15, pp. 1551–3, 2013.
- [206] Z. Yu, T. E. McKnight, M. N. Ericson, A. V. Melechko, M. L. Simpson, and B. Morrison, "Vertically aligned carbon nanofiber arrays record electrophysiological signals from hippocampal slices," *Nano Lett.*, vol. 7, no. 8, pp. 2188–2195, 2007.
- [207] J. B. Raoof, R. Ojani, D. Nematollahi, and A. Kiani, "Digital simulation of the cyclic voltammetry study of the catechols electrooxidation in the presence of some nitrogen and carbon nucleophiles," *Int. J. Electrochem. Sci.*, vol. 4, no. 6,

pp. 810–819, 2009.

- [208] A. Bard and L. Faulkner, “Electrochemical methods: fundamentals and applications,” *Electrochem. Methods*, 1980.
- [209] A. Singh, J. Jayaram, M. Madou, and S. Akbar, “Pyrolysis of Negative Photoresists to Fabricate Carbon Structures for Microelectromechanical Systems and Electrochemical Applications,” *J. Electrochem. Soc.*, vol. 149, no. 3, p. E78, 2002.
- [210] J. Fatissou, “ELABORATION DE NOUVEAUX MATERIAUX D’ÉLECTRODES OBTENUS PAR AUTO ASSEMBLAGE DE POLYELECTROLYTES, NANOPARTICULES ET BIOMOLECULES : ETUDES PHYSICO-CHIMIQUES ET APPLICATIONS,” 2005.
- [211] L. Tang, Y. Wang, Y. Li, H. Feng, J. Lu, and J. Li, “Preparation, structure, and electrochemical properties of reduced graphene sheet films,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 19, pp. 2782–2789, 2009.
- [212] A. T. Valota, I. a Kinloch, K. S. Novoselov, C. Casiraghi, A. Eckmann, E. W. Hill, and R. a W. Dryfe, “Electrochemical behavior of monolayer and bilayer graphene,” *ACS Nano*, vol. 5, pp. 8809–8815, 2011.
- [213] I. Duo, “Control of Electron Transfer Kinetics at Boron-Doped Diamond Electrodes by Specific Surface Modification (These No 2732),” vol. 2732, 2003.
- [214] W. F. Regnault and G. L. Picciolo, “Review of medical biosensors and associated materials problems,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 21, no. A2 Suppl, pp. 163–80, Aug. 1987.
- [215] a J. Rosenbloom, D. M. Sipe, Y. Shishkin, Y. Ke, R. P. Devaty, and W. J. Choyke, “Nanoporous SiC: a candidate semi-permeable material for biomedical applications,” *Biomedical microdevices*, vol. 6, no. 4. pp. 261–7, Dec-2004.

-
- [216] "OVERVIEW OF BIOSENSORS DEVELOPMENT AROUND THE WORLD." .
- [217] A. Mongra and A. Kaur, "BIOSENSORS ACTIVITIES AROUND THE GLOBE," *Dig. J. Nanomater. ...*, 2012.
- [218] A. Tuan, M. A. I. To, and H. A. L. Id, "Development of electrochemical based tyrosinase biosensors for the detection of organic pollutants in water THESE EN CO-TUTELLE Présentée devant," 2004.
- [219] C. A. M. Huitle, "Direct and indirect electrochemical oxidation of organic pollutants," pp. 1–269, 2004.
- [220] N. Hu, "Direct electrochemistry of redox proteins or enzymes at various film electrodes and their possible applications in monitoring some pollutants," *Pure Appl. Chem.*, vol. 73, no. 12, pp. 1979–1991, 2001.
- [221] M. Panizza, P. a. Michaud, G. Cerisola, and C. Comninellis, "Electrochemical treatment of wastewaters containing organic pollutants on boron-doped diamond electrodes: Prediction of specific energy consumption and required electrode area," *Electrochem. commun.*, vol. 3, no. 7, pp. 336–339, 2001.
- [222] Parlement européen et Conseil de l'Union Européenne, "Directive 2013/39/UE du Parlement européen et du Conseil du 12 août 2013 modifiant les directives 2000/60/CE et 2008/105/CE en ce qui concerne les substances prioritaires pour la politique dans le domaine de l'eau," *J. Off. des Communautés Eur. du 24.8.2013 (JO L 226/1)*., vol. 2013, p. 17 p., 2013.
- [223] X.-H. Li, Z.-H. Xie, H. Min, Y.-Z. Xian, and L.-T. Jin, "Amperometric Biosensor Based on Immobilization Acetylcholinesterase on Manganese Porphyrin Nanoparticles for Detection of Trichlorfon with Flow-Injection Analysis System," *Electroanalysis*, vol. 19, no. 24, pp. 2551–2557, Dec. 2007.
- [224] D. Jun, K. Kuca, J. Cabal, L. Bartosova, G. Kunesova, and J. Kassa, "(22) Comparison of ability of some oximes to reactivate sarin-inhibited brain acetylcholinesterase from different species," *Chem. Biol. Interact.*, vol. 157–

158, pp. 385–387, 2005.

- [225] Y. Song, M. Zhang, L. Wang, L. Wan, X. Xiao, S. Ye, and J. Wang, “A novel biosensor based on acetylcholinesterase/prussian blue-chitosan modified electrode for detection of carbaryl pesticides,” *Electrochim. Acta*, vol. 56, no. 21, pp. 7267–7271, 2011.
- [226] D. Du, X. Huang, J. Cai, and A. Zhang, “Comparison of pesticide sensitivity by electrochemical test based on acetylcholinesterase biosensor,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 23, pp. 285–289, 2007.
- [227] M. Khayyami, M. T. Pe, and N. Pen, “Development of an amperometric biosensor based on acetylcholine esterase covalently bound to a new support material,” vol. 45, pp. 557–563, 1998.
- [228] A. Komersová, K. Komers, and P. Zdražilová, “(23) Kinetics of hydrolysis of acetylthiocholine and acetylcholine by cholinesterases,” in *Chemico-Biological Interactions*, 2005, vol. 157–158, pp. 387–388.
- [229] V. B. Kandimalla and H. Ju, “Binding of acetylcholinesterase to multiwall carbon nanotube-cross-linked chitosan composite for flow-injection amperometric detection of an organophosphorous insecticide,” *Chem. - A Eur. J.*, vol. 12, pp. 1074–1080, 2006.
- [230] G. L. Ellman, K. D. Courtney, V. Andres, and R. M. Featherstone, “A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity,” *Biochem. Pharmacol.*, vol. 7, pp. 88–95, 1961.
- [231] D. Du, X. Huang, J. Cai, A. Zhang, J. Ding, and S. Chen, “An amperometric acetylthiocholine sensor based on immobilization of acetylcholinesterase on a multiwall carbon nanotube-cross-linked chitosan composite,” *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 387, pp. 1059–1065, 2007.
- [232] D. M. Quinn, “Acetylcholinesterase: enzyme structure, reaction dynamics, and virtual transition states,” *Chem. Rev.*, vol. 87, no. 5, pp. 955–979, Oct. 1987.

-
- [233] G. Bocquené, A. Roig, and D. Fournier, "Cholinesterases from the common oyster (*Crassostrea gigas*). Evidence for the presence of a soluble acetylcholinesterase insensitive to organophosphate and carbamate inhibitors," *FEBS Lett.*, vol. 407, no. 3, pp. 261–266, 1997.
- [234] L. Rotariu, L. G. Zamfir, and C. Bala, "Low potential thiocholine oxidation at carbon nanotube-ionic liquid gel sensor," *Sensors Actuators, B Chem.*, vol. 150, no. 1, pp. 73–79, 2010.
- [235] M. J. E. Fischer, "Amine coupling through EDC/NHS: a practical approach," *Methods Mol. Biol.*, vol. 627, pp. 55–73, Jan. 2010.
- [236] D. Du, J. Ding, J. Cai, and A. Zhang, "Determination of carbaryl pesticide using amperometric acetylcholinesterase sensor formed by electrochemically deposited chitosan," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, vol. 58, pp. 145–150, 2007.
- [237] L. Gorton, "Carbon Paste Electrodes Modified with Enzymes , Tissues , and Cells," 1994.
- [238] Á. J. Genzer, a A. Á. a A. Á. K. Dus, W. H. D. J. Á. S. Kobayashi, Á. K. L. Á. L. Leibler, T. E. L. Á. I. M. Á. M. Mo, Á. E. M. Terentjev, M. V. Á. B. Voit, and Á. G. W. Á. U. Wiesner, "Advances in Polymer Science Editorial Board : Synthetic Biodegradable Polymers," p. 360, 2012.
- [239] S. Bettuzzi, "Diamond-based Biosensor," 2009.
- [240] H. Chen, X. Zuo, S. Su, Z. Tang, A. Wu, S. Song, D. Zhang, and C. Fan, "An electrochemical sensor for pesticide assays based on carbon nanotube-enhanced acetylcholinesterase activity.," *Analyst*, vol. 133, no. 9, pp. 1182–1186, 2008.
- [241] H. Zhang, Z. F. Li, A. Snyder, J. Xie, and L. a. Stanciu, "Functionalized graphene oxide for the fabrication of paraoxon biosensors," *Anal. Chim. Acta*, vol. 827, pp. 86–94, 2014.

-
- [242] J. Pezard, J. Lhuillier, Z. El-Friach, V. Soulière, B. Vilquin, P. Rojo Romeo, and M. Lazar, "Realization and Characterization of Graphene on 4H-SiC for Tera-Hertz Transistors," *Mater. Sci. Forum*, vol. 821–823, pp. 941–944, Jun. 2015.
- [243] S. G. Weber, "Signal-to-noise ratio in microelectrode-array-based electrochemical detectors," *Anal. Chem.*, vol. 61, no. 4, pp. 295–302, Feb. 1989.
- [244] D. E. Weisshaar and D. E. Tallman, "Chronoamperometric response at carbon-based composite electrodes," *Anal. Chem.*, vol. 55, no. 7, pp. 1146–1151, Jun. 1983.
- [245] J. Wang, "Electrochemical glucose biosensors," *Chem. Rev.*, 2008.
- [246] S. Kwakye and A. Baeumner, "A microfluidic biosensor based on nucleic acid sequence recognition.," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 376, no. 7, pp. 1062–8, Aug. 2003.
- [247] J. Wang, M. Pumera, M. Prakash Chatrathi, A. Rodriguez, S. Spillman, R. S. Martin, and S. M. Lunte, "Thick-Film Electrochemical Detectors for Poly(dimethylsiloxane)-based Microchip Capillary Electrophoresis," *Electroanalysis*, vol. 14, no. 18, pp. 1251–1255, Oct. 2002.
- [248] H. Cong and T. Pan, "Photopatternable conductive PDMS materials for microfabrication," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 18, pp. 1912–1921, 2008.
- [249] J. Wang, Y. L. Bunimovich, G. Sui, S. Savvas, J. Wang, Y. Guo, J. R. Heath, and H.-R. Tseng, "Electrochemical fabrication of conducting polymer nanowires in an integrated microfluidic system.," *Chem. Commun. (Camb).*, pp. 3075–3077, 2006.
- [250] F. Carmona, "Conducting filled polymers," *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, vol. 157, no. 1. pp. 461–469, 1989.

-
- [251] W. L. Caudill, A. G. Ewing, S. Jones, and R. M. Wightman, "Liquid chromatography with rapid scanning electrochemical detection at carbon electrodes," *October*, vol. 55, no. 12, pp. 1877–1881, 1983.
- [252] P. M. Kovach, W. L. Caudill, D. G. Peters, and R. M. Wightman, "Faradaic electrochemistry at microcylinder, band, and tubular band electrodes," *J. Electroanal. Chem. Interfacial Electrochem.*, vol. 185, no. 2, pp. 285–295, 1985.
- [253] W. W. Kubiak and M. M. Strozik, "Study of the flow dependence of microelectrode and semi-microelectrode voltammetric signals," *J. Electroanal. Chem.*, vol. 417, no. 1–2, pp. 95–103, 1996.
- [254] L. E. Fosdick, J. L. Anderson, T. A. Baginski, and R. C. Jaeger, "Amperometric response of microlithographically fabricated microelectrode array flow sensors in a thin-layer channel," *Anal. Chem.*, vol. 58, no. 13, pp. 2750–2756, Nov. 1986.
- [255] D. O'Harre, J. V. Macpherson, and A. Willows, "On the microelectrode behaviour of graphite-epoxy composite electrodes," *Electrochem. commun.*, vol. 4, pp. 245–250, 2002.
- [256] T. J. Davies, C. E. Banks, and R. G. Compton, "Voltammetry at spatially heterogeneous electrodes," *J. Solid State Electrochem.*, vol. 9, no. 12, pp. 797–808, Dec. 2005.
- [257] J. a. Heiser, J. a. King, J. P. Konell, and L. L. Sutter, "Electrical conductivity of carbon filled nylon 6,6," *Adv. Polym. Technol.*, vol. 23, no. 2, pp. 135–146, 2004.
- [258] M. H. Al-Saleh and U. Sundararaj, "Review of the mechanical properties of carbon nanofiber/polymer composites," *Compos. Part A Appl. Sci. Manuf.*, vol. 42, no. 12, pp. 2126–2142, 2011.
- [259] C. Amatore, C. Pebay, L. Thouin, A. Wang, and J.-S. Warkocz, "Difference between Ultramicroelectrodes and Microelectrodes: Influence of Natural

Convection,” *Anal. Chem.*, vol. 82, no. 16, pp. 6933–6939, Aug. 2010.

- [260] S. Menad, A. El-Gaddar, N. Haddour, S. Toru, M. Brun, F. Buret, and M. Frenea-Robin, “From Bipolar to Quadrupolar Electrode Structures: An Application of Bond-Detach Lithography for Dielectrophoretic Particle Assembly,” *Langmuir*, vol. 30, no. 19, pp. 5686–5693, May 2014.
- [261] V. S. Tripathi, V. B. Kandimalla, and H. Ju, “Amperometric biosensor for hydrogen peroxide based on ferrocene-bovine serum albumin and multiwall carbon nanotube modified ormosil composite,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 21, no. 8, pp. 1529–1535, 2006.
- [262] M. M. Barsan and C. M. a Brett, “A new modified conducting carbon composite electrode as sensor for ascorbate and biosensor for glucose,” *Bioelectrochemistry*, vol. 76, no. 1–2, pp. 135–140, 2009.
- [263] M. E. Ghica and C. M. a. Brett, “Development of a Carbon Film Electrode Ferrocene-Mediated Glucose Biosensor,” *Anal. Lett.*, vol. 38, no. 6, pp. 907–920, 2005.
- [264] M. B. Gholivand and M. Khodadadian, “Simultaneous Voltammetric Determination of Captopril and Hydrochlorothiazide on a Graphene/Ferrocene Composite Carbon Paste Electrode,” *Electroanalysis*, vol. 25, no. 5, pp. 1263–1270, 2013.