

UNIVERSITE DE BOURGOGNE FRANCHE-COMTÉ
UFR-ST, Laboratoire Chrono-Environnement UMR CNRS 6249
Ecole Doctorale Environnement Santé n°554

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le 21 janvier 2017

Pour obtenir le grade de

Docteur de l'Université de Bourgogne Franche-Comté

Discipline : Sciences de la vie et de la santé
Spécialité : chimie

Par

Geoffrey GREGIS

**Étude et réalisation d'un système miniaturisé pour l'analyse de
composés organiques volatils considérés comme des marqueurs
chimiques du cancer du poumon**

Directeur de thèse	Co-directeur de thèse
Dr. Jean-Baptiste SANCHEZ	Dr. Franck BERGER

Rapporteurs :	Pr. Marc BENDAHAN	Institut Matériaux Microélectronique Nanosciences de Provence (IM2NP) – Universités d'Aix-Marseille et de Toulon
	Dr. Martine MAYNE- L'HERMITE	Laboratoire Edifices Nanométriques – CEA Saclay
Examineurs :	Pr. Thérèse LEBLOIS	Institut FEMTO-ST – Université de Bourgogne Franche-Comté
	Dr. Stéphane MOULARAT	Centre Scientifique et Technique du Bâtiment (CSTB)

Remerciement

À l'issue de cette aventure, je reste convaincu que la thèse est loin d'être un travail solitaire. En effet, c'est avec le soutien d'un nombre important de personnes dont la présence, la générosité et l'intérêt manifestés à l'égard de ce travail m'ont permis de mener à terme cette expérience exceptionnelle.

Je remercie en premier lieu le laboratoire Chrono-Environnement qui m'a accueilli dans ses locaux ainsi que la ville de Besançon qui a financé ce travail de thèse.

Je souhaite ensuite exprimer mes plus vifs remerciements à Jean-Baptiste Sanchez qui fut pour moi un directeur de thèse disponible et très attentif à ce travail. C'est notamment grâce à toi que j'ai pu acquérir la rigueur scientifique afin de réussir ce projet. Merci pour tes conseils, ton professionnalisme ainsi que pour ta sympathie. Je remercie également mon co-directeur de thèse Franck Berger qui a su me transmettre l'énergie nécessaire au bon déroulement de cette thèse. Je n'oublierai pas non plus ces moments d'échanges très sympathiques au cours de nos nombreux déplacements !

J'adresse tous mes remerciements aux membres de mon jury de thèse pour cet échange de qualité que nous avons eu lors de ma soutenance : Dr. Martine Mayne-L'Hermite, Pr. Thérèse Leblois, Pr. Marc Bendahan et Dr. Stéphane Moularat.

Je remercie également les membres de l'Institut Jean Lamour d'Épinal (Vanessa Fierro, Alain Celzard et Sébastien Schaefer) ainsi que les membres de l'équipe ASP du laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne à Dijon (Jean-Pierre Bellat, Guy Weber et Igor Bezverkhyy) pour m'avoir fourni les adsorbants ainsi que de m'avoir permis de les caractériser.

J'adresse mes remerciements au personnel de l'institut Femto-ST et en particulier à Jean-Claude Jeannot, responsable de la centrale de technologie MIMENTO, pour m'avoir permis d'utiliser la salle blanche du réseau RENATECH afin de réaliser mes dispositifs miniaturisés.

Je n'oublierai jamais mes collègues du troisième et du quatrième pour leur sympathie ainsi que pour ces moments particuliers passés tous ensemble à échanger et à mélanger nos idées. Merci également à tous les thésards du laboratoire pour les moments de détente partagés ensemble.

Enfin, les mots les plus simples étant les plus forts, j'adresse toute mon affection à mes amis ainsi qu'au membres de ma famille pour le soutien inconditionnel qu'ils m'ont apporté tout au long de ces trois années riches de partages et d'émotions.

It's a Long Way to the Top (If You Wanna Rock'n'Roll)

Angus Young, Malcolm Young & Bon Scott (1975)

Résumé

L'objectif principal de ce travail de thèse est de contribuer au développement d'un outil de diagnostic miniaturisé permettant d'identifier et de quantifier une combinaison de composés organiques volatils (COVs) présents dans l'haleine et qui sont considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Les principaux verrous scientifiques de ce projet sont liés aux très faibles concentrations de ces composés cibles (de l'ordre de quelques ppb) et également à la présence de nombreux autres composés chimiques qui sont naturellement présents dans l'haleine. La voie de développement proposée dans ce projet est d'utiliser un micro-capteur résistif à base de SnO₂ associé à un micro-préconcentrateur et une micro-colonne chromatographique afin d'aboutir à un dispositif sélectif et présentant des limites de détection très basses.

Dans un premier temps, plusieurs adsorbants ont été caractérisés en vue d'être utilisés dans le micro-préconcentrateur afin de concentrer les marqueurs du cancer du poumon. Les résultats ont permis de sélectionner deux types de zéolites (DaY et NaY) ainsi que des microsphères de carbone W5. Par la suite, les unités de préconcentration et de séparation des COVs ont été développées en s'appuyant sur la technologie silicium/verre disponible en salle blanche.

La dernière étape de cette étude a concerné l'évaluation des performances du système d'analyse alors assimilable à un micro-chromatographe en phase gazeuse. Après avoir déterminé les conditions optimales d'élution et de préconcentration des COVs, le système miniaturisé a permis d'analyser une haleine artificielle constituée de trois COVs présents à des concentrations proches des celles mesurées dans l'haleine (toluène (24 ppb), propanol (21 ppb) et o-xylène (5 ppb)) même en présence des interférents majeurs de l'haleine (vapeur d'eau et dioxyde de carbone).

Abstract

The main goal of this research is to develop a miniaturized diagnostic equipment in order to identify some volatile organic compounds present in exhaled breath and referred as lung cancer biomarkers. The main scientific and technical obstacles of this project are linked to the very low concentrations of these chemical compounds and the presence of high concentrations of H₂O and CO₂ naturally present in exhaled breath. To address these issues, we suggest to use a SnO₂-based gas sensor combined with a micro-preconcentrator and a chromatographic micro-column in order to engineer a low detection limit system.

First, some specific adsorbents have been characterized with a view to concentrate chemical biomarkers through the micro-preconcentrator. In accordance with research findings, two types of zeolites (DaY and NaY) and one type carbonaceous microspheres (W5) have been selected. Then micro-preconcentrators and chromatographic micro-columns have been developed on silicon wafers by using clean room facilities.

The last step of this study was to evaluate the performances of the analytical device. After determining optimal elution and pre-concentration conditions of each VOCs, the miniaturized system achieved the analysis of an artificial breath constituted of toluene (24 ppb), 1-propanol (21 ppb) and o-xylene in presence of high concentrations of water vapors and carbon dioxide.

Table des matières

INTRODUCTION GÉNÉRALE	1
CHAPITRE I. État de l'art	6
1 Introduction	7
2 Le dépistage du cancer du poumon en milieu médical	7
3 Détection des composés organiques volatils marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine	9
3.1 Mécanismes de production des COV dans le corps humain et dans l'haleine	9
3.2 Détection des COV par GC/MS en laboratoire d'analyse	11
3.2.1 Échantillonnage des vapeurs	12
3.2.1.1 Le prélèvement passif	12
3.2.1.2 Le prélèvement actif	14
3.2.2 Analyse des échantillons d'haleine	15
3.3 Nature chimique des marqueurs du cancer du poumon présents dans l'haleine	17
3.3.1 Les composés organiques volatils spécifiques	19
3.3.2 Les composés organiques volatils non-spécifiques	20
3.4 Systèmes de détection des COV à base de micro-capteurs chimiques	23
3.4.1 Systèmes à base de résonateurs à quartz	24
3.4.2 Systèmes à base de capteurs résistifs	27
4 Cahier des charges et stratégie scientifique	33
4.1 Expression fonctionnelle du besoin	33
4.2 Stratégie scientifique proposée pour l'élaboration d'un dispositif de détection des COV dans l'haleine	34
5 Conclusion	37
6 Liste des figures	39
7 Liste des tableaux	40
8 Bibliographie	41

CHAPITRE II. Caractérisation d'adsorbants nanoporeux spécifiques pour la préconcentration du toluène, marqueur chimique du cancer du poumon	49
1 Introduction	50
2 Présentation des adsorbants	50
2.1 Les zéolites	53
2.2 Les microsphères de carbone	55
3 Méthodes de caractérisation des adsorbants	56
3.1 Etude structurale par manométrie d'adsorption de N ₂	56
3.2 Etude des capacités d'adsorption et de désorption du toluène et de H ₂ O	58
4 Résultats expérimentaux	60
4.1 Classification des isothermes d'adsorption	60
4.2 Résultats de la manométrie d'adsorption de N ₂	62
4.3 Isothermes d'adsorption et de désorption du toluène	65
4.4 Caractérisation de la capacité d'adsorption et de désorption des interférents majeurs de l'haleine	69
4.4.1 Isothermes d'adsorption et de désorption d'H ₂ O	70
4.4.2 Isothermes d'adsorption et de désorption de CO ₂	71
5 Conclusion	72
6 Liste des figures	75
7 Liste des tableaux	75
8 Bibliographie	77
CHAPITRE III. Conception des unités de préconcentration et de séparation des COV	79
1 Introduction	80
2 Développement des unités de préconcentration et de séparation	80
2.1 Géométrie du micro-préconcentrateur	80
2.1.1 Structures et dimensions	80
2.1.2 Expériences de simulations numériques	82
i. Préparation des expériences de simulation numérique	82

ii.	Résultats des expériences de simulation numérique	85
2.2	Géométrie de la micro-colonne chromatographique	87
3	Intégration des microstructures sur un seul substrat	88
3.1	Préparation des expériences de simulation numérique	89
3.2	Résultats des expériences de simulation numérique	91
4	Procédé de fabrication des microstructures	93
4.1	La photolithographie	95
4.2	L'usinage par DRIE	95
4.3	La soudure anodique	96
5	Dépôt des adsorbants et de la phase stationnaire	98
5.1	Dépôt des matériaux adsorbants dans la cavité des micro-préconcentrateurs	98
5.2	Dépôt de la phase stationnaire dans la micro-colonne chromatographique	101
6	Conclusion	103
7	Listes des figures	105
8	Listes des tableaux	106
9	Bibliographie	107
	CHAPITRE IV. Caractérisation et évaluation des performances du microsystème	108
1	Introduction	109
2	Présentation du banc de test	109
2.1	Génération des vapeurs des marqueurs chimiques du cancer du poumon	109
2.2	Assemblage des différentes unités d'analyse	111
3	Évaluation des conditions d'élution dans la micro-colonne chromatographique	113
3.1	Influence de la température de la micro-colonne chromatographique	113
3.2	Influence du débit de la phase mobile	115
3.3	Synthèse sur les conditions d'élution	116
3.4	Limite de détection du système sans adsorbant	117

4	<i>Évaluation des conditions d'adsorption et de désorption des COV</i>	118
4.1	Étude de la zéolite DaY	119
4.1.1	Test préliminaire	119
4.1.2	Évolution du montage expérimental	120
4.1.3	Calibration des conditions expérimentales	124
4.1.3.1	Influence du débit d'échantillonnage des vapeurs	124
4.1.3.2	Influence du temps de désorption	125
4.1.3.3	Influence de la température de désorption	126
4.1.3.4	Influence de la durée de l'échantillonnage	127
4.1.3.5	Synthèse sur les conditions optimales du dispositif	128
4.2	Étude de la zéolite NaY	130
4.3	Étude des microsphères de carbone W5	133
4.4	Synthèse sur les conditions de préconcentration	134
5	<i>Détermination des performances d'analyse du système</i>	135
5.1	Analyse des COV seuls	135
5.2	Analyse du mélange de COV	138
5.2.1	Effet de la co-adsorption	139
5.2.2	Limite de détection du dispositif	141
5.3	Influence des interférents de l'haleine sur les performances d'analyses globales du système	143
6	<i>Conclusion</i>	145
7	<i>Listes des figures</i>	147
8	<i>Listes des tableaux</i>	149
9	<i>Bibliographie</i>	150
	CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES	151
	ANNEXE 1	157
	PUBLICATIONS ET CONFÉRENCES	159

INTRODUCTION GÉNÉRALE

Selon une étude encadrée par l'American Cancer Society, chaque année dans le monde, environ 1,6 millions de personnes décèdent après avoir contracté un cancer du poumon (Global Cancer Facts and Figures, 2012). Afin d'augmenter les chances de survie du patient, l'enjeu crucial de santé public est d'être en mesure de réaliser des diagnostics rapides de la maladie dès les stades peu avancés du développement d'inflammations tumorales au niveau des poumons.

Actuellement, le parcours médical suivi par les patients se révèle contraignant, couteux et fastidieux. En effet, il est généralement nécessaire de coupler plusieurs techniques d'imagerie (radiographie et scanner) avec des prélèvements par fibroscopie est indispensable pour localiser les zones malades et déterminer le degré d'avancement de la maladie afin de la traiter le plus efficacement possible. De plus, les délais nécessaires pour poser un diagnostic sont très longs (en moyenne 1 mois). De ce fait, les chances de survie pour les patients dont le stade de la maladie est le plus avancé sont très limitées. Dans ce contexte, le développement de nouvelles techniques médicales innovantes est une thématique de recherche dynamique au niveau international.

En particulier, plusieurs équipes de recherche ont démontré à travers leurs travaux qu'il existait différents composés chimiques spécifiques qui sont générés dans l'organisme lorsqu'une personne est atteinte du cancer du poumon. Ces marqueurs chimiques du cancer se retrouvent ensuite dans l'haleine à la suite des différents échanges au niveau des alvéoles pulmonaires. La détection directe de ces composés chimiques dans l'haleine se révèle alors être une voie de recherche tout à fait pertinente pour développer un outil non-invasif et permettant d'obtenir une réponse rapide afin de diagnostiquer le cancer du poumon.

Les principaux verrous technologiques de cette approche innovante sont essentiellement liés aux très faibles concentrations de ces composés cibles à détecter dans l'haleine (de l'ordre de quelques ppb) et également à la présence de nombreux autres composés chimiques qui sont naturellement présents dans l'air expiré. Afin de lever ces différents verrous technologiques, il est nécessaire de développer de nouvelles techniques d'analyse à la fois sélective et présentant des limites de détection très faibles.

Par ailleurs, la miniaturisation de ces techniques de diagnostic permettrait à la fois de diminuer les coûts de fabrication et également d'envisager la dissémination d'appareils

de contrôle chez les médecins généralistes ce qui pourrait permettre d'évaluer rapidement l'état de santé d'un patient présentant des symptômes suspects.

La majeure partie des développements innovants identifiés dans ce domaine concernent l'utilisation de système de type nez électronique. Ces dispositifs permettent d'obtenir des signatures chimiques de l'haleine expirée des patients sans toutefois permettre de statuer sur le stade d'avancement de la maladie. Malgré de réels potentiels analytiques, ces systèmes restent encore aujourd'hui confinés dans les laboratoires de recherche puisque leurs performances d'analyses sont encore perfectibles.

L'objectif principal de ce travail de thèse est de contribuer au développement d'un outil de diagnostic miniaturisé permettant d'identifier et de quantifier une combinaison de composés organiques volatils (COV) qui sont considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Le fait de pouvoir quantifier ces composés dans l'haleine permet d'obtenir une indication sur le stade d'avancement de la maladie.

La voie de développement originale qui est proposée dans ce travail de thèse est d'utiliser un micro-capteur chimique associé à différentes unités d'analyses spécifiques totalement intégrées sur silicium. En particulier, l'idée principale est de réaliser des unités de préconcentration et de séparation des COV qui, disposées en amont d'un micro-capteur chimique de type résistif, permettront d'augmenter la sensibilité et la sélectivité global du système de détection. Dans ce contexte, un micro-préconcentrateur de gaz ainsi qu'une micro-colonne chromatographique seront développés afin de lever les différents verrous technologiques liés à la détection de COV dans l'haleine.

Pour mener à bien cette étude, plusieurs axes scientifiques complémentaires seront abordés. Dans un premier temps, une phase de caractérisation permettra d'évaluer les capacités d'adsorption de plusieurs adsorbants microporeux pour la préconcentration des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Ensuite, un volet technologique sera abordé lors de la réalisation sur silicium des unités de préconcentration et de séparation des COV. Pour finir, les performances d'analyse du dispositif final constitué d'un micro-préconcentrateur, d'une micro-colonne chromatographique et d'un micro-capteur résistif à base de SnO_2 seront évaluées sur une haleine artificielle afin d'identifier un panel représentatif de marqueurs chimiques du cancer du poumon.

Ce manuscrit est articulé en quatre chapitres.

Après avoir rappelé le principe de base des techniques courantes de diagnostic du cancer, le premier chapitre présentera les principaux travaux de recherche recensés dans la littérature et ayant comme objectif d'identifier directement dans l'haleine la présence de composés chimiques considérés comme des marqueurs du cancer du poumon. Cette étude bibliographique permettra notamment de sélectionner un panel de marqueurs chimiques spécifiques au cancer du poumon et qui seront étudiés dans ce travail. Une dernière partie concernera la présentation de la démarche scientifique retenue selon le cahier des charges préalablement établi.

Le deuxième chapitre s'intéressera à la caractérisation de plusieurs adsorbants spécifiques pour la préconcentration des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Une première partie sera consacrée à la présentation des caractéristiques physico-chimiques des COV marqueurs et des différents adsorbants identifiés pour cette étude ainsi que les techniques de caractérisation utilisées. Les résultats expérimentaux issus des techniques de caractérisation par manométrie et par thermogravimétrie seront détaillés par la suite. Ces étapes de caractérisation d'adsorbants spécifiques pour préconcentrer les marqueurs du cancer du poumon seront réalisées en partenariat avec le laboratoire Carnot de Bourgogne (ICB, Dijon) et l'Institut Jean Lamour (IJL, Épinal).

Le troisième chapitre concernera la conception du microsystème d'analyse. Dans un premier temps, des expériences de simulation numérique permettront de définir la géométrie optimale des différentes unités (micro-préconcentrateur et micro-colonne chromatographique) et d'étudier la possibilité de les intégrer sur un même substrat de silicium. Puis, les différentes étapes de réalisation sur silicium seront détaillées et réalisées dans la salle blanche Mimento (Femto-st) du réseau national Renatech (CNRS). Pour finir ce chapitre, les méthodes de remplissage des micro-préconcentrateurs et de la micro-colonne chromatographique seront présentées.

Pour terminer, le dernier chapitre sera consacré à la caractérisation des performances d'analyse du système envisagé dans cette étude. Une première partie s'attachera à déterminer les conditions optimales d'utilisation des différentes unités intégrées sur silicium. Cette phase préliminaire permettra de sélectionner définitivement l'(es) adsorbant(s) le(s) plus adapté(s) pour la préconcentration des marqueurs chimiques du

cancer du poumon dans l'haleine. Le système sera ensuite testé sur une haleine artificielle constituée d'un panel de quelques marqueurs chimiques du cancer du poumon très faiblement concentrés (dizaine de ppb). La dernière partie de chapitre s'intéressera à évaluer l'influence de la présence des interférents majeurs de l'haleine (vapeur d'eau et dioxyde de carbone) sur les performances globales de détection du système.

CHAPITRE I. État de l'art

1 Introduction

La détection dans l'haleine de composés organiques volatils (COV) considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon est une thématique de recherche dynamique au niveau international et représente donc un enjeu médical et économique important. Le travail de recherche présenté ici s'inscrit dans cette thématique et s'intéresse au développement d'un outil de diagnostic non-invasif pour le patient et permettant d'accéder au dépistage précoce du cancer du poumon.

L'étude bibliographique présentée dans ce chapitre a pour objectif de dresser un bilan des techniques de diagnostic du cancer du poumon dans le but de positionner ce projet et ses objectifs en regard de l'existant.

Dans un premier temps, nous donnerons quelques repères sur les méthodes courantes du diagnostic médical du cancer du poumon. Dans une seconde partie, nous présenterons l'approche originale qui consiste à analyser la composition de l'haleine pour dépister la maladie. En particulier, nous détaillerons ici les mécanismes de production des COV dans l'haleine ainsi que les dispositifs actuels et innovants permettant de les identifier et de les quantifier. L'idée sous-jacente de ce projet étant de développer un système de dépistage du cancer du poumon par analyse des composés organiques volatils présents dans l'haleine, nous établirons alors un cahier des charges afin de lister les obligations et contraintes technologiques qu'implique le développement d'un tel dispositif. Enfin, nous préciserons la démarche scientifique retenue pour mener à bien ce projet de recherche.

2 Le dépistage du cancer du poumon en milieu médical

Le diagnostic du cancer du poumon est principalement piloté dans un premier temps par le médecin généraliste lors de l'examen d'un patient présentant des symptômes respiratoires suspects. Ensuite, de nombreuses techniques expérimentales en clinique permettent de dépister un cas avéré de cancer du poumon. Le premier examen est un bilan sanguin visant à évaluer l'état de santé du patient et de permettre d'identifier certaines anomalies (troubles hépatiques, anémie, infections...). Puis, une radiographie pulmonaire est effectuée lors de laquelle le radiologue recherche des zones opaques apparaissant et pouvant être de natures diverses [1, 2]. Par exemple, un syndrome de masse ou encore une

atélectasie (bouchement d'une bronche) peuvent évoquer un problème tumoral. Ce type d'imagerie est habituellement complété par un scanner afin de lever les éventuels doutes.

Pour finir, des prélèvements sont réalisés par endoscopie bronchique pour la réalisation d'une étude histologique (sous 8 jours) afin de donner le stade et le type de tumeur [3]. Lors de cette étude, le pathologiste va notamment observer au microscope les cellules cancéreuses prélevées. Lorsque le cas est avéré, le traitement est adapté selon l'avancement et la nature de la tumeur avec 3 types de thérapie : la chimiothérapie, la radiothérapie et la chirurgie. Les étapes du dépistage du cancer du poumon sont reprises dans le synoptique présenté sur la figure I.1.

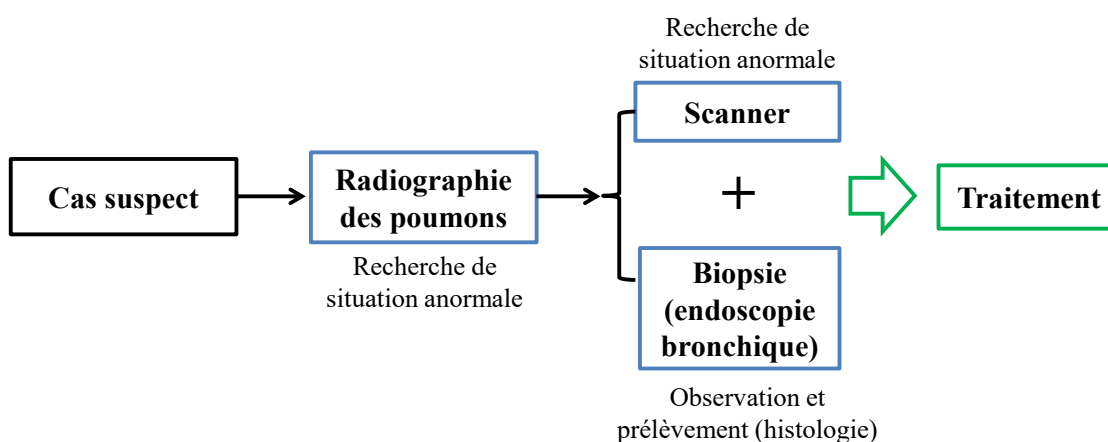


Figure I.1 : synoptique qui résume les étapes du diagnostic du cancer du poumon.

Il faut cependant noter qu'il existe par ces méthodes un risque de ne pas observer sur les images certaines zones atteintes et que les prélèvements par biopsie peuvent entraîner de lourdes complications pour le patient (principalement liées aux saignements) [4, 5]. De plus, le diagnostic est réalisé dans la plupart des cas un mois après la première visite chez le médecin ce qui présente un risque important de décès pour les patients les plus avancés dans le stade de la maladie [6].

En règle générale, ces examens médicaux restent très contraignants pour le patient et également coûteux pour le service médical en charge des analyses. Par ailleurs, plus le cancer est diagnostiqué tardivement, plus les chances de réussite du traitement et donc de survie du patient diminuent. Sur ce constat, il est intéressant d'envisager de nouvelles méthodes de diagnostic non-invasives et permettant de fournir au service médical une information rapide dès les premiers symptômes. Une voie originale et relativement récente consiste à détecter des marqueurs chimiques (COV) du cancer du poumon directement dans

l'haleine des patients. En particulier, le but recherché est d'identifier la présence de ces COV dès les stades peu avancés de la maladie afin de déterminer un protocole de traitement efficace. Cette approche est présentée dans la partie suivante.

3 Détection des composés organiques volatils marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine

Cette partie détaillera dans un premier temps l'origine de la formation des COV dans l'organisme et dans l'haleine. Dans un deuxième temps, la technique analytique généralement utilisée en laboratoire sera présentée ainsi que la nature et les concentrations des marqueurs chimiques du cancer du poumon observés dans l'haleine. Pour finir, nous donnerons plusieurs exemples de dispositifs de diagnostic, à base de micro-capteurs chimiques, développés par quelques équipes de recherche au niveau international.

3.1 Mécanismes de production des COV dans le corps humain et dans l'haleine

Le corps humain est le siège d'un nombre important de réactions chimiques complexes qui évoluent selon ses besoins et son environnement. En particulier, l'oxygène atmosphérique qui est un élément essentiel, génère des composés dénommés les dérivés réactifs de l'oxygène (DRO). Ces derniers participent à des réactions d'oxydation physiologiquement indispensables mais qui peuvent, dans un certain cas, être nuisibles et participer au développement de maladies [7]. Les DRO les plus connus sont l'anion superoxyde O_2^- , l'oxygène singulet O_2^1 , le peroxyde d'hydrogène H_2O_2 , le radical libre HO^+ ou encore l'ozone O_3 [8]. Le mécanisme de formation des DRO est présenté sur la figure I.2.

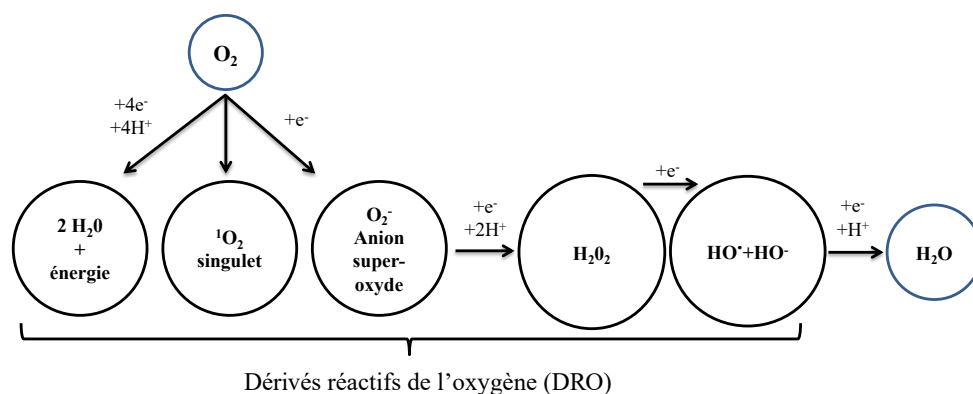


Figure I.2 : mécanisme de formation des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) dans l'atmosphère.

Ces DROs sont également produits d'une manière accrue lorsque la régulation du métabolisme de l'oxygène est perturbée (stress oxydant). De plus, le tabac, la pollution atmosphérique ou encore la fatigue ont tendance à accroître ce stress oxydatif et donc à augmenter la quantité de DROs. Ces espèces chimiques sont responsables, d'une manière directe ou indirecte, de nombreux dommages oxydatifs au niveau moléculaire (acides nucléiques, protéines, lipides...). De ce fait, les dommages oxydatifs au niveau des lipides (principal constituant des membranes cellulaires) vont engendrer par réactions chimiques successives des molécules organiques de faibles masses molaires [9–11]. La figure suivante illustre l'effet du stress oxydatif sur les cellules [12].

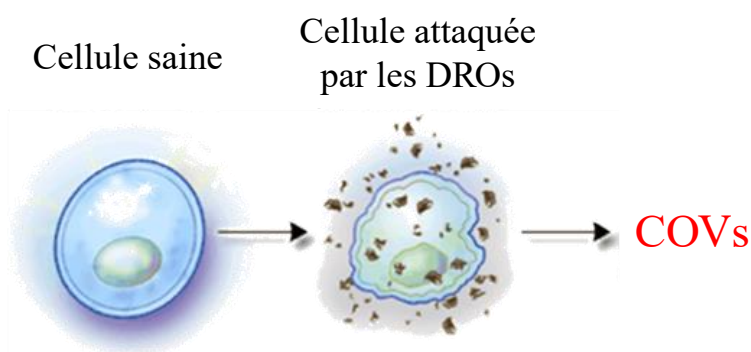


Figure I.3 : formation des COV par l'effet du stress oxydatif sur les cellules [12].

Lorsque les COV sont formés dans l'organisme, un deuxième phénomène (de type enzymatique) contribue à diversifier une nouvelle fois la nature chimique des COV [13]. En particulier, les cytochromes P450 qui sont une famille de protéines, interviennent dans des réactions d'oxydo-réduction et modifient la nature chimique des composés organiques volatils [14]. L'action de ces cytochromes P450 dépend de l'état de santé du patient. Cela implique une nature spécifique des COV selon la maladie contractée.

Les différents composés organiques volatils passent ensuite dans le système sanguin de l'organisme et les échanges gazeux au niveau des alvéoles pulmonaires vont alors permettre à ces COV d'être transférés dans l'haleine afin d'être expulsés [15]. Ainsi, en plus de contenir de l'oxygène (O_2), du dioxyde de carbone (CO_2) et de la vapeur d'eau, l'haleine est constituée d'un panel très large de COV issus des processus biochimiques à l'œuvre dans l'organisme. De ce fait, l'analyse instantanée de ces COV offre des perspectives exclusives pour le secteur médical à partir du moment où le suivi qualitatif et quantitatif de ces différents composés chimiques est rendu possible.

En particulier, le cancer du poumon a fait l'objet de nombreuses études ces dernières années afin de déterminer l'effet de la maladie sur la nature et la quantité des COV présents dans l'haleine [9, 16]. Le paragraphe suivant dresse un bilan des techniques d'analyse utilisées et les résultats obtenus lors de ces études.

3.2 Détection des COV par GC/MS en laboratoire d'analyse

L'analyse des composés organiques volatils présents dans les fluides corporels est une voie de développement explorée depuis quelques décennies dans la recherche contre le cancer. Dans les années 70, Linus Pauling a fait partie des premiers chercheurs à avoir détecté la présence de composés organiques volatils dans l'urine et dans des échantillons d'haleine par chromatographie en phase gazeuse (CPG) [18]. Dans la quasi-totalité des études recensées, la technique d'analyse utilisée est la chromatographie en phase gazeuse couplée à la spectrométrie de masse (couplage GC/MS). Les raisons de cette popularité sont liées aux performances d'analyse qu'offre cette technique. Elle est en effet particulièrement bien adaptée à l'analyse de mélanges constitués d'un nombre important de composés chimiques [19].

Le principe de fonctionnement de cette technique repose sur l'entraînement d'un échantillon gazeux par un gaz vecteur (phase mobile) dans une colonne chromatographique revêtue d'une couche chimique (phase stationnaire). Cette dernière permet d'éluer chaque constituant du mélange afin de les séparer avant d'atteindre le détecteur. Finalement, un spectromètre de masse est utilisé dans la plupart des cas afin d'identifier les différents composés chimiques élués et présents dans le mélange [24, 25]. La particularité de l'analyse des COV issus d'un échantillon d'haleine est la nécessité de concentrer les composés chimiques avant de les séparer. Dans un premier temps, la collecte de l'air le plus proche des tissus alvéolaires, lieu d'échange entre le sang et l'air pulmonaire, permet d'obtenir des concentrations en COV plus importantes [16]. En règle générale, la plupart des COV sont présents à des concentrations comprises entre 1 ppb et quelques centaines de ppb [22]. Ensuite, une étape de préconcentration des vapeurs est indispensable pour pouvoir les identifier puisque les concentrations en COV sont en deçà des limites de détection des systèmes classiques de GC/MS [23, 24]. Les principaux organes de ce type de dispositif d'analyse sont repris dans le schéma de la figure I.4.

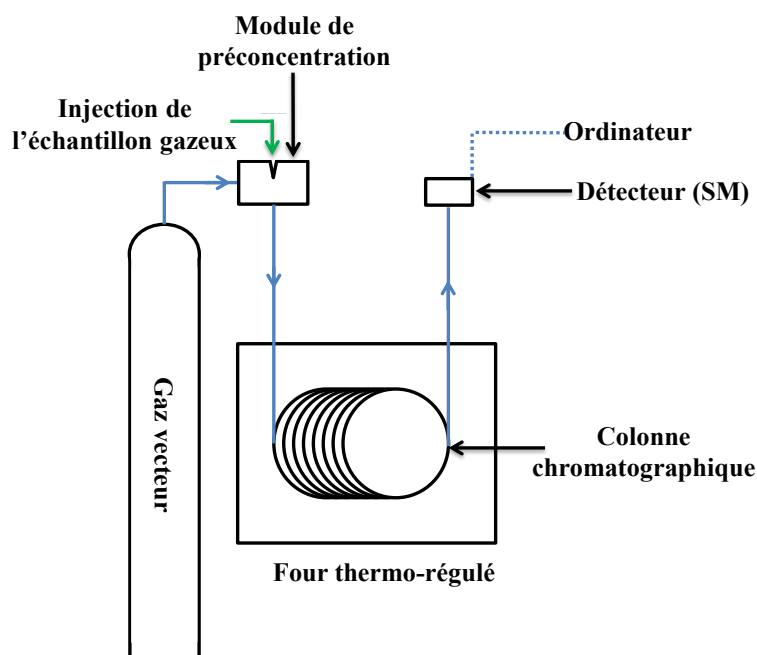


Figure I.4 : schéma des principaux organes d'un chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.

La préparation des échantillons est alors un point capital dans l'analyse des COV marqueurs du cancer du poumon par GC/MS. Plusieurs techniques d'échantillonnage des vapeurs existent et conditionnent l'efficacité de l'analyse. Les deux principaux types de prélèvement font l'objet de la sous-partie suivante.

3.2.1 Échantillonnage des vapeurs

En règle générale, deux techniques de prélèvement sont utilisées : le prélèvement passif et le prélèvement actif. Ces deux méthodes sont basées sur un cycle d'adsorption et de désorption des COV marqueurs du cancer du poumon sur un matériau adsorbant.

3.2.1.1 Le prélèvement passif

La micro-extraction sur phase solide (SPME) est un mode de prélèvement passif qui repose sur une méthode mettant en œuvre une fibre de silice sur laquelle est déposé un matériau présentant une grande affinité avec les COV. La fibre est alors introduite dans le milieu comportant les vapeurs à concentrer pendant plusieurs minutes puis elle est transférée dans l'injecteur du chromatographe en phase gazeuse. La température importante de l'injecteur (environ 250°C) permet la désorption rapide des COV qui sont ensuite entraînés dans la colonne chromatographique par le gaz vecteur. Cette méthode permet notamment de prélever l'échantillon d'haleine dans un sac Tedlar pour ensuite concentrer directement

les COV sur la fibre à l'intérieur du sac [25]. La figure I.5 présente le principe de fonctionnement d'une extraction par SPME [26].

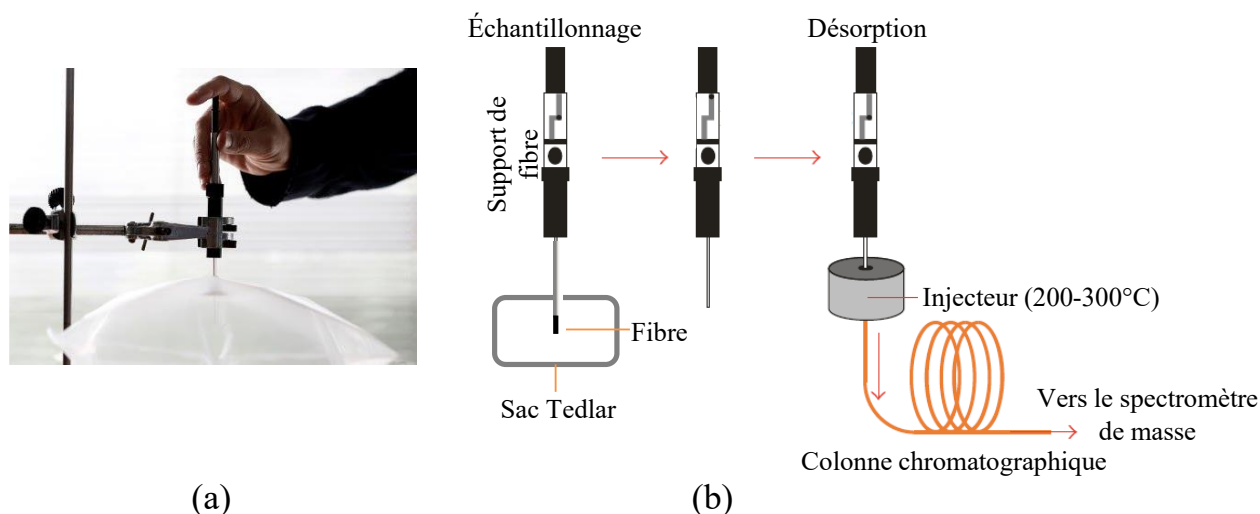


Figure I.5 : (a) méthode d'échantillonnage de vapeurs dans un sac Tedlar par SPME et (b) présentation des différentes étapes pour l'analyse par SPME [26].

Le dépôt d'adsorbant réalisé sur la fibre est un paramètre clé régissant les performances de préconcentration. Dans le cas particulier de l'analyse des marqueurs du cancer du poumon, les fibres de silice sont tout d'abord revêtues d'une couche mince (1-10 μm) d'une matrice de polymère. Par la suite, cette matrice est garnie d'une couche d'adsorbant spécifique présentant des capacités d'adsorption des COV élevées [27]. Le tableau I.1 présente les différents types de revêtements sur fibre couramment utilisés pour concentrer les marqueurs chimiques du cancer du poumon.

Tableau I.1 : revêtements couramment utilisés en micro-extraction sur phase solide pour concentrer les COV.

Polymères	Sources	Adsorbant	Sources
Polydiméthyle siloxane (PDMS)	[20, 25, 28–32]	Carboxen	[20, 21, 25, 28-32, 33, 34]
Divinyle benzène + PDMS	[21, 33, 34]		

Dans la plupart des cas, une durée d'adsorption comprise entre 10 et 60 minutes est nécessaire et suffisante pour accumuler les COV. La désorption est ensuite réalisée dans l'injecteur à une température de 200-300°C pendant une minute. Pour finir, l'évacuation d'une petite quantité des vapeurs est réalisée pour éviter de saturer la colonne

chromatographique avec les concentrations qui sont assez importantes en employant ce procédé (mode splitless) [21].

3.2.1.2 Le prélèvement actif

La deuxième technique de préconcentration utilisée consiste à balayer l'adsorbant à l'aide d'un flux continu de l'échantillon. Ce mode actif permet d'augmenter les interactions entre le gaz et l'adsorbant afin de concentrer un maximum de COV [26]. L'adsorbant est ensuite chauffé à une température proche de 300°C afin de désorber les composés chimiques [35]. Dans ce cas et puisque la montée en température du préconcentrateur n'est pas instantanée, il est indispensable d'utiliser un piège cryogénique (azote liquide) en aval après avoir désorbé les COV. L'objectif de ce dernier est de pouvoir injecter un volume tampon contenant les COV lorsque le piège est réchauffé par la suite. L'objectif de cette étape est d'injecter les vapeurs dans la colonne chromatographique en une seule fois et non en continu. La figure I.6 présente schématiquement ce mode d'échantillonnage

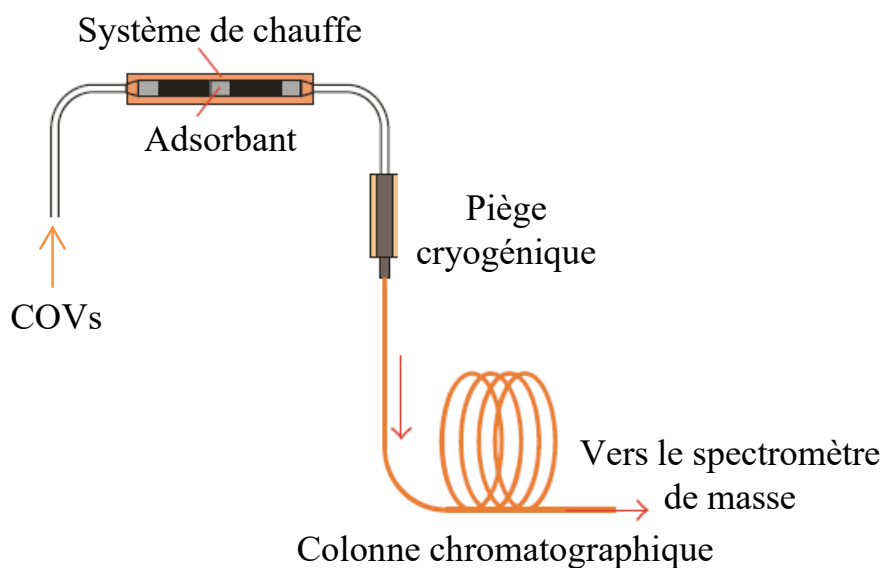


Figure I.6 : méthode d'échantillonnage des COV par piégeage sur adsorbant suivi d'une condensation cryogénique [26].

Les adsorbants les plus utilisés pour cette application font partie de la famille des charbons actifs. Ils sont très souvent utilisés en mélange pour optimiser le piégeage de composés chimiques de natures diverses. Le tableau I.2 présente les principaux matériaux utilisés pour concentrer les marqueurs chimiques du cancer du poumon lors d'un prélèvement actif.

Tableau I.2: adsorbants couramment utilisés pour concentrer les COV en mode prélèvement actif.

Adsorbants	Sources
Carboxen	[2, 35–39]
Carbopack	
Tenax	

À l'issue de l'étape d'échantillonnage des COV, l'analyse est réalisée par la chromatographie en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse. La partie suivante détaille cette étape de l'analyse.

3.2.2 Analyse des échantillons d'haleine

Après l'étape de préconcentration, les vapeurs sont entraînées dans la colonne chromatographique puis détectées par un spectromètre de masse permettant d'identifier chaque composé élué. Un des paramètres importants lié à la séparation des COV réside dans le choix de la phase stationnaire utilisée dans la colonne chromatographique. Le nombre important de composés organiques volatils et leurs natures variées imposent d'utiliser des phases stationnaires polyvalentes. Dans certains équipements, il est également possible de coupler plusieurs colonnes afin d'accroître le potentiel de séparation. Dans la plus grande partie des études recensées, les colonnes chromatographiques présentent une longueur de 30 mètres pour un diamètre interne compris entre 250 μm et 320 μm . Les phases stationnaires les plus couramment utilisées pour discriminer les COV dans l'haleine des patients sont rassemblées dans le tableau I.3 avec leurs caractéristiques principales.

Tableau I.3 : principales phases stationnaires utilisées pour la séparation des COV dans l'haleine.

Phases stationnaires	Caractéristiques	Sources
Polydivinyle benzène	Apolaire	[24–29]
Polydiméthyle siloxane (PDMS)	Apolaire, stable dans le temps	[27–29]
Polyéthylène glycol (PEG)	Polaire, moins stable que PDMS à haute température	[21, 32]

La figure I.7 présente quelques résultats d'analyse d'haleine à l'aide de la CPG couplée à la spectrométrie de masse [32, 36].

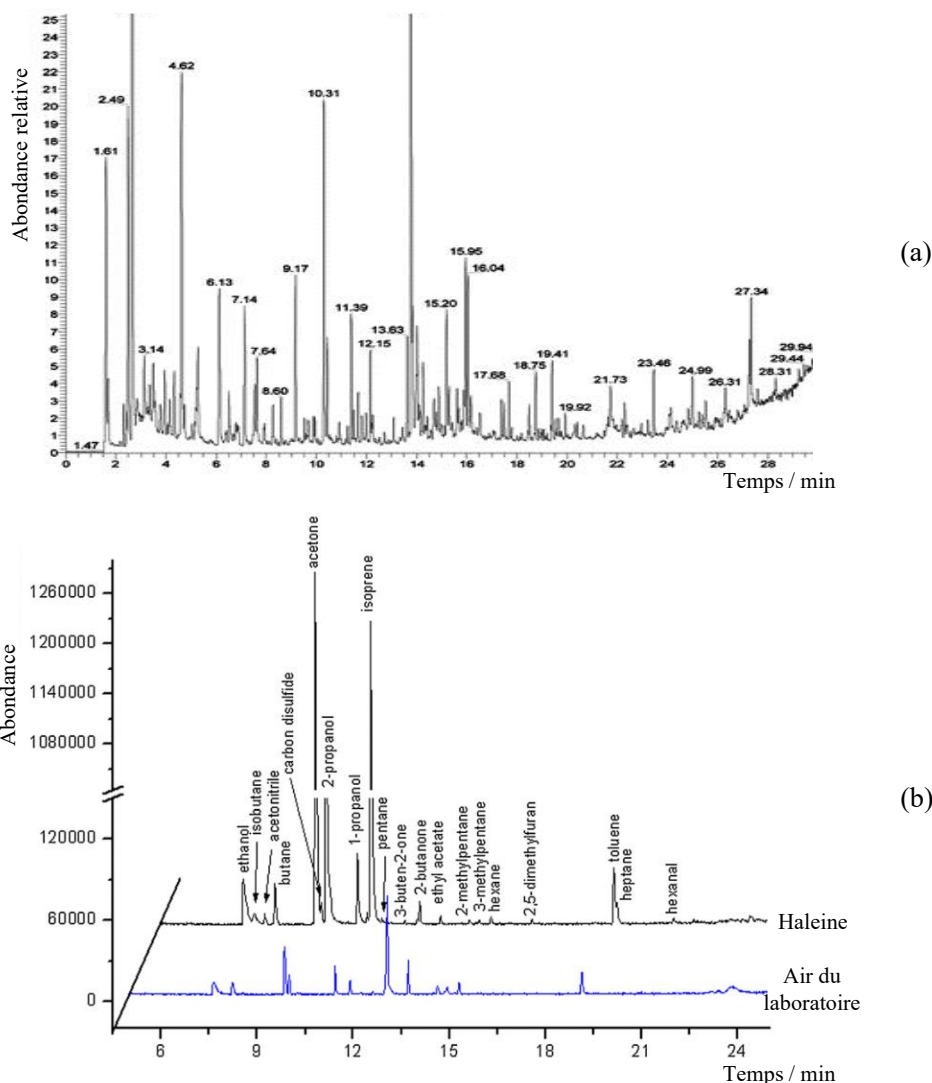


Figure I.7 : chromatogrammes présentant la séparation de quelques composés organiques volatils dans l'haleine d'un patient atteint d'une inflammation tumorale des bronches par GC/MS [32, 36].

La figure I.7 illustre deux analyses d'échantillons d'haleine collectés sur des patients souffrant d'un cancer du poumon. Pour l'analyse présentée sur la figure I.7(a), la préconcentration des vapeurs a été réalisée dans un module de préconcentration contenant un mélange de Carboxen et de Carbopack. Les COV ont été séparés dans un second temps par une colonne chromatographique d'une longueur de 30 m et d'un diamètre interne de 0,25 mm garnie avec du PDMS. L'analyse de cet échantillon montre plusieurs pics chromatographiques reliés à la présence de COV dans l'haleine de la personne malade.

Dans le cas de l'analyse présentée sur la figure I.7(b), la phase de préconcentration a été réalisée par SPME (PDMS + Carboxen). Les COV ont ensuite été séparés à l'aide d'une colonne chromatographique de même dimensions et natures que pour l'étude précédente avant d'être détectés par le spectromètre de masse. Dans le cas présent, les auteurs ont montré que la signature chimique de l'haleine est beaucoup plus complexe que celle de l'air ambiant du laboratoire.

Dans ces exemples, les nombreux pics de détection obtenus sont attribués à la présence des COV contenus dans l'haleine. Les analyses réalisées par GC/MS ont permis d'identifier la nature chimique des COV présents dans l'haleine de patients malades et donc de valider cette méthode de diagnostic.

Ces différents chromatogrammes présentés sur la figure I.7 indiquent qu'il existe un nombre très important de composés chimiques présents dans l'haleine. En particulier, plusieurs études bibliographiques ont permis de relier la nature chimique des COV détectés à la pathologie du patient et à son degré d'avancement. La partie suivante recense les principaux résultats relevés dans la littérature sur la nature chimique des COV marqueurs du cancer du poumon.

3.3 Nature chimique des marqueurs du cancer du poumon présents dans l'haleine

Certaines équipes de recherche ont observé jusqu'à 6000 COV différents dans l'haleine et ont tenté d'associer leurs natures et concentrations à l'état de santé du patient [20, 21, 30, 36]. La majorité des résultats recensés dans la littérature ont été obtenus en observant un protocole rigoureux en raison de la multitude de pathologies existantes. En particulier, les analyses ont toutes été effectuées sur des cohortes représentatives de volontaires (sains et atteints du cancer) afin de s'assurer que l'échantillonnage est équilibré. Une attention particulière est portée sur l'hygiène de vie de l'individu (tabagisme) ou de son environnement (logement à proximité d'une route, travail en présence de composés chimiques, etc...). Ces derniers paramètres conditionnent fortement la présence d'interférents chimiques dans l'haleine. Un exemple de cohorte est présenté ci-après.

Tableau I.4 : exemple d'une cohorte de 36 personnes volontaires pour l'identification des COV contenus dans leur haleine [21].

No.	Age	Sex	Smoker status/since × years	Pack-year	Diagnosis	Group
1	24	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
2	23	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
3	42	F	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
4	24	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
5	24	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
6	23	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
7	22	F	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
8	23	F	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
9	23	F	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
10	23	F	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
11	23	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
12	39	M	Nonsmoker	0	Healthy volunteer	Control
13	81	M	Ex-smoker	20	NSCLC	Lung cancer
14	73	M	Ex-smoker	20	NSCLC	Lung cancer
15	69	M	Ex-smoker	51	NSCLC	Lung cancer
16	71	M	Ex-smoker	30	NSCLC	Lung cancer
17	73	M	Ex-smoker	50	NSCLC	Lung cancer
21	67	F	Ex-smoker	20	NSCLC	Lung cancer
22	75	M	Ex-smoker	23	NSCLC	Lung cancer
23	51	M	Ex-smoker	30	NSCLC	Lung cancer
18	75	M	Ex-smoker	30	SCLC	Lung cancer
19	56	M	Ex-smoker	60	SCLC	Lung cancer
20	71	M	Ex-smoker	24	SCLC	Lung cancer
24	55	M	Ex-smoker	19	SCLC	Lung cancer
25	49	M	Smoker/32	16	Smoker ¹	Smoker
26	26	F	Smoker/12	8	Smoker ¹	Smoker
27	48	F	Smoker/29	8	Smoker ¹	Smoker
28	42	F	Smoker/21	12	Smoker ¹	Smoker
29	55	F	Smoker/26	13	Smoker ¹	Smoker
30	37	F	Smoker/19	19	Smoker ¹	Smoker
31	42	F	Smoker/20	10	Smoker ¹	Smoker
32	56	M	Smoker/39	39	Smoker ¹	Smoker
33	49	F	Smoker/24	18	Smoker ¹	Smoker
34	49	F	Smoker/37	9	Smoker ¹	Smoker
35	44	M	Smoker/28	49	Smoker ¹	Smoker
36	43	F	Smoker/12	9	Smoker ¹	Smoker

¹ : Fumeurs n'ayant pas été diagnostiqués d'un cancer du poumon

Abréviations : Pack-year (nombre de paquets de cigarettes fumés par année), NSCLC (présence d'une tumeur développée), SCLC (présence de quelques taches tumorales).

Afin de discerner quels types de COV sont présents dans l'haleine lors du développement du cancer du poumon, il a été nécessaire de croiser les différents résultats issus de la littérature. Globalement, deux types de marqueurs chimiques du cancer du poumon semblent coexister. Le premier type concerne les COV présents uniquement lorsque le patient est atteint du cancer du poumon, qu'il soit fumeur, ancien fumeur ou non-fumeur. Ces composés sont intéressants car le fait de les détecter indique immédiatement que le patient est souffrant du cancer du poumon. Le deuxième type de marqueurs chimiques concerne les COV naturellement présents dans le corps humain mais dont la concentration varie selon l'état de santé du patient. Le bilan des résultats obtenus par GC/MS sur les composés organiques volatils présents dans l'air expiré est exposé dans la sous-partie suivante.

3.3.1 Les composés organiques volatils spécifiques

Les travaux de Bajtarevic *et al.* ont été réalisés sur une cohorte de 441 volontaires en bonne santé et 220 personnes atteintes du cancer du poumon [28]. Les prélèvements d'haleine sur les patient sains/atteints (fumeurs, ancien fumeur et non-fumeur) ont été effectués par expiration de l'air alvéolaire dans des sacs Tedlar de 3 litres.

L'analyse des COV contenus dans l'air expiré a été réalisée en mode statique par SPME. La fibre revêtue de PDMS et de Carboxen a été introduite plusieurs minutes dans le sac Tedlar avant d'être placée dans l'injecteur du GC/MS. En parallèle, un échantillon de l'air environnant a également été collecté pour avoir une référence et identifier les COV présents dans l'air du laboratoire. Après analyse, les résultats ont été traités et classés. La figure I.8 rassemble les différents composés chimiques identifiés en fonction du profil des volontaires.

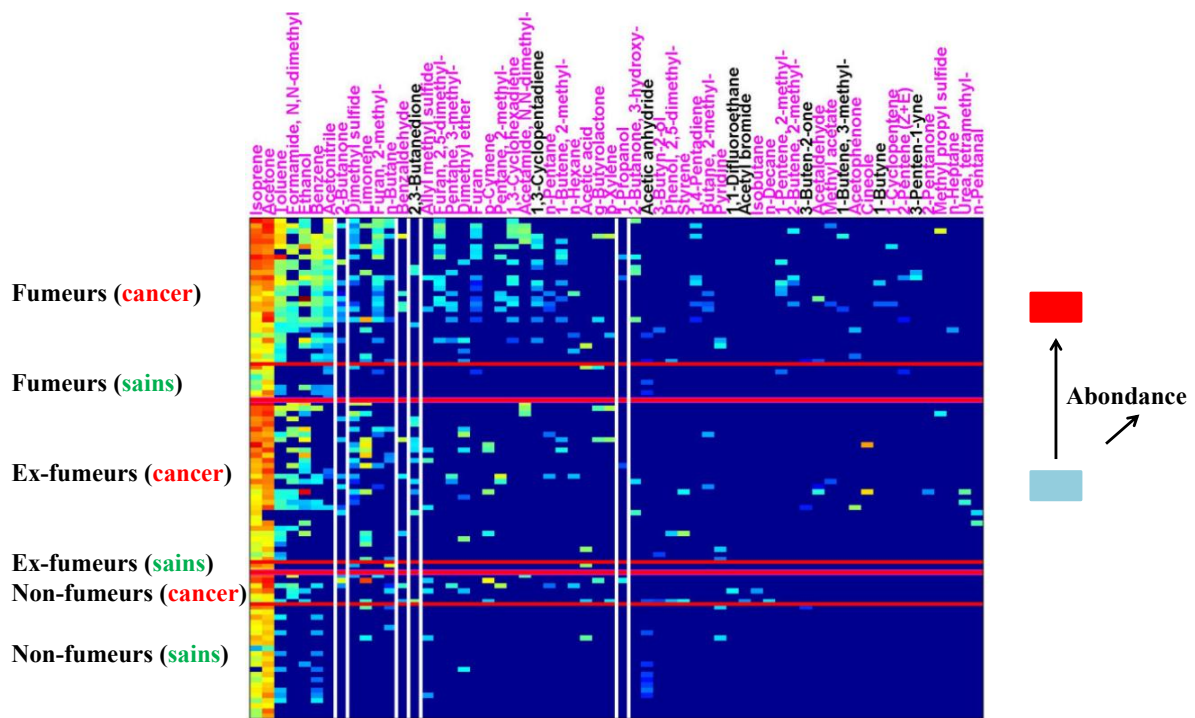


Figure I.8 : distribution de 60 COV détectés dans les échantillons d'haleine récoltés sur une cohorte de 441 volontaires en bonne santé et 220 personnes atteintes du cancer du poumon [28].

Sur cette figure, les symboles indiquent la nature des COV et la couleur leur abondance relative. D'après cette distribution, nous constatons qu'un nombre important de composés sont communs dans la composition de toutes les haleines de volontaires, qu'ils soient sains ou malades. Toutefois, cette équipe a montré qu'il existe des COV uniquement présents lorsque le patient est atteint d'un cancer du poumon, qu'il soit fumeur ou non-

fumeur. Les composés identifiés et considérés comme marqueurs spécifiques dans cette étude sont : la butanone, la butanedione, le propanol ainsi que le benzaldéhyde.

Ces résultats ont été confirmés et étayés par d'autres équipes de recherche au niveau international [21, 23, 31]. L'analyse des données issues de la littérature permet de dresser un tableau récapitulatif sur les concentrations de ces marqueurs spécifiques habituellement rencontrées dans les haleines des patients malades.

Tableau I.5 : concentrations des marqueurs chimiques spécifiques du cancer du poumon.

Marqueurs spécifiques du cancer du poumon	Gamme de concentration (ppb)	Sources
Propanol	4,37 - 452,7	[20, 22, 25, 32]
Butanone	9,1 - 58,1	[20]
Butanedione	>3	[41]
Benzaldéhyde	Non mesurée	[28]

Nous remarquons que la gamme des concentrations mesurées est plutôt large mais reste cependant en dessous du ppm. On constate toutefois un manque d'information sur la concentration en benzaldéhyde. Ce point n'est en réalité pas un problème puisque si ce composé est identifié dans l'haleine d'un patient, il est fort probable que ce dernier souffre d'un cancer du poumon.

Outre les marqueurs chimiques spécifiques générés uniquement dans le cas du cancer du poumon, il existe certains composés présents naturellement dans l'haleine et qui se retrouvent à des concentrations anormalement élevées (ou faibles) lorsque la maladie est constatée. Ces marqueurs non-spécifiques sont présentés dans le sous-paragraphe suivant.

3.3.2 Les composés organiques volatils non-spécifiques

La modification de l'activité radicalaire et métabolique dans le corps humain perturbe la formation et également l'élimination des COV présents naturellement. Certains composés chimiques se retrouvent dans le corps à de plus fortes concentrations car ils ne sont pas éliminés assez rapidement. À l'inverse, d'autres COV sont observés à des concentrations moindres car ils sont éliminés plus rapidement qu'ils ne sont générés. Ces composés chimiques peuvent alors servir de marqueurs non spécifiques du cancer du poumon en comparant leurs concentrations à celles habituellement relevées dans les

haleines des patients sains. Plusieurs groupes de recherche ont réussi à identifier des composés organiques volatils susceptibles d'être utilisés en tant que marqueurs du cancer. Ils se sont attachés à sélectionner des composés présentant des différences notables de concentrations entre patients sains et malades.

Pour illustrer ce constat, la figure I.9 présente une étude réalisée par Peng *et al.* qui compare l'abondance de 24 COV identifiés dans des haleines de volontaires sains et atteints du cancer du poumon [33].

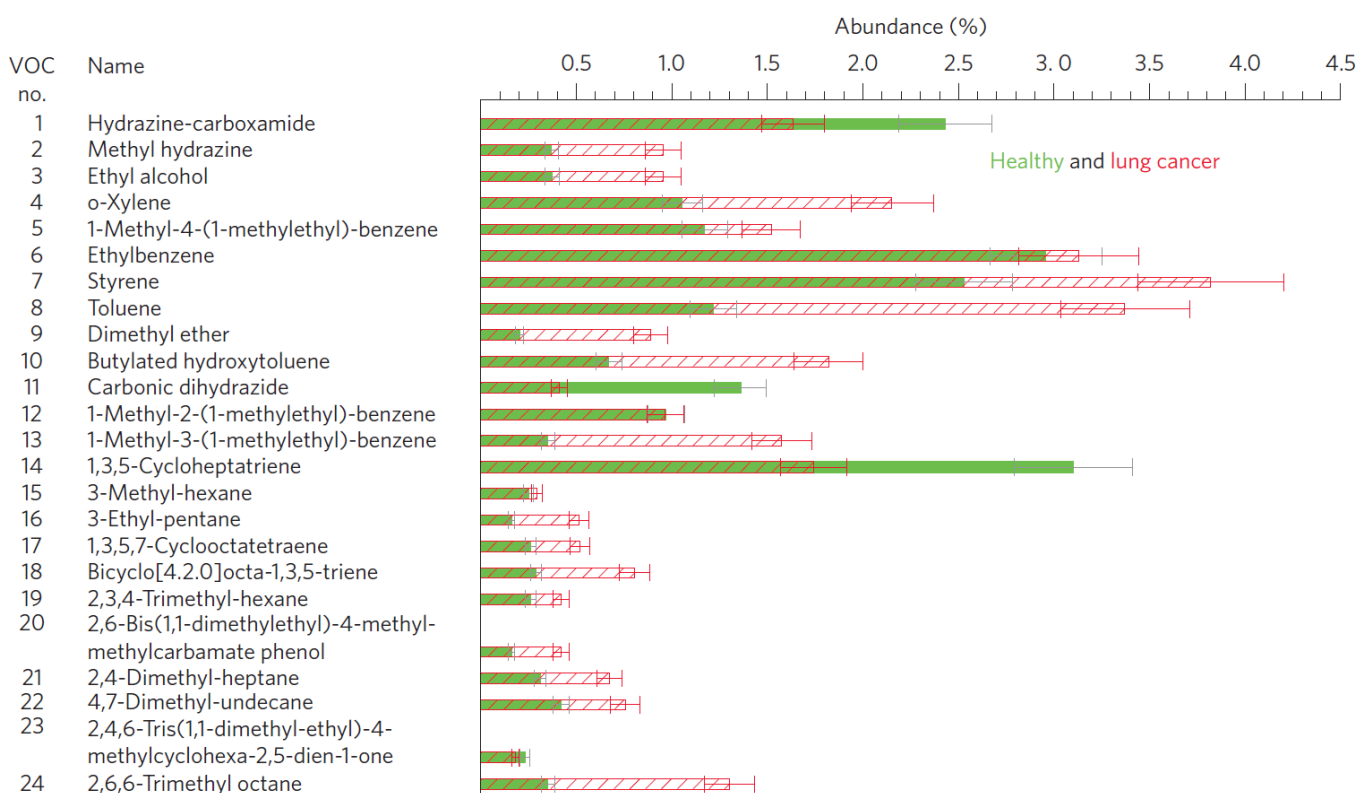


Figure I.9 : histogramme représentant l'abondance de COV détectés dans l'haleine de personnes saines et atteintes du cancer du poumon [33].

L'analyse de cet histogramme montre qu'il existe des composés organiques qui se retrouvent à des concentrations assez différentes selon l'état de santé du volontaire. C'est le cas par exemple du toluène qui fait partie des COV présents à des concentrations élevées dans l'haleine de personnes malades en comparaison avec des personnes saines. Différentes sources bibliographiques ont été analysées afin de faire émerger une tendance globale des COV non spécifiques présents dans l'haleine des patients malades. Le tableau I.6 répertorie les composés organiques volatils observés le plus souvent et leurs concentrations respectives chez des volontaires sains et atteints du cancer du poumon.

Tableau I.6 : inventaire et concentrations des principaux marqueurs non-spécifiques.

Marqueurs non-spécifiques du cancer du poumon	Concentration (volontaires sains) (ppb)	Concentration (volontaires malades) (ppb)	Sources
Benzène	7-17	15-32	[29, 38, 40]
Toluène	5-20	20-30	[20, 27, 32, 35, 50]
O-xylène	15	25	[29, 35, 51]
Triméthylbenzène	1-3	2-5	[38]
Cyclohexane	25	200	[38, 39, 51]
Propan-2-ol	10-65	150-300	[2, 33, 34, 50, 51]
Hexanal	0.1	3	[2, 21, 39]
Styrène	1-5	2-9	[29, 33, 38, 40]
Pentane	26-113	88-246	[29]

Les différents résultats indiquent que la quantification de marqueurs non-spécifiques judicieusement identifiés permet également d'accéder à des informations importantes sur le développement du cancer du poumon chez l'homme. Ainsi, l'analyse qualitative et quantitative de COV spécifiques et non-spécifiques présents dans l'haleine doit permettre d'aboutir à un diagnostic du cancer du poumon et également de déterminer son état d'avancement en fonction des concentrations mesurées.

En résumé, l'identification et la quantification de composés chimiques considérés comme des marqueurs du cancer du poumon par la technique de GC/MS est une opportunité intéressante dans le diagnostic de cette maladie. Néanmoins, cette approche est encore aujourd'hui au stade de l'étude et reste confinée à quelques laboratoires de recherche. En effet, les dimensions importantes des appareils, leurs coûts importants (> 40 k€), la nécessité de personnels compétents ainsi que les servitudes associées sont tout autant de paramètres qui empêchent une utilisation et un développement à plus grande échelle.

Face à ce constat et depuis une dizaine d'année, quelques équipes de recherche exploitent une approche différente en proposant d'utiliser des micro-capteurs chimiques dans le but de caractériser les haleines des patients. L'objectif final étant de proposer une alternative aux techniques de type GC/MS avec comme ambition de disséminer ces

nouveaux systèmes à plus grande échelle (cabinets médicaux pour un pré-diagnostic par exemple). La partie suivante présente les développements technologiques récents dans ce domaine.

3.4 *Systèmes de détection des COV à base de micro-capteurs chimiques*

Le développement de systèmes de détection à base de micro-capteurs chimiques est une approche innovante et en plein essor pour identifier les COV marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine [46–49]. La majeure partie des études identifiées relate l'utilisation de réseaux de micro-capteurs chimiques pour caractériser un échantillon d'haleine. Dans ce cas précis, les spécificités de chaque capteur sont différentes (revêtements chimiques, mode de transduction, etc...) et cela implique des réponses différentes en fonction du réseau utilisé. L'analyse statistique des réponses électriques permet ensuite de dresser un profil chimique de l'haleine et par comparaison avec d'autres profils obtenus sur des haleines saines, de pouvoir détecter la présence d'une tumeur cancéreuse [50, 51].

La méthodologie employée pour caractériser des atmosphères complexes avec un réseau de capteurs se déroule généralement en deux étapes. Tout d'abord, une phase d'apprentissage du réseau de micro-capteurs consiste à exposer les capteurs à des atmosphères artificielles connues de polluants (COV) afin de mettre en place un modèle de prédiction. La deuxième étape consiste à mesurer la réponse des micro-capteurs chimiques en présence des polluants (COV de l'haleine) et à comparer les réponses électriques à celles obtenues lors de la phase d'apprentissage. Ces analyses permettent au final de classer dans un espace bidimensionnel (ou tridimensionnel) les signaux électriques caractéristiques des différentes atmosphères.

Différentes approches et différents types de micro-capteurs chimiques ont été envisagés et testés pour cette application. Dans la plus grande partie des cas, les détections ont été réalisées sans identifier précisément un ou plusieurs composés chimiques mais en observant plutôt la réponse globale du système face à un échantillon d'haleine. Notons que cette approche permet de pouvoir s'affranchir d'une étape de préconcentration. En effet, la somme des concentrations des COV dans l'haleine est supérieure à quelques ppm. La signature chimique de l'haleine présente alors des concentrations supérieures aux limites de détection des principaux capteurs chimiques [17]. Les différences de réponses obtenues

entre les types d'haleine permettent de statuer sur l'état de santé du patient. On dénombre plusieurs systèmes de détection de l'haleine qui sont présentés ci-dessous.

3.4.1 Systèmes à base de résonateurs à quartz

L'équipe de D'Amico *et al.* de l'Université de Rome a étudié des échantillons d'haleine prélevés sur des volontaires sains et malades avec un nez électronique développé dans leur laboratoire. Le système de détection est basé sur l'utilisation d'un réseau de huit microbalances à quartz (MBQ) sur lesquelles ont été déposés plusieurs types de porphyrines [52]. Le principe de fonctionnement de ce type de capteur est présenté sur la figure I.10. Il repose sur la modification de la fréquence de résonance d'un matériau piézoélectrique en fonction de la quantité de molécules adsorbées en surface. De ce fait, lorsque des molécules s'adsorbent sur la surface du quartz, la masse évolue et donc la fréquence de vibration est modifiée [53].

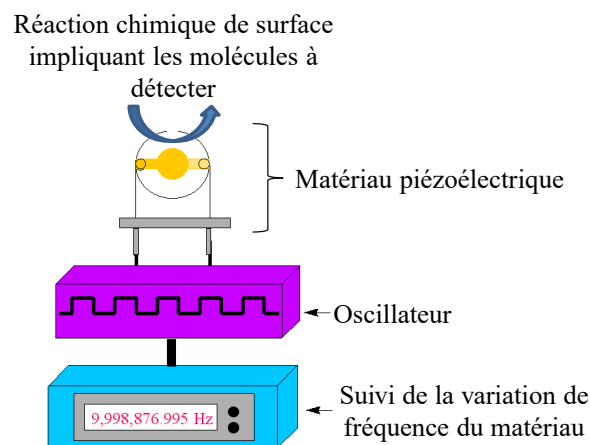


Figure I.10 : Schéma général d'un capteur de type piézoélectrique.

En outre, l'utilisation d'une couche spécifique déposée sur le quartz permet d'augmenter la sensibilité et la sélectivité du système face aux différents types de COV. Elle permet par ailleurs d'obtenir des réponses différentes pour chaque MBQ en fonction du revêtement et des vapeurs présentes.

Les échantillons d'haleine ont été collectés dans un sac stérile Tedlar puis envoyés dans la chambre de mesure avec un débit régulé. Les résultats ont alors été étudiés par analyse discriminante linéaire résolue par régression des moindres carrés partiels. La figure I.11 présente dans un espace bidimensionnel les résultats obtenus.

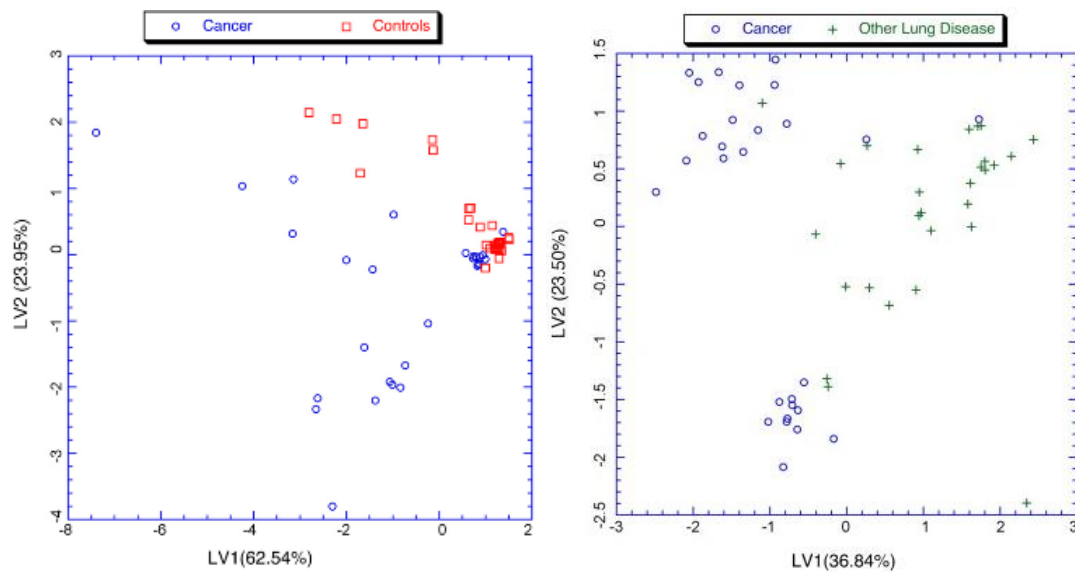


Figure I.11 : analyse discriminante linéaire réalisée sur trois types d'échantillon : 36 volontaires sains (Controls), 24 volontaires malades du cancer du poumon (Cancer) et 8 personnes présentant d'autres maladies pulmonaires (Other Lung Disease) [52].

Après traitement numérique, la différence de réponses des 8 MBQ permet de discriminer les échantillons d'haleine malade avec des haleines saines. Ce type de traitement numérique permet également de différencier les patients souffrant réellement du cancer du poumon avec d'autres patients présentant d'autres maladies pulmonaires (essentiellement des bronchites et pleurésies). Toutefois, dans tous les cas, nous pouvons observer des zones de chevauchements des points de mesure (probablement dues à la présence d'interférents et à la faible concentration des COV) ce qui contribue au final à un diagnostic approximatif du cancer du poumon. Cette étude a été optimisée plus récemment en modifiant le protocole de prélèvement. Les échantillons ont été prélevés à l'aide d'une sonde endoscopique directement aux abords de la tumeur augmentant ainsi le taux de diagnostic correct à 75% en dépit du caractère non-invasif initial du microsysteme [54].

Une autre approche consiste à utiliser des capteurs à onde acoustique de surface (SAW) présentant une meilleure sensibilité que les MBQ. En particulier, Chen *et al.* propose l'utilisation d'un réseau de deux SAW revêtus de deux matériaux sensibles différents [55]. Le prélèvement de COV par SPME est réalisé sur les échantillons d'haleine afin de concentrer les vapeurs. Après désorption, un gaz vecteur entraîne les COV dans une colonne chromatographique commerciale (phase stationnaire à base de PDMS) pour séparer les COV avant leur détection par les SAW. Le système a été calibré en présence de 11 COV référencés en tant que marqueurs du poumon afin de connaître les temps de rétention de chacun. Le tableau I.7 reprend ces informations.

Tableau I.7 : exemples de COV marqueurs du cancer du poumon et leurs temps d'élution respectifs dans une colonne commerciale revêtue de PDMS d'une longueur totale de 30 mètres et de diamètre interne de 250 μm .

Chemical name of VOC	Mean retention time ± 0.020 (min)
Styrene	5.140
Decane	8.598
Isoprene	1.390
Benzene	1.940
Undecane	11.598
1-hexene	1.623
Hexanal	3.323
Propyl benzene	6.807
1,2,4-Trimethyl benzene	7.890
Heptanal	5.332
Methyl cyclopentane	1.807

La réponse pour chaque COV présente à la fois un paramètre lié au temps de rétention et un autre lié à la variation de fréquence des SAW. Ce total de 22 variables a ensuite été traité par un algorithme se basant sur un réseau artificiel de neurones. Les données obtenues permettent d'exprimer les coordonnées des points calculées par l'algorithme sous forme d'analyse discriminante présentée sur la figure I.12.

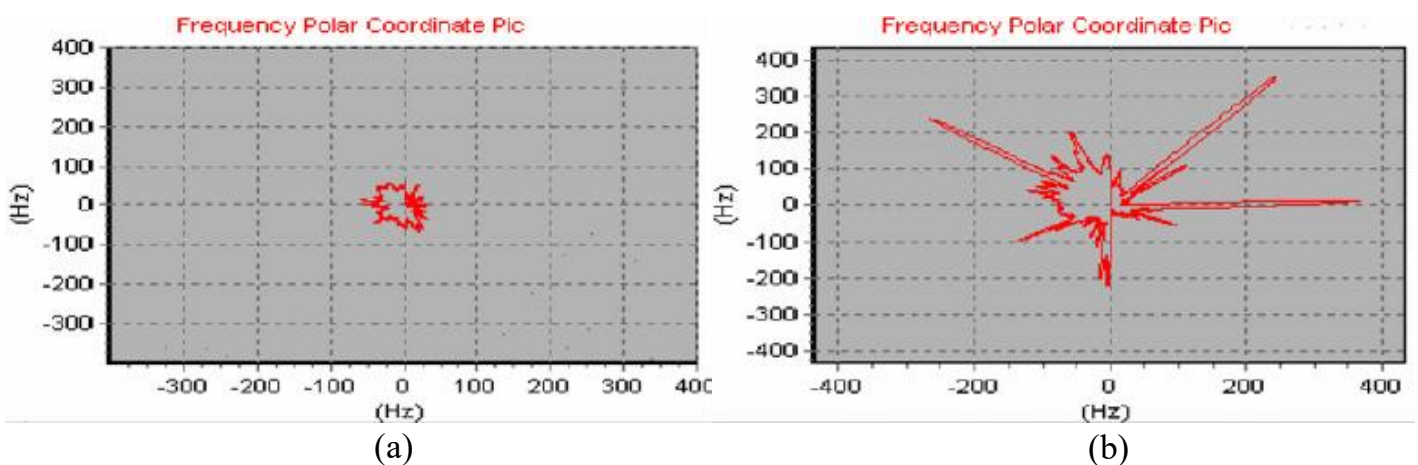


Figure I.12 : réponse après analyse de l'algorithme du réseau artificiel de neurones sur une haleine d'un volontaire sain (a) et d'un volontaire malade du cancer du poumon (b) [55].

L'analyse de ces réponses fait apparaître deux profils différents en fonction de l'état de santé du patient. Toutefois, là aussi, il existe certaines zones de chevauchement. De plus, les 11 COV sur lesquels repose cette analyse ne sont pas exclusivement présents lorsque la personne est malade du cancer du poumon (par exemple le benzène est présent dans l'air atmosphérique en tant que polluant). Par ailleurs, cette étude qui se limite à l'étude de 2 patients peut s'avérer non-représentative.

Parallèlement aux systèmes piézoélectriques, d'autres types de transducteurs ont également été étudiés pour caractériser l'haleine des patients. C'est notamment le cas des capteurs résistifs qui présentent également un intérêt pour cette application. Les résultats recensés dans la littérature sont présentés ci-après.

3.4.2 Systèmes à base de capteurs résistifs

Les capteurs résistifs sont largement répandus dans le domaine des micro-capteurs chimiques et sont connus pour leur bonne sensibilité ainsi que pour leur simplicité d'utilisation. Le principe de fonctionnement repose sur le suivi de la variation de résistance d'un matériau sensible en fonction de la composition chimique de l'atmosphère environnante. Dans le cas particulier des oxydes métalliques, il est nécessaire de porter le matériau sensible à des températures élevées (350–500°C) afin d'activer les réactions d'oxydation et de réduction entre les molécules à détecter et la surface sensible du détecteur [56, 57]. En règle générale, ces capteurs présentent des sensibilités de l'ordre du ppm mais ne sont pas sélectifs.

La figure I.13 présente le schéma général d'un capteur de type résistif et un exemple typique de réponse électrique obtenue lors de la détection de différentes concentrations d'acétone.

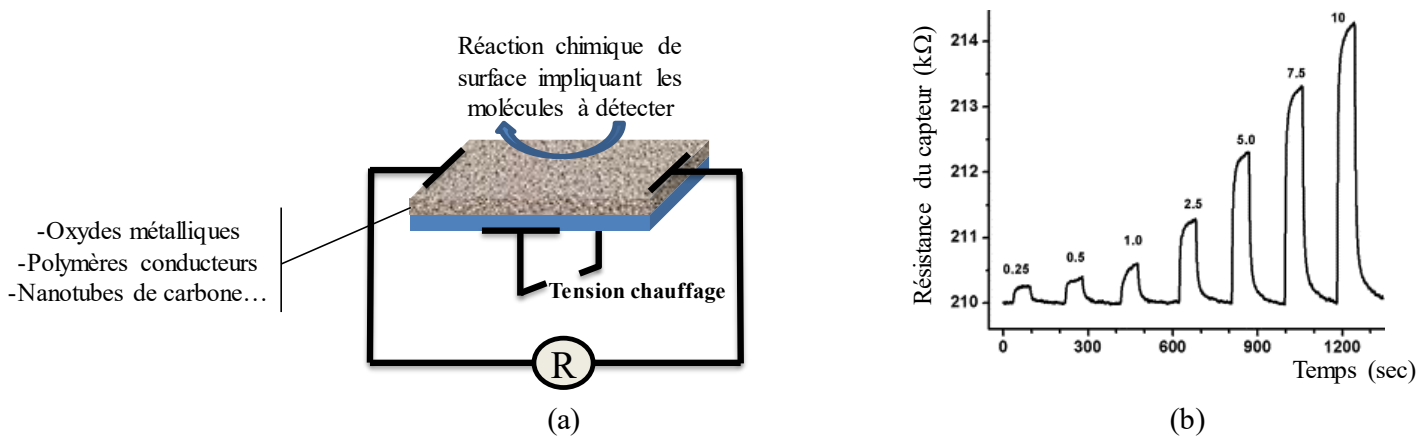


Figure I.13 : (a) schéma général d'un capteur de type résistif et (b) exemple de réponses électriques obtenues à l'aide d'un capteur résistif à base de dioxyde d'étain lors de la détection de plusieurs concentrations d'acétone [58].

Dans le cas particulier de la caractérisation d'haleine, les travaux recensés proposent l'utilisation de matrices de capteurs résistifs pour identifier le plus précisément possible les différents COV. Une première illustration liée à l'utilisation de ces capteurs concerne les travaux de Haick *et al.* Depuis la fin des années 2000, l'institut Israélien technologique

(Technion) développe un système de détection à base de micro-capteurs chimiques résistifs : le NA-NOSE [49]. Le principe de fonctionnement repose sur un réseau de capteurs résistifs revêtus de nanoparticules d'or et de nanotubes de carbone afin d'augmenter la sensibilité et la sélectivité du système. Une photographie du dispositif est présentée sur la figure I.14 [47].

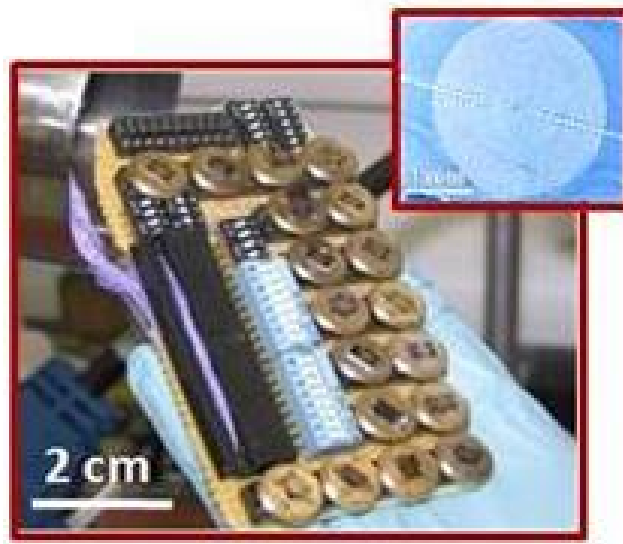


Figure I.14 : photographie du système de détection NA-NOSE et micrographie du dépôt de nanoparticules d'or à la surface de la couche sensible de SnO₂ [47].

Pour réaliser ces expérimentations, les auteurs ont dans un premier temps confiné les volontaires dans une chambre hospitalière présentant un système de filtration avancé afin de purifier au maximum l'air ambiant. Puis chaque personne a inspiré de l'air à travers un filtre (Eco Medics, Duerten, Switzerland) permettant de réduire la présence exogène de COV et de contaminants avant d'expirer ce volume dans un sac de prélèvement de 750 mL. Les échantillons d'haleine ont ensuite été injectés, à un débit calibré, dans la chambre de mesure du NA-NOSE. La figure I.15 représente un exemple d'analyse en composante principale de l'analyse d'haleine de plusieurs patient sains et souffrant d'un cancer du poumon à l'aide du système de détection développé au Technion [47].

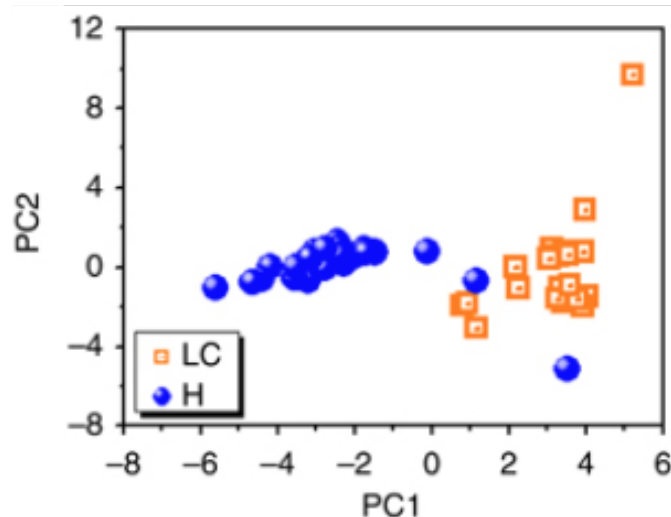


Figure I.15 : exemple d'analyse en composante principale des réponses du réseau de micro-capteurs résistifs revêtus de nanoparticules d'or sur des haleines de volontaires sains (H) et de personnes malades du cancer (LC) [47].

Les mesures réalisées ont effectivement révélé une tendance de réponses en fonction de l'état de santé du patient. Toutefois, le constat tiré de ces expérimentations est assez nuancé. En effet, une zone de chevauchement des points de mesure indique de nouveau la limite de cette approche pour réaliser un diagnostic fiable. Face à ce constat, les auteurs de ces expérimentations ont alors proposé une nouvelle approche afin d'optimiser les performances de détection du système. Elle consiste à développer une méthode d'analyse pour trouver des réponses communes à plusieurs pathologies permettant d'identifier un panel de maladie sans forcément les distinguer [59].

Un autre exemple de travaux concerne l'utilisation d'un réseau de 32 capteurs résistifs revêtus de différents polymères et de nanotubes de carbone pour analyser des haleines. Les tests ont été réalisés sur une haleine artificielle contenant plusieurs COV sélectionnés dans la littérature en tant que marqueurs du cancer du poumon. En particulier, ces marqueurs ont été sélectionnés en fonction de leurs polarités dans le but de tester le système dans une atmosphère complexe représentative de l'haleine. Grace aux interactions avec les différentes couches chimiques, une augmentation de la sensibilité et de la sélectivité a notamment été observée. L'analyse numérique en composante principale dans un espace tridimensionnel est visible dans la figure I.16 [43].

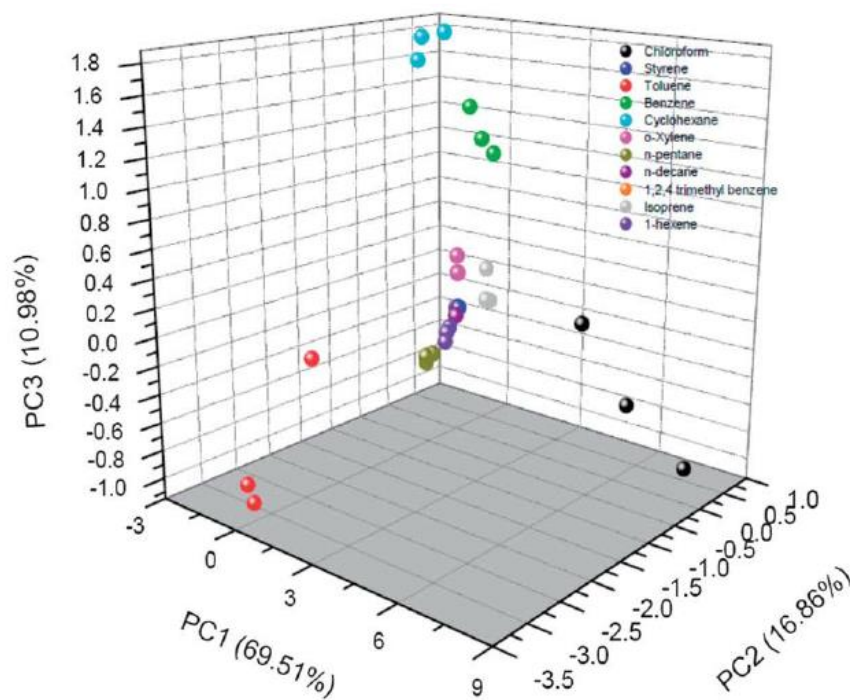


Figure I.16 : analyse en composante principale d'un mélange de COV constitué de : chloroforme, styrène, toluène, benzène, cyclohexane, o-xylène, pentane, décane, triméthylbenzène, isoprène, hex-1-ène [43].

Ici encore, l'analyse ne permet pas de séparer parfaitement les signaux électriques issus des haleines de volontaires sains et atteints du cancer du poumon. Malgré la concentration importante des COV dans le mélange artificiel comprise entre 10^3 et 10^5 ppm, il est difficile de différencier les COV situés au centre de la figure. Des zones de chevauchement des points de mesure apparaissent sur le diagramme et démontrent le manque de sélectivité du système, même en utilisant un nombre très important de micro-capteurs chimiques sur des concentrations élevées de COV. Toutefois, un axe de recherche proposé par les auteurs consisterait à travailler sur les différentes couches sensibles déposées sur les semi-conducteurs pour accroître la sélectivité sur certaines familles chimiques. Le point clé réside ici dans le choix des surfaces sensibles et le nombre de capteurs résistifs utilisés. Le tableau suivant répertorie ces deux paramètres pour les travaux de recherche concernant l'analyse d'haleine en vue de diagnostiquer le cancer du poumon.

Tableau I.8 : tableau récapitulatif des dispositifs à base de micro-capteurs résistifs pour le diagnostic du cancer du poumon.

Auteur	Année	Nombre de patients malades	Nombre de patient sains	Nombre de capteur	Type de dépôt	Sources
Chatterjee <i>et al.</i>	2013	Tests sur haleine artificielle		12	Nanotubes de carbone	[43]
Dragonieri <i>et al.</i>	2009	10	10	32	Polymères carbonés (détecteur commercial)	[61]
Peng <i>et al.</i>	2009	15	15	9	Nanoparticules d'or fonctionnalisées	[33]
Machado <i>et al.</i>	2005	14	45	32	Polymères carbonés (détecteur commercial)	[62]

Dans le domaine du dépistage du cancer du poumon et au regard des résultats mentionnés ci-dessus, nous constatons que le développement de micro-capteurs chimiques pour la caractérisation d'haleine constitue une voie innovante et très prometteuse pour le secteur médical. L'ensemble des travaux identifiés concerne l'utilisation de réseaux de capteurs afin d'obtenir des signatures électriques des haleines. Toutefois, on note un certain nombre d'inconvénients liés notamment à l'étape du traitement des données, au pilotage simultané de plusieurs capteurs et au chevauchement des points de mesure qui induit au final un diagnostic qui peut s'avérer approximatif.

En 2013, les travaux de Mohsen *et al.* ont montré qu'il était possible d'identifier des traces de composés organiques volatils dans un mélange à l'aide d'un assemblage constitué d'un micro-préconcentrateur, d'une micro-colonne chromatographique et d'un capteur résistif à base de dioxyde d'étain (SnO_2) [63]. Même si cette étude s'est limitée à l'analyse de deux composés, le point fondamental à souligner ici est l'utilisation d'une seule tête sensible facilitant ainsi l'analyse des réponses électriques. À titre d'exemple, la figure I.17 présente des profils de réponses électriques obtenues dans cette configuration expérimentale pour la détection de toluène (3 ppm) et de 2,4-dinitrotoluène à des concentrations variables.

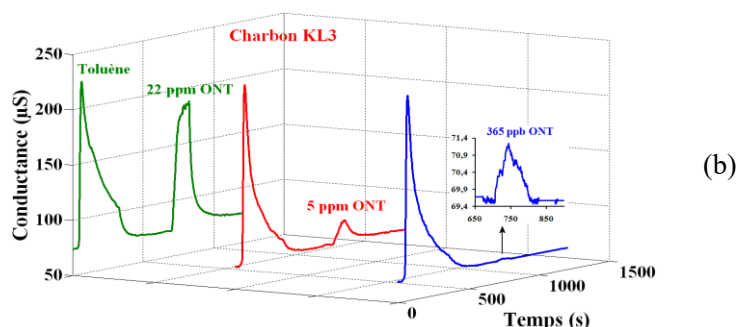


Figure I.17 : (a) assemblage utilisé pour détecter des traces de COV et (b) exemple de réponses électriques pour la détection sélective d'ONT en présence de 3 ppm de toluène [63].

Même si les performances d'un tel assemblage sont aujourd'hui encore perfectibles en termes de résolution des pics de détection (largeur à mi-hauteur), du temps d'élution, de limite de détection et d'intégration des éléments, cette approche reste très prometteuse et originale. En effet, on dénombre très peu d'études au niveau international qui proposent cette stratégie de couplage à partir d'unités intégrées sur silicium de faibles dimensions. On note toutefois les travaux de James *et al.* qui ont utilisé un micro-préconcentrateur, une colonne chromatographique commerciale et un capteur résistif pour détecter des composés organiques volatils (toluène, méthyl-isobutyl-cétone, acétate de vinyl et chloroforme), mais qui n'ont à ce jour jamais été validés pour l'analyse de marqueurs du cancer [64,65].

C'est précisément cette voie de développement technologique qui est envisagée dans ce travail avec comme idée d'aboutir à un dispositif de type micro-chromatographe en phase gazeuse.

La partie suivante s'attache à présenter le cahier des charges et la stratégie scientifique retenue pour aboutir à un système miniaturisé composé d'une seule tête sensible et permettant d'identifier sélectivement de faibles concentrations de marqueurs chimiques du cancer du poumon.

4 Cahier des charges et stratégie scientifique

4.1 Expression fonctionnelle du besoin

Le développement de techniques de dépistage du cancer du poumon par analyse de l'haleine suscite un intérêt certain dans le secteur médical. Les travaux de recherche présentés précédemment ont permis de dresser le bilan des besoins nécessaires à la réalisation d'un système de détection utilisant un micro-capteur chimique de type résistif. Le tableau I.9 détaille les contraintes associées à la conception d'un tel système de diagnostic performant. Chaque fonction et chaque contrainte est définie par un certain nombre d'informations concernant ce projet. Le détail des spécifications techniques imposées est listé ci-dessous.

Tableau I.9 : détails des contraintes liées au développement du système de détection des marqueurs chimiques du cancer du poumon contenus dans l'haleine.

Contraintes	
Techniques	Développement d'un prototype de détection non-invasif basé sur l'analyse de l'haleine
	Capacité à détecter sélectivement plusieurs COV dont au moins un marqueur spécifique
	Accéder à des limites de détection des COV de l'ordre du ppb
	Faible perturbation des performances d'analyse en présence des interférents majeurs présents dans l'haleine (CO ₂ , H ₂ O)
	Faible perturbation des performances liée aux facteurs environnementaux (Température ambiante, humidité relative)
	Temps d'analyse de 30 minutes maximum
	Pas de critère énergétique car système relié au réseau électrique (230 volts)
Physiques	Faibles dimensions du système (1 litre maximum) : transportable à la main
Humaines	Facilité d'utilisation : formation rapide du personnel
Économiques	Coût de fabrication < 2500 €

La mise en œuvre d'un tel dispositif est donc confrontée à plusieurs verrous scientifiques et technologiques liées aux différentes contraintes identifiées dans ce cahier des charges. De ce fait, lever ces verrous nécessite d'établir une stratégie scientifique rigoureuse. Le paragraphe suivant présente la démarche scientifique retenue pour cette étude.

4.2 *Stratégie scientifique proposée pour l'élaboration d'un dispositif de détection des COV dans l'haleine*

L'élaboration d'un système de détection miniaturisé des COV marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine comporte deux verrous technologiques majeurs. Le premier consiste à développer un prototype permettant d'accéder à des concentrations des COV de l'ordre du ppb même en présence d'interférents. Le deuxième est lié à la nécessité d'obtenir un système capable de détecter sélectivement plusieurs marqueurs chimiques du cancer du poumon issus d'un mélange complexe. L'utilisation d'un seul micro-capteur chimique ne permet pas de lever ces deux contraintes en raison du manque reconnu de sélectivité de ces dispositifs de détection. En revanche, en s'appuyant sur l'expertise du laboratoire, nous pouvons considérer que le développement d'unités spécifiques ayant chacune des fonctions analytiques précises permet de lever ces principaux verrous.

Tout d'abord, afin de détecter de très faibles concentrations des COV marqueurs du cancer du poumon (de l'ordre du ppb), il est nécessaire d'envisager une phase de préconcentration des composés cibles. Par ailleurs, l'identification de chaque composé dans le mélange impose une étape de séparation. Enfin, la détection des COV peut être assurée par un capteur chimique. Ces différentes unités associées et miniaturisées permettent d'aboutir à un dispositif d'analyse comparable à un micro-chromatographe en phase gazeuse. La figure I.18 présente un schéma du couplage de chaque unité avec leur rôle respectif.

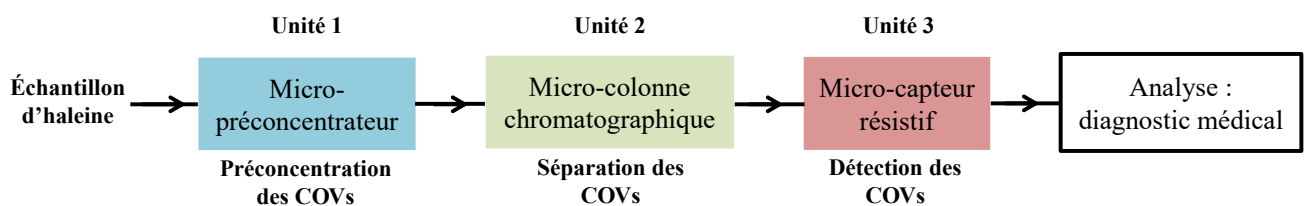


Figure I.18 : schéma de l'assemblage envisagé pour le prototype de détection.

Sur la base de ce schéma, une démarche scientifique a été proposée. Dans un premier temps il a été nécessaire de sélectionner une série de COV considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. En effet, la liste des composés étant très importante, nous avons choisi de tester le dispositif sur un panel de composés le plus représentatif de la maladie et présentés dans le paragraphe 3.3 de ce chapitre. Ainsi nous avons souhaité évaluer et valider notre dispositif de détection sur un mélange de 5 COV parmi lesquels figurent des marqueurs chimiques non spécifiques (toluène, o-xylène et le cyclohexane) et des marqueurs spécifiques du cancer du poumon (propanol et benzaldéhyde). Le toluène sera en particulier considéré ici comme une cible de référence puisqu'il est présent dans toutes les haleines et présente des concentrations variables en fonction de l'état d'avancement de la maladie. La détection de 5 composés organiques volatils reste un objectif ambitieux pour un système de détection développé autour d'un seul micro-capteur de type résistif.

Cette étape préliminaire de sélection des COV sera ensuite suivie d'une étape de caractérisation de plusieurs matériaux adsorbants nanoporeux susceptibles de convenir pour la concentration des marqueurs du cancer du poumon. Ces matériaux auront pour rôle d'adsorber puis de désorber les COV dans le but d'abaisser les limites de détection globales du dispositif. Le choix du matériau adsorbant est une phase cruciale dans ce projet puisqu'il régit l'étape de concentration et donc les performances d'analyse du système en terme de limite de détection. Il existe un nombre important d'adsorbants de natures diverses : charbons actifs, zéolites, silices et polymères. L'adsorbant idéal est un composé capable d'adsorber les très faibles concentrations des composés à analyser et également de pouvoir en restituer la totalité lors d'une étape de chauffe. Le tableau I.10 répertorie les principaux adsorbants qui ont déjà été testés dans des préconcentrateurs.

Tableau I.10 : les principaux adsorbants utilisés pour la concentration de COV.

Adsorbant	Composés chimiques	Source
Silice	Microporeuse et/ou mésoporeuse	[74–78]
Charbons actifs	Carbopack	[71–75]
	Norit/Lignin	[63,76,77]
	Nanopoudre de carbone	[78,79]
Zéolites	DaY et ZSM5	[63,66]
Polymères	OV13 / quinoxaline / Tenax TA	[63,68,80–82]

Parmi les différents matériaux nanoporeux envisageables, notre choix s'est porté sur les charbons actifs et les zéolites. En particulier, deux zéolites (DaY et NaY) ainsi que des microsphères de carbone activées seront étudiés. Le choix de ces matériaux se justifie d'une part par rapport à leur structure microporeuse adaptée à la taille des marqueurs et d'autre part du fait que ces matériaux ont très rarement été utilisés dans des micro-préconcentrateurs. Cette phase de caractérisation sera réalisée avec le soutien du laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (ICB) de Dijon et l'Institut Jean Lamour d'Épinal. En effet, ces deux laboratoires possèdent une forte expertise dans la synthèse et la caractérisation de matériaux nanoporeux ainsi que le matériel nécessaire pour évaluer les capacités d'adsorption des matériaux sélectionnés.

Parallèlement à cette étape de caractérisation de matériaux, la réalisation du dispositif sur silicium a été initiée. Un objectif visé est l'intégration de deux unités d'analyses (micro-préconcentrateur et micro-colonne chromatographique) sur un unique substrat. La technologie silicium/verre, disponible dans la salle blanche de la centrale de technologie Mimento (Femto-ST, Besançon), a été conservée ici par rapport aux études réalisées précédemment au laboratoire afin de réaliser des structures tridimensionnelles. Toutefois, un effort a dû être réalisé sur les géométries des motifs afin d'optimiser les différentes connections fluidiques et les débits des gaz vecteurs au sein de ces microstructures. Dans ce contexte, des expériences de simulations numériques ont été effectuées afin d'optimiser la structure du micro-préconcentrateur.

Concernant le micro-préconcentrateur, des cavités rectangulaires présentant des dimensions de 10 mm de longueur et de 5 mm de largeur ont été réalisées afin d'accueillir les matériaux adsorbants. Pour la micro-colonne chromatographique, il est nécessaire de prévoir une longueur suffisante de canal afin de permettre l'élution et la séparation de tous les composés chimiques marqueurs du cancer du poumon sélectionnés dans cette étude. Nous avons développé ici un micro-canal d'une longueur de 5 mètres et de section rectangulaire de dimensions 100 μm x 100 μm . Ce micro-canal est ensuite garni par une phase stationnaire qui aura pour rôle de séparer les différents composés chimiques. Dans l'état de l'art présenté précédemment dans ce chapitre, les équipes de recherche qui utilisent la GC/MS pour l'analyse des COV travaillent généralement avec des phases stationnaires polyvalentes telles que le polydiméthylsiloxane (PDMS). C'est donc cette phase stationnaire

qui a été synthétisée et déposée sur les parois internes du micro-canal. Ces différentes unités intégrées sur silicium seront ensuite reliées entre elles par l'intermédiaire de capillaires en silice ainsi que par des vannes manuelles d'injection.

La dernière phase de ce projet consiste à tester ce dispositif pour l'analyse d'haleine artificielle. Nous utiliserons dans ce cas un micro-capteur résistif à base de SnO_2 commercialisé par la société SGX Sensortech et placé en sortie de la micro-colonne chromatographique afin d'étudier en détail les potentialités d'analyse de ce système. Ce micro-capteur MiCS-5524 est conçu et commercialisé pour détection des COV. À la différence des capteurs résistifs massifs de type SnO_2 , ce type de tête sensible de faibles dimensions présente l'intérêt d'être facilement intégrable en aval de la micro-colonne chromatographique. La figure I.19 présente une photographie d'un capteur MiCS-5524 ainsi qu'une image optique de sa surface sensible à base de SnO_2 .

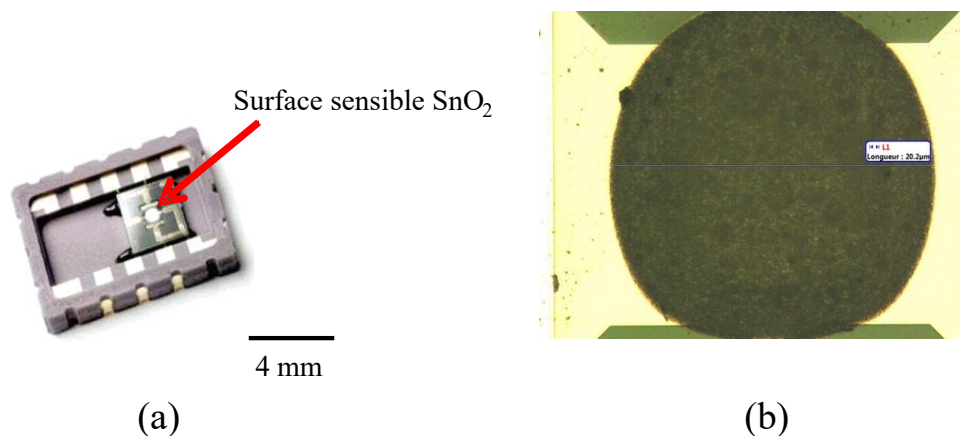


Figure I.19 : (a) photographie d'un micro-capteur MiCS-5524 commercialisé par SGX-Sensortech et (b) image optique de la surface sensible.

La caractérisation du système global s'effectuera progressivement. Tout d'abord, des tests de calibration seront réalisés avec le toluène qui est considéré comme le composé chimique de référence de cette étude. Ensuite, les différents COV seront testés en mélange et en présence d'interférents (H_2O et CO_2). Ces phases de caractérisation permettront d'évaluer les performances d'analyse du système.

5 Conclusion

Ce premier chapitre a permis de faire un tour d'horizon des techniques classiques de dépistage du cancer du poumon chez l'homme. Il en ressort en particulier que ces méthodes sont contraignantes en raison de leur caractère invasif et du temps nécessaire pour aboutir à

un diagnostic. Après avoir montré que l'haleine était porteuse de différents composés chimiques volatils marqueurs du cancer du poumon, différentes techniques en cours de développement et permettant d'identifier ces composés ont été présentées.

Tout d'abord, cette synthèse bibliographique a montré que la technique d'analyse par GC/MS était la plus utilisée en laboratoire mais malheureusement inappropriée pour un développement à plus grande échelle en partie dû au coût de l'appareillage et à son entretien.

Ensuite, des approches alternatives proposées par la communauté scientifique ont été présentées. Celles-ci consistent à utiliser des matrices de micro-capteurs chimiques pour détecter ces composés chimiques directement dans l'haleine. Ce dernier point a notamment permis de souligner que l'utilisation de micro-capteurs chimiques est une approche très originale et prometteuse même si, aujourd'hui encore, il est difficile d'accéder à un diagnostic fiable de la maladie.

Sur ce constat, nous avons établi le cahier des charges ainsi que la stratégie scientifique du projet pour réaliser un système de détection de marqueurs chimiques de cancer assimilable à un système de type micro-chromatographe en phase gazeuse.

Le chapitre suivant est consacré à la description et à la caractérisation des différents adsorbants pour la concentration des marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine.

6 Liste des figures

Figure I.1 : synoptique qui résume les étapes du diagnostic du cancer du poumon.....	8
Figure I.2 : mécanisme de formation des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) dans l'atmosphère.	9
Figure I.3 : mécanisme de formation des COV par l'effet du stress oxydatif sur les cellules [12].	10
Figure I.4 : schéma des principaux organes d'un chromatographe en phase gazeuse couplée à un spectromètre de masse.....	12
Figure I.5 : (a) méthode d'échantillonnage de vapeurs dans un sac Tedlar par SPME et (b) présentation des différentes étapes pour l'analyse par SPME [26].	13
Figure I.6 : méthode d'échantillonnage des COV par piégeage sur adsorbant suivi d'une condensation cryogénique [26].....	14
Figure I.7 : chromatogrammes présentant la séparation de quelques composés organiques volatils dans l'haleine d'un patient atteint d'une inflammation tumorale des bronches par GC/MS [32, 36]......	16
Figure I.8 : distribution de 60 COV détectés dans les échantillons d'haleine récoltés sur une cohorte de 441 volontaires en bonne santé et 220 personnes atteintes du cancer du poumon [28].	19
Figure I.9 : histogramme représentant l'abondance de COV détectés dans l'haleine de personnes saines et atteintes du cancer du poumon [33]......	21
Figure I.10 : Schéma général d'un capteur de type piézoélectrique.....	24
Figure I.11 : analyse discriminante linéaire réalisée sur trois types d'échantillon : 36 volontaires sains (Controls), 24 volontaires malades du cancer du poumon (Cancer) et 8 personnes présentant d'autres maladies pulmonaires (Other Lung Disease) [52]......	25
Figure I.12 : réponse après analyse de l'algorithme du réseau artificiel de neurones sur une haleine d'un volontaire sain (a) et d'un volontaire malade du cancer du poumon (b) [55].	26
Figure I.13 : (a) schéma général d'un capteur de type résistif et (b) exemple de réponses électriques obtenues à l'aide d'un capteur résistif à base de dioxyde d'étain lors de la détection de plusieurs concentrations d'acétone [58]......	27
Figure I.14 : photographie du système de détection NA-NOSE et micrographie du dépôt de nanoparticules d'or à la surface de la couche sensible de SnO ₂ [47].	28

Figure I.15 : exemple d'analyse en composante principale des réponses du réseau de micro-capteurs résistifs revêtus de nanoparticules d'or sur des haleines de volontaires sains (H) et de personnes malades du cancer (LC) [47]. 29

Figure I.16 : analyse en composante principale d'un mélange de COV constitué de : chloroforme, styrène, toluène, benzène, cyclohexane, o-xylène, pentane, décane, triméthylbenzène, isoprène, hex-1-ène [43]. 30

Figure I.17 : (a) assemblage utilisé pour détecter des traces de COV et (b) exemple de réponses électriques pour la détection sélective d'ONT en présence de 3 ppm de toluène [63]. 32

Figure I.18 : schéma de l'assemblage envisagé pour le prototype de détection..... 34

Figure I.19 : (a) photographie d'un micro-capteur MiCS-5524 commercialisé par SGX-Sensortech et (b) image optique de la surface sensible. 37

7 Liste des tableaux

Tableau I.1 : revêtements couramment utilisés en micro-extraction sur phase solide pour concentrer les COV. 13

Tableau I.2: adsorbants couramment utilisés pour concentrer les COV en mode prélèvement actif. 15

Tableau I.3 : principales phases stationnaires utilisées pour la séparation des COV dans l'haleine. 154

Tableau I.4 : exemple d'une cohorte de 36 personnes volontaires pour l'identification des COV contenus dans leur haleine [21]...... 18

Tableau I.5 : concentrations des marqueurs chimiques spécifiques du cancer du poumon. 20

Tableau I.6 : inventaire et concentrations des principaux marqueurs non-spécifiques. 22

Tableau I.7 : exemples de COV marqueurs du cancer du poumon et leurs temps d'élution respectifs dans une colonne commerciale revêtue de PDMS d'une longueur totale de 30 mètres et de diamètre interne de 250 µm. 26

Tableau I.8 : tableau récapitulatif des dispositifs à base de micro-capteurs résistifs pour le diagnostic du cancer du poumon. 31

Tableau I.9 : détails des contraintes liées au développement du système de détection des marqueurs chimiques du cancer du poumon contenus dans l'haleine. 33

Tableau I.10 : les principaux adsorbants utilisés pour la concentration de COV..... 35

8 Bibliographie

- [1] J. Todd, E.E. McGrath, Chest X-ray mass in a patient with lung cancer!, *QJM*. 104 (2011) 903–904. doi:10.1093/qjmed/hcq159.
- [2] W. Filipiak, A. Filipiak, A. Sponring, T. Schmid, B. Zelger, C. Ager, E. Klodzinska, H. Denz, A. Pizzini, P. Lucciarini, H. Jamnig, J. Troppmair, A. Amann, Comparative analyses of volatile organic compounds (VOCs) from patients, tumors and transformed cell lines for the validation of lung cancer-derived breath markers, *J. Breath Res.* 8 (2014) 027111.
- [3] T.D. Andrews, W.A.H. Wallace, Diagnosis and Staging of Lung and Pleural Malignancy — an Overview of Tissue Sampling Techniques and the Implications for Pathological Assessment, *Clin. Oncol.* 21 (2009) 451–463. doi:10.1016/j.clon.2009.03.006.
- [4] H. Suzuki, T. Gotoda, M. Sasako, D. Saito, Detection of early gastric cancer: misunderstanding the role of mass screening, *Gastric Cancer*. 9 (2006) 315–319. doi:10.1007/s10120-006-0399-y.
- [5] E. Rossi, A. Mulè, C. Maggiore, Cytologic diagnosis of pulmonary lesions, *Rays*. 29 (2004) 357–361.
- [6] A.G. Little, E.G. Gay, L.E. Gaspar, A.K. Stewart, National survey of non-small cell lung cancer in the United States: Epidemiology, pathology and patterns of care, *Lung Cancer*. 57 (2007) 253–260. doi:10.1016/j.lungcan.2007.03.012.
- [7] M. Gardès-Albert, D. Bonnefont-Rousselot, Z. Abedinzadeh, D. Jore, Espèces réactives de l'oxygène : comment l'oxygène peut-il devenir toxique ?, (2003).
- [8] B. Halliwell, Oxidants And Antioxidants: Pathophysiologic Determinants and Therapeutic Agents Reactive oxygen species in living systems: Source, biochemistry, and role in human disease, *Am. J. Med.* 91 (1991) S14–S22. doi:10.1016/0002-9343(91)90279-7.
- [9] A. Favier, Le stress oxydant : Intérêt conceptuel et expérimental dans la compréhension des mécanismes des maladies et potentiel thérapeutique, (2003) 108–115.
- [10] J. Cadet, S. Bellon, M. Berger, A.G. Bourdat, T. Douki, V. Duarte, S. Frelon, D. Gasparutto, E. Muller, J.L. Ravanat, S. Sauvaigo, Recent Aspects of Oxidative DNA

- Damage: Guanine Lesions, Measurement and Substrate Specificity of DNA Repair Glycosylases, *Biol. Chem.* 383 (2005) 933. doi:10.1515/BC.2002.100.
- [11] H. Esterbauer, J. Gebicki, H. Puhl, G. Jürgens, The role of lipid peroxidation and antioxidants in oxidative modification of LDL, *Free Radic. Biol. Med.* 13 (1992) 341–390. doi:10.1016/0891-5849(92)90181-F.
- [12] C. Motta, *Radicaux libres et vieillissement*, (2015).
- [13] F.P. Guengerich, D.H. Kim, M. Iwasaki, Role of human cytochrome P-450 IIE1 in the oxidation of many low molecular weight cancer suspects, *Chem. Res. Toxicol.* 4 (1991) 168–179. doi:10.1021/tx00020a008.
- [14] D.C. Lamb, L. Lei, A.G. warrilow, G.I. Lepsheva, J.G. Mullins, M.R. Waterman, S.L. Kelly, The First Virally Encoded Cytochrome P450, *J. Virol.* 83 (2009) 8266–8269. doi:10.1128/JVI.00289-09.
- [15] A. Tangerman, E.G. Winkel, Extra-oral halitosis: an overview, *J. Breath Res.* 4 (2010) 017003.
- [16] H. Haick, Y.Y. Broza, P. Mochalski, V. Ruzsanyi, A. Amann, Assessment, origin, and implementation of breath volatile cancer markers, *Chem. Soc. Rev.* 43 (2014) 1423–1449. doi:10.1039/C3CS60329F.
- [17] U. Tisch, S. Billan, M. Ilouze, M. Phillips, N. Peled, H. Haick, Volatile organic compounds in exhaled breath as biomarkers for the early detection and screening of lung cancer, *Lung Cancer.* 5 (2012) 107–117.
- [18] L. Pauling, A.B. Robinson, R. Teranishi, P. Cary, Quantitative Analysis of Urine Vapor and Breath by Gas-Liquid Partition Chromatography, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 68 (1971) 2374–2376.
- [19] N.J. Serkova, *Metabolomics of Cancer*, in: *Tumor Biomark. Discov. Methods Protoc.*, Humana Press, Totowa, NJ, 2009: pp. 273–295. http://dx.doi.org/10.1007/978-1-60327-811-9_20.
- [20] M. Ligor, T. Ligor, A. Bajtarevic, C. Ager, M. Pienz, M. Klieber, H. Denz, M. Fiegl, W. Hilbe, W. Weiss, P. Lukas, H. Jamnig, M. Hackl, B. Buszewski, W. Miekisch, J.K. Schubert, A. Amari, Determination of volatile organic compounds in exhaled breath of patients with lung cancer using solid phase microextraction and gas chromatography mass spectrometry, *Clin. Chem. Lab. Med.* 47 (2009). doi:10.1515/CCLM.2009.133.

- [21] P. Fuchs, C. Loeseken, J.K. Schubert, W. Miekisch, Breath gas aldehydes as biomarkers of lung cancer, *Int. J. Cancer*. 126 (2010) 2663–2670. doi:10.1002/ijc.24970.
- [22] K.D. van de Kant, L.J. van der Sande, Q. Jöbssis, O.C. van Schayck, E. Dompeling, Clinical use of exhaled volatile organic compounds in pulmonary diseases: a systematic review, *Respir. Res.* 13 (2012) 117. doi:10.1186/1465-9921-13-117.
- [23] M. Phillips, Method for the collection and assay of volatile organic compounds in breath, *Anal Biochem.* 247 (1997). doi:10.1006/abio.1997.2069.
- [24] A. Manolis, The diagnostic potential of breath analysis, *Clin Chem.* (1983) 5–15.
- [25] J. Rudnicka, T. Kowalkowski, T. Ligor, B. Buszewski, Determination of volatile organic compounds as biomarkers of lung cancer by SPME–GC–TOF/MS and chemometrics, *J. Chromatogr. B.* 879 (2011) 3360–3366. doi:10.1016/j.jchromb.2011.09.001.
- [26] K. Schmidt, Current Challenges in Volatile Organic Compounds Analysis as Potential Biomarkers of Cancer, (2015).
- [27] J. Koziel, Sampling and Analysis of Airborne Particulate Matter and Aerosols Using In-Needle Trap and SPME Fiber Devices, *Anal. Chem.* 73 (2001) 47–54.
- [28] A. Bajtarevic, C. Ager, M. Pienz, M. Klieber, K. Schwarz, M. Ligor, T. Ligor, W. Filipiak, H. Denz, M. Fiegl, W. Hilbe, W. Weiss, P. Lukas, H. Jamnig, M. Hackl, A. Haidenberger, B. Buszewski, W. Miekisch, J. Schubert, A. Amann, Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath, *BMC Cancer*. 9 (2009) 348. doi:10.1186/1471-2407-9-348.
- [29] D. Poli, P. Carbognani, M. Corradi, M. Goldoni, O. Acampa, B. Balbi, L. Bianchi, M. Rusca, A. Mutti, Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study, *Respir. Res.* 6 (2005) 1–10. doi:10.1186/1465-9921-6-71.
- [30] B. Buszewski, T. Ligor, T. Jezierski, A. Wenda-Piesik, M. Walczak, J. Rudnicka, Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography–mass spectrometry: comparison with discrimination by canines, *Anal. Bioanal. Chem.* 404 (2012) 141–146. doi:10.1007/s00216-012-6102-8.
- [31] S. Kischkel, W. Miekisch, A. Sawacki, E.M. Straker, P. Trefz, A. Amann, J.K. Schubert, Breath biomarkers for lung cancer detection and assessment of smoking

- related effects — confounding variables, influence of normalization and statistical algorithms, *Clin. Chim. Acta.* 411 (2010) 1637–1644. doi:10.1016/j.cca.2010.06.005.
- [32] A. Ulanowska, T. Kowalkowski, E. Trawińska, B. Buszewski, The application of statistical methods using VOCs to identify patients with lung cancer, *J. Breath Res.* 5 (2011) 046008. doi:10.1088/1752-7155/5/4/046008.
- [33] G. Peng, U. Tisch, O. Adams, M. Hakim, N. Shehada, Y.Y. Broza, S. Billan, R. Abdah-Bortnyak, A. Kuten, H. Haick, Diagnosing lung cancer in exhaled breath using gold nanoparticles, *Nat Nano.* 4 (2009) 669–673. doi:10.1038/nnano.2009.235.
- [34] P. Příkryl, R. Kubinec, H. Jurdáková, J. Ševčík, I. Ostrovský, L. Soják, V. Berezkin, Comparison of Needle Concentrator with SPME for GC Determination of Benzene, Toluene, Ethylbenzene, and Xylenes in Aqueous Samples, *Chromatographia.* 64 (2006) 65–70. doi:10.1365/s10337-006-0800-3.
- [35] B. Buszewski, T. Ligor, F. Wojciech, M.T. Vasconcelos, Study of sorptive properties of trap systems for selective enrichment of volatile organic compounds from tobacco smoke samples, (2008).
- [36] C.M. Robroeks, J.J. van Berkel, J.W. Dallinga, Q. Jöbbsis, L.J. Zimmerman, H.J. Hendriks, M.F. Wouters, C.P. van der Grinten, K.D. van de Kant, F.J. van Schooten, E. Dompeling, Metabolomics of Volatile Organic Compounds in Cystic Fibrosis Patients and Controls, *Pediatr Res.* 68 (2010) 75–80.
- [37] G. de Gennaro, S. Dragonieri, F. Longobardi, M. Musti, G. Stallone, L. Trizio, M. Tutino, Chemical characterization of exhaled breath to differentiate between patients with malignant pleural mesothelioma from subjects with similar professional asbestos exposure, *Anal. Bioanal. Chem.* 398 (2010) 3043–3050. doi:10.1007/s00216-010-4238-y.
- [38] M. Phillips, K. Gleeson, J.M. Hughes, J. Greenberg, R.N. Cataneo, L. Baker, W.P. McVay, Volatile organic compounds in breath as markers of lung cancer: a cross-sectional study, *Lancet.* 353 (1999). doi:10.1016/S0140-6736(98)07552-7.
- [39] F. Wojciech, A. Sponring, T. Mikoviny, C. Ager, J. Schubert, W. Miekisch, A. Amann, J. Troppmair, Release of volatile organic compounds (VOCs) from the lung cancer cell line CALU-1 in vitro, *Cancer Cell Int.* 8 (2008) 1–11. doi:10.1186/1475-2867-8-17.
- [40] H.J. O'Neill, S.M. Gordon, M.H. O'Neill, R.D. Gibbons, J.P. Szidon, A computerized classification technique for screening for the presence of breath biomarkers in lung cancer., *Clin. Chem.* 34 (1988) 1613–1618.

- [41] A. Amann, W. Miekisch, J. Schubert, B. Buszewski, T. Ligor, T. Jeziński, J. Pleil, T. Risby, Analysis of Exhaled Breath for Disease Detection, *Annu. Rev. Anal. Chem.* 7 (2014) 455–482. doi:10.1146/annurev-anchem-071213-020043.
- [42] D. Poli, M. Goldoni, C. Cagliero, G. Ceresa, O. Acampa, P. Carbognani, M. Rusca, M. Corradi, Breath analysis in non small cell lung cancer patients after surgical tumour resection., *Acta Biomed.* 79 (2008) 64–72.
- [43] S. Chatterjee, M. Castro, J.F. Feller, An e-nose made of carbon nanotube based quantum resistive sensors for the detection of eighteen polar/nonpolar VOC biomarkers of lung cancer, *J. Mater. Chem. B.* 1 (2013) 4563–4575. doi:10.1039/C3TB20819B.
- [44] A.G. Dent, T.G. Sutedja, P.V. Zimmerman, Exhaled breath analysis for lung cancer, *J. Thorac. Dis.* 5 (2013) S540–S550. doi:10.3978/j.issn.2072-1439.2013.08.44.
- [45] K.A. Kouremenos, M. Johansson, P.J. Marriott, Advances in Gas Chromatographic Methods for the Identification of Biomarkers in Cancer, *J. Cancer.* 3 (2012) 404–420. doi:10.7150/jca.4956.
- [46] U. Tisch, H. Haick, Arrays of Chemisensitive Monolayer-Capped Metallic Nanoparticles for Diagnostic Breath Testing, *Rev. Chem. Eng.* (2011).
- [47] M. Hakim, S. Billan, U. Tisch, G. Peng, I. Dvorkind, O. Marom, R. Abdah-Bortnyak, A. Kuten, H. Haick, Diagnosis of head-and-neck cancer from exhaled breath, *Br. J. Cancer.* 104 (2011) 1649–1655. doi:10.1038/bjc.2011.128.
- [48] Peter Mazzone, Progress in the development of a diagnostic test for lung cancer through the analysis of breath volatiles, *J. Breath Res.* 2 (2008) 037014.
- [49] G. Peng, M. Hakim, Y.Y. Broza, S. Billan, R. Abdah-Bortnyak, A. Kuten, U. Tisch, H. Haick, Detection of lung, breast, colorectal, and prostate cancers from exhaled breath using a single array of nanosensors, *Br. J. Cancer.* 103 (2010) 542–551. doi:10.1038/sj.bjc.6605810.
- [50] K. Persaud, G. Dodd, Analysis of discrimination mechanisms in the mammalian olfactory system using a model nose, *Nature.* 299 (1982) 5.
- [51] F. Röck, N. Barsan, U. Weimar, Electronic nose: current status and future trends, *Chem rev.* 108 (2008) 25.
- [52] C. Di Natale, A. Macagnano, E. Martinelli, R. Paolesse, G. D'Arcangelo, C. Roscioni, A. Finazzi-Agro, A. D'Amico, Lung cancer identification by the analysis of breath by

- means of an array of non-selective gas sensors, *Biosens Bioelectron.* 18 (2003). doi:10.1016/S0956-5663(03)00086-1.
- [53] G. Sauerbrey, Verwendung von Schwingquarzen zur Wägung dünner Schichten und zur Mikrowägung, *Z. Für Phys.* 155 (1959) 206–222. doi:10.1007/BF01337937.
- [54] M. Santonico, G. Lucantoni, G. Pennazza, R. Capuano, G. Galluccio, C. Roscioni, G. La Delfa, D. Consoli, E. Martinelli, R. Paolesse, C. Di Natale, A. D'Amico, In situ detection of lung cancer volatile fingerprints using bronchoscopic air-sampling, *Lung Cancer.* 77 (2012) 46–50. doi:10.1016/j.lungcan.2011.12.010.
- [55] C. Xing, C. Mingfu, Y. Li, H. Weijun, W. Ping, Y. Kejing, P. Hongming, A study of an electronic nose for detection of lung cancer based on a virtual SAW gas sensors array and imaging recognition method, *Meas. Sci. Technol.* 16 (2005) 1535.
- [56] R. Vargas, C. Borrás, D. Méndez, J. Mostany, B.R. Scharifker, Electrochemical oxygen transfer reactions: electrode materials, surface processes, kinetic models, linear free energy correlations, and perspectives, *J. Solid State Electrochem.* 20 (2016) 875–893. doi:10.1007/s10008-015-2984-7.
- [57] D. Kohl, Surface processes in the detection of reducing gases with SnO₂-based devices, *Sens. Actuators.* 18 (1989) 71–113. doi:10.1016/0250-6874(89)87026-X.
- [58] N.K. Kang, T.S. Jun, Evaluation of the limit-of-detection capability of carbon black-polymer composite sensors for volatile breath biomarkers, *Sens. Actuators B Chem.* 147 (2010) 55–60. doi:10.1016/j.snb.2010.03.025.
- [59] Y. Adiguzel, H. Kulah, Breath sensors for lung cancer diagnosis, *Biosens. Bioelectron.* 65 (2015) 121–138. doi:10.1016/j.bios.2014.10.023.
- [60] M. Castro, B. Kumar, J.F. Feller, Z. Haddi, A. Amari, B. Bouchikhi, Novel e-nose for the discrimination of volatile organic biomarkers with an array of carbon nanotubes (CNT) conductive polymer nanocomposites (CPC) sensors, *Sens. Actuators B Chem.* 159 (2011) 213–219. doi:10.1016/j.snb.2011.06.073.
- [61] S. Dragonieri, J.T. Annema, R. Schot, M.P. van der Schee, A. Spanevello, P. Carratu, O. Resta, K.F. Rabe, P.J. Sterk, An electronic nose in the discrimination of patients with non-small cell lung cancer and COPD, *Lung Cancer.* 64 (2009) 166–170. doi:10.1016/j.lungcan.2008.08.008.
- [62] R.F. Machado, D. Laskowski, O. Deffenderfer, T. Burch, S. Zheng, P.J. Mazzone, T. Mekhail, C. Jennings, J.K. Stoller, J. Pyle, J. Duncan, R. Dweik, S.C. Erzurum,

- Detection of lung cancer by sensor array analyses of exhaled breath, *Am J Respir Crit Care Med.* 171 (2005). doi:10.1164/rccm.200409-1184OC.
- [63] Y. Mohsen, Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection sélective de traces d'un produit de dégradation du TNT dans l'atmosphère, Université de Franche-Comté, 2013.
- [64] F. James, Développement d'un système de préconcentration miniaturisé pour la détection de gaz à l'état de trace / application à la détection de COV et d'explosifs, École des mines de St-Étienne, 2015.
- [65] G. Sberveglieri, EUROSENSORS 2014, the 28th European Conference on Solid-State Transducers Development of a MEMS Preconcentrator for Micro-gas Chromatography Analyses, *Procedia Eng.* 87 (2014) 500–503. doi:10.1016/j.proeng.2014.11.413.
- [66] S. Camou, A. Shimizu, T. Horiuchi, T. Haga, Ppt-level aqueous benzene detection with an UV spectroscopy based portable sensor, (2009) 7640–7647.
- [67] Y. Ueno, T. Horiuchi, O. Niwa, Air-cooled cold trap channel integrated in a microfluidic device for monitoring airborne BTEX with an improved detection limit, 74 (2002) 1712–1717.
- [68] Y. Ueno, T. Horiuchi, T. Morimoto, O. Niwa, Microfluidic Device for Airborne BTEX Detection, 73 (2001) 4688–4693. doi:10.1021/ac010210+.
- [69] Y. Ueno, T. Horiuchi, O. Niwa, H.-S. Zhou, T. Yamada, I. Honma, Portable automatic BTX measurement system with microfluidic device using mesoporous silicate adsorbent with nano-sized pores, 95 (2003) 282–286.
- [70] Y. Ueno, T. Horiuchi, M. Tomita, Separate detection of BTX mixture gas by a microfluidic device using a function of nanosized pores of mesoporous silica adsorbent, 74 (2002) 4247–5262.
- [71] W.-C. Tian, H.-K.-L. Chan, S.-W. Pang, C.-J. Lu, E.-T. Zellers, High sensitivity three-stage microfabricated preconcentrator focuser for micro gas chromatography, (2003).
- [72] S.-W. Pang, W.-C. Tian, Microelectromechanical heating apparatus and fluid preconcentrator device, US Patent 6,914,220, n.d.
- [73] P. Ivanov, F. Blanco, I. Gràcia, N. Sabaté, A. Ruiz, X. Vilanova, X. Correig, L. Fonseca, E. Figueras, J. Santander, C. Cané, Improvement of the gas sensor response via silicon μ -preconcentrator, *Spec. Issue Eurosensors XX 20th Eur. Conf. Solid-State Transducersthe 20th Eur. Conf. Solid-State Transducers.* 127 (2007) 288–294. doi:10.1016/j.snb.2007.07.032.

- [74] F. Blanco, X. Vilanova, V. Fierro, A. Celzard, C. Ivana, E. Llobet, N. Canallas, J.L. Ramirez, X. Correig, Fabrication and characterisation of microporous activated carbon-based pre-concentrators for benzene vapours, *Sens. Actuators B Chem.* 132 (2008) 90–98. doi:10.1016/j.snb.2008.01.016.
- [75] I. Gràcia, P. Ivanov, F. Blanco, N. Sabaté, X. Vilanova, X. Correig, L. Fonseca, E. Figueras, J. Santander, C. Cané, Influence of the internal gas flow distribution on the efficiency of a μ -preconcentrator, *Sens. Actuators B Chem.* 135 (2008) 52–56. doi:10.1016/j.snb.2008.07.023.
- [76] H. Lahlou, J.B. Sanchez, X. Vilanova, F. Berger, X. Correig, V. Fierro, A. Celzard, Towards a GC-based microsystem for benzene and 1,3 butadiene detection: Pre-concentrator characterization, *Sens. Actuators B Chem.* 156 (2011) 680–688. doi:10.1016/j.snb.2011.02.018.
- [77] H. Lahlou, X. Vilanova, V. Fierro, A. Celzard, E. Llobet, X. Correig, Preparation and characterization of a planar pre-concentrator for benzene based on different activated carbon materials deposited by air-brushing, *EUROSENSORS XXIII.* 154 (2011) 213–219. doi:10.1016/j.snb.2009.12.040.
- [78] M. Camara, P. Breuil, D. Briand, Guillot, C. Pijolat, N.F. de Rooij, Micro gas preconcentrator in porous silicon filled with a carbon absorbent, *Sens. Actuators B Chem.* 148 (2010) 610–619. doi:10.1016/j.snb.2010.05.054.
- [79] C. Pijolat, M. Camara, J. Courbat, J.P. Viricelle, D. Briand, N.F. de Rooij, Application of carbon nano-powders for a gas micro-preconcentrator, *Spec. Issue Eurosensors XX 20th Eur. Conf. Solid-State Transducers* the 20th Eur. Conf. Solid-State Transducers. 127 (2007) 179–185. doi:10.1016/j.snb.2007.07.029.
- [80] S. Zampolli, P. Betti, I. Elmi, E. Dalcanale, A supramolecular approach to sub-ppb aromatic VOC detection in air, *Chem. Commun.* (2007) 2790–2792. doi:10.1039/B703747C.
- [81] S. Zampolli, I. Elmi, F. Mancarella, P. Betti, E. Dalcanale, G.C. Cardinali, M. Severi, Real-time monitoring of sub-ppb concentrations of aromatic volatiles with a MEMS-enabled miniaturized gas-chromatograph, *Sens. Actuators B Chem.* 141 (2009) 322–328. doi:10.1016/j.snb.2009.06.021.
- [82] F. Bianchi, R. Pinalli, F. Ugozzoli, S. Spera, M. Careri, E. Dalcanale, Cavitands as superior sorbents for benzene detection at trace level, *New J. Chem.* 27 (2003) 502–509. doi:10.1039/B210942E.

**CHAPITRE II. Caractérisation d'adsorbants
nanoporeux spécifiques pour la
préconcentration du toluène, marqueur
chimique du cancer du poumon**

1 Introduction

Un des objectifs de ce travail consiste à détecter, à l'aide d'un capteur résistif, des concentrations de quelques ppbs de composés organiques volatils considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Afin de pouvoir accéder à ces seuils de détection, il est nécessaire de préconcentrer ces marqueurs chimiques. Pour optimiser cette étape, il est primordial d'utiliser des matériaux adsorbants capables de piéger dans leurs structures poreuses les faibles concentrations des molécules cibles pour ensuite les désorber.

L'objectif principal de ce chapitre est de caractériser un panel d'adsorbants dans le but de déterminer leurs capacités d'adsorption envers les marqueurs chimiques du cancer du poumon. Le toluène sera ici considéré comme le marqueur chimique de référence et permettra d'évaluer les performances d'adsorption des différents matériaux poreux sélectionnés.

Après une présentation des différents adsorbants identifiés pour cette étude, ce chapitre détaillera les techniques d'analyse utilisées pour caractériser les structures poreuses des matériaux ainsi que leurs capacités d'adsorption et de désorption du toluène. Les différentes isothermes obtenues seront interprétées et discutées en détail. Ces résultats seront complétés par l'étude des capacités d'adsorption des principaux interférents chimiques présents dans l'haleine (CO_2 et H_2O) dans la structure poreuse des adsorbants. Ce dernier point permettra de guider notre choix sur les matériaux qui seront utilisés pour préconcentrer les marqueurs chimiques du cancer du poumon.

2 Présentation des adsorbants

Le choix d'adsorbants performants est fortement conditionné par la nature de l'adsorbat (molécule à adsorber). En effet, la taille des pores doit être compatible avec les dimensions de la molécule cible. De plus, il faut considérer l'existence d'interactions spécifiques de type adsorbat/adsorbant (interactions de Van der Waals, liaisons hydrogènes, etc) qui vont également régir les capacités d'adsorption du matériau.

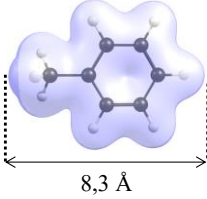
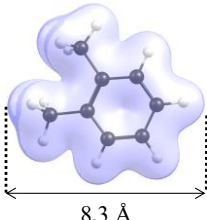
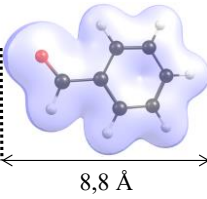
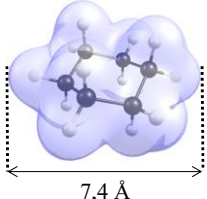
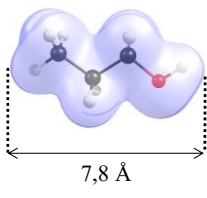
La chimisorption ainsi que la physisorption sont les deux types d'adsorption qui existent entre l'adsorbat et l'adsorbant. La chimisorption est un phénomène au cours duquel les molécules sont adsorbées dans la porosité du matériau grâce à la formation de liaisons

covalentes ou ioniques entre l'adsorbat et l'adsorbant. En règle générale, cela implique une stabilité importante du couple adsorbant/adsorbat en raison de la faible énergie d'équilibre du système [1]. La désorption du composé chimique nécessite alors une énergie importante pour être obtenue. Concernant la physisorption, les molécules cibles se fixent à la surface de l'adsorbant selon deux types d'interactions : les forces de Van der Waals et les interactions spécifiques (de type adsorbat/adsorbant et adsorbat/adsorbat). Ce second mode d'adsorption convient idéalement pour préconcentrer des composés chimiques car il permet de désorber les molécules plus facilement en raison des faibles énergies d'interaction entre l'adsorbat et l'adsorbant [2, 3].

Dans le cas particulier de cette étude, où l'objectif est de concentrer plusieurs marqueurs chimiques du cancer du poumon dans un matériau nanoporeux, il a été nécessaire de sélectionner une molécule de référence pour déterminer les capacités d'adsorption et de désorption d'un panel d'adsorbants. Parmi les cinq marqueurs chimiques identifiés dans le premier chapitre, le toluène a été retenu comme composé de référence pour plusieurs raisons. Tout d'abord, son diamètre de Van der Waals (8,3 Å) est sensiblement équivalent aux autres marqueurs (cf. tableau II.1). Par ailleurs, la présence d'électrons π localisés sur le cycle aromatique permet de simuler la présence des atomes d'oxygènes (sites riches en électrons) présents dans la structure chimique des autres marqueurs. Enfin, les concentrations à détecter en toluène figurent parmi les plus basses (20-30 ppb) par rapport aux autres marqueurs chimiques. Il est donc intéressant d'étudier les capacités d'adsorption de cette molécule par les différents adsorbants dans le but d'identifier un matériau capable de concentrer les marqueurs chimiques du cancer du poumon. Le tableau II.1 rassemble les dimensions et concentrations des différents marqueurs du cancer du poumon identifiés pour cette étude ainsi que leurs concentrations. Les dimensions des COV ont été mesurées dans leur conformation la plus stable. Les structures de ces molécules (distances et angles entre atomes) ont été optimisées par la méthode Density Functional Theory (DFT).

CHAPITRE II. Caractérisation d'adsorbants nanoporeux spécifiques pour la préconcentration du toluène, marqueur chimique du cancer du poumon

Tableau II.1 : dimensions et concentrations moyennes relevées dans l'haleine des marqueurs chimiques du cancer du poumon.

Marqueurs	Concentration dans l'haleine (ppb)	Dimensions
Toluène	20-30	
O-xylène	25	
Benzaldéhyde	Non mesurée	
Cyclohexane	200	
Propanol	4,37-452,7	

En considérant le toluène comme marqueur chimique de référence, un panel de matériaux nanoporeux a été sélectionné dans le but d'étudier leurs capacités d'adsorption et de désorption de cette molécule. La présence d'un volume de micropores élevé est nécessaire pour piéger les composés organiques volatils présentant des concentrations faibles (ppbs). Sur ce constat, deux familles d'adsorbants ont alors été sélectionnées pour cette étude :

- Deux zéolites de type faujasite ont suscité de l'intérêt en raison de leur structure poreuse très développée et de leur taille de pores compatible avec les dimensions du toluène.
- Des microsphères carbonées qui font partie de la famille des charbons actifs ont également été sélectionnées car elles présentent une grande surface spécifique ainsi qu'une microporosité très développée. Les charbons actifs sont par ailleurs largement répandus dans les systèmes de piégeage de COV.

Les spécificités de ces matériaux sont développées dans la partie suivante.

2.1 Les zéolites

Les zéolites synthétiques sont des matériaux inorganiques caractérisés par des surfaces spécifiques élevées ainsi qu'une structure poreuse développée. L'atlas des zéolites répertorie actuellement plus de 194 structures différentes [4]. Le champ d'applications de ces matériaux cristallins est large. Ils sont en particulier utilisés en tant que catalyseurs de réactions chimiques, pour le tamisage moléculaire ou bien encore pour piéger les gaz [5]. Néanmoins, la littérature révèle très peu d'articles relatifs à l'utilisation des zéolites dans des micro-préconcentrateurs.

Les faujasites qui appartiennent au groupe minéral de la famille des zéolites présentent une structure cristalline constituée d'atomes d'aluminium et de silicium. La figure II.1 présente une micrographie d'une faujasite, sa structure cristallographique ainsi que sa structure chimique.

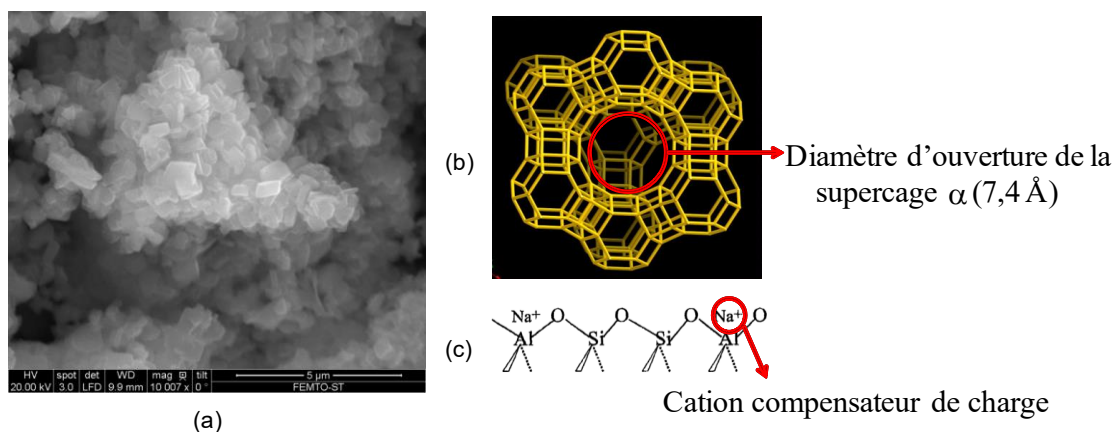


Figure II.1 : (a) Micrographie, (b) structure générale et (c) structure chimique d'une zéolite de type faujasite (M : Na⁺) [6].

Les faujasites présentent une structure chimique de la forme générale $M_{x/n}[Al_xSi_yO_{2(x+y)}]_zH_2O$ où « n » est la valence du cation (M) de compensation de charge. Ce dernier peut être de différentes natures chimiques (Na^+ , K^+ , Li^+ , etc...). « (x+y) » est le nombre de tétraèdres de SiO_4 et de AlO_4 dans la maille élémentaire qui constituent la structure de la faujasite. Dans ce cas, les particules $[AlO_4]^{5-}$ d'oxyde d'aluminium cohabitent avec les particules $[SiO_4]^{4-}$ et le cation M^+ assure l'électro neutralité de l'édifice chimique [4].

Le diamètre d'ouverture de pores des cages α de 7,4 Å implique que ces dimensions sont du même ordre de grandeur que les diamètres de Van der Waals des marqueurs du cancer du poumon. De plus, la stabilité thermique de la faujasite de l'ordre de 1000°C est un atout majeur pour réaliser des cycles d'adsorption et de désorption thermique sans dégrader le matériau.

Dans la famille chimique des faujasites, nous avons sélectionné deux matériaux de type Y. Cette dénomination correspond aux faujasites dont le rapport Si/Al est supérieur à 1,5 [7]. Il a été intéressant de sélectionner ces matériaux car un rapport Si/Al élevé implique une quantité de tétraèdre d'alumine importante. Ce dernier est porteur du cation compensateur de charge qui régit la polarité de l'adsorbant constituant l'affinité d'adsorption. Deux types de faujasite de type Y ont été étudiés au cours de ce travail :

- La zéolite NaY est une faujasite non désaluminée de formule brute $Na_{52}(Al_{52}Si_{140}O_{384})$ et synthétisée par l'Union Carbide. Son rapport Si/Al >3 implique un nombre de sites réactifs cationiques (Na^+) importants. Ce dernier point justifie une plus grande affinité avec les gaz polaires. Ce matériau est donc potentiellement un bon adsorbant des marqueurs chimiques du cancer du poumon (globalement polaires hormis le cyclohexane). La granulométrie de la zéolite NaY est d'environ 1 μm .
- La zéolite DaY est une faujasite désaluminée de type Y de formule brute $Na_2(Al_2Si_{190}O_{384})$ et commercialisée par la société DEGUSSA sous le nom de Wessalith DaY. Le rapport Si/Al de cette faujasite est supérieur à 100. La désaluminisation implique le départ de cations compensateurs de charges ce qui engendre un caractère moins polaire par rapport à la zéolite NaY (et donc plus hydrophobe). La granulométrie de ce matériau est comprise dans la gamme 3-5 μm .

2.2 Les microsphères de carbone

L'équipe de recherche de l'Institut Jean Lamour situé à Épinal (88) réalise depuis plusieurs années la synthèse de matériaux adsorbants innovants. Des travaux de recherche ont abouti à la synthèse de microsphères de carbone présentant une structure poreuse particulièrement développée ainsi qu'une surface spécifique très importante. Ces matériaux innovants ont été sélectionnés en raison du fort potentiel d'adsorption qu'offre en règle générale la famille des charbons actifs [8]. De plus, ce type de matériau n'a encore jamais été utilisé dans des micro-préconcentrateurs.

Deux types de microsphères de carbone ont été synthétisés à partir de la carbonisation hydrothermale d'une solution de sucrose ($0,8 \text{ mol.L}^{-1}$) à 453 K pendant 24 heures dans un autoclave. Afin d'accroître leur porosité, les microsphères de carbone ont été activées à 1023 K dans une solution de KOH [9]. Deux ratios massiques KOH/précurseur ont été utilisés (4 et 5) pour donner deux types de microsphères de carbone activées (nommées W4 et W5). Dans ces conditions, la structure des charbons actifs est éclatée donnant une augmentation significative de la surface spécifique et de la porosité. De plus, le procédé d'activation favorise le greffage de fonctions carbonyles, carboxyles et hydroxyles à la surface du matériau. Ces fonctions chimiques contribuent à la polarité globale du matériau. Les microsphères de carbone présentent alors un fort potentiel d'adsorption des composés organiques volatils. La taille de particules associées à ces deux composés est inférieure à $50 \mu\text{m}$. La figure II.2 présente deux micrographies des microsphères de carbone W5 avant et après activation.

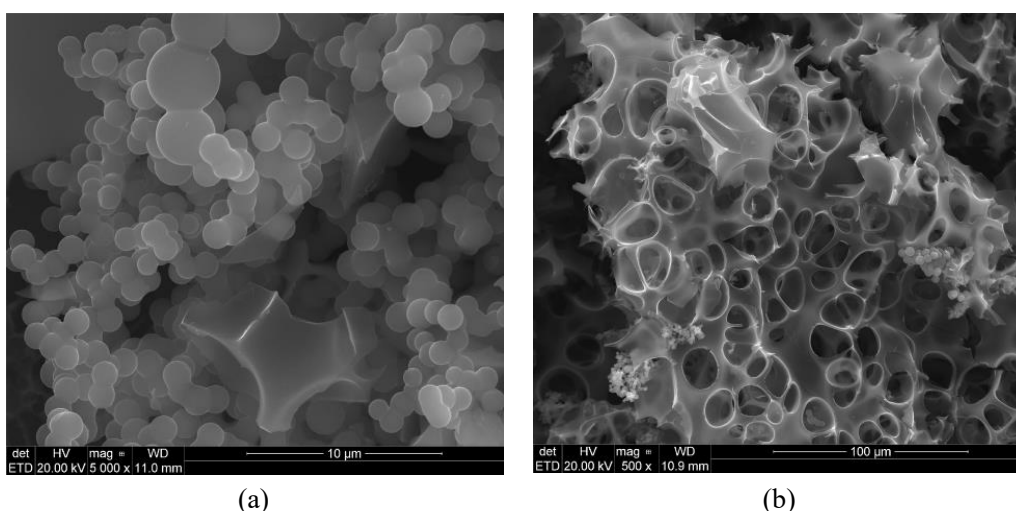


Figure II.2 : micrographies de microsphères de carbone avant (a) et après activation (b) observées par microscope électronique à balayage.

La micrographie (a) montre la forme des microsphères de carbone alors que la micrographie (b) montre le résultat de l'activation donnant une structure spongieuse. Cette matrice est issue du remaniement de la structure initiale du matériau par les gaz d'oxydation et de décomposition lors de l'étape d'activation.

Afin de caractériser les structures poreuses de ces matériaux et également de déterminer les capacités d'adsorption du composé de référence (toluène), différentes techniques de caractérisation ont été utilisées. La partie suivante présente le principe des méthodes de caractérisation utilisées.

3 Méthodes de caractérisation des adsorbants

Dans un premier temps, les caractéristiques structurales des adsorbants ont été étudiées afin de déterminer la valeur de la surface spécifique et caractériser la structure poreuse des matériaux. La technique de manométrie d'adsorption de N₂ permet d'accéder à ces premières informations. Puis, la technique de thermogravimétrie Mc-Bain a été utilisée pour évaluer les capacités d'adsorption et de désorption du toluène vis-à-vis des quatre adsorbants sélectionnés. Ces deux techniques de caractérisation sont complémentaires et permettront de statuer sur les capacités d'adsorption et de désorption du toluène. Une dernière phase consiste à déterminer les capacités d'adsorption des différents adsorbants vis-à-vis de la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone qui sont considérés comme les interférents majeurs de l'haleine.

3.1 Etude structurale par manométrie d'adsorption de N₂

L'étude des caractéristiques structurales des adsorbants est réalisée par manométrie d'adsorption d'azote et de dioxyde de carbone. L'instrumentation utilisée pour mesurer les isothermes d'adsorption et de désorption de N₂ à 77 K est un appareil Micrometrics de type ASAP 2020. Le schéma de l'appareillage utilisé pour faire l'acquisition des isothermes est présenté dans la figure II.3.

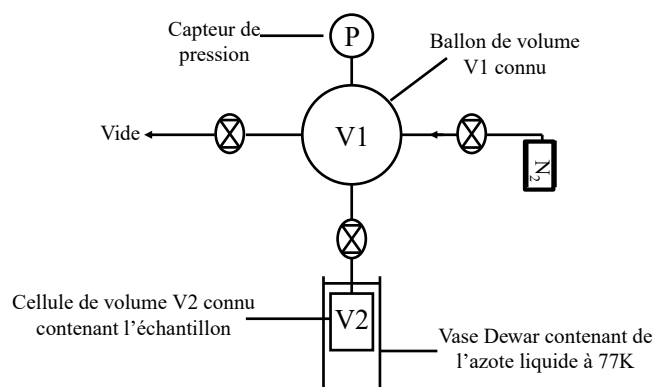


Figure II.3 : schéma général de l'appareillage de manométrie d'adsorption d'azote

Le principe de fonctionnement de cette technique repose sur les étapes suivantes. Dans un premier temps, les matériaux sont dégazés à 573 K afin de désorber toutes les molécules adsorbées pendant la période de stockage. Ensuite, le matériau est installé dans la cellule de mesure de l'appareil et est maintenu à 77K dans de l'azote liquide. Du diazote est ensuite introduit par incrément de pression dans le ballon de volume V1 qui, à capacité connue, renseigne sur la quantité de diazote injecté. Le gaz est alors détendu dans la cellule de volume V2 contenant l'échantillon. Cette pression diminue aussitôt du fait de l'adsorption des molécules de N₂ à la surface de l'échantillon. Lorsque l'équilibre entre la surface du solide et la phase gazeuse est atteint, la différence de pression ($P_{\text{initiale}} - P_{\text{équilibre}}$) indique la quantité de diazote adsorbée. Cette même mesure est effectuée à différentes pressions afin de tracer l'isotherme d'adsorption. La phase de désorption est similaire. Le vide est effectué progressivement puis les pressions de gaz à l'équilibre permettent l'acquisition de la branche de désorption. Les isothermes d'adsorption et de désorption sont mesurées dans la gamme de pression relative P/P_s comprise en 10^{-5} et 0,99. La pression P_s correspond ici à la pression de vapeurs saturante du diazote à 77 K dans l'atmosphère soit environ 1 atm [10].

Pour finir, les résultats bruts sont traités selon différentes méthodes de calcul afin d'obtenir les grandeurs structurales caractéristiques de nos échantillons. En particulier, la surface spécifique (S_{BET}) de chaque matériau est déterminée par la méthode Brunauer, Emmett et Teller (BET) [11].

La structure poreuse du matériau est évaluée à l'aide d'une méthode de calcul particulière aux charbons actifs. L'étude des microsphères de carbone impose en effet d'utiliser un algorithme prenant en compte la présence des micropores mais également des mésopores. Dans le cas de ces expérimentations, la méthode « Non-Local Density

Functional Theory » (NLDFT) est particulièrement adaptée pour déterminer ces valeurs. Le volume total de pore (V_T) a été déterminé à $P/P_s = 0,97$. Le volume microporeux ($< 2 \text{ nm}$; $V_{\mu\text{NLDFT}}$), le volume ultramicroporeux ($< 0,7 \text{ nm}$; $V_{U\mu\text{NLDFT}}$) ainsi que le volume mésoporeux ($V_{\text{mes}}=V_{0,97}- V_{\mu\text{NLDFT}}$) ont également été évalués car ce sont des paramètres importants pour comprendre les capacités d'adsorption et de désorption envers un composé chimique.

Les données d'adsorption ont été analysées à l'aide du programme « Solution of Adsorption Integral Equation Using Splines » (SAIEUS) fourni par Micrometrics qui a permis de déterminer la distribution de la taille des pores.

3.2 Etude des capacités d'adsorption et de désorption du toluène et de H_2O

La thermogravimétrie Mc Bain est une méthode d'analyse thermogravimétrique qui consiste à mesurer les variations de masse d'un matériau lors de l'adsorption et de la désorption d'une phase vapeur avec lequel il est en contact dans un système fermé [12]. La possibilité de réaliser de manière très précise des isothermes et isobares d'adsorption et de désorption permet d'obtenir des renseignements sur la capacité d'adsorption entre l'adsorbant et la phase vapeur. Le schéma général de ce dispositif est présenté sur la figure II.4.

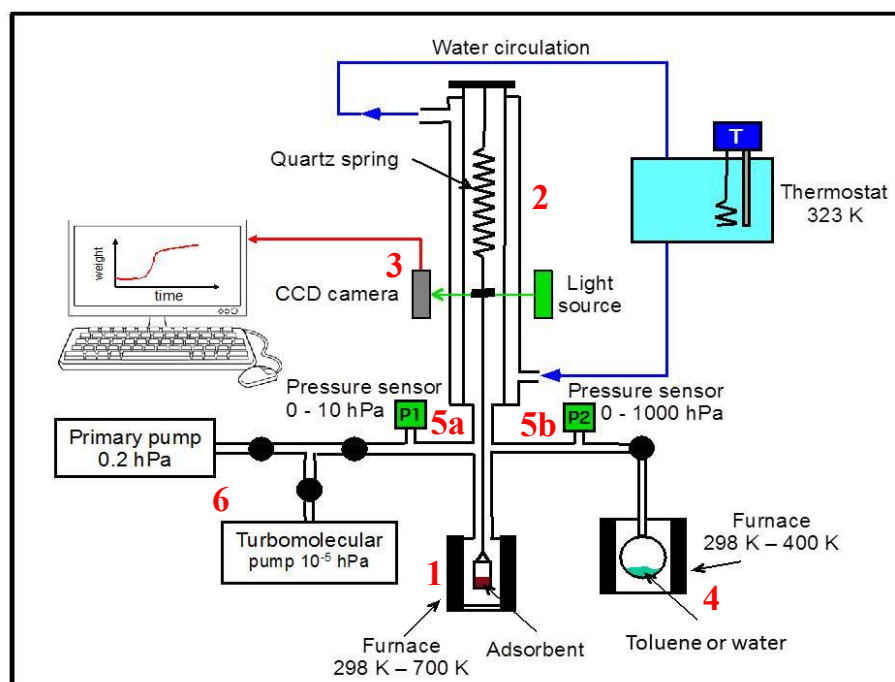


Figure II.4 : schéma présentant les différents organes d'une thermobalance Mc-Bain.

Les principaux organes de ce système de caractérisation sont détaillés ci-dessous :

1 : four thermostaté contenant l'échantillon d'adsorbant.

2 : jaquette thermo-régulée à 50°C contenant un ressort en quartz au bout duquel est suspendu une nacelle en aluminium contenant l'échantillon d'adsorbant.

3 : système de lecture optique Eyence (LS-7030MT) permettant d'obtenir la position relative d'un repère placé sur le ressort en quartz. La longueur du ressort évolue en fonction de la masse de COV adsorbée ou désorbée sur l'échantillon.

4 : ballon contenant le composé cible préalablement déshydraté et isolé de l'extérieur. Les incréments de pression du composé à adsorber sont réalisés à l'aide d'une vanne.

5a et **5b** : capteurs de pression Baraton (MKS Instruments).

6 : système de pompage constitué d'une pompe primaire à bain d'huile (de marque NXDS) et d'une pompe turbomoléculaire (VAT) permettant d'atteindre un vide secondaire de 10⁻⁵ hPa.

Dans un premier temps, les échantillons d'adsorbants sont dégazés à une température de 573 K sous un vide dynamique poussé (10⁻⁵ hPa) pendant 5 heures. L'échantillon est ensuite refroidi jusqu'à température ambiante. Le toluène est alors introduit dans la thermobalance par incrément de pression. La pression résultante à l'équilibre est notée ainsi que la longueur du ressort en quartz. Les isothermes d'adsorption et de désorption sont mesurées étape par étape en mode statique. Les résultats, exprimés en fraction molaire adsorbée par gramme d'adsorbant (mmol.g⁻¹), sont calculés en utilisant l'équation 2.

$$n^{ad} = \frac{(\Delta l \times k) + (p \times A \times k)}{m \times M_{\text{toluène}}}$$

(2)

n^a , quantité de toluène adsorbée sur l'échantillon (mol)

k : constante de raideur du ressort à 50°C

(mg.mm⁻¹)

Δl : élongation du ressort en quartz (mm)

A : Correction de la variation de la poussée d'Archimède
(mm.hPa⁻¹)

p : pression à l'équilibre (mbar)

m : masse de l'échantillon (mg)

Masse molaire du toluène : 92 g.mol⁻¹

La méthode utilisée pour caractériser les capacités d'adsorption de H₂O par thermogravimétrie Mc-Bain est identique. Le paragraphe suivant présente les résultats obtenus à partir de ces deux techniques de caractérisation.

4 Résultats expérimentaux

4.1 Classification des isothermes d'adsorption

Avant de présenter et d'interpréter les différentes isothermes d'adsorption et de désorption obtenues, il est nécessaire de rappeler la classification des isothermes établie par l'Union International de Chimie Pure et Appliquée (IUPAC) [13]. La nomenclature de l'IUPAC permet d'harmoniser les travaux scientifiques dans le monde en éditant différentes règles de nomenclature dans un ensemble de recueils pour la chimie organique et la chimie inorganique. La figure II.5 répertorie les principaux types d'isothermes suivant la classification de l'IUPAC.

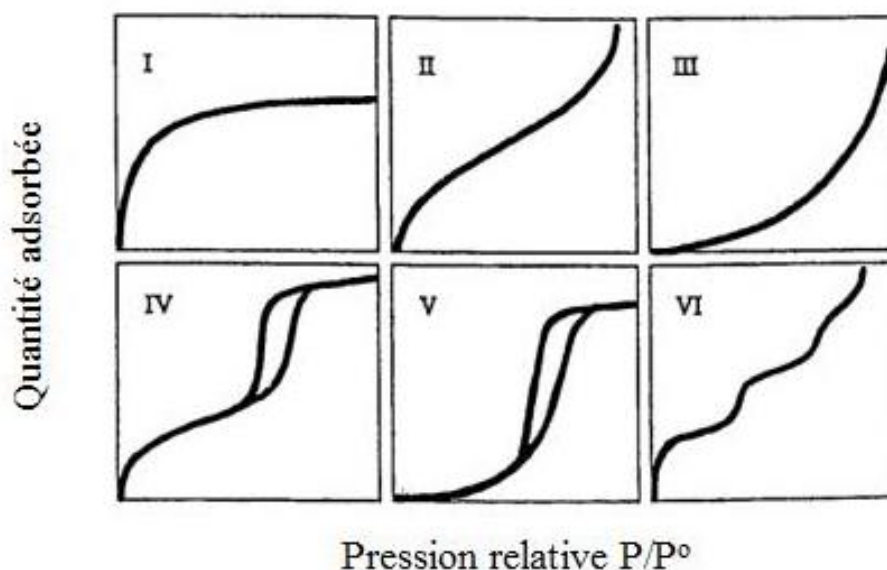


Figure II.5: représentation des principaux types d'isothermes d'adsorption suivant la classification de l'IUPAC [13].

Les interactions adsorbats/adsorbants sont traduites grâce à la forme des isothermes d'adsorption et de désorption. Il existe ainsi plusieurs types d'isothermes qui sont détaillés dans le tableau II.2.

CHAPITRE II. Caractérisation d'adsorbants nanoporeux spécifiques pour la
préconcentration du toluène, marqueur chimique du cancer du poumon

Tableau II.2 : caractéristiques des différents types d'isothermes d'adsorption et de désorption selon la classification de l'IUPAC.

Type I	Présence importante de micropores saturés aux faibles P/P_s . En outre, il n'existe aucune autre adsorption pour les valeurs plus élevées de P/P_s permettant de remplir les mésopores. Ce type d'isotherme est obtenu pour des composés microporeux .
Type II	Il y a formation d'une couche adsorbée dont l'épaisseur croît lorsque P/P_s augmente. On observe un phénomène de condensation capillaire pour les fortes valeurs de P/P_s (lorsque la pression saturante est atteinte). Les isothermes de type II sont observées pour des adsorbants non-poreux et macroporeux .
Type III	Cette isotherme concerne les systèmes présentant des interactions adsorbat/adsorbant faibles.
Type IV	Cette isotherme présente une allure proche de celle rencontrée dans le type II pour les faibles P/P_s . Les fortes pressions sont caractérisées par un long palier de saturation. Ce type d'isotherme intervient pour des adsorbants mésoporeux dans lequel se produit une condensation capillaire. Ce phénomène n'est pas réversible et présente une hystérèse lors de la désorption.
Type V	Cette isotherme est obtenue pour des adsorbants présentant une allure de type IV avec des interactions adsorbat/adsorbant faibles.
Type VI	Ce type d'isotherme intervient uniquement pour des adsorbants non poreux et de surface très homogène. Il y a formation de couches successives à la surface du matériau (apparition de marches).

Les données issues des expériences de manométrie d'adsorption de N_2 ont permis de déterminer les caractéristiques structurales des adsorbants sélectionnés. Les résultats sont détaillés dans le paragraphe suivant.

4.2 Résultats de la manométrie d'adsorption de N_2

La manométrie d'adsorption d'azote a été utilisée pour dresser un bilan structural des différents adsorbants. Les différentes isothermes d'adsorption obtenues pour les adsorbants étudiés sont répertoriées sur la figure II.6. Les branches d'adsorption ont également été présentées en utilisant une échelle logarithmique afin d'avoir plus de précision à basse pression (cf. figures 6(b) et (d)).

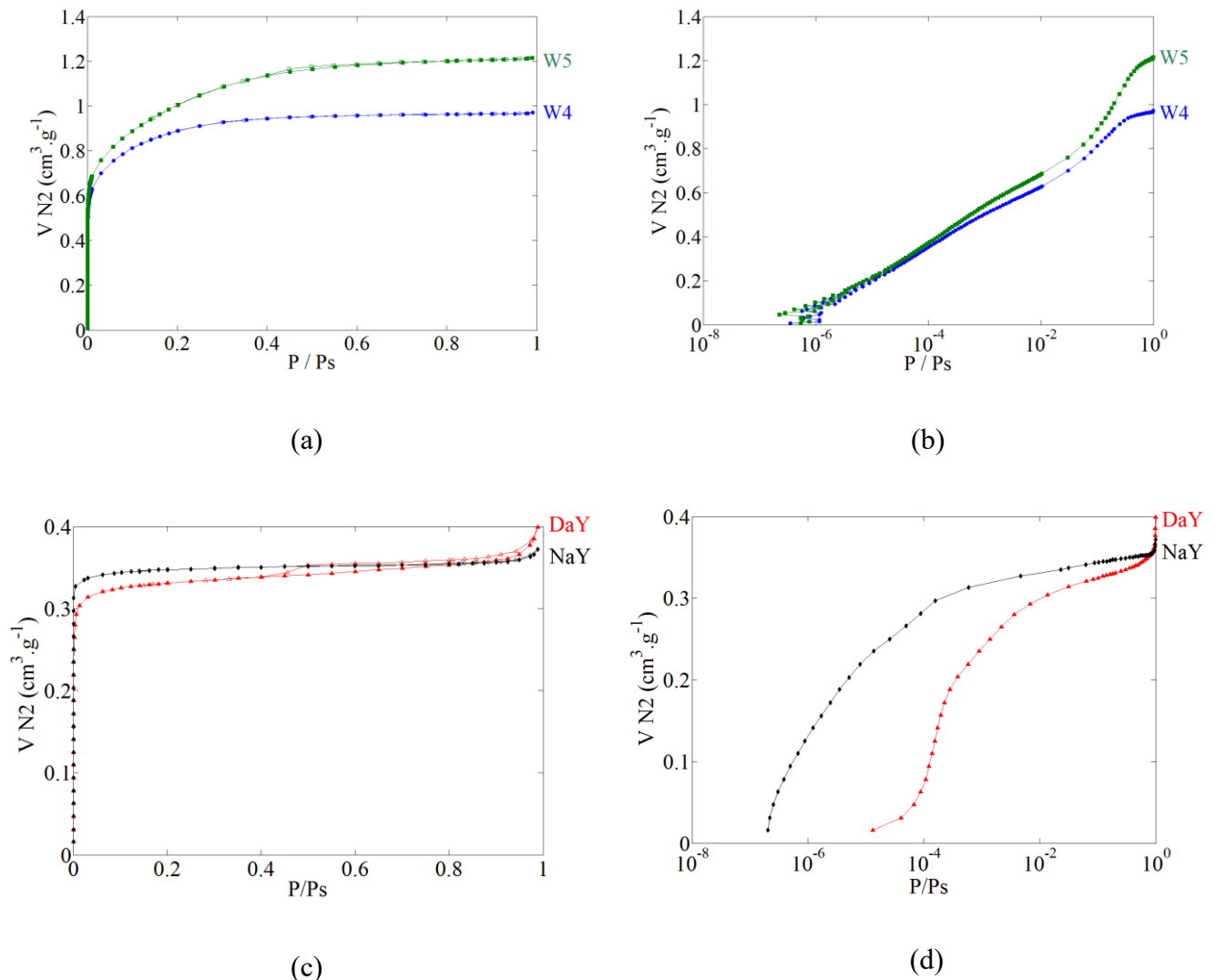


Figure II.6 : (a), (b) : isothermes d'adsorption/désorption de N_2 à 77 K, par manométrie d'adsorption, des microsphères de carbones (W4 et W5) et (c), (d) des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement aux branches d'adsorption et de désorption.

Les isothermes de chaque adsorbant sont de type I et montrent une augmentation très importante du volume de N₂ adsorbé à faible pression relative ($P/P_s < 0,01$) ce qui suggère la présence de micropores inférieurs à 1 nm. Dans le cas présent, la quantité de N₂ adsorbée à $P/P_s < 0,01$ croît dans l'ordre des adsorbants suivants : DaY < NaY < W4 < W5. L'adsorption du diazote à très faibles pressions relatives $P/P_s (< 10^{-4})$ est du même ordre de grandeur pour les deux types de microsphères de carbone.

Le plateau horizontal visible sur les isothermes des zéolites aux pressions relatives P/P_s supérieures à 0,1 indique que ces matériaux présentent une distribution étroite de la taille des micropores. Ce comportement est également typique des matériaux présentant une faible surface spécifique. Concernant la zéolite DaY, la légère hystérèse se terminant à la pression relative $P/P_s = 0,35$ indique la présence d'une faible quantité de mésopores. La zéolite NaY adsorbe une plus grande quantité de diazote que la zéolite DaY à faible pression. À titre d'exemple, la zéolite DaY adsorbe $0,016 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ de diazote alors que la zéolite NaY adsorbe $0,235 \text{ cm}^3 \cdot \text{g}^{-1}$ à faible pression relative ($P/P_s = 10^{-5}$). Cette différence de quantité adsorbée ne peut pas être attribuée à la différence de texture de pores qui reste très proche pour toutes les faujasites mais plutôt à une quantité plus importante des cations compensateurs de charge (Na^+) dans la structure de NaY qui implique un nombre d'interactions plus élevé avec le diazote.

Pour les microsphères de carbone W4 et W5, une pente plus importante de la branche d'adsorption à faible pression est observée, comparé aux zéolites, indiquant une microporosité beaucoup plus développée. De plus, le plateau horizontal observé à partir d'une pression relative P/P_s supérieure à 0,1 indique que ces matériaux présentent une distribution de la taille des micropores assez large.

Le traitement informatique des isothermes d'adsorption et de désorption de N₂ a permis d'obtenir la distribution de la taille des pores des matériaux sélectionnés. La figure II.7 présente les distributions de la taille des pores des quatre adsorbants calculées à l'aide de la méthode NLDFT.

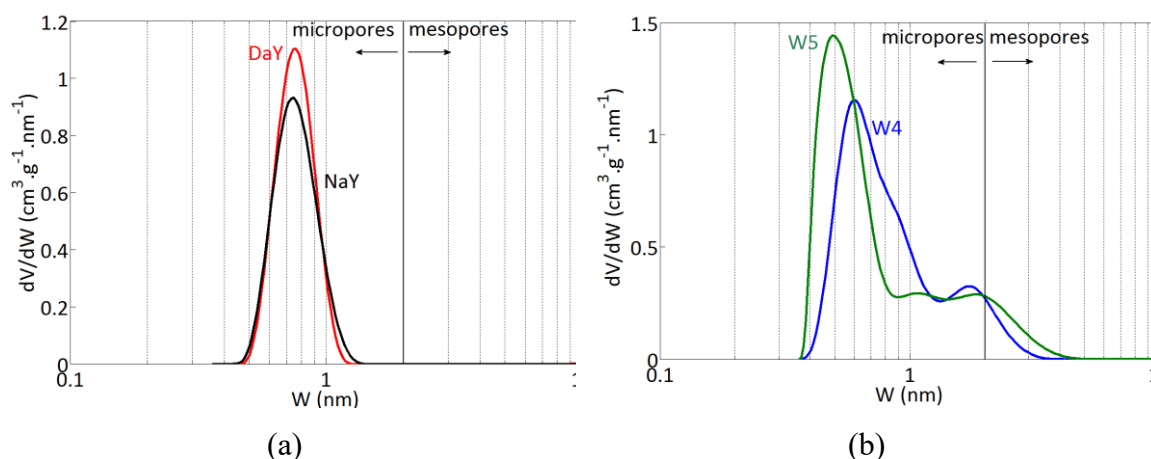


Figure II.7 : distribution de la taille des pores des microsphères de carbone W4 et W5 ainsi que des zéolites NaY et DaY.

La figure II.7 indique que les deux zéolites présentent une distribution de taille de pores très étroite dans le domaine microporeux (<2 nm) et centrée autour de la valeur moyenne de 0,75 nm. Cette valeur est en accord avec le diamètre d'ouverture des cages α des faujasites de 7,4 Å calculée à partir des données cristallographiques [4]. Concernant les microsphères de carbone (cf. figure II.7(b)), la distribution de la taille des pores est plus large que dans le cas des zéolites avec des diamètres de pores compris entre 0,4 et 5 nm. Les microsphères W4 et W5 présentent respectivement un maximum de micropores centré sur un diamètre de 0,6 nm et de 0,5 nm. Les conditions d'activations plus importantes pour les microsphères de carbone W5 (ratio KOH/précurseur = 5) impliquent la formation de nouveaux pores et également un élargissement de la distribution de la taille des pores.

Les caractéristiques structurales des différents adsorbants issues des calculs par les méthodes BET et NLDFT sont résumées dans le tableau II.3.

Tableau II.3 : caractéristiques poreuses des adsorbants DaY, NaY, W4 et W5 (S_{BET} : surface spécifique calculée d'après la méthode BET, V_T : volume total de pores, $V_{\mu NLDFT}$: volume de micropores calculé à partir de la méthode NLDFT, $V_{U\mu NLDFT}$: volume d'ultra-micropores calculé à partir de la méthode NLDFT, V_{meso} : volume de mésopores, d_{μ} : diamètre moyen des micropores)

Adsorbants	S_{BET} ($m^2 \cdot g^{-1}$)	V_T ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	$V_{\mu NLDFT}$ ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	$V_{U\mu NLDFT}$ FT ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	V_{meso} ($cm^3 \cdot g^{-1}$)	d_{μ} (nm)
W4	2006	0,96	0,94 (97%)	0,24	0,03	1,02
W5	2297	1,21	1,17 (97%)	0,35	0,04	0,95
DaY	747	0,38	0,32 (84%)	0,10	0,06	0,79
NaY	750	0,36	0,35 (100%)	0,10	0,00	0,81

Les surfaces spécifiques calculées pour les zéolites DaY et NaY sont respectivement de 747 et 750 m².g⁻¹ et pour les microsphères carbonées W4 et W5 de 2006 et 2297 m².g⁻¹. Ces valeurs sont effectivement croissantes dans l'ordre des adsorbants défini plus tôt d'après l'allure des isothermes d'adsorption de N₂ (DaY < NaY < W4 < W5). Tous les adsorbants testés présentent un important volume microporeux (supérieur à 80%). Parmi ces micropores, la présence d'une quantité importante d'ultramicropores est un atout afin de piéger les très faibles concentrations de gaz. La valeur du diamètre moyen des micropores est de 0,8 nm pour les zéolites et de 1,0 nm pour les charbons actifs. Ces valeurs sont du même ordre de grandeur que les diamètres de Van der Waals des marqueurs chimiques du cancer du poumon et en particulier du toluène. Ces derniers peuvent ainsi être piégés dans les micropores des quatre adsorbants sélectionnés. Pour finir, un volume de mésopores a été mesuré pour la zéolite DaY (0,06 cm³.g⁻¹), W4 (0,03 cm³.g⁻¹) et W5 (0,04 cm³.g⁻¹). L'adsorption des composés chimiques n'est pas préférentielle dans les mésopores mais ces derniers permettent aux molécules de diffuser dans la structure de l'adsorbant afin d'atteindre les micropores.

D'après ces expériences, les microsphères de carbone se démarquent par leur surface spécifique très importante ainsi que leur quantité de micropores élevée. De plus, la présence de mésopores est un atout pour la diffusion des molécules dans leur structure. Ces expériences de caractérisation permettent d'observer que les quatre adsorbants sélectionnés présentent des caractéristiques structurales différentes mais semblent être compatibles avec le piégeage des COV marqueurs du cancer. Après ces premières caractérisations structurales, les expérimentations suivantes ont consisté à étudier les capacités d'adsorption du toluène (composé de référence) par les quatre adsorbants sélectionnés.

4.3 Isothermes d'adsorption et de désorption du toluène

L'objectif des expériences de caractérisation réalisées par thermogravimétrie Mc-Bain est d'évaluer les capacités d'adsorption et de désorption du composé de référence de cette étude (le toluène) par les quatre adsorbants. La figure II.8 présente les isothermes d'adsorption et de désorption du toluène dans la gamme de pression 10⁻⁵ à 0,2 hPa. Cette étude s'est limitée aux faibles pressions (inférieures à 0,2 hPa, i.e. 200 ppm) puisque les concentrations généralement observées des marqueurs du cancer du poumon dans l'haleine sont très faibles et généralement de l'ordre de la centaine de ppb (environ 10⁻⁴ hPa). Il est donc inutile de déterminer les capacités d'adsorption à hautes pressions. Les branches

d'adsorption sont également présentées sur la figure suivante en utilisant une échelle logarithmique afin d'avoir plus de détails sur les isothermes d'adsorption à très basse pression.

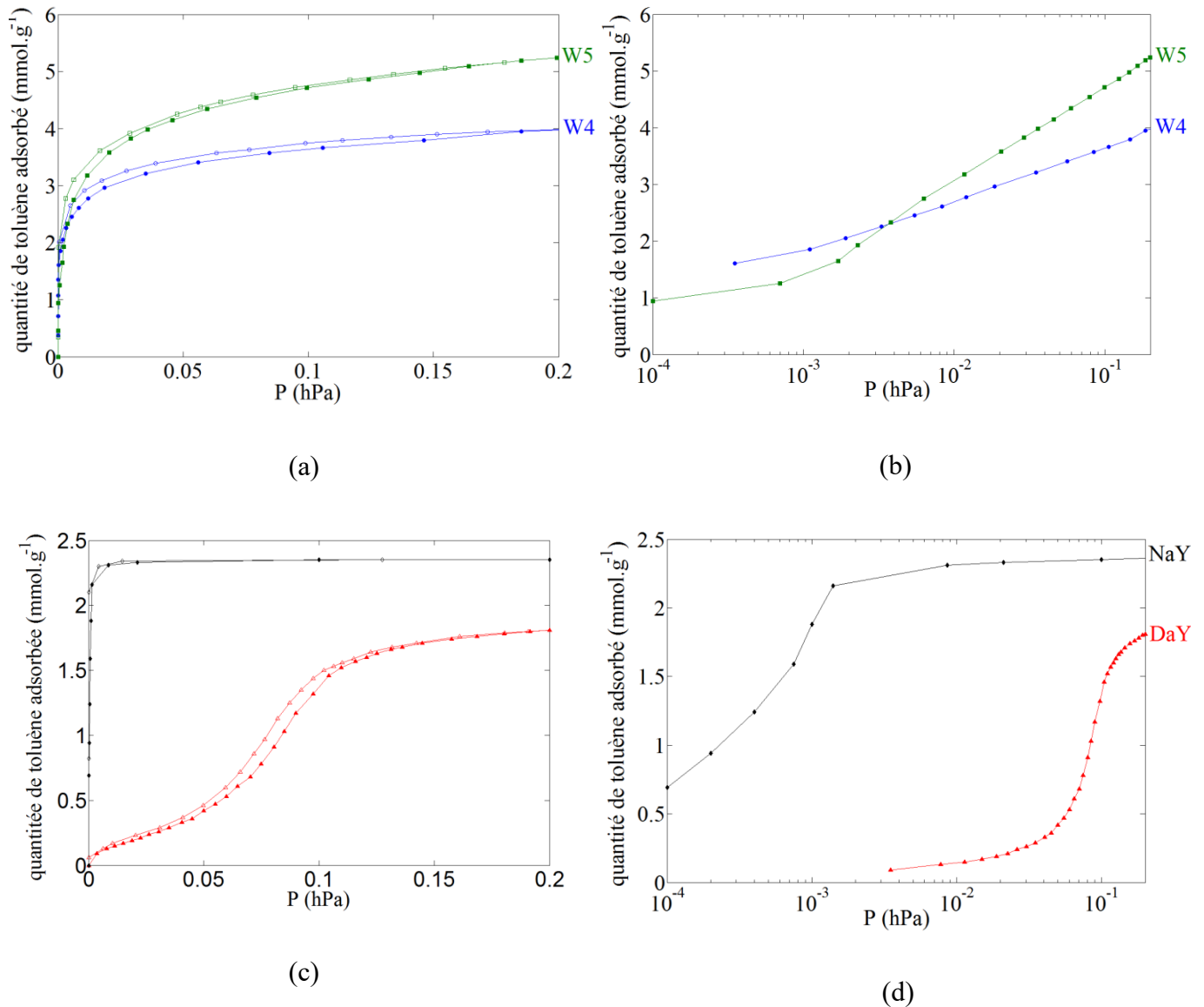


Figure II.8 : (a), (b) isothermes d'adsorption/désorption de toluène à 298 K, par thermogravimétrie Mc-Bain, des microsphères de carbones (W4 et W5) et (c), (d) des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement aux branches d'adsorption et de désorption

Les isothermes de la figure II.8 indiquent que les microsphères de carbone W4 et W5 présentent les capacités d'adsorption du toluène à 0,2 hPa les plus élevées. Ceci peut s'expliquer du fait de leurs volumes microporeux et surfaces spécifiques importants comparés aux zéolites.

Nous constatons également que les capacités d'adsorption de la zéolite NaY et des microsphères carbonées W4 et W5 sont du même ordre de grandeur pour des pressions inférieures à 10^{-3} hPa (correspondant à des concentrations en toluène inférieures à 1 ppm). La zéolite DaY quant à elle présente la plus faible capacité d'adsorption du toluène dans la gamme de pression étudiée.

L'analyse des branches d'adsorption du toluène sur les différents adsorbants permet également de déterminer l'affinité d'adsorption de la molécule cible sur ces matériaux. Ce paramètre, qui correspond à la constante de Henry, est calculé à partir de la pente de la partie linéaire de la branche d'adsorption aux très faibles pressions [14]. La figure II.9 montre un exemple de calcul de la constante de Henry à partir de l'isotherme d'adsorption du toluène sur les microsphères de carbone W5.

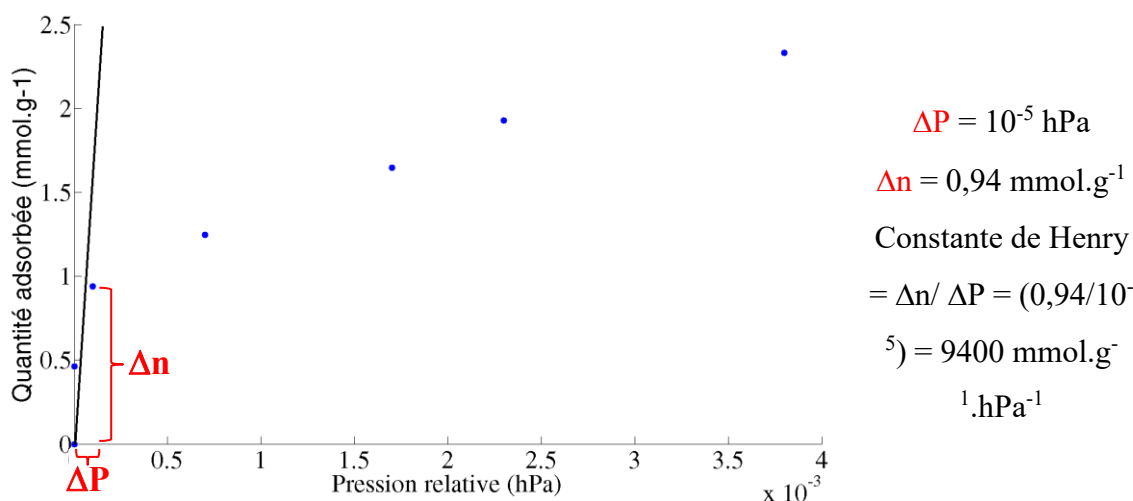


Figure II.9 : exemple de calcul de la constante de Henry pour les microsphères W5.

Les valeurs des constantes de Henry calculées pour les différents adsorbants sont répertoriées dans l'histogramme de la figure II.10.

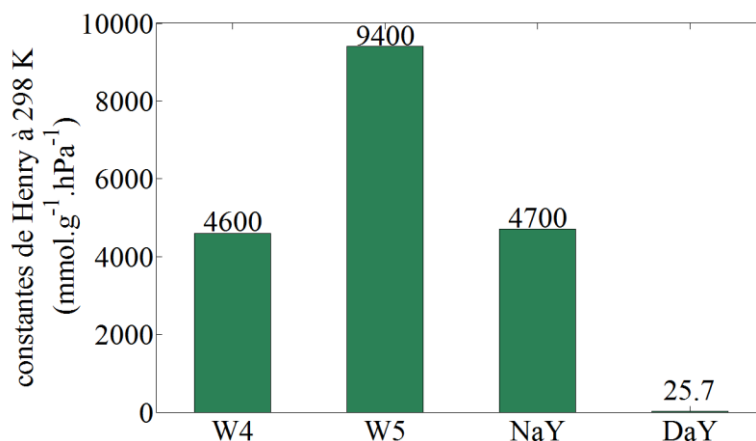


Figure II.10 : constantes de Henry mesurées sur les branches d'adsorption du toluène à 298 K.

D'après cet histogramme, les microsphères de carbone W5 présente l'affinité d'adsorption du toluène la plus élevée ($9400 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$). Cette valeur est environ deux fois supérieure à la constante de Henry mesurée pour les microsphères de carbone W4. Cette différence peut être expliquée par le nombre plus important de groupements fonctionnels de surface pour W5 en raison d'un rapport KOH/précurseur plus élevé que pour W4 lors de l'étape d'activation. La zéolite NaY présente une affinité d'adsorption du même ordre de grandeur que W4.

A l'inverse, la zéolite DaY possède une très faible affinité d'adsorption ($25,7 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$) avec le toluène. Cette différence d'affinité d'adsorption entre les deux zéolites s'explique par la présence dans la structure de la zéolite NaY d'une plus grande quantité de cations compensateurs de charge Na^+ qui induisent une interaction forte avec le toluène.

Au même titre que la capacité et l'affinité d'adsorption, la capacité de désorption est un paramètre clé dans le choix d'un adsorbant pour des applications dans un micro-préconcentrateur. En effet, l'adsorbant doit être capable de désorber la plus grande partie des vapeurs qu'il contient lors de la phase de chauffe du matériau.

Les capacités de désorption du toluène ont été évaluées à l'aide de la branche de désorption de chaque adsorbant et représentées sur la figure II.8. Sur cette illustration, une boucle d'hystérèse est observée pour les microsphères W4 et W5 ainsi que pour la zéolite DaY. La désorption du toluène n'est pas complète pour la zéolite NaY et les matériaux carbonés même après une mise sous vide de ces matériaux (plusieurs heures sous un vide de 10^{-5} hPa à 298 K). Pour la zéolite DaY, le cycle d'adsorption/désorption est réversible avec une désorption quasi totale du toluène de la structure poreuse du matériau. Les quantités restantes de toluène dans la structure poreuse des microsphères de carbone W4 et W5 sont respectivement de $4,0 \%$ et $3,1 \%$. Les zéolites NaY et DaY conservent respectivement $8,7 \%$ et $0,5 \%$ de toluène dans leur porosité à l'issue de l'étape de désorption. Les quantités restantes de toluène dans la porosité des adsorbants après une étape de mise au vide sont répertoriées dans le tableau II.4.

Tableau II.4 : quantités et pourcentages massiques de toluène restants après mise au vide du système à la température de 298 K et à la pression de 10^{-5} hPa.

Adsorbant	Quantité restante (mmol.g ⁻¹) sous vide (10^{-5} hPa)
DaY	0,06 (0,5%)
NaY	0,95 (8,7%)
W4	0,43 (4,0%)
W5	0,34 (3,1%)

D'après le tableau II.4, nous constatons qu'il reste une faible quantité de toluène dans les matériaux W4 et W5 (de l'ordre de 4 %) et une quantité plus importante dans la zéolite NaY (8 %). Malgré les capacités d'adsorption relativement faibles, en comparaison avec les autres matériaux, la zéolite DaY a attiré notre attention en raison de sa forte capacité de désorption du toluène ainsi que de ses cycles d'adsorption/désorption réversibles. Ce matériau présente la plus faible affinité d'adsorption avec le toluène mais permet d'en désorber 99,5% sous vide.

Ces expériences de caractérisation ont ensuite été complétées par l'étude des capacités d'adsorption des interférents majeurs de l'haleine (H_2O et CO_2) sur les matériaux adsorbants. Cet aspect est très important car la présence de ces composés peut influencer fortement l'étape de préconcentration des marqueurs. Ce dernier point est détaillé dans la partie suivante.

4.4 Caractérisation de la capacité d'adsorption et de désorption des interférents majeurs de l'haleine

Les deux interférents majeurs de l'haleine sont le dioxyde de carbone et l'eau. Nous avons caractérisé l'interaction de ces composés chimiques avec les quatre matériaux car leur concentration dans l'haleine est importante. Les expérimentations ont été réalisées par manométrie à l'aide d'un équipement automatique volumétrique (3-flex, Micrometrics) pour le CO_2 et par thermogravimétrie Mc-Bain pour H_2O . Ces deux types de caractérisation ont été réalisés respectivement au laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne (Dijon) et à l'Institut Jean Lamour (Épinal) et avec deux appareils différents pour des raisons liées à la disponibilité de l'équipement et aux différentes

contraintes expérimentales. Avant toute expérimentation, les échantillons ont été dans un premier temps dégazés à 573 K pendant 96 heures. Les différents résultats expérimentaux et les discussions associées sont présentés dans la partie suivante.

4.4.1 Isothermes d'adsorption et de désorption d'H₂O

La concentration en eau dans l'air expiré est d'environ 29 000 ppm ce qui correspond à une humidité de 100 % à une pression partielle de 29 hPa (298 K) [15, 16]. Cette valeur, beaucoup plus importante que la concentration dans l'haleine du toluène (20-30 ppb), implique que l'eau peut interférer sur le piégeage des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Les isothermes d'adsorption et de désorption d'eau ont alors été mesurées à 298 K dans la gamme de pression 10^{-5} à 29 hPa afin de couvrir tout le domaine de pression. Ces expériences sont présentées sur la figure II.11.

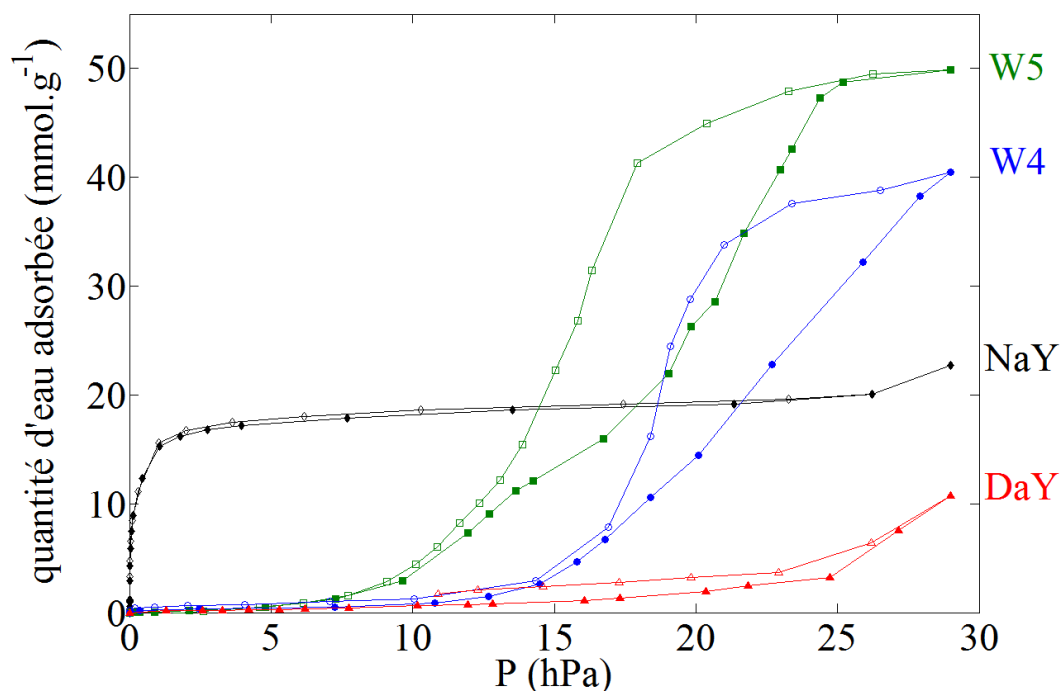


Figure II.11 : isothermes d'adsorption et de désorption d'H₂O à 298 K des charbons actifs W4 et W5 et des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement à la branche d'adsorption et de désorption.

Les isothermes d'adsorption et de désorption sont de type I pour la zéolite NaY et de type V pour la zéolite DaY ainsi que les deux types de microsphères de carbone. Ces types d'isothermes indiquent la présence de faibles interactions adsorbant/adsorbat à basse pression. Ces expérimentations montrent que l'adsorption d'eau dans la porosité des microsphères de carbone W4 et W5 est très importante à 29 hPa (supérieure à 40 mmol.g⁻¹)

comparée aux quantités de toluène adsorbée (jusqu'à 1 mmol.g^{-1} à basse pression). Ce résultat était prévisible car les charbons actifs sont connus pour leurs interactions fortes avec l'eau. La quantité d'eau adsorbée dans la porosité de la zéolite NaY est plus faible (22 mmol.g^{-1}) mais reste encore une fois bien supérieure aux quantités adsorbées de toluène. Ceci étant en particulier dû à sa surface spécifique deux fois moins importante que celles des microsphères W4 et W5. La zéolite DaY, étant fortement désaluminée, présente une capacité d'adsorption d'eau plus faible que les autres adsorbants étudiés. Toutefois, à 29 hPa, les quantités adsorbées (11 mmol.g^{-1}) restent très supérieures aux quantités de toluène adsorbées dans la porosité des quatre adsorbants.

Concernant la réversibilité du processus, la figure II.11 montre la présence d'une boucle d'hystérèse pour les matériaux W4, W5 et DaY. Ce phénomène indique que l'étape de désorption est différente de la phase d'adsorption dû à un phénomène de condensation capillaire dans les mésopores. Au regard de ces résultats, l'eau peut s'avérer être un sérieux interférent lors de la phase de préconcentration du toluène.

Ces résultats ont été complétés par la mesure de la capacité d'adsorption et de désorption du dioxyde de carbone dans la structure poreuse des adsorbants sélectionnés pour cette étude. Les résultats des expériences par manométrie d'adsorption sont présentés dans le paragraphe suivant.

4.4.2 Isothermes d'adsorption et de désorption de CO₂

D'après la littérature, la concentration du dioxyde de carbone dans l'haleine est proche de 40 000 ppm à 298 K (correspondant à une pression relative de 40 hPa) [17]. Les isothermes d'adsorption et de désorption du CO₂ sur les adsorbants sélectionnés ont été mesurées par manométrie d'adsorption de dioxyde de carbone à 298 K dans le domaine de pression (10^{-5} - 1090 hPa) (cf. figure II.12(a)). Les branches d'adsorption sont également présentées (cf. figure II.12(b)) en utilisant une échelle logarithmique afin d'avoir plus de détails sur les capacités d'adsorption à la pression mesurée dans l'haleine (40 hPa).

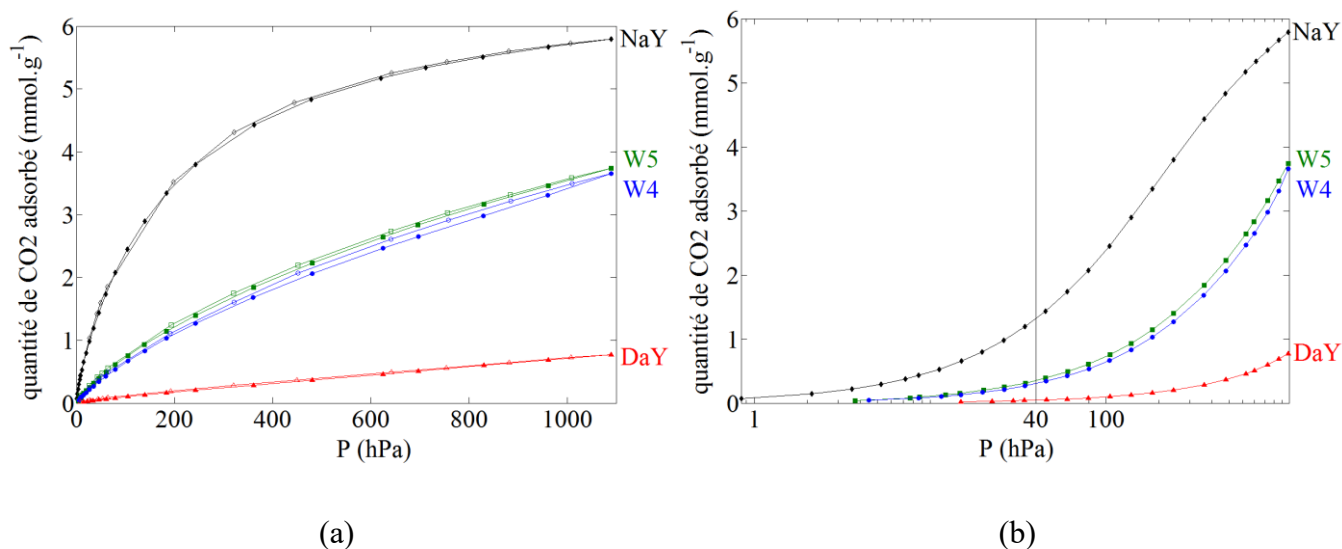


Figure II.12 : isothermes d'adsorption et de désorption de CO₂ à 77 K mesurées par manométrie d'adsorption, pour les charbons actifs W4 et W5 et les zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement à la branche d'adsorption et de désorption.

Les isothermes mesurées sont toutes de type I dans le domaine de pression étudié. Par ailleurs, les branches d'adsorption et de désorption sont superposables pour tous les adsorbants suggérant un processus d'adsorption du CO₂ parfaitement réversible. À 40 hPa, les quatre matériaux adsorbent des quantités relativement faibles de dioxyde de carbone, à savoir 0,04 mmol.g⁻¹ et 1,40 mmol.g⁻¹ pour les zéolites DaY et NaY et 0,31 mmol.g⁻¹ et 0,34 mmol.g⁻¹ pour les microsphères de carbone W4 et W5. La capacité d'adsorption du CO₂ est plus faible que la capacité d'adsorption du toluène pour les concentrations représentatives de l'haleine. Les deux types de microsphères présentent des capacités d'adsorption du CO₂ équivalente. La zéolite NaY est le matériau qui adsorbe la plus grande quantité de dioxyde de carbone à 40 hPa. Une nouvelle fois, les capacités d'adsorption de la zéolite DaY sont les plus faibles par rapport aux autres matériaux. Ces différentes valeurs indiquent que le CO₂ n'apparaît pas comme étant un interférent perturbant de façon importante l'étape de concentration du toluène.

5 Conclusion

Le système de détection envisagé dans ce projet intègre dans son fonctionnement une étape de préconcentration des marqueurs chimiques du cancer du poumon afin de pouvoir les détecter à de très faibles concentrations. Dans ce contexte, ce chapitre a eu pour objectif d'étudier en détail les propriétés d'un panel de 4 adsorbants spécifiques identifiés pour préconcentrer le toluène et en l'occurrence les marqueurs du cancer du poumon.

Dans un premier temps, la manométrie d'adsorption de N₂ a été utilisée pour déterminer les propriétés structurales des adsorbants ainsi que leurs surfaces spécifiques. Ensuite, l'affinité ainsi que la capacité d'adsorption et de désorption du toluène à basse pression ont été déterminées par thermogravimétrie Mc-Bain. Pour terminer, les capacités d'adsorption des deux interférents majeurs de l'haleine (H₂O et CO₂) ont été calculées afin d'évaluer l'impact de leur présence sur la phase de préconcentration.

La manométrie d'adsorption d'azote a mis en évidence la présence d'une quantité importante de micropores pour les différents matériaux (supérieure à 80 % du volume poreux total) ainsi que des surfaces spécifiques très élevées pour les microsphères carbonées (supérieures à 2000 m².g⁻¹). La présence de ce type de pores est primordiale pour piéger les très faibles concentrations des COV.

La thermogravimétrie Mc-Bain a montré que les microsphères de carbone W4 et W5 présentent une capacité d'adsorption du toluène du même ordre de grandeur et une affinité très élevée avec le toluène pour W5. La zéolite NaY possède également de bonnes capacités et affinité d'adsorption avec le toluène. En contrepartie, ces matériaux ont tendance à conserver une quantité de toluène importante lorsqu'ils sont mis sous vide secondaire. La seule possibilité de libérer totalement le toluène est de chauffer ces matériaux à 473 K sous vide secondaire. Malgré une affinité et une capacité d'adsorption du toluène beaucoup plus faible, la zéolite DaY libère la quasi-totalité du toluène piégé dans sa porosité sous vide et à 298 K.

Concernant les isothermes d'adsorption et de désorption d'eau, les expériences ont montré que les matériaux peuvent adsorber une grande quantité de l'humidité présente dans l'haleine. En effet, les quantités d'eau adsorbées à une pression relative de 29 hPa sont au moins dix fois supérieures aux quantités de toluène piégées dans la porosité des adsorbants à basse pression. C'est en particulier le cas pour les microsphères W4 et W5. Ici encore, la zéolite DaY présente la plus faible capacité d'adsorption de cet interférent majeur.

Les expériences menées avec le dioxyde de carbone ont permis d'observer que les quatre matériaux adsorbent cet interférent de manière totalement réversible. De plus, les quantités adsorbées sont faibles ou du même ordre de grandeur par rapport à la quantité de toluène adsorbée à basse pression. Les microsphères de carbone W4 et W5 ont également présenté des caractéristiques très proches.

Au vu de ces différentes expérimentations, il a été décidé de conserver trois adsorbants pour les différents tests avec le microsysteme. Puisque les microsphères de carbone W4 et W5 présentent des caractéristiques d'adsorption et de désorption très proches, nous avons décidé de ne conserver que les microsphères W5 en raison de ses capacités d'adsorption supérieures du toluène. Les deux zéolites NaY et DaY ont également été conservées en raison de leurs propriétés d'adsorption et de désorption différentes du toluène et des deux interférents. Ces trois adsorbants (W5, NaY et DaY) seront par la suite insérés dans le micro-préconcentrateur pour être testés pour la préconcentration des marqueurs chimiques du cancer du poumon.

Le chapitre suivant détaille la fabrication du système de détection envisagé dans cette étude. Les étapes de réalisation ainsi que l'étape de dépôt des trois adsorbants dans la cavité du préconcentrateur seront présentés en détails.

6 Liste des figures

Figure II.1 : (a) Micrographie, (b) structure générale et (c) structure chimique d'une zéolite de type faujasite ($M : Na^+$) [6].....	532
Figure II.2: micrographies de microsphères de carbone avant (a) et après activation (b) observées par microscope électronique à balayage.	55
Figure II.3 : schéma général de l'appareillage de manométrie d'adsorption d'azote.....	57
Figure II.4 : schéma présentant les différents organes d'une thermobalance Mc-Bain.	58
Figure II.5: représentation des principaux types d'isothermes d'adsorption suivant la classification de l'IUPAC [13].	60
Figure II.6 : (a), (b) : isothermes d'adsorption/désorption de N_2 à 77 K, par manométrie d'adsorption, des microsphères de carbones (W4 et W5) et (c), (d) des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement aux branches d'adsorption et de désorption.	62
Figure II.7 : distribution de la taille des pores des microsphères de carbone W4 et W5 ainsi que des zéolites NaY et DaY.....	64
Figure II.8 : (a), (b) isothermes d'adsorption/désorption de toluène à 298 K, par thermogravimétrie Mc-Bain, des microsphères de carbones (W4 et W5) et (c), (d) des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement aux branches d'adsorption et de désorption	66
Figure II.9 : exemple de calcul de la constante de Henry pour les microsphères W5.....	67
Figure II.10 : constantes de Henry mesurées sur les branches d'adsorption du toluène à 298 K.	67
Figure II.11 : isothermes d'adsorption et de désorption d' H_2O à 298 K des charbons actifs W4 et W5 et des zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement à la branche d'adsorption et de désorption.....	70
Figure II.12 : isothermes d'adsorption et de désorption de CO_2 à 77 K mesurées par manométrie d'adsorption, pour les charbons actifs W4 et W5 et les zéolites DaY et NaY. Les symboles pleins et vides correspondent respectivement à la branche d'adsorption et de désorption.	72

7 Liste des tableaux

Tableau II.1 : dimensions et concentrations moyennes relevées dans l'haleine des marqueurs chimiques du cancer du poumon.	52
--	----

Tableau II.2 : caractéristiques des différents types d'isothermes d'adsorption et de désorption selon la classification de l'IUPAC.....	61
Tableau II.3 : caractéristiques poreuses des adsorbants DaY, NaY, W4 et W5 (S_{BET} : surface spécifique calculée d'après la méthode BET, V_T : volume total de pores, $V_{\mu NLDFT}$: volume de micropores calculé à partir de la méthode NLDFT, $V_{U\mu NLDTF}$: volume d'ultra-micropores calculé à partir de la méthode NLDFT, V_{meso} : volume de mésopores, d_{μ} : diamètre moyen des micropores).....	64
Tableau II.4 : quantités et pourcentages massiques de toluène restants après mise au vide du système à la température de 298 K et à la pression de 10^{-5} hPa.	69

8 Bibliographie

- [1] D. Peralta, Evaluation des Metal-Organic Frameworks en adsorption et séparation des hydrocarbures, Université de Haute Alsace, 2011. http://tel.archives-ouvertes.fr/docs/00/73/04/62/PDF/2011MULH5711_these_PERALTA.pdf.
- [2] M.H. Simonot-Grange, Les matériaux micro et mésoporeux – caractérisation, EDP Sciences. (2004) 181–221.
- [3] D.M. Ruthven, Principles of adsorption and adsorption processes, John Wiley and Sons, 1984.
- [4] C. Baerlocher, L.B. McCusker, D.H. Olson, Atlas of zeolite framework types, Published on behalf of the Structure Commission of the International Zeolite Association by Elsevier, Amsterdam; Boston, 2007. <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true&scope=site&db=nlebk&db=nlabk&AN=211497> (accessed September 4, 2014).
- [5] K.F. Czaplewski, T.L. Reitz, Y.J. Kim, R.Q. Snurr, One-dimensional zeolites as hydrocarbon traps, *Microporous Mesoporous Mater.* 56 (2002) 55–64. doi:10.1016/S1387-1811(02)00441-9.
- [6] N. Turro, From molecular chemistry to supramolecular chemistry to superdupermolecular chemistry. Controlling covalent bond formation through non-covalent and magnetic interactions, *Chem. Commun.* (n.d.) 2279–2292.
- [7] D.W. Breck, *Zeolite molecular sieves : structure, chemistry and use*, New York, 1974.
- [8] F.L. Braghiroli, V. Fierro, M.T. Izquierdo, J. Parmentier, A. Pizzi, A. Celzard, Kinetics of the hydrothermal treatment of tannin for producing carbonaceous microspheres, *Bioresour. Technol.* 151 (2014) 271–277. doi:10.1016/j.biortech.2013.10.045.
- [9] W. Zhao, V. Fierro, N. Fernández-Huerta, M.T. Izquierdo, A. Celzard, Impact of synthesis conditions of KOH activated carbons on their hydrogen storage capacities, *HYFUSENSpecial Issue 4th Natl. - 3rd Lat. Am. Conf. Hydrog. Sustain. Energy Sources HYFUSEN 6-9 June 2011 Mar Plata Argent.* 37 (2012) 14278–14284. doi:10.1016/j.ijhydene.2012.06.110.
- [10] R. Jacobsen, R. Stewart, Thermodynamic Properties of Nitrogen Including Liquid and Vapor Phases from 63K to 2000K with Pressures to 10,000 Bar, *J. Phys. Chem.* (1973) 757. doi:10.1063/1.3253132.

- [11] J. Rouquerol, P. Llewellyn, F. Rouquerol, Is the bet equation applicable to microporous adsorbents?, in: F.R.-R., J. Rouquerol and N. Seaton P.L. Llewellyn (Ed.), *Stud. Surf. Sci. Catal.*, Elsevier, 2007: pp. 49–56. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0167299107800085>.
- [12] J.W. McBain, H.G. Tanner, A Robust Microbalance of High Sensitivity, Suitable for Weighing Sorbed Films, *Proc. R. Soc. Lond. Ser. A.* 125 (1929) 579–586. doi:10.1098/rspa.1929.0187.
- [13] Thommes Matthias, Kaneko Katsumi, Neimark Alexander V., Olivier James P., Rodriguez-Reinoso Francisco, Rouquerol Jean, Sing Kenneth S.W., Physisorption of gases, with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report), *Pure Appl. Chem.* 87 (2015) 1051. doi:10.1515/pac-2014-1117.
- [14] J.P. Bellat, I. Bezverkhy, G. Weber, S. Royer, R. Averlant, J.M. Giraudon, J.F. Lamonier, Capture of formaldehyde by adsorption on nanoporous materials, *J. Hazard. Mater.* 300 (2015) 711–717. doi:10.1016/j.jhazmat.2015.07.078.
- [15] D. Smith, T.S. Wang, P. Spanel, On-line, simultaneous quantification of ethanol, some metabolites and water vapour in breath following the ingestion of alcohol, *Physiol. Meas.* 23 (2002). doi:10.1088/0967-3334/23/3/301.
- [16] A.C. Guyton, J.E. Hall, *Textbook of Medical Physiology*, Eleventh Edition, Elsevier Inc., Philadelphie, Pennsylvanie, n.d.
- [17] C. Roller, K. Namjou, J. Jeffers, W. Potter, P.J. McCann, J. Grego, Simultaneous NO and CO₂ measurement in human breath with a single IV–VI mid-infrared laser, *Opt. Lett.* 27 (2002) 107–109. doi:10.1364/OL.27.000107.

CHAPITRE III. Conception des unités de préconcentration et de séparation des COV

1 Introduction

L'objectif de ce travail de thèse concerne la réalisation d'un microsystème assimilable à un micro-chromatographe en phase gazeuse dans le but de détecter des marqueurs chimiques du cancer du poumon dans l'haleine.

Ce chapitre est consacré à la description détaillée des étapes technologiques qui ont permis de réaliser les unités de préconcentration et de séparation des COV identifiés comme les marqueurs chimiques du cancer du poumon. Ces structures miniaturisées seront réalisées en utilisant la technologie silicium/verre disponible en salle blanche.

Une première partie de ce chapitre présentera la géométrie des dispositifs envisagés. En particulier, nous utiliserons ici le logiciel de modélisation COMSOL[®] Multiphysics dans le but d'optimiser la géométrie du micro-préconcentrateur et également de vérifier si l'intégration des deux unités sur un unique substrat de silicium est réalisable. Ensuite, le procédé complet de fabrication ainsi que le principe général des techniques employées seront détaillés. Enfin, nous terminerons en présentant les méthodes utilisées pour déposer les adsorbants et la phase stationnaire dans ces microstructures intégrées sur silicium.

2 Développement des unités de préconcentration et de séparation

2.1 Géométrie du micro-préconcentrateur

2.1.1 Structures et dimensions

La géométrie du micro-préconcentrateur conditionne fortement les performances d'analyse en termes de préconcentration des marqueurs chimiques du cancer du poumon. Pour être efficace, il est nécessaire de réaliser une structure qui permet à la fois de recevoir une quantité importante d'adsorbant (de l'ordre de quelques mg) et également de favoriser les échanges entre le flux de gaz chargé des marqueurs et l'adsorbant.

Au regard des travaux préliminaires réalisés au laboratoire sur la préconcentration d'un produit de dégradation du trinitrotoluène (TNT) [1], la géométrie envisagée pour ce travail est une cavité rectangulaire de 10 mm de long et 5 mm de large usinée dans le silicium à une profondeur de 400 μm . Cette cavité est par ailleurs équipée de piliers qui ont pour rôle

de fixer l'adsorbant au fond de la microstructure et de favoriser la diffusion du gaz vecteur dans la structure poreuse de l'adsorbant. La figure III.1 présente le schéma général et les dimensions de cette version initiale du micro-préconcentrateur (version monocanal).

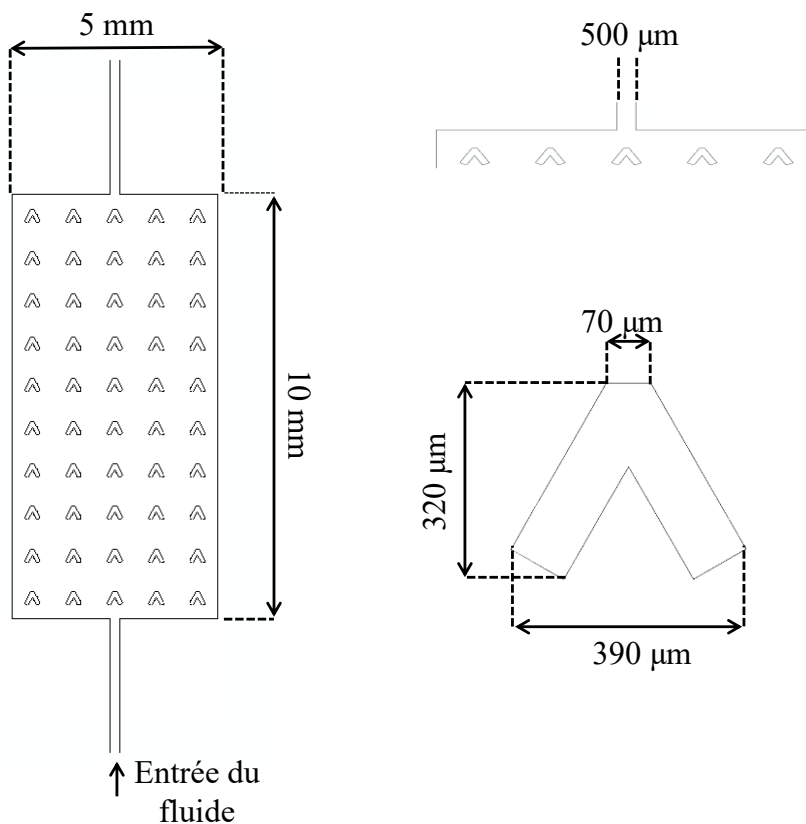


Figure III.1 : version du micro-préconcentrateur présentant une seule entrée et sortie ainsi que 10 rangées de 5 piliers (version monocanal).

Dans le cadre de ce travail, une seconde géométrie a été imaginée dans le but de mieux répartir le flux à l'intérieur de la cavité. Dans ce cas, la structure de base reste inchangée mais ce sont les canaux d'accès qui sont modifiés. La nouvelle géométrie envisagée comporte un système de répartition fluide divisé en 8 entrées et 8 sorties permettant au fluide de balayer une plus grande surface de la cavité et ainsi potentiellement d'augmenter les échanges avec l'adsorbant. Cette nouvelle version de micro-préconcentrateur (version multicanaux) est représentée sur la figure III.2.

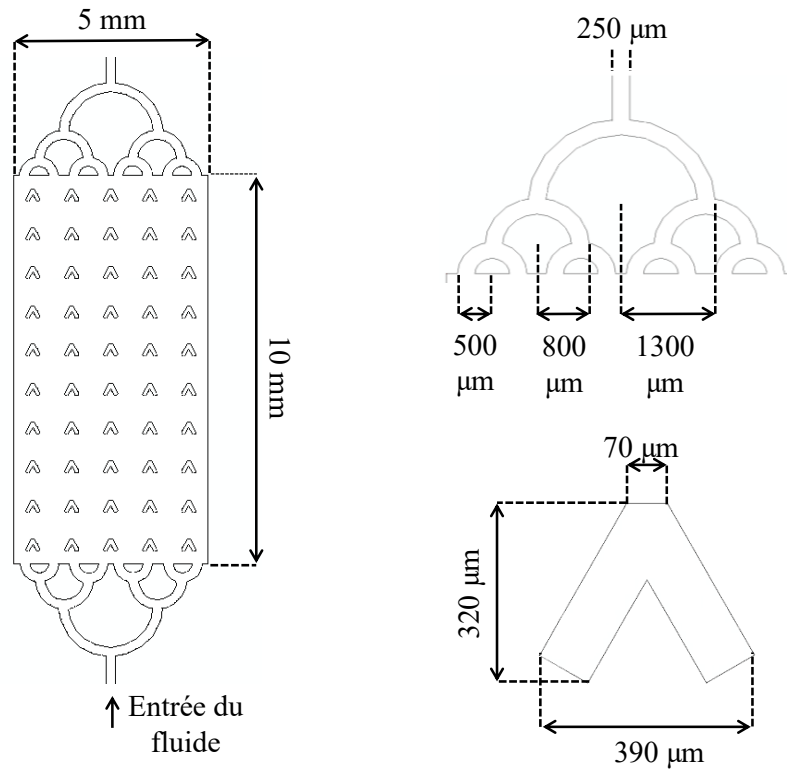


Figure III.2 : seconde version du micro-préconcentrateur avec l'ajout de déflecteurs de flux en amont et en aval de la cavité (version multicanaux).

Afin de vérifier l'influence de ces 2 géométries sur la circulation du gaz vecteur, nous nous sommes attachés à modéliser la répartition du fluide dans la cavité de ces 2 micro-préconcentrateurs. Ces expériences de simulations numériques sont présentées dans la partie suivante.

2.1.2 Expériences de simulations numériques

Le logiciel COMSOL[®] Multiphysics est un logiciel de simulation numérique permettant à plusieurs modules intégrant des paramètres physiques (fluidique, thermique, acoustique, électrique...) de pouvoir interagir ensemble. De ce fait, plusieurs paramètres peuvent être étudiés en même temps. Ce logiciel intègre une méthode de calcul par éléments finis et permet ainsi de modéliser des systèmes solides, liquides ou gazeux dans une large gamme d'application.

i. Préparation des expériences de simulation numérique

Les deux versions de micro-préconcentrateur ont fait l'objet d'expériences de simulation numérique. Le but de ces expériences est de modéliser la répartition du gaz

contenant les COV lorsque celui-ci parcourt les deux géométries différentes. L'objectif final est de choisir la version la plus performante ou éventuellement d'optimiser encore ces géométries, si elles présentent des défauts majeurs, avant l'étape de fabrication qui est chronophage et coûteuse.

La première étape consiste à reproduire numériquement les deux systèmes à l'aide de l'interface du logiciel. Cette dernière permet de réaliser des structures bidimensionnelles et tridimensionnelles. Les données techniques détaillées dans le manuel d'utilisation du logiciel indiquent que des calculs de simulation fluide impliquent de dessiner une structure bidimensionnelle. Les structures en deux dimensions ont été obtenues en assemblant plusieurs formes géométriques. Un rectangle respectant les dimensions de la cavité a été disposé au centre. Puis, chaque pilier a été dessiné en faisant chevaucher plusieurs carrés. Le logiciel permet alors de procéder à des opérations booléennes de différences ou d'unions afin de structurer ces différentes sous-unités. Concernant les canaux d'entrées et de sorties, la première version du micro-préconcentrateur a été finalisée en plaçant deux rectangles de part et d'autre de la cavité. Concernant la version multicanaux, les voies d'accès ont été dessinées par assemblage de plusieurs arcs de cercle. Les reproductions numériques des deux versions du micro-préconcentrateur sont présentées sur la figure III.3.

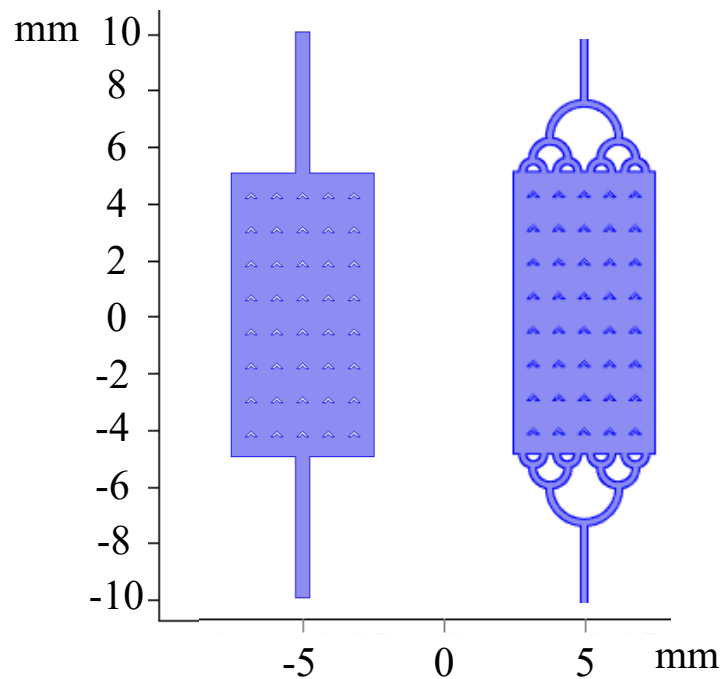


Figure III.3 : reproductions numériques des deux versions des micro-préconcentrateurs sur le logiciel COMSOL® Multiphysics.

L'introduction d'éléments finis dans la géométrie permet alors d'appliquer les équations de physique à chaque frontière de ces derniers afin d'étudier la totalité de la structure. Dans le cadre des structures bidimensionnelles, les triangles ou quadrilatères sont utilisés pour remplir les géométries. Cette étape est directement réalisée par l'action du logiciel. Dans le cas présent, le maillage résultant est de type « moyen » et constitué de triangles contrôlés pour la physique.

La deuxième étape consiste à déterminer les matériaux utilisés lors des expériences de simulation numérique. La nature chimique de la structure des deux géométries n'a pas été prise en compte car les interactions en terme de force de frottement entre le silicium et le gaz circulant dans la cavité sont très faibles. Ici, l'air a été assigné comme fluide de référence car il sera utilisé lors des différents tests au laboratoire. De plus, le micro-préconcentrateur sera balayé en condition expérimentale par un débit d'air égal à 50 mL.min⁻¹ ce qui correspond à des vitesses d'entrée du fluide dans les structures des versions monocanal et multicanaux respectivement égales à 3,3 m.s⁻¹ et 13,3 m.s⁻¹. La bibliothèque de matériaux intégrée au sein du logiciel a été utilisée afin d'attribuer les différentes constantes physiques de l'air nécessaires pour les calculs (cf. tableau III.1).

Tableau III.1 : paramètres physiques utilisés pour les calculs de simulation numérique.

Air	ρ : masse volumique (kg.m ⁻³)	1,2
	μ : viscosité dynamique (kg.m ⁻¹ .s ⁻¹)	1,8.10 ⁻⁵
	T : température (K)	293,15
	P : pression (atm)	1

Le logiciel COMSOL[®] Multiphysics possède un outil spécialisé pour l'étude des écoulements fluidiques. Au sein de ce dernier, il est possible sélectionner plusieurs modules dédiés à un nombre important d'applications différentes selon la géométrie du système et le type de fluide de référence. Les calculs de simulation numérique requièrent dans un premier temps de paramétrer l'interface de calcul du logiciel en sélectionnant le type de module souhaité.

Le nombre de Reynolds est une constante permettant d'interpréter le type d'écoulement dans une structure donnée. Ainsi, le calcul de cette valeur permet de choisir

entre les deux modules du logiciel qui prennent en charge soit les écoulements laminaires, soit les écoulements turbulents. Le calcul du nombre de Reynolds est obtenu grâce à l'équation (1). Cette équation intègre à la fois les grandeurs physiques de l'air (cf. tableau III.1), la vitesse (V) de l'air imposée en entrée de la structure ainsi que la dimension caractéristique (L) des deux géométries. Cette dernière valeur est, par définition, la plus petite dimension observée de la structure. Ici, les deux versions de micro-préconcentrateur présentent une dimension caractéristique de $70\ \mu\text{m}$ qui correspond à la plus petite arrête d'un pilier.

$$Re = \frac{\rho V L}{\mu} \quad (1)$$

Par le calcul, les versions monocanal et multicanaux présentent respectivement un nombre de Reynolds égal à 15 et 62. D'après la classification des écoulements, les faibles nombres de Reynolds (<100) indiquent un écoulement de type laminaire présentant des lignes de champ de vitesse symétriques, dirigées dans le même sens que la direction du fluide. Ces lignes de champs sont un excellent indicateur de l'homogénéité du flux de gaz et indiquent la présence d'éventuelles turbulences. Elles seront par ailleurs modélisées lors des calculs de simulation numérique.

La dernière étape consiste à importer, dans l'interface du logiciel, le module physique associé à l'étude fluide. Le logiciel procède aux différents calculs à l'aide soit d'un solveur stationnaire, soit d'un solveur temporel en fonction des physiques utilisées et de la géométrie du système. Dans le cas de l'étude d'un écoulement laminaire dans une structure bidimensionnelle, un solveur stationnaire est utilisé. Celui-ci a pour rôle d'effectuer les calculs aux frontières des éléments du maillage, de les compiler et de les afficher. Les expériences de modélisation sont présentées dans le paragraphe suivant.

ii. Résultats des expériences de simulation numérique

L'écoulement de l'air dans les deux géométries du micro-préconcentrateur a été modélisé selon les paramètres détaillés dans le paragraphe précédent. La répartition de la vitesse de l'air ainsi que les lignes de champ de la vitesse ont été étudiées. Les expériences de simulation numérique de l'écoulement de l'air dans les deux versions des micro-préconcentrateurs sont présentées sur la figure III.4.

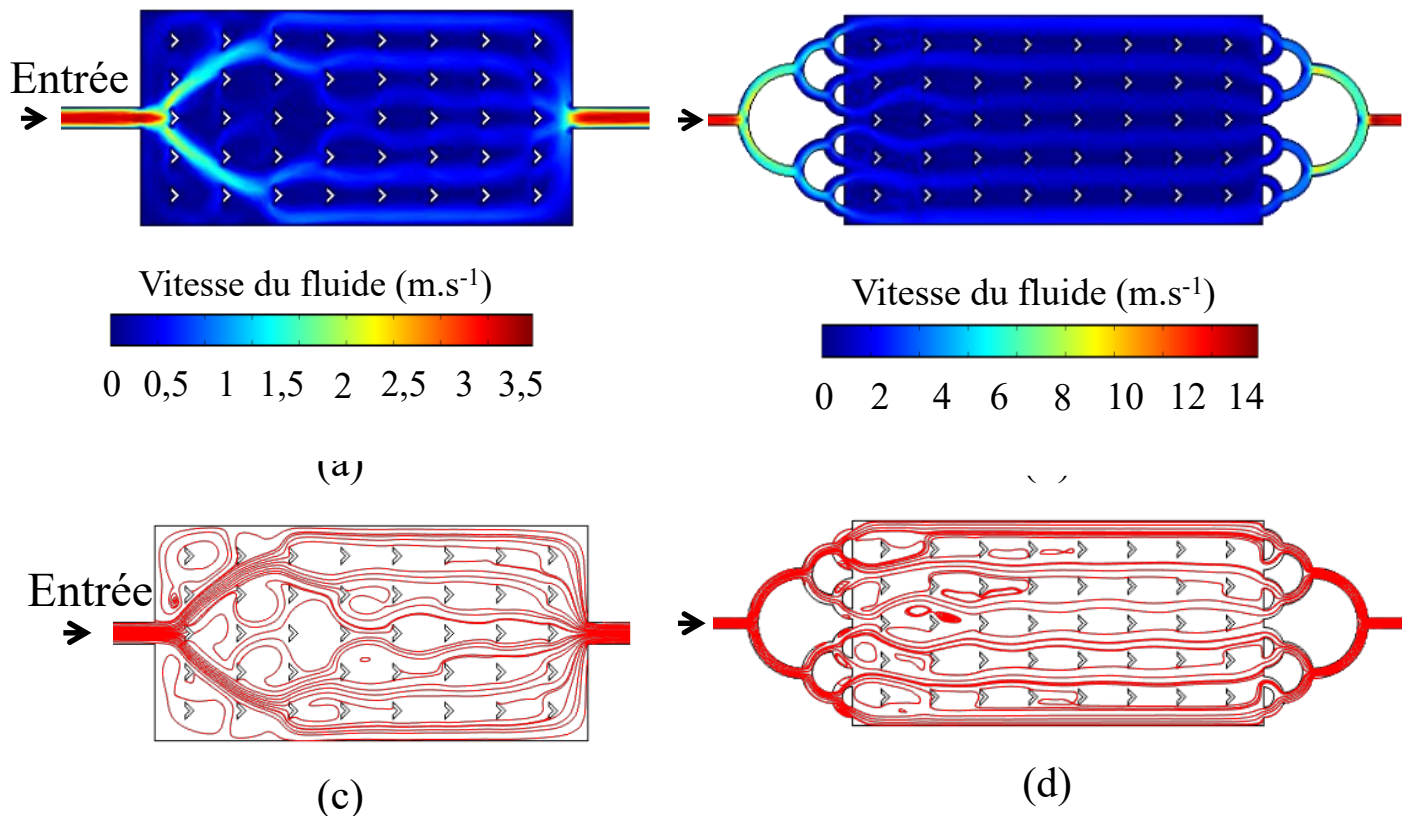


Figure III.4 : (a), (b) cartographie de la vitesse et (c), (d) lignes de champ de vitesse de l'air circulant dans les deux versions du micro-préconcentrateur.

Concernant les simulations numériques sur la version monocanal du micro-préconcentrateur, la figure III.4(a) montre que la vitesse du fluide dans la cavité n'est pas homogène, le flux de gaz incident est distribué brutalement à l'entrée de la cavité. Les vitesses du gaz après cette zone de turbulence sont globalement homogènes et bien réparties. En revanche, les faibles valeurs de vitesse de l'air observées dans la structure favorisent le temps de contact entre les COV contenus dans le gaz et l'adsorbant et cela contribue à augmenter les performances de préconcentration du système. La figure III.4(c) présente des lignes de champs de vitesse asymétriques à l'entrée de la cavité ainsi que plusieurs zones de turbulence.

Concernant la deuxième géométrie du micro-préconcentrateur, la figure III.4(b) montre que la vitesse du fluide est globalement plus homogène que pour la version monocanal. L'ajout des voies d'accès supplémentaires a effectivement permis d'homogénéiser la répartition du flux de gaz dans la cavité. De plus, la figure III.4(d) montre l'existence de zones de turbulence situées à proximité de l'entrée de la cavité moins importantes que pour la première version du micro-préconcentrateur. Toutefois, les dimensions plus faibles des voies d'accès et de sortie impliquent des vitesses du gaz plus

importantes dans cette dernière version ce qui limite le temps de contact entre les vapeurs à concentrer et l'adsorbant.

Les deux géométries de micro-préconcentrateur présentent chacune des avantages. Les faibles vitesses du fluide dans la structure de la première version sont intéressantes car cela implique un temps de contact plus important entre l'adsorbant et les COV. La deuxième géométrie présente des vitesses de flux plus importantes mais la cavité est balayée de façon homogène ce qui contribue à augmenter l'efficacité du système de préconcentration. Nous avons donc décidé de développer les deux géométries en raison des différents atouts qu'elles présentent afin de sélectionner la plus efficace en comparant leurs performances de préconcentration. La sous-partie suivante détaille la géométrie de la micro-colonne chromatographique qui sera utilisée tout au long de ce travail de thèse.

2.2 Géométrie de la micro-colonne chromatographique

Le laboratoire possède aujourd'hui une bonne expertise dans la réalisation de micro-colonnes chromatographiques. Les différents travaux ont permis d'envisager plusieurs structures de micro-colonnes pour la séparation de composés chimiques (principalement des COV) [1–4]. Afin de séparer la totalité des composés marqueurs du cancer du poumon envisagés dans cette étude, il est nécessaire de développer une colonne présentant une longueur suffisante afin de favoriser les équilibres entre la phase stationnaire et la phase mobile. Dans le cas précis de cette étude, un micro-canal circulaire d'une longueur de 5 mètres et de section carrée $100\ \mu\text{m} \times 100\ \mu\text{m}$ sera réalisé. Cette section permet en outre de limiter les pertes de charges et donc de pouvoir ajuster plus facilement le débit de la phase mobile. Cette géométrie est visible sur la figure III.5.

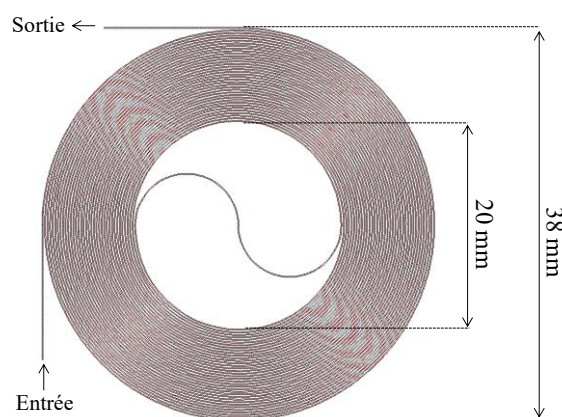


Figure III.5 : géométrie de la micro-colonne chromatographique.

Après avoir défini les géométries des unités de préconcentration et de séparation des COV, nous avons souhaité vérifier si une intégration de ces deux composants sur un seul substrat de silicium est envisageable. Ce point fait l'objet de la partie suivante.

3 Intégration des microstructures sur un seul substrat

L'objectif de cette partie est de vérifier si la conception d'une plate-forme microfluidique constituée d'un micro-préconcentrateur et d'une micro-colonne chromatographique sur un unique substrat de silicium/verre est envisageable en fonction des températures différentes de fonctionnement de ces deux unités.

Le dimensionnement de la plate-forme a été conçu en fonction des dimensions extérieures du micro-préconcentrateur et de la micro-colonne chromatographique. Le système imaginé est composé d'un substrat de silicium d'épaisseur 500 μm dans lequel seront usinés les deux microsystèmes. Ces derniers seront ensuite soudés avec un substrat de pyrex de 500 μm d'épaisseur préalablement percé d'orifices d'accès de diamètre 500 μm pour obtenir une structure étanche et tridimensionnelle. Pour finir, l'assemblage final d'une épaisseur totale de 1000 μm sera découpé pour aboutir à une plate-forme microfluidique de dimensions 60 mm x 90 mm. À l'arrière de chaque structure seront positionnées des résistances de chauffe permettant de réguler la température de chaque élément. Les deux unités seront séparées par une ouverture ayant pour objectif de limiter le flux de chaleur entre les différentes structures. La géométrie de la plate-forme microfluidique envisagée ici est représentée sur la figure III.6.

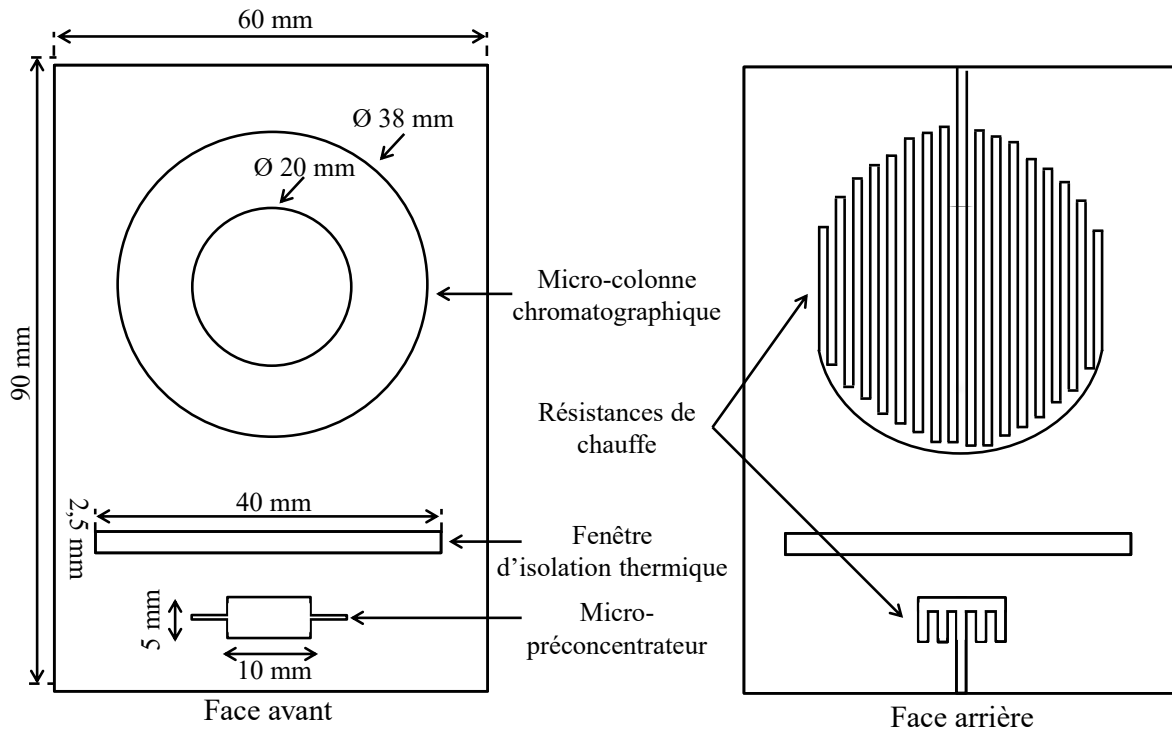


Figure III.6 : géométrie et dimensions de la plate-forme micro-fluidique.

Au-delà de la contrainte technologique qu'implique l'intégration totale des différents éléments, il faut également considérer les échanges thermiques entre les deux microstructures. En effet, en conditions d'utilisation, les deux composants devront fonctionner à des températures différentes. Concernant le micro-préconcentrateur, la phase d'adsorption devra s'effectuer à température ambiante (20°C) alors que l'étape de désorption s'effectuera à des températures élevées proches de 250°C pendant quelques minutes. Pour la micro-colonne chromatographique, l'élution et la séparation des COV pourra avoir lieu soit en mode isotherme (température fixe de l'ordre de 50°C) soit en rampe de température (de 30°C à 100°C). Ainsi, le flux de chaleur provenant du préconcentrateur lors de la phase de désorption ne devra pas perturber l'étape d'élution des COV dans la micro-colonne chromatographique. Inversement, la régulation en température de la micro-colonne chromatographique ne devra pas perturber la phase d'adsorption qui est réalisée à température ambiante (20°C).

3.1 Préparation des expériences de simulation numérique

Le logiciel COMSOL[®] Multiphysics a également été utilisé ici afin d'étudier la répartition du flux de chaleur dans la structure lorsque la micro-colonne chromatographique et le micro-préconcentrateur sont en chauffe. Dans un premier temps, la géométrie de la

plate-forme micro-fluidique a été dessinée en fonction des cotes définies sur la figure III.6. Cette reproduction numérique tridimensionnelle, comme l'impose l'étude thermique d'un tel système, a été obtenue en assemblant entre elles plusieurs formes géométriques.

Pour commencer, un cube représentant le substrat de silicium a été reproduit. Deux cercles concentriques ont ensuite été placés à l'emplacement prévu pour la micro-colonne chromatographique. Puis, un assemblage de trois cubes respectant les dimensions du micro-préconcentrateur (cavité, entrée et sortie) a été disposé à l'endroit prévu pour ce composant. Un cube représentant le substrat de pyrex a été placé sur le système dessiné. Enfin, après avoir disposé un dernier cube correspondant à la fenêtre d'isolation thermique, des opérations booléennes de différence et d'union entre ces différents sous-structures ont été réalisées afin de modéliser la plate-forme micro-fluidique qui est présentée sur la figure III.7.

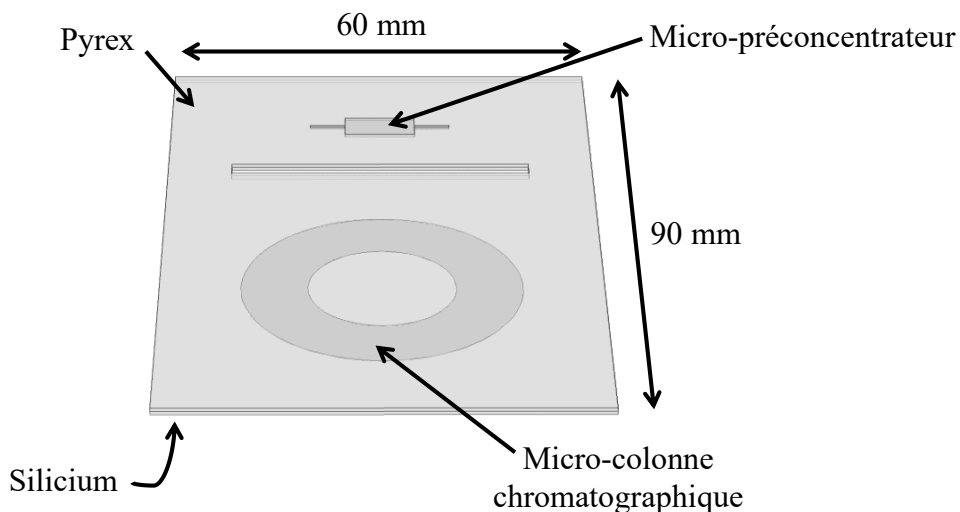


Figure III.7 : reproduction numérique de la plate-forme micro-fluidique sur le logiciel COMSOL® Multiphysics.

L'introduction d'éléments finis (tétraèdres) dans la géométrie de la structure tridimensionnelle permet d'appliquer les équations de physique. Dans le cas présent, un maillage « fin » et contrôlé pour la physique a été obtenu.

La deuxième étape de la préparation des expériences de simulation concerne l'attribution des grandeurs physiques propres à chaque matériau afin de traiter les différents calculs lors des simulations. Dans le cas présent, la géométrie est divisée en deux domaines distincts qui sont constitués de silicium et de pyrex. La bibliothèque de matériaux intégrée

au sein du logiciel a été utilisée afin d'attribuer les différentes constantes physiques à chaque domaine. Elles sont répertoriées dans le tableau III.2.

Tableau III.2 : grandeurs physiques du silicium et du pyrex nécessaires pour la simulation thermique.

	Masse volumique (kg.m ⁻³)	Conductivité thermique (W.m ⁻¹ .K ⁻¹)	Capacité calorifique à pression constante (J.kg ⁻¹ .K ⁻¹)
Silicium	2330	148	650
Pyrex	2203	1,38	703

La dernière étape consiste à déterminer la physique utilisée pour les calculs. Dans le cas présent, le module concernant les transferts de chaleurs dans les solides a été utilisé. Ici, la température à proximité de la structure doit être indiquée. Cette condition initiale, qui correspond à la température ambiante, a été fixée à la valeur donnée par le logiciel par défaut (293,15 K). Puis, des flux de chaleurs convectifs ont été paramétrés afin de simuler les phénomènes de convection naturelle externe. Les faces supérieures et inférieures de la plateforme ont été mises en contact avec de l'air à la pression d'une atmosphère et à température ambiante (293,15 K).

La fonction « température » du module thermique a permis d'appliquer une température aux niveaux des emplacements correspondants aux résistances électriques positionnées en dessous des micro-systèmes. La température est alors effective dès les premiers instants de l'expérience et ceci permet de s'affranchir de l'effet cinétique d'une résistance de chauffe. Pour finir, un solveur temporel a été utilisé pour calculer la répartition du flux de chaleur après 1 minute.

3.2 Résultats des expériences de simulation numérique

La figure III.8 présente deux exemples de simulation permettant de visualiser le flux de chaleur entre les deux éléments. La première simulation (figure III.8(a)) montre l'influence d'une température de 250°C appliquée au niveau du micro-préconcentrateur sur la micro-colonne chromatographique. La deuxième simulation (figure III.8(b)) consiste à maintenir la micro-colonne chromatographique à 50°C en mode isotherme et de visualiser la répartition de la température au niveau du micro-préconcentrateur.

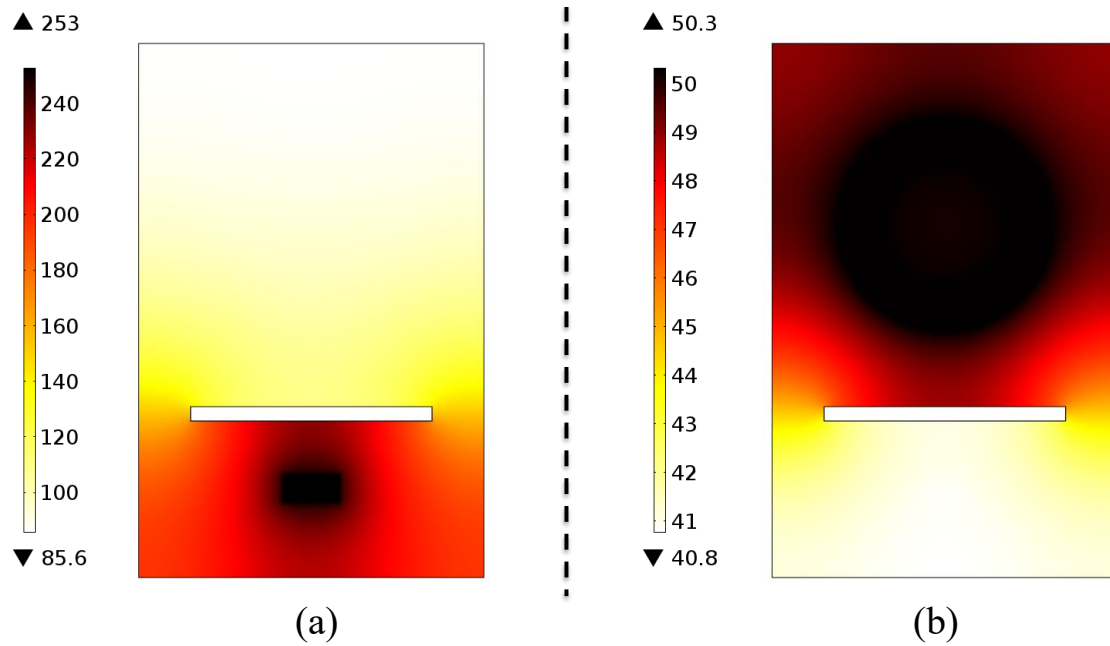


Figure III.8 : simulation numérique de la chauffe système pour (a) une température du micro-préconcentrateur de 250°C, (b) une température de la micro-colonne chromatographique fixée à 50°C.

La figure III.8(a) indique qu'une température d'une centaine de degrés est rapidement atteinte au niveau de la micro-colonne chromatographique lorsque le micro-préconcentrateur est chauffé à 250°C (phase de désorption). La figure III.8(b) montre que la zone du micro-préconcentrateur atteint une température supérieure à 40°C lorsque la micro-colonne est maintenue à 50°C. Au regard de ces modélisations, nous constatons que la fenêtre d'isolation thermique ne permet pas de dissiper de façon efficace le flux de chaleur entre les deux microstructures. En effet, chaque système est impacté et ne peut pas être régulé thermiquement de manière indépendante. Ce constat est principalement attribué au silicium qui présente une excellente conductivité thermique ($148 \text{ W.m}^{-1}.\text{K}^{-1}$). Une nouvelle structure de la plate-forme micro-fluidique a alors été imaginée et qui intègre plusieurs fenêtres d'isolation thermique. L'objectif étant de limiter la diffusion du flux de chaleur. Une nouvelle expérience simulant l'étape de désorption a été effectuée (cf. figure III.9).

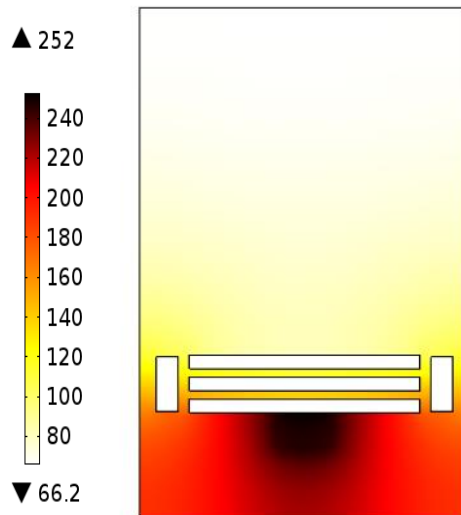


Figure III.9 : simulation numérique de la chauffe du micro-préconcentrateur à 250°C avec un nombre supplémentaire de fenêtres d'isolation thermique.

La figure III.9 indique que la présence de plusieurs fenêtres d'isolation thermique permet de réduire la température au niveau de la micro-colonne chromatographique lors de l'étape de désorption. Néanmoins, la diffusion de la chaleur reste encore trop importante puisque la colonne chromatographique atteint des températures proches de 80°C.

Ces différentes phases de simulation montrent clairement que l'intégration des deux unités de préconcentration et de séparation sur un unique substrat de silicium n'est pas envisageable. En effet, les flux de chaleurs observés perturbent fortement les conditions de fonctionnement de chaque composant. Sur ce constat, la solution retenue pour réaliser cette plate-forme micro-fluidique repose sur l'usinage des microstructures sur deux substrats de silicium séparées. Les unités de préconcentration et de séparation ainsi obtenues pourront ensuite être assemblées sur un support présentant un coefficient de transfert thermique suffisamment faible afin de limiter le flux de chaleur entre les deux unités.

La partie suivante présente les différentes étapes du procédé de fabrication des microstructures ainsi que les équipements utilisés.

4 Procédé de fabrication des microstructures

La technologie silicium/verre disponible dans la salle blanche Mimento du réseau Renatech de l'institut Femto-St à Besançon permet de réaliser les systèmes envisagés dans ce projet. Afin de simplifier au maximum leur fabrication, nous avons défini un procédé d'élaboration commun pour la micro-colonne chromatographique et pour les deux versions

de micro-préconcentrateurs. Toutefois, une différence réside dans les profondeurs d'usinage du silicium pour les deux types de microstructures. Le synoptique de la figure III.10 présente les étapes de fabrication des différents microsystèmes.

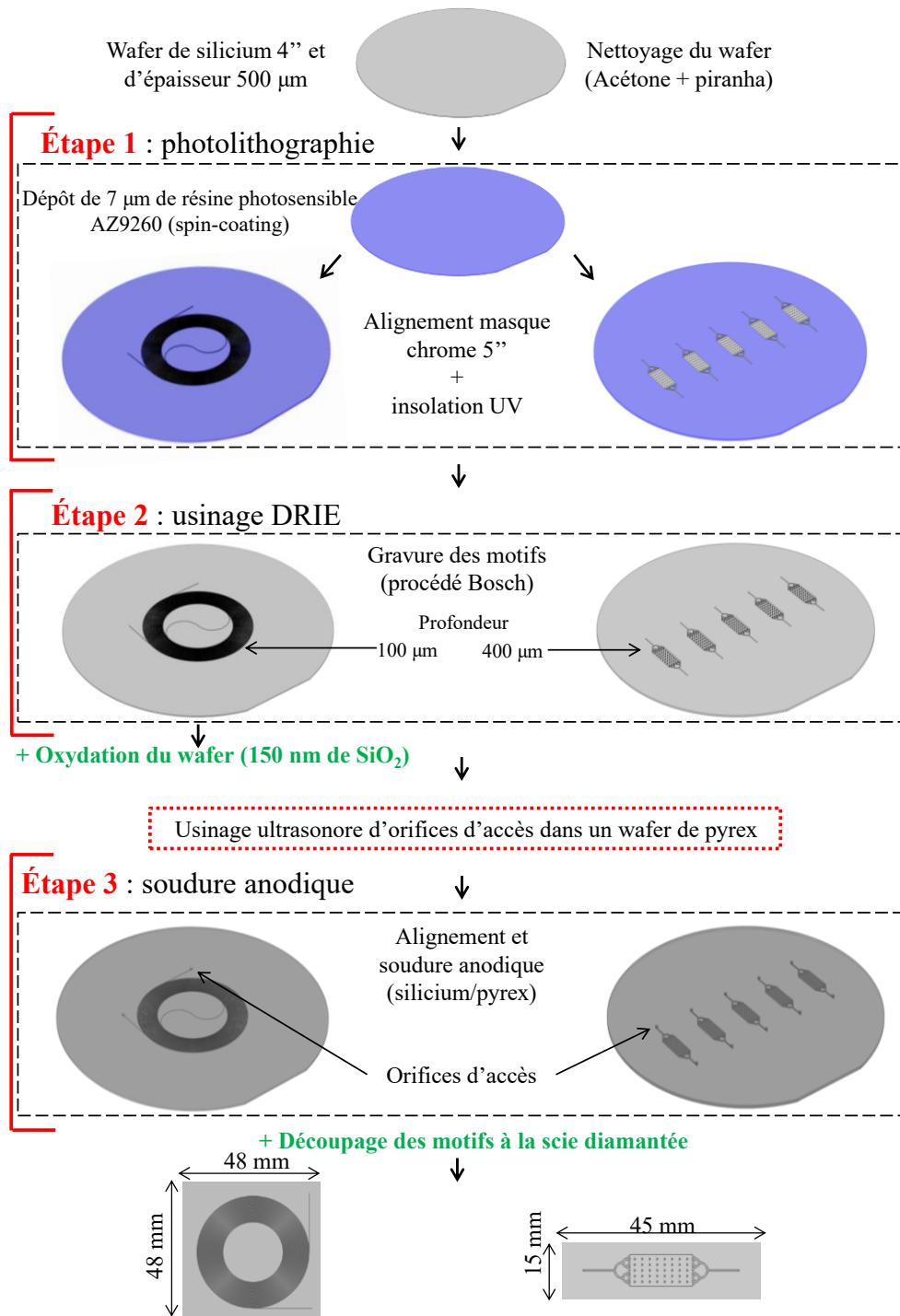


Figure III.10 : schéma général des étapes technologiques pour l'élaboration des micro-préconcentrateurs et des micro-colonnes chromatographiques sur silicium et pyrex.

Les détails techniques des différentes étapes ainsi et les principes de fabrication utilisés sont présentés dans les paragraphes suivants.

4.1 La photolithographie

Dans un premier temps, le wafer de silicium est nettoyé par immersion dans un bain d'acétone et d'éthanol. Puis, afin de supprimer les impuretés microscopiques, le substrat est plongé dans un mélange 1 : 3 (volumique) de peroxyde d'hydrogène (30%) dans l'acide sulfurique (98%) pour finalement être rincé à l'eau distillée et séché sous un flux de diazote. L'étape de photolithographie consiste à enduire le substrat par spin-coating d'un dépôt homogène de 7 μm d'épaisseur d'une résine positive photosensible (AZ-9260). À l'issue de cette étape, la couche de résine présente sur la surface du silicium est insolée (UV) à travers un masque chrome de 5 pouces préalablement gravé des différents motifs représentant les microstructures dans le but de les structurer sur la surface du substrat. La couche de résine présente aux endroits insolés par transparence du masque, est alors détruite et peut ainsi être développée dans un mélange (1 : 4) (en volume) d'AZ-400 dans l'eau. De cette manière, seuls les motifs qui ne sont plus protégés par la résine peuvent alors être usinés.

4.2 L'usinage par DRIE

L'usinage du silicium par Deep Reactive Ion Etching (DRIE) est une technique de salle blanche largement répandue qui permet d'obtenir des motifs sur silicium avec de bons rapports de forme après gravure. Dans ce travail, un procédé standard de gravure Bosch a été utilisé. L'équipement utilisé fait appel à plusieurs cycles d'usinage/passivation dans le but obtenir une gravure anisotrope, c'est-à-dire des flancs de gravure perpendiculaires à la surface du wafer. Le silicium est gravé à l'aide d'un plasma froid SF_6 puis une phase de dépôt de C_4F_8 permet de protéger les flancs du motif. Ces cycles sont répétés plusieurs fois jusqu'à obtenir la profondeur d'usinage désirée. La présence de flancs parfaitement perpendiculaires à la surface du wafer est importante afin de respecter les cotes d'usinage pour l'obtention de dispositifs identiques.

Pour les micro-colonnes chromatographique, une dernière étape consiste à oxyder en four humide les substrats de silicium. Cette étape est nécessaire pour favoriser le greffage

de la phase stationnaire par l'intermédiaire de liaisons covalentes et/ou hydrogènes avec la couche de silice formée. Finalement, les substrats de silicium usinés sont ensuite scellés par soudure anodique avec un substrat de pyrex. Ces derniers ont été préalablement percés d'orifices d'accès par usinage ultrasonore à l'aide d'une machine Nexus (20 kHz).

4.3 La soudure anodique

La soudure anodique est une technique incontournable lors de la fabrication de microsystèmes en salle blanche. Cette étape consiste en l'assemblage électrochimique d'un verre avec un matériau semi-conducteur ou métallique. Dans le cadre de cette étude, les substrats de silicium après usinage ont été soudés avec un substrat de pyrex d'épaisseur 500 μm .

Les substrats de pyrex ont été préalablement percés par usinage ultrasonore afin d'établir des orifices d'accès d'un diamètre de 500 μm . Ces trous permettront de faire circuler le fluide à travers les microsystèmes. La soudure a été réalisée sur un appareillage de type EVG 400. Cette étape consiste à aligner les deux wafers de façon à avoir les orifices d'accès du wafer de pyrex en face de l'entrée et de la sortie du motif usiné dans le silicium. Dans un second temps, une rampe de température de 20°C à 500 °C va rendre mobile les cations Na^+ présent dans le verre. Puis, une différence de potentiel de plusieurs kV permet aux ions Na^+ de migrer vers l'électrode négative créant ainsi une zone de déplétion à l'interface silicium/pyrex. Les anions O^{2-} à l'interface vont alors réagir avec le silicium pour créer une couche de silice garantissant la soudure des deux wafers (liaisons Si-O-Si). Le principe général de la soudure anodique ainsi que les réactions à l'interface des deux wafers sont présentés sur la figure III.11.

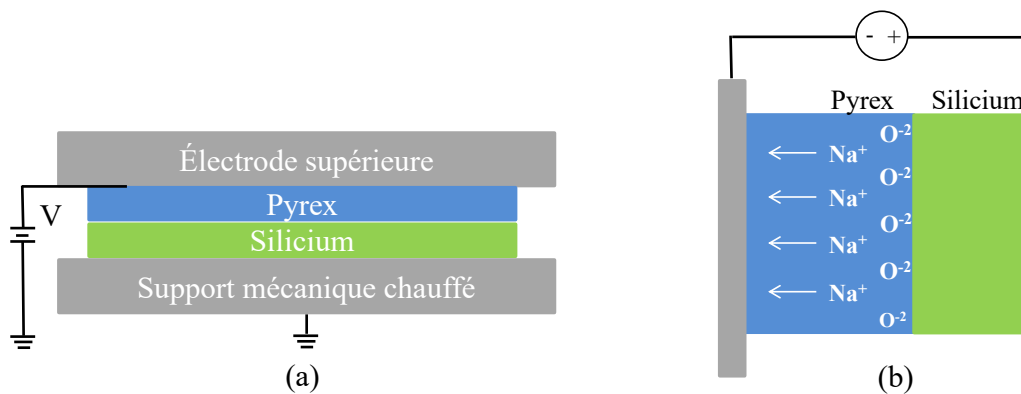


Figure III.11 : (a) principe général de la soudure anodique et (b) réactions à l'interface Si/pyrex.

Les éléments soudés sont ensuite découpés à l'aide d'une scie diamantée. Dans un dernier temps, et afin de faire circuler un fluide à l'intérieur des microsystèmes, des capillaires de silice (diamètre externe de 320 μm) sont fixés aux microstructures à l'aide de raccords micro-fluidiques de type NanoPorts™. La figure III.12 présente les différentes microstructures obtenues à l'issue du procédé de fabrication.

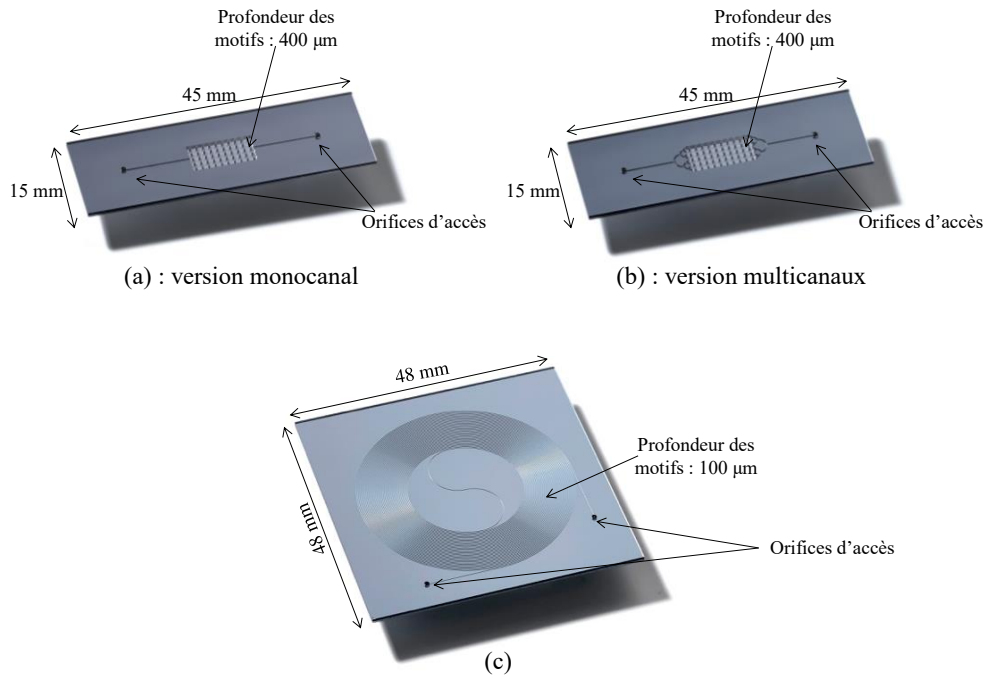


Figure III.12 : photographies de la version (a) monocanal et (b) multicanaux de préconcentrateurs ainsi que (c) d'une μ -colonne chromatographique.

Pour terminer, les micro-préconcentrateurs sont équipés d'une résistance de chauffe (MSP 769 HERAEUS) placée sur la face arrière de la structure et au niveau de la cavité. Concernant les micro-colonnes chromatographiques, elles seront placées dans un four thermo-régulé permettant d'appliquer une température précise à l'ensemble de la microstructure.

Afin de rendre opérationnelle les différentes unités permettant de concentrer et de séparer les COV, il est nécessaire de déposer un adsorbant et une phase stationnaire. Tout d'abord, nous nous sommes attachés à déposer, dans la cavité du micro-préconcentrateur, les différents matériaux adsorbants sélectionnés dans le deuxième chapitre de ce manuscrit (les zéolites Day et NaY ainsi que les microsphères de carbone W5). Puis, le canal de la micro-colonne chromatographique a été revêtu de la phase stationnaire (PDMS). La partie suivante présente les détails techniques liés à la réalisation de ces dépôts.

5 Dépôt des adsorbants et de la phase stationnaire

5.1 Dépôt des matériaux adsorbants dans la cavité des micro-préconcentrateurs

Les trois adsorbants sélectionnés dans le deuxième chapitre de ce travail ont été déposés dans les cavités des deux versions des micro-préconcentrateurs. Pour réaliser ce type de dépôt, la solution envisagée repose sur l'aspiration dans la cavité des différents adsorbants en suspension dans un solvant. Les observations réalisées au cours des derniers travaux du laboratoire ont permis de déterminer la nature chimique des solvants et la concentration d'adsorbants optimale pour réaliser des dépôts homogènes. Ainsi, les microsphères de carbone ont été dispersées dans de l'heptane à une concentration de 25 g.L^{-1} et les zéolites dans de l'éthanol à 75 g.L^{-1} [5]. Ces différentes suspensions ont été réalisées à partir d'un volume de solvant d'environ 10 mL et ont été agitées pendant 12 heures sous agitation magnétique. De plus, aucun dispersant commercial n'a été utilisé pour stabiliser les suspensions, ceci afin d'éviter d'introduire des composés chimiques qui pourraient obturer les pores des matériaux adsorbants. Les suspensions obtenues sont présentées sur la figure III.13.



Figure III.1320 : photographie de fioles contenant une suspension de zéolite DaY (a) et de microsphères de carbone W5 (b).

A l'issue de la phase de stabilisation des suspensions, ces dernières ont été aspirées à l'aide d'une pompe à vide dans la cavité des 2 versions des préconcentrateurs afin de les remplir totalement. Puis, une période de séchage a été observée à température ambiante pendant 24 heures pour permettre une lente évaporation du solvant et la sédimentation des

adsorbants dans le fond de la cavité. Une dernière phase consiste à faire circuler pendant plusieurs heures un flux de N_2 dans la microstructure afin de terminer le séchage. Des photographies des dépôts, après séchage, des zéolites DaY et des microsphères de carbone W5 dans les deux versions du micro-préconcentrateur sont présentées sur la figure III.14.

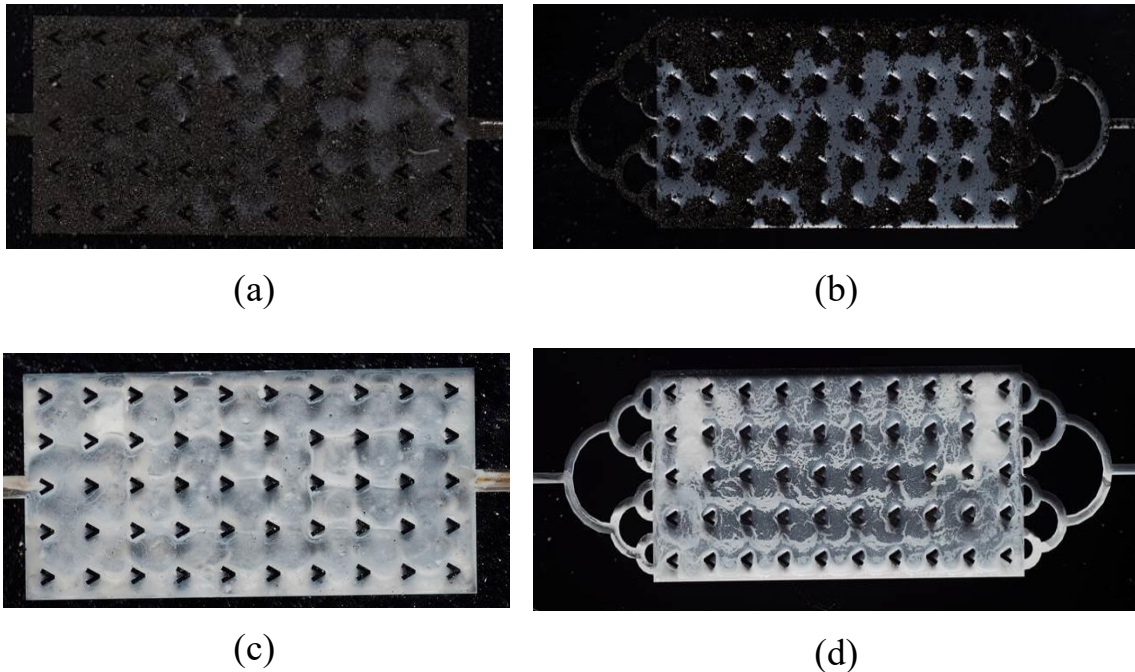


Figure III.14 : photographie des dépôts dans les versions monocanal et multicanaux du micro-préconcentrateur des microsphères de carbone W5 (a), (b) et des zéolite DaY et (c), (d).

Les figures III.14(a) et (c) montrent un dépôt homogène et stable des adsorbants (DaY et W5) dans les cavités des versions monocanal du micro-préconcentrateur. En revanche, les dépôts obtenus dans les versions multicanaux sont déstructurés et instables. Le nombre d'entrées et de sorties plus important dans la version multicanaux du micro-préconcentrateur implique que l'adsorbant est éjecté de la cavité lorsque le flux de gaz circule dans cette dernière. Cette version n'est donc pas compatible avec notre cahier des charges (dépôt d'adsorbant peu homogène) puisqu'elle ne permettra pas de concentrer de manière efficace et répétable les COV contenus dans l'air expiré lorsque des échantillons d'haleine circuleront dans cette structure. Cette dernière géométrie a donc été abandonnée pour n'utiliser finalement que la version monocanal du micro-préconcentrateur.

Les différentes masses de zéolites DaY et NaY ainsi que de microsphères de carbone W5 déposées dans la version monocanal du micro-préconcentrateur sont détaillées dans le tableau III.3.

Tableau III.3 : masse d'adsorbant déposée dans la cavité de la version monocanal du micro-préconcentrateur.

	Zéolites		Microsphère de carbone
	DaY	NaY	W5
Masse déposée (mg)	5,1	3,8	2,2

Nous remarquons que les masses d'adsorbants déposées sont importantes et ceci est un avantage pour piéger une quantité importante de COV. Afin de vérifier l'homogénéité des dépôts, nous avons observé une cavité contenant la zéolite DaY à l'aide d'un microscope électronique à balayage (MEB). Les micrographies obtenues sont présentées sur la figure III.15.

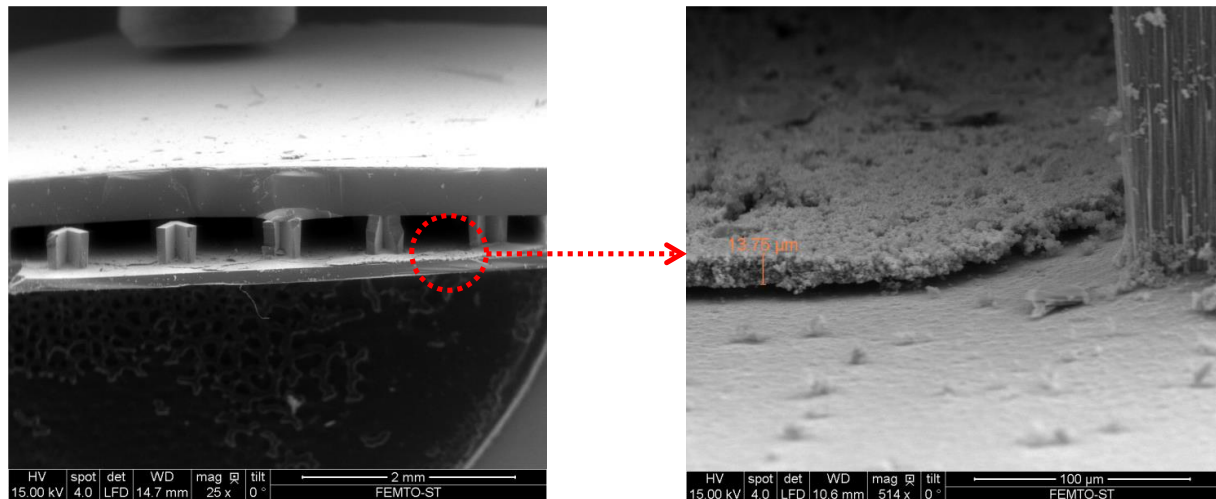


Figure III.15 : micrographies d'un dépôt de zéolite DaY.

Ces micrographies montrent que le dépôt de zéolites DaY est homogène. Ce constat est en partie attribué à la présence des piliers ayant pour rôle de maintenir le lit d'adsorbant au fond de la cavité. L'épaisseur du dépôt mesurée est d'environ 15 µm pour une granulométrie initiale de la zéolite de 1 µm ce qui indique un dépôt de type multicouches.

La partie suivante s'attache à donner les détails du dépôt de la phase stationnaire dans le micro-canal de la colonne chromatographique.

5.2 Dépôt de la phase stationnaire dans la micro-colonne chromatographique

La nature chimique de la phase stationnaire conditionne les performances de séparation des COV en mélange. Pour cette étude, nous nous sommes orientés vers une phase stationnaire peu polaire de type de polydiméthylsiloxane (PDMS). Cette phase stationnaire polyvalente, dont la formule semi-développée est visible sur la figure III.16, est régulièrement utilisée pour séparer les marqueurs chimiques du cancer du poumon [6–8].

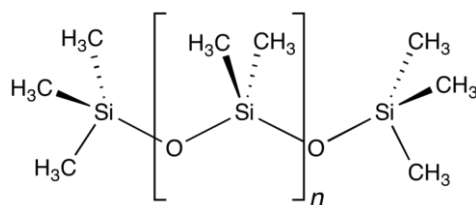


Figure III.16 : formule semi-développée du PDMS.

Cette phase stationnaire a été synthétisée à partir d'un mélange de 550 mg de PDMS de type Sylgard 184 (Sigma Aldrich) et de 55 mg d'agent réticulant dilués dans un volume de 2,5 mL de toluène. La solution a été agitée à température ambiante pendant 24 heures et ensuite aspirée à l'aide d'une pompe à vide dans le micro-canal usiné sur silicium. Lorsque la totalité de la micro-colonne chromatographique est remplie, un temps d'attente de 30 minutes est observé pour initier la polymérisation. Pour finir, la solution est évacuée par circulation d'un flux de diazote ($50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) à $50 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant 24 heures afin de sécher le film mince formé sur les parois. Les micrographies présentées sur la figure III.17 montrent la morphologie de la phase stationnaire greffée sur les parois internes d'une micro-colonne chromatographique réalisée.

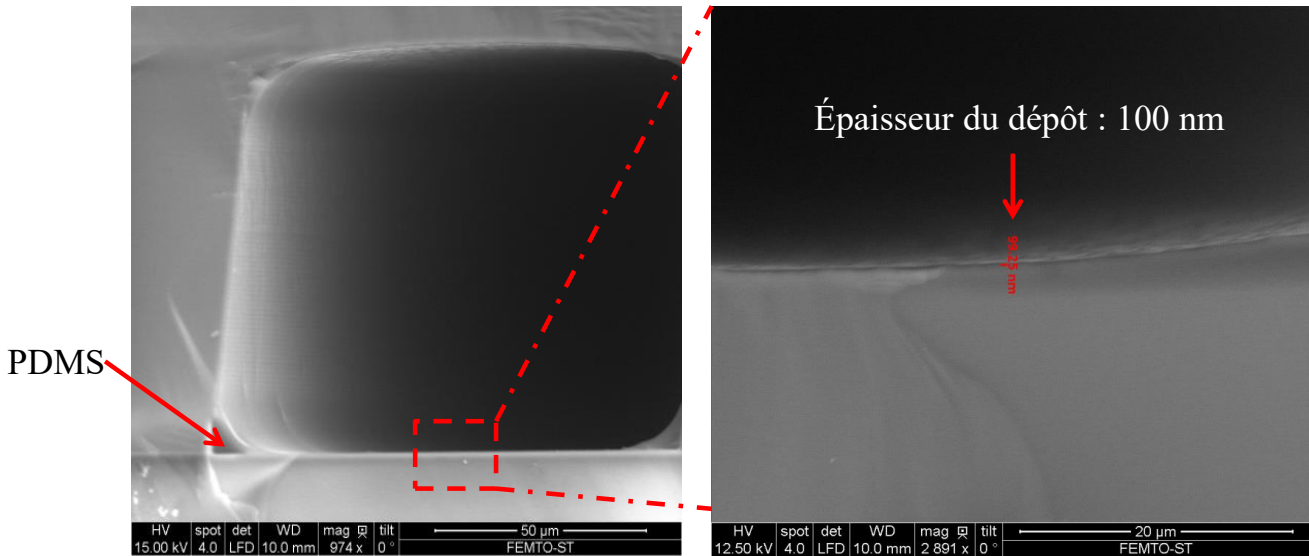


Figure III.17 : micrographies de l'intérieur de la micro-colonne chromatographique après dépôt de la phase stationnaire (PDMS).

Ces micrographies montrent la présence d'un dépôt homogène sur les parois du micro-canal avec une épaisseur mesurée d'environ 100 nm. Le greffage de la phase stationnaire est assuré par des liaisons H entre les atomes d'hydrogènes présents sur le PDMS et les atomes d'oxygène de la couche de silice (cf. figure III.18).

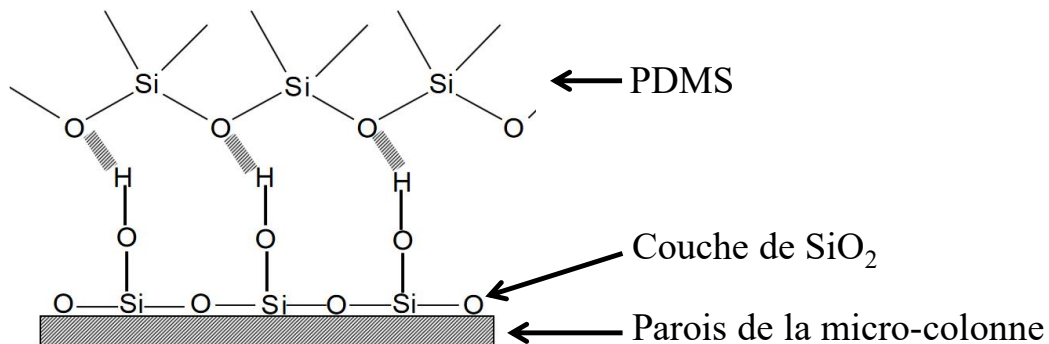


Figure III.18 : liaisons hydrogènes entre le couche de silice et le PDMS [9].

Afin de vérifier la nature chimique du polymère synthétisé, un échantillon témoin a été déposé sur de la silice et analysé par spectroscopie infrarouge à transformé de Fourier (IRTF) en mode Réflection Totale Atténuée (ATR) dans la gamme 400-4000 cm^{-1} . Le spectre infrarouge obtenu est présenté sur la figure III.19.

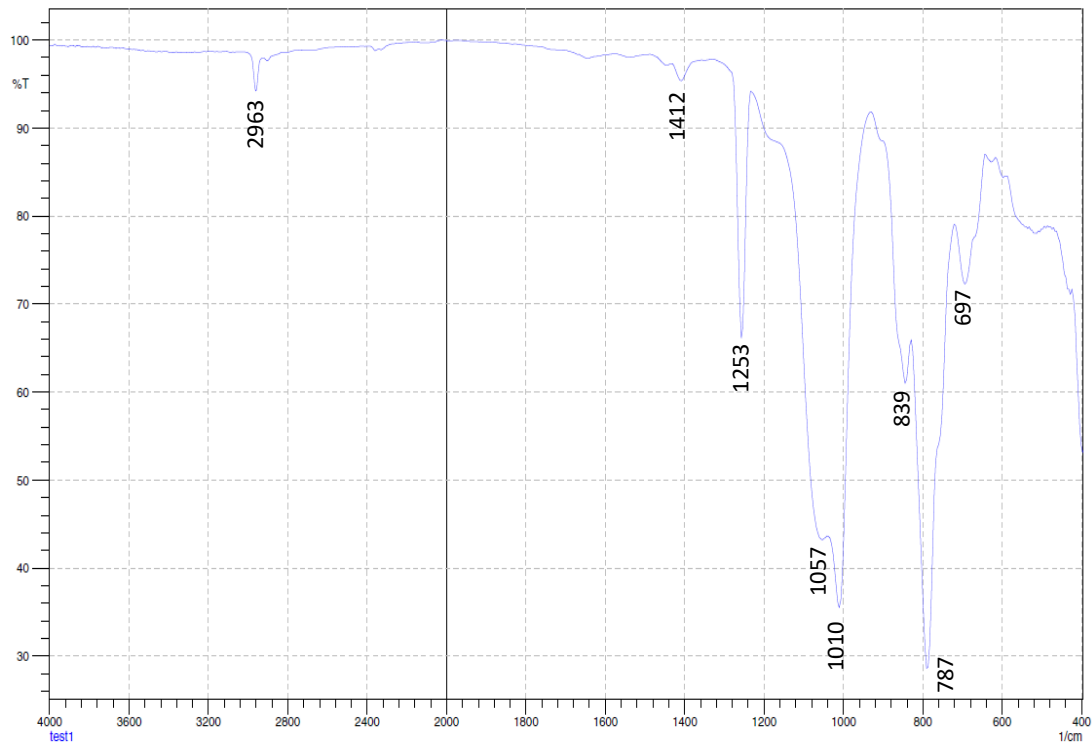


Figure III.19 : spectre infrarouge du témoin après polymérisation et séchage.

Le spectre infrarouge présenté sur la figure III.19 montre les bandes caractéristiques du polydiméthylsiloxane [10] :

- La bande à 2963 cm^{-1} attribuée à l'élongation de la liaison C-H,
- La bande à 1412 cm^{-1} attribuée à la déformation des liaisons du groupement CH_3 ,
- Les pics intenses à 1010 cm^{-1} et 1057 cm^{-1} affectés aux élongations asymétriques des fonctions siloxanes (Si-O-Si)
- Les bandes à 787 cm^{-1} , 839 cm^{-1} et à 1253 cm^{-1} attribuées à la vibration de la liaison Si- CH_3 .

La présence de PDMS dans la structure de la micro-colonne chromatographique est alors confirmée grâce aux différentes observations réalisées à travers ce spectre infrarouge.

6 Conclusion

Ce chapitre a présenté en détail les différentes phases de réalisation du système permettant de concentrer et d'éluer les COV marqueurs du cancer du poumon.

Dans un premier temps, et en s'appuyant sur l'expertise du laboratoire, les différentes géométries du micro-préconcentrateur et de la micro-colonne chromatographique ont été présentées. En particulier, deux géométries de micro-préconcentrateurs ont été envisagées et les écoulements fluidiques ont été étudiés dans ces structures à l'aide du logiciel COMSOL[®] Multiphysics. Les résultats ont montré que l'ajout de canaux d'entrée et de sortie permettait d'obtenir une répartition du flux de gaz plus homogène que dans le cas de la version monocanal du micro-préconcentrateur.

Après avoir fixé les dimensions des micro-préconcentrateurs et de la micro-colonne chromatographique, le module thermique du logiciel COMSOL[®] Multiphysics a permis de montrer que l'intégration des deux composants sur un unique substrat de silicium n'était pas envisageable. Ceci étant principalement dû à un transfert thermique trop important entre les deux éléments usinés sur silicium. Sur ce constat, il a été décidé de développer ces microstructures sur des substrats de silicium séparés. Les différents éléments seront ensuite reliés entre eux à l'aide de capillaires en silice et de vannes d'injection.

Enfin, un procédé de fabrication commun et fiabilisé incluant des étapes de salle blanche suivies d'étapes de dépôt d'adsorbants et de phase stationnaire a été présenté. Ce point a notamment permis de montrer que la version du micro-préconcentrateur multicanaux n'était pas viable. En effet, dans cette configuration, il est impossible d'obtenir un dépôt homogène et stable d'adsorbant en particulier sous flux de gaz. Cette version n'a donc pas été conservée pour la suite de cette étude. En revanche, la version monocanal du micro-préconcentrateur permet d'obtenir un dépôt homogène et stable sous flux de gaz. L'utilisation de ce dernier a ainsi été validée. En parallèle, l'étape de dépôt de la phase stationnaire dans la micro-colonne chromatographique a abouti au greffage d'une couche mince de PDMS dans le micro-canal de cette unité.

Le chapitre suivant est consacré à l'évaluation des performances d'analyse de cette plate-forme constituée du micro-préconcentrateur monocanal et d'une micro-colonne chromatographique en amont d'un capteur résistif pour la détection sélective de traces de marqueurs chimiques du cancer du poumon.

7 Listes des figures

Figure III.1 : version du micro-préconcentrateur présentant une seule entrée et sortie ainsi que 10 rangées de 5 piliers (version monocanal).	81
Figure III.2 : seconde version du micro-préconcentrateur avec l'ajout de déflecteurs de flux en amont et en aval de la cavité (version multicanaux).	82
Figure III.3 : reproductions numériques des deux versions des micro-préconcentrateurs sur le logiciel COMSOL® Multiphysics.....	83
Figure III.4 : (a), (b) cartographie de la vitesse et (c), (d) lignes de champ de vitesse de l'air circulant dans les deux versions du micro-préconcentrateur.	86
Figure III.5 : géométrie de la micro-colonne chromatographique.	87
Figure III.6 : géométrie et dimensions de la plate-forme micro-fluidique.	89
Figure III.7 : reproduction numérique de la plate-forme micro-fluidique sur le logiciel COMSOL® Multiphysics.....	90
Figure III.8 : simulation numérique de la chauffe système pour (a) une température du micro-préconcentrateur de 250°C, (b) une température de la micro-colonne chromatographique fixée à 50°C.....	92
Figure III.9 : simulation numérique de la chauffe du micro-préconcentrateur à 250°C avec un nombre supplémentaire de fenêtres d'isolation thermique.....	93
Figure III.10 : schéma général des étapes technologiques pour l'élaboration des micro-préconcentrateurs et des micro-colonnes chromatographiques sur silicium et pyrex.	94
Figure III.11 : (a) principe général de la soudure anodique et (b) réactions à l'interface Si/pyrex.....	96
Figure III.12 : photographies de la version (a) monocanal et (b) multicanaux de préconcentrateurs ainsi que (c) d'une μ -colonne chromatographique.	97
Figure III.13 : photographie de fioles contenant une suspension de zéolite DaY (a) et de microsphères de carbone W5 (b).	98
Figure III.14 : photographie des dépôts dans les versions monocanal et multicanaux du micro-préconcentrateur des microsphères de carbone W5 (a), (b) et des zéolite DaY et (c), (d).	99
Figure III.15 : micrographies d'un dépôt de zéolite DaY.	100
Figure III.16 : formule semi-développée du PDMS.....	101
Figure III.17 : micrographies de l'intérieur de la micro-colonne chromatographique après dépôt de la phase stationnaire (PDMS).	102
	105

Figure III.18 : liaisons hydrogènes entre le couche de silice et le PDMS [9]. 102
Figure III.19 : spectre infrarouge du témoin après polymérisation et séchage..... 103

8 Listes des tableaux

Tableau III.1 : paramètres physiques utilisés pour les calculs de simulation numérique... 84
Tableau III.2 : grandeurs physiques du silicium et du pyrex nécessaires pour la simulation thermique..... 91
Tableau III.3 : masse d'adsorbant déposée dans la cavité de la version monocanal du micro-préconcentrateur..... 100

9 Bibliographie

- [1] Y. Mohsen, H. Lahlou, J. B. Sanchez, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, and J. P. Bellat, "Development of a micro-analytical prototype for selective trace detection of orthonitrotoluene," *Microchem. J.*, vol. 114, pp. 48–52, May 2014.
- [2] J. B. Sanchez, H. Lahlou, Y. Mohsen, X. Vilanova, F. Berger, and X. Correig, "Chromatographic air analyser microsystem for the selective and sensitive detection of atmospheric pollutants," *J. Phys. Conf. Ser.*, vol. 307, no. 1, p. 012053, 2011.
- [3] J. B. Sanchez, A. Schmitt, F. Berger, and C. Mavon, "Silicon-Micromachined Gas Chromatographic Columns for the Development of Portable Detection Device," *journal of sensors*, vol. 2010, 2010.
- [4] H. Lahlou, J. B. Sanchez, X. Vilanova, F. Berger, X. Correig, V. Fierro, and A. Celzard, "Towards a GC-based microsystem for benzene and 1,3 butadiene detection: Pre-concentrator characterization," *Sens. Actuators B Chem.*, vol. 156, no. 2, pp. 680–688, 2011.
- [5] Y. Mohsen, "Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection sélective de traces d'un produit de dégradation du TNT dans l'atmosphère," Université de Franche-Comté, Besançon, 2013.
- [6] A. Bajtarevic, C. Ager, M. Pienz, M. Klieber, K. Schwarz, M. Ligor, T. Ligor, W. Filipiak, H. Denz, M. Fiegl, W. Hilbe, W. Weiss, P. Lukas, H. Jamnig, M. Hackl, A. Haidenberger, B. Buszewski, W. Miekisch, J. Schubert, and A. Amann, "Noninvasive detection of lung cancer by analysis of exhaled breath," *BMC Cancer*, vol. 9, no. 1, p. 348, 2009.
- [7] D. Poli, P. Carbognani, M. Corradi, M. Goldoni, O. Acampa, B. Balbi, L. Bianchi, M. Rusca, and A. Mutti, "Exhaled volatile organic compounds in patients with non-small cell lung cancer: cross sectional and nested short-term follow-up study," *Respir. Res.*, vol. 6, no. 1, pp. 1–10, 2005.
- [8] B. Buszewski, T. Ligor, T. Jezierski, A. Wenda-Piesik, M. Walczak, and J. Rudnicka, "Identification of volatile lung cancer markers by gas chromatography–mass spectrometry: comparison with discrimination by canines," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 404, no. 1, pp. 141–146, 2012.
- [9] J. Paquien, "Étude des propriétés rhéologiques et de l'état de dispersion de suspensions PDMS/silice," Institut National des Sciences Appliquées de Lyon, 2003.
- [10] D. Lin-Vien, N. Colthup, W. Fateley, and J. Grasselli, *The Handbook of Infrared and Raman Characteristic Frequencies of Organic Molecules*. Academic Press, 1991.

CHAPITRE IV. Caractérisation et évaluation des performances du microsysteme

1 Introduction

Les chapitres précédents ont permis d'une part, de caractériser et sélectionner un panel d'adsorbants pour préconcentrer les marqueurs chimiques du cancer du poumon et, d'autre part, de présenter les différentes unités intégrées sur silicium et constituant le système de détection. L'objectif de ce dernier chapitre est de caractériser les performances d'analyse de ce système pour la détection sélective des marqueurs du cancer du poumon.

Dans un premier temps, nous présenterons le banc de test spécialement développé pour évaluer les performances d'analyse du système. Puis, nous nous attacherons à déterminer les conditions expérimentales optimales d'utilisation du dispositif. En particulier, les conditions d'utilisation de la micro-colonne chromatographique seront étudiées afin d'identifier les paramètres optimaux pour éluer le mélange des cinq marqueurs chimiques du cancer du poumon (toluène, ortho-xylène, cyclohexane, propanol et benzaldéhyde). Ensuite, les paramètres expérimentaux liés à la phase de préconcentration seront déterminés. Cette étape permettra notamment de sélectionner définitivement le(s) meilleur(s) adsorbant(s) pour cette application. Finalement, nous évaluerons les performances d'analyse du système développé pour la détection des COV présents à de très faibles concentrations dans une haleine artificielle et en présence des interférents majeurs de l'haleine (H₂O et CO₂).

2 Présentation du banc de test

Afin d'évaluer les performances d'analyse du dispositif envisagé dans cette étude, il a été nécessaire de développer un banc de mesure spécifique. Ce banc est constitué de deux parties distinctes. Une première concerne la génération des COV marqueurs du cancer du poumon. La seconde constitue la partie analyse et détection de ces marqueurs. Chaque partie est détaillée dans les paragraphes suivants.

2.1 Génération des vapeurs des marqueurs chimiques du cancer du poumon

Les différents tests de caractérisation du système d'analyse imposent de générer des vapeurs de COV dont les concentrations sont proches de celles rencontrées dans l'haleine. Pour cette étude, les COV ont été générés en utilisant différents tubes à perméation positionnés dans des fours. Ce choix est particulièrement bien adapté lorsqu'il faut générer

simultanément plusieurs composés. Il permet entre autre de pouvoir s'affranchir de l'utilisation de bouteilles de gaz à la fois couteuses et encombrantes. Différents tubes à perméation ont été remplis par les composés chimiques purs à générer (Sigma Aldrich, pureté > 99,9 %). La figure IV.1 présente un exemple de tube à perméation rempli et scellé à l'aide de membranes poreuses.

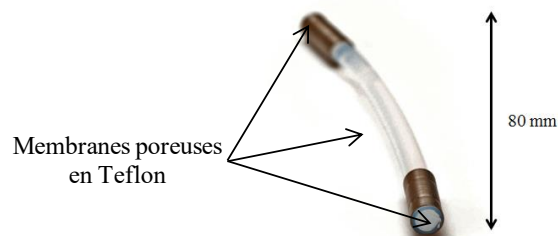


Figure IV.1 : photographie d'un tube à perméation contenant du toluène.

Les tubes sont ensuite positionnés dans des fours thermostatés et balayés par un gaz vecteur (air synthétique, 2% RH) afin d'entraîner les vapeurs des composés qui diffusent à travers les membranes. Avec notre équipement, la température du four est le seul paramètre ajustable qui permet de faire varier la concentration des vapeurs des COV dans le gaz vecteur. Afin de déterminer le taux de perméation à température constante et donc la concentration du composé, chaque tube contenant un composé cible a été étalonné par gravimétrie. Le suivi de la perte de masse du tube à perméation en fonction du temps permet alors de déterminer le taux de perméation et donc la concentration du composé dans le gaz vecteur en sortie du perméamètre. La figure IV.2 présente un exemple de la perte de masse d'un tube à perméation contenant du toluène en fonction du temps. Les courbes d'étalonnage des tubes à perméation contenant l'ortho-xylène, le cyclohexane, le propanol et le benzaldéhyde ainsi que le calcul permettant de déterminer leurs concentrations sont présentées sur l'annexe 1.

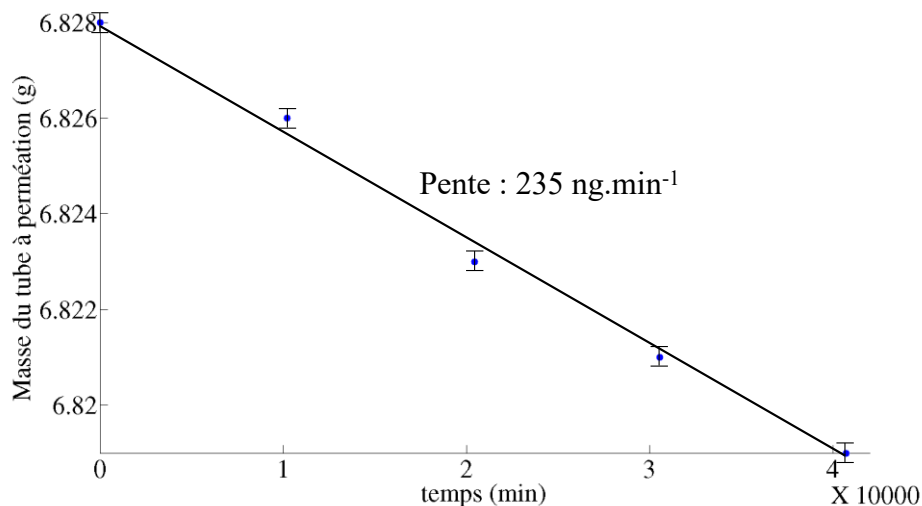


Figure IV.2 : suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant du toluène (35°C).

Le tableau IV.1 répertorie les concentrations générées des différents COV étudiés (toluène, o-xylène, benzaldéhyde, propan-1-ol et cyclohexane).

Tableau IV.1 : concentration des vapeurs de COV générées par perméation.

	Température du four (°C)	Taux de perméation (ng.min ⁻¹)	Concentrations générées (ppb)
Toluène	35	235	1080
O-xylène	35	56	220
Benzaldéhyde	50	148	620
Propan-1-ol	50	126	930
Cyclohexane	75	876	5030

En sortie de perméamètre, les différentes vapeurs de COV sont ensuite acheminées vers le système d'analyse constitué des différentes unités intégrées sur silicium et fabriquées en salle blanche. La partie suivante présente le couplage des différentes microstructures avec un capteur résistif.

2.2 Assemblage des différentes unités d'analyse

Afin de réaliser les tests visant à caractériser les performances d'analyse globale du système, le micro-préconcentrateur, la micro-colonne chromatographique et le micro-capteur résistif ont été couplés à l'aide d'une vanne d'injection 6 voies (Vici®) et de capillaires de silice (diamètre externe = 320 µm). Ce montage permet ainsi d'alterner des cycles de concentration des COV et d'injection de ces derniers dans la micro-colonne

chromatographique puis vers le micro-capteur. Ce type d'assemblage est similaire au fonctionnement général des chromatographes en phase gazeuse. La figure IV.2 présente le schéma du montage réalisé.

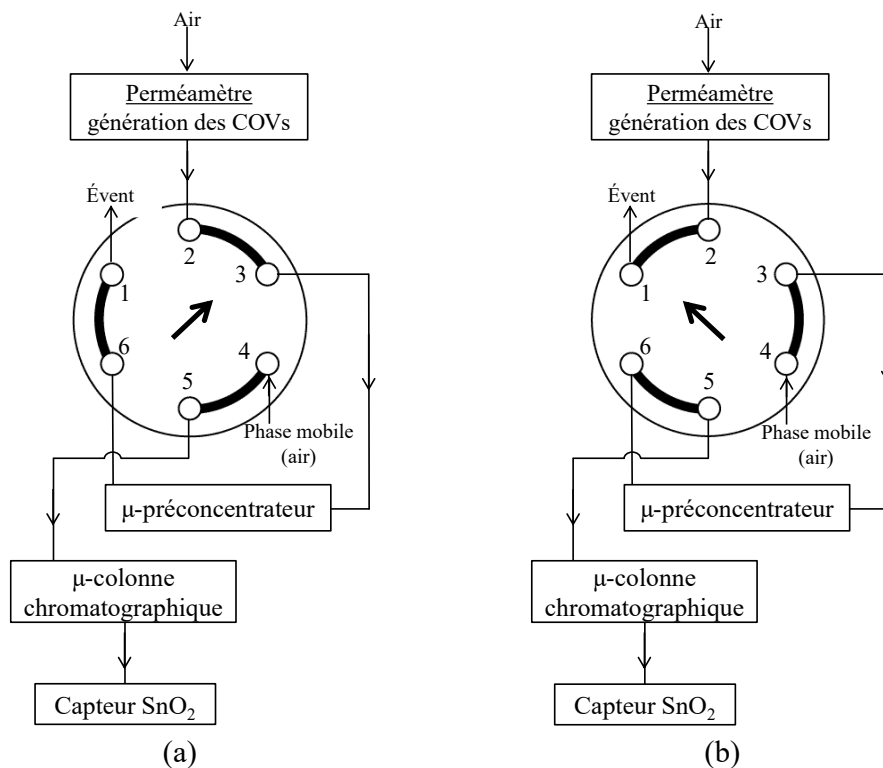


Figure IV.3 : schéma de fonctionnement du montage (a) en phase de concentration et (b) en phase d'injection.

La figure IV.3(a) montre l'étape de préconcentration lors de laquelle le gaz, chargé des COV, circule dans le micro-préconcentrateur contenant l'adsorbant. La figure IV.3(b) détaille la phase d'injection des COV dans la micro-colonne chromatographique afin de les séparer puis de les détecter par le capteur résistif placé en aval du système. Lors de cette deuxième étape, le micro-préconcentrateur est chauffé dans le but de désorber les vapeurs des COV en tête de la micro-colonne chromatographique. Le signal électrique du capteur est suivi et enregistré en fonction du temps à l'aide d'une carte d'acquisition MiCS-EK1. Le signal brut est ensuite normalisé (G/Go) afin de pouvoir comparer les réponses du capteur obtenues pour les différentes acquisitions.

Les conditions d'utilisation de ce système de détection ont été évaluées en observant un protocole rigoureux. Tout d'abord, les conditions d'élution et de séparation des différents COV dans la micro-colonne chromatographique ont été déterminées en absence d'adsorbant dans la cavité du micro-préconcentrateur. Cette première étape permettra également

d'évaluer les limites de détection du système sans adsorbant. À l'issue de cette étape, les paramètres propres à la phase de préconcentration ont été déterminés en veillant à ne faire varier qu'un seul paramètre à la fois. Chaque analyse a été effectuée trois fois afin de déterminer les incertitudes liées à chaque mesure. Ces différentes phases de calibration du système global sont présentées en détail dans les sections suivantes.

3 Évaluation des conditions d'élution dans la micro-colonne chromatographique

Les conditions d'élution des COV dans la micro-colonne chromatographique ont été déterminées en l'absence d'adsorbant au sein de la cavité du micro-préconcentrateur. Afin de repérer l'ordre d'élution de chaque COV sur les réponses électriques, les marqueurs ont été introduits progressivement dans le mélange à analyser. Lorsque les COV ont été identifiés sur les réponses, nous avons étudié l'influence des paramètres d'élution. Les deux paramètres ajustables sont la température de la micro-colonne chromatographique ainsi que le débit du gaz vecteur.

3.1 Influence de la température de la micro-colonne chromatographique

La température est un paramètre clé influençant fortement l'élution des composés chimiques au sein d'une colonne chromatographique [1]. Plusieurs modes d'élution (isotherme ou rampe de température) sont envisageables pour éluer les cinq COV en mélange. Tout d'abord, les analyses ont été réalisées en mode isotherme et à différentes températures. Le micro-préconcentrateur sans adsorbant, assimilable alors à une boucle d'échantillonnage, est balayé avec le mélange de COV pendant une durée de 2 minutes. Le mélange est ensuite injecté dans la micro-colonne chromatographique et la réponse électrique du capteur est enregistrée en fonction du temps. La figure IV.4 présente les différentes réponses électriques normalisées obtenues en mode isotherme.

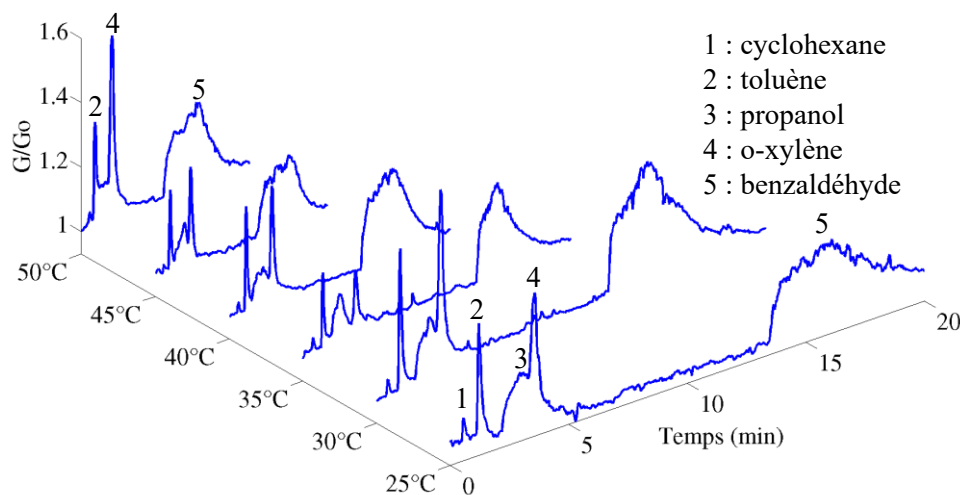


Figure IV.4 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) au débit de phase mobile de $7 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$ et à plusieurs températures de micro-colonne chromatographique (mode isotherme).

Ces différentes réponses électriques indiquent que la température de la micro-colonne chromatographique a une influence importante sur l'élution et la séparation du mélange de COV. Une augmentation de la température diminue le temps de rétention des COV et affine les différents pics de détection. Les pics de détection relatifs au cyclohexane, au toluène ainsi qu'à l'o-xylène sont bien résolus avec des largeurs à mi-hauteur n'excédant pas 30 secondes. En revanche, l'élution du propanol et du benzaldéhyde ne semble pas optimale en mode isotherme. Nous constatons en particulier que le propanol est mal séparé de l'o-xylène et du toluène. De plus, la largeur à mi-hauteur du pic de détection du benzaldéhyde est importante (environ 5 minutes). L'élution de ce composé semble être améliorée à une température de 50°C .

Pour optimiser l'élution, l'utilisation d'une rampe de température a été étudiée. En particulier, différentes vitesses de rampes de température ont été envisagées dans la gamme de température allant de 30°C à 50°C .

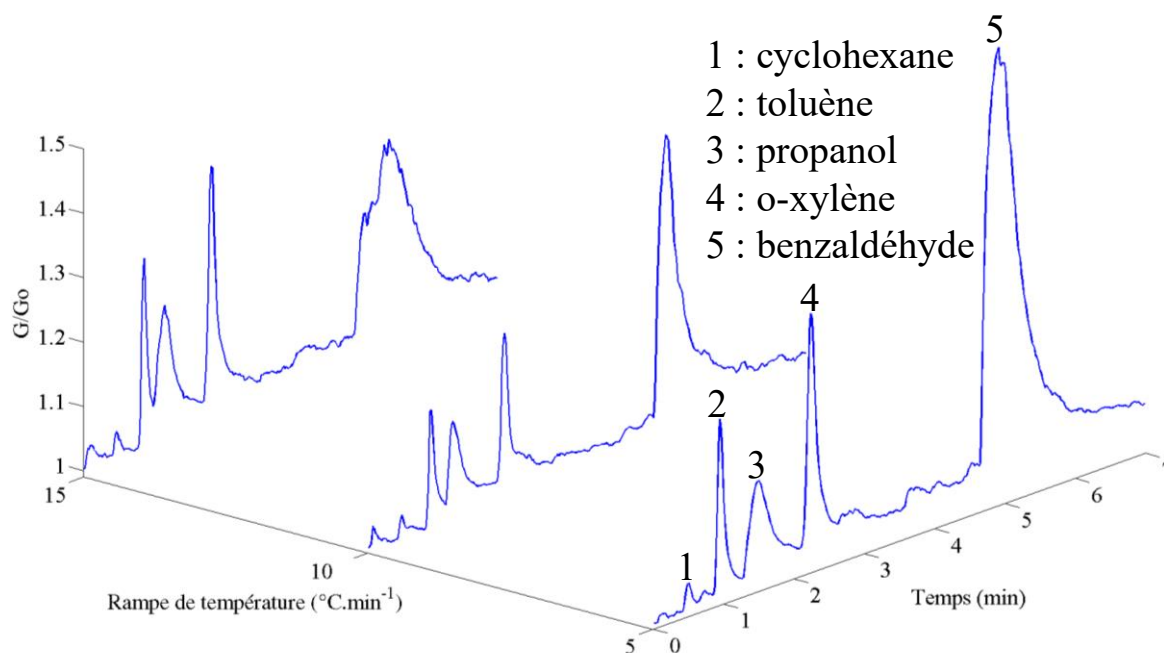


Figure IV.5 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) au débit de phase mobile de $7 \text{ mL}.\text{min}^{-1}$ en appliquant des rampes de température de la micro-colonne chromatographique de 30°C à 50°C .

L'application d'une rampe de température améliore nettement l'élution des cinq composés chimiques marqueurs du cancer du poumon. Une rampe de température de $5^{\circ}\text{C}.\text{min}^{-1}$ permet d'optimiser l'élution du propanol et du benzaldéhyde. En effet, dans ces conditions, le propanol est séparé du toluène et le pic de détection relatif au benzaldéhyde est plus fin et intense par rapport aux expériences réalisées en mode isotherme.

Après avoir déterminé le mode d'élution des COV, l'influence du débit du gaz vecteur dans la micro-colonne chromatographique a été étudiée. Ces expériences sont présentées dans la sous-partie suivante.

3.2 Influence du débit de la phase mobile

Le débit de la phase mobile est le deuxième paramètre clé gouvernant l'élution d'un mélange de gaz ou de vapeurs à travers une colonne chromatographique. La figure IV.6 présente les réponses électriques obtenues lors de l'analyse du mélange de COV en fonction du débit et en conservant le mode rampe de température.

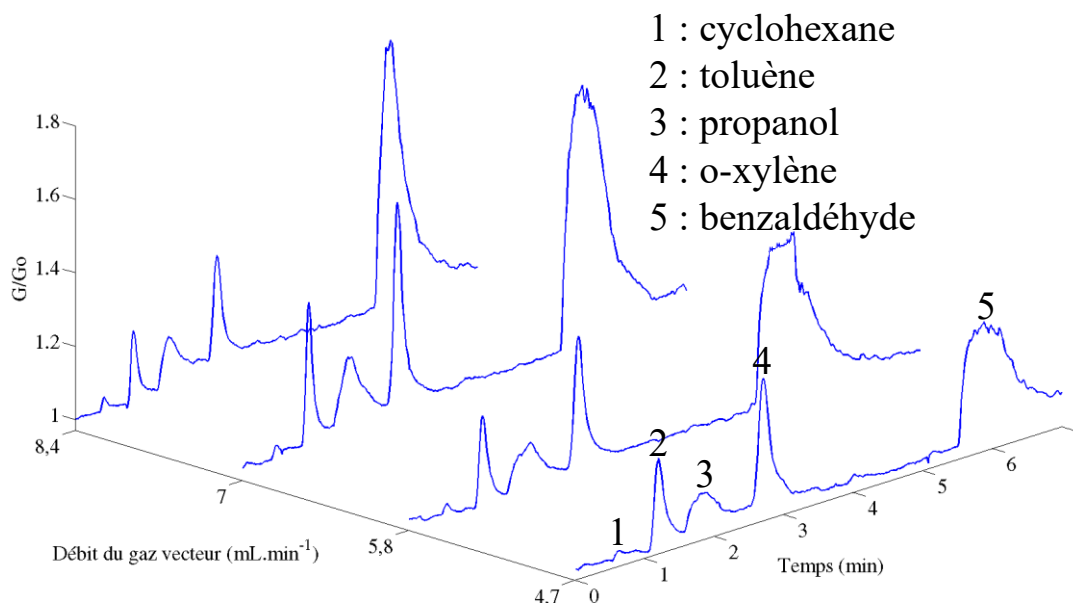


Figure IV.6 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) en effectuant des rampes de température de la colonne chromatographique de 30°C à 50°C (5°C.min⁻¹) à différents débits de la phase mobile.

Afin de préserver les connections fluidiques de la micro-colonne chromatographique notamment lorsque sa température est proche de 50°C, nous avons décidé de limiter les expériences à un débit de 8,4 mL.min⁻¹ (correspondant à une pression d'entrée de 25 psi). Nous constatons que lorsque le débit du gaz vecteur augmente jusqu'à 7 mL.min⁻¹, les pics de détection des COV deviennent fins et intenses. Un débit de gaz vecteur de 7 mL.min⁻¹ apparaît être la configuration optimale pour l'élution du mélange. Au-delà de cette valeur, l'amplitude des pics de détection diminue. Cette valeur permet de séparer tous les constituants du mélange correctement. Notons également que la phase stationnaire de PDMS déposée sur les parois internes de la micro-colonne chromatographique apparaît être adaptée pour éluer et séparer le mélange des cinq composés organiques volatils.

3.3 Synthèse sur les conditions d'élution

Dans cette première partie, nous avons déterminé les conditions optimales d'élution et de séparation du mélange des cinq COV en utilisant le micro-préconcentrateur comme une simple boucle d'échantillonnage. Le tableau IV.2 résume ces conditions d'élution dans la micro-colonne chromatographique.

Tableau IV.2 : tableau récapitulatif des conditions optimales d'élution du mélange gazeux de cyclohexane, toluène, propanol, o-xylène et de benzaldéhyde.

Température de colonne		Vitesse de la rampe de température	Débit de la phase mobile (pression d'entrée correspondante)
Initiale	Finale		
30°C	50°C	5°C.min ⁻¹	7 mL.min ⁻¹ (23 psi)

Ces paramètres ont été conservés pour la suite des analyses. Avant d'étudier les performances du micro-préconcentrateur, nous avons évalué la limite de détection du dispositif sans adsorbant pour l'analyse du mélange des cinq marqueurs chimiques du cancer. Ce point fait l'objet de la sous-partie suivante.

3.4 Limite de détection du système sans adsorbant

La limite de détection du dispositif pour l'analyse du mélange de COV a été déterminée lorsque la cavité du micro-préconcentrateur est vide. La microcavité vide est balayée pendant deux minutes avec le mélange des cinq COV. Les vapeurs contenues dans ce volume sont ensuite introduites dans la micro-colonne chromatographique à l'aide de la vanne 6 voies.

Plusieurs dilutions successives ont été réalisées en mélangeant au flux d'air contenant les COV un deuxième flux d'air calibré. Une fuite a été réalisée afin de conserver un débit de gaz de charge constant dans la cavité égal à 50 mL.min⁻¹ (cf. figure IV.3). La figure IV.7 présente les amplitudes normalisées de chaque COV lorsque le mélange est dilué progressivement.

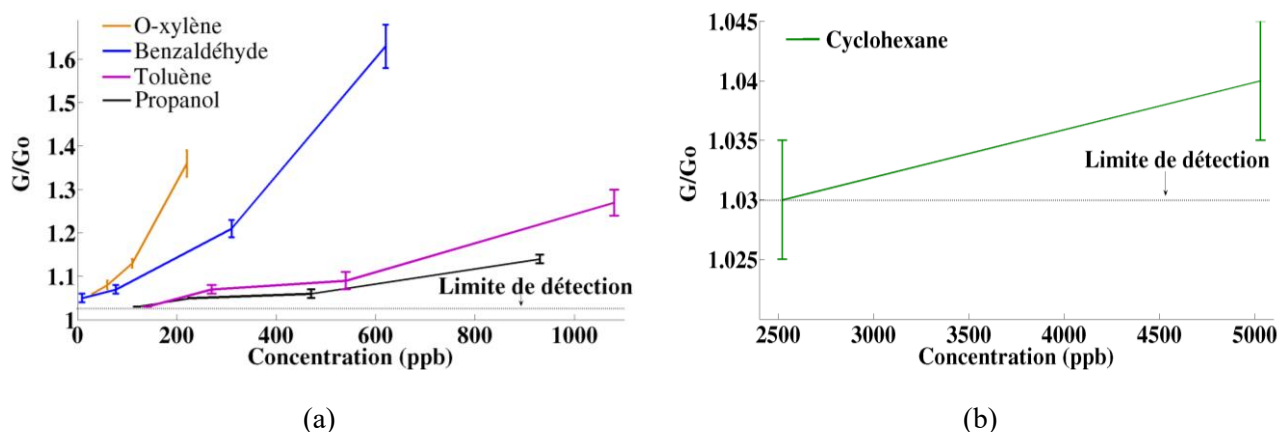


Figure IV.7 : amplitude des pics de détection normalisés lors de l'analyse du mélange de cyclohexane, de toluène, de propanol, d'o-xylène et de benzaldéhyde à en fonction de la concentration des COV dans les conditions optimales d'élutions.

La valeur de la limite de détection de chacun des COV est évaluée lorsque le signal électrique est supérieur à 3 fois le bruit de fond (3σ). Dans ces conditions expérimentales, le bruit de fond normalisé a été évalué à $0,01 \mu\text{S}$ soit $3\sigma = 0,03 \mu\text{S}$. Le tableau IV.3 rassemble les limites de détection de chaque COV contenu dans le mélange avec la valeur du facteur de dilution associé.

Tableau IV.3 : limites de détection de chaque COV dans le mélange en l'absence d'adsorbant dans le micro-préconcentrateur.

	Limite de détection (ppb)	Facteur de dilution associé
Cyclohexane	2515	2
Toluène	270	4
Propanol	232	4
O-xylène	28	8
Benzaldéhyde	77	8

Les limites de détections du système atteintes sans adsorbant sont globalement comprises entre la dizaine de ppb et la centaine de ppb. Seul le cyclohexane possède une limite de détection élevée. Même si ces valeurs sont supérieures aux concentrations observées dans l'haleines des patients malades Ces premiers résultats sont encourageants pour détecter les marqueurs du cancer du poumon lorsque le système intégrera un adsorbant dans la cavité du micro-préconcentrateur.

La suite de ce travail consiste à optimiser les conditions d'adsorption et de désorption des COV lorsqu'un adsorbant est introduit dans la cavité du micro-préconcentrateur.

4 Évaluation des conditions d'adsorption et de désorption des COV

Cette partie s'attache à déterminer les performances d'analyse du système lorsqu'un adsorbant est introduit dans la cavité du micro-préconcentrateur. Les tests ont été réalisés dans un premier temps uniquement avec le toluène afin de calibrer les conditions expérimentales. Cette phase de calibration permettra en outre de sélectionner définitivement le(s) adsorbant(s) qui présentera(ont) les meilleures capacités de préconcentration du toluène. Cet adsorbant sera ensuite étudié en présence de tous les marqueurs chimiques du cancer du poumon. Lors de ces expériences, le gaz chargé des COV a été dilué par deux afin de ne pas saturer la réponse électrique du capteur.

Les premiers tests ont concerné l'utilisation de la zéolite DaY dans le micro-préconcentrateur. L'étude des autres adsorbants sera réalisée à la suite de cette partie.

4.1 Étude de la zéolite DaY

4.1.1 Test préliminaire

Afin de s'assurer du bon fonctionnement du système d'analyse (cf. fig IV.3), un test préliminaire de concentration et de détection du toluène a été effectué. Dans ce cas, du toluène (540 ppb) au débit calibré de $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ a circulé dans le micro-préconcentrateur contenant la zéolite DaY pendant deux minutes (mode remplissage). À la suite de cette phase de concentration, la vanne est positionnée en mode injection et le micro-préconcentrateur est chauffé à 200°C pendant deux minutes. Le but ici est de désorber les molécules de toluène en tête de la micro-colonne chromatographique afin d'éluer le toluène avant qu'il soit détecté par le capteur résistif. La figure IV.8 présente la réponse électrique du capteur obtenue dans cette configuration expérimentale

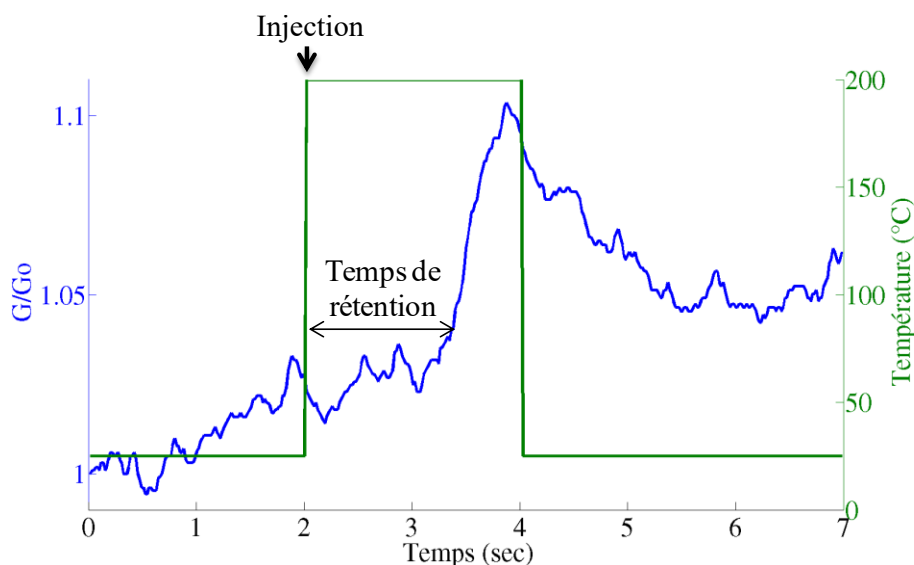


Figure IV.8 : détection du toluène (540 ppb) après une durée de 2 minutes d'adsorption suivie d'une étape de chauffe du micro-préconcentrateur (2 minutes, 200°C).

L'analyse de cette réponse électrique permet de dresser plusieurs constats. Tout d'abord, le pic de détection du toluène est très large (environ 3 minutes) ce qui peut s'avérer problématique lorsqu'il y aura plusieurs COV à séparer puis à détecter. Ceci s'explique du fait que, en mode injection, le préconcentrateur est balayé par le gaz vecteur et donc les vapeurs désorbées sont injectées en continue dans la micro-colonne chromatographique. Dans cette configuration expérimentale, le signal est dépendant du temps de chauffe du

préconcentrateur. Par ailleurs, l'amplitude du pic de détection mesuré est très faible et ne permet pas de mettre en avant un phénomène de préconcentration dans la structure poreuse de l'adsorbant. Cet effet est de nouveau attribué à la désorption non-instantanée du toluène.

La désorption dynamique sous flux de gaz vecteur apparaît donc inadaptée pour la préconcentration des COV. Ces premières constatations nous ont alors obligés à modifier la configuration du système dans le but de mieux gérer la phase d'injection des vapeurs désorbées de l'adsorbant.

4.1.2 Évolution du montage expérimental

L'utilisation actuelle du système n'a pas permis d'observer un effet de préconcentration efficace. Une nouvelle configuration expérimentale a alors été imaginée afin de pouvoir injecter les vapeurs désorbées en une seule fois dans la micro-colonne chromatographique et donc de s'affranchir d'un phénomène d'injection en continue. L'idée exploitée ici est de positionner le micro-préconcentrateur en amont de la vanne 6 voies. Le schéma et les séquences du nouveau montage sont présentés sur la figure IV.9.

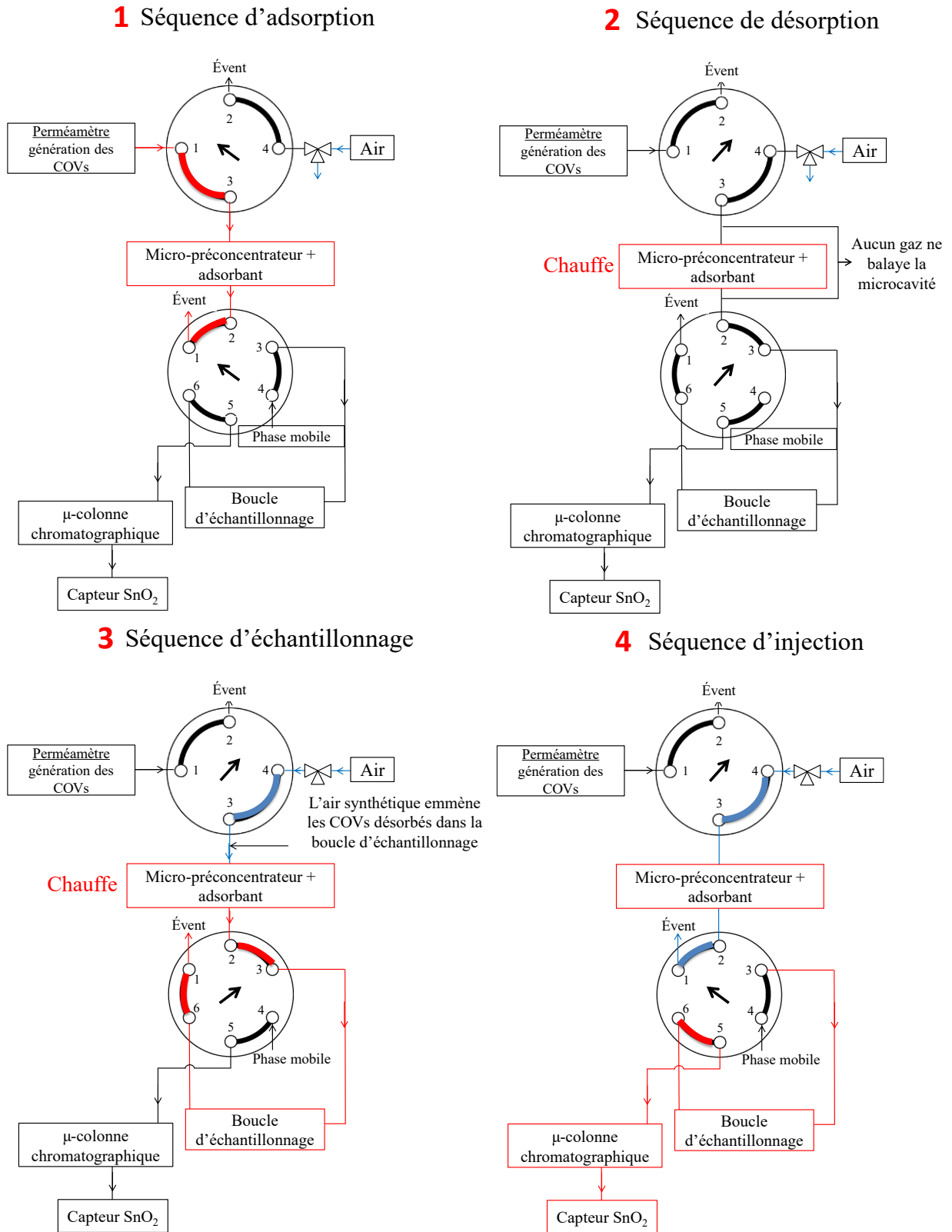


Figure IV.9 : schéma et séquences de la nouvelle configuration expérimentale.

Séquence 1 : adsorption des COV.

Les COV issus du four à perméation circulent dans le micro-préconcentrateur rempli d'adsorbant. Ce dernier est maintenu à température ambiante pendant la phase d'adsorption.

Séquence 2 : désorption des COV.

La phase de désorption consiste à désorber les COV en imposant une température élevée au niveau du micro-préconcentrateur. Les COV sont alors désorbés dans le volume de la microcavité.

Séquence 3 : remplissage de la boucle d'échantillonnage.

Cette séquence permet d'acheminer les vapeurs désorbées vers la boucle d'échantillonnage (volume 50 μL) de la vanne six voies à l'aide d'un flux d'air.

Séquence 4 : injection.

Les vapeurs contenues dans la boucle d'échantillonnage sont injectées dans la micro-colonne chromatographique par simple commutation de la vanne six voies afin d'être séparées puis détectées par le capteur résistif à base de SnO_2 .

Cette nouvelle configuration expérimentale a été testée afin de valider l'enchaînement des différentes séquences mentionnées ci-dessus. Les conditions expérimentales pour ce test de validation sont les suivantes :

- Adsorption du toluène (540 ppb) à 50 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ pendant 5 minutes (séquence 1),
- Chauffage du préconcentrateur à 200°C (séquence 2),
- Acheminement des vapeurs désorbées par un débit d'air échantillonnage de 15 $\text{mL}\cdot\text{min}^{-1}$ (séquence 3),
- Injection des vapeurs désorbées au bout de 30 secondes (séquence 4).

La réponse électrique du capteur dans cette configuration expérimentale est présentée sur la figure IV.10.

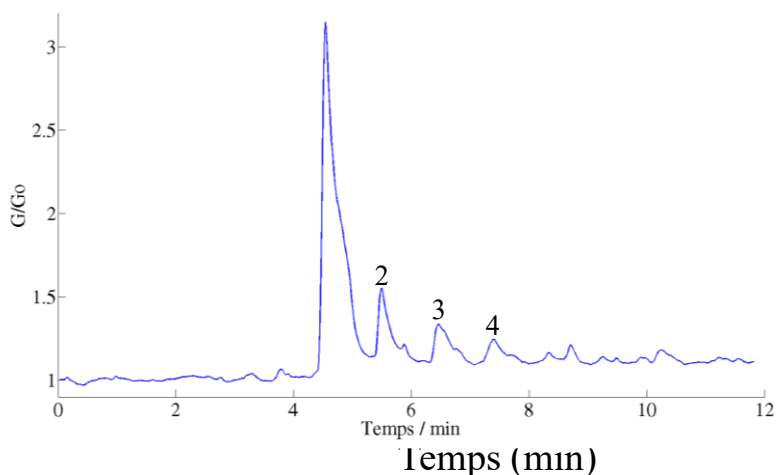


Figure IV.10 : détection de 540 ppb de toluène à l'aide de la nouvelle configuration expérimentale.

La réponse électrique de la figure IV.10 montre de réelles améliorations lorsque le micro-préconcentrateur est positionné en amont de la vanne six voies. En effet, avec cette configuration, il est possible d'injecter les vapeurs concentrées en tête de la micro-colonne chromatographique en une seule fois ce qui permet d'observer un effet de préconcentration des vapeurs par rapport aux tests réalisés sans adsorbant. Le signal observé ici est vingt fois supérieur à celui obtenu sans adsorbant.

Il est également important de souligner que le pic de détection obtenu présente une allure comparable à un pic chromatographique avec une faible largeur à mi-hauteur. De plus, le temps de rétention du toluène (78 secondes) est conservé. Cette méthode d'échantillonnage semble donc convenir pour la préconcentration, l'élution et la détection des COV

Toutefois, cette nouvelle configuration implique d'optimiser un certain nombre de paramètres afin d'accroître les performances d'analyse du dispositif. Une attention particulière doit être portée sur :

- Le temps de désorption,
- La température de désorption,
- Le débit d'échantillonnage des vapeurs,
- La durée de l'échantillonnage des vapeurs (temps pour acheminer les vapeurs désorbées du micro-préconcentrateur jusqu'à la boucle d'échantillonnage).

Pour des raisons de contraintes expérimentales, le débit d'adsorption a été fixé à 50 mL.min⁻¹. Pour toutes les expériences, le temps d'adsorption quant à lui a été fixé à 5 minutes dans un premier temps. Il sera modifié ultérieurement.

Les paragraphes suivants présentent les différentes expériences menées pour déterminer les conditions d'analyse optimales. Cette phase d'optimisation est réalisée à l'aide du composé de référence : le toluène.

4.1.3 Calibration des conditions expérimentales

La configuration actuelle du dispositif impose d'étudier plusieurs paramètres expérimentaux afin d'optimiser les analyses. Chaque paramètre a été calibré indépendamment afin d'observer uniquement leurs influences respectives sur les performances d'analyse du système. Le premier paramètre étudié est le débit d'air utilisé pour acheminer les vapeurs désorbées dans la boucle d'échantillonnage.

4.1.3.1 Influence du débit d'échantillonnage des vapeurs

Quatre valeurs de débit ont été étudiées (séquence 3). Du toluène (540 ppb) a été injecté pendant 5 minutes dans le micro-préconcentrateur contenant la zéolite DaY. Puis, le micro-préconcentrateur a été chauffé pendant 4 minutes à 200°C pour désorber le toluène. À l'issue de ce temps de désorption, plusieurs débits d'air ont été étudiés (2, 5, 15 et 30 mL.min⁻¹) pour acheminer les vapeurs dans la boucle d'échantillonnage. Des cycles de remplissage et d'injection des vapeurs ont été réalisés toutes les 30 secondes afin de suivre l'évolution du signal pour des injections successives. Les réponses électriques issues de ces expériences sont présentées sur la figure IV.11.

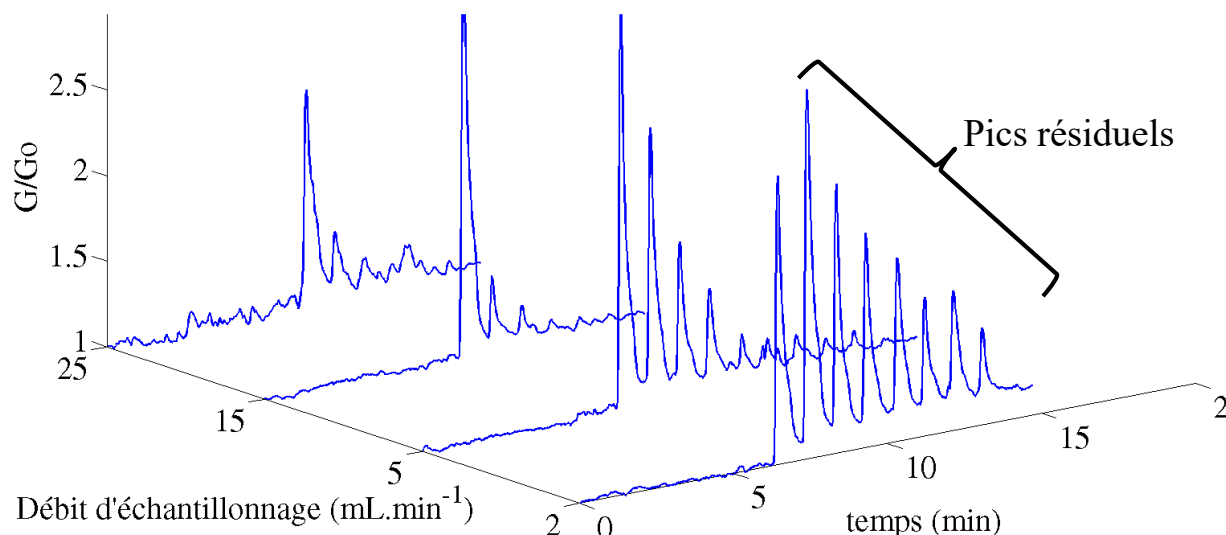


Figure IV.11 : influence du débit d'air pour l'échantillonnage des vapeurs de toluène issues du micro-préconcentrateur sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb) et une température de chauffe de 200°C pendant 4 minutes.

Les réponses électriques obtenues montrent que le débit de remplissage de la boucle d'échantillonnage influe sur l'allure et l'amplitude des pics de détection du toluène. Nous constatons qu'il faut plusieurs cycles de remplissage et d'injection pour vider totalement le préconcentrateur du toluène piégé dans la structure poreuse de s'adsorbant. Dans le cas particulier de cette étude, il faut identifier le débit qui permet d'obtenir à la fois l'amplitude du pic de détection le plus intense après la première injection et également très peu de pics résiduels. C'est en particulier ce qui est obtenu pour un débit de 15 mL.min⁻¹. Ce paramètre est donc fixé pour le reste des expérimentations à 15 mL.min⁻¹.

Le paragraphe suivant présente l'influence du temps de désorption sur les performances d'analyse du système.

4.1.3.2 Influence du temps de désorption

Le deuxième paramètre ajustable étudié est le temps de désorption (séquence 2). Plusieurs temps de désorption compris entre 1 et 6 minutes ont été étudiés en maintenant les autres paramètres fixes. Les vapeurs de toluène (540 ppb) ont été injectées pendant 5 minutes dans le micro-préconcentrateur contenant la zéolite DaY. Puis, le préconcentrateur a été chauffé à 200°C pendant différents temps pour désorber le toluène. Pour finir, les vapeurs concentrées ont été acheminées avec de l'air (15 mL.min⁻¹) dans la boucle d'échantillonnage et le volume a été injecté dans la micro-colonne après 30 secondes. Les amplitudes normalisées du premier pic de détection sont présentées sur la figure IV.12.

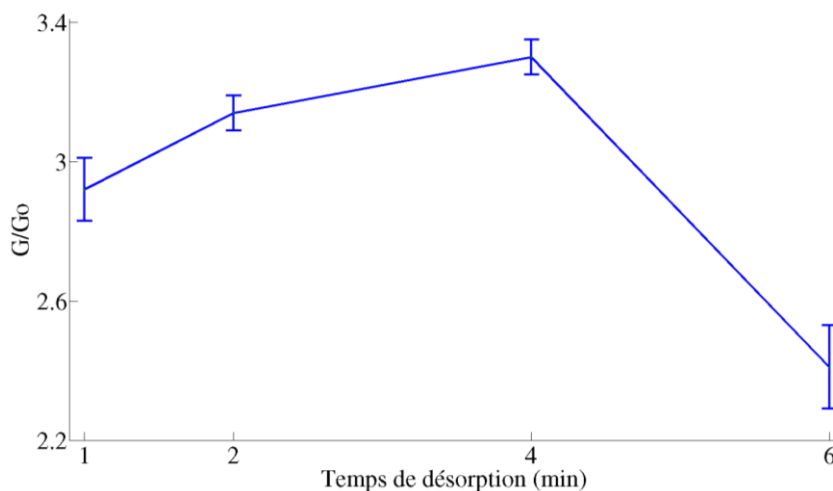


Figure IV.12 : étude du temps de désorption sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène -540 ppb et 4 minutes de désorption à 200°C.

Nous constatons un effet du temps de désorption sur l'amplitude du premier pic de détection du toluène. Une durée de désorption de 4 minutes à 200°C semble être la valeur permettant d'obtenir l'amplitude du signal la plus importante. Au-delà de 4 minutes de chauffe, l'amplitude du signal diminue brutalement. Nous avons attribué cela au fait qu'une partie du toluène est évacuée en dehors de la bouche d'échantillonnage qui est relié à l'évent en position de charge. Une durée de désorption de 4 minutes sera donc conservée pour la suite des expériences.

4.1.3.3 Influence de la température de désorption

Le troisième paramètre ajustable est la température de désorption. Plusieurs températures de désorption comprises entre 115°C et 250 °C ont été étudiées. Les températures supérieures à 250°C n'ont pas été étudiées ici afin de ne pas dégrader le micro-préconcentrateur. Un débit de 50 mL.min⁻¹ de toluène (540 ppb) a été injecté dans le micro-préconcentrateur pendant 5 minutes. Puis, à l'issue de l'étape de chauffe d'une durée de 4 minutes, de l'air (15 mL.min⁻¹) a été introduit dans le préconcentrateur afin d'acheminer les vapeurs désorbées dans la boucle d'échantillonnage avant d'être injectées au bout de 30 secondes dans la micro-colonne chromatographique. Les résultats des différents tests sont présentés sur la figure IV.13.

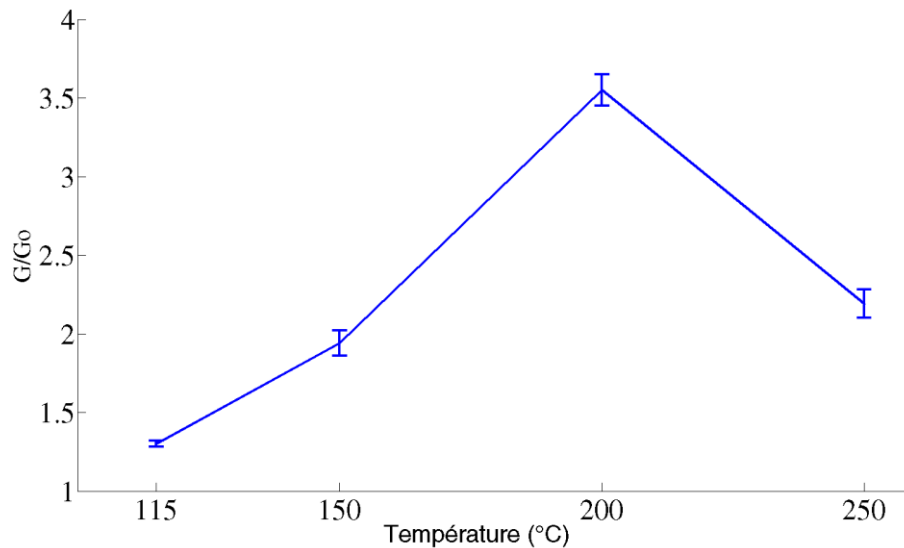


Figure IV.13 : influence de la température de désorption du micro-préconcentrateur sur les performances d'analyse après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb / 50 mL.min⁻¹) suivie de l'étape de chauffe de 4 minutes et de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air (15 mL.min⁻¹).

Les températures inférieures à 200°C ne permettent pas d'obtenir des pics de détection suffisamment intenses. En revanche, une température du préconcentrateur égale à 200°C permet d'obtenir des signaux électriques relatifs à la détection du toluène très intense. Toutefois, les tests réalisés à 250°C présentent un pic de détection de plus faible intensité qu'à 200°C. En effet, à cette température, une partie importante de la quantité de toluène désorbé est évacuée à l'évent avant l'injection dans la micro-colonne. Néanmoins, nous avons décidé de conserver ces deux dernières valeurs de température afin d'étudier l'influence de la durée d'échantillonnage sur les performances de détection du système. L'optimisation de ce dernier paramètre est présentée dans le paragraphe suivant.

4.1.3.4 Influence de la durée de l'échantillonnage

La durée d'échantillonnage, qui correspond au temps nécessaire pour remplir la boucle d'échantillonnage a également été étudiée. La figure IV.14 présente les amplitudes normalisées des pics de détection du toluène obtenus pour trois temps d'échantillonnage différents à une température de désorption de 200°C et de 250°C.

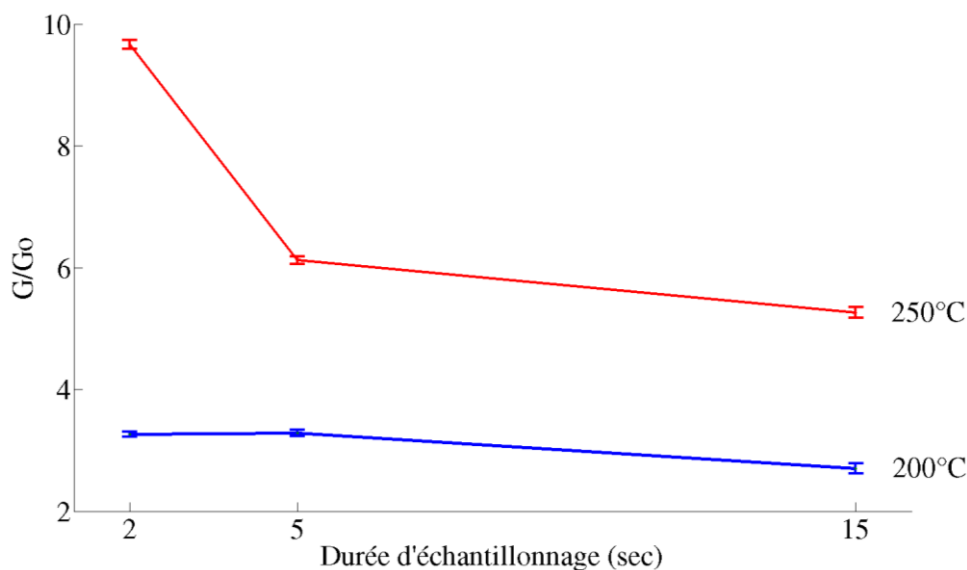


Figure IV.14 : influence de la durée d'échantillonnage des vapeurs sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb / 50 mL.min⁻¹) suivie de l'étape de désorption de 4 minutes (à 200°C et 250°C) puis de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air (15 mL.min⁻¹).

Les tests réalisés à la température de désorption de 200°C ne montrent qu'une très faible influence de la durée d'échantillonnage sur l'amplitude du premier pic de détection du toluène. Nous avons attribué cela à la température de chauffe qui est probablement insuffisante ce qui implique que le toluène est désorbé de façon continue au cours de cette période d'échantillonnage.

À l'inverse, une température de désorption de 250°C augmente considérablement l'amplitude du pic de détection de ce marqueur chimique. Dans ce cas, réaliser l'injection des vapeurs deux secondes après avoir débuté le balayage du micro-préconcentrateur par l'air d'échantillonnage permet d'injecter une grande quantité de toluène dans la micro-colonne chromatographique. Ces expériences permettent alors de valider l'utilisation du dispositif lorsque la chauffe du préconcentrateur est de 250°C et que la durée d'échantillonnage est fixée à 2 secondes.

4.1.3.5 Synthèse sur les conditions optimales du dispositif

Les différentes phases expérimentales précédentes ont permis de déterminer les conditions optimales d'utilisation de la plate-forme micro-fluidique pour détecter le toluène. Les conditions optimales liées aux étapes d'élution et de préconcentration sont répertoriées dans le tableau IV.4.

Tableau IV.4 : résumé des conditions optimales d'utilisation de la plate-forme micro-fluidique pour l'analyse du toluène avec la zéolite DaY.

Élution (micro-colonne)		Préconcentration (micro-préconcentrateur)			
Température	Débit	Température	Temps	Débit d'échantillonnage	Durée d'échantillonnage
Rampe de 30°C à 50°C (5°C/min)	7 mL.min ⁻¹ (23 psi)	250°C	4 minutes	15 mL.min ⁻¹	2 secondes

Avec ces paramètres, l'amplitude du pic de détection en présence de la zéolite DaY est beaucoup plus intense par rapport au pic sans adsorbant. Le temps de rétention du toluène reste inchangé (78 secondes) et la largeur à mi-hauteur est faible (12 secondes) ce qui s'avère être beaucoup plus adapté à l'élution de composés chimiques à travers une colonne chromatographique. La figure suivante IV.15 illustre la détection de 540 ppb de toluène avec et sans zéolite DaY dans les conditions optimales d'utilisation du système déterminées précédemment.

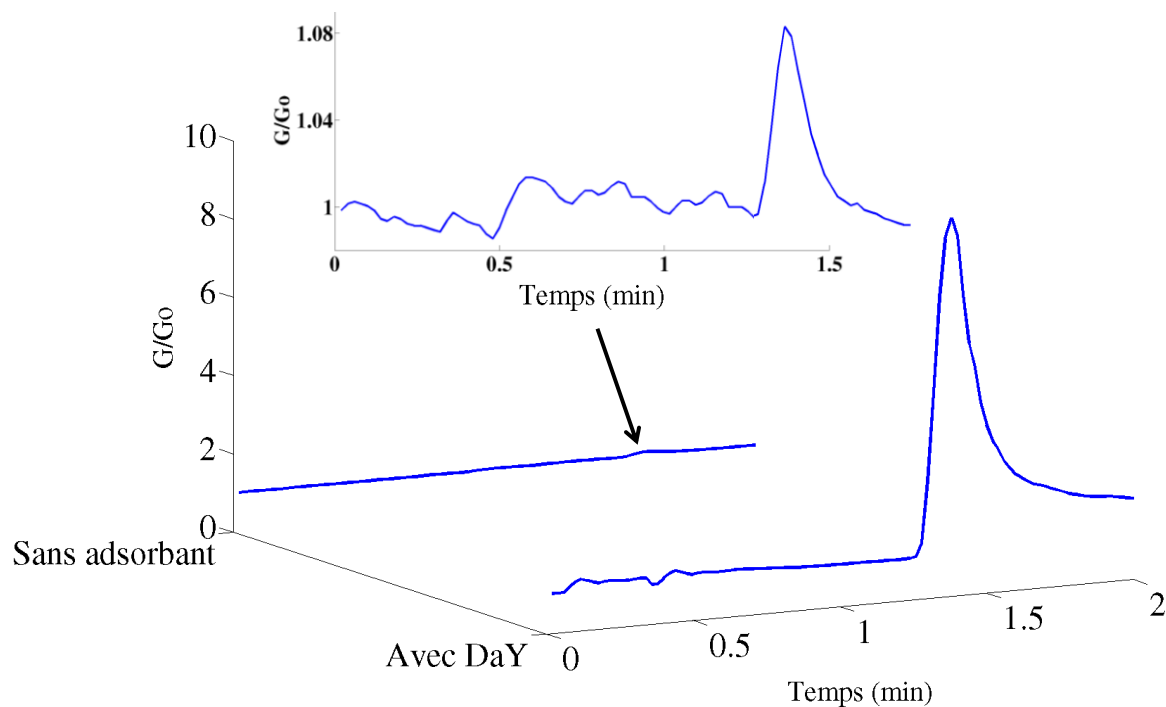


Figure IV.15 : signal électrique pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans zéolite DaY dans les conditions expérimentales optimales du micro-chromatographe en phase gazeuse.

Les résultats peuvent également être exprimés en termes de facteur de concentration (FC) afin de faciliter la comparaison avec les autres adsorbants dont les masses déposées dans les microcavités ne sont pas identiques. Le facteur de concentration normalisé peut être défini par le rapport entre l'amplitude des pics de détection avec et sans adsorbant divisé par la masse d'adsorbant [2].

$$FC = \frac{\text{Amplitude du signal avec adsorbant}}{\text{Amplitude sur signal sans adsorbant} * \text{masse de l'adsorbant}}$$

Dans le cas de la zéolite DaY, un facteur de concentration de 16,86 par mg d'adsorbant déposé est obtenu. Au vue de ces résultats, la zéolite DaY apparait être un bon candidat en tant que matériau adsorbant pour la préconcentration du toluène. En effet, l'utilisation de ce matériau permet d'augmenter de manière significative l'amplitude des pics de détection ce qui indique un phénomène de préconcentration efficace.

Avant d'étudier en détail les réponses électriques du système en présence des autres marqueurs du cancer du poumon, nous avons souhaité étudier les deux autres adsorbants identifiés pour l'analyse du toluène afin de sélectionner le(s) plus efficace(s) pour la préconcentration des marqueurs chimiques. Dans un souci de clarté de présentation des résultats, les différentes phases d'optimisation des paramètres ne seront pas autant détaillées que dans le cas de la zéolite DaY. En effet, certains paramètres ajustables ont été fixés. C'est notamment le cas de la température de désorption (250°C) et du débit d'échantillonnage maintenu à 15 mL.min⁻¹.

4.2 Étude de la zéolite NaY

Les premiers tests présentés sur la figure IV.16 concernent l'étude de l'influence du temps de désorption sur l'amplitude normalisé du pic de détection du toluène. Ces expériences ont été réalisées avec un débit d'adsorption de 50 mL.min⁻¹ de toluène (540 ppb) et une durée d'échantillonnage de 2 secondes.

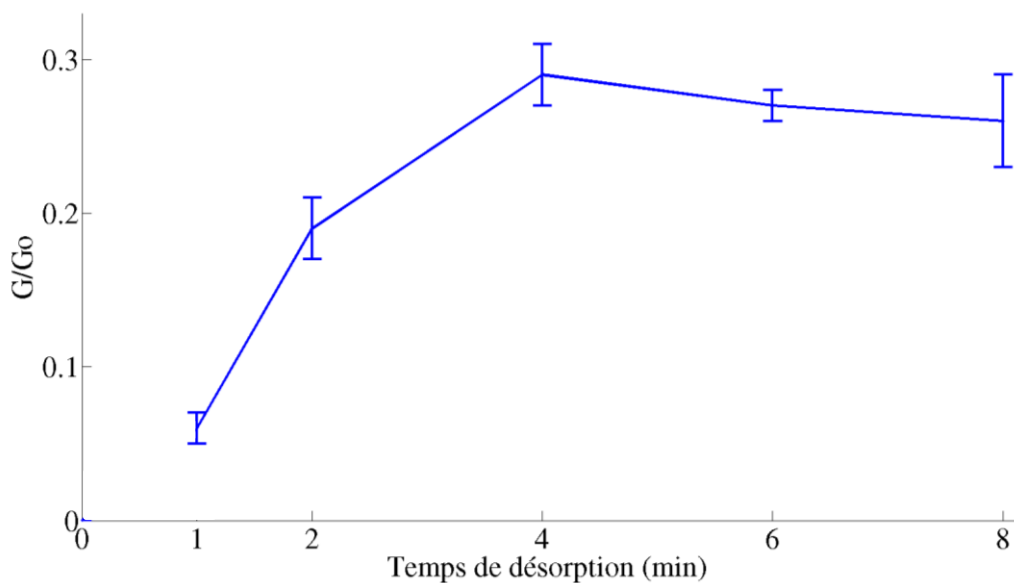


Figure IV.16 : influence du temps de désorption sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption du toluène ($540 \text{ ppb} / 50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) suivie de l'étape de désorption à 250°C et de la phase d'échantillonnage des vapeurs après un temps de 2 secondes par de l'air ($15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

De manière similaire à la zéolite DaY, l'amplitude du pic de détection du toluène atteint un maximum pour un temps de désorption de 4 minutes. Toutefois, nous constatons que les valeurs des amplitudes normalisées sont nettement plus faibles que pour la zéolite DaY (0,3 contre 8,6 pour la zéolite DaY). Le deuxième paramètre étudié ici est la durée d'échantillonnage des vapeurs de toluène.

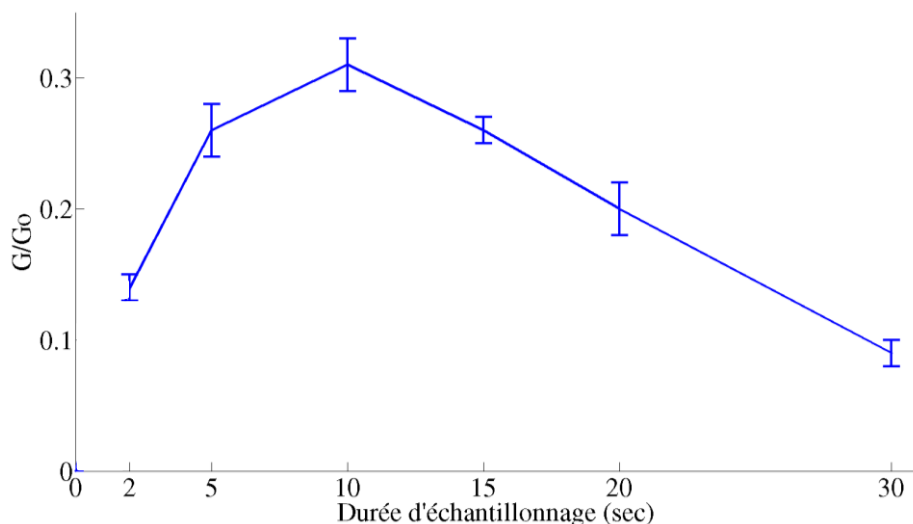


Figure IV.17 : influence de la durée d'échantillonnage sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption du toluène ($540 \text{ ppb} / 50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$) suivie de l'étape de désorption de 4 minutes à 250°C et de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air ($15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$).

La figure IV.17 indique qu'une durée d'échantillonnage de 10 secondes est optimale pour l'analyse du toluène à l'aide de la zéolite NaY. La différence observée avec la zéolite DaY s'explique par le fait que le toluène est plus fortement retenu au sein de la structure poreuse de cet adsorbant (NaY) et donc il faut plus de temps pour désorber cette molécule. Il faut également noter que les amplitudes du pic de détection sont faibles comparées avec les amplitudes observées avec la zéolite DaY. Par ailleurs, les conditions optimales ne diffèrent pas ou très peu de celles évaluées pour la zéolite DaY. La figure IV.18 compare deux signaux électriques obtenus avec et sans zéolite NaY dans les conditions optimales du système.

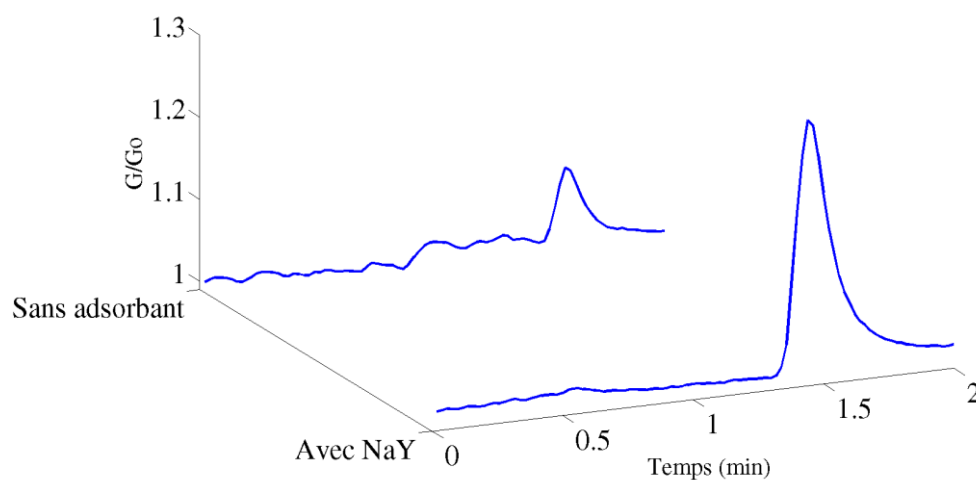


Figure IV.18 : signal électrique pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans zéolite NaY dans les conditions expérimentales optimales.

Cette figure montre que l'amplitude du signal en présence de la zéolite NaY dans le micro-préconcentrateur est multipliée par 3 par rapport au système sans adsorbant. Dans ce cas, le facteur de concentration normalisé est égal à 0,79 par mg d'adsorbant. Cela reste très en dessous des performances d'analyse obtenues en présence de la zéolite DaY qui offre un facteur de concentration normalisé beaucoup plus important. Ce constat s'explique en partie par l'affinité du toluène vis-à-vis de la zéolite NaY. En effet, dans les expériences présentées dans le deuxième chapitre de ce manuscrit, nous avons montré que l'affinité d'adsorption du toluène calculée à partir de la branche d'adsorption du toluène sur la zéolite NaY ($4700 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$) est beaucoup plus importante que celle calculée pour DaY ($25 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$). Ceci indique qu'il faut fournir une énergie importante pour désorber la majeure partie du toluène piégée dans la microporosité de la zéolite NaY. Une température de

chauffe du micro-préconcentrateur limitée à 250°C ne permet pas de désorber efficacement cette molécule de cet adsorbant.

De manière similaire, le paragraphe suivant présente les résultats obtenus avec les microsphères de carbone W5.

4.3 Étude des microsphères de carbone W5

Des tests identiques aux deux campagnes expérimentales précédentes ont été effectués avec les microsphères de carbone W5 dans le micro-préconcentrateur. Les différentes expériences réalisées montrent qu'une température de chauffe de 250°C ne semble pas suffisante pour désorber le toluène de la structure poreuse de cet adsorbant. La figure IV.19 présente les réponses électriques obtenues avec et sans microsphères de carbone dans les conditions expérimentales établies précédemment. Aucun pic de détection n'est observé. Ce constat peut s'expliquer une nouvelle fois par rapport à la valeur calculée de l'affinité d'adsorption du toluène ($9400 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$) qui est encore plus élevée que celle de la zéolite NaY et donc de DaY.

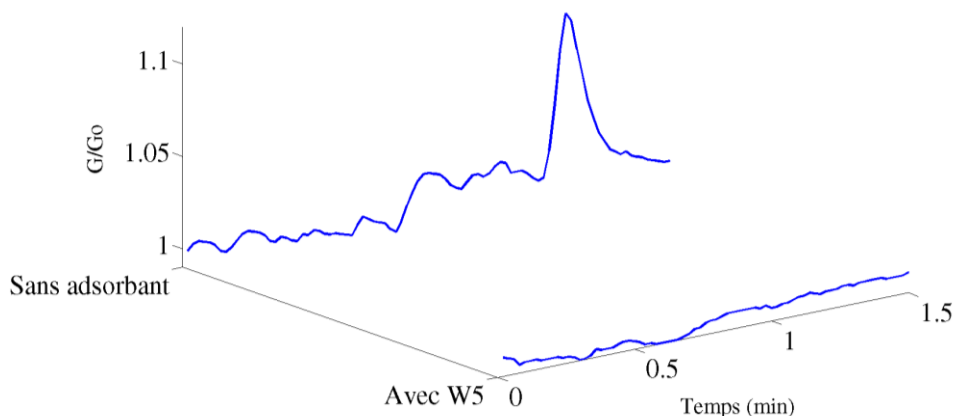


Figure IV.19 : signaux électriques pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans microsphères de carbone W5 dans les conditions expérimentales optimales.

Un nombre important d'observations ont été effectuées dans cette partie dont l'objectif était d'étudier les capacités de préconcentration du toluène par les adsorbants identifiés pour cette application. Une synthèse des performances de préconcentration de ces 3 matériaux est présentée dans la partie suivante.

4.4 Synthèse sur les conditions de préconcentration

Au terme de ces expérimentations, plusieurs constats ont été effectués sur les capacités de préconcentration des 3 adsorbants testés. Ces expériences ont en particulier permis de fixer les conditions expérimentales pour préconcentrer puis échantillonner les vapeurs de toluène avant de les injecter en tête de la micro-colonne chromatographique (cf. tableau IV.4). Par ailleurs, une corrélation a pu être établie entre les capacités de préconcentration du toluène à l'aide du dispositif et les expériences de caractérisation des adsorbants détaillées dans le deuxième chapitre de ce travail.

Plus précisément, nous avons montré que pour cette application, la détermination de l'affinité d'adsorption entre un adsorbant et un adsorbat se révèle être un critère fondamental. En effet, si l'affinité entre le couple adsorbant/adsorbat est trop élevée, il est impossible de désorber efficacement le composé piégé dans la structure poreuse de l'adsorbant avec des températures de l'ordre de 250°C. Ce n'est donc pas la capacité d'adsorption qui importe mais plutôt l'affinité d'adsorption. L'histogramme de la figure IV.20 rassemble les valeurs des facteurs de concentrations normalisés obtenus pour l'analyse de 540 ppb de toluène dans les conditions optimales d'utilisation du système.

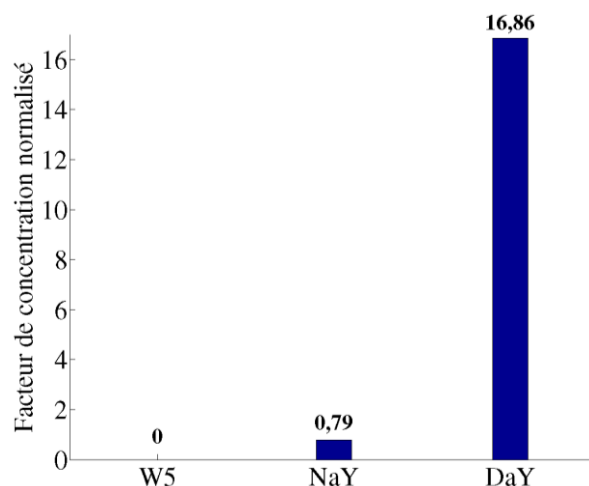


Figure IV.20 : amplitude des signaux électriques du capteur lors du test des zéolites DaY et NaY ainsi que des microsphères de carbone W5 pour l'analyse de 540 ppb de toluène.

Cet histogramme montre clairement que la zéolite DaY permet de concentrer et de libérer efficacement le toluène avec un facteur de préconcentration par mg d'adsorbant proche de 17. Même si la zéolite NaY permet d'obtenir un pic de détection du toluène intense, le gain en amplitude s'avère au final insuffisant pour cette étude dont l'objectif est

d'atteindre des concentrations de l'ordre du ppb. Concernant les microsphères de carbone, le facteur de concentration est nul, aucun pic de détection du toluène n'a été observé.

Ces différents constats permettent, au final, de sélectionner la zéolite DaY pour l'étape de préconcentration des COV. Ses bonnes capacités de préconcentration du toluène laissent supposer que ce matériau est en mesure de concentrer puis de désorber les autres marqueurs du cancer du poumon. Dans ce contexte, l'objet de la dernière partie est de tester le système avec ce matériau pour l'analyse d'une haleine artificielle contenant le mélange des cinq marqueurs chimiques du cancer du poumon qui ont été sélectionnés dans le premier chapitre. Une campagne de test en présence des interférents majeurs de l'haleine (CO_2 et H_2O) sera également réalisée afin d'évaluer les performances du système.

5 Détermination des performances d'analyse du système

L'objectif de cette partie est de valider le microsystème pour l'analyse du mélange des cinq COV marqueurs du cancer du poumon. Dans un premier temps, tous les COV ont été testés indépendamment pour vérifier s'il est possible de les concentrer et de les détecter. Ensuite, nous avons réalisé les tests sur le mélange de COV. Nous nous sommes attardés en particulier à déterminer la limite de détection du système afin d'évaluer s'il est possible de détecter sélectivement les différents marqueurs chimiques aux concentrations mesurées dans les haleines des personnes malades. Pour finir, des tests en présence des interférents majeurs de l'haleine ont été effectués afin de se rapprocher de la composition des haleines humaines.

5.1 Analyse des COV seuls

Afin de vérifier si les paramètres d'utilisation du système sont adaptés aux autres COV, il a été nécessaire de les analyser séparément avant de procéder au mélange. Dans ce cas, les paramètres de préconcentration et d'élution déterminés précédemment avec le toluène ont été appliqués et si besoin ajustés pour chaque composé. La figure IV.21 rassemble les différentes réponses électriques obtenues pour chaque COV analysé seul dans les conditions d'analyses optimisées

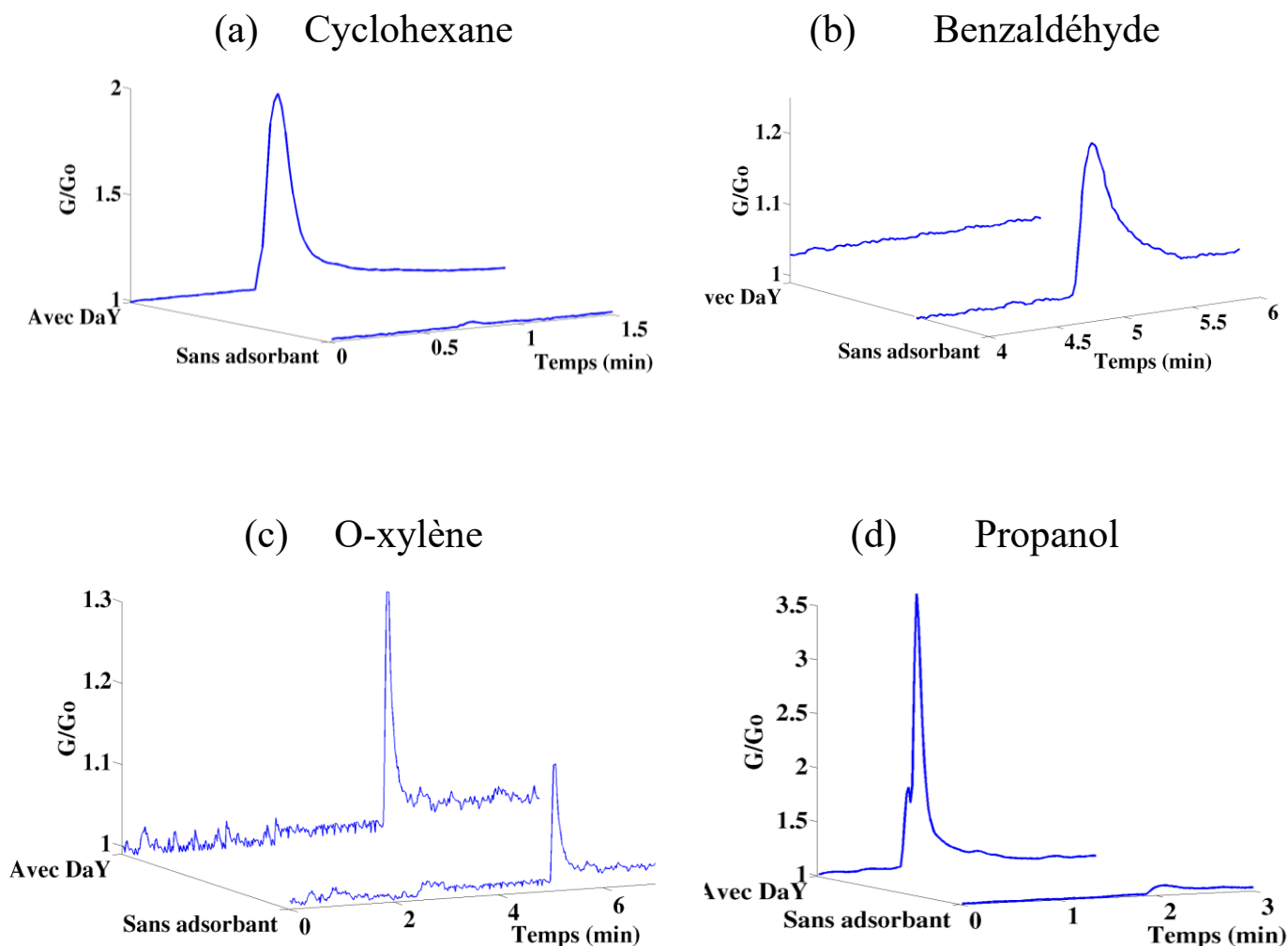


Figure IV.21 : pics de détection obtenus pour l'analyse de l'o-xylène (220 ppb), du cyclohexane (5030 ppb), du propanol (930 ppm) et du benzaldéhyde (620 ppb) avec le microsystème contenant la zéolite DaY et en appliquant les conditions expérimentales optimales.

Concernant le cyclohexane, la figure IV.21(a) indique que les conditions déterminées préalablement permettent de préconcentrer puis de détecter ce composé avec un facteur de concentration de 1,6 par mg d'adsorbant. Pour le benzaldéhyde (cf. figure IV.21(b)), les résultats indiquent qu'il est nécessaire d'appliquer une température de désorption supérieure à 250°C pour observer ce composé ce qui n'est pas compatible avec l'utilisation du micro-préconcentrateur. Les températures élevées risquent de dégrader les raccords fluidiques utilisés. L'absence de pic de détection du benzaldéhyde s'explique du fait que ce composé doit présenter une affinité élevée avec la zéolite DaY et reste donc piégé dans la porosité de cet adsorbant. Ce COV sera donc écarté de la suite de l'étude.

Lors des tests en présence de l'ortho-xylène, nous n'avons observé aucune réponse électrique dans les conditions d'utilisation du système déterminée plus tôt. En revanche, nous avons remarqué que pour détecter ce composé chimique, il est nécessaire d'attendre

90 secondes avant de l'injecter en tête de la micro-colonne chromatographique à partir du début de la séquence d'échantillonnage des vapeurs (cf. fig. IV.21(c)). Ce composé semble être plus difficile à extraire de la porosité de la zéolite DaY. Toutefois, dans ces conditions, l'ortho-xylène a été détecté avec succès avec un facteur de préconcentration par mg d'adsorbant égal à 0,5.

Enfin, les analyses réalisées avec le propanol ont révélé un comportement particulier lié à l'étape de désorption. En effet, la figure IV.21(d) montre qu'en présence de la zéolite DaY, le pic de détection du propanol à 118 secondes disparaît et deux pics de détection apparaissent correspondant à deux composés dont le temps de rétention dans la micro-colonne chromatographique est de 8 et 12 secondes. Ce phénomène s'explique par une réaction de catalyse hétérogène du propanol sur la zéolite DaY qui va jouer le rôle de catalyseur. Dans le cas présent, le propanol se dégrade au minimum en deux composés chimiques d'après les signaux électriques obtenus.

De nombreux travaux de recherche ont été effectués au niveau international sur les capacités catalytiques des zéolites. De plus, l'industrie chimique fait régulièrement appel au processus de catalyse sur solide poreux. La raison principale de la forte réactivité des zéolites est liée à la présence de sites acides au sein de sa structure poreuse. Ces sites sont majoritairement portés par les atomes d'aluminium présents dans les édifices chimiques d' Al_2O_3 [3]. Bien que la zéolite DaY soit partiellement désaluminé, il reste encore des sites actifs chimiques de surface. Les travaux de Reddy *et al.* ont permis d'étudier le comportement du propanol lorsque ce composé réagit sur différents types de zéolite et en particulier les zéolites de type Y. Il a été mis en évidence dans plusieurs études que le propanol est déshydraté en propène dans la gamme de température 100°C - 250°C [3–5]. Ce composé très volatil peut expliquer la présence d'un pic de détection qui présente un temps de rétention plus faible dans la micro-colonne chromatographique. De plus, d'autres références bibliographiques ont mis en évidence un phénomène de polymérisation (également appelé « oligomérisation ») par voie cationique pour former des hydrocarbures saturés et insaturés à partir du propène lorsqu'il est piégé dans une faujasite [6–8]. La figure IV.22 présente la réaction de formation du propène ainsi que la première réaction de polymérisation de ce dernier lorsque du propanol est piégé dans la porosité d'une zéolite de type Y maintenue à haute température.

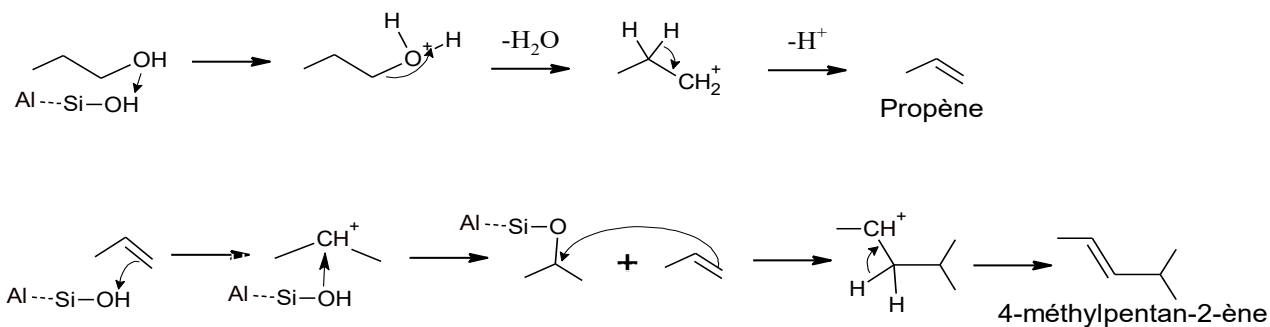


Figure IV.22 : réactions de catalyse hétérogène du propanol et du propène sur une zéolite DaY.

Les études bibliographiques présentées dans le premier chapitre de ce travail n'ont pas mis en évidence la présence de propène et de 4-méthylpentan-2-ène dans l'air expiré de patients sains ou malades. De plus, les produits issus des étapes suivantes de la réaction de polymérisation n'ont également pas été identifiés dans la littérature. De ce fait, la présence de propanol peut être mise en évidence indirectement par la détection de ces deux composés et cela indique que l'haleine étudiée provient bien d'un patient malade.

En résumé, tous les composés chimiques ont été successivement analysés par le système hormis le benzaldéhyde qui ne se désorbe pas de la zéolite DaY. De plus, tous les COV ont conservé leur temps de rétention initialement mesurés sans adsorbant. La partie suivante concerne l'analyse du mélange de toluène, de cyclohexane, de propanol et d'ortho-xylène.

5.2 Analyse du mélange de COV

La partie précédente a permis d'observer individuellement le comportement des cinq COV lorsqu'ils sont analysés par le dispositif en présence de la zéolite DaY. Ces expériences ont notamment montré qu'il est nécessaire de réaliser deux injections au cours de l'analyse. La première injection intervient 2 secondes après avoir acheminé les vapeurs désorbées dans la boucle d'échantillonnage afin de détecter le toluène, le cyclohexane et le propanol. La deuxième injection intervient 90 secondes après pour analyser les vapeurs d'ortho-xylène présentes en plus grande quantité à ce moment-là. Dans ces conditions, les temps de rétention des quatre COV sont légèrement décalés en raison de l'analyse du mélange mais restent stables pour toute la durée des expériences suivantes et l'ordre d'élution des composés ne change pas. La figure IV.23 présente l'analyse d'un mélange des 4 COV en appliquant les conditions expérimentales déterminées au cours de ce chapitre.

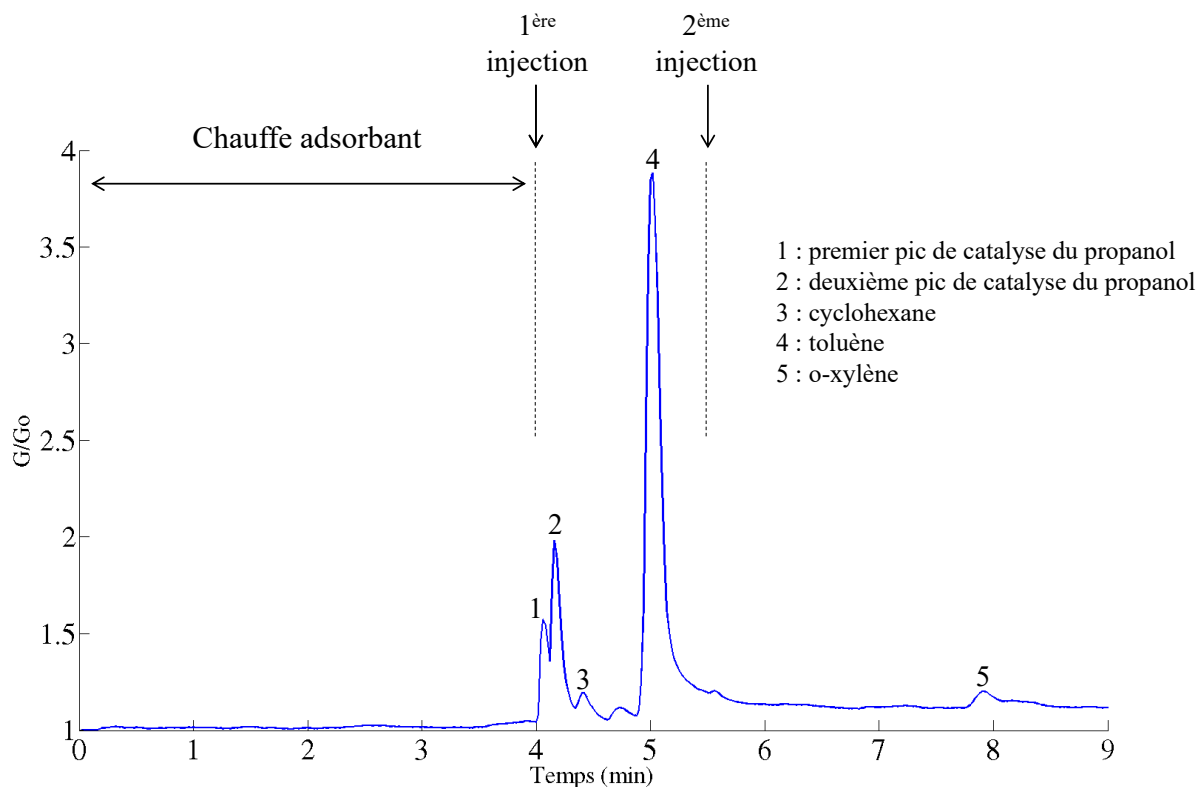


Figure IV.23 : signal électrique résultant de la détection d'un mélange de toluène (1080 ppb), de propanol (930 ppb), de cyclohexane (5030 ppb) et d'o-xylène (220 ppb) après 5 minutes d'adsorption et de 4 minutes de désorption à 250°C suivie de deux injections des vapeurs après 2 secondes et 90 secondes sous air d'échantillonnage (15 mL.min⁻¹).

D'après la figure IV.23, nous constatons que l'analyse du mélange des 4 marqueurs chimiques du cancer du poumon a été réalisée avec succès. Les pics de détection obtenus sont parfaitement résolus et présentent une faible largeur à mi-hauteur. Les premiers résultats concernant l'analyse d'un mélange complexe indiquent que l'idée de coupler différentes unités ayant chacune une fonction analytique précise est tout à fait pertinente. Le temps total de l'analyse n'excède pas huit minutes ce qui reste raisonnable en comparaison avec d'autres techniques d'analyse. Toutefois, nous avons observé une diminution de l'amplitude des pics de détection lorsque les composés sont mélangés.

5.2.1 Effet de la co-adsorption

L'histogramme présenté sur la figure IV.24 répertorie les valeurs des amplitudes normalisées des marqueurs chimiques analysés seuls et en mélange.

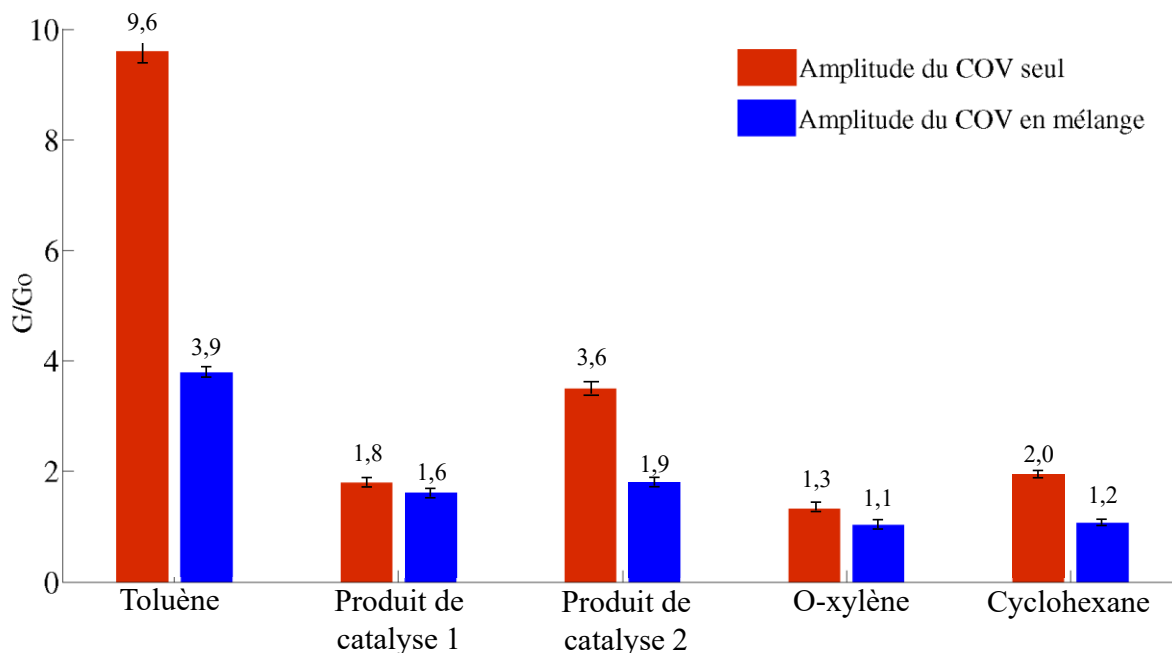


Figure IV.24 : comparaison des amplitudes du signal des pics de détection du toluène (1080 ppb), du propanol (930 ppb) du cyclohexane (5030 ppb) et de l'ortho-xylène (220 ppb) analysés seuls et en mélange.

La diminution de l'amplitude des pics de détection de chaque marqueur s'explique par un phénomène de co-adsorption lors de la phase de préconcentration sur la zéolite DaY. En mélange, chaque composé chimique « partage » les pores du matériau avec les autres COV ce qui contribue à diminuer le nombre de sites disponibles pour l'adsorption. De plus, il faut également considérer la cinétique d'adsorption qui est différente pour chaque composé chimique.

Dans le cas présent, nous avons observé une nette diminution de l'amplitude du pic de détection du toluène lorsque ce composé est mélangé avec d'autres COV. Concernant les autres marqueurs chimiques, la diminution est moins marquée. Même si l'effet de la co-adsorption diminue les performances d'analyse du signal, les amplitudes des pics de détection des marqueurs chimiques du cancer du poumon en mélange sont tout de même relativement importantes pour espérer atteindre des limites de détection de l'ordre de la dizaine de ppb.

Le paragraphe suivant s'attache à déterminer les limites de détection des marqueurs chimiques du cancer du poumon.

5.2.2 Limite de détection du dispositif

Les performances d'analyse de la plate-forme micro-fluidique ont été étudiées sur le mélange des 4 COV retenus (toluène, propanol, cyclohexane et o-xylène). Différentes dilutions successives ont été réalisées de façon à observer les réponses électriques du capteur lorsque le mélange de COV est dilué progressivement. La figure IV.25 présente les variations de conductance normalisées en fonction des concentrations des COV dans le mélange. Le temps d'adsorption sur l'adsorbant est fixé à cinq minutes.

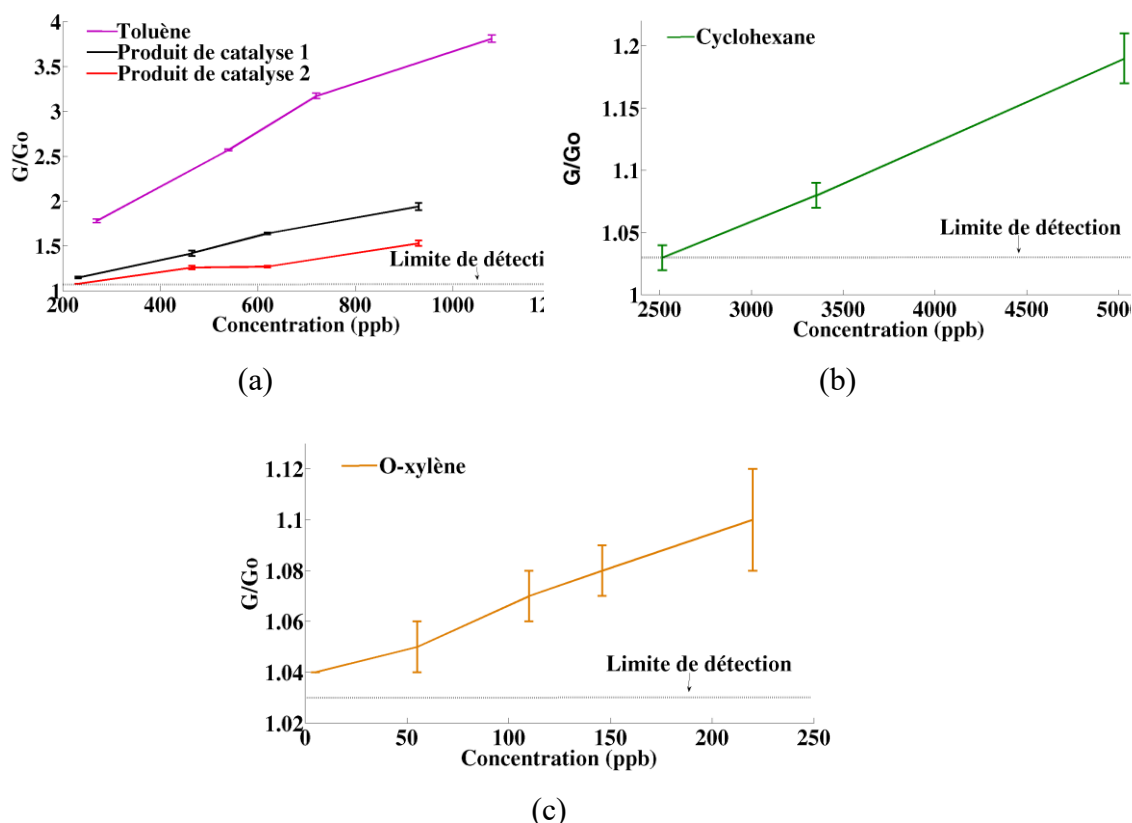


Figure IV.25 : amplitudes normalisées des pics de détection des COV (toluène, propanol, cyclohexane et o-xylène) en fonction de leurs concentrations après un temps d'adsorption de 5 minutes.

Ces différentes expériences montrent que le système permet de détecter de très faibles concentrations de COV en mélange. En effet, dans ces conditions, les concentrations minimales détectées sont de 21 ppb de toluène, 21 ppb de propanol, 2515 ppb de cyclohexane et 5 ppb d'o-xylène. Ces valeurs sont bien en-dessous des seuils de détection constatés sans adsorbant dans le micro-préconcentrateur et sont du même ordre de grandeur que les concentrations rencontrées dans les haleines des personnes malades. L'objectif est donc atteint pour ces COV. Seul le seuil de détection du cyclohexane (2515 ppb) reste au-

dessus des concentrations relevées dans l'haleine. Afin d'identifier ce composé à de plus faibles concentrations, il a été décidé d'ajuster le temps d'adsorption des COV dans la structure poreuse de l'adsorbant (zéolite DaY). La figure IV.26 présente les pics de détection obtenus pour l'analyse du mélange de COV pour des durées d'adsorption de 5, 15 et 30 minutes.

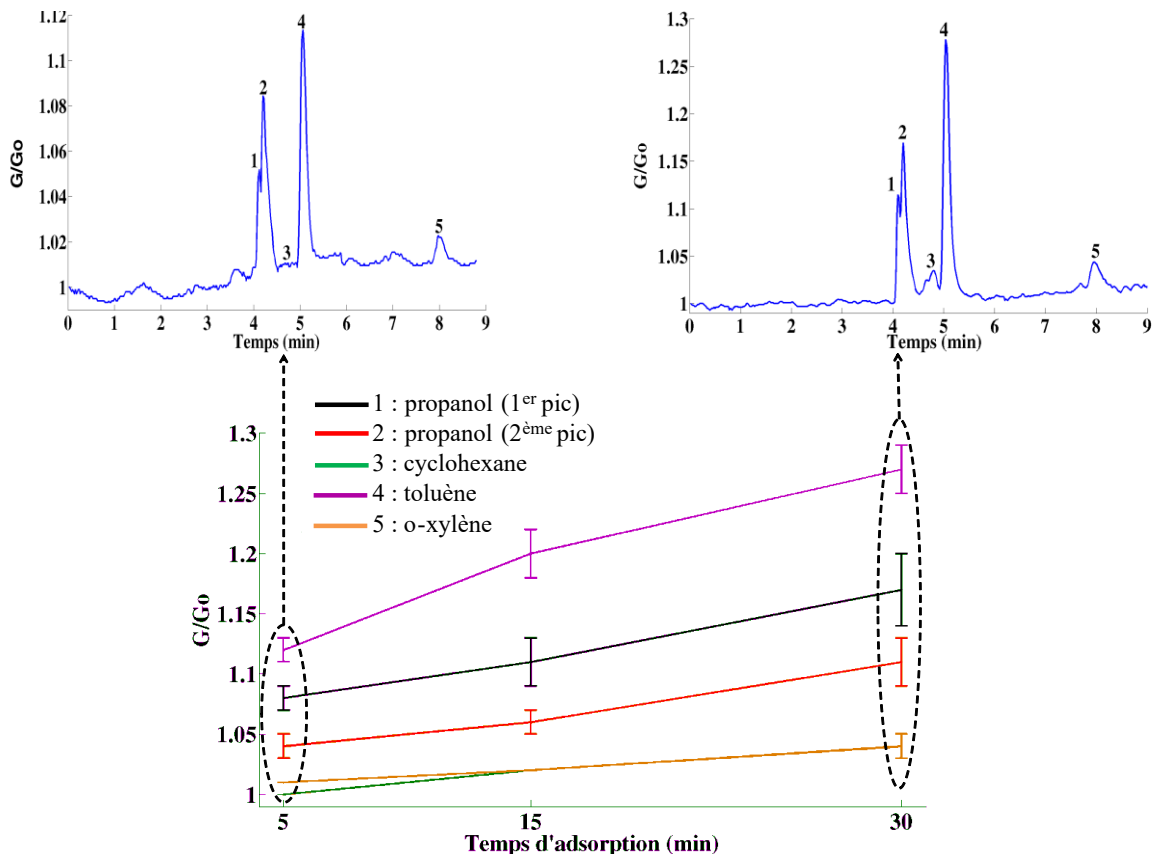


Figure IV.26 : influence du temps d'adsorption sur les amplitudes des pics de détection lors de l'analyse du mélange de dilution des COV (cyclohexane (112 ppb), toluène (24 ppb), propanol (21 ppb) et o-xylène (5 ppb)) pour des temps d'adsorption de 5, 15 et 30 minutes.

D'après la figure IV.26, l'amplitude des pics de détection augmente en fonction du temps d'adsorption des COV sur la zéolite DaY. Les analyses réalisées avec un temps d'adsorption de 30 minutes permettent d'observer les pics de détection de quatre composés organiques volatils avec un rapport signal sur bruit satisfaisant. Ce temps d'adsorption permet d'amplifier le signal de chaque COV pour qu'il puisse être détecté. Cette durée de concentration de 30 minutes n'est en réalité pas un problème car dans ces conditions, le volume d'air qui balaye le préconcentrateur est de 1,5 litres pour un débit d'adsorption calibré à $50 \text{ mL} \cdot \text{min}^{-1}$. Ce volume correspond en moyenne au quart du volume pulmonaire en respiration forcée qu'un patient peut expirer dans un sac Tedlar [9]. Dans ces conditions,

il est possible de détecter le cyclohexane à une concentration de 112 ppb ce qui est dans la gamme des concentrations observées dans l'haleine.

Les résultats présentés ci-dessus témoignent des bonnes performances d'analyse de la plate-forme micro-fluidique développée. Toutefois, ces expériences ont été réalisées sur une haleine artificielle composée uniquement d'une combinaison judicieusement sélectionnée de marqueurs chimiques. Afin de se rapprocher des conditions réelles, nous avons souhaité étudier les capacités d'analyse du système en présence des interférents majeurs de l'haleine qui sont la vapeur d'eau et le dioxyde de carbone.

5.3 Influence des interférents de l'haleine sur les performances d'analyses globales du système

L'haleine est un mélange complexe comportant des COV différents ainsi que de la vapeur d'eau et du dioxyde de carbone. Ces dernières molécules sont présentes dans toutes les haleines à de très fortes concentrations comparées à celles des composés organiques volatils. En particulier, l'haleine est saturée en vapeur d'eau pour atteindre un taux d'humidité relative proche de 100% [10]. Concernant le CO₂, les concentrations relevées dans la littérature indiquent des valeurs proches de 4% (40 000 ppm) [11,12]. La figure IV.27 présente la réponse électrique du capteur pour l'analyse du mélange de COV en présence de 40 000 ppm de CO₂ et sous une atmosphère saturée en eau (100% HR). Le temps d'adsorption a été fixé ici à 30 minutes afin de vérifier que le système est capable de détecter les marqueurs chimiques aux concentrations relevées dans les haleines des patients malades.

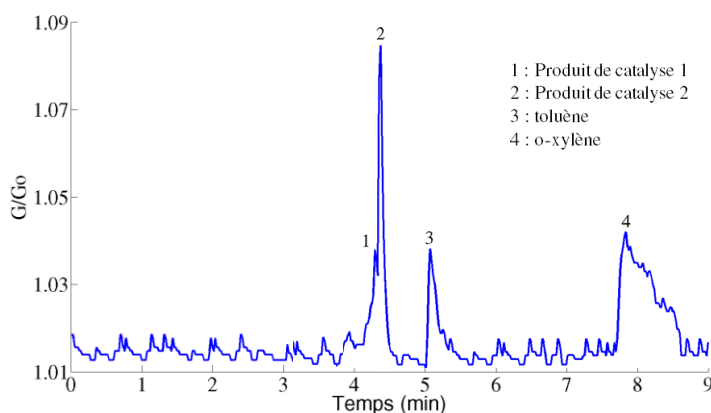


Figure IV.27 : analyse d'un mélange de toluène (24 ppb), de propanol (21 ppb), d'o-xylène (5 ppb), et de cyclohexane (112 ppb) dans l'air synthétique en présence d'eau (100% HR) et de CO₂ (40 000ppm).

L'analyse de ces réponses électriques met en évidence une nette diminution de l'amplitude des pics de détection des COV. En particulier, dans ces conditions, la détection du cyclohexane n'est plus possible. Toutefois, les pics de détection des autres marqueurs sortent encore largement du bruit de fond. Les concentrations très importantes en CO₂ et en H₂O ont une nouvelle fois une influence sur les capacités d'adsorption des COV et donc des performances d'analyse du système. L'histogramme de la figure IV.28 permet de visualiser l'impact de ces deux interférents sur l'amplitude des pics de détection des COV. Le fait d'utiliser une zéolite hydrophobe permet sans aucun doute de limiter l'influence de l'eau lors de la phase d'adsorption. Néanmoins, l'analyse de ce graphique ne permet pas de mettre en évidence une tendance concernant l'influence relative de chaque interférent sur la détection des COV.

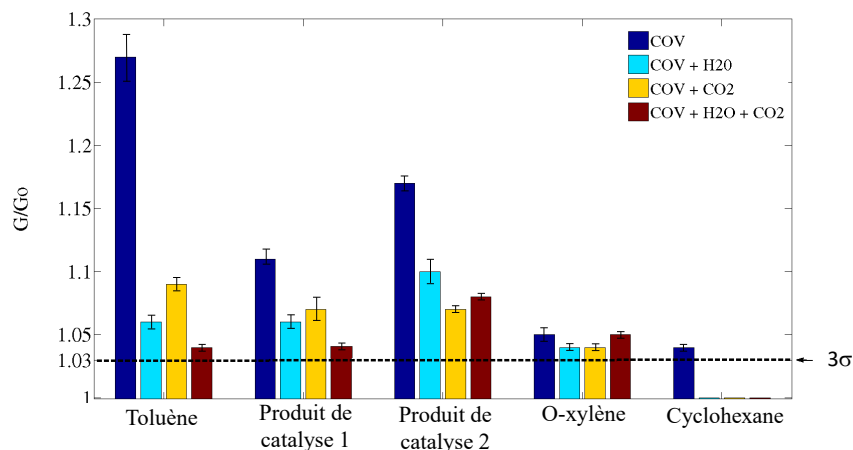


Figure IV.28 : amplitude de détection relatifs à l'analyse du mélange, après 30 minutes d'adsorption, de toluène (24 ppb), de propanol (21 ppb), d'o-xylène (5 ppb) et de cyclohexane 112 ppb en présence de vapeur d'eau (100% HR) et de dioxyde de carbone (40 000 ppm).

Malgré la diminution de l'amplitude des pics de détection en présence des interférents de l'haleine, les signaux électriques relatifs au toluène, aux produits de catalyse du propanol et à l'o-xylène sont supérieurs à 3 fois le bruit de fond.

Ces résultats sont très encourageants car ils répondent aux exigences du cahier des charges qui imposait de détecter une combinaison de COV avec au moins un marqueur spécifique parmi les COV dans un mélange complexe.

6 Conclusion

L'objectif de ce chapitre était d'évaluer les performances d'analyse du microsysteme pour la détection des marqueurs chimiques du cancer du poumon.

Après avoir présenté les différentes parties constitutives du banc de test, une première étape a consisté à déterminer les conditions d'élution des COV à travers la micro-colonne chromatographique avant d'être détectés par le capteur résistif. Ces tests ont notamment permis de déterminer le mode d'élution (rampe de température) ainsi que le débit de la phase mobile permettant d'éluer et séparer correctement les cinq composés chimiques. Dans le cas présent, une rampe de température de 30°C à 50°C (5°C.min⁻¹) et un débit de la phase mobile de 7 mL.min⁻¹ permet d'obtenir des pics de détection intenses et présentant une bonne résolution. Ces premières expériences ont également permis de déterminer les temps de rétention de chaque COV.

À l'issue de ces tests préliminaires, les zéolites DaY et NaY ainsi que les microsphères de carbone W5 ont été testées en tant qu'adsorbant dans le micro-préconcentrateur. Les expérimentations ont d'une part permis d'apporter des modifications importantes au niveau du banc de test et d'autre part d'observer que la zéolite DaY est le matériau adsorbant le plus adapté pour préconcentrer le toluène. Ce constat s'explique notamment par l'affinité d'adsorption du toluène plus faible pour la DaY que pour les autres matériaux. Au cours de ces expériences sur la zéolite DaY, les performances de préconcentration de ce matériau ont été optimales pour 4 minutes de désorption à 250°C et une phase d'échantillonnage de 2 secondes à 15 mL.min⁻¹.

Le microsysteme a ensuite été testé pour l'analyse du mélange des cinq COV sélectionnés dans cette étude. Les résultats ont montré qu'il était possible d'accéder à des seuils de détection très faibles pour le toluène, l'ortho-xylène, le cyclohexane et le propanol grâce à l'utilisation de la zéolite DaY dans le micro-préconcentrateur. Le benzaldéhyde n'a cependant pas été détecté en raison de son affinité trop importante avec la zéolite DaY. Nous avons également mis en évidence une réaction de catalyse hétérogène entre le propanol et la zéolite DaY. Ce composé a toutefois été détecté indirectement par la présence de ses produits de catalyse.

Pour terminer, le microsystème a été testé avec un mélange de COV contenant de la vapeur d'eau (100 % HR) et du dioxyde de carbone (40 000 ppm). L'objectif final étant de se rapprocher de la composition des haleines des patients malades. Les résultats ont montré que l'assemblage envisagé dans cette étude permet de détecter sélectivement 24 ppb de toluène, 21 ppb de propanol et 5 ppb d'o-xylène en présence des interférents majeurs (CO_2 et H_2O).

Ces derniers résultats indiquent qu'il est possible, avec un seul capteur chimique, de détecter une combinaison de marqueurs chimiques spécifiques et non spécifiques à de très faibles concentrations (de l'ordre de la dizaine de ppb) même en présence d'interférents. Ceci permet de valider cette voie de développement pour le diagnostic de cette maladie.

7 Listes des figures

Figure IV.1 : photographie d'un tube à perméation contenant du toluène.....	110
Figure IV.2 : suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant du toluène (35°C).	111
Figure IV.3 : schéma de fonctionnement du montage (a) en phase de concentration et (b) en phase d'injection.	112
Figure IV.4 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) au débit de phase mobile de 7 mL.min ⁻¹ et à plusieurs températures de micro-colonne chromatographique (mode isotherme).	114
Figure IV.5 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) au débit de phase mobile de 7 mL.min ⁻¹ en appliquant des rampes de température de la micro-colonne chromatographique de 30°C à 50°C.	115
Figure IV.6 : réponses électriques normalisées pour l'élution d'un mélange de cyclohexane (5030 ppb), toluène (1080 ppb), propanol (930 ppb), o-xylène (220 ppb) et de benzaldéhyde (620 ppb) en effectuant des rampes de température de la colonne chromatographique de 30°C à 50°C (5°C.min ⁻¹) à différents débits de la phase mobile.	116
Figure IV.7 : amplitude des pics de détection normalisés lors de l'analyse du mélange de cyclohexane, de toluène, de propanol, d'o-xylène et de benzaldéhyde à en fonction de la concentration des COV dans les conditions optimales d'élutions.....	117
Figure IV.8 : détection du toluène (540 ppb) après une durée de 2 minutes d'adsorption suivie d'une étape de chauffe du micro-préconcentrateur (2 minutes, 200°C).	119
Figure IV.9 : schéma et séquences de la nouvelle configuration expérimentale.....	121
Figure IV.10 : détection de 540 ppb de toluène à l'aide de la nouvelle configuration expérimentale.	123
Figure IV.11 : influence du débit d'air pour l'échantillonnage des vapeurs de toluène issues du micro-préconcentrateur sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb) et une température de chauffe de 200°C pendant 4 minutes.....	125
Figure IV.12 : étude du temps de désorption sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène -540 ppb et 4 minutes de désorption à 200°C..	126

Figure IV.13 : influence de la température de désorption du micro-préconcentrateur sur les performances d'analyse après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb / 50 mL.min ⁻¹) suivie de l'étape de chauffe de 4 minutes et de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air (15 mL.min ⁻¹).	127
Figure IV.14 : influence de la durée d'échantillonnage des vapeurs sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption de toluène (540 ppb / 50 mL.min ⁻¹) suivie de l'étape de désorption de 4 minutes (à 200°C et 250°C) puis de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air (15 mL.min ⁻¹).....	128
Figure IV.15 : signal électrique pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans zéolite DaY dans les conditions expérimentales optimales du micro-chromatographe en phase gazeuse.	129
Figure IV.16 : influence du temps de désorption sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption du toluène (540 ppb / 50 mL.min ⁻¹) suivie de l'étape de désorption à 250°C et de la phase d'échantillonnage des vapeurs après un temps de 2 secondes par de l'air (15 mL.min ⁻¹).	131
Figure IV.17 : influence de la durée d'échantillonnage sur les performances d'analyse du système après 5 minutes d'adsorption du toluène (540 ppb / 50 mL.min ⁻¹) suivie de l'étape de désorption de 4 minutes à 250°C et de la phase d'échantillonnage des vapeurs par de l'air (15 mL.min ⁻¹).....	131
Figure IV.18 : signal électrique pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans zéolite NaY dans les conditions expérimentales optimales.....	132
Figure IV.19 : signaux électriques pour la détection de 540 ppb de toluène avec et sans microsphères de carbone W5 dans les conditions expérimentales optimales.	133
Figure IV.20 : amplitude des signaux électriques du capteur lors du test des zéolites DaY et NaY ainsi que des microsphères de carbone W5 pour l'analyse de 540 ppb de toluène.	134
Figure IV.21 : pics de détection obtenus pour l'analyse de l'o-xylène (220 ppb), du cyclohexane (5030 ppb), du propanol (930 ppm) et du benzaldéhyde (620 ppb) avec le micro-système contenant la zéolite DaY et en appliquant les conditions expérimentales optimales.....	136
Figure IV.22 : réactions de catalyse hétérogène du propanol et du propène sur une zéolite DaY.....	138

Figure IV.23 : signal électrique résultant de la détection d'un mélange de toluène (1080 ppb), de propanol (930 ppb), de cyclohexane (5030 ppb) et d'o-xylène (220 ppb) après 5 minutes d'adsorption et de 4 minutes de désorption à 250°C suivie de deux injections des vapeurs après 2 secondes et 90 secondes sous air d'échantillonnage (15 mL.min⁻¹)..... 139

Figure IV.24 : comparaison des amplitudes du signal des pics de détection du toluène (1080 ppb), du propanol (930 ppb) du cyclohexane (5030 ppb) et de l'ortho-xylène (220 ppb) analysés seuls et en mélange. 140

Figure IV.25 : amplitudes normalisées des pics de détection des COV (toluène, propanol, cyclohexane et o-xylène) en fonction de leurs concentrations après un temps d'adsorption de 5 minutes..... 141

Figure IV.26 : influence du temps d'adsorption sur les amplitudes des pics de détection lors de l'analyse du mélange de dilution des COV (cyclohexane (112 ppb), toluène (24 ppb), propanol (21 ppb) et o-xylène (5 ppb)) pour des temps d'adsorption de 5, 15 et 30 minutes. 142

Figure IV.27 : analyse d'un mélange de toluène (24 ppb), de propanol (21 ppb), d'o-xylène (5 ppb), et de cyclohexane (112 ppb) dans l'air synthétique en présence d'eau (100% HR) et de CO₂ (40 000ppm). 1432

Figure IV.28 : amplitude de détection relatifs à l'analyse du mélange, après 30 minutes d'adsorption, de toluène (24 ppb), de propanol (21 ppb), d'o-xylène (5 ppb) et de cyclohexane 112 ppb en présence de vapeur d'eau (100% HR) et de dioxyde de carbone (40 000 ppm). 144

8 Listes des tableaux

Tableau IV.1 : concentration des vapeurs de COV générées par perméation. 111

Tableau IV.2 : tableau récapitulatif des conditions optimales d'élution du mélange gazeux de cyclohexane, toluène, propanol, o-xylène et de benzaldéhyde..... 117

Tableau IV.3 : limites de détection de chaque COV dans le mélange en l'absence d'adsorbant dans le micro-préconcentrateur. 118

Tableau IV.4 : résumé des conditions optimales d'utilisation de la plate-forme micro-fluidique pour l'analyse du toluène avec la zéolite DaY..... 129

9 Bibliographie

- [1] R. Scott, P.W., Principles and Practice of Chromatography, Chrom-Ed Book Series, n.d.
- [2] Y. Mohsen, Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection sélective de traces d'un produit de dégradation du TNT dans l'atmosphère, Université de Franche-Comté, 2013.
- [3] Y. Ono, H. Hattori, Solid Base Catalysis, Springer, n.d.
- [4] T. Yashima, K. Sato, T. Hayasaka, N. Hara, Alkylation on synthetic zeolites, *J. Catal.* 26 (1972) 303–312. doi:10.1016/0021-9517(72)90088-7.
- [5] P.R. Reddy, Alkylation of toluene with n-propanol over modified zeolites, *IJCT.* (1998) 69–73.
- [6] V. Fierro, Y. Schuurman, C. Mirodatos, J. Duplan, J. Verstraete, Study of the cracking reaction of linear and branched hexanes under protolytic conditions by non-stationary kinetics, *Catal. React. React. Eng. Eur. V Limerick Sept 2-7 2001.* 90 (2002) 139–147. doi:10.1016/S1385-8947(02)00075-X.
- [7] K.G. Wilshier, P. Smart, R. Western, T. Mole, T. Behrsing, Oligomerization of propene over H-ZSM-5 zeolite, *31* (1987) 339–359.
- [8] J.F. Haw, B.R. Richardson, I.S. Oshiro, N.D. Lazo, J.A. Speed, Reactions of propene on zeolite HY catalyst studied by in situ variable temperature solid-state nuclear magnetic resonance spectroscopy, *J. Am. Chem. Soc.* 111 (1989) 2052–2058.
- [9] C.D. Cook, J.F. Hamann, Relation of lung volumes to height in healthy persons between the ages of 5 and 38 years, *J. Pediatr.* 59 (1961) 710–714. doi:10.1016/S0022-3476(61)80007-3.
- [10] A.C. Guyton, J.E. Hall, Textbook of Medical Physiology, Eleventh Edition, Elsevier Inc., Philadelphie, Pennsylvanie, n.d.
- [11] S. Dogig, I. Cepelak, Z. Vlastic, R. Zrinski, J. Zivcic, B. Nogalo, Partial Oxygen and Carbon Dioxide Pressure of Exhaled Breath Condensate, *LabMedicine.* (2008).
- [12] C. Roller, K. Namjou, J. Jeffers, W. Potter, P.J. McCann, J. Grego, Simultaneous NO and CO₂ measurement in human breath with a single IV–VI mid-infrared laser, *Opt. Lett.* 27 (2002) 107–109. doi:10.1364/OL.27.000107.

CONCLUSION GÉNÉRALE ET PERSPECTIVES

L'objectif de cette thèse était de contribuer au développement d'un système de détection de composés organiques volatils (COV) présents dans l'haleine et considérés comme des marqueurs chimiques du cancer du poumon. L'idée sous-jacente étant d'aboutir à un dispositif à la fois non-invasif pour le patient et permettant également de fournir un diagnostic précoce de la maladie afin d'augmenter les chances de survie. Au niveau international, quelques équipes de recherche proposent des systèmes essentiellement basés sur l'utilisation de nez électronique intégrant plusieurs capteurs chimiques et dont l'objectif est d'obtenir une signature chimique d'haleines issues de volontaires sains et atteints par la maladie. Ces approches innovantes ont toutefois mis en exergue un certain nombre de défauts qui sont principalement dus à l'utilisation d'un nombre important de capteurs qui rendent l'interprétation de la réponse globale compliquée et donc à des diagnostics erronés ou approximatifs.

Lors de cette étude, nous avons proposé une approche alternative qui consiste à identifier précisément quelques marqueurs chimiques du cancer du poumon en se basant sur l'utilisation d'un seul micro-capteur chimique de type résistif (SnO_2). Afin de pouvoir détecter sélectivement ces composés à des concentrations de l'ordre de quelques ppb, un micro-préconcentrateur ainsi qu'une micro-colonne chromatographique ont été développés sur substrats de silicium.

Après avoir présenté en détail les techniques courantes et innovantes de diagnostic du cancer du poumon, l'étude bibliographique a permis d'identifier une combinaison de marqueurs chimiques à détecter dans l'haleine afin d'obtenir un diagnostic fiable du cancer du poumon.

La seconde partie de ce travail a consisté à caractériser les structures poreuses et les capacités d'adsorption de quelques matériaux qui auront pour rôle de concentrer les COV avant de les désorber. Durant cette phase de caractérisation, le toluène a été considéré comme le composé organique volatil de référence. En particulier, deux zéolites (DaY et NaY) et deux microsphères de carbone activées (W4 et W5) ont été étudiées en détail à l'aide de deux techniques de caractérisation. La manométrie d'adsorption d'azote a permis de déterminer les caractéristiques poreuses de chaque matériau. Puis, la thermogravimétrie de type Mc-Bain a été utilisée afin de déterminer les capacités d'adsorption et de désorption du toluène sur ces adsorbants et d'en déduire les affinités d'adsorption. Les résultats obtenus ont tout d'abord montré que tous les matériaux sélectionnés possèdent un volume de

micropores très élevé (> à 80% du volume poreux total) et une taille de micropores adaptée aux dimensions des composés organiques à détecter. Les microsphères de carbone présentent des capacités d'adsorption du toluène élevées au même titre que la zéolite NaY. Par ailleurs, les calculs effectués sur les branches d'adsorption des isothermes ont indiqué que la zéolite DaY présentait la plus faible affinité d'adsorption du toluène ($25,7 \text{ mmol.g}^{-1}.\text{hPa}^{-1}$) comparée aux autres matériaux. Cette phase de caractérisation a été complétée par une étude des capacités d'adsorption des interférents majeurs de l'haleine (H_2O et CO_2). Il en ressort que ces matériaux possèdent des capacités d'adsorption de l'eau très élevées alors que celles du CO_2 sont plus faibles. Au final les microsphères de carbone W4 ont été écartées de l'étude car leurs capacités d'adsorption du toluène et des interférents sont très similaires à celles des matériaux W5.

La troisième partie de ce travail a été essentiellement consacrée au développement technologique des unités de préconcentration et de séparation constituant le système de détection. Les microstructures ont été fabriquées en s'appuyant sur la technologie silicium/verre disponible en salle blanche. Dans un premier temps, des expériences de simulation numérique visant à évaluer l'écoulement de l'air dans le micro-préconcentrateur ont été effectuées. Ainsi, deux versions de micro-préconcentrateurs ont été envisagées. Chaque version est constituée d'une cavité rectangulaire de dimensions 10 mm x 5 mm dans laquelle sont répartis des piliers ayant pour but de fixer l'adsorbant et de favoriser l'écoulement du fluide dans la structure poreuse de l'adsorbant. La différence entre ces deux versions réside principalement au niveau des voies d'accès à la microcavité de type monocanal pour la première version et multicanaux pour la seconde. Concernant la micro-colonne chromatographique, la géométrie retenue est une spirale d'une longueur de 5 mètres et de section rectangulaire de dimensions $100 \mu\text{m} \times 100 \mu\text{m}$.

De nouvelles expériences de simulation thermique ont également montré qu'il était indispensable de développer le micro-préconcentrateur et la micro-colonne chromatographique sur deux substrats différents en raison des flux de chaleur trop importants entre ces deux éléments lorsqu'ils sont régulés en température. Après avoir réalisé les microcavités, ces dernières ont été remplies par les trois adsorbants sélectionnés (W5, DaY et NaY) afin d'obtenir un lit homogène d'adsorbant au fond des micro-préconcentrateurs. Cette phase a en particulier permis de montrer que la géométrie de type multicanaux n'est pas compatible avec l'obtention d'un dépôt homogène

d'adsorbant dans la microcavité. Cette version a donc été écartée de la suite de l'étude pour ne conserver au final que la version monocanal. Pour finir, une phase stationnaire à base de PDMS a été déposée sur les parois internes de la micro-colonne chromatographique dans le but de séparer les COV qui seront désorbés du micro-préconcentrateur.

Enfin, la dernière partie de ce travail a consisté à évaluer les performances d'analyse de la plate-forme micro-fluidique constituée du micro-préconcentrateur, de la micro-colonne chromatographique et d'un micro-capteur chimique. Dans un premier temps, le toluène a une nouvelle fois été utilisé comme composé de référence dans le but d'identifier les paramètres expérimentaux permettant d'obtenir à la fois un temps d'analyse court et également des pics de détection suffisamment fins et intenses.

Concernant l'étape de préconcentration, le flux d'adsorption dans le micro-préconcentrateur a été fixé à $50 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ et le temps d'adsorption a été maintenu à 5 minutes. Les expériences ont montré que la durée optimale de désorption est de 4 minutes pour une température de désorption de 250°C . Puis, les vapeurs désorbées sont échantillonnées pendant une durée de 2 secondes avec de l'air calibré au débit de $15 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$. Pour terminer, les vapeurs sont injectées dans la micro-colonne chromatographique dont les conditions optimales de fonctionnement ont été obtenues pour un débit de la phase mobile fixé à $7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$ en appliquant une rampe de température de 30°C à 50°C ($5^\circ\text{C}\cdot\text{min}^{-1}$).

Les résultats issus de ces expérimentations ont en particulier montré que, dans ces conditions expérimentales, la zéolite DaY est l'adsorbant qui permet de concentrer et de libérer une quantité importante du toluène en tête de la micro-colonne chromatographique. Ceci étant principalement attribué à son affinité d'adsorption avec le toluène plus faible que les autres adsorbants. Le facteur de concentration obtenu avec la zéolite DaY avoisine la valeur de 17 par mg d'adsorbant utilisé. Ce matériau a donc été conservé pour la suite de l'étude.

Le système de détection a ensuite été testé en présence de tous les COV dans un premier temps sans considérer la présence d'interférents. Ces analyses ont révélé qu'il était possible de détecter sélectivement quatre des cinq composés initialement présents dans le mélange avec de bonnes limites de détection. En particulier, en ajustant le temps d'adsorption des COV sur la zéolite DaY à 30 minutes, il est possible de détecter

sélectivement 24 ppb de toluène, 21 ppb de propanol, 5 ppb d'o-xylène et 112 ppb de cyclohexane. Ces concentrations se situent dans la gamme des concentrations des COV relevées dans l'haleine de patients atteints du cancer du poumon. Concernant le propanol, nous avons constaté que sa détection est rendue possible par l'identification de ses produits de la catalyse dans la structure poreuse de la zéolite. Pour terminer, nous avons souhaité évaluer l'influence des interférents majeurs de l'haleine (40 000 ppm de CO₂ et 100% d'humidité relative) sur les performances d'analyse du système pour la détection des COV. Dans ces conditions, nous avons observé une nette diminution des amplitudes des pics de détection. Néanmoins, même si le signal relatif au cyclohexane n'est plus visible, les pics de détection des autres composés (24 ppb de toluène, 21 ppb de propanol et 5 ppb d'o-xylène) sont encore parfaitement visibles et restent bien supérieures au bruit de fond.

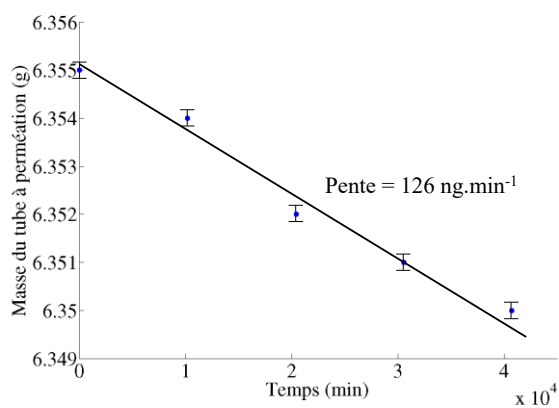
En résumé, les différents résultats obtenus dans cette étude ont permis de valider cette approche expérimentale innovante qui consiste à coupler un micro-préconcentrateur, une micro-colonne chromatographique et un micro-capteur chimique à base de SnO₂ pour la détection d'une combinaison de plusieurs COV marqueurs chimiques du cancer du poumon. En effet, le dispositif a démontré sa capacité à détecter de très faibles concentrations d'au moins un marqueur spécifique du cancer du poumon (21 ppb de propanol) et deux autres marqueurs non-spécifiques (24 ppb de toluène et 5 ppb d'o-xylène) même en présence de concentrations très importantes d'interférents majeurs de l'haleine. Les performances d'analyse du dispositif, assimilable alors à un micro-chromatographe en phase gazeuse, sont tout à fait pertinentes au regard des résultats constatés dans la littérature. Ces travaux représentent ainsi une réelle avancée dans le domaine des micro-capteurs chimiques et également du point de vue des techniques innovantes pour le diagnostic du cancer du poumon.

Ce travail ouvre ainsi plusieurs perspectives. Outre les travaux d'intégration à poursuivre, à court terme ce système de détection devra être testé en présence d'un nombre plus important de composés organiques volatils afin de se rapprocher de la composition chimique de l'haleine humaine. Seulement après cette étape, des tests en présence de patients pourront être envisagés afin de valider définitivement ce dispositif pour le diagnostic du cancer du poumon. Enfin il est également envisagé d'élargir le champ d'application de ce système de détection par exemple dans le domaine de la qualité de l'air

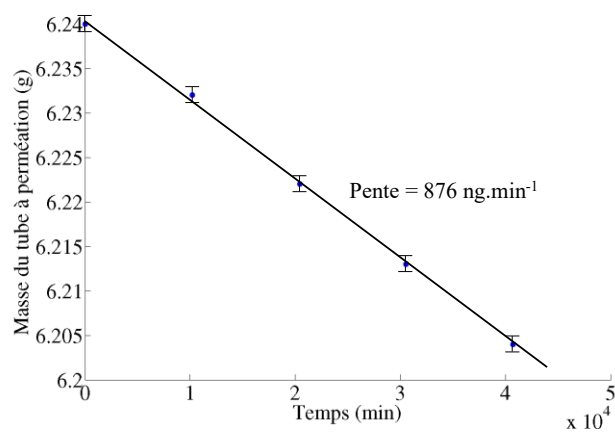
intérieur où les enjeux actuels concernent la détection de très faibles concentrations de polluants.

ANNEXE 1

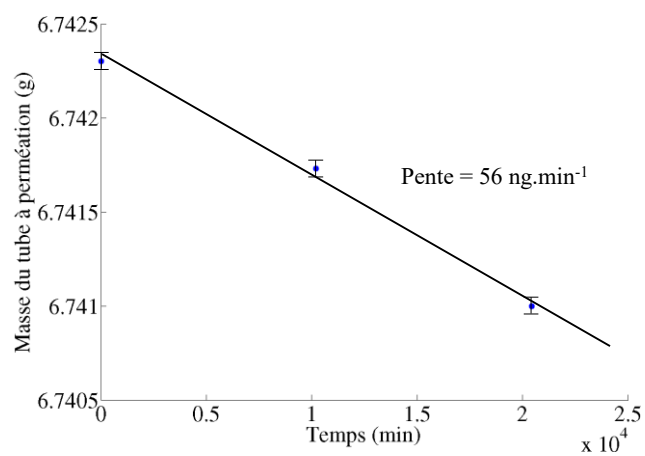
Suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant du propanol (50°C) :



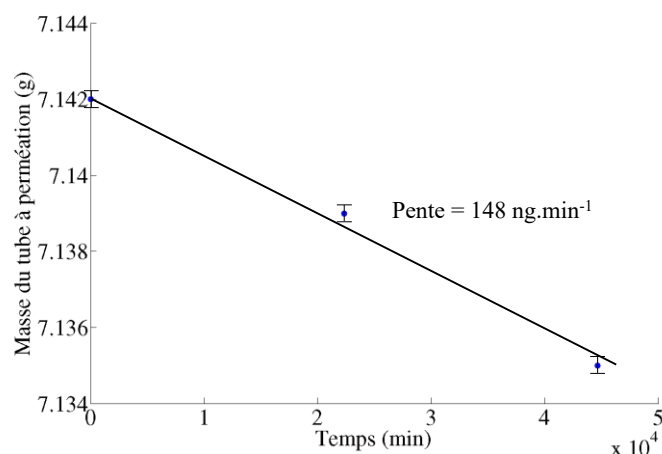
Suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant du cyclohexane (75°C) :



Suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant de l'ortho-xylène (35°C) :



Suivi de la perte de masse du tube à perméation contenant du benzaldéhyde (50°C) :



Formule de calcul des concentrations en COV générées par perméation :

$C(ppb) = 10^3 * \frac{Tp \times 22,42}{Q \times M}$	<p>T_p : taux de perméation mesuré (ng.min⁻¹)</p> <p>Q : débit de l'air dans la cellule thermostatée (mL.min⁻¹)</p> <p>M : masse molaire du composé (g.mol⁻¹)</p> <p>Volume molaire dans les conditions normales de température et de pression (273,15 K et 101 325 Pa) = 22,42 L.mol⁻¹</p>
--	---

PUBLICATIONS ET CONFÉRENCES

Publications :

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Detection of Lung Cancer Bio-markers in Human Breath Using a Micro-fabricated Air Analyzer, International Workshop on Functionalised Surfaces for Sensor Applications. Surfocap'15. 2 (2015) 4664–4670. doi:10.1016/j.matpr.

G. Gregis, S. Schaefer, J.-B. Sanchez, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Characterization of materials toward toluene traces detection for air quality monitoring and lung cancer diagnosis, Materials Chemistry and Physics, 2017. doi: 10.2016/j.matchemphy

Poster :

G. Gregis, J.-B. Sanchez, J.-P. Bellat, I. Bezverkhyy, G. Weber V. Fierro, S. Schaefer, A. Celzard, Sélection d'un adsorbant spécifique pour la concentration de biomarqueurs du cancer du poumon, Association Française de l'Adsorption (2015), Paris, France.

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Diagnosing lung cancer in exhaled breath by using a microfabricated air analyzer system, EUROSENSORS 2015, Freiburg, Germany.

G. Gregis, **S. Schaefer**, J.-B. Sanchez, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Diagnosing lung cancer by toluene detection in exhaled breath, CARBON 2015, Germany.

Conférences :

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard. Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection de traces de composés organiques volatils, 4^{èmes} journée des doctorants du laboratoire Chrono-Environnement (2013), Besançon, France.

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard. Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection de biomarqueurs du cancer du poumon, 5^{èmes} journée des doctorants du laboratoire Chrono-Environnement (2014), Besançon, France.

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Detection of lung cancer bio-markers in human breath using a microfabricated air analyzer, International workshop on functionalized surfaces for sensor applications, Surfocap (2015), Agadir, Morocco.

G. Gregis, J.-B. Sanchez, J.-P. Bellat, I. Bezverkhyy, G. Weber V. Fierro, S. Schaefer, A. Celzard, Conception et caractérisation d'une plate-forme micro-fluidique pour la détection de biomarqueurs du cancer du poumon, Forum des Jeunes Chercheurs de l'École Doctorale Environnement-Santé (n°554) (2015), Dijon, France.

G. Gregis, J.-B. Sanchez, S. Schaefer, V. Fierro, F. Berger, I. Bezverkhyy, G. Weber, J.-P. Bellat, A. Celzard, Conception d'une plate-forme micro-fluidique pour la detection de biomarkers du cancer du poumon, Capteurs chimiques pour l'énergie et les services à l'énergie, réunion du Club Micro-Capteurs Chimiques (CMC2) (2015), Saint-Denis, France.