



HAL
open science

Etude de nouvelles architectures de laboratoires sur puces hyperfréquences intégrées sur CMOS pour les applications biomédicales

Meissa Babay

► **To cite this version:**

Meissa Babay. Etude de nouvelles architectures de laboratoires sur puces hyperfréquences intégrées sur CMOS pour les applications biomédicales. Electronique. Université de Limoges, 2020. Français. NNT : 2020LIMO0016 . tel-02935203

HAL Id: tel-02935203

<https://theses.hal.science/tel-02935203>

Submitted on 10 Sep 2020

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

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

Université de Limoges

**ED 610 - Sciences et Ingénierie des Systèmes, Mathématiques, Informatique
(SISMI)**

Faculté des Sciences et Techniques - XLIM Axe RF-ELITE

Thèse pour obtenir le grade de
Docteur de l'Université de Limoges

Discipline : Electronique des Hautes Fréquences, Photonique et Systèmes

Manuscrit provisoire

Présentée et soutenue par
Meissa BABAY

Le 15 juin 2020

**Etude de nouvelles architectures intégrées sur CMOS de
laboratoires sur puces pour les applications biomédicales**

Thèse dirigée par Arnaud POTHIER et David CORDEAU

JURY :

Président du jury

Rapporteurs

M. François Rivet, Maître de conférences HDR, INP Bordeaux, Université de Bordeaux

M. Philippe Ferrari, Professeur, RFIC-Lab, Université de Grenoble Alpes

Examineurs

M. François Danneville, Professeur, IEMN, Université de Lille 1

M. Cristiano Palego, Senior Lecturer, School of Electronic Engineering, Université de Bangor

M. Bruno Barelaud, Professeur, XLIM, Université de Limoges

M. Pierre Blondy, Professeur, XLIM, Université de Limoges

M. David Cordeau, Maître de conférences HDR, XLIM, Université de Poitiers

M. Arnaud Pothier, Chargé de Recherche CNRS, XLIM, Université de Limoges

Invités

Mme. Claire Dalmay, Maître de conférences, XLIM, Université de Limoges



Remerciements

Ce travail de thèse a été effectué à l'Institut de Recherche XLIM, au sein de l'équipe RF et Electronique Imprimée pour Télécom et Energie (RF Elite) du pôle électronique. A ce propos, je tiens à remercier profondément Monsieur le professeur **Dominique BAILLARGEAT**, ancien Directeur d'XLIM, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire.

J'adresse mes sincères remerciements à Monsieur **Arnaud POTHIER**, chargé de recherche CNRS et directeur de cette thèse pour son suivi attentif, son implication, son vif intérêt, ses conseils avertis et judicieux qui ont contribué à alimenter ma réflexion ainsi que pour la confiance qu'il m'a accordée au cours de ces trois années de thèse. Je suis particulièrement reconnaissante de l'intérêt qu'il a manifesté envers cette recherche.

Je remercie également mon co-encadrant **David CORDEAU**, Maître de conférences HDR à l'Université de Poitiers. Il a toujours été disponible pour m'orienter et me guider pour mener à bien mes travaux de thèse. Je le remercie pour ses précieux conseils scientifiques, les discussions ainsi que les réunions que nous avons pu avoir, cela m'a permis d'approfondir mes connaissances et d'évoluer au cours de ces années de thèse.

J'exprime mes remerciements à Messieurs **François RIVET**, Maître de conférences HDR à l'Université de Bordeaux et **Philippe FERRARI**, Professeur à l'Université de Grenoble d'avoir accepté de rapporter ce travail. Je remercie également Messieurs **Cristiano PALEGO**, Senior Lecturer à l'Université de Bangor, **François DANNEVILLE**, Professeur de l'Université de Lille 1, **Bruno BARELAUD**, Professeur à l'Université de Limoges, ainsi que **Pierre BLONDY**, Professeur à l'Université de Limoges d'avoir accepté d'examiner ce mémoire.

J'adresse mes remerciements à Madame **Claire DALMAY**, Maître de conférences à l'Université de Limoges. C'est vrai qu'officiellement, vous ne faisiez pas partie de mes encadrants de thèse, mais votre disponibilité, vos remarques et votre encouragement m'ont été d'un grand apport pour la réalisation de ce travail.

Un grand merci à Monsieur **Laurent HAGERMAN**, Ingénieur de recherche Informatique à Xlim pour sa gentillesse, sa disponibilité ainsi que pour son assistance. Je

remercie également **Clément HALLEPEE**, Ingénieur d'Etude CNRS pour son aide précieuse lors des expérimentations.

Au cours de ces trois années de thèse, j'ai effectué plusieurs déplacements, entre l'Allemagne et Angoulême, qui m'ont apporté de la richesse scientifique et m'ont permis de rencontrer des personnes formidables. A ce propos, je tiens à remercier très sincèrement Monsieur **Mehmet KAYNAK** responsable du département technologie d'IHP de m'avoir accueilli au sein du centre IHP ainsi que **Emre Can DURMAZ** pour sa gentillesse et son aide. Un grand merci à tous mes amis et collègues doctorants de l'IUT d'Angoulême. J'exprime ma plus profonde gratitude à mes amis **Bogdan, Mariem, Bhanu, Serguei, Abdou, Tayeb et Thomas** pour tous les moments d'amitié, de joies, de difficultés et de complicité que nous avons passés ensemble. Vous m'avez apporté un grand soutien moral et intellectuel. Cela restera gravé dans ma mémoire. Je remercie également tous les membres de l'équipe RF ELITE d'XLIM.

Enfin, une pensée très particulière et affectueuse à ma famille, à **mes parents** et à **mes sœurs** de m'avoir encouragée et soutenue sans faille malgré la distance qui nous sépare. Vos encouragements sont pour moi les piliers fondateurs de ce que je suis et de ce que je fais. Je vous dédie cette thèse.

Table des matières

Introduction générale.....	13
Chapitre I. Spectroscopie diélectrique pour la détection et la caractérisation cellulaire	19
I.1. Introduction.....	20
I.2. Contexte de l'étude et pourquoi mettre en œuvre une technique de spectroscopie diélectrique (ou détection électrique...) ?	21
I.3. Apport de la spectroscopie diélectrique pour la caractérisation de liquides biologiques et de particules micrométriques en suspension	24
I.3.1. Propriétés diélectriques et comportement fréquentiel	24
I.3.2. Application à la caractérisation des matériaux biologiques : intérêt des ondes électromagnétiques hyperfréquences.....	26
I.4. Notion de capteur physique et phénomène de transduction.....	29
I.5. Laboratoires sur puce : microsystèmes et technologie CMOS	32
I.5.1. Historique des « Lab-On-a-Chip ».....	32
I.5.2. Nombreuses applications des « Lab-On-a-Chip ».....	33
I.5.3. Apport potentiel des technologies CMOS à la caractérisation et la biodétection	35
I.5.4. Couplage de la microfluidique et des technologies CMOS pour la réalisation des capteurs biologiques	37
I.6. Caractérisation des liquides et échantillons biologiques par spectroscopie diélectrique	38
I.6.1. Méthode hyperfréquence pour la caractérisation de liquides biologiques	38
I.6.2. Méthodes hyperfréquence pour la bio détection cellulaire	45
I.6.3. Performances des systèmes de détection hyperfréquences pour la caractérisation de liquides/microparticules	53
I.7. Biocapteurs actifs CMOS hyperfréquences microfluidiques appliqués à la caractérisation de liquides et de cellules biologiques.....	54
I.7.1. Biocapteurs CMOS pour la caractérisation de liquides	54
I.7.2. Biocapteur CMOS pour la caractérisation cellulaire.....	61
I.7.3. Performances des systèmes de détection hyperfréquences CMOS pour la caractérisation des liquides/microparticules	66
I.8. Conclusion	67
Chapitre II. Conception d'un biocapteur hyperfréquence actif en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25µm	75
II.1. Introduction.....	76
II.2. Problématique	76
II.3. Mise en œuvre d'oscillateurs pour la détection des éléments biologiques en suspension	79
II.3.1. Oscillateurs à PLL « Phase Locked Loop ».....	80
II.3.2. Oscillateurs à comptage de fréquence	82
II.3.3. Oscillateurs verrouillés par injection	84
II.4. Théorie des oscillateurs verrouillés par injection	87
II.4.1. Notions fondamentales sur les oscillateurs	87
II.4.1.1. Définition et principe	87
II.4.1.2. Le bruit dans les oscillateurs.....	89
II.4.2. Théorie de l'injection.....	92

II.5. Conception du biocapteur actif à base d'oscillateurs verrouillés par injection pour la caractérisation cellulaire.....	95
II.5.1. Description de l'architecture globale du biocapteur actif.....	95
II.5.2. Présentation de l'architecture d'oscillateur de détection	96
II.5.3. Conception de la source de courant	97
II.5.4. Conception de l'oscillateur verrouillé par injection.....	98
II.5.4.1. Partie active.....	99
II.5.4.2. Circuit résonant.....	99
II.5.4.3. Conception du circuit d'injection.....	104
II.5.5. Conception de l'étage amplificateur différentiel et du buffer de sortie	105
II.6. Performances et résultats de simulation électriques du système de détection	107
II.7. Conclusion	115
Chapitre III. Implémentation et réalisation d'un microsystème en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25µm	119
III.1. Introduction	120
III.2. Implémentation d'un biocapteur actif en technologie BiCMOS	120
III.2.1. Procédé technologique BiCMOS standard d'IHP	121
III.2.2. Implémentation du biocapteur actif en technologie SiGe :C BiCMOS 0,25 µm	123
III.2.2.1. Implémentation de la fonction de détection	123
III.2.2.2. Implémentation de la puce globale en technologie SiGe :C BiCMOS 0,25 µm.....	130
III.2.2.3. Conception et réalisation du PCB.....	134
III.3. Résultats de mesures et comparaison avec les simulations post-layout du système de détection	136
III.3.1. Résultats de simulations post-layout	136
III.3.2. Expérimentations et résultats de mesure	141
III.3.2.1. Protocole de mesure	141
III.3.2.2. Comportement statique du circuit.....	144
III.3.2.3. Comportement du circuit en oscillations libres	145
III.3.2.4. Comportement du circuit sous injection.....	147
III.4. Conclusion.....	160
Conclusion générale	163
Productions scientifiques.....	168

Table des figures

Figure I. 1. Principe de détection mécanique [1].....	22
Figure I. 2. Evolution de la permittivité complexe de l'eau et mécanismes associés [17].....	26
Figure I. 3. Principaux phénomènes de dispersion observés dans une cellule biologique [19].....	26
Figure I. 4. (a) Modélisation d'une cellule biologique avec ses principaux compartiments (b) circuit électrique équivalent d'une cellule biologique sous l'effet d'un champ électrique [22].....	28
Figure I. 5. Schéma de principe d'un capteur.	30
Figure I. 6. Schéma de principe de la détection de l'hybridation d'ADN au moyen de micro-poutres vibrantes [17].....	34
Figure I. 7. Schéma synoptique simplifié du dispositif proposé (a) Diagramme du réseau de capteurs capacitifs (b) [44].	36
Figure I. 8. Réponse de la puce à des suspensions de billes de polystyrène diluées dans de l'eau déionisée, de concentrations respectives 10 000 billes / ml à 10 billes / ml [44].	37
Figure I. 9. Photographie d'un pixel du capteur capacitif en présence de billes sur les électrodes interdiguées, (a): 100 billes / ml, (b): 1000 billes / ml, (c): 10 000 billes / ml [44].	37
Figure I. 10. Vue au microscope de la zone d'analyse du capteur hyperfréquence [50].	39
Figure I. 11. Variation de la capacité du capteur en fonction de la fréquence lorsque le canal microfluidique du capteur est rempli de différents mélanges d'éthanol dans de l'eau DI [51].	40
Figure I. 12. Comparaison de la partie réelle de la permittivité relative mesurée avec une sonde coaxiale (symboles vides) et avec le capteur (symboles pleins) [51].	40
Figure I. 13. Photo du capteur fabriqué [52].	41
Figure I. 14. (a) Courbes d'étalonnage (b) parties réelles et imaginaires de la permittivité en fonction de la fréquence de 14 MHz à 6,5 GHz mesurées pour l'éthanol et l'alcool isopropylique [52].	42
Figure I. 15. Exemple de capteur capacitif coplanaire utilisable pour caractériser des liquides biologiques par spectroscopie hyperfréquence [53].	42
Figure I. 16. Variation de la capacité en fonction de la fréquence pour différents mélanges eau/éthanol et des liquides biologiques [53].	43
Figure I. 17. (a) Schéma de principe (b) et photographie du capteur DSSR réalisé avec une structure microruban [54].	44
Figure I. 18. Tracé de la sensibilité mesurée en fonction de la permittivité ($\epsilon_r - 1$) [54].	44
Figure I. 19. Biocapteur capacitif coplanaire couplé à un canal fluide [58].	46
Figure I. 20. Distribution de cellules dans la zone de détection pour des concentrations faibles, moyennes et élevées de cellules [59].	46
Figure I. 21. Contraste capacitif pour différentes concentrations de cellules en suspension [59].	47
Figure I. 22. Schéma de principe d'un biocapteur RF pour piéger une cellule individuelle [60].	48
Figure I. 23. (a) Photo réelle d'une cellule piégée sur le biocapteur, (b) Contrastes capacitifs mesurés en présence d'une cellule vivante unique de lymphome B dans son milieu de culture [17].	48

Figure I. 24. (a) Photographie d'une cellule piégée, (b) Contraste capacitif pour une seule cellule [61].	49
Figure I. 25. Schéma de principe du capteur interférométrique [62].	50
Figure I. 26. Variation du paramètre de transmission mesuré pour différentes suspensions en fonction de la fréquence [62]......	51
Figure I. 27. Photographie du biocapteur résonateur en Hairpin (a) et du piégeage des cellules SU-8 structures (b) [63].	52
Figure I. 28. Réponses S_{11} mesurées d'une cellule de mélanome B16F10 qui a été piégée au niveau de la zone de détection [63].	52
Figure I. 29. Schéma de principe du système de mesure des propriétés diélectriques d'un liquide [64].	54
Figure I. 30. Mesures des parties réelle et imaginaire de V_A/V_B en fonction des propriétés diélectriques, à 1 GHz et à 8 GHz de différentes références d'étalonnage [64].	55
Figure I. 31. Mesures des parties réelle et imaginaire en fonction de la fréquence pour l'éthanol et propanol [64].	56
Figure I. 32. Puce du capteur diélectrique à base de PLL [65].	56
Figure I. 33. Spectre du signal de sortie à l'introduction du liquide d'acétate d'éthyle à 8 GHz et 20 μ L [65].	57
Figure I. 34. Architecture du capteur sur puce à récepteur hétérodyne [66].	58
Figure I. 35. Variation de la permittivité complexe du liquide IPA en fonction la fréquence [66].	58
Figure I. 36. Photographie de la puce du capteur en bande 80-160 GHz (a) et son schéma électrique [69].	59
Figure I. 37. (a) Capteur chargé par l'échantillon biologique, (b) Tension de sortie du détecteur et fréquence du VCO en fonction de la tension de commande [69].	60
Figure I. 38. Les résultats de mesure de la tension détectée à la sortie du capteur (a) Simulation du paramètre de transmission du capteur (b) [70].	61
Figure I. 39. (a) Représentation schématique du flux de particules au-dessus du capteur, (b) Variation de la capacité du capteur en présence d'un flux de particules [71].	62
Figure I. 40. Architecture du système de détection proposé [72].	63
Figure I. 41. Les décalages fréquentiels simulés et mesurés à des distances de 0,20 et 40 μ m de la surface du capteur [72].	63
Figure I. 42. Schéma de principe d'un biocapteur magnétosensible à base d'oscillateur [73].	64
Figure I. 43. Les décalages de fréquence correspondant aux différentes concentrations de biotine-IgG [73].	65
Figure II. 1. (a) Exemple de capacité de détection, (b) Schéma de principe d'un biocapteur actif à base d'oscillateurs.	78
Figure II. 2. Schéma de principe du système de détection différentiel.	79

Figure II. 3. Schéma de principe du synthétiseur de fréquence à base de PLL.	80
Figure II. 4. Capteur à base de PLL combinant deux VCOs incorporant une lecture différentielle de la variation de fréquence induite par l'échantillon sous test [11].	81
Figure II. 5. Photomicrographie de la puce d'un capteur oscillant à base de PLL [11].	82
Figure II. 6. Variation de la fréquence à 10,4 GHz avec les points d'étalonnage indiqués [11].	82
Figure II. 7. Schéma de détection magnétique à décalage de fréquence [4].	83
Figure II. 8. Schéma de principe du capteur magnétique [4].	83
Figure II. 9. (a) Schéma électrique du capteur proposé, (b) Schéma de principe du système de détection complet, (c) Système de détection réalisé sur puce [6].	85
Figure II. 10. Réponse mesurée d'une bille de polystyrène individuelle passant par la zone de détection des quatre oscillateurs opérant à 6,5, 11, 17,5 et 30 GHz [6].	86
Figure II. 11. Schéma de principe du système bouclé d'un oscillateur électrique.	87
Figure II. 12. Schéma de principe d'un oscillateur LC électrique.	88
Figure II. 13. Spectre (a) idéal, (b) réel et (c) représentation temporelle du signal de sortie d'un oscillateur.	89
Figure II. 14. Phénomène de transposition du bruit basse fréquence autour de la fréquence d'oscillation f_0	90
Figure II. 15. Décomposition du spectre de bruit de phase d'un oscillateur réel.	91
Figure II. 16. Schéma de principe d'un oscillateur verrouillé par injection.	92
Figure II. 17. Evolution théorique du déphasage d'un ILO.	93
Figure II. 18. Bruit de phase d'un oscillateur en oscillation libre (tracé en noir) et sous injection (tracé en vert).	94
Figure II. 19. Principe de fonctionnement du système de détection complet : (a) en l'absence de cellules, (b) en présence d'une cellule, (c) pour deux cellules différentes.	96
Figure II. 20. Schéma d'implémentation de l'oscillateur de détection.	97
Figure II. 21. Architecture du miroir de courant.	97
Figure II. 22. Architecture de l'oscillateur verrouillé par injection.	98
Figure II. 23. Facteur de qualité simulé de l'inductance différentielle « L3_22_1n7 »	101
Figure II. 24. Schéma de la capacité interdigitée implémentée dans le canal microfluidique.	102
Figure II. 25. Modèle électrique équivalent de la capacité interdigitée implémentée comme capacité de détection dans le canal.	102
Figure II. 26. Simulations des paramètres S de la capacité de détection sous HFSS (courbes rouges) et issus du modèle électrique sous ADS (courbes bleues).	104
Figure II. 27. Facteur de qualité simulé de la capacité de détection Csens.	104
Figure II. 28. Module amplificateur différentiel et Buffer de sortie.	106
Figure II. 29. Architecture globale du biocapteur conçu.	106

Figure II. 30. (a) Réponse fréquentielle de l'oscillateur de détection en oscillation libre à 5 GHz, (b) Signal différentiel de l'oscillateur de détection en oscillation libre en temporel, (c) Signal « single-ended » en sortie de l'oscillateur en oscillation libre.	108
Figure II. 31. Signal en sortie de l'oscillateur de détection (dans la plage de verrouillage) : (a) Spectre du signal verrouillé par injection, (b) Formes d'onde des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{inj}=f_{dét}+3$ MHz.....	109
Figure II. 32. Déphasage résultant en fonction de la différence de fréquence entre la fréquence d'oscillation libre et la fréquence d'injection pour différentes amplitudes d'injection.....	110
Figure II. 33. Variation du déphasage en fonction de la variation de fréquence pour une amplitude du signal injecté de 7 mV.....	111
Figure II. 34. Réponse fréquentielle des deux oscillateurs de détection et de référence en oscillation libre à 5 GHz.....	111
Figure II. 35. Réponse fréquentielle des deux oscillateurs de détection et de référence verrouillés sur la même fréquence d'injection ($f_{inj}=f_{dét}=f_{réf}=5$ GHz).....	112
Figure II. 36. (a) Signal en sortie du système de détection et de référence lorsque $f_{dét}=f_{inj}$, (b) Signal en sortie du système de détection et de référence pour une variation de la capacité de détection de 20 aF entre les deux sorties des oscillateurs (Référence & Détection).	113
Figure II. 37. Déphasage entre les deux sorties des oscillateurs (Référence & Détection) en fonction de la variation de la capacité de détection.....	114
Figure III. 1. Empilement de couches du procédé BiCMOS SG25H4 d'IHP (pas à l'échelle).	121
Figure III. 2. Empilement des différentes couches du procédé BiCMOS SG25H4 d'IHP intégrant la partie microfluidique (pas à l'échelle).	122
Figure III. 3. Dessin des masques du système de détection implémentés au fond du canal microfluidique.	123
Figure III. 4. Vue 3D du système de détection avec son canal microfluidique en PDMS.	124
Figure III. 5. Zoom sur le dessin des masques d'un système de détection implémenté avec son canal microfluidique.	125
Figure III. 6. Dessin des masques du miroir du courant : (a) des buffers de sortie des deux oscillateurs, (b) qui alimente le reste des modules du circuit.	126
Figure III. 7. Dessin des masques du bloc de la paire différentielle de l'oscillateur.....	127
Figure III. 8. Dessin des masques du bloc circuit d'injection.	128
Figure III. 9. Dessin des masques du résonateur du circuit.....	129
Figure III. 10. Dessin des masques des modules (a) buffers intermédiaires, (b) amplificateur différentiel et, (c) buffer de sortie.	130
Figure III. 11. Implémentation de la puce globale.	131
Figure III. 12. Dessin des masques du système de détection de test intégrant des capacité fixes à la place de la capacité interdigitées de détection.	132
Figure III. 13. Modèle trieur de cellules biologiques.	132

Figure III. 14. (a) Microphotographie de la puce globale, (b) Zoom sur le circuit avec une capacité de détection immergée dans le canal microfluidique, (c) Zoom sur la partie active du circuit, (d) Zoom sur le trieur de cellule, (e) Zoom sur le circuit de test (variation de capacité fixe de 1 fF).....	133
Figure III. 15. Implémentation du PCB sous l'environnement « MOMENTUM ».....	134
Figure III. 16. Paramètres S des lignes 1 et 2 du PCB simulées sous « Momentum ».....	135
Figure III. 17. Photo du PCB fabriqué avec la puce montée.....	135
Figure III. 18. Signal en sortie de l'oscillateur de détection : (a) Spectre du signal en oscillation libre, (b) Signal en sortie de la paire différentielle de l'oscillateur, (c) Signal « single-ended » en sortie du buffer de l'oscillateur.....	137
Figure III. 19. Forme d'onde du signal en sortie de l'oscillateur de détection sur une fenêtre temporelle large.....	138
Figure III. 20. (a) Formes d'onde en sortie du système de détection lorsque $f_{\text{dét}} = f_{\text{réf}} = f_{\text{inj}}$, (b) Formes d'onde en sortie du système de détection pour une variation capacitive $\Delta C = C_{\text{dét}}$ - $C_{\text{réf}} = 200$ aF en considérant une amplitude de signal injecté de 35 mV.....	139
Figure III. 21. Formes d'ondes en sortie du système de détection pour une variation capacitive $\Delta C = C_{\text{dét}}$ - $C_{\text{réf}} = 20$ aF en considérant une amplitude de signal injecté de 7 mV.....	140
Figure III. 22 (a) Photo du banc de mesure, (b) Schéma de principe du banc de mesure.....	142
Figure III. 23. (a) Schéma électrique d'un montage suiveur à AOP, (b) Source de tension continue permettant d'alimenter le circuit (VDD), (c) Source de tension permettant de polariser le cœur du circuit et le bloc Buffer de sortie.....	144
Figure III. 24. Spectre du signal de sortie en oscillations libres.....	146
Figure III. 25. Forme d'onde mesurée du signal en sortie de l'oscillateur en oscillations libres.....	147
Figure III. 26. Spectre de sortie de l'oscillateur verrouillé par injection pour $f_{\text{inj}} = f_{\text{dét}}$	147
Figure III. 27. Formes d'ondes des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{\text{inj}} = f_{\text{dét}}$	148
Figure III. 28. Déphasage mesuré en fonction de la différence entre la fréquence d'oscillation libre et la fréquence d'injection (a) pour différentes puissances d'injection, (b) pour une puissance d'injection $P_{\text{inj}} = -50$ dBm sur toute la plage de verrouillage.....	149
Figure III. 29. Formes d'onde des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque (a) $f_{\text{dét}} - f_{\text{inj}} = +100$ kHz, (b) $f_{\text{dét}} - f_{\text{inj}} = -100$ kHz.....	150
Figure III. 30. Signal à l'entrée et à la sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{\text{dét}} - f_{\text{inj}} = -40$ kHz.....	151
Figure III. 31. Schéma de principe du banc d'essai modifié pour une mesure différentielle.....	152
Figure III. 32. Densité spectrale des signaux de sortie des deux oscillateurs (détection & référence) sur deux PCB différents.....	153
Figure III. 33. Densités spectrales de puissance: génération d'un décalage fréquentiel de ± 500 kHz autour de la fréquence d'oscillation libre de référence de 4,693 GHz.....	154
Figure III. 34. Densités spectrales de puissance: décalage fréquentiel de +10 kHz autour de la fréquence d'oscillation libre de référence de 4,693 GHz.....	155

Figure III. 35. Déphasage mesuré entre les deux signaux de sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence pour différentes variation de fréquence entre oscillateurs.	156
Figure III. 36. Formes d'onde en sortie des deux oscillateurs de détection et de référence pour $P_{inj}=-40$ dBm et pour (a) $f_{inj}=f_{dét}=f_{réf}$, une fois le déphasage résiduel compensé, (b) pour $f_{dét}=f_{réf} +200$ kHz.	157
Figure III. 37. Formes d'onde en sortie des deux oscillateurs de détection et de référence pour $P_{inj}=-50$ dBm et pour $f_{dét}=f_{réf} +40$ kHz, (c) pour $f_{dét}=f_{réf} +100$ kHz.....	158
Figure III. 38. Mesure du décalage de la fréquence d'oscillation libre entre l'oscillateur de détection et de référence en fonction du déphasage induit entre les deux signaux de sortie.	159

Introduction générale



Ces dernières années, le développement des capteurs biomédicaux a connu un intérêt croissant et a fait l'objet d'intenses recherches scientifiques particulièrement dans le domaine de la biologie, du biomédical et notamment pour les applications cliniques avec le développement de nouveaux outils de diagnostic. En effet, d'énormes progrès ont été réalisés pour permettre des analyses et des caractérisations toujours plus poussées d'éléments biologiques tels que des cellules, des biomolécules ou encore des liquides physiologiques (sang, urines, lymphes...) conduisant au développement de différentes méthodes d'analyses. Parmi les méthodes les plus employées dans les laboratoires de biologie, on retrouve l'analyse par reconnaissance optique de marqueurs fluorescents notamment avec la cytométrie en flux. Elle a suscité l'intérêt de nombreux chercheurs pendant des années et elle démontre aujourd'hui d'excellentes performances en termes de bio-analyses. En revanche, les analyses réalisées en cytométrie en flux présentent l'inconvénient majeur de nécessiter le recours à des marqueurs spécifiques qui permettent de reconnaître les cibles visées et qui peuvent modifier la cible à analyser et donc présenter un caractère altérant pour l'échantillon biologique. De plus, les manipulations et la mise en œuvre des marquages préalables des cibles sont complexes et les réactifs peuvent s'avérer coûteux.

Dans ce contexte, de nombreuses investigations portent aujourd'hui sur la technique de détection par voie électrique grâce notamment au développement de la microélectronique et des microtechnologies. C'est une approche très intéressante du fait qu'elle ne nécessite pas le recours à des marqueurs et présente ainsi un caractère non invasif et non destructif. En particulier, la spectroscopie diélectrique hyperfréquences semble une approche très pertinente et apporte de nouvelles possibilités en termes de diagnostic pour analyser des éléments biologiques tels que les cellules et déterminer une signature diélectrique qui pourrait leur être propre lorsqu'elles sont exposées à des champs électromagnétiques. La gamme de fréquence microonde est particulièrement intéressante puisque cette zone du spectre électromagnétique permet d'interroger et de sonder le contenu intracellulaire ce qui n'est pas possible avec des signaux basses fréquences.

Les progrès des microtechnologies et l'émergence de nouvelles méthodes d'analyse électriques ont abouti au développement de biocapteurs hyperfréquences miniaturisés munis de zones d'analyse de taille micrométrique. Ces nouveaux types de capteurs permettent d'atteindre des niveaux de sensibilités très importants et de réaliser des analyses à l'échelle d'une seule cellule.



De plus, avec l'avènement des technologies microfluidiques, il est possible de manipuler assez simplement de faibles volumes de fluides, et en particulier des suspensions d'éléments biologiques, dans des canaux de tailles micrométriques. Ainsi, il est maintenant possible d'intégrer sur une même puce l'ensemble des fonctionnalités microfluidiques sur des circuits électroniques nécessaires à l'analyse biologique ce qui a conduit au développement du concept de « Laboratoire sur puce » ou « Lab-On-a-Chip » (LOC). Cela fait l'originalité de cette approche d'analyse intégrée et explique en grande partie l'essor de la microfluidique depuis ces dix dernières années.

En particulier, coupler les techniques d'intégration microsystème hyperfréquence et microfluidique pour concevoir des dispositifs d'analyse et de détection d'échantillons biologiques s'avère être une approche très intéressante. D'autant plus qu'il est possible de co-intégrer ces technologies sur des composants électroniques semi-conducteurs à base de silicium matures et largement éprouvés comme par exemple des puces CMOS « Complementary Metal Oxide Semiconductor ». En effet, à partir des technologies CMOS, il est possible de fabriquer une grande diversité de capteurs mais aussi de réaliser des systèmes RF très performants. Ainsi, la sensibilité de détection que l'on peut espérer atteindre en mettant à profit ces technologies CMOS est potentiellement bien meilleure qu'avec les technologies classiques et pourrait ainsi mieux répondre aux besoins actuels des médecins et des cliniciens en termes de capacité d'analyse et de diagnostic.

Les travaux de recherche présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre du projet européen H2020 FET OPEN « Sumcastec », (GA737164). L'objectif de ce projet est de développer de nouveaux concepts de Lab-On-a-Chip innovants en technologie semi-conducteur capables de neutraliser des cellules souches cancéreuses grâce à des ondes électromagnétiques. Ainsi, nous avons travaillé, en collaboration avec un centre de recherche en microélectronique allemand « *IHP* » (Innovations for High Performance Microelectronics), partenaire du projet Sumcastec, pour développer et concevoir une architecture innovante d'un système de détection et d'analyse de cellules cancéreuses par interrogation électromagnétique. Ce centre de recherche technologique développe particulièrement des procédés originaux, permettant d'intégrer la microfluidique directement sur des wafers et puces CMOS. Le laboratoire XLIM collabore depuis quelques années dans la poursuite de ces développements.

Dans ce contexte, nos travaux de thèse concernent la conception et la réalisation d'un biocapteur actif et ultrasensible basé sur une méthode de détection électrique par spectroscopie

diélectrique hyperfréquence. Le dispositif est basé sur deux oscillateurs différentiels verrouillés par injection, intégrés en technologie BiCMOS. Il opère à la fréquence de 5 GHz et est basé sur une détection capacitive. L'objectif est de pouvoir analyser et discriminer des cellules cancéreuses de manière individuelle. Le microsystème devra être capable de détecter avec précision le passage de cellules biologiques en suspension dans un canal microfluidique et pourrait également mesurer les différences de propriétés diélectriques existantes entre ces cellules avec une sensibilité de l'ordre de 2 ppm.

Le présent manuscrit comprend trois chapitres :

Le premier chapitre présente le contexte de nos travaux de recherche. Nous commencerons tout d'abord par présenter et mettre en avant le potentiel de la spectroscopie diélectrique ainsi que les avantages de travailler dans la gamme de fréquences microondes. Nous nous intéresserons également à démontrer les potentialités des laboratoires sur puce pour analyser des éléments biologiques avec des ondes électromagnétiques hyperfréquences ainsi que les avantages de coupler ces technologies avec la technologie de circuits intégrés CMOS. Par la suite, nous présenterons une étude bibliographique non exhaustive qui nous permettra de mettre en relief les différentes architectures de biocapteurs développées jusqu'à présent et d'identifier pour chacune leurs avantages et inconvénients. Cela nous permettra d'orienter notre choix sur l'architecture du capteur que nous avons mise au point dans l'objectif d'atteindre les performances et le niveau de sensibilité de détection visés.

Dans le deuxième chapitre, nous étudierons une architecture de biocapteur active basée sur deux oscillateurs différentiels LC verrouillés par injection. Nous présenterons donc tout d'abord une revue des différentes techniques basées sur l'utilisation d'oscillateurs comme dispositif détecteur pour la détection d'échantillons biologiques telles que la méthode de verrouillage par injection, la technique de comptage de fréquence ou encore la méthode à boucle à verrouillage de phase en précisant leurs principaux avantages et inconvénients. Nous verrons que l'approche retenue dans le cadre de cette thèse est la technique à base d'oscillateurs verrouillés par injection. Nous présenterons, par la suite, la conception de l'architecture originale d'un capteur RF basé sur une détection capacitive, pouvant osciller à une fréquence proche de 5 GHz et intégré en technologie BiCMOS SiGe 0,25 μm . Finalement, nous concluons ce chapitre sur le potentiel de la topologie choisie et le niveau de sensibilité qui pourrait être atteint pour détecter le passage des cellules cancéreuses individuelles circulant au sein d'un

canal microfluidique et des possibilités de mesures des différences de propriétés diélectriques entre cellules.

Le troisième chapitre sera consacré à l'étape d'implémentation du circuit ainsi qu'aux expérimentations réalisées et à la présentation des principaux résultats obtenus. En premier lieu, le procédé technologique utilisé et les dessins des masques de tous les modules constituant le système de détection seront présentés et détaillés. Des simulations « post-layout » seront réalisées afin d'estimer au mieux les performances escomptées du biocapteur. Dans une seconde partie, nous présenterons le protocole expérimental développé pour évaluer les performances ainsi que la sensibilité du système de détection fabriqué. Nous exposerons, enfin différentes pistes, permettant d'expliquer les différences que nous avons constatées entre les résultats escomptés en simulations et ceux obtenus en mesures. Nous verrons que ces premiers résultats ouvrent des perspectives très intéressantes pour caractériser des cellules biologiques de façon non-invasive et sans marquage.



Chapitre I. Spectroscopie diélectrique pour la détection et la caractérisation cellulaire



I.1.Introduction

Les travaux de cette thèse s'inscrivent dans le cadre du développement d'une architecture de biocapteur hautement sensible pour la spectroscopie diélectrique hyperfréquence. L'objectif est de pouvoir analyser et discriminer des éléments biologiques mis sous test tels que des cellules cancéreuses. En effet, le dispositif développé devra permettre de détecter le passage des cellules biologiques en suspension dans un canal microfluidique dans l'objectif de pouvoir mesurer les différences de propriétés diélectriques existantes entre ces cellules. Cet objectif requiert le développement d'un dispositif présentant une excellente sensibilité, typiquement de l'ordre de quelques attoFarads.

Ce premier chapitre dresse un état des lieux des méthodes d'analyse basées sur la spectroscopie diélectrique pour détecter et caractériser des cellules biologiques. En termes d'analyse cellulaire, il existe un grand nombre de techniques possibles. Dans le cadre de cette thèse, notre travail se focalise sur la mise au point d'un outil de type laboratoire sur puce capable d'analyser le contenu intracellulaire de manière physique en mesurant ses propriétés diélectriques ; propriétés qui sont liées aux paramètres biologiques.

Dans ce chapitre, nous examinerons tout d'abord le principe fondamental de la spectroscopie diélectrique. Nous nous intéresserons pour cela aux principes d'interaction entre matière biologique et ondes électromagnétiques en fonction de la fréquence des ondes utilisées. Nous montrerons finalement l'intérêt de travailler dans la gamme des hyperfréquences pour la spectroscopie diélectrique.

Par la suite, une partie de ce chapitre sera dédiée, à une revue des applications des microtechnologies les plus prometteuses à la fois dans le domaine de la biologie et du médical. Nous montrerons le fort potentiel que peuvent offrir les « Laboratoires sur puce », aussi connus sous le nom de « Lab-On-a-Chip » en permettant le développement d'outils d'analyse à l'échelle micrométrique, co-intégrant la gestion des fluides biologiques grâce à un environnement microfluidique et l'application d'ondes électromagnétiques hyperfréquences. Nous discuterons également des avantages de coupler ces technologies « Lab-on-a-chip » avec la technologie de circuits intégrés CMOS « Complementary Metal Oxide Semiconductor ».

Finalement, nous présenterons une étude bibliographique non exhaustive sur l'utilisation des techniques usuelles de spectroscopie diélectrique pour caractériser des milieux biologiques liquides ou des microparticules. L'analyse de leurs avantages et inconvénients nous



permettra d'orienter le choix de l'architecture du capteur proposée dans le cadre de cette thèse et de fixer les objectifs de performance à atteindre pour le biocapteur que nous allons développer.

I.2.Contexte de l'étude et pourquoi mettre en œuvre une technique de spectroscopie diélectrique (ou détection électrique...) ?

De nos jours, de nombreuses problématiques de santé publique ont montré un intérêt certain pour l'utilisation couplée de plusieurs technologies et techniques pour analyser des éléments biologiques tels que des biomolécules, des cellules, des liquides physiologiques, des virus, des bactéries, ou encore de l'ADN. Une part très importante des recherches à ce jour, se focalise sur les applications diagnostiques. En effet, le diagnostic précoce de certaines maladies, la mise en œuvre de traitements personnalisés et des recherches fondamentales en vue d'une meilleure compréhension des mécanismes de certaines maladies, constituent des défis de taille pour les communautés de biologistes et de médecins. C'est pourquoi, nous assistons depuis quelques années à une intense activité de recherche et de développement visant à mettre au point de nouvelles techniques et de nouveaux outils d'analyse toujours plus innovants.

De nos jours, il existe plusieurs techniques utilisées en biologie pour permettre la détection et l'analyse au sein d'échantillons biologiques de particules, de vésicules, d'organites, ou encore de molécules d'intérêt. Parmi les plus répandues, on retrouve des méthodes dites optiques [1], mécaniques [2] ou encore électriques [3].

Parmi les techniques mettant en jeu une détection dite mécanique à partir d'approches microsystèmes, certaines reposent sur l'utilisation de poutres vibrantes micro et nanométriques [2]. Dans ce cas, des micro/nano cantilevers sont utilisés pour détecter l'échantillon biologique. Comme le montre la Figure I.1, ces cantilevers permettent de caractériser une variation de masse. Lorsque la poutre vibre, un changement de masse se traduit par un changement des propriétés de résonance du cantilever. En effet, le cantilever est excité mécaniquement de manière à ce qu'il vibre à sa fréquence de résonance. Ainsi, sa fréquence de résonance est mesurée de façon électrique ou optique, puis, comparée, par la suite, à la fréquence de résonance du cantilever une fois qu'une entité biologique est fixée. Dans les faits, la variation de masse peut être extraite par la détection d'une variation de la fréquence de résonance, dans le cas où la constante d'élasticité du matériau constituant la structure vibrante ne change pas. C'est une approche de détection qui a l'avantage de ne pas requérir de marquage préalable des

échantillons sous test, mais nécessite une grande précision de réalisation des microcapteurs vibrants.

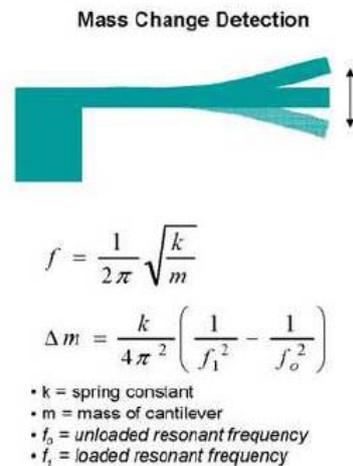


Figure I. 1 Principe de détection mécanique [1].

Les méthodes d'analyse par voie optique sont largement utilisées pour les caractérisations menées dans les laboratoires de recherche mais aussi dans le cadre des applications cliniques [1], [4], [5]. Elles ont démontré des performances très intéressantes notamment avec la cytométrie en flux qui constitue aujourd'hui la forme d'analyse la plus utilisée. Cette approche d'analyse utilise généralement une méthode de marquage par fluorescence des particules biologiques d'intérêts grâce au greffage d'anticorps permettant de reconnaître des antigènes spécifiques sur l'élément à analyser. Une fois marquées, les cellules cibles en suspension dans un fluide sont introduites dans le système et passent devant un faisceau laser. Une fois excitées par le laser, elles fluorescent et émettent un signal lumineux à une autre longueur d'onde. Ce signal est analysé à l'aide d'un dispositif de couplage optique-électronique et donne des informations sur la structure de la cellule (taille, forme...) et la présence (concentration) de marqueurs fluorescents. Par contre, la nécessité de l'étape de marquage préalable reste un inconvénient majeur de cette technique d'analyse. En effet, la fixation de marqueurs sur les cellules rend le processus de préparation des cellules à analyser beaucoup plus complexe, long et peut s'avérer relativement coûteux en fonction du nombre et des anticorps recherchés. De plus, la fixation de marqueurs, peut altérer les échantillons et les rendre inutilisables après l'analyse.

Dans ce contexte, les techniques de détection électrique, apparaissent comme étant une alternative très prometteuse car elles ne nécessitent pas d'étape de marquage, présentent

l'avantage d'être simples à mettre en œuvre et sont des méthodes non destructives. Elles reposent sur la transduction de propriétés biologiques en signaux électriques.

C'est pourquoi, les techniques de détection électrique ou « électrochimique » ont été très fréquemment mises en œuvre depuis plusieurs décennies pour développer de nouvelles méthodes d'analyse. Ces dernières ont été utilisées notamment pour détecter et doser des substances biologiques dans des liquides comme par exemple le glucose [6], pour analyser des microparticules telles que les cellules, ou des biomolécules [7] et également pour identifier des anomalies comme par exemple des tissus tumoraux et non tumoraux. Ces techniques permettent en effet de répondre à des problématiques particulières et ont trouvé des applications prometteuses dans le développement de l'imagerie des cancers du sein et du foie [8] ou encore du dépistage de maladies lymphatiques [9]. Certaines études ont par exemple utilisé des biocapteurs, pour la détection électrique de sérogroupes de Salmonella ou d'agents pathogènes [10]. En effet, il existe un très grand panel d'applications et de pathologies auxquelles les techniques d'analyse électriques peuvent apporter de réelles innovations. Ainsi, ces nouveaux outils d'investigation ont permis notamment d'analyser et de trier des cellules cancéreuses [11], une application que nous visons nous aussi au travers de ces travaux de thèse.

Lorsque les biocapteurs sont destinés à détecter et à identifier la présence d'un bioélément tel qu'une cellule, la détection de l'événement biologique est assurée par un élément transducteur qui transforme cette identification en un signal électrique exploitable. Une approche consiste à utiliser des capteurs électromagnétiques capables de mesurer des changements d'impédance ou des grandeurs diélectriques, et cela en mettant à profit l'interaction d'un champ électromagnétique avec la matière biologique. En effet, en analysant les effets de cette interaction, il est alors possible de déterminer les propriétés diélectriques (conductivité, permittivité) de l'élément biologique sous test. C'est pourquoi, on parle de la spectroscopie diélectrique. Cette méthode, non invasive, consiste à mesurer les variations des propriétés diélectriques du matériau biologique en fonction de la fréquence. Cette méthode d'analyse semble très prometteuse dans la mesure où ces propriétés diélectriques peuvent être corrélées à des spécificités biologiques (teneur en eau, concentration ionique, concentration protéinique, rapport nucléo plasmique...). Elle a déjà été mise à profit dans un certain nombre d'études menées par des biologistes pour identifier de nouveaux traitements et développer des outils de diagnostics performants [3] démontrant ainsi que le recours à des biocapteurs électromagnétiques pourrait être très pertinent à l'avenir dans le domaine biomédical.

En effet, en mesurant leurs propriétés diélectriques, il est possible de discriminer des différences de taille, de morphologie et de composition entre éléments biologiques et cela avec une haute sensibilité et une forte précision de mesure tout en restant non destructif et non invasif. Tout ceci explique le vif intérêt accordé à l'heure actuelle au développement de dispositifs d'analyse par voie électromagnétique capables de faire part de précision d'analyse et de sensibilité de détection.

Nous allons donc, dans la suite de ce premier chapitre, nous intéresser plus particulièrement à la spectroscopie diélectrique et montrer les avancées qu'apportent et pourraient apporter des outils d'analyse par spectroscopie diélectrique dans le domaine de l'analyse cellulaire.

I.3. Apport de la spectroscopie diélectrique pour la caractérisation de liquides biologiques et de particules micrométriques en suspension

La spectroscopie diélectrique mesure la réponse diélectrique d'un matériau lorsqu'il est exposé à un champ électromagnétique. A l'origine, l'étude de l'interaction entre la matière et les champs électromagnétiques remonte au XIX^{ème} siècle, lorsque James Clerk Maxwell a découvert le couplage entre les champs électriques et magnétiques. Par la suite, la caractérisation des réponses électromagnétiques intrinsèques de la matière est devenue l'une des méthodes d'analyse les plus importantes pour la science des matériaux et le génie électronique. Particulièrement, les études portant sur les propriétés diélectriques des matériaux biologiques en fonction de la fréquence ont connu un grand intérêt depuis plusieurs décennies. En effet, les premières études des propriétés diélectriques de divers échantillons biologiques ont été menées, dès le début des années 1900 par Stewart [12], Höber [13], Tesla [14].

Le paragraphe suivant va s'attacher à présenter des notions fondamentales sur la spectroscopie diélectrique de matériaux biologiques ce qui nous permettra de mieux appréhender la technique d'analyse que nous allons mettre en œuvre dans ces travaux.

I.3.1. Propriétés diélectriques et comportement fréquentiel

La polarisation de la matière due aux champs qui la traverse est quantifiée par la permittivité (ϵ) et la perméabilité (μ). Ces deux grandeurs permettent en effet de décrire comment les ondes électromagnétiques se propagent dans le matériau. Comme la polarisation

dépend uniquement des structures moléculaires et de la composition de la matière, on comprend alors pourquoi il est pertinent d'exploiter ces propriétés électromagnétiques en particulier pour les applications biomédicales [15].

Le plus souvent, hormis dans le cas de matériaux magnétiques, l'étude des propriétés diélectriques d'un matériau consiste principalement en la mesure de la permittivité relative complexe de ce dernier en fonction de la fréquence, définie par l'équation (1).

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

Où la partie réelle ϵ' représente la quantité d'énergie électrique emmagasinée dans la matière et est souvent appelée constante diélectrique, tandis que la partie imaginaire ϵ'' est liée aux pertes diélectriques et est associée à la tangente de pertes ($\tan \delta$) du matériau. En effet, cette dernière est définie par le rapport entre la partie imaginaire de sa permittivité et sa partie réelle (2).

$$\tan \delta = \frac{\epsilon''}{\epsilon'} \quad (2)$$

Ainsi, tout matériau biologique va avoir sa propre permittivité qui varie en fonction de la fréquence. A titre d'exemple, la figure I.2 illustre l'évolution de la permittivité relative de l'eau (composant majeur des cellules biologiques) en fonction de la fréquence [16]. Cette évolution peut être vue comme une forme de signature électromagnétique du liquide qui permet de déduire ses caractéristiques et de le différencier d'autres types de liquides (solvant, mélange, émulsion, suspension...). Comme on peut le voir, de fortes variations de permittivité apparaissent dans la gamme des hyperfréquences. En effet, à partir d'une certaine fréquence, les entités polarisées ne peuvent plus suivre la variation du champ électrique ce qui implique une réduction de la polarisation globale du matériau. C'est le phénomène de dispersion. Il est lié à une réorientation ou un mouvement des charges de la molécule d'eau qui induisent une diminution de la partie réelle de la permittivité relative (ϵ'_r) et une augmentation de la partie imaginaire de la permittivité relative (ϵ''_r). Ainsi, l'obtention de la signature électromagnétique dans cette gamme de fréquence apparaît particulièrement intéressante pour chercher à observer des différences de variations de permittivité entre des échantillons biologiques majoritairement composés d'eau.

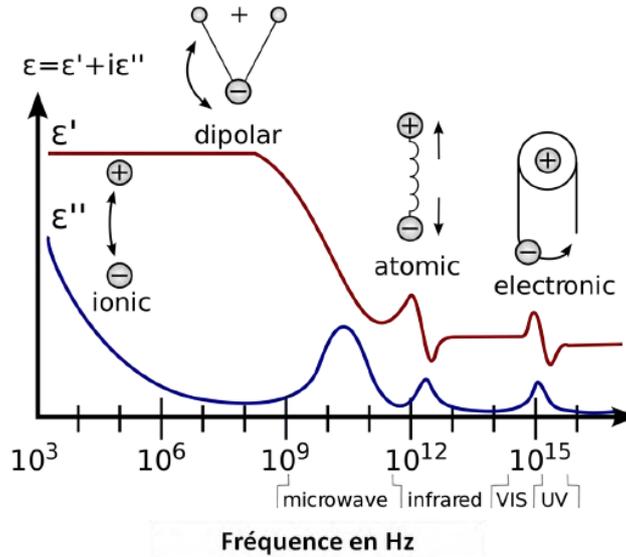


Figure I. 2. Evolution de la permittivité complexe de l'eau et mécanismes associés [17].

I.3.2. Application à la caractérisation des matériaux biologiques : intérêt des ondes électromagnétiques hyperfréquences

Des analyses approfondies des propriétés diélectriques des matériaux biologiques tels que les liquides physiologiques, les biomolécules et les cellules, ont conduit à étudier l'évolution de leurs permittivités en fonction de la fréquence [18]. La Figure I.3 montre un exemple de l'évolution de la partie réelle et imaginaire de la permittivité en fonction de la fréquence d'une cellule. La courbe met en évidence trois principales régions de dispersion : α , β et δ .

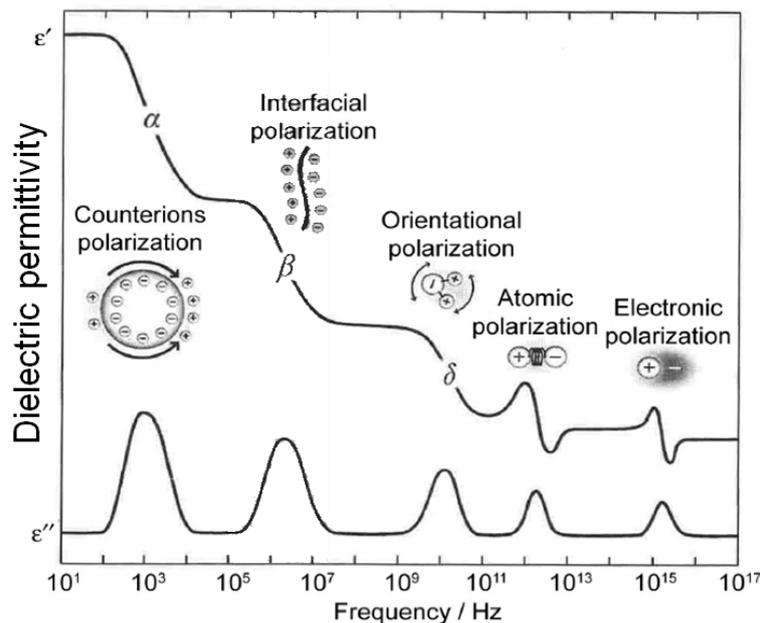


Figure I. 3. Principaux phénomènes de dispersion observés dans une cellule biologique [19].

Comme le montre la figure ci-dessus, un large spectre allant de 10 à 10^{17} Hz peut être utilisé pour l'analyse diélectrique d'une cellule [20]. On peut constater que plus la fréquence augmente plus la partie réelle de la permittivité ϵ'_r décroît sur différents intervalles. Ces intervalles correspondent à différents phénomènes de dispersion.

La dispersion α apparaît entre quelques dizaines de Hertz et quelques kilohertz, dans la gamme des basses fréquences. Cette dispersion est liée à un processus de diffusion ionique au niveau de la membrane cellulaire. Ce phénomène est décrit par Schwartz dans [21] où il a considéré le cas de contrions libres qui se déplacent sur la surface de la cellule sous l'effet d'un champ électromagnétique. Ces derniers vont se déplacer d'une façon rapide, par rapport à ceux contenus dans la cellule entraînant ainsi la polarisation du système.

La dispersion β se produit dans la gamme de fréquences allant de $0,1$ à quelques centaines de Mégahertz, liée à des effets de polarisation de la membrane cellulaire. Ce phénomène est communément nommé « effet Maxwell-Wagner » [21]. C'est un processus de relaxation d'interface qui s'établit lorsque le courant électrique doit passer au travers de deux diélectriques différents.

Quant à la dispersion γ , elle intervient dans une gamme de fréquence plus élevée c'est-à-dire de $0,1$ à quelques dizaines de Gigahertz. Ce phénomène est lié au phénomène de relaxation des molécules polaires dont les molécules d'eau (évoqué précédemment).

Les phénomènes mis en jeu en fonction de la fréquence ne sont pas les mêmes et les études qui peuvent être menées à basses fréquences et hautes fréquences n'apportent pas le même type d'information sur la cellule. Comme nous l'avons vu, il semble pertinent et intéressant de travailler dans la gamme des hyperfréquences, là où les propriétés diélectriques varient fortement en fonction de la fréquence, et là où des différences plus significatives entre échantillons peuvent plus facilement être mesurées. Mais ce n'est pas la seule motivation, si l'on s'intéresse à la composition d'une cellule biologique et à son modèle électrique (Figure I.4). En effet, une cellule (diamètre typique variant de quelques μm à quelques dizaines de μm) est une structure hétérogène constituée de différents éléments tels qu'un noyau, de très nombreuses protéines et des organites, le tout nageant dans un milieu aqueux. Cet ensemble est délimité du milieu extracellulaire par une membrane lipidique, d'épaisseur nanométrique, qui isole le milieu intracellulaire et assure les échanges nécessaires avec le milieu extracellulaire.

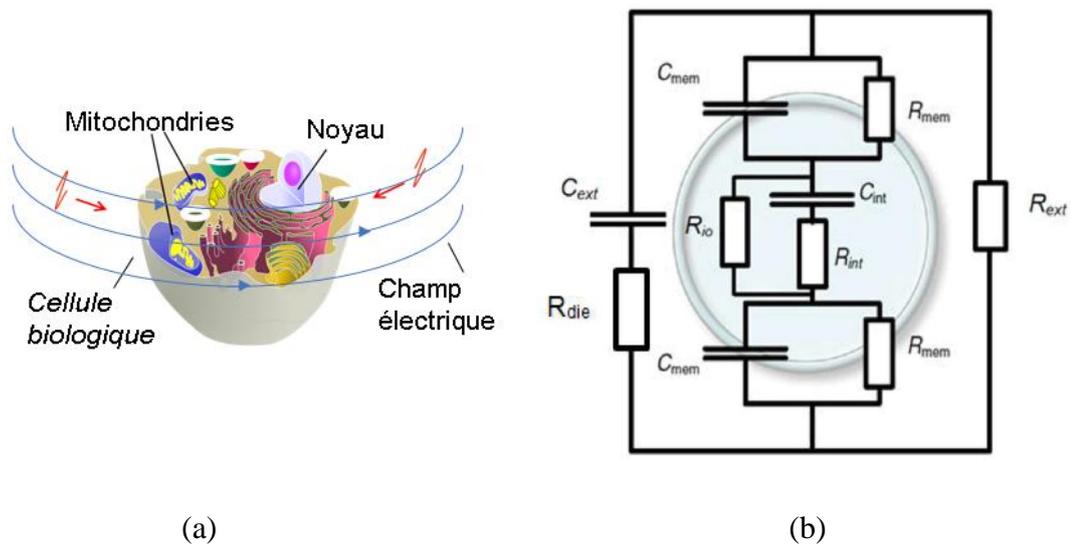


Figure I. 4. (a) Modélisation d'une cellule biologique avec ses principaux compartiments (b) circuit électrique équivalent d'une cellule biologique sous l'effet d'un champ électrique [22].

Des chercheurs ont cherché à comprendre et modéliser les propriétés physiques de la cellule biologique d'un point de vue électrique dans l'objectif de comprendre le lien entre les propriétés diélectriques et l'impédance présentée par une cellule en fonction de la fréquence [23]. La Figure I.4(b) illustre un modèle électrique équivalent simple d'une cellule biologique immergée dans un milieu extracellulaire. Il prend en compte les effets de la présence de la membrane cellulaire. Comme on peut le voir, la membrane cellulaire est située à l'interface de deux milieux ioniques qui peuvent être considérés comme des électrolytes. Par conséquent, cette dernière peut se comporter comme une capacité à pertes. Ainsi, dans ce modèle, la membrane peut être assimilée à un circuit électrique composé d'une capacité C_{mem} associée en parallèle à une résistance R_{mem} représentant les flux ioniques au travers de cette dernière. Dans la gamme des hyperfréquences, la capacité C_{mem} se comporte donc comme un court-circuit puisque son impédance devient de plus en plus faible avec l'augmentation de la fréquence voire plus faible que la résistance R_{mem} qui est en général de valeur modérée. L'utilisation d'hyperfréquences permet alors de sonder directement le cytoplasme de la cellule car le champ électrique peut traverser facilement cette membrane devenant comme transparente dans cette gamme de fréquence. De cette façon, le milieu intracellulaire peut être facilement interrogé et c'est l'état physiologique interne de la cellule qui peut être révélé. En revanche, en basse fréquence, cette capacité se comporte comme un circuit ouvert, elle ne laisse donc pas le signal pénétrer à l'intérieur de la cellule. D'autre part, l'association série de R_{int} et C_{int} symbolise l'influence du milieu intracellulaire aux hautes fréquences ou R_{int} représente les pertes diélectriques intracellulaires, tandis qu'aux basses fréquences le milieu est dominé par la

conductivité ionique du cytoplasme modélisée par R_{io} . Concernant le milieu extracellulaire, celui-ci est ici représenté par une résistance R_{ext} associée en parallèle avec une capacité C_{ext} qui est associée en série avec une résistance R_{die} . Cette dernière représente les pertes diélectriques du milieu [22].

A partir de cette modélisation électrique, on comprend donc que l'utilisation d'ondes électromagnétiques hyperfréquences permet de caractériser les propriétés diélectriques intracellulaires. Ceci est particulièrement pertinent car cela permet de renseigner sur divers paramètres biologiques. Gabriel et Schwan font partie des premiers à s'être intéressés à étudier les propriétés diélectriques de tissus biologiques dans la gamme des hyperfréquences ([21], [24]). Ils ont notamment démontré que la permittivité mesurée pouvait fortement changer d'un type de tissu à un autre. Ils ont également montré que pour un même type d'organe, il est possible de mesurer des propriétés diélectriques nettement différentes si le tissu est d'origine cancéreuse ou saine [25].

Dans ce contexte, nous allons nous intéresser, dans ces travaux de thèse, au développement d'un système de spectroscopie diélectrique hyperfréquence dont l'objectif majeur est de pouvoir détecter et caractériser des cellules cancéreuses du système nerveux. Pour atteindre cet objectif, nous allons notamment utiliser des systèmes à l'échelle micrométrique pour exacerber la sensibilité de détection. Ces microsystèmes qui permettent une miniaturisation poussée, réduisent les volumes d'analyse, exacerbent la sensibilité de détection et permettent une intégration complète pour réaliser une nouvelle génération d'outils d'analyse et de diagnostic.

Nous allons dans le paragraphe suivant, aborder des notions fondamentales sur les capteurs puis nous allons voir quelques exemples de microsystèmes et leurs principales applications actuelles dans le domaine biomédical. Nous discuterons également de l'intérêt de coupler les technologies microsystèmes et CMOS pour le développement d'outils de diagnostic.

I.4. Notion de capteur physique et phénomène de transduction

Les capteurs sont aujourd'hui omniprésents dans notre quotidien et cela pour une très grande diversité d'applications. De manière générale, ils sont utilisés pour convertir une ou des grandeurs physiques (de type poids, force, accélération, champ électrique ou magnétique, température, etc...) en un signal électrique que l'on peut suivre avec des outils de mesure, de

simple affichage, ou de stockage numérique. Ainsi, ils constituent la principale interface hardware entre le monde physique et la couche logiciel en quelque sorte.

Le principe de fonctionnement d'un capteur peut être illustré à l'aide de la Figure I.5. En effet, le capteur permet de traduire/convertir un paramètre physique, objet de la mesure, en un signal généralement électrique.

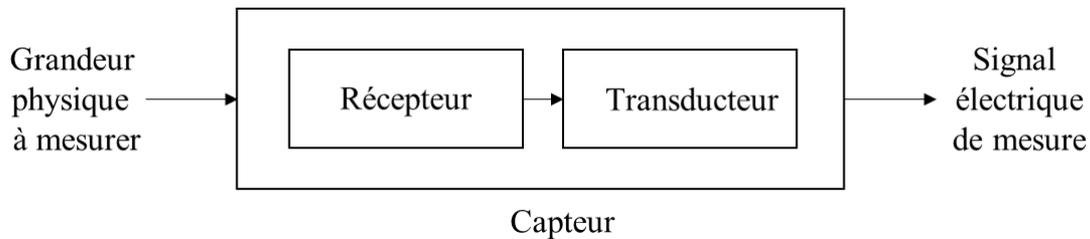


Figure I. 5. Schéma de principe d'un capteur.

Ce signal exploitable représente l'image du paramètre physique et de ses variations. Il est basé sur le phénomène de transduction comme moyen de détection de la variation de la grandeur physique en entrée du capteur. Ce transducteur permet donc de détecter une variation de cette grandeur physique. Le principe de transduction va donc dépendre du type d'interaction (chimique, mécanique, électrique, électromagnétique, optique...) et de son intensité qui se produisent entre le capteur et l'environnement dans lequel le phénomène se produit. Par exemple, dans le cadre d'un capteur électrochimique purement capacitif, son principe de fonctionnement est basé sur la variation d'une capacité en réponse à la variation de la grandeur chimique au voisinage du capteur.

Si l'on considère à présent le cas d'un biocapteur diélectrique capacitif qui opère sur la base d'un circuit résonant, tout changement du milieu qui l'entoure va se traduire par une modification/variation de sa fréquence de résonance retranscrivant les éventuelles variations de propriétés diélectriques (permittivité effective et tangente de pertes diélectrique) de ce milieu. Initialement, ce capteur résonnant présente une fréquence de résonance f_0 qui lui est caractéristique. En présence d'une perturbation diélectrique de son environnement proche, le capteur subit une variation de sa capacité de détection ΔC autour de C sa valeur caractéristique traduisant la variation des paramètres diélectriques environnants. Dans les faits, cette perturbation diélectrique se mesure sous la forme d'un changement de fréquence de résonance $f_0 - \Delta f$ du capteur.

Ainsi, il est possible d'établir une relation directe entre la variation capacitive et le décalage en fréquence observé. Cette relation permet de quantifier la sensibilité de détection de ce type de dispositif qui est un critère important pour évaluer les performances du capteur. Notons que la sensibilité de détection pourrait être définie par la plus petite variation de la grandeur électrique (par exemple de capacité de détection ou de fréquence de résonance pour ce cas) mesurable par le capteur, induite par une très petite variation du paramètre physique à détecter. Une variation mesurée autour d'une valeur moyenne d'origine (respectivement C ou f_0). Ainsi, un capteur très peu sensible sera limité à pouvoir détecter de fortes variations, tandis qu'un capteur ultrasensible sera capable de déceler des variations bien plus faibles. Il existe plusieurs façons de calculer cette sensibilité en fonction du paramètre que nous cherchons à mesurer. Dans le cas d'une sensibilité de détection de fréquence, celle-ci elle peut être définie comme suit :

$$\text{Sensibilité} = \frac{\Delta f}{f_0} \text{ avec } f_0 = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}} \quad (3)$$

Avec :

f_0 la fréquence de résonance ; Δf le décalage fréquentiel autour de f_0 ;
 L et C l'inductance et la capacité équivalente formant le circuit résonant ;

Pour de faibles variations capacitives, nous pouvons faire l'approximation que la variation de la fréquence Δf par rapport à la variation de la capacité ΔC est égale à la dérivée de la variation de la fréquence δf par rapport à la variation de la capacité δC comme l'illustre l'équation (4) :

$$\frac{\Delta f}{\Delta C} \approx \frac{\delta f}{\delta C} \quad (4)$$

Par conséquent, nous pouvons écrire la sensibilité de détection de fréquence en fonction de la sensibilité de détection de capacité comme le montre l'équation (5) :

$$\frac{\Delta f}{f_0} = -\frac{1}{2} \cdot \frac{\Delta C}{C} \quad (5)$$

L'équation (5) nous permettra de comparer les niveaux de sensibilité des dispositifs existant dans la littérature et nous aidera à orienter nos choix de conception pour mettre au point le biocapteur que nous visons. Durant ces travaux de thèse, nous chercherons à développer un biocapteur hautement sensible basé sur une transduction électromagnétique dans la gamme des hyperfréquences. L'objectif est en effet de détecter, sur des cellules biologiques en flux dans

un canal microfluidique, des variations de paramètres physiques (variations de la permittivité diélectrique) représentatives de leurs spécificités biologiques.

I.5.Laboratoires sur puce : microsystèmes et technologie CMOS

I.5.1. Historique des « Lab-On-a-Chip »

Les dispositifs de laboratoires sur puce sont de plus en plus utilisés pour la recherche dans les domaines de la science de la vie et représentent une thématique de recherche en forte évolution. Ces dispositifs peuvent être conçus, prototypés et assemblés en suivant de nombreuses stratégies et à partir de divers matériaux. Ils peuvent être également associés avec des composants microélectroniques. En règle générale, le développement de ces laboratoires miniatures reste un défi, quel que soit le type d'application recherchée. L'histoire des « Lab-on-a-chip » a commencé à partir des années 50, avec l'émergence des procédés de microélectroniques qui ont été introduits pour concevoir et réaliser les premiers circuits intégrés. Depuis, les systèmes microélectroniques ont connu un développement croissant et une révolution technologique continue en termes de réduction des dimensions, de rapidité et d'économie en énergie [26].

Au début des années 1970, avec le progrès des technologies microsystèmes, de nouvelles structures micromécaniques sont apparues : Les MEMS (Micro-Electro-Mechanical-Systems) [27]. Cela a permis l'émergence des accéléromètres miniaturisés omniprésents aujourd'hui dans notre quotidien [28], [29]. Ils sont présents dans les téléphones portables et consoles de jeux vidéo, dans les têtes d'imprimantes [30] dans les airbags de nos voitures [31], etc...

Quelques années plus tard, en 1979, Terry *et al.* ont créé, à l'Université de Stanford, un chromatographe en phase gazeuse micro-usiné sur silicium [32]. Ce fut le tout premier Lab-on-a-chip réel qui ait été créé.

Dix années supplémentaires ont été nécessaires pour que la recherche sur les Lab-on-a-chip commence à connaître un grand essor avec le développement de la microfluidique et l'adaptation des procédés de microfabrication pour la production de puces intégrant des fonctions d'analyse.

Lors des années 90, de nombreux chercheurs se sont intéressés aux potentialités de la microfluidique pour des applications en sciences de la vie (biochimie et biologie). A titre d'exemple, Manz *et al*, ont développé le concept innovant de systèmes d'analyse chimique miniaturisés en manipulant de tous petits volumes de liquides [33].

Aujourd'hui, les laboratoires sur puce ont démontré leur fort potentiel et leurs avantages pour de nombreuses applications : notamment le diagnostic médical, la chimie analytique et la détection biologique. Ils peuvent être fabriqués avec une précision inférieure au micromètre et regroupent un ensemble de micro canaux dans lesquels les flux de liquides peuvent être maintenus et contrôlés avec précision grâce à des pompes miniatures. Ils assurent le traitement d'échantillons complexes et permettent la détection quantitative de différents analytes avec une grande sensibilité.

I.5.2. Nombreuses applications des « Lab-On-a-Chip »

Le développement de laboratoires sur puce a suscité un énorme intérêt dans le cadre de diverses applications. Les systèmes Lab-on-a-chip offrent des avancées qui permettent de mener des analyses, ou de suivre des phénomènes avec une plus grande efficacité à travers par exemple un meilleur contrôle des paramètres environnementaux tels que la température, un meilleur dosage des réactifs, etc... D'autres applications y témoignent un intérêt certain que ce soit pour le contrôle de la pollution dans les eaux usées ou la pollution atmosphérique, le contrôle qualité dans la production alimentaire, la surveillance des éléments nutritifs, les processus de contrôle dans l'industrie chimique ou encore l'analyse de fluides corporels [34].

Dans un autre cadre, des recherches se sont concentrées plus précisément sur les applications de détection, d'analyse, de diagnostic ou de caractérisation d'échantillons biologiques. Ainsi, les technologies « Lab-on-a-chip » montrent un fort potentiel d'innovation pour la caractérisation et la détection de virus [35], ou de bactéries [36], mais aussi pour la mise au point de nouveaux outils de diagnostic de maladies telles que le cancer [37], [38], la dégénérescence du système nerveux ou encore l'identification de diverses pathologies [39], [40].

Pour illustrer le potentiel de miniaturisation de ces nouvelles technologies, on peut prendre à titre d'exemple la détection de brins d'ADN qui peut être réalisée aujourd'hui à l'aide de structures cantilevers en silicium [17]. En effet, cette détection est basée sur un principe mécanique. Elle a l'avantage de ne pas nécessiter de marquage ou de traitement préalable des

échantillons sous test, rendant l'utilisation d'un tel biocapteur plus simple. Grâce à l'implémentation de poutres vibrantes aux dimensions micro et nanométriques totalement intégrées sur puce, la détection mécanique de ce type de macromolécule peut être fortement miniaturisée. En fonctionnement statique, une structure de type poutre peut se déformer lorsqu'une contrainte mécanique non uniforme s'applique sur sa longueur. Par adsorption physique ou liaison chimique des molécules d'ADN, la contrainte sur l'une des surfaces de la poutre peut être plus ou moins modifiée et détectée au regard de la quantité d'ADN hybridée. En revanche, lorsque le capteur est utilisé de manière dynamique (poutre mise en vibration), l'ADN va agir et modifier les propriétés de résonance de la poutre lorsque celle-ci oscille. En effet, la fréquence de résonance va être extrêmement sensible à une modification de la masse effective de la poutre. Ainsi, par la détection de sa variation de fréquence, il est alors possible de suivre la cinétique d'hybridation de l'ADN (Figure I.6).

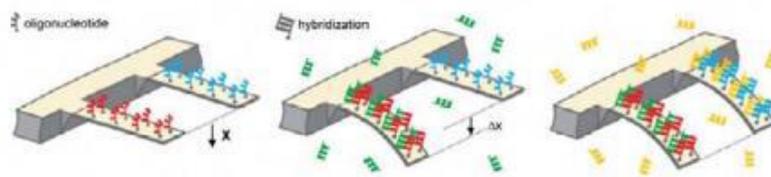


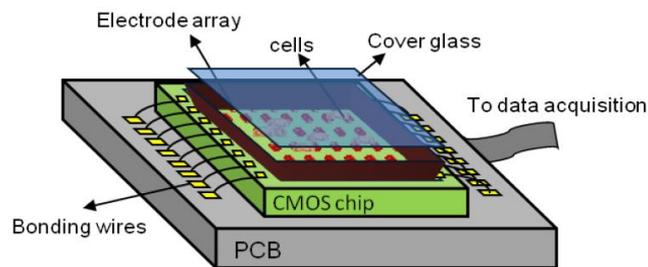
Figure I. 6. Schéma de principe de la détection de l'hybridation d'ADN au moyen de micro-poutres vibrantes [17].

En résumé, ce type de biocapteur opère en transformant sa déformation mécanique en un signal électrique. Sur ce principe, il est possible d'accroître la sensibilité et la résolution des mesures grâce à des éléments de traitement et de mise en forme du signal qui peuvent être également intégrés au plus près du capteur mécanique. Le capteur devient alors instrumenté, au moyen, par exemple, d'une co-intégration dans un environnement électronique plus ou moins complexe.

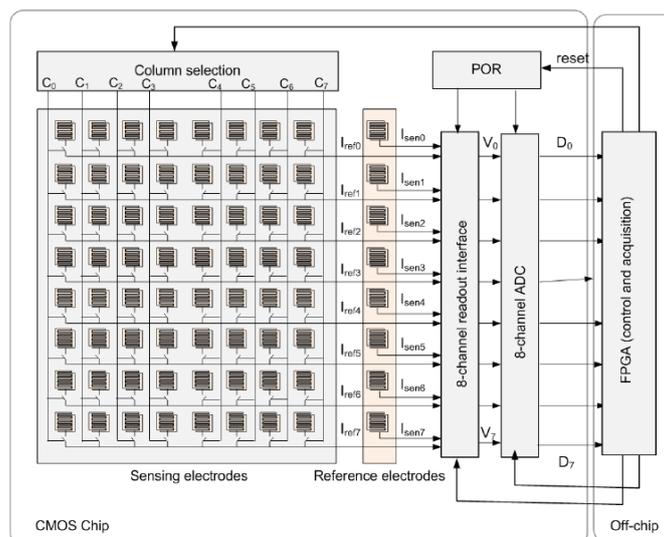
Ce type de développement et de travaux de recherche ouvrent de nouveaux horizons, c'est pourquoi, depuis quelques années, des chercheurs se sont fortement intéressés à développer ce type de systèmes, à l'aide des technologies de circuits intégrés, pour tendre vers une miniaturisation plus poussée et une intégration complète de ces dispositifs capteurs dans des systèmes plus complexes grâce aux technologies Complementary Oxide Semiconductor (CMOS).

I.5.3. Apport potentiel des technologies CMOS à la caractérisation et la biodétection

La technologie CMOS est une technologie permettant de fabriquer des composants électroniques intégrés pouvant réaliser toutes sortes de fonctions électroniques. Cette dernière a pris un grand essor dans le monde des semi-conducteurs depuis une vingtaine d'années. Des grandes avancées ont vu le jour grâce au développement, à l'intégration de nouveaux matériaux et à l'implémentation de microsystèmes sur cette technologie. L'évolution de l'architecture des composants électroniques a également permis de répondre aux besoins demandés par les nouvelles applications adressées, en termes de cout, d'intégration, de montée en fréquence, de gain de temps d'analyse et de traitement, etc... [41]. Cela a ouvert de nouvelles possibilités pour développer des dispositifs ayant une sensibilité bien meilleure qu'avec les technologies classiques [42], [43]. C'est une avancée primordiale, particulièrement dans le domaine de la recherche biomédicale qui cherche à répondre aux besoins des médecins et des cliniciens d'aujourd'hui. A titre d'exemple, de récents travaux ont illustré certaines potentialités de la technologie CMOS pour la détection cellulaire. Une étude a été menée récemment par Ghazal Nabovati [44], présentant le développement d'une biopuce : un biocapteur microfluidique cellulaire compact, peu coûteux et utilisable comme un outil polyvalent pour la détection de cellules.



(a)



(b)

Figure I. 7. Schéma synoptique simplifié du dispositif proposé (a) Diagramme du réseau de capteurs capacitifs (b) [44].

Il consiste en un réseau de capteurs capacitifs organisé en pixels. Le schéma simplifié du capteur proposé est représenté sur la Figure I.7. En fait, le système est composé d'un réseau de 8 x 8 électrodes de détection capacitives ainsi que de 8 électrodes de référence partagées entre les pixels d'une rangée. Chaque rangée d'électrodes est connectée à une interface de lecture qui fonctionne avec la méthode de mesure de la capacité basée sur la charge (CBCM : charge based capacitance measurement method). La tension de sortie du circuit CBCM est lue par un convertisseur analogique-numérique (ADC). La lecture est contrôlée par des signaux numériques provenant d'une plate-forme FPGA (Field Programmable Gate Arrays) pilotée par le logiciel « labview ». Le FPGA est aussi utilisé pour fournir différentes fréquences de travail allant de 1 kHz à 100 kHz au réseau capacitif. Cette fréquence de travail variable permet d'atteindre la limite de détection maximale du réseau et la sensibilité souhaitée en fonction du type d'analyte ou de la concentration cellulaire.

Différents tests ont été menés avec cette puce en utilisant divers solvants organiques ou suspensions de particules présentant différentes constantes diélectriques. La Figure I.8 montre la réponse de la puce à différentes concentrations de billes de Polystyrène. Dans la gamme de fréquence investiguée, les résultats expérimentaux montrent que la puce permet de détecter une large gamme de concentrations de billes de polystyrène allant de 10 à 10 k billes / ml (Figure I.9). Le dispositif proposé présente une sensibilité de 350 mV/FF.

En raison de sa compacité, de sa réponse rapide et de sa faible complexité de mise en œuvre, le microsystème proposé peut être utilisé comme une alternative efficace aux processus de suivi de prolifération cellulaire, traditionnellement gourmand en main-d'œuvre.

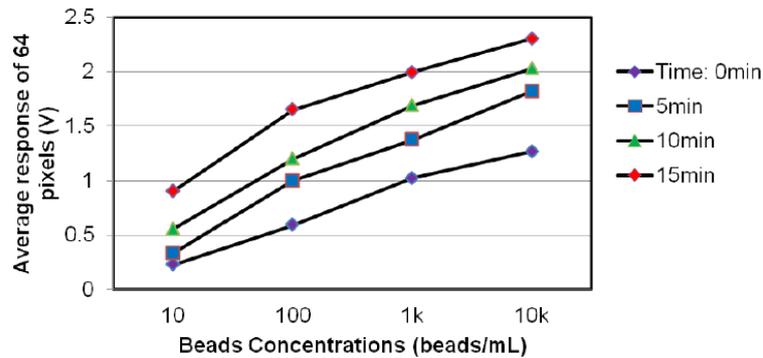


Figure I. 8. Réponse de la puce à des suspensions de billes de polystyrène diluées dans de l'eau déionisée, de concentrations respectives 10 000 billes / ml à 10 billes / ml [44].

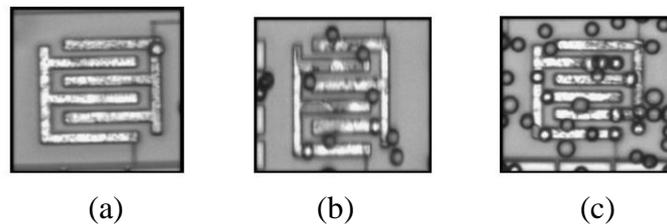


Figure I. 9. Photographie d'un pixel du capteur capacitif en présence de billes sur les électrodes interdigitées, (a): 100 billes / ml, (b): 1000 billes / ml, (c): 10 000 billes / ml [44].

I.5.4. Couplage de la microfluidique et des technologies CMOS pour la réalisation des capteurs biologiques

Les systèmes CMOS offrent de nombreux avantages par rapport aux instruments analytiques plus volumineux et classiques. La capacité de miniaturisation de ces technologies (avec des motifs de résolution micrométrique) a l'avantage de rester compatible avec les technologies microfluidiques. En effet, la microfluidique est la science permettant de traiter de petits volumes d'échantillons, notamment des fluides, de l'ordre de 10^{-9} à 10^{-18} litres, immergés dans des canaux dont les échelles sont micrométriques [45]. La réduction des quantités du fluide permet ainsi une meilleure résolution d'analyse et donc une meilleure sensibilité de détection. La co-intégration potentielle de cette technologie avec des systèmes de capteurs haute sensibilité contribue fortement au développement actuel des « Lab-On-a-Chip ». Le couplage de la microfluidique et des technologies CMOS semble être pertinent pour la réalisation des biocapteurs instrumentés en permettant potentiellement :

- ✓ De miniaturiser fortement le système contribuant à la réduction du volume minimal de l'échantillon à caractériser et un contrôle plus précis du débit des liquides souhaités dans

les canaux microfluidiques, généralement sous régime laminaire (écoulement linéaire du liquide) ;

- ✓ De minimiser la consommation de réactifs et d'échantillons à analyser ;
- ✓ De favoriser des temps de réaction, de manipulation et de caractérisation courts, qui peuvent être réalisées en quelques dizaines de secondes au lieu des dizaines de minutes nécessaires avec les technologies conventionnelles [46] ;
- ✓ De pouvoir travailler, dans le cas de la détection cellulaire, à l'échelle d'une cellule individuelle ;
- ✓ De nécessiter une faible consommation électrique ou énergétique ;
- ✓ D'être portable et de présenter à priori un faible coût de production ;
- ✓ De permettre une co-intégration du dispositif de caractérisation, des fonctions électroniques et du traitement des données, directement implémentables sur la même puce englobant donc la partie microfluidique, la partie manipulation et caractérisation de l'échantillon biologique et la partie électronique de génération des signaux, de commande et de traitement de l'information.

L'ensemble de ces avantages font des microsystèmes de biodétection ou bioanalyse CMOS, une alternative compétitive et attrayante pour de nombreuses applications en biologie. Nous allons donc voir dans le paragraphe suivant quelques travaux de recherche représentatifs issus de la littérature et notamment appliqués aux problématiques de spectroscopie diélectrique. Nous présenterons tout d'abord quelques exemples de biocapteurs mettant à profit des techniques d'analyse par spectroscopie diélectrique, sans pour autant avoir été développés en technologie CMOS dans l'objectif de faire une étude comparative par la suite.

I.6. Caractérisation des liquides et échantillons biologiques par spectroscopie diélectrique

I.6.1. Méthode hyperfréquence pour la caractérisation de liquides biologiques

Il a été montré dans la littérature que la caractérisation diélectrique de liquides dans la gamme radio et hyperfréquence, peut s'appuyer sur différents types d'approches telles que les techniques de caractérisation large bande en réflexion [47], en transmission [48] ou encore celles basées sur des structures résonantes [49]. Comme nous l'avons expliqué dans le paragraphe I.3, pour pouvoir détecter, analyser et caractériser des liquides ou des suspensions d'éléments biologiques, il semble pertinent de développer des capteurs capables de fonctionner

à des fréquences situées dans les zones de dispersion, là où les propriétés diélectriques varient fortement en fonction de la fréquence. Ceci permet en effet d'atteindre des niveaux de sensibilités de détection bien plus importants.

Des recherches au sein de l'institut de recherche XLIM [50], [51] ont proposé un capteur hyperfréquence permettant la caractérisation de petits volumes de liquides sur une large bande de fréquence (400 MHz – 8 GHz). Il s'agit d'un capteur capacitif RF permettant de caractériser des volumes très petits (de l'ordre du nanolitre) par spectroscopie diélectrique hyperfréquence. Le capteur est basé sur une ligne microruban présentant en son centre une discontinuité formant ainsi une capacité en série qui va servir d'élément sensible. Ce capteur utilise un canal microfluidique afin de guider le liquide jusqu'à la zone d'analyse. Une fois calibré correctement, ce capteur permet de mesurer les propriétés diélectriques intrinsèques d'un milieu liquide inconnu (Figure I.10).

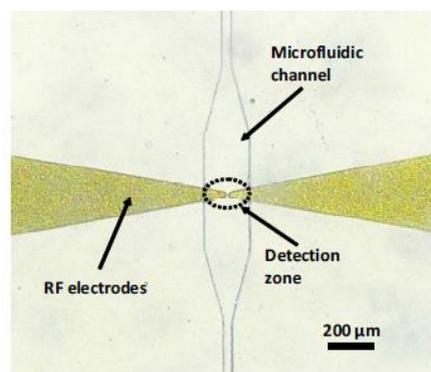


Figure I. 10. Vue au microscope de la zone d'analyse du capteur hyperfréquence [50].

Le principe de mesure consiste à suivre en temps réel l'évolution de la capacité du capteur en fonction des caractéristiques diélectriques du liquide en suspension. En effet, les caractérisations effectuées sur des liquides de référence (eau déionisée (DI) et des mélanges d'éthanol dans de l'eau DI) avec ce dispositif, ont montré un bon accord avec les mesures effectuées à une échelle macroscopique (Figure I.11 et I.12). Comme le montrent les résultats, cette approche permet de caractériser des liquides avec une précision de l'ordre de 5 %. En revanche, la sensibilité de ce capteur ne permet pas de détecter de faibles capacités inférieures au femtofarad et le temps nécessaire pour une caractérisation nécessite quelques minutes.

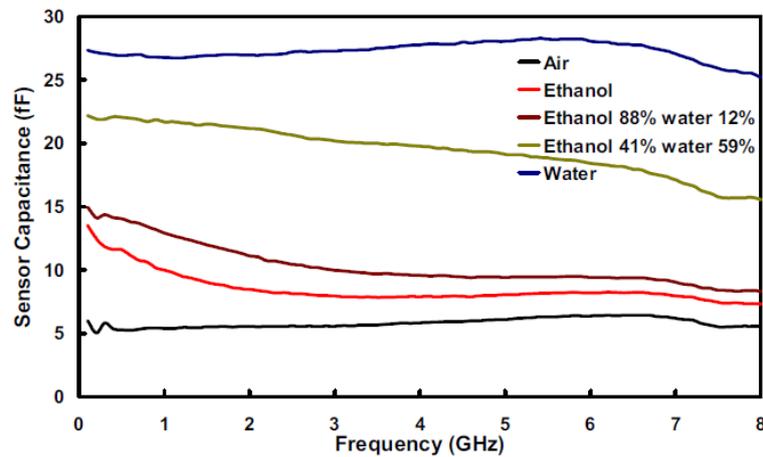


Figure I. 11. Variation de la capacité du capteur en fonction de la fréquence lorsque le canal microfluidique du capteur est rempli de différents mélanges d'éthanol dans de l'eau DI [51].

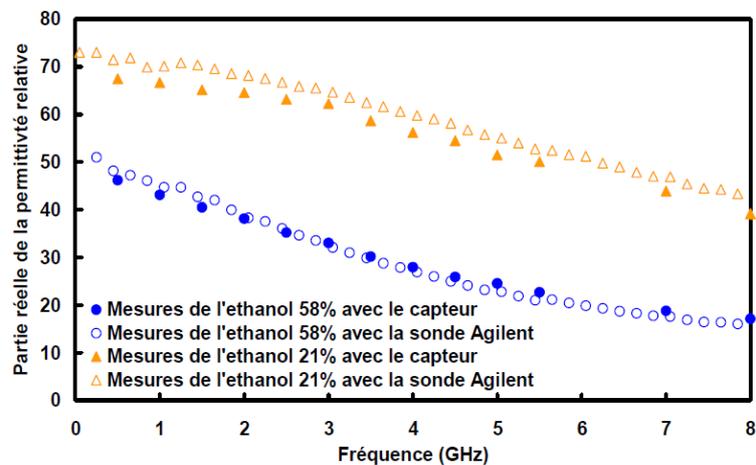


Figure I. 12. Comparaison de la partie réelle de la permittivité relative mesurée avec une sonde coaxiale (symboles vides) et avec le capteur (symboles pleins) [51].

Michael A. Suster *et al.*, ont développé une autre topologie intéressante dans [52]. Leur capteur est basé sur une structure capacitive à plaques parallèles formée de deux électrodes en or séparées par un gap de 400 μm , et d'une électrode en or flottante intégrée dans un canal microfluidique constituant ainsi une zone de détection capacitive 3D. Le capot du canal microfluidique est fabriqué en polyméthacrylate de méthyle (PMMA). L'électrode flottante est déposée ainsi sur la face supérieure interne du capot de façon à maintenir un champ électromagnétique constant dans la zone de détection. Lorsqu'un fluide traverse cette zone, l'impédance du capteur va donc varier en fonction de la permittivité diélectrique du liquide (Figure I.13).

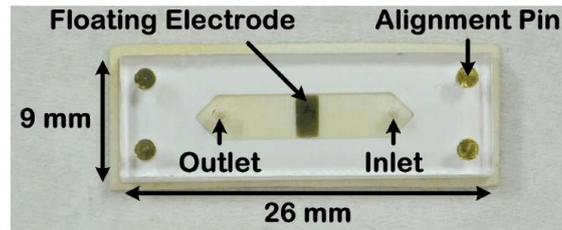
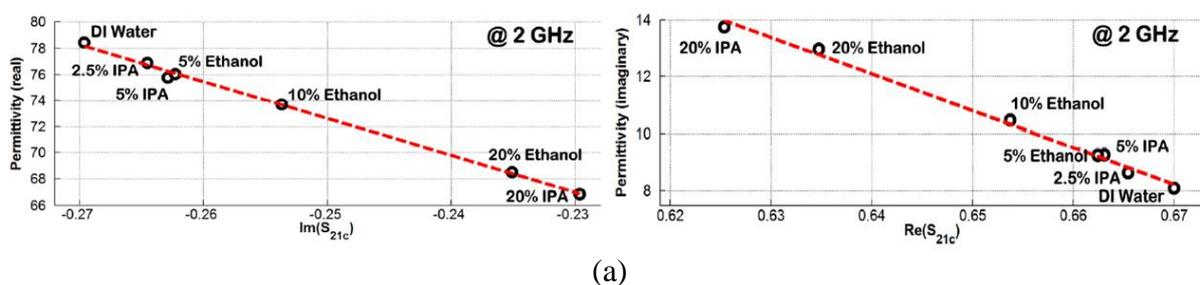


Figure I. 13. Photo du capteur fabriqué [52].

Le capteur a été tout d'abord calibré à l'aide de liquides de référence comprenant de l'eau déionisée (DI), des mélanges d'eau DI avec de l'éthanol (5%, 10%, 20%) et des mélanges d'eau DI avec de l'alcool isopropylique (IPA - 2,5%, 5%, 20 %). La permittivité des matériaux de référence a tout d'abord été mesurée avec un kit de sonde diélectrique commercial (Agilent 85070E) pour obtenir une permittivité de référence. Une fois caractérisés, les liquides sont ensuite introduits dans le capteur pour extraire des courbes d'étalonnage, à partir du paramètre de transmission S_{21} , qui servent par la suite à calculer la partie réelle et imaginaire de la permittivité des échantillons à caractériser (Figure I.14(a)).

Un mélange de 2,5% d'éthanol dans de l'eau et 10% d'alcool isopropylique (IPA) dans de l'eau, a ensuite été injecté dans le capteur et le paramètre S_{21} a été mesuré avec un analyseur de réseau vectoriel (VNA). Les résultats de mesure du capteur sont présentés sur la Figure I.14(b), ainsi que les mesures de référence (lignes continues). Les résultats montrent un bon accord. Les erreurs sur la partie réelle et imaginaire pour le mélange à 2,5% d'éthanol dans de l'eau sur toute la bande de fréquences allant de 14 MHz à 6,5 GHz étaient respectivement de 0,21 % et 0,11 %, tandis que celles correspondantes pour le mélange à 10% d'IPA dans de l'eau étaient de 0,39 % et 0,49 %. Ce capteur offre une bonne sensibilité de mesure, par contre sa topologie reste assez compliquée à réaliser et à mettre en œuvre et nécessite plusieurs étapes de fabrication.



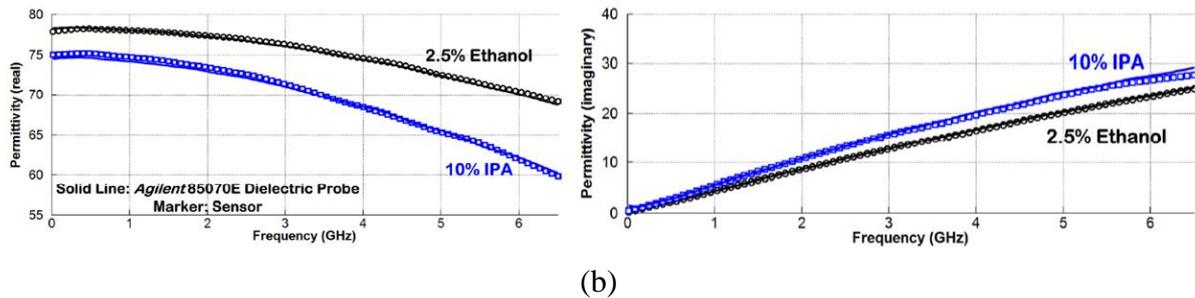


Figure I. 14. (a) Courbes d'étalonnage (b) parties réelles et imaginaires de la permittivité en fonction de la fréquence de 14 MHz à 6,5 GHz mesurées pour l'éthanol et l'alcool isopropylique [52].

Des capteurs hyperfréquences avec une approche laboratoire sur puce ont été également développés pour caractériser des liquides. Leur principe est basé sur l'utilisation de capacités interdigitées implémentées sur des lignes de transmission coplanaires. Par exemple, T.Chen *et al* [53] ont mis en œuvre une technique de caractérisation diélectrique de liquides dans la gamme du nanolitre allant de 40 MHz à 40 GHz. Ils ont développé pour cela un capteur microfluidique formé d'une capacité interdigitée (formant la zone d'analyse principale) et implémenté sur un guide d'onde coplaire. Un canal microfluidique a été couplé au dispositif facilitant la manipulation des liquides biologiques. La Figure I.15 présente le dispositif en question.

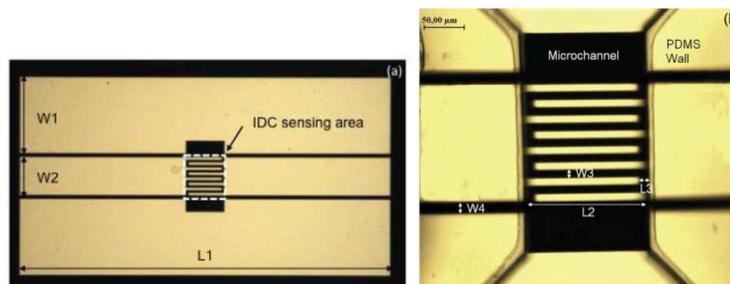


Figure I. 15. Exemple de capteur capacitif coplaire utilisable pour caractériser des liquides biologiques par spectroscopie hyperfréquence [53].

Le principe de cette méthode de caractérisation repose sur la mesure du changement de la valeur de la capacité interdigitée en présence de différents liquides sous test. Pour cela, l'injection de liquide dans le canal microfluidique est réalisée à l'aide d'un pousse seringue. Une procédure de calibration par « de-embedding » est utilisée pour soustraire l'effet des lignes d'accès coplanaires et remonter uniquement à la variation de capacité.

Des mélanges de 10% et 20% d'éthanol dans l'eau DI ont été utilisés pour calibrer le dispositif à partir de contrastes capacitifs générés par rapport à de l'eau pure. Par exemple, une diminution de la capacité du capteur respectivement de 30 fF et 60 fF a été mesurée à 13 GHz,

relative à la plus faible permittivité de ces mélanges, comme l'illustre la Figure I.16. D'autres analyses ont été menées avec des mélanges de liquides biologiques, notamment du sérum de vœux fœtal (FBS) dans l'eau qui est un élément constitutif des milieux de culture cellulaire. Ils utilisent un mélange de 5% et de 10% FBS dans de l'eau comme le FBS est un milieu à pertes. Comme on l'observe sur la Figure I.16, dans ce cas une variation capacitive bien plus faible est obtenue avec une sensibilité de détection de l'ordre de 0,1% selon les critères de définition de la sensibilité des auteurs.

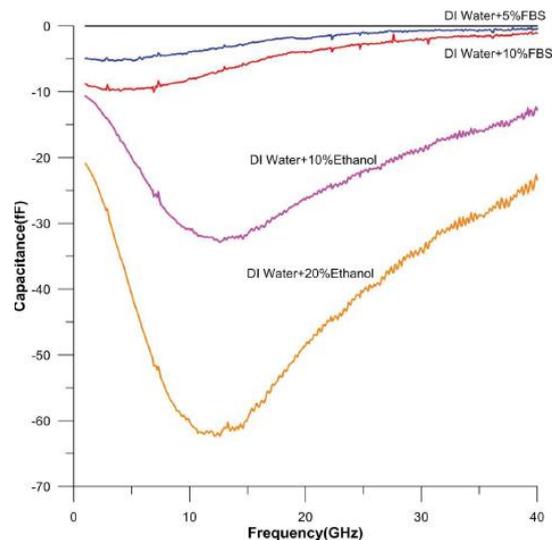


Figure I. 16. Variation de la capacité en fonction de la fréquence pour différents mélanges eau/éthanol et des liquides biologiques [53].

Cette approche permet de discriminer les différences de propriétés diélectriques de liquides avec un bon niveau de sensibilité, néanmoins, on verra dans la suite qu'un niveau de sensibilité bien plus élevé est également atteignable.

D'autres travaux ont été menés par Ali Abduljabar *et al*, [54]. Ils ont développé un capteur formé par un circuit résonant composé d'un anneau microruban à double gap (DSSR) pour détecter et déterminer les propriétés diélectriques de liquides comme l'illustre la Figure I.17. L'approche est basée sur l'étude des perturbations de la fréquence de résonance et du facteur de qualité d'un résonateur chargé par le liquide sous test. La fréquence de résonance du capteur (voisine de 3 GHz) change quand la capacité formée par les gaps est perturbée par le contenu d'un capillaire posé au-dessus des gaps du résonateur.

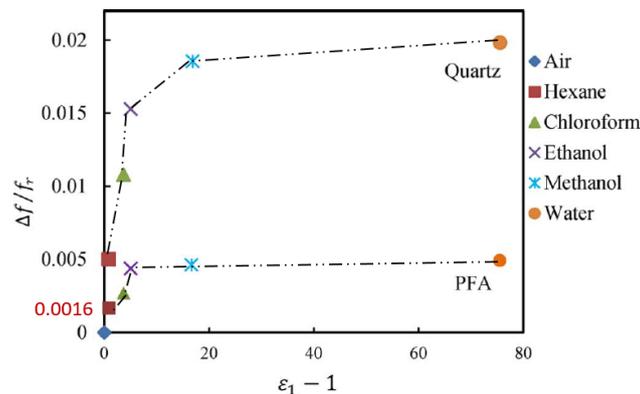
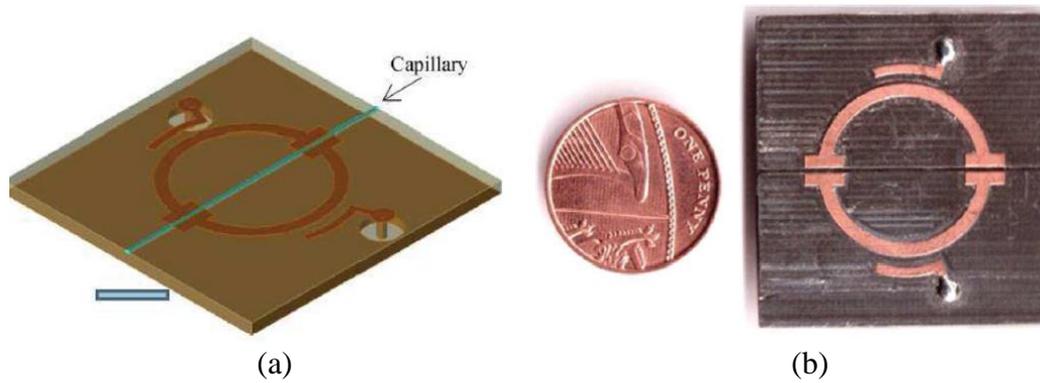


Figure I. 18. Tracé de la sensibilité mesurée en fonction de la permittivité ($\epsilon_r - 1$) [54].

Plusieurs types de solvants sont testés avec deux types de capillaires pour vérifier les performances du capteur : un capillaire en quartz et un capillaire en Perfluoralkoxy (PFA). L'objectif est d'extraire la permittivité complexe du liquide sous test à partir des mesures de la variation de la fréquence de résonance. Par exemple, pour les résultats mesurés en utilisant le capillaire en PFA (Figure I.18), on peut voir que le décalage de fréquence de résonance minimum se produit avec l'hexane (car il présente la plus faible permittivité) qui est de 5,17 MHz autour de 3,1 GHz, soit une sensibilité de détection de 0,16%. Ce type de structure montre des résultats intéressants. Selon les auteurs, les erreurs systématiques entre les résultats calculés et mesurés dans le cas de l'utilisation du tube PFA sont moindres que celles lors de l'utilisation du capillaire en quartz. De plus, les décalages de la fréquence de résonance obtenus dans le cas de l'utilisation du tube PFA sont inférieurs à ceux du capillaire en quartz parce que le volume du liquide chargé à l'intérieur du tube PFA (diamètre intérieur de 150 μm) est plus petit que celui dans le capillaire en quartz (diamètre intérieur de 300 μm).

I.6.2. Méthodes hyperfréquence pour la bio détection cellulaire

Nous allons nous focaliser dans ce paragraphe sur quelques méthodes de détection électrique qui ont été spécifiquement mises en œuvre pour la détection et l'analyse de cellules biologiques.

Des capteurs de permittivité diélectrique [55]–[57], basés sur un principe de mesure large bande ont suscité un fort intérêt pour caractériser des cellules biologiques. Dans [55], un biocapteur hyperfréquence muni de canaux fluidiques a été proposée par P.-E. Poleni *et al*, pour effectuer des analyses biologiques. Le principe repose sur l'introduction de cellules biologiques en suspension sur la structure de détection induisant une modification de sa réponse dans la bande de fréquence de 400 MHz à 35 GHz. La structure est composée d'une ligne de transmission coplanaire CPW implémentée au fond d'un canal fluide. La transmission du signal hyperfréquence au travers du capteur est modifiée en fonction du fluide qui passe à travers le canal fluide et agit sur l'impédance caractéristique de la ligne selon sa permittivité. Ce biocapteur a été utilisé pour caractériser des suspensions de cellules HUVEC immergées dans un milieu biologique de survie. Des variations significatives de la permittivité relative ont pu être mesurées pour diverses concentrations de suspension cellulaire. Un seuil de concentration cellulaire minimale de 35×10^6 cellules/mL a pu être ainsi détecté et caractérisé à 20 GHz. Ces résultats démontrent l'utilisation possible d'un tel capteur pour évaluer et quantifier la concentration cellulaire. Récemment, ces seuils de détection ont pu être améliorés par l'utilisation de topologies de capteur plus sensibles.

Hung-Wei Wu dans [57], a développé un biocapteur basé sur une ligne de transmission coplanaire pour la caractérisation diélectrique sans marquage de cellules humaines d'hépatome (HepG2), de carcinome du poumon (A549) et d'adénocarcinome de l'endomètre (HEC-1-A). Ce biocapteur opère également sur une large bande de fréquence [1-40 GHz]. Les cellules situées dans la zone de détection représentent une perturbation diélectrique pour la capacité. Sa sensibilité de détection minimale capacitive dépend du type et de la densité de la lignée cellulaire analysée. Elle est globalement équivalente à quelques femtoFarads.

Une autre étude a été menée par T.Chen *et al* dans [58] dans la même gamme de fréquence, montrant qu'il est possible de discriminer des cellules vivantes de cellules mortes et cela dans leur milieu de culture qui contient une forte concentration ionique. Les capteurs utilisés ont permis de reconnaître des cellules de lymphome vivantes et mortes au moyen d'une

capacité coplanaire interdigitée implémentée dans un canal microfluidique (Figure I.19). Une telle structure permet de réaliser une spectroscopie diélectrique large bande sur des cellules dans leur milieu de culture conventionnel et d'identifier leur état physiologique sur la base de signatures hyperfréquences bien distinctes. Les auteurs ont démontré que cette distinction peut être faite non seulement grâce au contraste capacitif présent (entre les cellules sous test et leur milieu de culture, lié à une différence de la permittivité réelle entre la cellule et le milieu dans lequel elle surnage), mais également par un contraste de conductance, dû à une modification de la partie imaginaire de la permittivité des cellules, en fonction de leur état physiologique.

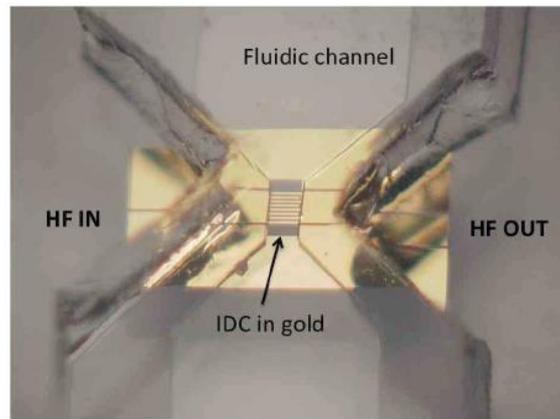


Figure I. 19. Biocapteur capacitif coplanaire couplé à un canal fluidique [58].

Ce dispositif permet également de quantifier et détecter la présence de quelques dizaines de cellules dans leur milieu de culture [59]. La Figure I.20 présente, en effet, la distribution des cellules dans la zone d'analyse qui a permis d'évaluer ces seuils de détection.

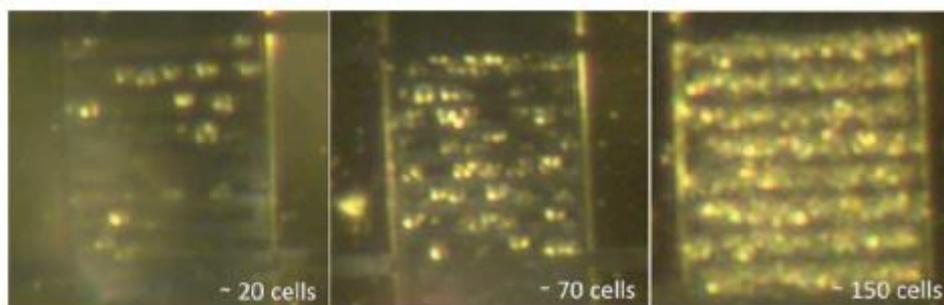


Figure I. 20. Distribution de cellules dans la zone de détection pour des concentrations faibles, moyennes et élevées de cellules [59].

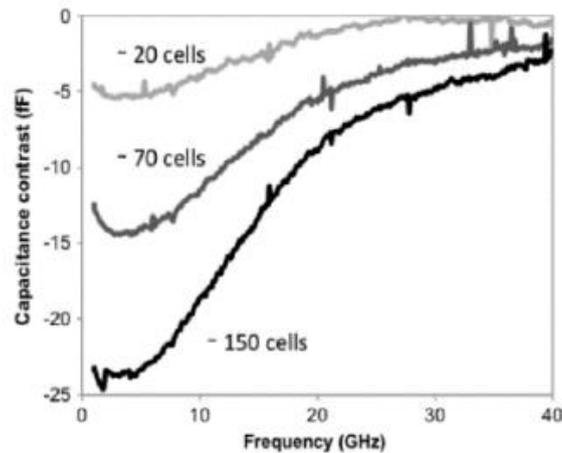


Figure I. 21. Contraste capacitif pour différentes concentrations de cellules en suspension [59].

La Figure I.21 présente le contraste capacitif mesuré en fonction de la fréquence pour différentes concentrations de suspensions de cellules vivantes de Lymphomes B. Ces cellules sont immergées dans un milieu RPMI « Roswell Park Memorial Institute Medium », considéré comme milieu de référence pour l'étalonnage de contraste. Le contraste capacitif généré par cellule a été évalué à 0,2 fF en tenant compte qu'un tel capteur doit avoir, selon les auteurs, un niveau de sensibilité voisin de 0,1 fF. L'analyse d'une cellule unique semble par conséquent complexe à réaliser à partir d'un tel capteur. En effet, cet exemple montre l'intérêt d'optimiser la géométrie de la zone de détection pour en maximiser la sensibilité dans l'objectif de détecter de très faibles variations capacitives.

Dans [17], [60], les mêmes auteurs ont cherché à améliorer ce concept pour détecter une cellule biologique unique. Ils ont développé un nouveau biocapteur radiofréquence (RF) capable de piéger individuellement une cellule vivante dans son milieu de culture (Figure I.22). Ce dispositif est basé sur une ligne de transmission coplanaire, discontinue, qui forme une capacité de détection très localisée aux dimensions compatibles avec la taille d'une cellule unique (de l'ordre de 10 μ m de diamètre). Cette ligne coplanaire est implémentée sur un substrat faible pertes en quartz. La cellule biologique est localisée au centre de cette capacité par piégeage mécanique. En fait, un bloqueur en résine SU-8 est implémenté dans le canal microfluidique pour immobiliser la particule dans la zone de détection là où le champ électromagnétique va être concentré.

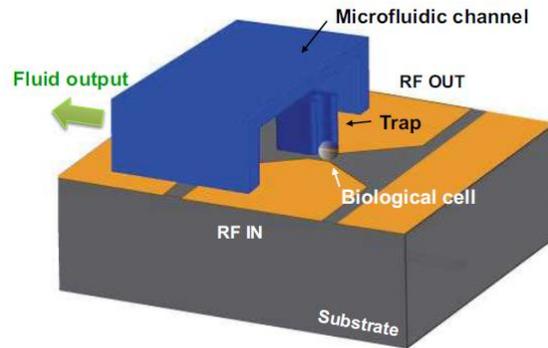


Figure I. 22. Schéma de principe d'un biocapteur RF pour piéger une cellule individuelle [60].

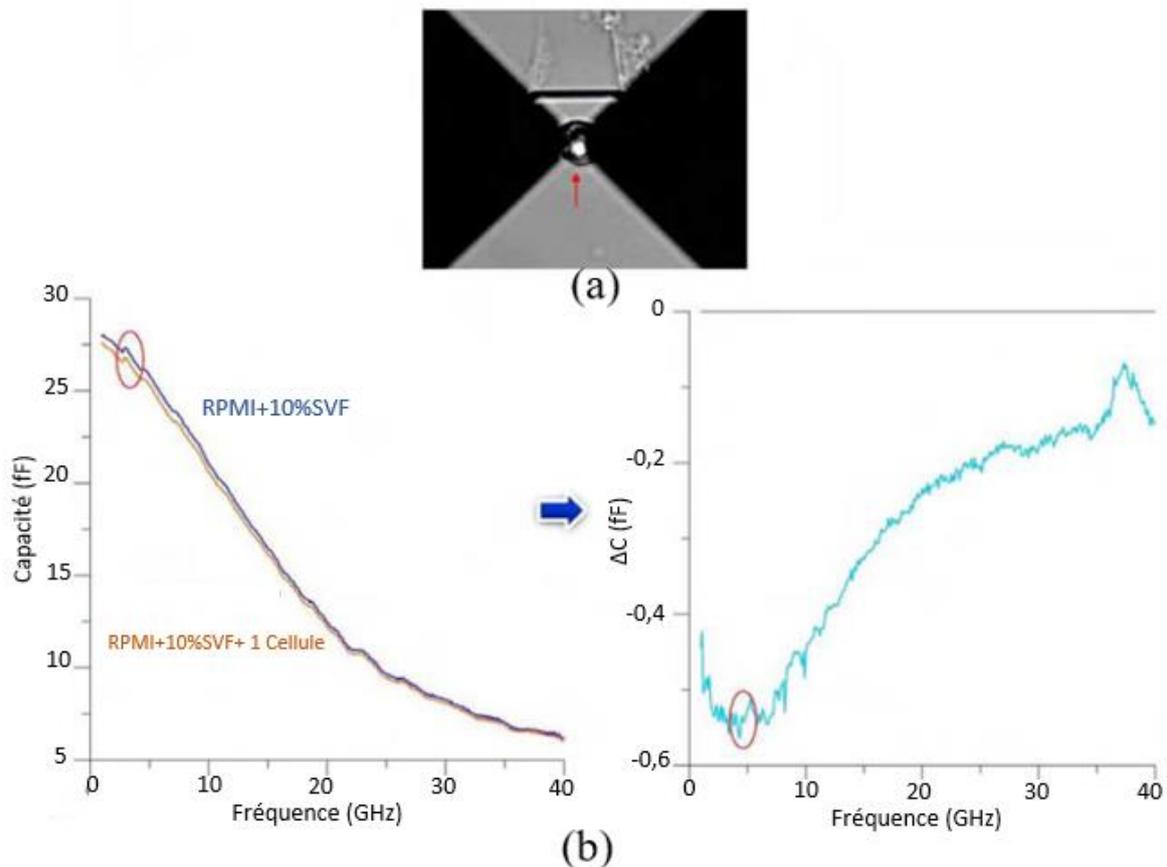
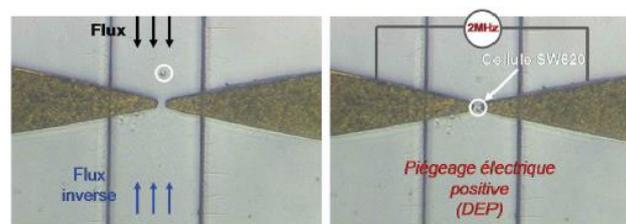


Figure I. 23. (a) Photo réelle d'une cellule piégée sur le biocapteur, (b) Contrastes capacitifs mesurés en présence d'une cellule vivante unique de lymphome B dans son milieu de culture [17].

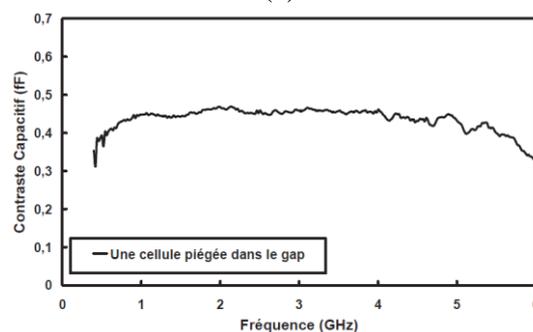
Lorsqu'une particule est piégée au niveau du bloqueur dans la zone d'analyse, la valeur de la capacité change du fait que la différence de permittivité relative entre la cellule et le milieu liquide. Des mesures de paramètres S permettent de quantifier ce changement de valeur. Tout d'abord, une mesure est réalisée avec le milieu de culture (RPMI+10%SVF) en l'absence de la particule comme mesure de référence, puis, elle est comparée à une mesure avec une cellule immobilisée. Un contraste capacitif en fonction de la fréquence est calculé entre la présence et l'absence de cellule sur le capteur. La Figure I.23(a) illustre un exemple d'une cellule

immobilisée au centre du capteur. La Figure I.23(b) présente les résultats d'extraction du contraste capacitif entre le milieu de culture et cette cellule dans ce même milieu. Les résultats obtenus montrent que ce dispositif présente une sensibilité de détection suffisante pour détecter une seule cellule biologique. Il permet en effet de pouvoir mesurer de très faibles contrastes capacitifs ΔC égal ici à 0,56 fF autour d'une capacité de 27,5 fF en l'absence de la cellule, à 5 GHz, soit une sensibilité de détection capacitive de 2%.

Sur un principe similaire, le capteur présenté dans le paragraphe I.6.1 [51], a été adapté afin de pouvoir caractériser des particules en suspension dans un milieu osmotique. Une fois le canal microfluidique rempli d'un milieu composé d'eau DI et de sucrose, les cellules en flux sont introduites dans le capteur. Le flux est ajusté pour donner aux cellules une vitesse modérée et une tension sinusoïdale de fréquence 2 MHz est appliquée entre les électrodes de façon à pouvoir piéger par diélectrophorèse une seule cellule dans la zone de détection comme l'illustre la Figure I.24(a). Le changement de capacité résultant est calculé à partir des mesures de paramètres S avant le piégeage des cellules (mesure de référence) et en présence de la cellule. La Figure I.24(b) présente le contraste capacitif obtenu avec ce capteur lorsqu'une seule cellule biologique issue de la lignée SW620 (lignée d'étude dans le cancer colorectal) est piégée dans la zone d'analyse. Le contraste maximal est obtenu à 2 GHz avec une valeur proche de 0,4 fF autour d'une valeur de capacité de référence de 35 fF soit une sensibilité de détection capacitive de 1,14 %.



(a)



(b)

Figure I. 24. (a) Photographie d'une cellule piégée, (b) Contraste capacitif pour une seule cellule [61].

Sur un autre principe, Y. Yang *et al.* [62] ont développé un dispositif de détection basé sur le principe d'un interféromètre qui utilise la perturbation d'un mode de résonance pour discriminer des particules diélectriques de manière individuelle. Ils ont proposé un capteur opérant à 5 GHz, capable de détecter la présence d'une seule cellule de levure et de distinguer sa viabilité. L'architecture du dispositif est présentée sur la Figure I.25. Il est constitué deux diviseurs de puissance de Wilkinson qui permettent de réaliser la combinaison avec une opposition de phase de deux signaux : l'un utilisé comme référence et un autre interagissant avec l'échantillon cellulaire à analyser. La différence de phase de 180° est atteinte en ajustant la longueur électrique l_2 par rapport à l_1 .

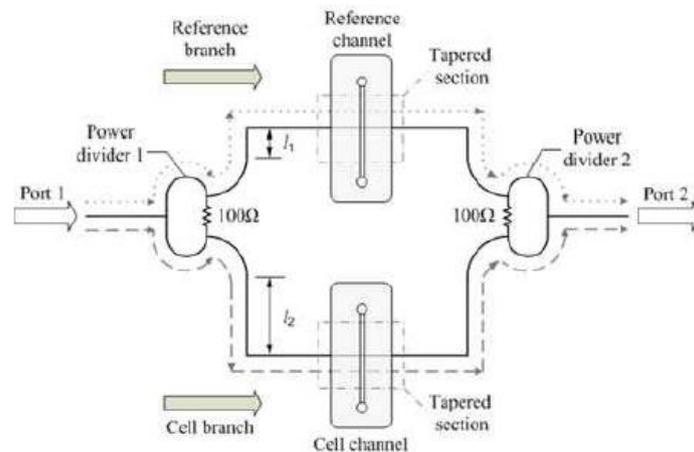


Figure I. 25. Schéma de principe du capteur interférométrique [62].

Ce capteur est basé sur l'implémentation de guides d'onde coplanaires en cuivre (CPW), réalisés sur un substrat en quartz de 500 μm d'épaisseur. La zone de détection est formée par une section conique, adaptée à la taille des échantillons à analyser, permettant de maximiser la sensibilité en concentrant le champ électromagnétique dans une petite zone de détection. Un polymère SU-8 est utilisé pour former les canaux microfluidiques (de référence et de détection) du capteur grâce à un procédé de photolithographie standard. Le canal de référence est rempli avec de l'eau déionisée et le canal de détection est rempli avec une suspension de particules suspendues dans l'eau. Pour les refermer, deux capots rectangulaires en polydiméthylsiloxane (PDMS), de 2 mm d'épaisseur ont été utilisés.

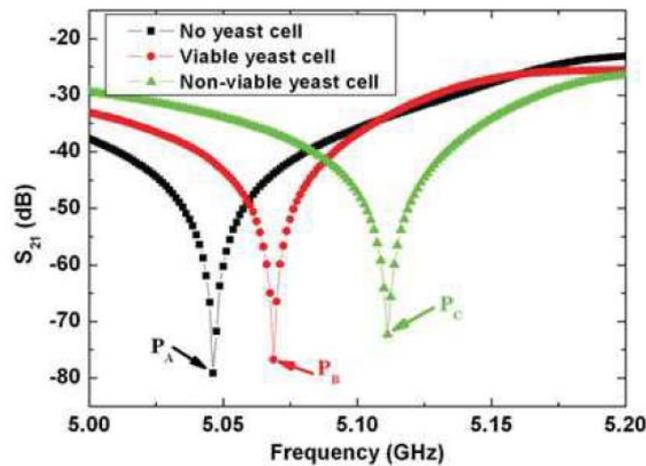


Figure I. 26. Variation du paramètre de transmission mesuré pour différentes suspensions en fonction de la fréquence [62].

Les cellules de levure viables et non viables caractérisées présentent un diamètre voisin de $5,83 \pm 0,85 \mu\text{m}$. La Figure I.26 montre les résultats de mesures d'une seule cellule de levure viable dans la zone de détection. Cette dernière modifie à la fois l'amplitude et la fréquence du phénomène de résonance de 3 dB et ~ 15 MHz, respectivement par rapport au point P_A de référence en l'absence de la cellule. Le point P_A se déplace vers un point P_B de fréquence plus élevée ce qui indique que la cellule de levure viable présente une permittivité inférieure à celle de l'eau à 5 GHz. En présence d'une cellule de levure non viable, le point P_A se décale en P_C avec 7 dB et ~ 65 MHz de différence. Les différences entre le point P_C et le point P_B sont de 4 dB et ~ 40 MHz. Ce décalage de fréquence indique également que la permittivité des cellules de levure non viables est inférieure à celle des cellules de levure viables. En effet, les différences entre ces trois mesures indiquent que la présence de cellules de levure non viables peut bien être identifiée au sein d'une population de cellules de levure. Ainsi, le capteur proposé est capable de caractériser l'état physiologique d'une seule cellule avec un décalage de la fréquence de résonance de 15 MHz autour de 5 GHz soit une sensibilité de détection de l'ordre de 0,3%.

En exploitant un principe de résonance similaire, P. Huang présente dans [63], un biocapteur basé sur un résonateur hyperfréquence Hairpin (Figure I.27) muni d'une structure de piégeage de cellules biologiques implémenté dans un canal microfluidique. Le capteur a été fabriqué en utilisant un procédé de photolithographie standard et la technologie d'électroformage. Le principe de mesure est assez simple. Dans un premier temps, une mesure des paramètres S du biocapteur a été réalisée à vide, il présente alors une fréquence de résonance d'environ 2,2 GHz. Puis, un milieu biologique de référence DMEM (Dulbecco's modified Eagle's medium) est injecté dans le canal. Une nouvelle mesure de paramètre S est réalisée. Des cellules de mélanome B16F10 en suspension dans ce milieu sont ensuite injectées dans le

canal microfluidique du capteur. Elles sont transportées facilement dans le microcanal par le milieu et certaines sont arrêtées par les structures de piégeage des cellules situées dans la zone de détection, au niveau du gap du résonateur.

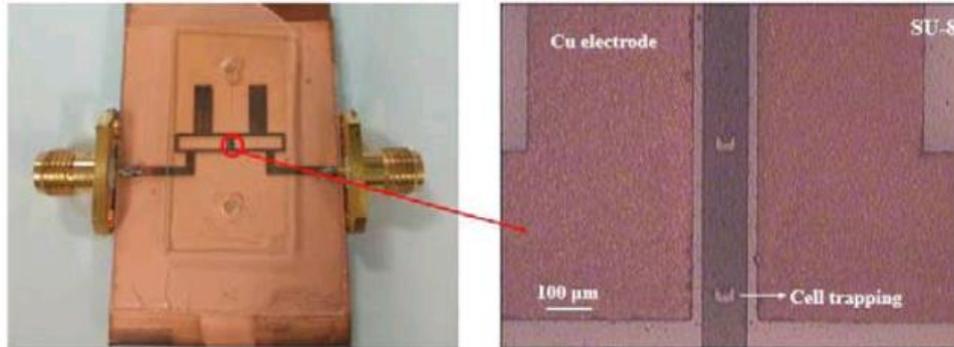


Figure I. 27. Photographie du biocapteur résonateur en Hairpin (a) et du piégeage des cellules SU-8 structures (b) [63].

Lorsque des cellules passent par la zone de détection, cela induit une atténuation du paramètre de réflexion S_{11} . Un changement de S_{11} de 1,63 dB a été mesuré en présence d'une seule cellule. La Figure I.28 montre les pics de résonance du signal réfléchi dans ce cas. Ces travaux démontrent le potentiel de tels capteurs résonants pour détecter la présence de cellules avec des niveaux de précision compatible avec des analyses sur cellule unique.

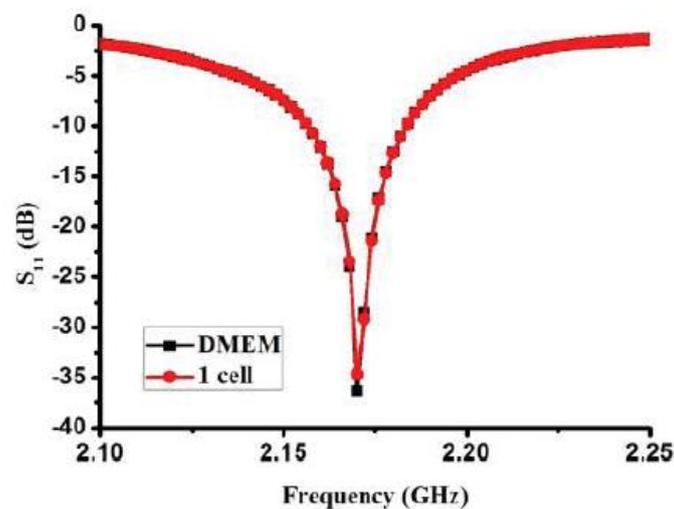


Figure I. 28. Réponses S_{11} mesurées d'une cellule de mélanome B16F10 qui a été piégée au niveau de la zone de détection [63].

I.6.3. Performances des systèmes de détection hyperfréquences pour la caractérisation de liquides/microparticules

L'ensemble des travaux qui ont été présentés dans le paragraphe précédent, mettent à profit la spectroscopie diélectrique pour la caractérisation de liquides biologiques et de cellules biologiques. Dans ce paragraphe, nous allons synthétiser les performances des microsystèmes les plus représentatifs développés jusqu'à présent pour caractériser les propriétés diélectriques d'échantillons biologiques (Tableau I.1).

Tableau I.1. Comparaison des performances des systèmes de détection hyperfréquences « passifs »

Référence	[51]	[52]	[53]	[54]	[60]	[61]	[62]
Type d'élément diélectrique sous test	Liquides				Particules		
	Mélange éthanol/eau	Mélange IPA /eau	Mélange FBS/eau	Hexane	Lymphome B	Cancer colorectal	Cellules de levure
Fréquence de fonctionnement	400 MHz- 8 GHz	14 MHz - 6,5 GHz	40 MHz- 40 GHz	5 GHz	40 MHz-40 GHz	400 MHz- 8 GHz	5 GHz
Sensibilité	n.a	n.a	~0,1%	0,16%	2% (à 5 GHz)	1,14% (à 2 GHz)	0,3%

Toutes ces caractéristiques font de ces microsystèmes basés sur une détection électrique capacitive, des dispositifs de caractérisation hyperfréquence à très fort potentiel pour analyser des échantillons biologiques. Chacun de ces systèmes présente une zone de détection qui a été optimisée au mieux pour atteindre une sensibilité permettant de détecter des différences de concentration au sein de suspensions de particules biologiques ou de mélange de liquides. En revanche, on remarque, d'après le tableau, que le niveau de sensibilité de détection peut ne pas être suffisant pour répondre aux challenges de l'analyse de la cellule unique en flux continu.

Dans cet objectif, nous avons vu dans le paragraphe I.5.3 que les technologies CMOS ouvraient de nouvelles possibilités en termes de diagnostic puisqu'elles permettent de miniaturiser la structure du dispositif et d'intégrer des fonctions hyperfréquences très performantes, potentielles sources de meilleure sensibilité de détection.

Dans le paragraphe suivant, nous allons présenter des solutions qui illustrent ce potentiel en combinant la technologie CMOS avec des dispositifs hyperfréquences pour de la spectroscopie diélectrique.

I.7. Biocapteurs actifs CMOS hyperfréquences microfluidiques appliqués à la caractérisation de liquides et de cellules biologiques

I.7.1. Biocapteurs CMOS pour la caractérisation de liquides

Nous avons vu précédemment l'intérêt de coupler les technologies CMOS et les « laboratoires sur puce ». A présent, nous allons présenter quelques travaux phares qui s'intéressent au développement de dispositifs hyperfréquences CMOS pour la spectroscopie diélectrique. Par exemple, les travaux de M. Bajestan *et al*, ont mis en avant un système de spectroscopie diélectrique CMOS large bande (0,62 - 10 GHz) permettant la caractérisation de liquides [64]. Ce système permet de mesurer la permittivité complexe d'un liquide mis sous test. L'élément de détection est basé sur une capacité interdigitée comme l'illustre la Figure I.29, dont l'admittance change en fonction de la permittivité complexe de l'échantillon.

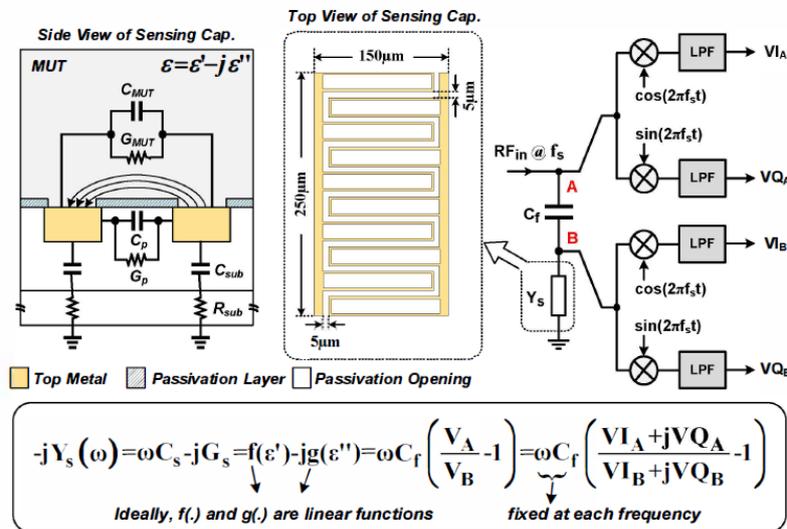


Figure I. 29. Schéma de principe du système de mesure des propriétés diélectriques d'un liquide [64].

L'élément de détection est ici intégré dans une topologie de diviseur de tension avec une capacité fixe C_f . Cette capacité est alimentée par un signal RF de fréquence ajustable. Aux bornes A et B de cette capacité, sont connectés des mélangeurs I/Q dont les sorties sont filtrées pour éliminer les produits haute fréquence et récupérer les signaux DC (V_{I_A} , V_{Q_A} , V_{I_B} et V_{Q_B}). Ces signaux DC portent des informations sur les variations relatives de l'amplitude et de la

phase des tensions aux bornes de la capacité C_f . Toute variation de la permittivité se traduit par une variation de l'amplitude et de la phase aux bornes A et B.

Pour mesurer la permittivité de l'échantillon, le capteur doit être d'abord étalonné en utilisant des liquides de référence à la fréquence de détection. L'air, le méthanol, l'éthanol, le butan-1-ol et le diméthylsulfoxyde (DMSO) ont été utilisés comme référence d'étalonnage. Par régression linéaire, des équations sont établies à partir des mesures de ces liquides d'étalonnage (Figure I.30). Ces équations sont ensuite utilisées pour extraire la permittivité du liquide sous test.

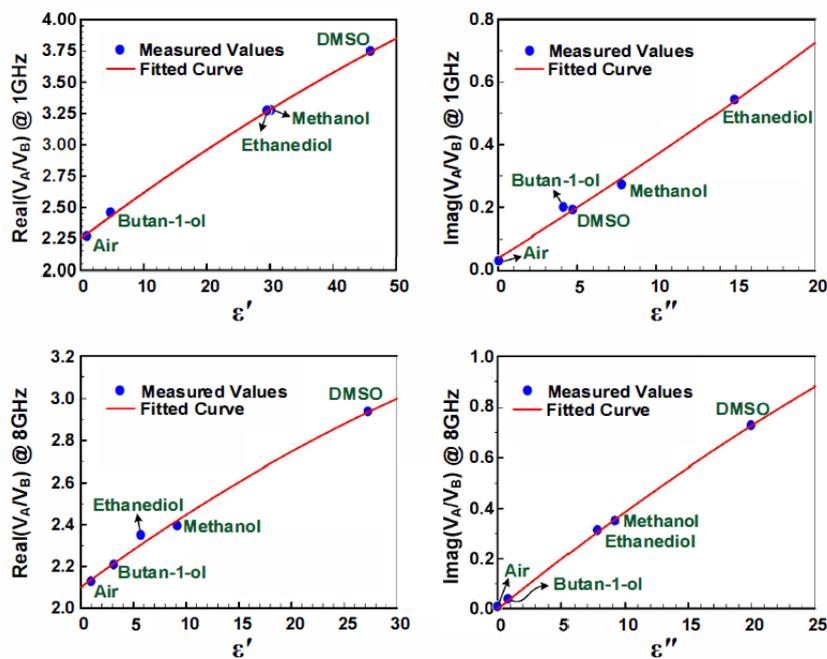


Figure I. 30. Mesures des parties réelle et imaginaire de V_A/V_B en fonction des propriétés diélectriques, à 1 GHz et à 8 GHz de différentes références d'étalonnage [64].

La figure I.31 montre les résultats de mesure de la permittivité complexe pour l'éthanol et le propanol-1 en fonction la fréquence. Le dispositif présente une très bonne précision de mesure avec une erreur de mesure de moins de 1% sur la valeur de la permittivité complexe sur toute la plage de fonctionnement de 0,62 à 10 GHz.

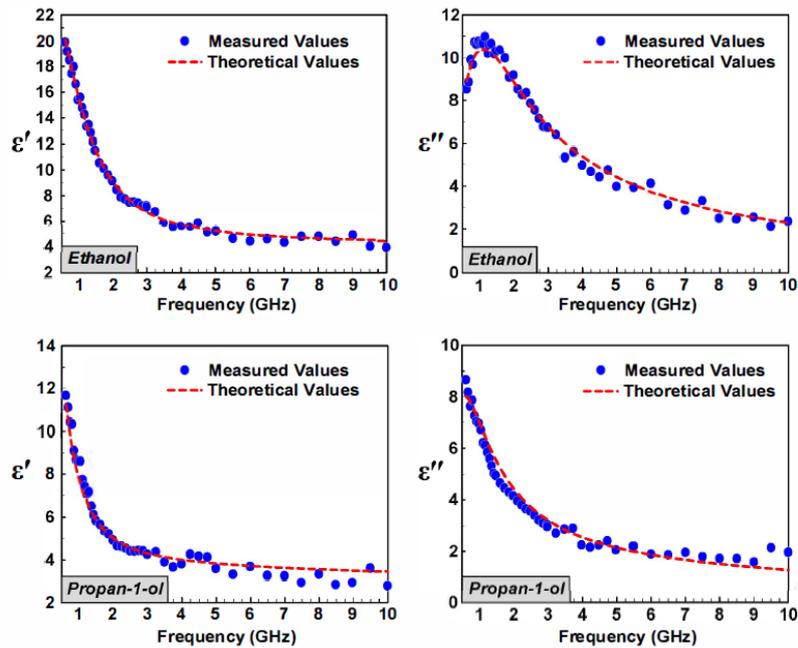


Figure I. 31. Mesures des parties réelle et imaginaire en fonction de la fréquence pour l'éthanol et propanol [64].

Une autre approche pour caractériser des liquides a été proposé par A.Helmy [65]. Il a conçu un système de détection constitué d'un capteur capacitif intégré implémenté à l'intérieur du résonateur LC d'un oscillateur commandé en tension (VCO). La Figure I.32 présente une photographie de la puce fabriquée.

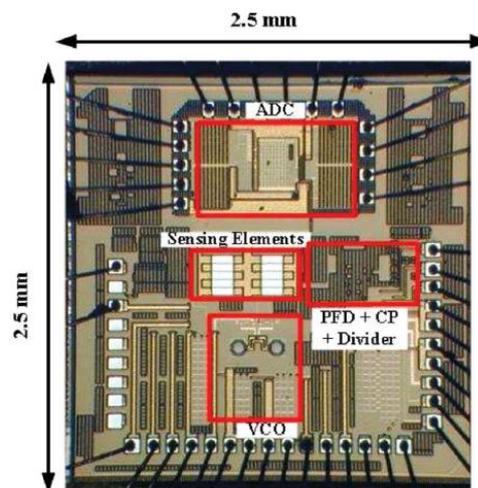


Figure I. 32. Puce du capteur diélectrique à base de PLL [65].

Lorsque le liquide sous test passe par la zone de détection, cela se traduit par une variation de la capacité du résonateur induisant un changement de la fréquence de résonance de ce dernier et donc un changement de la fréquence d'oscillation libre du VCO. Pour permettre l'analyse et le traitement de l'information, ce VCO est inséré dans une boucle à verrouillage de phase « Phase Locked Loop (PLL) ». La variation de la fréquence libre du VCO est convertie

en une variation de la tension de commande du VCO. De cette façon, il a été possible, en générant un signal haute fréquence sur la puce, d’avoir directement accès à l’information recherchée en mesurant la tension de commande continue qui est de ce fait reliée à la permittivité de l’élément biologique sous test. Les décalages de fréquence obtenus lors de l’injection des liquides sont mesurés pour différents volumes (de 0,2 à 20 μL). À titre d'exemple, à la fréquence de détection de 8 GHz, l’introduction d’un volume de liquide de 20 μL d'acétate d'éthyle, induit une variation de fréquence de 220 MHz, soit une sensibilité de détection voisine de 2 %, comme l’illustre la Figure I.33, correspondant à une permittivité réelle de 5,9.

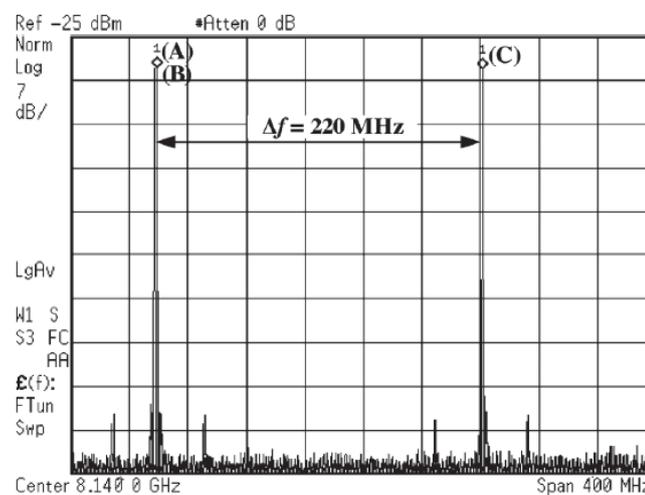


Figure I. 33. Spectre du signal de sortie à l’introduction du liquide d’acétate d’éthyle à 8 GHz et 20 μL [65].

Ce système est ainsi capable de mesurer la partie réelle de la permittivité diélectrique de produits chimiques ou des mélanges organiques dans la gamme de 7 à 9 GHz avec une erreur de 3,7% en comparaison avec leurs valeurs théoriques. Néanmoins, ce dispositif souffre d’un inconvénient notable qui réside dans l'utilisation d'un seul capteur VCO impliquant une procédure de mesure complexe en plusieurs étapes rendant les performances du système beaucoup plus sensibles aux variations de l'environnement.

D’autres travaux de recherches ont permis de développer un capteur, pour la spectroscopie diélectrique, entièrement intégré sur puce. Ainsi, l’architecture présentée sur la Figure I.34 co-intègre une ligne coplanaire avec un récepteur hétérodyne complet, permettant ainsi de pouvoir mesurer la permittivité complexe d’un liquide biologique dans une gamme de fréquence allant de 1 à 50 GHz [66].

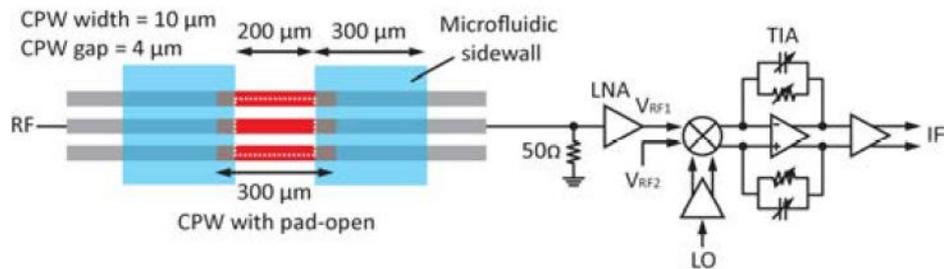


Figure I. 34. Architecture du capteur sur puce à récepteur hétérodyne [66].

Un modèle d'extraction robuste a été développé pour permettre une prédiction précise de la permittivité de l'échantillon nécessitant au préalable un étalonnage à partir de liquides de référence. La Figure I.35 montre l'évolution de la permittivité mesurée de l'alcool isopropylique (IPA) en fonction de la fréquence. Selon les auteurs, une sensibilité de 1% est atteinte à 20 GHz avec un volume de détection minimal requis de 0,09 nL. Pour cela, le prototype consomme une puissance totale de 114 mW.

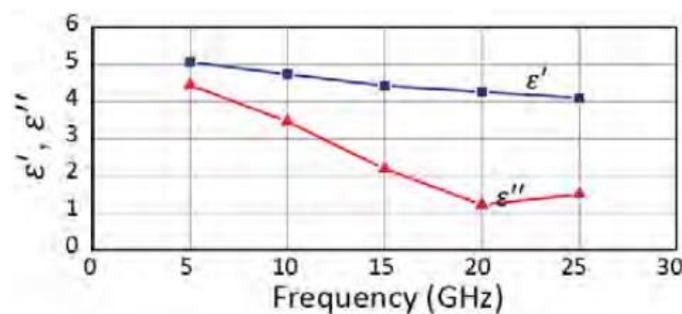


Figure I. 35. Variation de la permittivité complexe du liquide IPA en fonction de la fréquence [66].

Un des avantages de ce biocapteur est qu'il présente une zone de détection 40 fois plus petite que celui utilisé dans [67] et peut évaluer la permittivité diélectrique d'un échantillon liquide sur une plage de fréquence 6 fois plus étendue en comparaison avec les travaux réalisés dans [68] et [65].

Une autre topologie intéressante a été développée dans les travaux de Klaus Schmalz *et al* [69] au sein du laboratoire IHP, à partir d'une plateforme microfluidique implémentée en technologie BiCMOS. A la différence des exemples précédents, ce capteur fonctionne dans une gamme de fréquences submillimétriques (80-160 GHz). Il est constitué d'un filtre passe bande qui est utilisé en détecteur, d'un oscillateur commandé en tension (VCO) à l'entrée du filtre et d'un détecteur de puissance implémenté à la sortie (Figure I.36(a)). Lorsqu'un fluide est injecté dans la zone de détection, cela modifie les valeurs des paramètres caractéristiques du résonateur

du filtre, tels que sa fréquence de résonance et son facteur de qualité. Ces variations peuvent être reliées directement à la permittivité complexe de l'échantillon sous analyse.

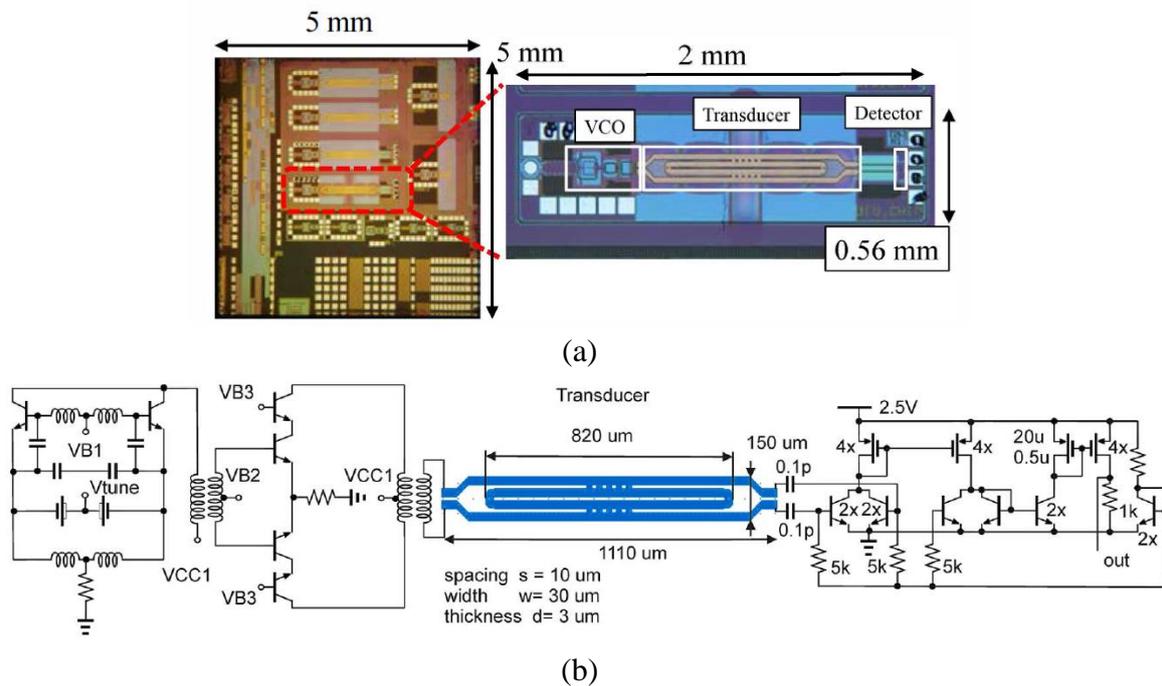


Figure I. 36. Photographie de la puce du capteur en bande 80-160 GHz (a) et son schéma électrique [69].

Comme le montre la Figure I.36(b), le capteur, utilise un VCO opérant autour de 120 GHz associé à un étage buffer. Le signal à la sortie du VCO est transmis au filtre passe bande qui va être utilisé comme transducteur capacitif via cet étage tampon grâce à un transformateur. La gamme de fréquences sur laquelle peut s'accorder le VCO va de 117 GHz à 127 GHz et doit pouvoir s'adapter à la perturbation induite par l'échantillon à analyser sur la fréquence de résonance du transducteur. Le détecteur de puissance placé en sortie du filtre convertit le signal de sortie différentielle du transducteur en une tension continue proportionnelle à la puissance transmise par le filtre. La taille de la puce est de 0,56 mm × 2,08 mm. Le circuit consomme une puissance totale de 200 mW.

La Figure I.37(a) illustre le capteur chargé par l'échantillon biologique et la Figure I.37(b) représente à la fois le signal à la sortie du détecteur et la plage de fréquence du VCO en fonction de la tension de commande du VCO. La présence de l'échantillon biologique sous test impacte le signal du détecteur et augmente d'environ 80 mV la tension détectée aux fréquences les plus élevées. Ce résultat démontre les capacités de caractérisation diélectrique de ce type de capteur.

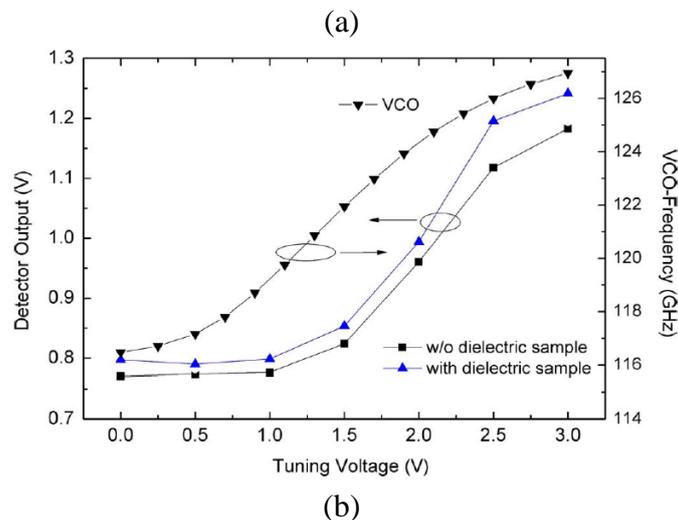
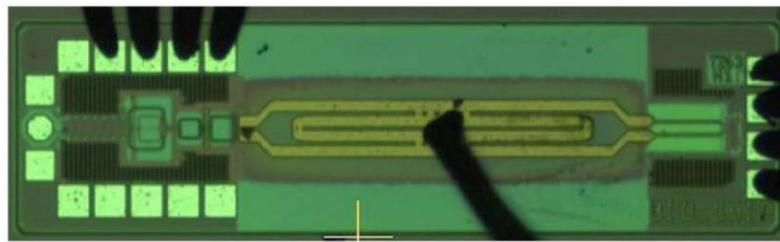


Figure I. 37. (a) Capteur chargé par l'échantillon biologique, (b) Tension de sortie du détecteur et fréquence du VCO en fonction de la tension de commande [69].

Sur le même principe, M. Kaynak *et al* [70], ont utilisé ce dispositif pour effectuer des caractérisations, à une fréquence fixe, de différents types de liquide. La mesure consiste à considérer comme référence la tension du détecteur lorsque le canal microfluidique du capteur est vide ; puis à mesurer la variation de cette tension lorsque différents liquides sont injectés dans ce canal.

La Figure I.38 (a) montre les tensions de sortie du détecteur mesurées en présence d'air, d'eau et d'éthanol dans le canal microfluidique. On remarque d'après ces résultats que pour l'eau, on obtient une variation de la sortie du détecteur de 60 mV à la fréquence de 115 GHz et une variation plus importante, de 160 mV, pour l'éthanol par rapport à la mesure de référence et cela malgré la forte permittivité attendue. Ces résultats de mesures sont en accord avec les simulations du paramètre de transmission (Figure I.38 (b)). Ils s'expliquent par le fait que la tension détectée résulte de la contribution à la fois de la permittivité et des pertes du liquide sous test. En l'état, il semble difficile de pouvoir dissocier l'effet des deux avec une seule mesure à une fréquence donnée.

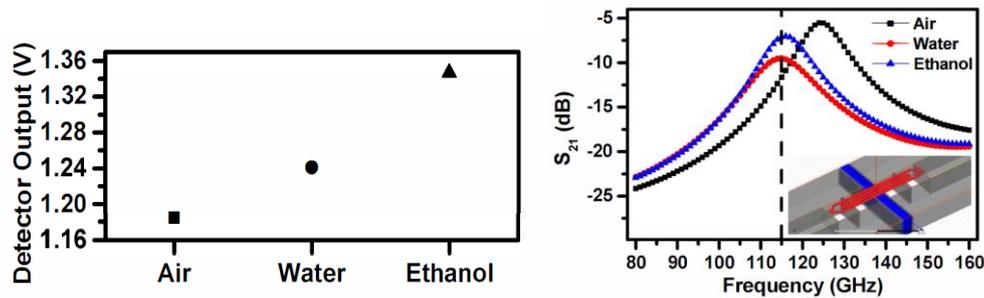


Figure I. 38. Les résultats de mesure de la tension détectée à la sortie du capteur (a) Simulation du paramètre de transmission du capteur (b) [70].

Un second inconvénient de cette approche est le choix de la fréquence de travail. En effet, la gamme autour de 120 GHz ne semble pas un choix des plus adéquats pour l'application que nous visons. Comme nous l'avons vu dans le paragraphe I.3, en se référant à la courbe de dispersion diélectrique des cellules biologiques, il semble difficile à partir de ce type de capteur opérant en gamme millimétrique de pouvoir détecter des différences de permittivité significatives et par conséquent il est probable que la sensibilité de détection atteignable soit très limitée.

Dans ce paragraphe, nous avons vu que les technologies CMOS ouvraient des portes intéressantes car en plus de permettre l'intégration d'une électronique performante au plus près du capteur, de par leur potentiel de miniaturisation, elles permettent de réduire les volumes d'analyse et garantissent une très bonne maîtrise des zones d'interaction entre le liquide biologique et le capteur. Dans le paragraphe suivant, nous allons présenter des exemples de solutions basées sur des dispositifs hyperfréquences CMOS pour la détection cellulaire.

I.7.2. Biocapteur CMOS pour la caractérisation cellulaire

Des analyses performantes par spectroscopie diélectrique à l'échelle cellulaire peuvent être réalisables grâce à des laboratoires sur puce instrumentés. Considérant la co-intégration et la miniaturisation de circuits hyperfréquences microfluidiques, S. Guha *et al.*, ont développé [71] une architecture de biocapteur qui peut être utilisée pour détecter des particules dans un système fluide. Le principe de détection repose sur un capteur capacitif basé sur une structure d'électrodes interdigitées (IDE) intégrée dans un circuit oscillateur.

La fréquence de fonctionnement du capteur se situe dans la plage (12 -14,5 GHz), exploitant ainsi les avantages d'une discrimination des spécificités diélectriques des cellules en haute fréquence. La modulation de fréquence de l'oscillateur induite par la variation de la

capacité est lue à l'aide d'un circuit démodulateur. Par conséquent, la sortie du capteur revient à un signal continu ce qui rend la manipulation du capteur extrêmement flexible.

La Figure I.39(a) illustre la géométrie de la structure du capteur proposé. La variation de la capacité est tracée par rapport au passage d'un flux de particules dans le capteur comme indiqué sur la Figure I.39(b). Des particules de 8 μm de diamètre présentant une permittivité relative de 20 ont été utilisées, et mises en suspensions dans une solution aqueuse de permittivité relative égale à 40. Un écoulement régulier de ces particules au-dessus du capteur provoque donc des variations capacitatives de ce dernier.

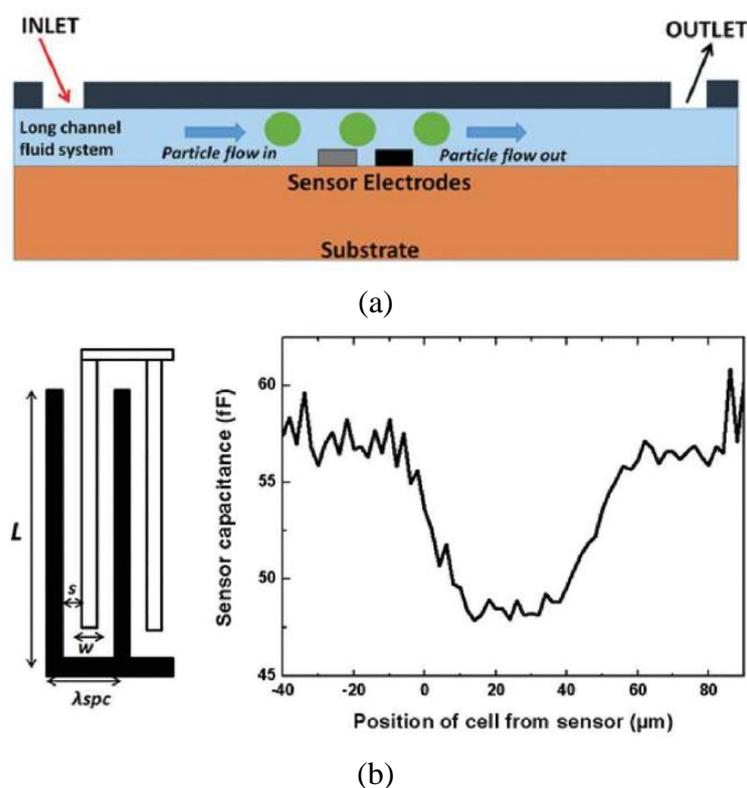


Figure I. 39. (a) Représentation schématique du flux de particules au-dessus du capteur, (b) Variation de la capacité du capteur en présence d'un flux de particules [71].

La capacité de détection étant intégrée à l'oscillateur, ces variations capacitatives se traduiront en modulation de fréquence. Le taux de modulation est alors lié à la concentration et la vitesse des particules. En effet, le capteur est capable de détecter des changements de fréquence de l'ordre de 100 parties par million (ppm), ce qui se traduit par un décalage de 1,43 MHz à une fréquence de fonctionnement de 14,3 GHz. Il est également montré qu'un changement de capacité tous les 3 μs peut être détecté avec précision.

D'autres travaux ont permis de développer une méthode de détection, capable de caractériser des éléments biologiques avec une résolution tridimensionnelle (3D). Matsunaga

et al dans [72], propose un biocapteur implémenté en technologie CMOS, fonctionnant à 60 GHz, basé sur un décalage de fréquence d'oscillation. Le système de détection utilise deux oscillateurs LC implémentés l'un sur l'autre comme illustré sur la Figure I.40. Lorsqu'un échantillon est présenté au-dessus des inductances, un changement de fréquence d'oscillation se produit lié à la constante diélectrique de ce dernier. Cependant, ce changement de fréquence sera différent entre les deux oscillateurs, plus fort pour celui qui sera plus près de l'échantillon et plus faible pour celui qui en sera plus éloigné. C'est en exploitant ce principe qu'il devrait être possible de détecter la cible en 3D.

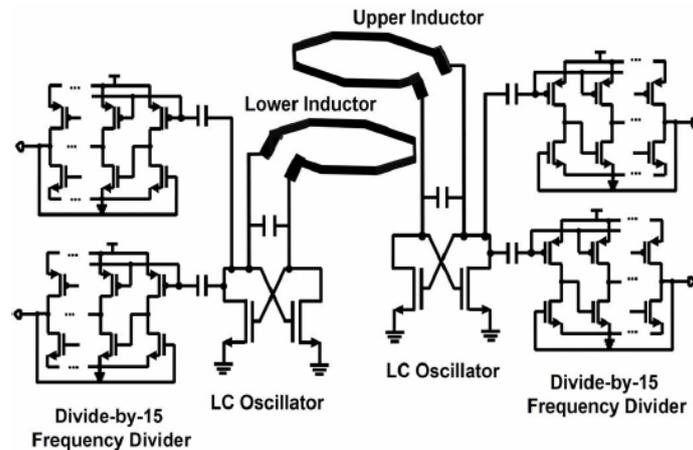


Figure I. 40. Architecture du système de détection proposé [72].

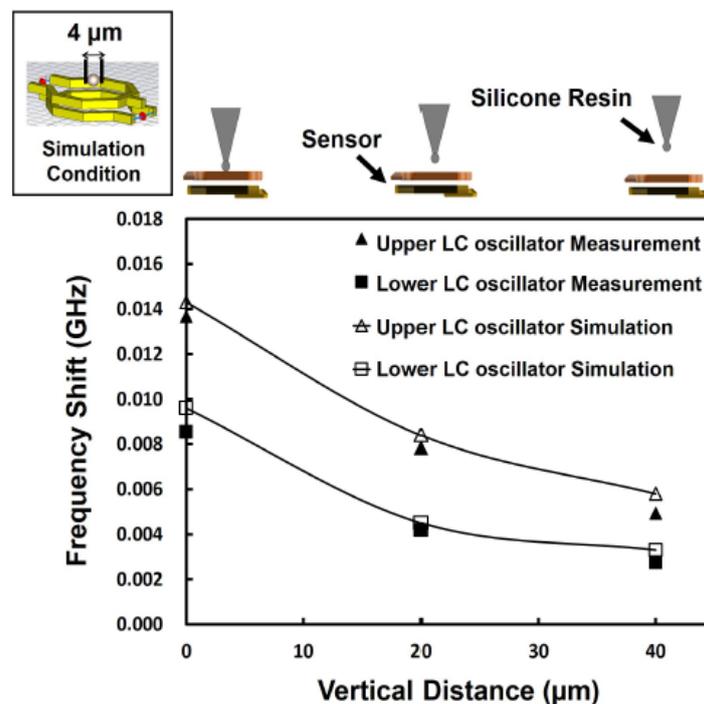


Figure I. 41. Les décalages fréquentiels simulés et mesurés à des distances de 0,20 et 40 μm de la surface du capteur [72].

La Figure I.41 montre les tracés de décalage de fréquence mesurés et simulés de l'oscillateur LC de la couche supérieure et de l'oscillateur LC de la couche inférieure lorsqu'une résine de silicone, présentant une constante diélectrique de 11,9, est placée au-dessus de la zone de détection de la puce à des altitudes différentes (respectivement 0,20 et 40 μm de la surface du capteur). Un bon accord entre mesures et simulations est obtenu. En effet, les décalages de fréquence mesurés diminuent dans les mêmes proportions à mesure que la distance entre la surface du capteur et la position de la résine de silicone augmente, pour les deux oscillateurs. Pour chaque altitude considérée, le décalage de fréquence mesuré sur l'oscillateur LC de la couche supérieure est bien supérieur à celui observé pour l'oscillateur LC de la couche inférieure comme nous pouvions nous y attendre. La topologie de ce capteur semble intéressante car elle présente un bon niveau de sensibilité de l'ordre de 50 ppm. En revanche, le choix de la fréquence de travail ne paraît pas approprié pour l'application que nous visons au cours de ces travaux de recherche.

D'autres chercheurs se sont intéressés à des approches par la détection magnétique. Les travaux de J.Geng *et al*, dans [73], ont permis de développer un biocapteur magnétosensible à haute sensibilité basé également sur une architecture d'oscillateur. Le schéma de principe est illustré sur la Figure I.42. Un oscillateur composé d'une inductance et d'une capacité fixe C_0 , oscille à une fréquence libre f_0 autour de 1 GHz. Pour détecter avec précision le petit décalage de fréquence induit par des bio-réactions, un mélangeur est utilisé pour convertir la fréquence porteuse de GHz en MHz, un compteur de fréquence de haute précision et des modules de traitement de données ont été également implémentés pour les étalonnages.

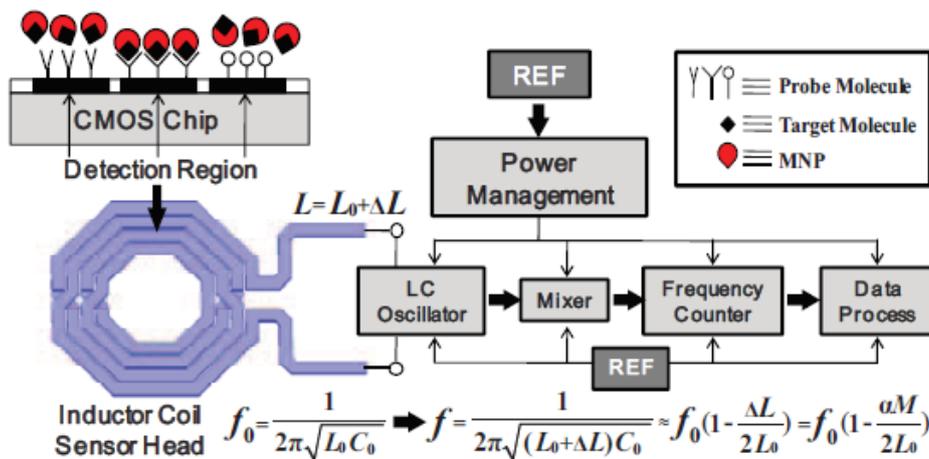


Figure I. 42. Schéma de principe d'un biocapteur magnétosensible à base d'oscillateur [73].

La procédure de test est la suivante : tout d’abord, la biopuce est fonctionnalisée en y greffant des molécules sondes sur la région de détection au-dessus de la bobine. Puis, une fois mise au contact des molécules cibles, la biopuce évalue le décalage de fréquence induit par ces molécules qui ont été au préalable marquées avec des nanoparticules magnétiques (MNP) et qui vont s’attacher aux molécules sondes. Les MNP vont interagir avec le champ magnétique autour de la zone de détection définie par la bobine, ce qui va augmenter la valeur de l’inductance L et va diminuer la fréquence d’oscillation, comme illustré sur la Figure I.42, où M est la concentration des molécules cible et α est un facteur de calibration. Le décalage de fréquence est proportionnel au changement de valeur de l’inductance et donc au nombre de MNP. Il reflète en fait la concentration en molécules cible dans une solution analysée.

Les capacités de détection du biocapteur ont été évaluées avec différentes concentrations de biotine-IgG. Comme le montre la Figure I.43, on observe qu’il existe une relation linéaire entre le décalage en fréquence mesuré grâce au capteur et la concentration de la molécule lorsqu’elle est marquée par des MNP de 200 nm de diamètre, ce qui permet de réaliser un étalonnage précis de ce capteur à partir de la mesure de quelques concentrations de référence.

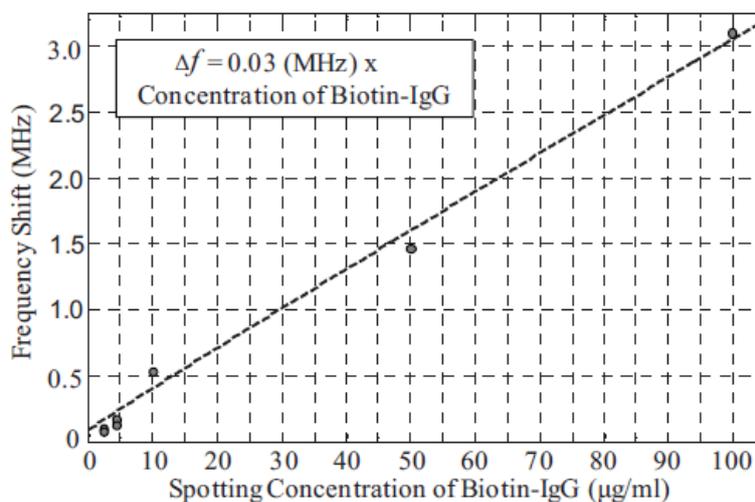


Figure I. 43. Les décalages de fréquence correspondant aux différentes concentrations de biotine-IgG [73].

Cette approche de détection offre l’avantage de pouvoir développer des biocapteurs extrêmement sensibles totalement intégrés grâce à la technologie CMOS permettant de détecter la présence de certaines molécules cibles avec de très bonnes précisions. En revanche elle requière un marquage préalable des échantillons à analyser. Il est par conséquent nécessaire de poursuivre ces développements si l’on souhaite pouvoir caractériser des échantillons biologiques sans les marquer tout en garantissant une forte sensibilité de détection.

I.7.3. Performances des systèmes de détection hyperfréquences CMOS pour la caractérisation des liquides/microparticules

Quelques exemples de microsystèmes développés pour caractériser les propriétés diélectriques des échantillons biologiques ont été présentés dans le paragraphe précédent. Nous allons synthétiser leurs performances dans le tableau suivant (Tableau I.2) :

Tableau I. 2. Comparaison des performances des systèmes d'analyse hyperfréquences CMOS

Référence	[64]	[66]	[65]	[71]	[72]	[73]
Type d'élément diélectrique sous test	Liquides			Particules		
	Ethanol /Propanol	Alcool isopropylique (IPA)	Acétate d'éthyle	Particule diélectrique	Résine de silicone	Molécule
Fréquence de fonctionnement	0.62-10 GHz	1-50 GHz	7-9 GHz	14.3 GHz	60 GHz	1 GHz
Sensibilité	n.a	1%	~2 %	100 ppm	~ 50 ppm	30 ppm
Taille de la puce réalisée	3 x3 mm ²	2x 0.6 mm ²	2.5 x 2.5 mm ²	2.4 mm ²	n.a	n.a
Puissance consommée	65 mW	114 mW	16.5 mW	264 mW	n.a	34.1mW

Le Tableau I.2 montre qu'il est possible d'atteindre des niveaux de sensibilité bien plus importants en utilisant des architectures actives par rapport à des approches passives comme celle présentées dans le Tableau I.1. Pour les dispositifs hyperfréquences passifs, la sensibilité de détection est bien inférieure à celle des systèmes de détection utilisant la technologie CMOS. En effet, nous nous rendons compte que ces derniers peuvent donner accès à une meilleure résolution de détection tout en étant bien plus compacts et intégrés.

Cet état de l'art illustre que les approches de spectroscopie diélectrique semblent très pertinentes pour caractériser des échantillons biologiques et met en évidence le fort potentiel d'implémenter des outils d'analyse dans un environnement CMOS dans l'objectif de développer des systèmes de détection plus performants avec des niveaux de sensibilité plus en adéquation avec les attentes et problématiques actuelles.

I.8. Conclusion

Dans ce premier chapitre, nous avons présenté une approche d'analyse innovante et prometteuse pour les applications biomédicales. La spectroscopie diélectrique hyperfréquence permet en effet de caractériser des éléments biologiques dans un environnement microfluidique. Il a été démontré durant cette étude, l'intérêt croissant de nombreux chercheurs pour le développement des outils d'analyse possédant de forts niveaux de sensibilité de détection, ce qui sera également un des objectifs que nous allons chercher à adresser au travers ces travaux de thèse.

Notamment, les approches d'intégration type « Laboratoire sur puce » semblent être très pertinentes, car elles permettent de faciliter la mise en œuvre de ces analyses, d'en assurer une reproductibilité tout en réduisant potentiellement leur coût.

Un grand nombre des travaux de recherche dans ce domaine portent sur la conception de fonction de capteurs. Leurs implémentations en technologie CMOS semblent pertinentes en termes de miniaturisation et de co-intégration. Outre leur faible encombrement, être capable de manipuler et de caractériser des cellules ou liquides biologiques dans des microsystèmes hautement intégrés offre un avantage majeur. Ainsi, nous avons illustré certains des intérêts d'intégration en technologie CMOS, pouvant potentiellement donner accès à une sensibilité bien plus élevée (de l'ordre de quelques dizaines de ppm) très complexe voire impossible à atteindre avec des outils conventionnels, ce qui ouvrent de nouvelles perspectives.

Dans ce contexte, l'objectif de ces travaux de thèse a été de développer et de concevoir un biocapteur hyperfréquence, hautement sensible, fonctionnant autour de 5 GHz, pour l'analyse de suspensions cellulaires et la discrimination de différents types cellulaires. L'objectif visé est d'atteindre un niveau de sensibilité de l'ordre de 2 ppm pour pouvoir mesurer avec précision les propriétés diélectriques de cellules en flux dans un canal microfluidique. Une implémentation en CMOS sera privilégiée.

En outre, l'étude bibliographique effectuée dans ce chapitre, nous a permis d'orienter notre choix de conception en termes de méthode de détection mais aussi de fréquence de fonctionnement du système. Nous allons donc nous orienter, dans ces travaux de thèse, vers le développement d'une architecture de biocapteur active basée sur une mesure interférométrique.

Nous allons donc présenter dans les chapitres suivants de ce manuscrit, la conception et l'implémentation d'un système de détection à base d'oscillateurs verrouillés par injection d'un signal de référence à 5 GHz.

- [1] R. Bashir, “BioMEMS: State-of-the-art in detection, opportunities and prospects,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 56, no. 11, pp. 1565–1586, 2004.
- [2] A. Gupta, D. Akin, and R. Bashir, “Single virus particle mass detection using microresonators with nanoscale thickness,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 84, no. 11, pp. 1976–1978, 2004.
- [3] F. Artis, T. Chen, T. Chretiennot, J.-J. Fournie, M. Poupot, D. Dubuc, and K. Grenier, “Microwaving biological cells,” *IEEE Microw. Mag.*, vol. 16, no. 4, pp. 87–96, 2015.
- [4] D. L. Stokes and G. D. Griffin, “Detection of E. coli using a microfluidics-based antibody biochip detection system,” *Fresenius. J. Anal. Chem.*, pp. 295–301, 2001.
- [5] R. Bendoula, “Biocapteur optique : Sonde fibrée à cavité Fabry-Pérot intrinsèque et à couplage évanescent,” Thèse de l’Université De Franche-comté, France, 2005.
- [6] U. Schwerthoeffer, R. Weigel, and D. Kissinger, “A highly sensitive glucose biosensor based on a microstrip ring resonator,” *2013 IEEE MTT-S Int. Microw. Work. Ser. RF Wirel. Technol. Biomed. Healthc. Appl. IMWS-BIO 2013 - Proc.*, no. 4, pp. 5–7, 2013.
- [7] Y. Il Kim, Y. Park, and H. K. Baik, “Development of LC resonator for label-free biomolecule detection,” *Sensors Actuators, A Phys.*, vol. 143, no. 2, pp. 279–285, 2008.
- [8] D. Narayanswamy, D. G. Beetner, W. V. Stoecker, P. Mehta, R. Zoughi, and K. Chand, “Microwave Reflectometry as a Novel Diagnostic Tool for Detection of Skin Cancers,” *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 55, no. 4, pp. 1309–1316, 2006.
- [9] A. Lonappan, V. Thomas, G. Bindu, J. Jacon, C. Rajasekaran, and K. T. Mathew, “New method of detecting lymphatic disease using microwaves,” *Microw. Opt. Technol. Lett.*, vol. 49, no. 5, pp. 1189–1192, 2007.
- [10] I. Jasim, A. Abdullha, Z. Shen, S. Zhang, M. Alalem, M. Dewik, and M. Almasri, “An impedance biosensor for simultaneous detection of low concentration of salmonella serogroups in poultry samples,” in *Transducers, Kaohsiung, TAIWAN, June 18-22, 2017*, pp. 726–729.
- [11] R. Manczak, F. Hjejj, T. Provent, S. Saada, C. Dalmay, B. Bessette, G. Begaud, S. Battu, P. Blondy, M. O. Jauberteau, F. Lalloue, M. Inac, C. B. Kaynak, M. Kaynak, C. Palego, and A. Pothier, “Tracking Cancer Cells with Microfluidic High Frequency DEP Cytometer Implemented on BiCMOS Lab-on-Chip Platform,” in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium Digest*, 2018, pp. 104–107.
- [12] G. N. Stewart, “The relative volume or weight of corpuscles and plasma in blood,” *J. Physiol.*, vol. 24, no. 5, pp. 356–373, 1898.
- [13] R. Höber, “Ein zweites Verfahren, die Leitfähigkeit im Innern von Zellen zu messen,” *Pflüg. Arch. Für Gesamte Physiol. Menschen Tiere*, vol. 148, no. 4–5, pp. 189–221, 1912.
- [14] N. Tesla, “High Frequency Oscillators for Electro-Therapeutic and Other Purposes,” *Proc. IEEE*, vol. 87, no. 7, p. 1282, 1999.
- [15] E. C. Fear, X. Li, S. C. Hagness, and M. A. Stuchly, “Confocal Microwave Imaging for Breast Cancer Detection: Localization of Tumors in Three Dimensions,” *IEEE Trans. Biomed. Eng.*, vol. 49, pp. 812–822, 2002.
- [16] J. Manceau, “Étude du phénomène de relaxation diélectrique dans les capacités Métal-Isolant-Métal,” Thèse de l’Université Joseph Fourier Thèse, France, 2008.
- [17] T. Chen, “Développement de biocapteurs hyperfréquences microfluidiques pour la spectroscopie diélectrique non-invasive de la cellule unique. Applications en cancérologie,” Thèse de l’université Paul Sabatier, France, 2012.
- [18] H. P. Schwan, “Electrical Properties of Blood and its Constituents: Alternating current spectroscopy,” *Blut Zeitschrift für die Gesamte Blutforsch.*, vol. vol,46, pp. 185–197, 1983.
- [19] N. Demierre, “Continuous-flow separation of cells in a Lab-on-a-Chip using liquid

- electrodes and multiple-frequency dielectrophoresis,” Thèse de l’Ecole Polytechnique Fédérale de Lausanne , Suisse, 2008.
- [20] N. Islam and S. Sayed, “MEMS Microfluidics for Lab-on-a-Chip Applications,” in *Microelectromechanical systems and devices*, Online Book: InTech Europe, 2012, pp. 39–64.
- [21] G. Martinsen, S. Grimnes, and H. P. Schwan, “Interface phenomena and dielectric properties of biological tissue,” *Encycl. Surf. Colloid Sci.*, no. 7, pp. 2643–2652, 2002.
- [22] R. Pethig, “Dielectrophoresis: An assessment of its potential to aid the research and practice of drug discovery and delivery,” *Adv. Drug Deliv. Rev.*, vol. 65, no. 11–12, pp. 1589–1599, 2013.
- [23] H. Fricke, “XXXIII. The theory of electrolytic polarization,” *London, Edinburgh, Dublin Philos. Mag. J. Sci.*, vol. 14, no. 90, pp. 310–318, Aug. 1932.
- [24] C. Gabriel, S. Gabriel, and E. Corthout, “The dielectric properties of biological tissues: I. Literature survey,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 11, pp. 2231–2249, 1996.
- [25] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel, “The dielectric properties of biological tissues: III. Parametric models for the dielectric spectrum of tissues,” *Phys. Med. Biol. Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 41, pp. 2251–2269, 1996.
- [26] G. E. Moore, “Cramming more components onto integrated circuits,” *Electronics*, vol. 38, no. 8, p. 114, 1965.
- [27] M. Gad-el-Hak, *MEMS: introduction and fundamentals*, Second ed. CRC Press, 2006.
- [28] K. H.-L. Chau, S. R. Lewis, Y. Zhao, R. T. Howe, S. F. Bart, and R. G. Marcheselli, “An integrated force-balanced capacitive accelerometer for low-G applications,” in *The 8th International Conference on Solid-State Sensors and Actuators, and Eurosensors IX*, 1995, vol. 1, pp. 593–596.
- [29] W. O. Davis, R. Sprague, and J. Miller, “MEMS-based Pico projector display,” in *IEEE/LEOS International Conference on Optical MEMS and Nanophotonics, OPT MEMS*, 2008, vol. 1, pp. 31–32.
- [30] Y. Fujino, K. Kitagawa, T. Furukawa, and H. Ishii, “Development of vehicle intelligent monitoring system (VIMS),” in *Sensors and smart structures technologies for civil, mechanical, and aerospace systems, San Diego CA*, 2005, pp. 148–157.
- [31] K. H. Kim, J. S. Ko, Y.-H. Cho, K. Lee, B. M. Kwak, and K. Park, “A skew-symmetric cantilever accelerometer for automotive airbag applications,” *Sensors and Actuators*, vol. 50, n, pp. 121–126, 1995.
- [32] S. C. Terry, J. H. Jerman, and J. B. Angell, “A Gas chromatographic air analyzer fabricated on a silicon wafer,” *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 26, no. 12, pp. 1880–1886, 1979.
- [33] A. Manz, N. Graber, and H. M. Widmer, “Miniaturized total chemical analysis systems: A novel concept for chemical sensing,” *Sensors Actuators B Chem.*, vol. 1, no. 1–6, pp. 244–248, Jan. 1990.
- [34] J. G. E. Gardeniers and A. Van den berg, “Lab-on-a-chip systems for biomedical and environmental monitoring,” *Int. J. Comput. Eng. Sci.*, vol. 4, pp. 157–162, 2003.
- [35] H. Cai, J. W. Parks, T. A. Wall, M. A. Stott, A. Stambaugh, K. Alfson, A. Griffiths, R. A. Mathies, R. Carrion, J. L. Patterson, A. R. Hawkins, and H. Schmidt, “Optofluidic analysis system for amplification-free, direct detection of Ebola infection,” *Sci. Rep.*, vol. 5, pp. 1–8, 2015.
- [36] S. Bouguelia, Y. Roupioz, S. Slimani, L. Mondani, M. G. Casabona, C. Durmort, T. Vernet, R. Calemczuk, and T. Livache, “On-chip microbial culture for the specific detection of very low levels of bacteria,” *R. Soc. Chem.*, vol. 13, no. 20, pp. 4024–4032, 2013.
- [37] D. Sefrioui, N. Sarafan-Vasseur, L. Beaussire, M. Barette, A. Gangloff, F. Blanchard, F.

- Clatot, J. C. Sabourin, R. Sesboüé, T. Frebourg, P. Michel, and F. Di Fiore, “Clinical value of chip-based digital-PCR platform for the detection of circulating DNA in metastatic colorectal cancer,” *Dig. Liver Dis.*, vol. 47, no. 10, pp. 884–890, 2015.
- [38] C. Parra-Cabrera, J. Samitier, and A. Homs-Corbera, “Multiple biomarkers biosensor with just-in-time functionalization: Application to prostate cancer detection,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 77, pp. 1192–1200, 2016.
- [39] E. Lopez-Crapez, T. Livache, J. Marchand, and J. Grenier, “K-ras mutation detection by hybridization to a polypyrrole DNA chip,” *Clin. Chem.*, vol. 47, no. 2, pp. 186–194, 2001.
- [40] A. Maitra, Y. Cohen, S. E. Gillespie, E. Mambo, N. Fukushima, M. O. H. Hoque, N. Shah, M. Goggins, J. Califano, D. Sidransky, and A. Chakravarti, “The human mitoChip: a high-throughput sequencing microarray for mitochondrial mutation detection,” *Genome Res.*, vol. 14, no. 5, pp. 812–819, 2004.
- [41] M. H. Bhuyan, “History and evolution of CMOS technology and its application in semiconductor industry,” *SEU J. Sci. Eng.*, vol. 11, no. 1, pp. 30–42, 2017.
- [42] M. Bao, Y. Li, and H. Jacobsson, “A 25-GHz Ultra-Low Phase Noise InGaP/GaAs HBT VCO,” *IEEE Microw. Wirel. COMPONENTS Lett.*, vol. 15, no. 11, pp. 751–753, 2005.
- [43] C. H. Lin, S. H. Weng, K. H. Liang, H. Y. Chang, Y. J. Chan, and C. C. Chiong, “A Ku-band low phase noise wide tuning range voltage controlled oscillator using 2- μ m GaAs HBT process,” in *Asia-Pacific Microwave Conference Proceedings, APMC, Bangkok, Thailand, 2007*, pp. 119–122.
- [44] G. Nabovati, E. Ghafar-Zadeh, A. Letourneau, and M. Sawan, “CMOS capacitive sensor array for continuous adherent cell growth monitoring,” *IEEE Int. Symp. Circuits Syst. (ISCAS), Montr. QC, Canada*, pp. 2254–2257, 2016.
- [45] G. M. Whitesides, “The origins and the future of microfluidics,” *Nature*, vol. 442, no. 7101, pp. 368–73, 2006.
- [46] F. Fan, H. Shen, G. Zhang, X. Jiang, and X. Kang, “Clinica Chimica Acta Chemiluminescence immunoassay based on micro fluidic chips for α -fetoprotein,” *Clin. Chim. Acta*, vol. 431, pp. 113–117, 2014.
- [47] S. Gabriel, R. W. Lau, and C. Gabriel, “The dielectric properties of biological tissues: II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz,” *Phys. Med. Biol.*, vol. 41, no. 11, pp. 2251–2269, Nov. 1996.
- [48] A. Toropainen, P. Vainikainen, A. Drossos, H. E. Meissner, and D. P. Shepherd, “Method for accurate measurement of complex permittivity of tissue equivalent liquids,” *Electron. Lett.*, vol. 36, no. 1, p. 32, 2000.
- [49] C. Dalmay, A. Pothier, M. Cheray, F. Lalloue, and P. Jauberteau, Marie-OdileBlondy, “Label-free RF biosensors for human cell dielectric spectroscopy,” *Int. J. Microw. Wirel. Technol.*, vol. 1, no. 6, pp. 497–504, 2010.
- [50] A. Landoulsi, J. Leroy, C. Dalmay, A. Pothier, A. Bessaudou, and P. Blondy, “A microfluidic sensor dedicated to microwave dielectric spectroscopy of liquids medium and flowing colloidal suspension,” *Procedia Eng.*, vol. 87, pp. 504–507, 2014.
- [51] A. Landoulsi, C. Dalmay, A. Bessaudou, P. Blondy, and A. Pothier, “A microwave sensor dedicated to dielectric spectroscopy of nanoliter volumes of liquids medium and flowing particles,” in *IEEE Topical Conference on Biomedical Wireless Technologies, Networks, and Sensing Systems (BioWireless), San Diego, CA, USA, 2015*, pp. 42–44.
- [52] M. A. Suster, D. Maji, N. Vitale, U. Gurkan, and P. Mohseni, “An RF/Microwave microfluidic sensor for miniaturized dielectric spectroscopy based on sensor transmission characteristics,” in *IEEE Sensors, Busan, South Korea, 2015*, pp. 2–5.
- [53] T. Chen, D. Dubuc, and K. Grenier, “Accurate nanoliter liquid complex admittance characterization up to 40 GHz for biomedical applications,” in *IEEE/MTT-S*

- International Microwave Symposium Digest, Montreal, QC, Canada, 2012*, pp. 7–9.
- [54] A. A. Abduljabar, D. J. Rowe, A. Porch, and D. A. Barrow, “Novel microwave microfluidic sensor using a microstrip split-ring resonator,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 62, no. 3, pp. 679–688, 2014.
- [55] P.-E. Poleni, M. Kumemura, T. Fujii, H. Toshiyoshi, D. Dubuc, H. Fujita, and K. Grenier, “Integrated broadband microwave and microfluidic sensor dedicated to bioengineering,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 57, no. 12, pp. 3246–3253, 2009.
- [56] Y. F. Chen, H. W. Wu, Y. H. Hong, and H. Y. Lee, “40 GHz RF biosensor based on microwave coplanar waveguide transmission line for cancer cells (HepG2) dielectric characterization,” *Biosens. Bioelectron.*, vol. 61, pp. 417–421, 2014.
- [57] H. W. Wu, “Label-Free and Antibody-Free Wideband Microwave Biosensor for Identifying the Cancer Cells,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 64, no. 3, pp. 982–990, 2016.
- [58] T. Chen, D. Dubuc, M. Poupot, J. J. Fournié, and K. Grenier, “Broadband discrimination of living and dead lymphoma cells with a microwave interdigitated capacitor,” in *IEEE Topical Conference on Biomedical Wireless Technologies, Networks, and Sensing Systems, Austin, TX, USA, 2013*, pp. 64–66.
- [59] T. Chen, D. Dubuc, M. Poupot, J. J. Fournie, and K. Grenier, “Accurate nanoliter liquid characterization up to 40 GHz for biomedical applications: Toward noninvasive living cells monitoring,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 60, no. 12, pp. 4171–4177, 2012.
- [60] T. Chen, F. Artis, D. Dubuc, J. Fournié, M. Poupot, and K. Grenier, “Microwave biosensor dedicated to the dielectric spectroscopy of a single alive biological cell in its culture medium,” in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium Digest (MTT), Seattle, WA, USA, 2013*, pp. 7–10.
- [61] A. Landoulsi, “Capteurs RF pour la caractérisation diélectrique de solutions et de particules à l’échelle micrométrique : Application aux biopuces à cellules,” Thèse de l’Université de Limoges, 2016.
- [62] Y. Yang, H. Zhang, J. Zhu, G. Wang, T. Tzeng, and X. Xuan, “Distinguishing the viability of a single yeast cell with an ultra-sensitive radio frequency sensor,” *R. Soc. Chem.*, pp. 553–555, 2010.
- [63] P. C. Huang, C. F. Liu, and R. Q. Chen, “A microwave resonator biosensors for biological cell trapping in portable biomedical application,” in *IEEE International Conference on Consumer Electronics, Taipei, Taiwan, 2017*, pp. 159–160.
- [64] M. M. Bajestan, A. A. Helmy, H. Hedayati, and K. Entesari, “A 0.62-10GHz CMOS dielectric spectroscopy system for chemical/biological material characterization,” *IEEE MTT-S Int. Microw. Symp. Tampa, FL, USA*, pp. 1–4, 2014.
- [65] A. A. Helmy, H.-J. Jeon, Y.-C. Lo, A. J. Larsson, R. Kulkarni, J. Kim, J. Silva-Martinez, and K. Entesari, “A self-sustained CMOS microwave chemical sensor using a frequency synthesizer,” *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 47, no. 10, pp. 2467–2483, 2012.
- [66] J. C. Chien, M. Anwar, E. C. Yeh, L. P. Lee, and A. M. Niknejad, “A 1-50 GHz dielectric spectroscopy biosensor with integrated receiver front-end in 65nm CMOS,” in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium Digest, Seattle, WA, USA, 2013*, pp. 0–3.
- [67] J. C. Booth, N. D. Orloff, J. Mateu, M. Janezic, M. Rinehart, and J. A. Beall, “Quantitative permittivity measurements of nanoliter Liquid volumes in microfluidic channels to 40 GHz,” *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 59, no. 12, pp. 3279–3288, 2010.
- [68] A. A. Helmy and K. Entesari, “A 1-to-8 GHz miniaturized dielectric spectroscopy system for chemical sensing,” in *IEEE/MTT-S International Microwave Symposium Digest, Montreal, QC, Canada, 2012*, vol. 1, pp. 1–3.

- [69] K. Schmalz, J. Borngraber, M. Kaynak, W. Winkler, J. Wessel, M. Neshat, and S. Safavi-Naeini, “A 120 GHz Dielectric Sensor in SiGe BiCMOS,” *IEEE Microw. Wirel. Components Lett.*, vol. 23, no. 1, pp. 46–48, 2012.
- [70] M. Kaynak, M. Wietstruck, C. B. Kaynak, S. Marschmeyer, P. Kulse, K. Schulz, H. Silz, A. Kruger, R. Barth, K. Schmalz, G. Gastrock, and B. Tillack, “BiCMOS integrated microfluidic platform for Bio-MEMS applications,” in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium, Tampa, FL, USA, 2014*, pp. 1–3.
- [71] S. Guha, K. Schmalz, C. Wenger, and F. Herzel, “Self-calibrating highly sensitive dynamic capacitance sensor: Towards rapid sensing and counting of particles in laminar flow systems,” *R. Soc. Chem.*, vol. 140, no. 9, pp. 3262–3272, 2015.
- [72] M. Matsunaga, T. Nakanishi, A. Kobayashi, K. Nakazato, and K. Niitsu, “Three-dimensional millimeter-wave frequency-shift-based CMOS biosensor using vertically stacked LC oscillators,” in *IEEE Nordic Circuits and Systems Conference (NORCAS): NORCHIP and International Symposium of System-on-Chip (SoC), Linkoping, Sweden, 2017*, pp. 1–6.
- [73] J. Geng, L. Zhang, C. Zhu, and H. Qian, “An oscillator-based CMOS magneto-sensitive biosensor with a low noise and low temperature coefficient LDO regulator,” *IEEE Int. Conf. Electron Devices Solid-State Circuits, Hong Kong, China*, pp. 48–51, 2016.

Chapitre II. Conception d'un biocapteur hyperfréquence actif en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25 μ m



II.1.Introduction

Comme énoncé dans le chapitre 1, nous exposons dans ce chapitre la conception et le potentiel d'une architecture d'un capteur biologique actif permettant d'évaluer les spécificités diélectriques de cellules biologiques avec une très haute sensibilité. Le système de détection proposé est basé sur la combinaison de deux oscillateurs différentiels verrouillés par injection. Nous allons tout d'abord voir, dans la première partie de ce chapitre quelques architectures de systèmes de détection à base d'oscillateurs publiées dans la littérature. Cette étude nous a permis de fixer notre choix sur la technique d'oscillateurs verrouillés par injection. Dans la deuxième partie, une étude théorique des oscillateurs et du phénomène d'injection sera détaillée. Par la suite, nous présenterons l'architecture choisie et comment nous avons optimisé le système de détection pour opérer à 5 GHz, un système est intégré sur un substrat silicium à partir de technologie BiCMOS SiGe:C 0,25 μ m de IHP. Enfin, nous présenterons les résultats de simulation afin d'évaluer les performances du circuit proposé et de valider le concept de ce capteur innovant.

II.2.Problématique

Comme présenté précédemment dans le chapitre 1, différents types d'architectures de biocapteurs ont été proposés dans la littérature pour l'analyse, la détection et la caractérisation d'éléments biologiques. Ils peuvent être actifs ou passifs. Différents critères doivent être considérés lors du choix de la topologie du capteur selon l'application visée. Par exemple : la sensibilité, la surface occupée, la simplicité de la conception, etc... Les biocapteurs actifs ont une architecture beaucoup plus complexe que les capteurs passifs. En contrepartie, ils ont l'avantage de pouvoir atteindre un niveau de sensibilité beaucoup plus élevé. La détection des éléments biologiques peut être réalisée, comme nous l'avons vu dans le chapitre 1, grâce à un élément de détection inductif, capacitif, etc... Durant ces travaux de recherche, l'élément de détection, qui reste privilégié, est une capacité qui sera détaillée au cours de ce chapitre. Pour notre application, nous cherchons à détecter des différences de propriétés diélectriques entre deux cellules biologiques différentes immergées dans un canal microfluidique. La permittivité des cellules à analyser est très proche de celle du milieu de suspension ce qui implique une faible variation de la capacité de détection de l'ordre de l'attoFarad. C'est pour cette raison que nous avons besoin de concevoir un système de détection hyperfréquence à très haute sensibilité capable de détecter de très faibles variations capacitives. Nous avons expliqué dans le chapitre précédent pourquoi il est intéressant de travailler avec des ondes hyperfréquences. En effet, le



système de détection qui sera proposé au cours de ce chapitre fonctionne à la fréquence de 5 GHz. Cette fréquence de travail a été privilégiée pour les raisons suivantes : dans le paragraphe I.3.2 du chapitre 1, nous avons présenté, sur la Figure I.3, une courbe décrivant le comportement de la permittivité d'une cellule biologique en fonction de la fréquence. On constate bien que, dans la gamme de fréquences entre 5 GHz et 15 GHz, les propriétés diélectriques varient fortement en fonction de la fréquence. On peut remarquer qu'autour de 10 GHz, la courbe de la partie imaginaire de la permittivité présente un maximum synonyme de fortes pertes diélectriques. Nous avons alors choisi de travailler proche de 5 GHz plutôt que 15 GHz dans l'objectif de simplifier la conception et l'implémentation du circuit.

De récents travaux ont montré, dans la littérature [1]–[3], le potentiel de la technologie CMOS et son utilisation pour réaliser les biocapteurs semble intéressante pour miniaturiser et intégrer des dispositifs hyperfréquences avec plusieurs fonctions ce qui nous amène ainsi à concevoir un « lab-on-Chip » actif hyperfréquence capable de détecter des différences de propriétés diélectriques entre cellules biologiques en suspension dans un canal microfluidique.

Pour atteindre le seuil de sensibilité souhaité, la conception d'un biocapteur actif s'avère être une approche très pertinente. En effet, nous avons choisi, durant ces travaux de recherche, de concevoir une architecture de système de détection à base d'oscillateurs. La Figure II.1 présente le principe de détection d'un biocapteur résonant actif. La Figure II.1(a) donne un exemple possible de capacité de détection immergée dans un canal microfluidique. Ainsi, au passage de cellules biologiques dans la zone de détection, de par la différence de leurs propriétés diélectriques avec le milieu liquide, la valeur de la capacité de détection va changer ce qui va induire un changement de la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur que l'on pourra directement relier à la permittivité diélectrique de l'élément biologique en question (Figure II.1(b)).

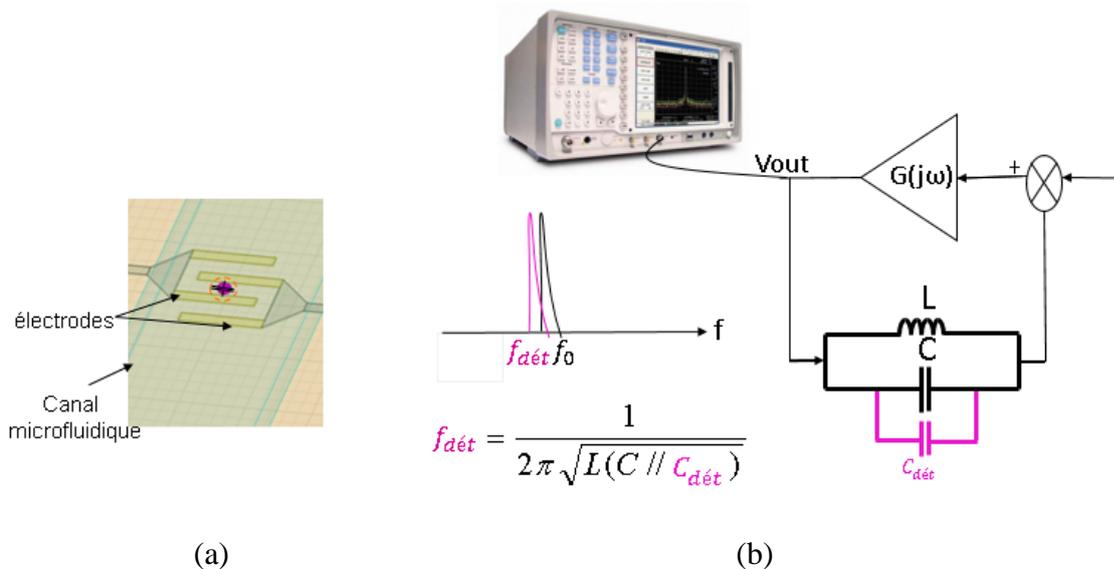


Figure II. 1. (a) Exemple de capacité de détection, (b) Schéma de principe d'un biocapteur actif à base d'oscillateurs.

Utiliser un système oscillant permet d'assurer une meilleure sensibilité, en revanche, il présente certaines contraintes dont il faudrait absolument s'affranchir pour pouvoir analyser des particules biologiques. L'oscillateur est un système très sensible aux variations environnementales ce qui impacte son fonctionnement et peut limiter sa sensibilité qui représente, pour notre application, un paramètre clé. La difficulté de travailler avec des oscillateurs réside dans la stabilité de sa fréquence d'oscillation : sa dépendance aux perturbations extérieures et le bruit électronique présent naturellement dans les composants déstabilisent sa fréquence d'oscillation et la modifient aléatoirement, c'est un phénomène que l'on appelle communément le « Jitter » en anglais. Nous allons voir au cours de ce chapitre qu'une variation de l'ordre de quelques attoFarads peut introduire une variation de la fréquence d'oscillation de quelques kilohertz autour de 5 GHz ce qui nécessite une très grande stabilité de la fréquence pour ce que nous cherchons à détecter. Le Jitter représente le phénomène dans le domaine temporel. En fréquentielle, il se traduit par le bruit de phase. En effet, le niveau de bruit de phase pourrait être pénalisant limitant la précision et la sensibilité du capteur parce que dans le cas d'un oscillateur présentant beaucoup de bruit, il serait impossible de déterminer l'impact d'une variation fine de la fréquence d'oscillation de quelques kilohertz autour de la porteuse. C'est pour cette raison qu'il nous faut privilégier un oscillateur à très faible bruit de phase.

Une méthode envisageable pour s'affranchir des influences environnementales est une mesure différentielle utilisant deux oscillateurs : un pour détecter la présence des cellules et déterminer des différences entre elles et un autre identique utilisé comme référence. Les deux

oscillateurs pourraient être implémentés dans le même canal microfluidique comme l'illustre la Figure II.2. La fréquence d'oscillation de ces derniers variera en fonction de l'environnement mais nous pouvons isoler uniquement la variation qui est produite par la cellule. Le but est de garantir une précision de mesure optimale en éliminant les écarts de fréquence causés par les perturbations extérieures. Néanmoins, une mesure différentielle sera toujours tributaire des problématiques de bruit de phase près de la porteuse.

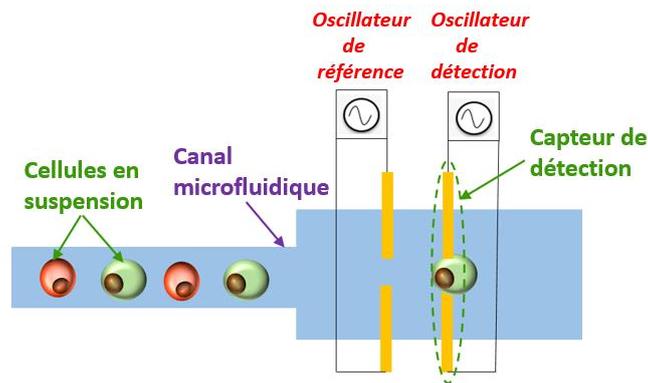


Figure II. 2. Schéma de principe du système de détection différentiel.

Dans ce contexte, plusieurs topologies et techniques à base d'oscillateurs existent dans la littérature pour la détection cellulaire. Parmi celles-ci, nous pouvons noter la technique de verrouillage par injection, de comptage de fréquence et celle utilisant une PLL (Phase Locked Loop). Nous allons voir dans la section suivante laquelle nous a semblé la plus pertinente pour notre application.

II.3.Mise en œuvre d'oscillateurs pour la détection des éléments biologiques en suspension

Comme nous l'avons expliqué précédemment, le bruit de phase d'un oscillateur est un paramètre important à prendre en compte et il est nécessaire pour un concepteur de circuit de concevoir un système fiable et performant tout en minimisant les contributions en bruit et présentant une bonne stabilité de la fréquence de fonctionnement. Dans ce contexte, plusieurs approches peuvent être envisagées pour limiter le bruit de phase, que ce soit au moyen de techniques de comptage de fréquence [4], de PLL [5] ou d'oscillateurs verrouillés par injection [6].

II.3.1. Oscillateurs à PLL « Phase Locked Loop »

Lorsqu'il est difficile d'obtenir une bonne stabilité de la fréquence d'un oscillateur en oscillation libre, le recours à une PLL ou méthode à boucle à verrouillage de phase peut s'envisager. Pour cela, on fait appel à un asservissement de la phase instantanée du signal de sortie à une source de référence. Cette dernière est un signal très pur issu d'une source extrêmement stable. Le système se compose des éléments suivants comme décrit sur la Figure II.3: un détecteur de phase/fréquence suivi d'une pompe de charge, d'un filtre de boucle passe bas, d'un oscillateur contrôlé en tension (VCO) et d'un diviseur de fréquence.

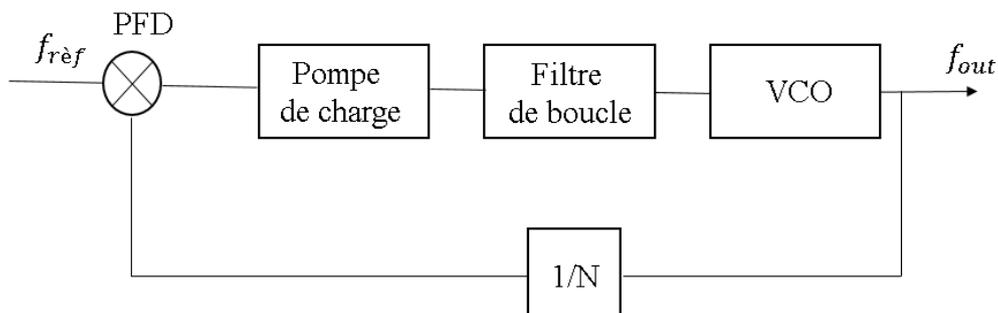


Figure II. 3. Schéma de principe du synthétiseur de fréquence à base de PLL.

Cette boucle génère en effet un signal fonctionnant à la fréquence $f_{out} = N \cdot f_{ref}$ ayant une stabilité identique à celle de la référence. L'utilisation d'une telle référence sert à améliorer la précision de la fréquence synthétisée. La boucle permet non seulement d'asservir l'oscillateur sur la fréquence mais aussi de filtrer sélectivement le signal en éliminant le maximum de bruit que présente l'oscillateur dans le but de minimiser le bruit de phase près de la porteuse [7]–[10]. Ainsi, l'utilisation de la boucle à verrouillage de phase offre un intérêt évident pour des applications mettant en œuvre des techniques de caractérisation de spectroscopie diélectrique. C'est ce qui a amené plusieurs chercheurs à utiliser cette technique pour analyser et caractériser des liquides et éléments biologiques dont on peut citer les travaux de Osama Elhadidy *et al.* Ils ont proposé, dans [11], cette approche comme solution pour affiner la précision de mesure et pouvoir caractériser des produits chimiques et des mélanges organiques. Ils ont, en effet, développé un système de détection à base de PLL qui combine un oscillateur de référence commandé en tension (Reference VCO), en plus du VCO de détection, comme représenté sur la Figure II.4. Ainsi, une mesure différentielle directe de la variation de la fréquence est alors possible.

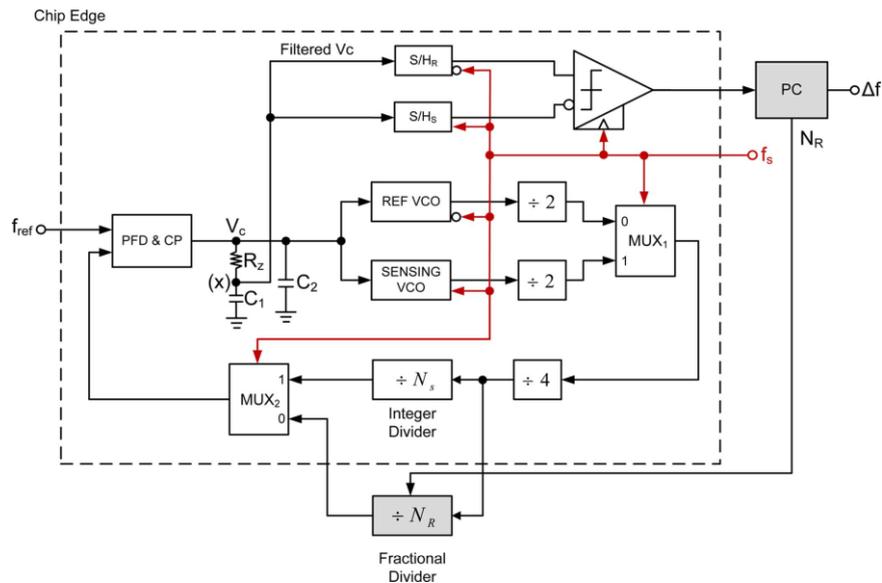


Figure II. 4. Capteur à base de PLL combinant deux VCOs incorporant une lecture différentielle de la variation de fréquence induite par l'échantillon sous test [11].

C'est un dispositif hautement sensible, basé sur la technologie CMOS, proposé pour la caractérisation de la permittivité diélectrique de solutions liquides et de mélanges à la fréquence 10.4 GHz. Un capteur capacitif de détection a été intégré à l'intérieur du résonateur LC de l'oscillateur commandé en tension. Le système détermine la permittivité en mesurant la différence de fréquence entre les deux oscillateurs commandés en tension (VCO); un oscillateur à capteur dont la fréquence de fonctionnement varie avec la solution à analyser passant par la zone de détection et un oscillateur, utilisé comme référence, qui n'est pas impacté par la solution. Cette approche de mesure différentielle améliore la précision du capteur en s'affranchissant des écarts de fréquence potentiels dus aux perturbations environnementales. L'incorporation des deux VCOs dans un synthétiseur de fréquence à boucle à verrouillage de phase fractionnaire permet la caractérisation du matériau à une fréquence précise. La puce consomme 22 mW lors de la caractérisation d'un matériau proche de 10 GHz et occupe une surface totale de 2,15 mm² (Figure II.5). La Figure II.6 montre un bon accord entre les résultats de mesure et de simulation. Ce système est capable de mesurer la permittivité diélectrique d'un liquide avec une erreur maximale de 1,5 %. D'après les auteurs, les décalages de fréquence induits par le passage d'un liquide sont détectés avec un niveau de sensibilité de 15 ppm_{rms}.

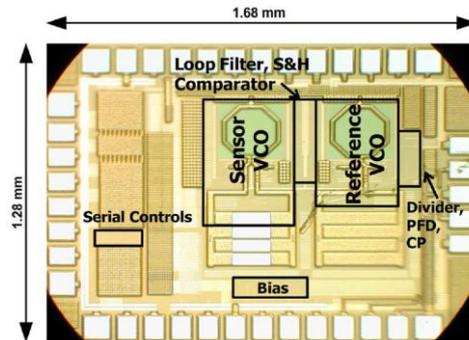


Figure II. 5. Photomicrographie de la puce d'un capteur oscillant à base de PLL [11].

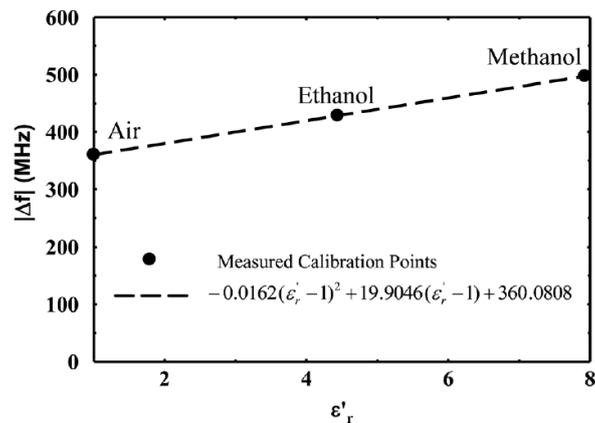


Figure II. 6. Variation de la fréquence à 10,4 GHz avec les points d'étalonnage indiqués [11].

Ce dispositif présente une bonne précision de mesure. Néanmoins, son architecture reste complexe. De plus, les mesures à base de PLL souffrent de sources de bruit supplémentaires telles que celles associées à la pompe de charge. La sensibilité peut s'avérer également limitée par la résolution et les performances du convertisseur analogique-numérique.

II.3.2. Oscillateurs à comptage de fréquence

Nous allons voir dans ce paragraphe qu'il existe d'autres alternatives telles que la méthode de comptage de fréquence qui consiste à utiliser un compteur de fréquence pour enregistrer et mesurer, sur un intervalle de temps donné, la fréquence d'oscillation de l'oscillateur dans le cas où cette dernière sera amenée à varier.

Afin d'expliquer le principe de cette approche, nous allons prendre comme exemple les travaux de recherche réalisés par H. Wang et al, qui se sont intéressés, dans [4], à appliquer cette méthode pour développer un capteur magnétique inductif introduit dans un oscillateur à très haute sensibilité.

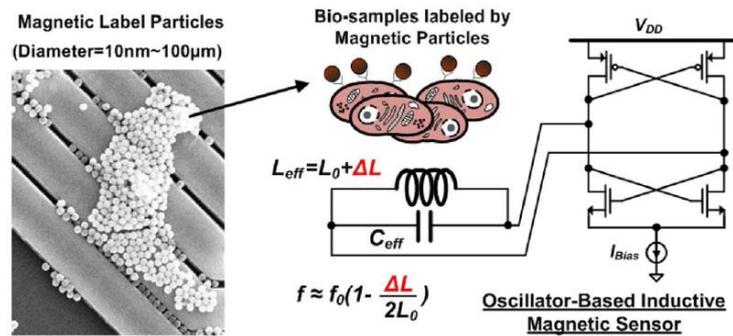


Figure II. 7. Schéma de détection magnétique à décalage de fréquence [4].

La présence de cellules biologiques va pouvoir être vu indirectement par le détecteur lorsque lui va détecter un changement du champ magnétique parce que sur ces dernières sont présentes des particules magnétiques. Les particules magnétiques sont attachées aux molécules sondes. Ces molécules sondes peuvent s'attacher aux cellules ce qui permet de détecter leur présence. Ici, l'inductance d'un oscillateur LC sert comme un élément sensible de détection (Figure II.7). Le courant traversant la bobine génère un champ magnétique qui interagit avec les particules magnétiques présentes. Cela augmente l'énergie magnétique totale au voisinage du capteur et conduit ainsi à une augmentation effective de l'inductance de détection. En conséquence, l'oscillateur LC voit cette augmentation de l'inductance qui contribue à une diminution correspondante de la fréquence d'oscillation. Un fréquencemètre mesure la fréquence en sortie de l'oscillateur lorsqu'elle varie en fonction de la quantité de particules magnétiques en jeu comme le montre la Figure II.8.

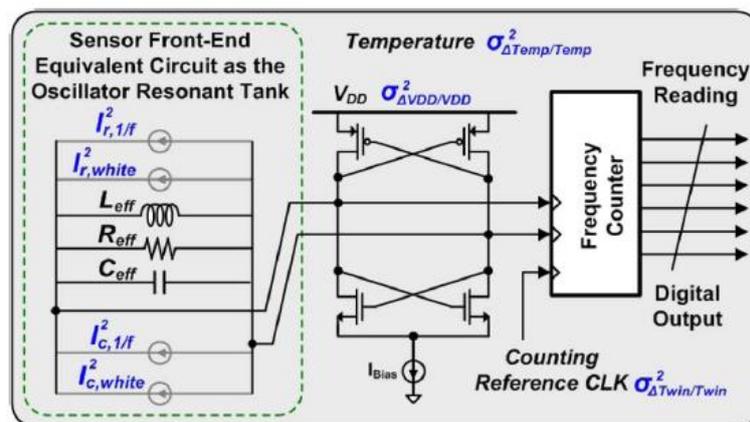


Figure II. 8. Schéma de principe du capteur magnétique [4].

La fréquence d'oscillation du capteur magnétique est mesurée à 1,13 GHz avec une variation inductive de 0,41 fH pour une inductance nominale égale à 1,6 nH avec un facteur de qualité de seulement 4,95 dans le cadre des expériences qui ont été réalisées. Un niveau de sensibilité élevé est atteint grâce au modèle de suppression de bruit à double comptage corrélé

(CDC) que les auteurs ont proposé et qui étend le concept de la mesure de fréquence différentielle et établit la corrélation phase-bruit entre l'oscillateur de détection et celui de référence [12], [13]. Cela permet d'améliorer la stabilité de la fréquence d'oscillation du système de détection et de limiter le bruit que présente l'oscillateur dans l'objectif de minimiser le bruit de phase près de la porteuse.

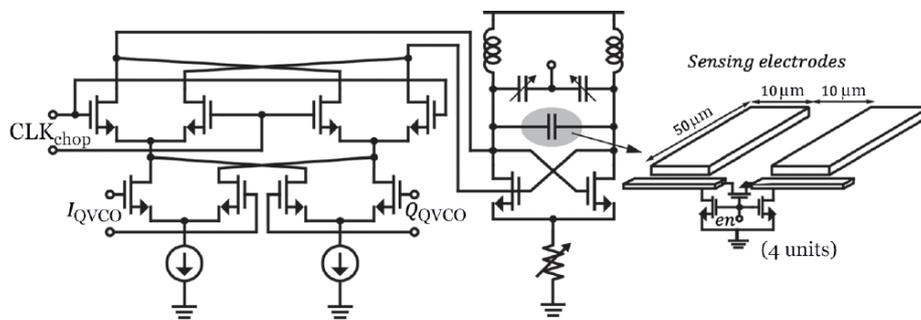
En revanche, c'est une technique qui est d'une part très complexe à mettre en œuvre et d'autre part le fonctionnement du système dépend fortement de l'intervalle de temps de comptage nécessaire pour limiter le bruit et avoir la stabilité de la fréquence souhaitée. Nous allons voir, dans le paragraphe suivant, une autre approche qui permet d'avoir un niveau de sensibilité quasi-similaire et qui est plus facile à réaliser.

II.3.3. Oscillateurs verrouillés par injection

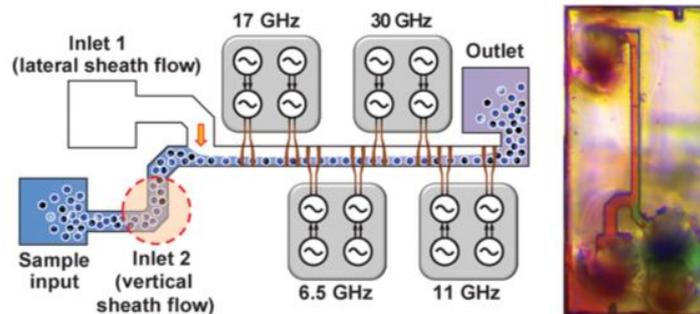
Cette technique repose sur le fait qu'un oscillateur maître vient, sous certaines conditions, imposer sa fréquence et son bruit de phase à un autre oscillateur dit esclave. L'oscillateur esclave peut se verrouiller sur la fréquence d'un signal injecté quand sa fréquence est proche du maître et se situe dans une certaine plage de verrouillage, générant ainsi une différence de phase entre les signaux de sortie du maître et de l'esclave. Cette différence de phase varie lorsque la fréquence d'oscillation libre de l'esclave change [14]. L'utilisation de cette technique a fait l'objet de travaux de l'université de Berkeley pour la détection, l'analyse et la caractérisation d'éléments biologiques par spectroscopie diélectrique. J.Chien a présenté dans [6] un concept de spectromètre CMOS visant à caractériser les réponses diélectriques de particules individuelles entre 6,5 et 30 GHz.

La Figure II.9(a) montre le schéma électrique du cœur du capteur. Le circuit est à base d'oscillateur différentiel NMOS intégrant une varicap pour calibrer la fréquence lors de l'étape d'étalonnage. Le système de détection se compose de deux oscillateurs verrouillés par injection effectuant une détection différentielle à l'aide de paires d'électrodes coplanaires de dimensions 50 μ m \times 10 μ m avec un gap de 10 μ m constituant la zone de détection du capteur. La Figure II.9(b) montre le schéma de principe du système complet du prototype de capteur spectroscopique proposé comprenant quatre capteurs associés les uns à la suite des autres pour sonder les propriétés diélectriques des cellules cibles à des fréquences de 6,5, 11, 17,5 et 30 GHz. La Figure II.9(c) montre l'ensemble de la configuration de mesure. Pour assurer la détection, un microcanal a été implémenté sur le dessus de la puce en résine SU-8 d'une

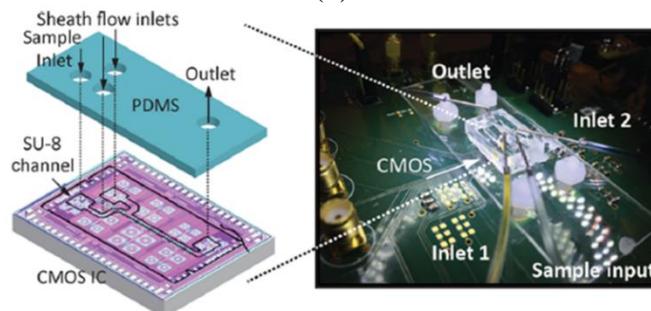
épaisseur de 55 μ m à l'aide de techniques de lithographie classiques et d'un aligneur de masques. Un morceau de PDMS/verre a été aligné et fixé à la puce. Les mesures de validation ont été réalisées sur des billes de polystyrène de 5,8 μ m de diamètre qui ont été injectées à l'aide d'une seringue. La Figure II.10 représente la variation de capacités détectées au cours du temps. Un maximum de variation de capacités est obtenu lorsque la particule passe par là où il y a le maximum de champ. La permittivité des billes de polystyrène est constante en fonction de la fréquence à la différence de celle du milieu liquide dans lequel elles sont suspendues comme illustré dans l'encadré de la Figure II.10. Le signal mesuré diminue pour des fréquences plus hautes ce qui reflète l'effet dispersif du milieu de 6,5 à 30 GHz. Le décalage de fréquence détectable minimal mesuré est de 1,25 ppm à 30 GHz, ce qui équivaut à un changement de capacité détectable minimal de 0.32 aF.



(a)



(b)



(c)

Figure II. 9. (a) Schéma électrique du capteur proposé, (b) Schéma de principe du système de détection complet, (c) Système de détection réalisé sur puce [6].

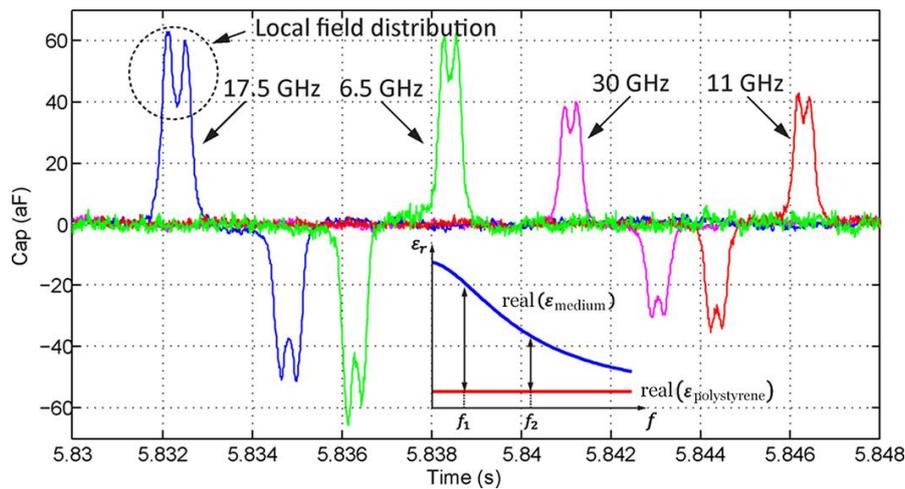


Figure II. 10. Réponse mesurée d'une bille de polystyrène individuelle passant par la zone de détection des quatre oscillateurs opérant à 6,5, 11, 17,5 et 30 GHz [6].

J.Chien et al ont proposé un système de détection hautement sensible totalement intégré sur une puce CMOS y compris la source d'injection. Notons bien qu'un oscillateur verrouillé par injection doit être réglé avec précision de sorte que sa plage de verrouillage est limitée. Elle doit être centrée sur la fréquence ciblée.

La technique de verrouillage par injection présente l'avantage d'une stabilité de la fréquence d'oscillation et un bruit de phase de l'oscillateur près de la porteuse qui peut être réduit en utilisant une source d'injection à très faible bruit. Un autre avantage important est que le capteur est capable de capturer une réponse instantanée car la mesure est effectuée en temps réel, contrairement à la technique de comptage de fréquence où une résolution plus élevée nécessite un temps de comptage plus long. La technique à base de PLL quant à elle fait appel à une conception et une implémentation plus compliquées. Pour ces raisons, nous avons choisi, durant ces travaux de recherche, de concevoir un système de détection à base d'oscillateurs verrouillés par injection.

Dans le paragraphe suivant, nous nous intéresserons tout d'abord au rappel des notions fondamentales sur le principe de fonctionnement des oscillateurs. Ensuite, nous détaillerons l'étude du phénomène d'injection dans un oscillateur.

II.4. Théorie des oscillateurs verrouillés par injection

II.4.1. Notions fondamentales sur les oscillateurs

Nous allons commencer dans cette section par présenter des notions théoriques essentielles à la conception d'un oscillateur.

II.4.1.1. Définition et principe

Un oscillateur harmonique est un système autonome qui, à partir d'une source de tension continue, génère un signal sinusoïdal périodique. Il est alors courant de représenter un oscillateur par un système bouclé comme illustré sur la Figure II.11, avec $G(j\omega)$ la fonction de transfert du circuit actif de l'oscillateur et $H(j\omega)$ la fonction de transfert de la cellule de réaction passive qui joue le rôle de sélection et de stabilisation de la fréquence d'oscillation. Cette dernière est communément appelée résonateur [15].

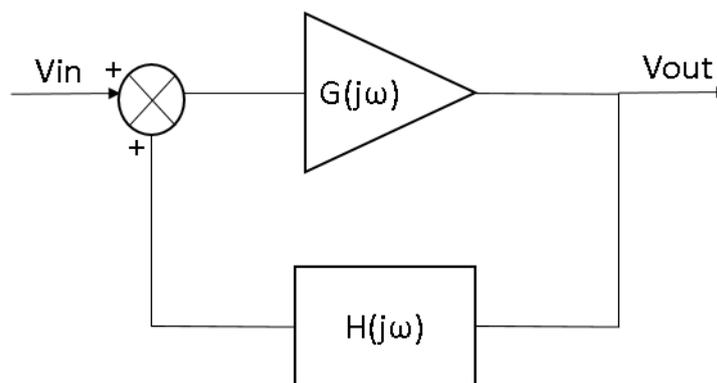


Figure II. 11. Schéma de principe du système bouclé d'un oscillateur électrique.

La fonction de transfert du système bouclé de la Figure II.11 est donnée comme suit :

$$\frac{V_{out}(j\omega)}{V_{in}(j\omega)} = \frac{G(j\omega)}{1 - G(j\omega).H(j\omega)} \quad (1)$$

Ainsi, il existe une pulsation ω_0 pour laquelle $V_{out}(j\omega) \neq 0$ alors que $V_{in}(j\omega) = 0$. Celle-ci est telle que $G(j\omega_0).H(j\omega_0) = 1$. Ceci permet donc d'écrire les conditions d'oscillations, dites de Barkhausen :

- le gain de boucle en régime établi doit être égal à 1 soit $|G(j\omega_0).H(j\omega_0)| = 1$.
- le déphasage total dans la boucle doit être égale à 0 ou $2k\pi$ soit $\text{Arg}(G(j\omega_0).H(j\omega_0)) = 2k\pi$ (avec k entier).

Nous venons donc de définir les conditions d'obtention du régime établi d'un oscillateur. Ces conditions permettent notamment de déterminer la fréquence des oscillations. En revanche, la détermination de l'amplitude de ces oscillations passe par l'étude des conditions initiales de l'oscillateur au démarrage. Ainsi, si le gain de la partie active de l'oscillateur l'emporte sur l'atténuation de la partie passive (résonateur), autrement dit, si le gain dans la boucle est supérieur à un ($|G(j\omega).H(j\omega)| > 1$), alors l'oscillateur démarre en faveur du bruit interne présent dans les composants le constituant. Dans ces conditions, l'amplitude du signal de sortie croît jusqu'à ce que l'élément actif non-linéaire (amplificateur) sature. Son gain diminue alors jusqu'à ce qu'il compense parfaitement les pertes du résonateur ($|G(j\omega_0).H(j\omega_0)| = 1$). L'amplitude s'arrête alors de croître et se maintient à une valeur fixe. On en déduit donc que l'amplitude des oscillations est limitée par la saturation de l'élément actif.

Divers types d'oscillateurs existent dans la littérature. Les oscillateurs à résonateur LC sont parmi les oscillateurs communément utilisés dans le domaine des hyperfréquences grâce à leur faible niveau de bruit de phase. Ces oscillateurs sont à base d'un circuit de type LC dont la fréquence de résonance est $f_o = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}}$. Le schéma de la Figure II.12 montre le principe de fonctionnement d'un oscillateur LC constitué d'un résonateur LC parallèle et d'un circuit actif fournissant une résistance négative $-R_p$ permettant de compenser les pertes associées au résonateur.

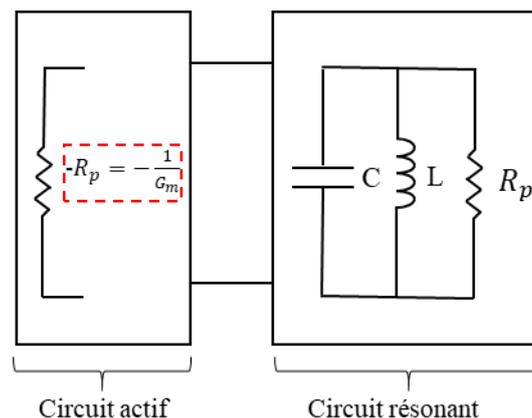


Figure II. 12. Schéma de principe d'un oscillateur LC électrique.

Nous nous intéressons, par la suite, au fonctionnement propre des oscillateurs et plus particulièrement à leur pureté spectrale. En effet, à cause du comportement non linéaire de l'oscillateur, celui-ci va engendrer du bruit ce qui impacte les performances globales du circuit. Cela nous amène à nous intéresser, dans le paragraphe suivant, à l'étude du bruit dans les

oscillateurs. Cette étude est importante lors de la conception d'un oscillateur puisqu'elle permet de déterminer la pureté spectrale de ce dernier afin de proposer une conception appropriée innovante qui répond à nos besoins.

II.4.1.2. Le bruit dans les oscillateurs

Idéalement, en l'absence de bruit électronique, le spectre du signal de sortie d'un oscillateur est caractérisé par une seule raie à la fréquence d'oscillation comme illustré sur la Figure II.13(a). L'expression du signal de sortie de l'oscillateur peut alors être modélisée comme suit :

$$V_s(t) = A \cdot \cos(\omega_0 t + \theta) \quad (6)$$

Avec :

- A l'amplitude
- ω_0 la pulsation
- θ la phase à l'origine.

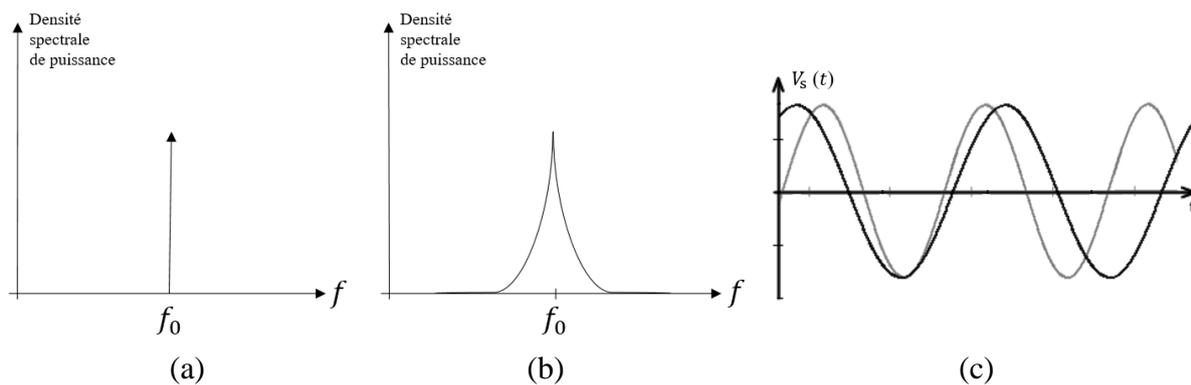


Figure II. 13. Spectre (a) idéal, (b) réel et (c) représentation temporelle du signal de sortie d'un oscillateur.

Dans la pratique, l'amplitude des signaux, dans un oscillateur, est limitée par le phénomène de saturation intervenant dans l'élément actif. Ce comportement non linéaire de l'oscillateur crée un mécanisme de mélange des sources de bruit basses fréquences avec le signal d'oscillation. La Figure II.14 explique de manière schématique ce phénomène de conversion de fréquences basses autour de la fréquence d'oscillation f_0 .

Ce mécanisme de conversion de fréquence est identique à une modulation du signal à la fréquence f_0 par le spectre de bruit basse fréquence. Le signal de sortie de l'oscillateur est donc comparable à un signal modulé en amplitude et en phase (ou fréquence) par les sources de bruit. Ceci qui provoque un élargissement de la raie du spectre (Figure II.13(b)). Du point de vue temporel, ce phénomène se caractérise par une instabilité dans la période du signal et on peut

associer une variation aléatoire de la fréquence à un écart de temps, souvent nommé gigue (ou « jitter »). Une façon de comprendre ce phénomène consiste à observer, sur la Figure II.13(c), le temps de passage à zéro du signal périodique. En raison de la gigue, le temps de passage par zéro varie légèrement par rapport à l'emplacement idéal car le signal n'est pas strictement stable à cause du bruit. C'est ainsi qu'apparaissent les notions de bruit de phase mais aussi de bruit d'amplitude. L'expression du signal de sortie de l'oscillateur réel devient :

$$V_s(t) = A(t) \cdot \cos(\omega_0 t + \theta(t)) \quad (7)$$

Avec :

- $A(t)$ l'amplitude instantanée
- ω_0 la pulsation
- $\theta(t)$ la phase instantanée

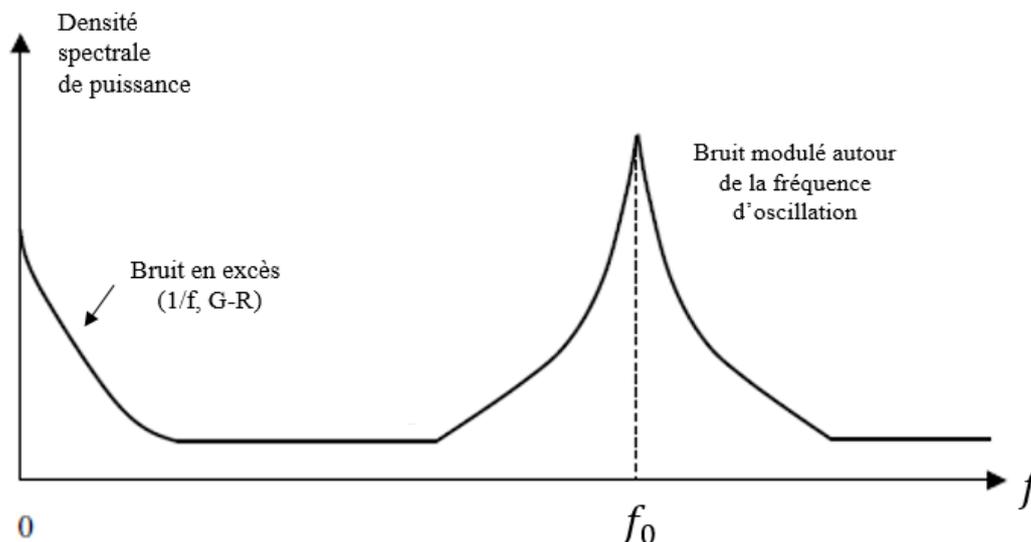


Figure II. 14. Phénomène de transposition du bruit basse fréquence autour de la fréquence d'oscillation f_0 .

D'une façon générale, le bruit d'amplitude est souvent négligé devant le bruit de phase du fait que l'amplitude des oscillations est atténuée par la saturation de l'élément actif présent dans tout oscillateur. Comme nous l'avons expliqué précédemment, le bruit de phase se manifeste par un étalement de la raie du spectre du signal de sortie de l'oscillateur dû à la transposition du bruit basse fréquence autour de la porteuse. On peut alors montrer que le spectre de bruit de phase d'un oscillateur peut être divisé en différentes parties comme il est décrit sur la Figure II.15 qui présente un spectre unilatéral :

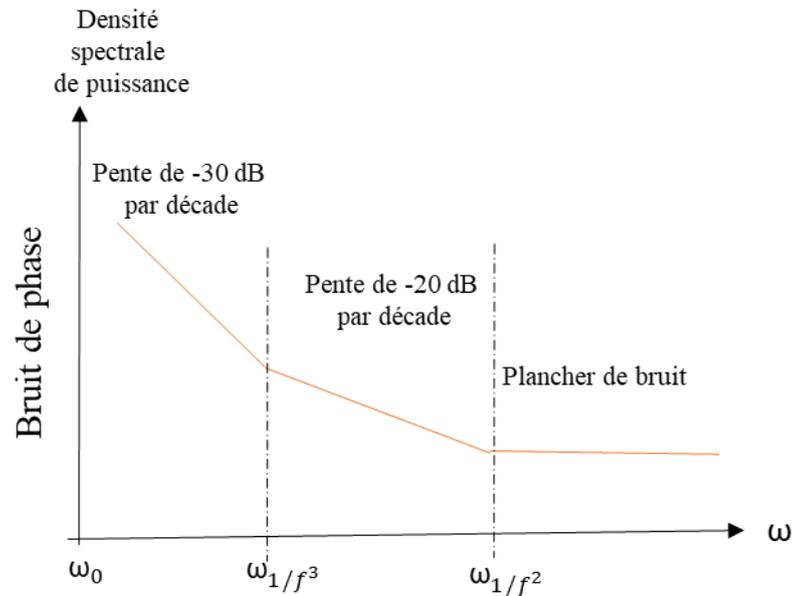


Figure II. 15. Décomposition du spectre de bruit de phase d'un oscillateur réel.

Le bruit de phase représente alors le rapport de la puissance de bruit d'une bande latérale de largeur 1 Hz à $(f_0 + \Delta f)$ sur la puissance de la porteuse f_0 . Il est exprimé en dBc/Hz et sa densité spectrale souvent noté $L(\Delta f)$ s'exprime comme suit :

$$L(\Delta f) = 10 \log \frac{P(f_0 + \Delta f, 1 \text{ Hz})}{P_{\text{porteuse}}} \quad (8)$$

On constate que le bruit de phase pour une conception d'oscillateur LC est un paramètre clé. Aujourd'hui, dans le domaine des hyperfréquences, les concepteurs de circuits oscillants cherchent à développer des circuits avec les meilleures performances en bruit de phase. Dans le cadre de nos travaux de recherche, concevoir un capteur biologique à base d'oscillateurs, dédié à la détection cellulaire, nécessite une conception de circuit appropriée présentant un faible bruit de phase notamment près de la porteuse et donc une stabilité suffisante pour pouvoir détecter de faibles variations capacitives liées aux propriétés diélectriques de la cellule biologique. Avoir une grande stabilité de la fréquence d'oscillation pour s'affranchir du problème de jitter causé par les perturbations du système oscillant s'avère donc primordial.

Dans ce contexte, une conception à base d'oscillateurs verrouillés par injection semble pertinente en termes de limitation du niveau de bruit de phase près de la porteuse. Nous allons voir dans la section suivante comment grâce à cette approche nous pouvons réduire le bruit de phase près de la porteuse et avoir un signal suffisamment stable.

II.4.2. Théorie de l'injection

Le principe de base de cette technique est qu'un oscillateur peut, sous certaines conditions, se verrouiller sur la fréquence d'un signal injecté [14], [16]–[18]. Un oscillateur verrouillé par injection, appelé également « Injection Locked Oscillator » (ILO), devrait idéalement donner une réponse périodique en régime permanent synchronisée avec un autre oscillateur. Le circuit est constitué par un oscillateur esclave, composé d'un résonateur et d'une partie active et d'une source très pure, maître, comme il est décrit sur la Figure II.16.

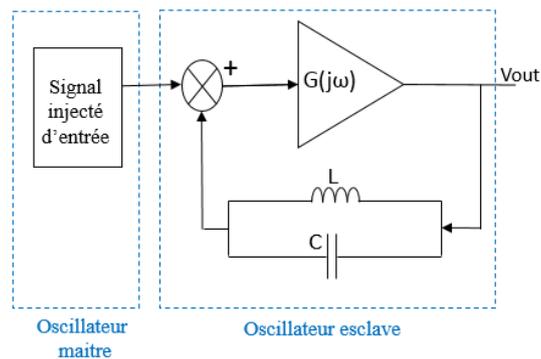


Figure II. 16. Schéma de principe d'un oscillateur verrouillé par injection.

Depuis, le comportement des oscillateurs verrouillés par injection a été modélisé et largement étudié dans la littérature. Cette approche a été introduite par Adler en 1946 pour de faibles niveaux d'injection puis elle a été développée par Razavi [14], et Paciorek [19] pour des forts niveaux d'injection. La plupart des analyses ont été inspirées de l'équation d'Adler. Cette équation généralisée est utilisée pour analyser et modéliser le comportement du verrouillage par injection dans tout type d'oscillateur [20] et elle s'écrit comme suit :

$$\omega_{osc} - \omega_{inj} = \frac{\omega_{osc}}{2Q} \cdot \frac{A_{inj}}{A_{osc}} \cdot \sin(\varphi_{osc} - \varphi_{inj}) \quad (16)$$

Avec :

Q= facteur de qualité du résonateur ;

ω_{inj} = pulsation d'injection ; φ_{inj} = phase d'injection ; A_{inj} = Amplitude d'injection ;

ω_{osc} = pulsation d'oscillation libre ; φ_{osc} = phase du signal de sortie de l'oscillateur ; A_{osc} = Amplitude du signal de sortie de l'oscillateur.

Lorsque l'oscillateur esclave de fréquence f_{osc} se verrouille sur le maître de fréquence f_{inj} , cela génère ainsi un déphasage $\Delta\varphi = \varphi_{osc} - \varphi_{inj}$ entre le signal d'injection et le signal à la sortie de l'oscillateur. Ce déphasage variera donc en fonction de la différence entre la fréquence

d'oscillation libre de l'esclave et la fréquence d'injection du maître, comme le modélise l'équation (16). Pour notre application, la fréquence d'oscillation libre f_{osc} va être amenée à varier au passage d'un élément biologique au voisinage de la capacité de détection de l'oscillateur esclave.

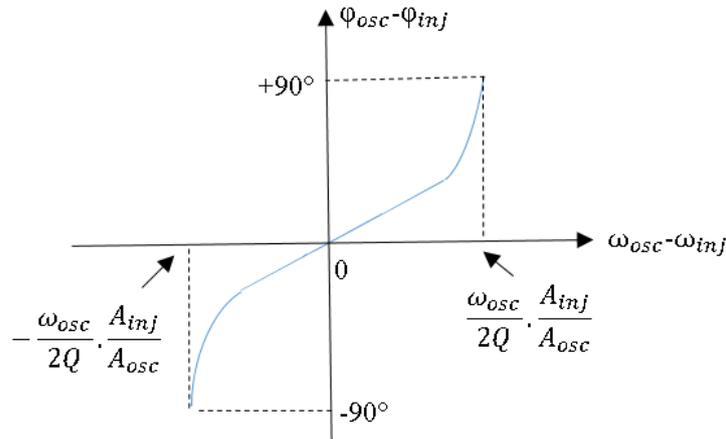


Figure II. 17. Evolution théorique du déphasage d'un ILO.

Toute variation de fréquence sera ainsi convertie en une variation de phase. La Figure II.17 illustre l'évolution théorique du déphasage qui varie en fonction de la différence de fréquence entre la fréquence d'oscillation libre et la fréquence l'injection. On constate donc, d'après la courbe et l'équation d'Adler ; que le signal en sortie de l'oscillateur esclave et le signal injecté seront déphasés et la valeur de ce déphasage dépend du décalage de la fréquence d'oscillation libre par rapport à la fréquence d'injection. Un paramètre important d'un oscillateur verrouillé par injection (ILO) est la plage de verrouillage ou en anglais « locking range ». Elle est définie comme la plage de fréquence sur laquelle l'oscillateur se verrouille sur le signal injecté et elle représente la différence de fréquence maximum entre la fréquence d'injection et la fréquence d'oscillation libre. Il a été démontré par Adler que la plage de verrouillage dépend de la force d'injection (le rapport entre l'amplitude du signal injecté et l'amplitude du signal de sortie de l'oscillateur esclave) et du facteur de qualité du résonateur. La plage de verrouillage unilatérale est définie comme suit :

$$\frac{\omega_{osc}}{2Q} \cdot \frac{A_{inj}}{A_{osc}} \quad (17)$$

Si la fréquence d'oscillation libre f_{osc} tombe en dehors de cette plage, l'oscillateur n'est plus verrouillé, et si la fréquence du signal tombe dans la plage de verrouillage, l'oscillateur se verrouille sur f_{inj} et un déphasage, est obtenu.

Comme nous l'avons expliqué en début de ce paragraphe, l'oscillateur maître impose son fonctionnement à l'oscillateur esclave. Il impose donc non seulement sa fréquence d'oscillation mais aussi son bruit de phase [21], [22]. Le maître est modélisé par une source spectralement pure avec une grande stabilité de la fréquence. Il offre donc l'avantage de présenter un faible bruit de phase près de la porteuse. Par conséquent, sous injection, nous obtiendrons un signal en sortie de l'oscillateur esclave ayant la même stabilité fréquentielle que le maître. La Figure II.18 illustre ce phénomène et montre le spectre du signal de sortie d'un oscillateur en oscillation libre et sous injection. Ainsi, le tracé en vert illustre clairement l'impact de la technique d'injection sur le niveau de bruit de phase de l'oscillateur.

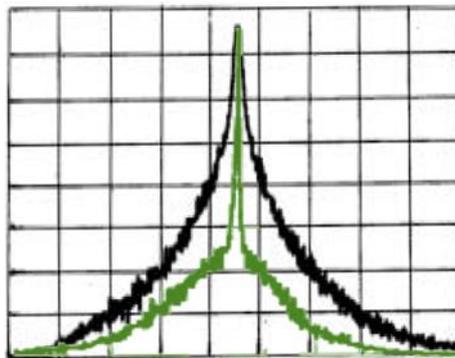


Figure II. 18. Bruit de phase d'un oscillateur en oscillation libre (tracé en noir) et sous injection (tracé en vert).

Nous avons alors compris que l'oscillateur verrouillé par injection présente l'avantage d'une stabilité de la fréquence d'oscillation ce qui nous permet de s'affranchir du problème de jitter et permet d'assurer un faible niveau de bruit de phase autour de la porteuse, condition indispensable afin de pouvoir détecter de faibles variations capacitives. Ces fines variations sont induites lors du passage de la cellule biologique et seront traduites en un déphasage détectable et lié à leurs propriétés diélectriques. En outre, la variation de la capacité attendue pourrait être typiquement de quelques centaines à quelques dizaines d'attoFarads. Ce qui implique une faible variation de la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection, de l'ordre de quelques dizaines de kilohertz autour de la porteuse. Par conséquent, dans l'objectif de traduire cette faible variation de fréquence en oscillation libre en un déphasage généré détectable et mesurable dans les conditions d'injection, d'après l'équation (16), il est nécessaire de travailler en mode faible injection ($A_{inj} \ll A_{osc}$) [19], [23]. Ceci sera confirmé plus tard par les résultats de simulations.

Pour cela, nous avons choisi de privilégier cette technique pour concevoir un capteur biologique, hyperfréquence, à haute sensibilité pour la détection cellulaire. Ainsi, dans la

section suivante, nous proposerons une architecture originale d'un système de détection à base d'oscillateurs verrouillés par injection, réalisé en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25 μ m et fonctionnant à une fréquence de 5 GHz.

II.5. Conception du biocapteur actif à base d'oscillateurs verrouillés par injection pour la caractérisation cellulaire

Dans cette section, nous allons présenter la conception et l'architecture d'un biocapteur hyperfréquence à base d'oscillateurs à très haute sensibilité verrouillés par injection et intégrés en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25 μ m, fonctionnant à 5 GHz pour la détection des cellules biologiques.

II.5.1. Description de l'architecture globale du biocapteur actif

Le principe de fonctionnement du système est montré sur la Figure II.19 : une mesure différentielle entre deux oscillateurs verrouillés par injection (détection & référence) identiques implémentés dans le même canal microfluidique et injectés par le même oscillateur maître. La Figure II.19(a) montre le cas où aucune cellule ne passe par la zone de détection. Dans ce cas, les deux oscillateurs de détection et de référence doivent osciller à la même fréquence d'oscillation libre. En conditions d'injection, en injectant un signal de fréquence égale à la fréquence d'oscillation libre, aucun déphasage n'est généré. On observe alors que les signaux de sortie des deux oscillateurs sont en phase. Dans le cas où une cellule biologique passe au voisinage du capteur capacitif de l'oscillateur de détection, cela se traduit par une variation de la capacité de détection induisant une variation de la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection. Tandis que l'oscillateur de référence n'est pas impacté par l'événement donc sa fréquence d'oscillation libre reste alors inchangée. En conditions d'injection, en injectant un signal à la même fréquence que la fréquence de l'oscillateur de référence, un déphasage entre le signal de sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence apparaît, lié aux différences de propriétés diélectriques entre la cellule et le milieu liquide comme le montre la Figure II.19(b). Dans le cas où nous voudrions mesurer des différences de propriétés diélectriques entre deux cellules, une mesure différentielle peut s'envisager. Ainsi, nous comparerons le changement de capacités suite au passage successif des deux cellules en question, il pourra s'évaluer en comparant la différence entre les déphasages obtenus pour chaque cellule comme le montre la Figure II.19(c).

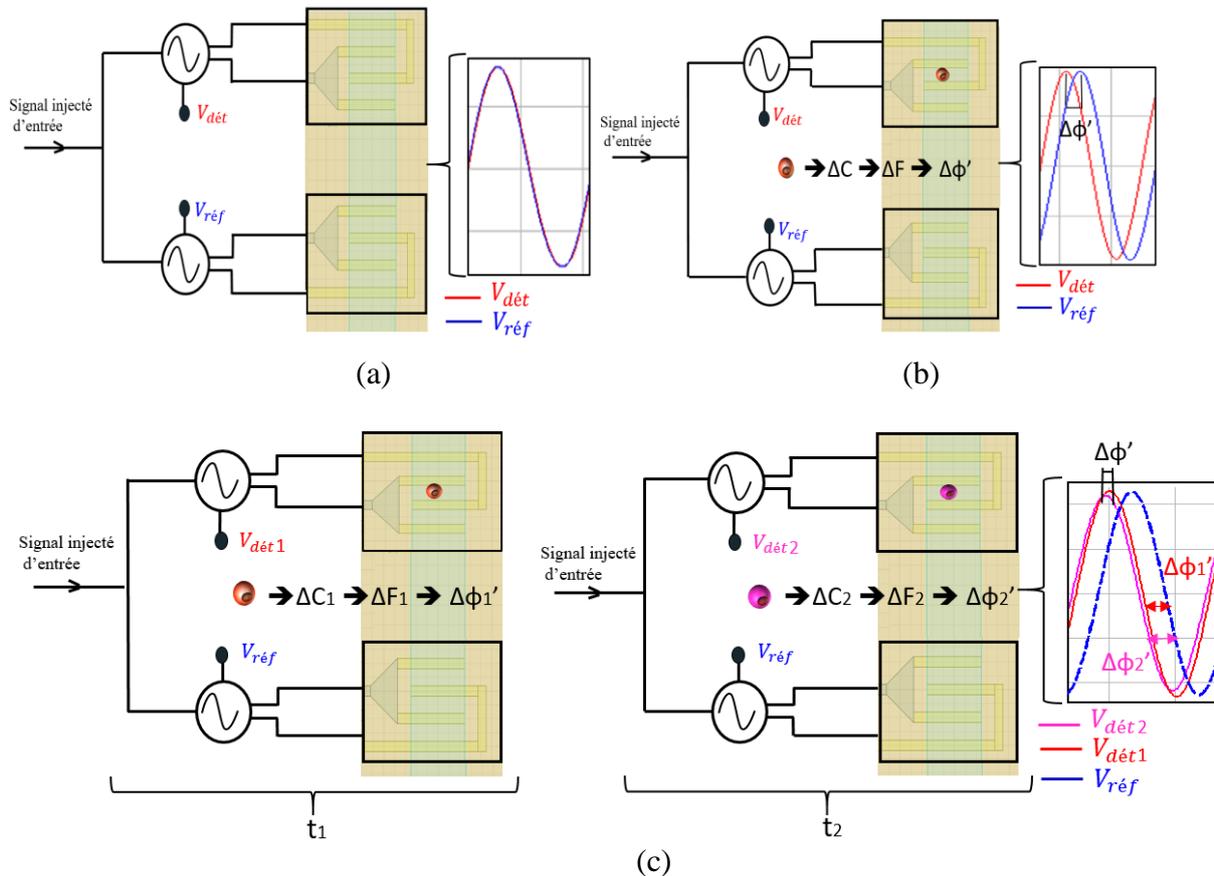


Figure II. 19. Principe de fonctionnement du système de détection complet : (a) en l'absence de cellules, (b) en présence d'une cellule, (c) pour deux cellules différentes.

II.5.2. Présentation de l'architecture d'oscillateur de détection

La Figure II.20 présente le schéma d'implémentation de l'oscillateur de détection envisagé. A l'entrée, nous avons une source RF, générant le signal maître, connectée à un balun externe, une voie vers deux, qui permet de générer un signal différentiel à partir d'un signal « single-ended ». Ce signal différentiel est, par la suite, appliqué à un circuit d'injection associé à un oscillateur différentiel. Cet oscillateur est ensuite suivi d'étages tampons appelés « Buffers intermédiaires » présentant une impédance d'entrée importante afin d'isoler l'oscillateur des autres parties du circuit. Enfin, un amplificateur différentiel suivi d'un étage tampon sont utilisés pour combiner la sortie différentielle en une seule sortie adaptée sur 50 Ohm dont le signal pourra être facilement mesurable avec un oscilloscope.

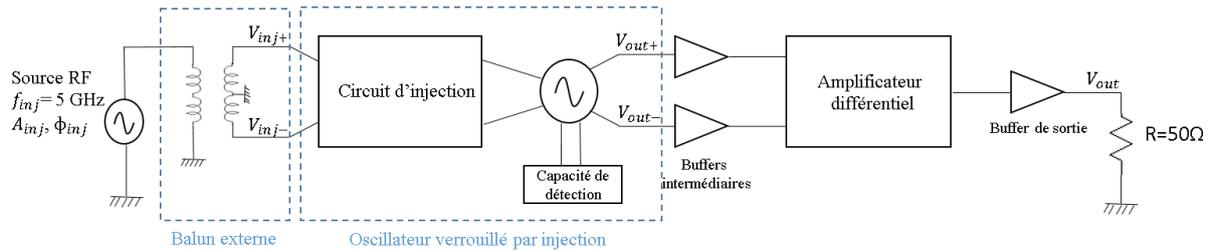


Figure II. 20. Schéma d'implémentation de l'oscillateur de détection.

II.5.3. Conception de la source de courant

La polarisation du circuit oscillateur est réalisée à l'aide d'une source de courant dont l'architecture est décrite sur la Figure II.21 :

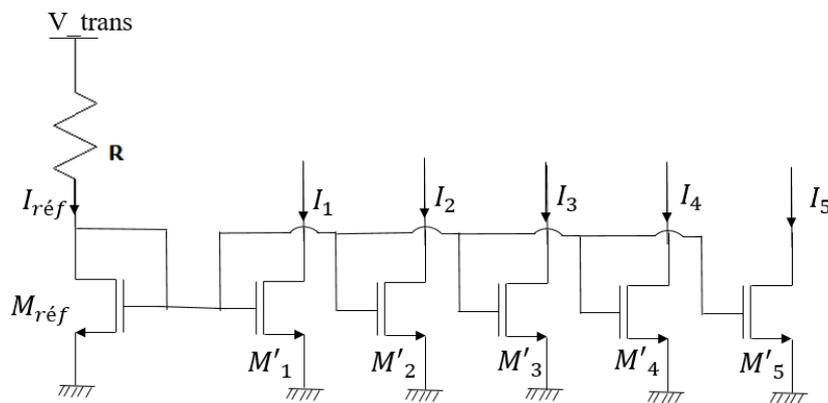


Figure II. 21. Architecture du miroir de courant.

Il s'agit d'un miroir de courant NMOS classique fournissant le courant de polarisation nécessaire aux différents modules du circuit. Il est composé par des transistors NMOS ($M'_1, M'_2, M'_3, M'_4, M'_5$) et d'une référence de courant I_{ref} constituée d'une résistance intégrée et d'une source de tension externe (V_{trans}) de 2,5 V. Le courant de référence I_{ref} est fixé à 500 μ A. Les courants I_1, I_2, I_3, I_4, I_5 sont les courants nécessaires à la polarisation respectivement de l'oscillateur, du circuit d'injection, de chacun des deux buffers intermédiaires et de l'amplificateur différentiel.

Nous avons choisi de travailler avec des transistors MOS puisqu'ils présentent une forte impédance sur la grille ce qui implique une recopie quasi parfaite entre le courant I_{ref} et (I_1, I_2, I_3, I_4, I_5). La taille des transistors $M'_{1,2,3,4,5}$ est un multiple de la taille du transistor de référence M_{ref} avec un facteur multiplicatif selon le courant consommé par chacun des modules du circuit. Le tableau ci-dessous présente les tailles des différents transistors choisis :

Tableau II.1 Dimensions des transistors de la source de courant

	$M_{réf}$	M'_1	M'_2	$M'_{3,4}$	M'_5
Largeur de la grille W(µm)	10	10	10	10	10
Longueur de la grille L(µm)	1	1	1	1	1
Nombre de doigts de grille (ng)	4	16	8	4	16

Les transistors ont été dimensionnés de façon à avoir une référence de courant $I_{réf}$ minimale et de réduire ainsi significativement la taille totale du miroir de courant. Notons qu'un transistor avec une longueur de grille importante permet d'augmenter la valeur de sa résistance r_{ds} et ainsi de rendre les valeurs de courants de polarisation quasiment indépendantes de la tension V_{ds} .

II.5.4. Conception de l'oscillateur verrouillé par injection

La Figure II.22 présente l'architecture de l'oscillateur LC différentiel et de son système de verrouillage par injection. Il constitue la fonction électronique cœur du système de détection.

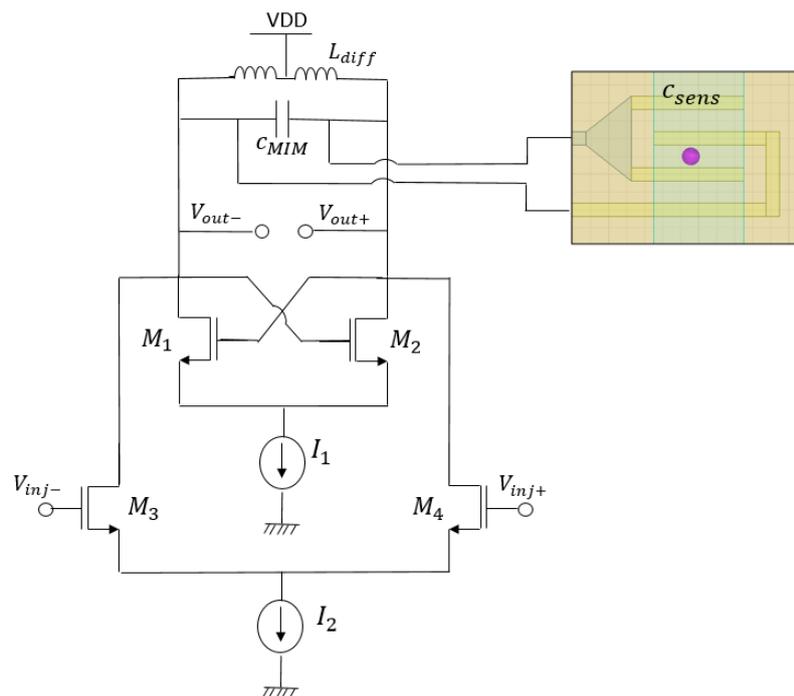


Figure II. 22. Architecture de l'oscillateur verrouillé par injection.

Lors de nos travaux de recherche, nous avons privilégié une topologie basée sur une structure différentielle pour l'oscillateur. L'une des principales raisons pour lesquelles les oscillateurs différentiels sont utilisés dans les systèmes électroniques est qu'ils offrent plus de robustesse contre la problématique de bruit, réduisant en particulier le couplage du bruit de

mode commun dans le système. Ils offrent de plus de bonnes conditions de démarrage des oscillations. Nous avons expliqué précédemment que le bruit pose une problématique importante pour notre application afin d'atteindre un niveau de sensibilité suffisant permettant de détecter les faibles variations capacitatives visées. C'est pourquoi, la topologie différentielle de transistors à simple paire croisée s'avère être un choix judicieux pour la conception de notre système de détection compte tenu de sa simplicité de mise en œuvre.

II.5.4.1. Partie active

Le circuit actif sert à compenser les pertes associées au circuit résonant. Il est composé de deux transistors NMOS identiques M_1 et M_2 , comme le montre la Figure II.22, présentant une résistance négative (en petit signal, basse fréquence) égale à $-\frac{2}{g_m}$ afin d'assurer le démarrage des oscillations. Leur polarisation est fournie à l'aide de la tension VDD et du miroir de courant avec un rapport de recopie de 4 soit avec un courant $I_1=2$ mA. Le dimensionnement de ces transistors et le courant qui les traverse ont été choisis judicieusement de façon à assurer le démarrage des oscillations. Dans le cas d'une architecture simple paire croisée, celle-ci se traduit par la relation suivante :

$$\frac{g_m}{2} > \frac{1}{R_p} \quad (2.22)$$

Avec :

g_m la transconductance d'un transistor.

R_p la résistance parallèle modélisant les pertes du résonateur.

Lors de la conception, nous avons choisi une taille des transistors M_1 et M_2 de façon à obtenir une valeur de g_m au moins trois fois supérieures à $2/R_p$. Ainsi, ces derniers présentent une largeur de grille $W=14$ µm, une longueur de grille $L=0,25$ µm et avec un nombre de doigt de grille $n_g=1$.

II.5.4.2. Circuit résonant

Les performances du circuit oscillateur sont liées à la qualité des éléments passifs choisis. En effet, leur principale caractéristique est le facteur de qualité qu'ils présentent à la fréquence de travail, lequel peut impacter fortement les performances globales en termes de consommation et de gain. Le résonateur de l'oscillateur de la Figure II.22 est modélisé par un circuit LC parallèle dont la fréquence d'oscillation est égale à :

$$f_{res} = \frac{1}{2\pi\sqrt{L_{diff}(C_{MIM}+C_{sens}+C_{TR})}} \quad (18)$$

Comme il est donné sur la Figure II.22, l'architecture du résonateur est différentielle et il est formé d'une inductance différentielle (L_{diff}) et d'une partie capacitive (C_{MIM} , C_{sens} et C_{TR}).

- Partie inductive

L'inductance joue un rôle essentiel dans les oscillateurs. Son niveau d'intégration sur silicium reste faible en comparaison des composants actifs. Sa valeur dépend essentiellement de ses paramètres géométriques. L'optimisation de sa superficie permet de diminuer les éléments parasites dans l'objectif d'optimiser son facteur de qualité. Ainsi, la technologie et la topologie de l'inductance ont une influence très importante pour obtenir une inductance optimale.

Nous avons choisi de travailler avec une inductance différentielle à point milieu nous permettant de bénéficier de l'inductance mutuelle générée par couplage électromagnétique. La valeur de l'inductance globale se trouve alors augmentée sans pour autant augmenter les pertes résistives et l'espace sur silicium et le facteur de qualité est ainsi amélioré [24].

Nous avons choisi de travailler avec un modèle d'inductance « L3_22_1n7 » fourni par le design-kit d'IHP et permettant d'atteindre une valeur d'inductance égale à 1,7 nH avec un facteur de qualité différentiel de 21,16 à la fréquence 5 GHz comme l'illustre la Figure II.23. Ce dernier a été évalué en simulation en utilisant la formule ci-dessous [24] :

$$Q_{diff} = \frac{Im(Z_{11} + Z_{22} - Z_{12} - Z_{21})}{Re(Z_{11} + Z_{22} - Z_{12} - Z_{21})} \quad (19)$$

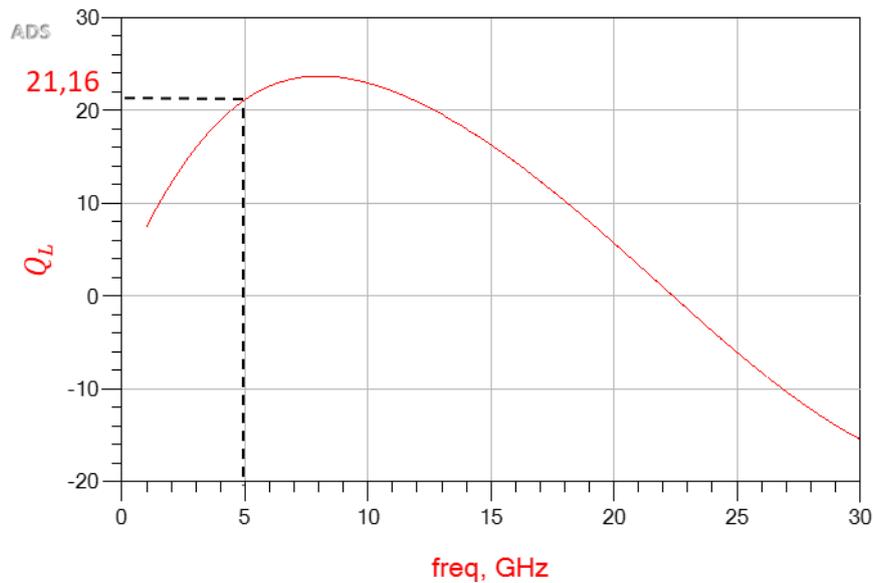


Figure II. 23. Facteur de qualité simulé de l'inductance différentielle « L3_22_1n7 ».

- Partie capacitive

Elle est constituée d'une capacité MIM (C_{MIM}) à laquelle est associée en parallèle la capacité de détection (C_{sens}). A l'ensemble, s'ajoutent en parallèle les capacités non linéaires ramenées par les transistors de l'oscillateur (C_{TR}).

La capacité MIM (C_{MIM}) qui sera ajoutée en parallèle à C_{sens} , fournie par le design-kit d'IHP, est dimensionnée pour être égale à 436 fF. Elle présentera un fort facteur de qualité voisin de 1000 à la fréquence 5 GHz. Elle contribue à ce que le système oscille à la fréquence souhaitée de 5 GHz.

Nous avons choisi de modéliser la capacité de détection (C_{sens}) par une capacité interdigitée comme l'élément capacitif permettant de détecter la présence de l'élément biologique. Dans le cadre de notre étude, nous avons opté pour la technologie planaire car elle nous permet d'implémenter la fonction capteur à la surface de la puce, ce qui permet d'être compatible avec l'implémentation d'un canal microfluidique d'une manière simple, et pour laquelle il est possible d'observer à l'aide d'un microscope en temps réel le passage des cellules biologiques par la zone de détection au moment où celles-ci sont détectées par le système. La capacité de détection a été réalisée en technologie microruban et implémentée selon les règles de dessins imposées par le procédé technologique IHP. Notre choix s'est porté sur une capacité interdigitée à 4 doigts en aluminium, de largeur 15 μ m séparés d'un gap de 25 μ m, placée au milieu d'un canal microfluidique dont la largeur sera de 100 μ m (Figure II.24). Le dispositif a été dimensionné de manière qu'il soit compatible avec la taille des particules qui doivent être

analysées (de diamètre pouvant varier de 10 à 15 μm). Sa géométrie a été optimisée de façon à limiter les pertes ramenées sur le résonateur alors qu'il sera immergé dans le microcanal rempli d'un milieu de survie de conductivité 20 mS.m^{-1} , de permittivité 74,15 et de tangente de pertes égale à $\delta=0,2$ à 5 GHz. Au passage d'une cellule au-dessus de la zone de détection, la valeur de la capacité devrait changer du fait de la différence de permittivité intrinsèque entre cette dernière et son milieu d'immersion. La mesure de cette variation capacitive nous permettra de remonter aux propriétés diélectriques propres à l'élément biologique.

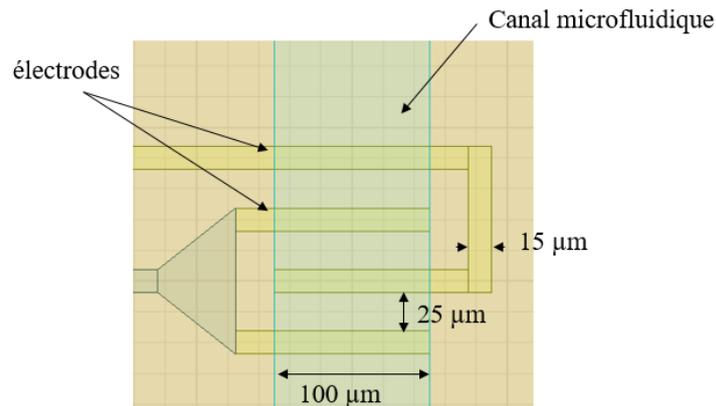


Figure II. 24. Schéma de la capacité interdigitée implémentée dans le canal microfluidique.

Un modèle électrique équivalent pour la capacité de détection a été réalisé à l'aide du logiciel ADS afin de prédire d'une façon plus précise l'effet sur la réponse du capteur des variations capacitives typiques qui pourraient être générées par des cellules dès lors de l'étape de conception. La Figure II.25 présente le schéma électrique équivalent de la capacité interdigitée qui a été associé au circuit résonant de notre système de détection pour réaliser les simulations et déterminer la sensibilité à laquelle on pourrait s'attendre.

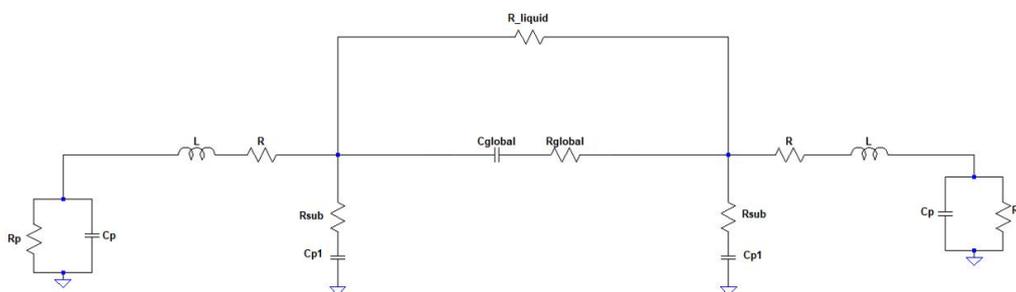


Figure II. 25. Modèle électrique équivalent de la capacité interdigitée implémentée comme capacité de détection dans le canal.

Parmi tous les modèles que nous avons testés, ce modèle nous a semblé le plus réaliste pour représenter notre capacité. Le schéma est symétrique et comprend :

- ✓ Une résistance parallèle « R_liquid » à la capacité de détection modélisant les pertes diélectriques du milieu liquide extracellulaire se situent entre et autour des électrodes.
- ✓ Une résistance « R » en série avec une inductance « L » modélisant les pertes métalliques des électrodes et ligne d'accès reliant la capacité implémentée dans le canal au cœur du circuit résonant située à plusieurs centaines de microns du canal.
- ✓ Une résistance en série « Rsub » et une capacité « Cp1 » modélisant les effets du substrat.
- ✓ Une résistance parallèle « Rp » et une capacité parallèle « Cp » modélisant la désadaptation du composant.
- ✓ Une capacité « Cglobal » modélisant le comportement capacitif des doigts interdigités en fonction de leur géométrie, en série avec une résistance « Rglobal » modélisant les pertes diélectriques associées.

Nous avons fait des simulations électromagnétiques sous HFSS et nous avons ajusté les valeurs des composants du circuit électrique pour que les deux simulations concordent. Les valeurs des composants, synthétisées dans le tableau ci-dessous, ont été choisies et optimisées à partir des valeurs trouvées dans la littérature.

Composant électrique	Valeur
R_liquid	7 k Ω
R	0,1 Ω
L	0,01 nH
Rsub	20 Ω
Cp1	100 fF
Rp	9 k Ω
Cp	35 fF
Cglobal	77,9 fF
Rglobal	64 m Ω

La Figure III.26 montre les résultats de simulation des paramètres S de la structure issus d'une simulation électromagnétique réalisée sous HFSS et ceux du schéma électrique. Les courbes rouges représentent la réponse en transmission (notée S_{21}) et en réflexion (notée S_{11}) de la structure obtenue sous HFSS en l'absence d'une cellule dans le canal microfluidique et les courbes bleues représentent la réponse en transmission (notée S_{43}) et en réflexion (notée S_{33}) du circuit électrique équivalent. D'après la Figure III.26, on observe une bonne

concordance entre les simulations électromagnétiques et le modèle électrique équivalent. Le capteur présente une valeur de capacité équivalente de 150 fF à 5 GHz.

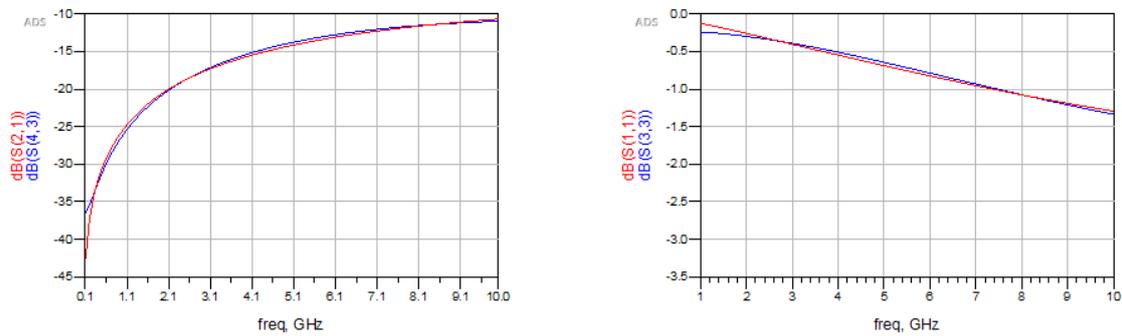


Figure II. 26. Simulations des paramètres S de la capacité de détection sous HFSS (courbes rouges) et issus du modèle électrique sous ADS (courbes bleues).

Le facteur de qualité de la capacité de détection a été évalué à 15 à la fréquence de 5 GHz, il présente une valeur faible du fait que le milieu en suspension dans le canal microfluidique est à pertes (Figure II.27).

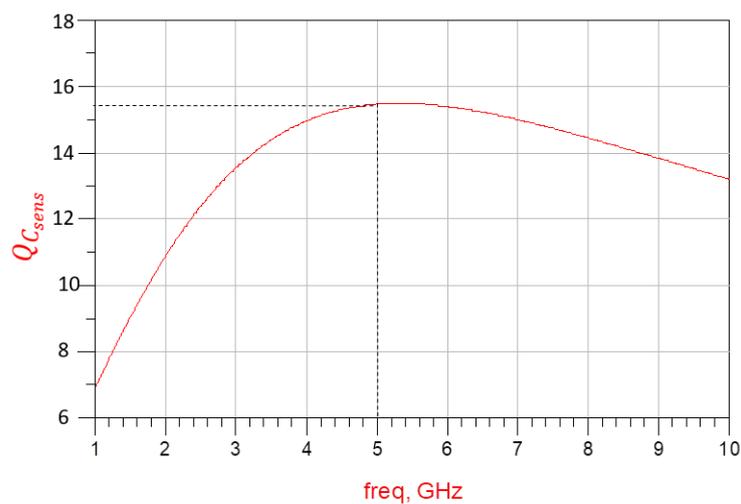


Figure II. 27. Facteur de qualité simulé de la capacité de détection C_{sens} .

II.5.4.3. Conception du circuit d'injection

Dans le cas d'un oscillateur différentiel, une injection différentielle est recommandée car elle permet d'équilibrer les sorties de l'oscillateur. Comme le montre la Figure II.22, l'injection du signal est réalisée par une paire différentielle à travers les grilles de deux transistors NMOS, M_3 et M_4 , de taille $W = 7 \mu\text{m}$, $L = 0,25 \mu\text{m}$ et $n_g = 1$, qui correspond à la moitié de la taille des transistors M_1 et M_2 comme décrit dans [25]. Les deux transistors sont polarisés avec un rapport de recopie de 2 soit avec un courant $I_2 = 1 \text{ mA}$.

Comme nous avons expliqué dans le paragraphe II.4.2, nous devons travailler en mode faible injection afin de garantir une plage de verrouillage étroite permettant ainsi d'augmenter la sensibilité du capteur. Ainsi, l'amplitude injectée choisie à l'entrée de l'oscillateur sera égale à quelques dizaines de millivolt (≈ 100 mV) voire quelques millivolts (≈ 10 mV).

II.5.5. Conception de l'étage amplificateur différentiel et du buffer de sortie

Nous avons ajouté à la sortie de l'oscillateur un étage tampon appelé « Buffers intermédiaires » présentant une forte impédance d'entrée dans l'objectif d'isoler l'oscillateur des autres parties du circuit. Ce module est formé par deux transistors bipolaires T_1 et T_2 présentant un nombre d'émetteur $nE=1$ et polarisés par les courants I_3 et I_4 qui sont égaux à $500 \mu\text{A}$ et fourni par le miroir de courant. Puis, nous avons ajouté un amplificateur différentiel suivi d'un autre étage tampon afin de combiner la sortie différentielle en une seule sortie adaptée sur 50Ω (Figure II.28). L'amplificateur différentiel est formé par une paire différentielle constituée de deux transistors NMOS M_5 et M_6 de taille $8 \mu\text{m} / 0,25 \mu\text{m}$, et par une charge constituée de deux résistances (R'), chacune présente une valeur de $1 \text{K}\Omega$. La valeur du courant I_5 , fourni par le miroir de courant, est fixée à 2mA et un pont de résistances ($R_1= 4 \text{K}\Omega$ et $R_2= 20 \text{K}\Omega$) et des capacités de découplage (C) de 2pF sont utilisés sur les grilles des transistors M_5 et M_6 . L'étage tampon n'est autre qu'un montage collecteur commun (émetteur suiveur) comme illustré sur la Figure II.28. Il se compose d'un transistor bipolaire T_3 présentant un nombre d'émetteur $nE=8$, une résistance de $5 \text{K}\Omega$ et des capacités de découplage de 2pF . L'optimisation de ce circuit, la taille du transistor et le courant de polarisation ont été judicieusement choisis pour restituer le maximum de puissance sur 50Ω . Il présente une impédance d'entrée élevée et une impédance de sortie faible permettant ainsi de limiter au maximum la chute de tension aux bornes de la charge 50Ω . Pour plus de flexibilité, nous avons conçu un miroir de courant dédié au buffer de sortie de l'oscillateur, ayant un courant de référence égal à 2mA avec un rapport de copie de 5 soit 10mA , dans l'objectif d'avoir plus de degré de liberté sur le courant de polarisation des buffers lors des phases d'expérimentation.

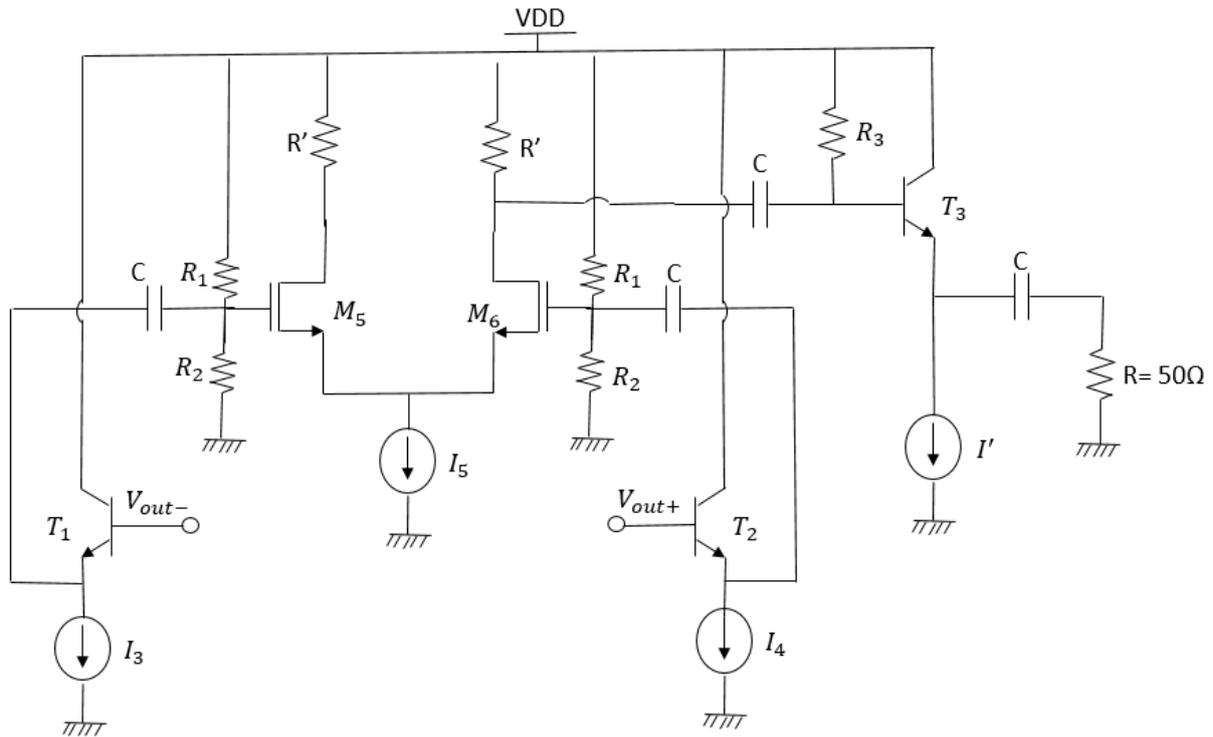


Figure II. 28. Module amplificateur différentiel et Buffer de sortie.

La Figure II.29, illustre l'architecture globale du système de détection proposé avec les différents modules qui le constituent :

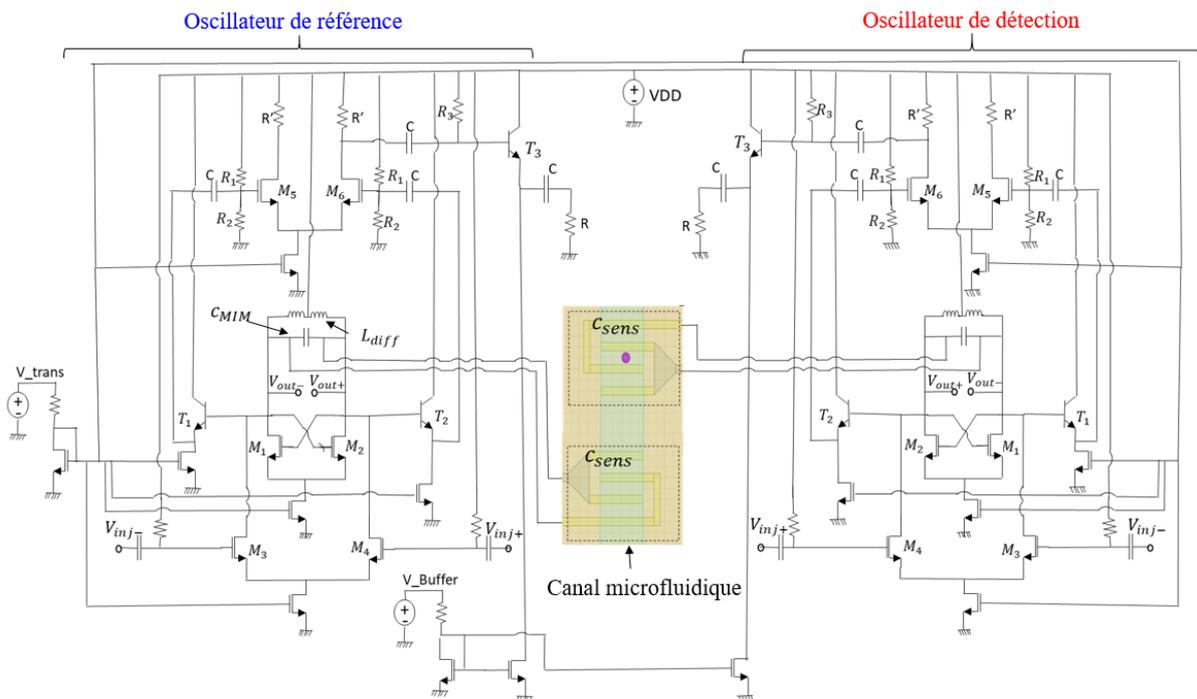
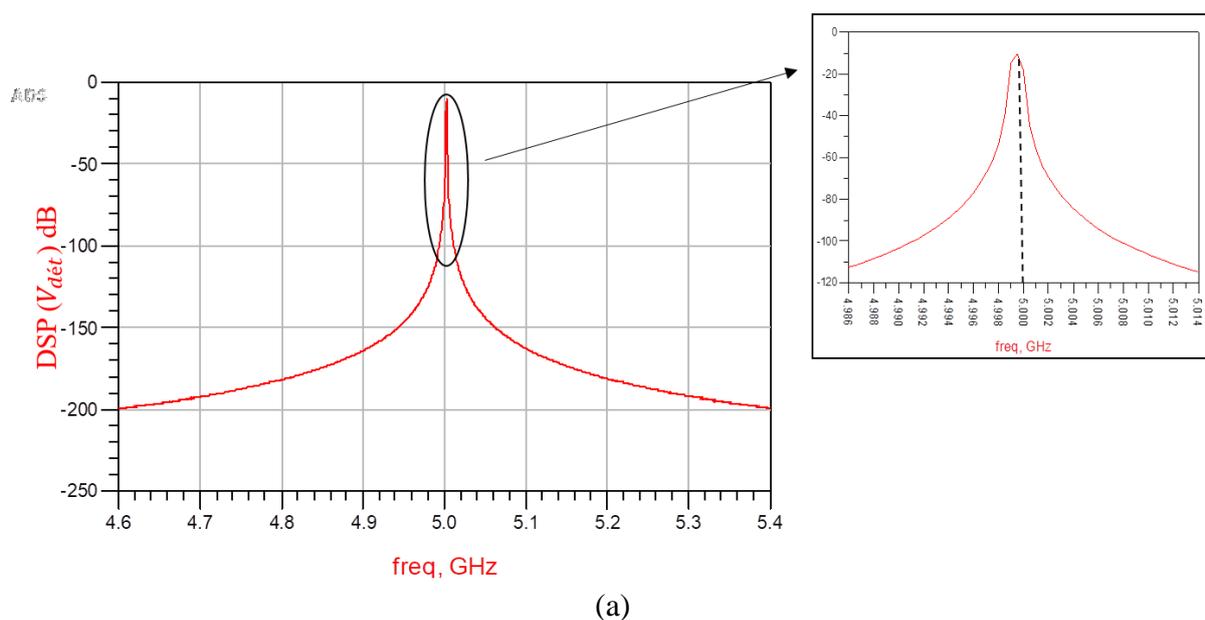


Figure II. 29. Architecture globale du biocapteur conçu.

II.6. Performances et résultats de simulation électriques du système de détection

Comme nous l'avons expliqué précédemment, notre système de détection est formé de deux oscillateurs strictement identiques : un de détection et un autre servant comme référence. Nous allons commencer tout d'abord par présenter les performances et les résultats de simulation électriques, à l'aide du logiciel ADS, d'un seul oscillateur verrouillé par injection, puis ceux du système de détection global.

Nous avons énoncé précédemment que l'originalité du principe d'injection réside dans le fait qu'un oscillateur oscillant de façon libre se synchronise sur une source externe très pure spectralement et dont la fréquence est voisine de celle de sa fréquence d'oscillation libre. Ainsi, sans signal d'injection, l'oscillateur de détection oscille donc à sa fréquence libre que nous avons voulu fixer à 5 GHz dans notre cas. La Figure II.30 montre les représentations temporelles et fréquentielles du signal à la sortie de l'oscillateur et celle du buffer lorsqu'il est chargé à 50 Ω : la Figure II.30(a), montre que la fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ est bien de 5 GHz. La Figure II.30(b) montre le signal différentiel V_{out+}/V_{out-} au niveau la sortie différentielle de l'oscillateur de détection, en oscillation libre. Comme nous pouvons le constater, les deux signaux V_{out+} et V_{out-} sont parfaitement en opposition de phase. La Figure II.30(c) montre le signal de sortie « single-ended » de l'oscillateur en oscillation libre. L'amplitude des oscillations est égale à 430 mV crête lorsque le système est en charge sur 50 Ω, signe que le buffer de sortie est bien efficace.



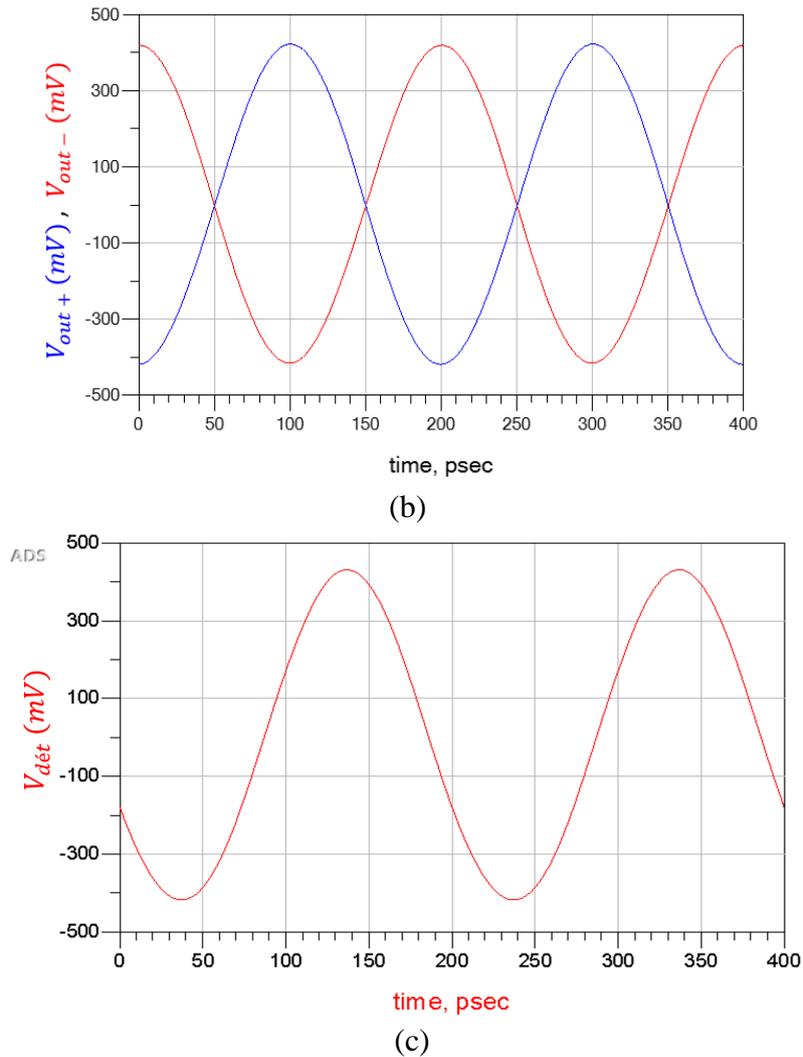


Figure II. 30. (a) Réponse fréquentielle de l'oscillateur de détection en oscillation libre à 5 GHz, (b) Signal différentiel de l'oscillateur de détection en oscillation libre en temporel, (c) Signal « single-ended » en sortie de l'oscillateur en oscillation libre.

Nous allons maintenant présenter les performances du circuit lorsque le circuit est verrouillé par injection. Nous avons choisi d'injecter un signal à une fréquence différente de la fréquence d'oscillation libre dans l'objectif d'illustrer la synchronisation de l'oscillateur esclave sur le maître. La Figure II.31(a) montre que l'oscillateur est synchronisé à une fréquence d'injection f_{inj} égale à 5,003 GHz avec une amplitude du signal injecté égale à 45 mV. Un déphasage de $\Delta\phi = 18^\circ$ est induit entre le signal de sortie de l'oscillateur et celui d'injection traduisant la différence de fréquence de 3 MHz entre la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection et la fréquence l'injection, comme le montre la Figure II.31(b).

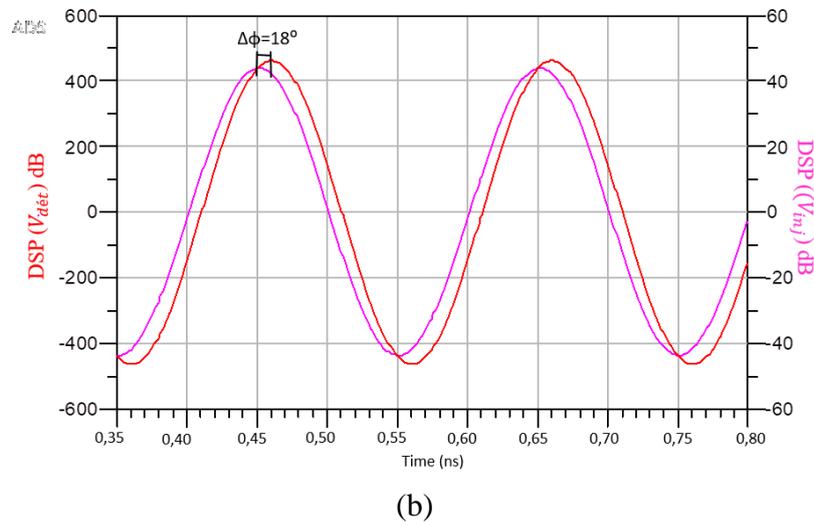
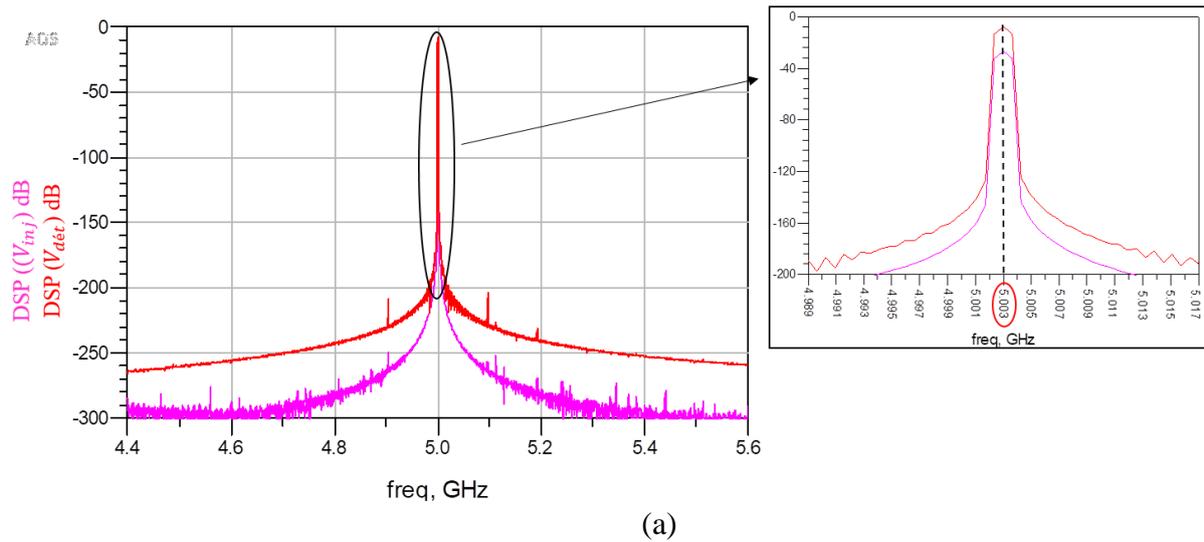


Figure II. 31. Signal en sortie de l'oscillateur de détection (dans la plage de verrouillage) : (a) Spectre du signal verrouillé par injection, (b) Formes d'onde des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{inj}=f_{det}+3$ MHz.

En se référant à l'équation d'Adler, la plage de verrouillage se définit notamment à partir de l'amplitude du signal injecté. Plus celle-ci est élevée, plus l'oscillateur esclave suit le maître et plus la plage de verrouillage est importante et donc le déphasage résultant est plus petit et inversement. Pour illustrer ce phénomène, la Figure II.32 montre le déphasage ($\Delta\phi = \phi_{det} - \phi_{inj}$) entre la phase du signal de sortie de l'oscillateur de détection (ϕ_{det}) et la phase d'injection (ϕ_{inj}) en fonction de la différence de fréquence entre la fréquence d'oscillation libre (f_{det}) de l'oscillateur de détection et la fréquence d'injection (f_{inj}) pour différentes amplitudes d'injection. Comme attendu, les simulations montrent que cette différence de fréquence, nommée Δf , se traduit par un déphasage entre le signal de sortie de l'oscillateur de détection et le signal injecté et la valeur de ce déphasage va justement dépendre du décalage entre la

fréquence d'oscillation libre et la fréquence d'injection. Par exemple, pour une amplitude d'injection égale à 200 mV (la courbe de couleur marron), nous obtenons pour un déphasage compris entre -30° et $+30^\circ$, une valeur de Δf comprise entre -70 MHz et +70 MHz autour de 5 GHz. Pour une amplitude d'injection plus faible égale à 45 mV (la courbe verte), nous obtenons une pente beaucoup plus importante traduisant un déphasage plus conséquent sur une plage de fréquence bien plus petite, comprise entre -7 à $+7$ MHz autour de 5 GHz. Dans le cadre de ces travaux de thèse, nous avons cherché, comme nous l'avons expliqué dans le début de ce chapitre, à détecter des variations capacitatives de quelques dizaines d'attoFarads ce qui correspond à de très faibles variations fréquentielles autour de 5 GHz. Le défi de ce travail de recherche est d'arriver à obtenir un déphasage mesurable correspondant à une faible différence de fréquence. Ainsi, avec une amplitude du signal injecté de l'ordre de 7 mV, les simulations montrent que le circuit proposé peut potentiellement détecter une variation fréquentielle de 10 kHz autour de 5 GHz conduisant à un déphasage égal à 3° , comme le montre la Figure II.33. Soit une sensibilité de détection fréquentielle égale à 2 ppm pour une amplitude du signal injecté égale à 7 mV. Cette variation de fréquence correspond à une variation capacitive de 3 aF.

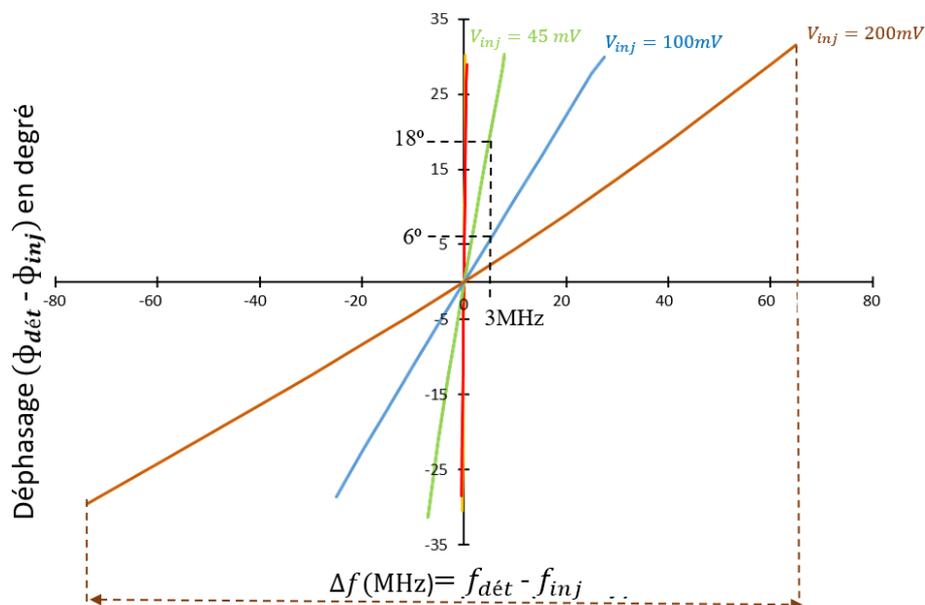


Figure II. 32. Déphasage résultant en fonction de la différence de fréquence entre la fréquence d'oscillation libre et la fréquence d'injection pour différentes amplitudes d'injection.

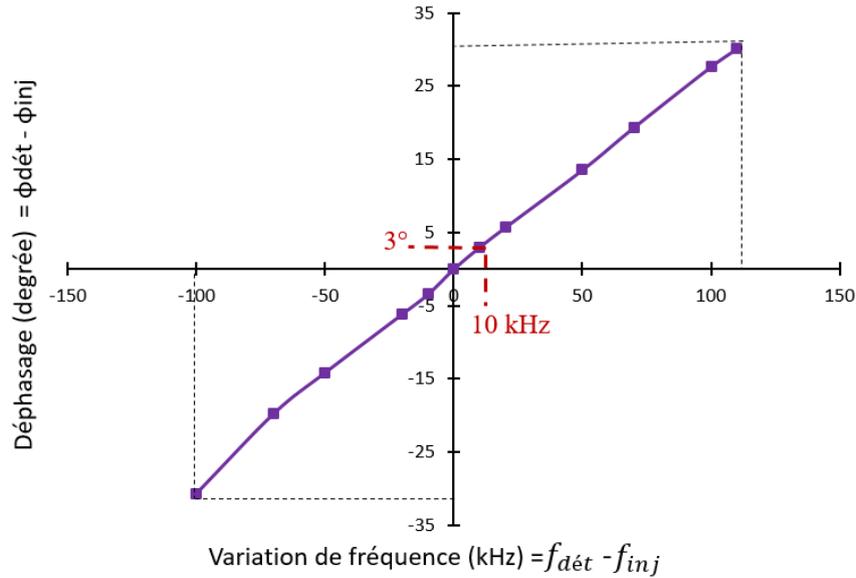


Figure II. 33. Variation du déphasage en fonction de la variation de fréquence pour une amplitude du signal injecté de 7 mV.

Nous allons maintenant présenter les performances du système de détection global (Détection & Référence). Comme nous l'avons énoncé précédemment, les deux oscillateurs de détection et de référence sont identiques et ils devaient osciller à la même fréquence d'oscillation libre à 5 GHz comme l'illustre la Figure II.34.

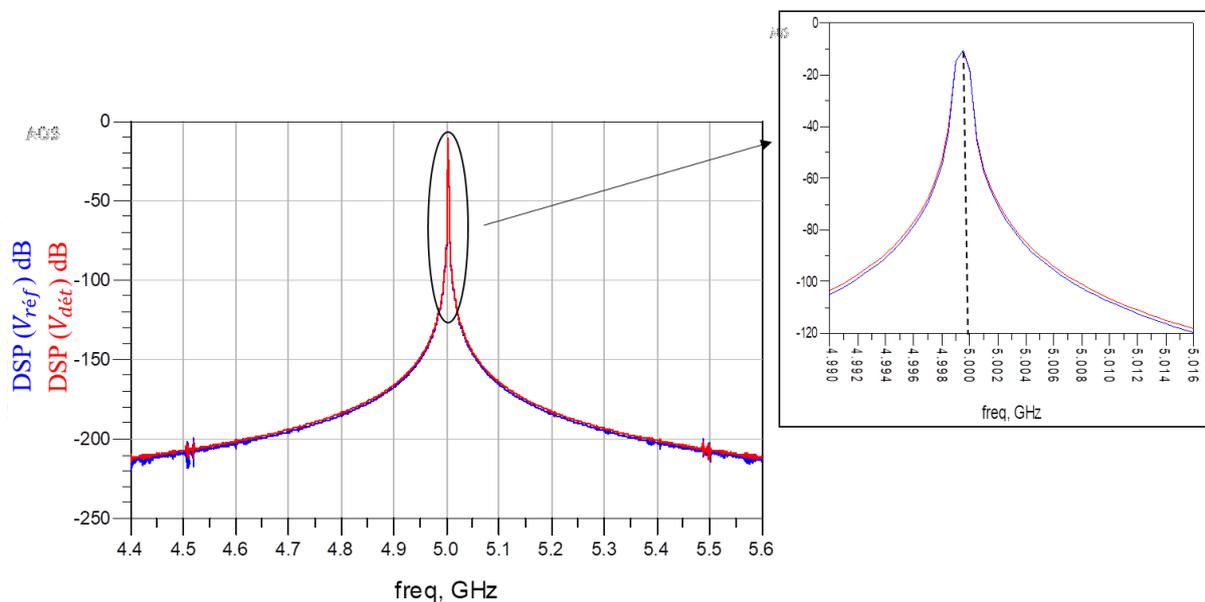


Figure II. 34. Réponse fréquentielle des deux oscillateurs de détection et de référence en oscillation libre à 5 GHz.

Pour simuler le scénario lors du passage des cellules par la zone de détection de l'oscillateur de détection, nous avons procédé comme suit :

Lorsque les deux oscillateurs de détection et de référence ne sont pas perturbés par l'élément biologique, ils oscillent à la même fréquence libre 5 GHz. En conditions d'injection, en injectant un signal de fréquence d'injection f_{inj} égale à la fréquence d'oscillation libre $f_{dét}=f_{réf}$ (Figure II.35), à une amplitude d'injection égale à 7 mV, un déphasage nul apparaît entre les sorties des deux oscillateurs comme illustré sur la Figure II.36(a).

A présent, pour simuler le cas où l'oscillateur de détection détecte une cellule biologique, nous avons cherché à varier la capacité de détection C_{sens} de ce dernier de quelques attoFarads, (qui sera nommée ici $C_{dét}$), afin de faire varier sa fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$. L'oscillateur de référence quant à lui reste inchangé, sa capacité de détection, nommée ici $C_{réf}$, garde la même valeur et sa fréquence d'oscillation libre $f_{réf}$ reste fixe égale à 5 GHz. Ainsi, en injectant un signal de fréquence d'injection f_{inj} égale à la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de référence $f_{réf}=5$ GHz, à une amplitude d'injection égale à 7 mV, un déphasage $\Delta\phi'=\phi_{dét}-\phi_{réf}$ est généré entre les deux sorties des deux oscillateurs de détection et de référence. A titre d'exemple, la Figure II.36(b) montre le cas ou en variant la capacité de détection $C_{dét}$ de 20 aF, dans les mêmes conditions d'injection ($f_{inj}=5$ GHz et $V_{inj}=7$ mV), un déphasage égal à 24° apparaît entre le signal de sortie de l'oscillateur de détection et celui de la référence.

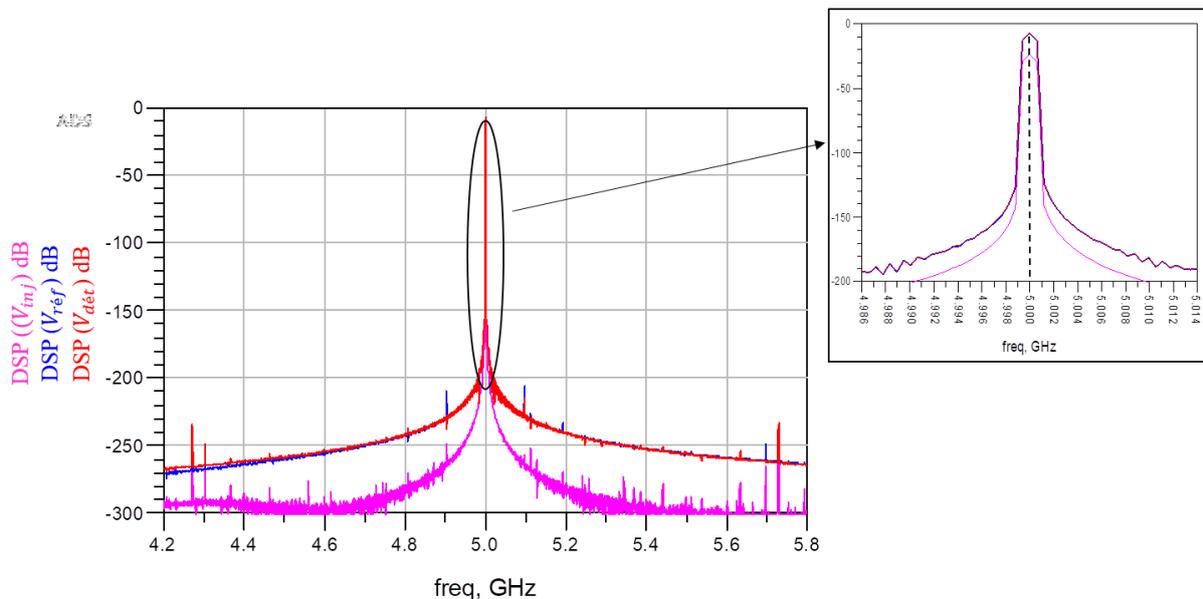


Figure II. 35. Réponse fréquentielle des deux oscillateurs de détection et de référence verrouillés sur la même fréquence d'injection ($f_{inj}=f_{dét}=f_{réf}=5$ GHz).

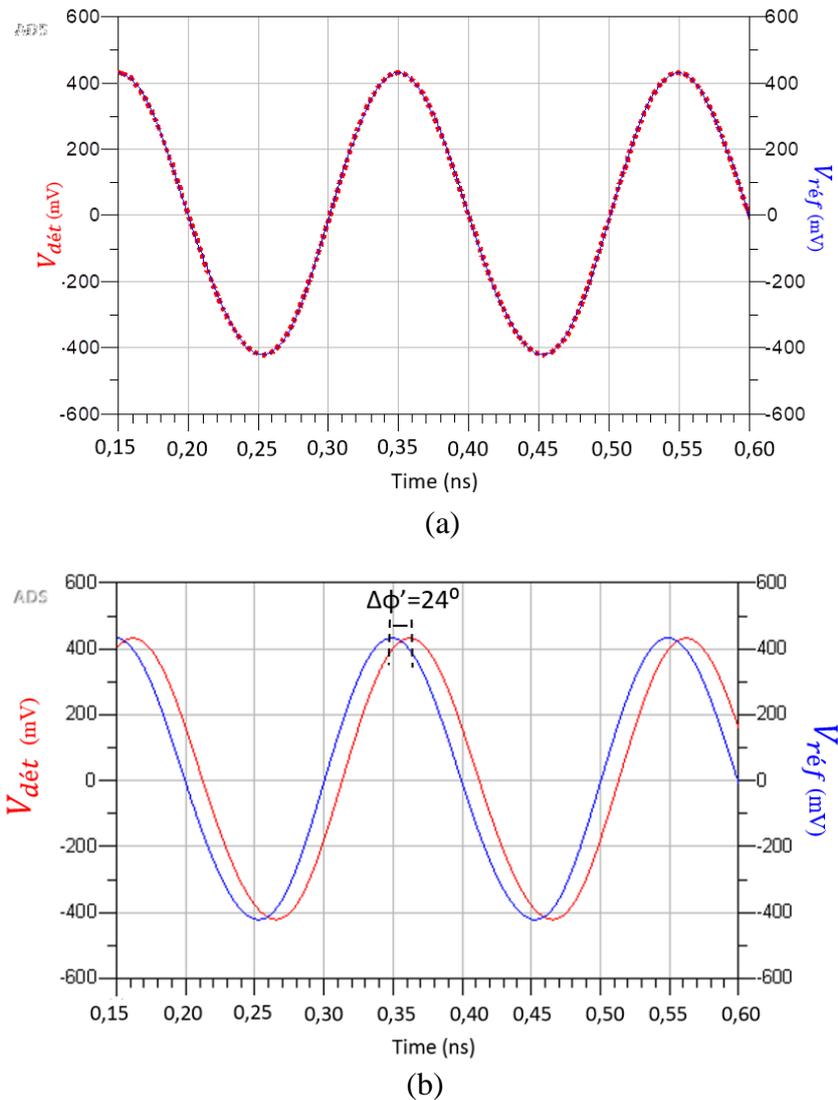


Figure II. 36. (a) Signal en sortie du système de détection et de référence lorsque $f_{dét} = f_{inj}$, (b) Signal en sortie du système de détection et de référence pour une variation de la capacité de détection de 20 aF entre les deux sorties des oscillateurs (Référence & Détection).

Sur la Figure II.37, on observe à la sortie des deux oscillateurs (Détection et référence) que l'on obtient une variation de phase linéaire comprise entre -30° et $+30^\circ$ si on considère un changement capacitif correspondant entre $C_{dét}$ et $C_{réf}$ compris entre ± 31 aF. Ce dispositif peut détecter une variation capacitive de 3 aF autour d'une capacité globale de l'ordre de 600 fF, induisant un décalage fréquentiel de 10 kHz autour de 5 GHz entre les signaux issus des deux oscillateurs de détection et de référence en oscillation libre et générant ainsi un déphasage correspondant de 3° . Ainsi, selon les résultats de simulation, le système de détection proposé présente une sensibilité de détection (2 ppm) bien adaptée pour pouvoir caractériser le type d'échantillons visés.

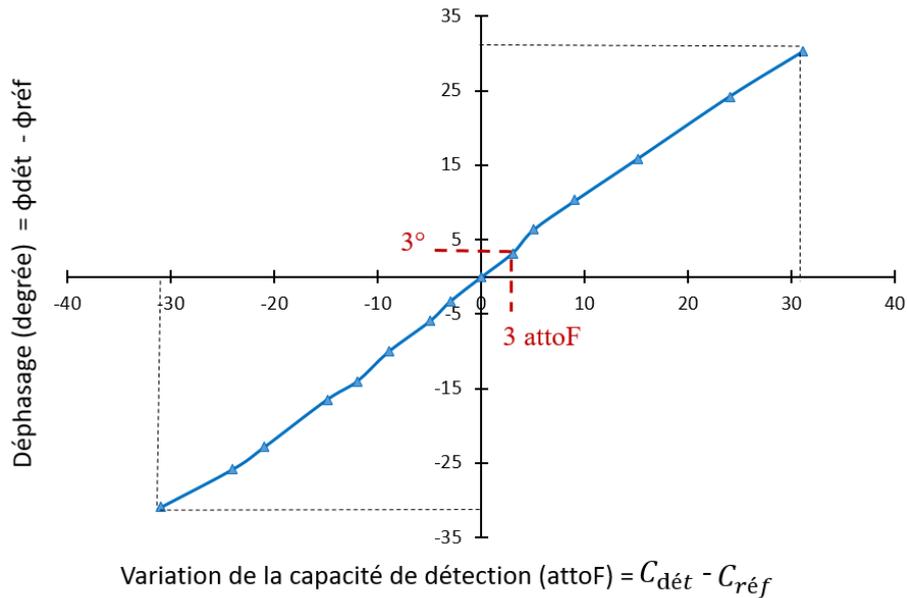


Figure II. 37. Déphasage entre les deux sorties des oscillateurs (Référence & Détection) en fonction de la variation de la capacité de détection.

Ces résultats de simulations prouvent que l'architecture du système de détection proposée est extrêmement sensible et peut répondre à nos attentes. Le logiciel ADS, est un logiciel de conception de circuit qui ne prend pas en compte des parasites (résistances, inductances, capacités) qui pourraient apparaître, lors de l'étape de l'implémentation du circuit. En revanche, il nous a permis de valider notre approche de conception par des simulations électriques. Prendre en compte les parasites rajoutés par l'étape de dessin des masques est primordial puisque leur influence va être non négligeable aux fréquences auxquelles le système de détection opère.

Par conséquent, nous sommes passés à l'étape d'implémentation du circuit avec le logiciel Cadence. Nous présenterons, dans le chapitre suivant, la réalisation du dessin des masques du circuit de détection selon les règles de dessins imposées par le procédé IHP. Ensuite, à l'aide de l'environnement « spectre RF », nous présenterons les simulations post-layout réalisées ainsi que les premiers résultats de mesures obtenus lors des phases de test expérimentales des prototypes réalisés par IHP.

II.7.Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté l'architecture et la conception d'un système de détection original basé sur deux oscillateurs verrouillés par injection et intégré en technologie BiCMOS SiGe:C 0,25 μ m. Le circuit oscillateur a la faculté de se verrouiller sur un signal externe qui lui est injecté et dont la fréquence doit être proche de celle de sa fréquence d'oscillation libre pour que la synchronisation puisse se faire. Il constitue le cœur du système de détection permettant de pouvoir caractériser des cellules biologiques dans un canal microfluidique.

Nous avons mené une étude permettant de fixer notre choix sur la technique, la topologie du circuit et le dimensionnement des composants qui le constituent et ainsi concevoir un système performant qui répond aux besoins de l'application visée. Par la suite, nous avons présenté la démarche de conception suivie pour mettre au point ce circuit. Les résultats de simulations présentés dans ce chapitre ont démontré la faisabilité de l'approche proposée et la capacité du système développé à atteindre une très forte sensibilité de détection. Le dispositif devrait être capable, en travaillant en mode faible injection, de traduire une faible variation de la fréquence d'oscillation libre de l'ordre de 10 kHz au voisinage de 5 GHz en un déphasage détectable. Ce décalage fréquentiel pourrait être induit par une variation capacitive de l'ordre de 3 aF. La mesure du déphasage généré entre les sorties des deux oscillateurs (Détection & Référence) permettra de déterminer les propriétés diélectriques des cellules passant au voisinage de la zone de détection du capteur.

Dans le prochain chapitre, nous présenterons l'implémentation du biocapteur en technologie Silicium sous l'environnement Cadence, les résultats de simulations post-layout ainsi que les performances réelles du circuit obtenues lors de tests expérimentaux.

- [1] H. Wang, Y. Chen, A. Hassibi, A. Scherer, and A. Hajimiri, "A frequency-shift CMOS magnetic biosensor array with single-bead sensitivity and no external magnet," in *IEEE International Solid-State Circuits Conference - Digest of Technical Papers, San Francisco, CA, USA, 2009*, pp. 438–439.
- [2] T. Mitsunaka, D. Sato, N. Ashida, A. Saito, K. Iizuka, T. Suzuki, Y. Ogawa, and M. Fujishima, "CMOS Biosensor IC focusing on dielectric relaxations of biological water with 120 and 60 GHz oscillator arrays," *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 51, no. 11, pp. 2534–2543, 2016.
- [3] J. C. Chien, M. Anwar, and A. M. Niknejad, "A CMOS single-cell deformability analysis using 3D hydrodynamic stretching in a GHz dielectric flow cytometry," in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium, Honolulu, HI, USA, 2017*, vol. 1, pp. 861–864.
- [4] H. Wang, C. C. Weng, and A. Hajimiri, "Phase noise and fundamental sensitivity of oscillator-based reactance sensors," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 61, no. 5, pp. 2215–2229, 2013.
- [5] Y. Hong, H. J. Lee, S. G. Kim, B. H. Kim, G. H. Yun, and J. G. Yook, "A label-free biosensing platform using a PLL circuit and biotin-streptavidin binding system," *IEEE Trans. Biomed. Circuits Syst.*, vol. 9, no. 3, pp. 345–352, 2015.
- [6] J. C. Chien and A. M. Niknejad, "Oscillator-based reactance sensors with injection locking for high-throughput flow cytometry using microwave dielectric spectroscopy," *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 51, no. 2, pp. 457–472, 2016.
- [7] O. Elhadidy, S. Shakib, K. Krennek, S. Palermo, and K. Entesari, "A 0.18- μ m CMOS fully integrated 0.7-6 GHz PLL based complex dielectric spectroscopy system," in *Proceedings of the IEEE 2014 Custom Integrated Circuits Conference, San Jose, CA, USA, 2014*.
- [8] V. Sekar, W. J. Torke, S. Palermo, and K. Entesari, "A self-sustained microwave system for dielectric-constant measurement of lossy organic liquids," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 60, no. 5, pp. 1444–1455, 2012.
- [9] K. Entesari, A. A. Helmy, and V. Sekar, "A review of frequency synthesizer-based microwave chemical sensors for dielectric detection of organic liquids," *2013 IEEE 14th Annu. Wirel. Microw. Technol. Conf. WAMICON 2013*, no. 1, pp. 1–3, 2013.
- [10] O. Elhadidy, S. Shakib, K. Krennek, S. Palermo, and K. Entesari, "A wide-band fully-integrated CMOS ring-oscillator PLL-based complex dielectric spectroscopy system," *IEEE Trans. Circuits Syst. I Regul. Pap.*, vol. 62, no. 8, pp. 1940–1949, 2015.
- [11] O. Elhadidy and M. Elkholy, "A CMOS fractional-N PLL-based microwave chemical sensor with 1.5% permittivity accuracy," vol. 61, no. 9, pp. 3402–3416, 2013.
- [12] H. Wang, S. Kosai, C. Sideris, and A. Hajimiri, "An ultrasensitive CMOS magnetic biosensor array with correlated double counting noise suppression," in *IEEE MTT-S International Microwave Symposium, 2010*, pp. 616–619.
- [13] H. Wang, A. Hajimiri, and S. Kousai, "Noise suppression techniques in high-precision long-term frequency/timing measurements, U.S. Provisional Patent CIT-5318," 2010.
- [14] B. Razavi, "A study of injection locking and pulling in oscillators," *Proc. IEEE 2003 Cust. Integr. Circuits Conf.*, vol. 39, no. 9, pp. 305–312, 2004.
- [15] E. de Foucauld, "Conception et réalisation d'oscillateurs accordables en fréquence en technologie SiGe pour les radio-téléphones," Thèse de l'université de Limoges, 2001.
- [16] R. Adler, "Locking phenomena in microwave oscillators," *Proc. IEEE*, vol. 34, no. 6, pp. 351–357, 1946.
- [17] A. Mirzaei, M. E. Heidari, R. Bagheri, S. Chehrazi, and A. A. Abidi, "The quadrature LC oscillator: A complete portrait based on injection locking," *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 42, no. 9, pp. 1916–1932, 2007.
- [18] J. Lee and H. Wang, "Study of subharmonically injection-locked PLLs," *IEEE J. Solid-*

State Circuits, vol. 44, no. 5, pp. 1539–1553, 2009.

- [19] L. J. Paciorek, "Injection locking of oscillators," *PROCEEDINGS IEEE*, vol. 53, no. 11, 1965.
- [20] R. Adler, "Locking phenomena in oscillators," *Proc. IEEE*, vol. 61, no. 10, pp. 1380–1385, 1973.
- [21] I. Ali, A. Banerjee, A. Mukherjee, and B. N. Biswas, "Study of injection locking with amplitude perturbation and its effect on pulling of oscillator," *IEEE Trans. Circuits Syst. I Regul. Pap.*, vol. 59, no. 1, pp. 137–147, 2012.
- [22] K. Kurokawa, "Injection locking of microwave solid-state oscillators," *Proc. IEEE*, vol. 61, no. 10, pp. 1386–1410, 1973.
- [23] N. Lanka, S. Patnaik, and R. Harjani, "Understanding the transient behavior of injection locked LC oscillators," *IEEE Cust. Integr. Circuits Conf. San Jose, CA, USA*, pp. 667–670, 2007.
- [24] D. Cordeau, "Etude comportementale et conception d'oscillateurs intégrés polyphases accordables en fréquence en technologies Si et SiGe pour les radiocommunications," Thèse de l'Université de Poitiers, 2004.
- [25] L. Wu, A. Li, and H. C. Luong, "A 4-path 42.8-to-49.5 GHz lo generation with automatic phase tuning for 60 GHz phased-array receivers," *IEEE J. Solid-State Circuits*, vol. 48, no. 10, pp. 2309–2322, 2013.



Chapitre III. Implémentation et réalisation d'un microsysteme en technologie BiCMOS SiGe :C 0,25 μ m



III.1.Introduction

Au cours de ce chapitre, nous allons présenter l'implémentation du circuit réalisé, la réalisation des modules et bancs de test des puces fabriquées par IHP et les expérimentations que nous avons menées sur des premiers prototypes de systèmes de détection à base de deux oscillateurs verrouillés par injection intégrés sur un substrat silicium. Ce système opère autour de 5 GHz et générera deux signaux déphasés suite à la détection d'un élément biologique passant au voisinage de la zone de détection. Le déphasage généré sera mesuré grâce à un oscilloscope adapté.

Nous présenterons dans la première partie de ce chapitre, l'implémentation du circuit conçu. La microstructure sera intégrée et fabriquée selon le procédé technologique BiCMOS SG25H4 SiGe :C 0,25 μ m développée par l'Institut *IHP Microelectronics (Innovation for High Performance Microelectronics)* [1]. Pour concevoir un circuit intégré comme nous l'envisageons, IHP nous offre l'opportunité de pouvoir modifier son procédé de fabrication standard en rajoutant des étapes post-process supplémentaires permettant d'intégrer un canal microfluidique sur la puce. Nous nous intéresserons par la suite aux différentes étapes de réalisation du dessin des masques pour aboutir à un circuit final intégré qui a été réalisé par IHP. Tout en respectant les règles de dessins imposées par ce procédé, nous avons soigneusement prédéfini une démarche d'implémentation pour le circuit : le choix des couches de métallisations utilisées et l'agencement des modules qui le constituent afin de maximiser les performances des oscillateurs. La dernière partie de ce dernier chapitre se focalisera sur les expérimentations menées sur les premiers prototypes réalisés. La faisabilité de cette nouvelle approche d'analyse cellulaire sur puce électronique a été validée à partir des résultats de simulation post-layout tout d'abord, et également à partir des résultats de mesures sur des premiers prototypes.

III.2. Implémentation d'un biocapteur actif en technologie BiCMOS

Dans cette section, l'implémentation d'un système de détection à base d'oscillateurs différentiels verrouillés par injection intégré en technologie SG25H4 SiGe :C BiCMOS 0,25 μ m d'IHP est décrite. Dans un premier temps, nous commençons par introduire le procédé technologique IHP que nous allons être amenés à utiliser pour réaliser les prototypes.



III.2.1. Procédé technologique BiCMOS standard d'IHP

Le microsystème implémenté devra respecter des règles de dessins bien définies, imposées par IHP dans leur design-kit. La Figure III.1 présente une vue en coupe de l'empilement du procédé SG25H4. Ce dernier est principalement composé de deux parties : une partie passive appelée BEOL (Back End Of Line) composée d'un empilement de couches isolantes, de cinq niveaux possibles de pistes métalliques et d'une partie active à la surface du substrat de silicium ou des transistors peuvent être implémentés.

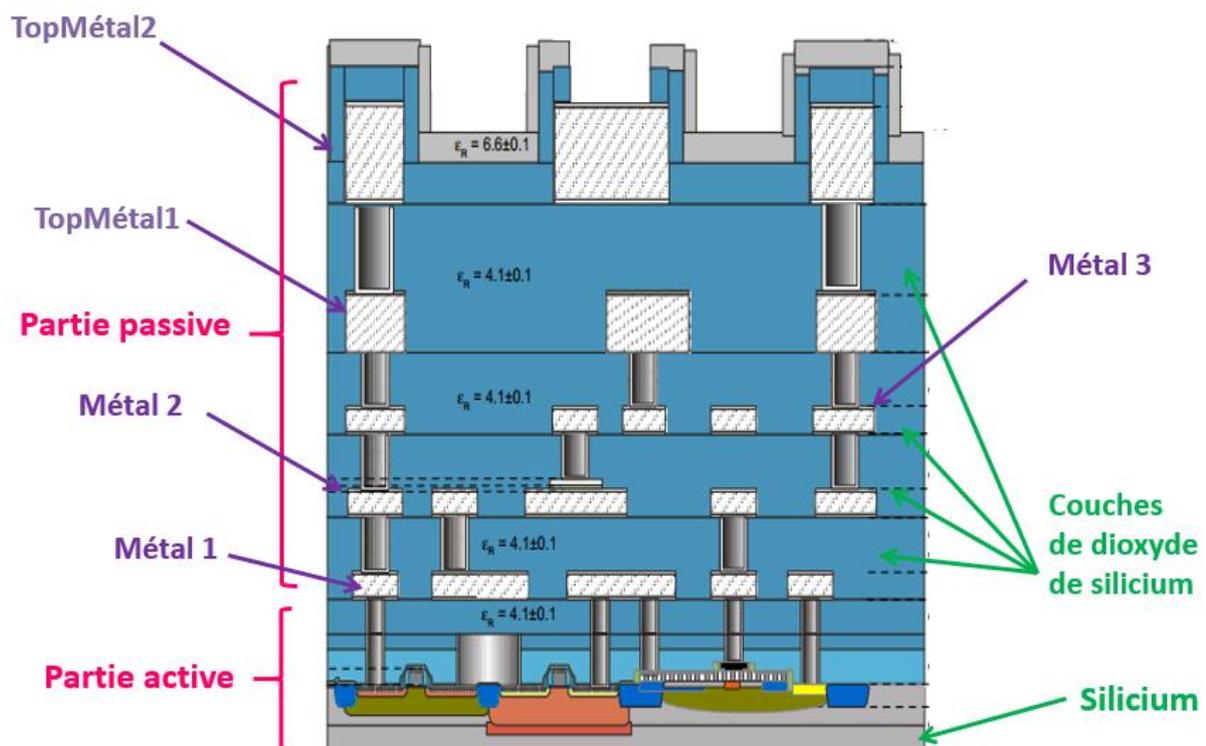


Figure III. 1. Empilement de couches du procédé BiCMOS SG25H4 d'IHP (pas à l'échelle).

La partie passive, comme illustré sur la Figure III.1, est constituée de plusieurs couches isolantes de dioxyde de Silicium (SiO_2) de permittivité égale à 4,1 empilées alternativement avec des couches métalliques d'aluminium dont l'interconnexion peut être réalisée par des vias. Cette partie sert principalement à réaliser des fonctions passives telles que des capacités, des inductances, des lignes de propagation ou encore pour du routage de signaux hautes fréquences, ou de signaux de commande/polarisation des transistors.

On remarque aussi que les couches de métallisations peuvent présenter des épaisseurs différentes : les niveaux de métaux supérieurs (TopMétal1 et TopMétal2) sont en effet bien plus épais : quelques micromètres. Cela permet de réaliser des fonctions à faibles pertes telles que

des inductances, des lignes RF. Les métallisations plus enterrées sont plus fines (Métal1, Métal2, Métal3), avec une épaisseur inférieure au micromètre. Elles sont plus dédiées à du routage ou à la réalisation d'éléments localisés tels que des capacités MIM (Métal-Isolant-Métal).

Dans le cadre de notre étude, le système de détection sera implémenté au fond d'un canal microfluidique qui permettra de mesurer des éléments biologiques en suspension de manière plus efficace. Pour réaliser ce microcanal sur la puce, IHP nous a autorisé à modifier le procédé de fabrication standardisé en ajoutant une ouverture localisée au travers des dernières couches de passivation comme le décrit la Figure III.2. La profondeur de cette ouverture ne sera pas suffisante par rapport à nos besoins. L'ouverture sera donc complétée par un capot réalisé en PDMS qui permettra d'atteindre l'épaisseur requise pour le canal microfluidique. Néanmoins, cette ouverture est capitale car elle nous permettra d'avoir une interaction du champ électromagnétique plus efficace avec les cellules et donc des meilleures performances de détection car ces dernières pourront circuler au plus près des électrodes de détection implémentées au niveau de la couche de TopMétal 2.

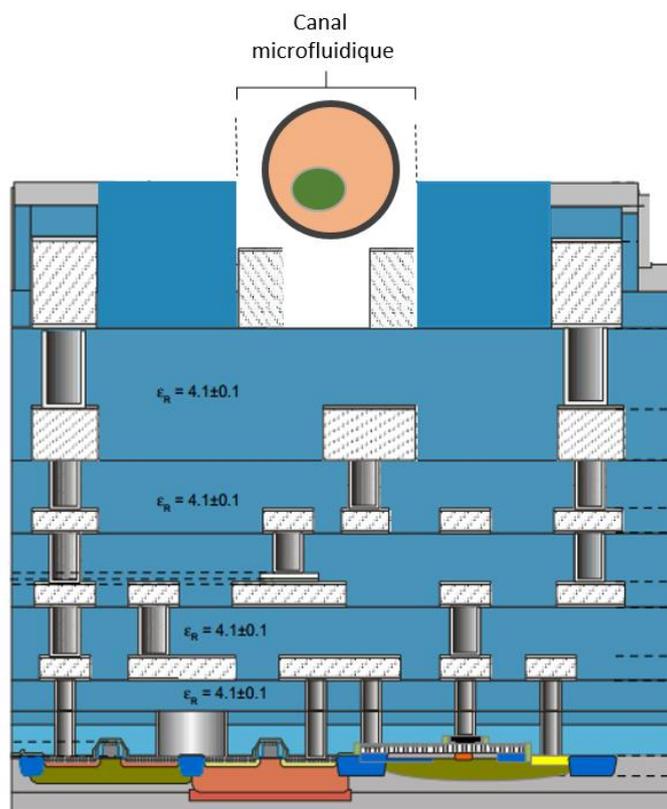


Figure III. 2. Empilement des différentes couches du procédé BiCMOS SG25H4 d'IHP intégrant la partie microfluidique (pas à l'échelle).

Après cette brève description du procédé technologique, nous allons présenter, dans le paragraphe suivant, l'implémentation du système de détection introduit dans le chapitre 2 de ce manuscrit. Le circuit va être constitué de deux oscillateurs LC différentiels identiques verrouillés par injection. L'élément de détection sera une capacité interdigitée immergée au fond du canal microfluidique.

III.2.2. Implémentation du biocapteur actif en technologie SiGe :C BiCMOS 0,25 μ m

III.2.2.1. Implémentation de la fonction de détection

Ce paragraphe détaille la mise en œuvre du layout du laboratoire sur puce sur la base des concepts développés dans le chapitre 2. L'étape de dessin des masques a demandé beaucoup de réflexion pour agencer les différents modules constituant le circuit. Durant cette étape, et pour un circuit opérant dans la gamme hyperfréquence, il est indispensable de tenir compte de la géométrie et des connexions des pistes métalliques pouvant générer des éléments parasites tels que des résistances, des capacités, des inductances et des couplages parasites entre les lignes. En effet, dans cette gamme de fréquence leur influence peut devenir très importante et induire une dégradation du facteur de qualité du résonateur ou une diminution de la fréquence d'oscillation libre et par conséquent une perte de sensibilité. Par conséquent, du fait du caractère différentiel de l'ILO, la réalisation du dessin des masques doit être réalisée avec la plus grande attention en privilégiant une structure symétrique.

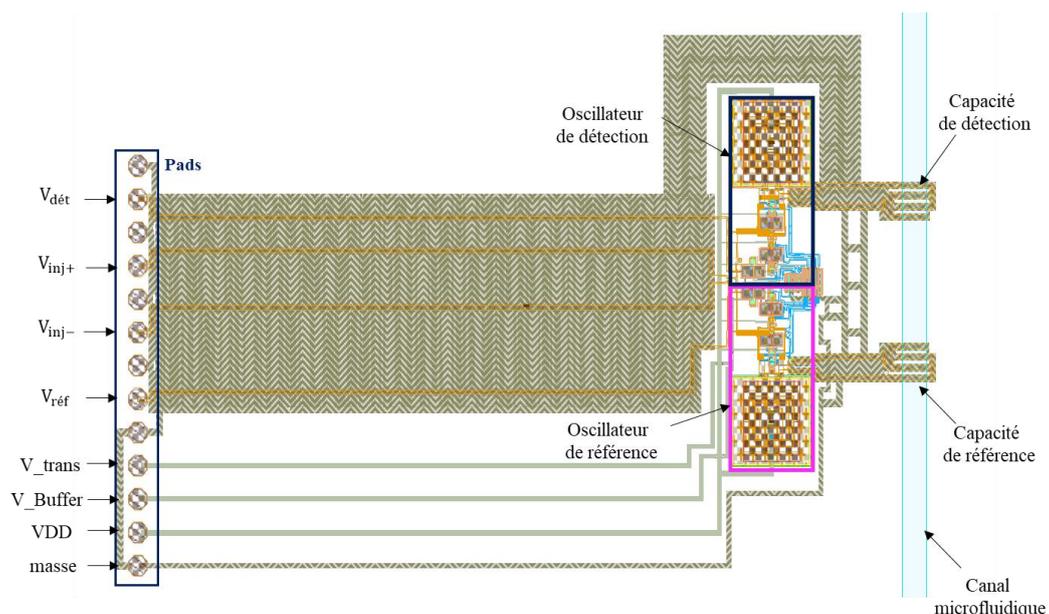


Figure III. 3. Dessin des masques du système de détection implémentés au fond du canal microfluidique.

Le dessin des masques du système de détection proposé est illustré dans Figure III.3. La dimension du circuit intégré incluant les lignes de transmissions jusqu'aux pads permettant la connectique hors puce est de 1,580 x 3,5 mm².

Les tensions d'alimentation VDD, V_Buffer (pour polariser le buffer de sortie), V_trans (pour polariser le reste des modules constituent le circuit) et la masse sont amenées par des pistes métalliques implémentées en Métal2 et Métal1 respectivement et connectées avec des pads DC. Les signaux RF (les signaux issus de l'oscillateur de détection $V_{dét}$ et de référence $V_{réf}$ et les signaux d'injection V_{inj+} et V_{inj-}) sont amenés via des pistes métalliques épaisses de TopMétal2 et connectés avec des pads RF de type CPW. On observe aussi sur la figure ci-dessus, un espace séparant les pads du système de détection qui est occupé par des lignes RF micro-rubans 50 Ω à faibles pertes, utilisées pour transmettre les signaux. La longueur de ces lignes est 2,5 mm. Cette distance est en fait nécessaire pour pouvoir implémenter le canal microfluidique à partir d'un morceau de polydiméthylsiloxane (PDMS) comme il est illustré sur la Figure III.4.

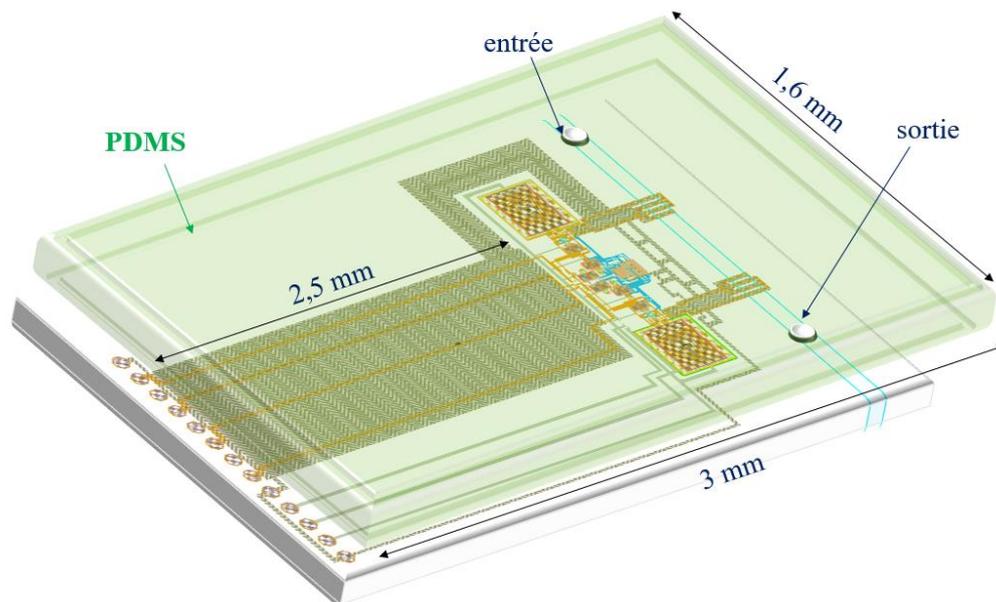


Figure III. 4. Vue 3D du système de détection avec son canal microfluidique en PDMS.

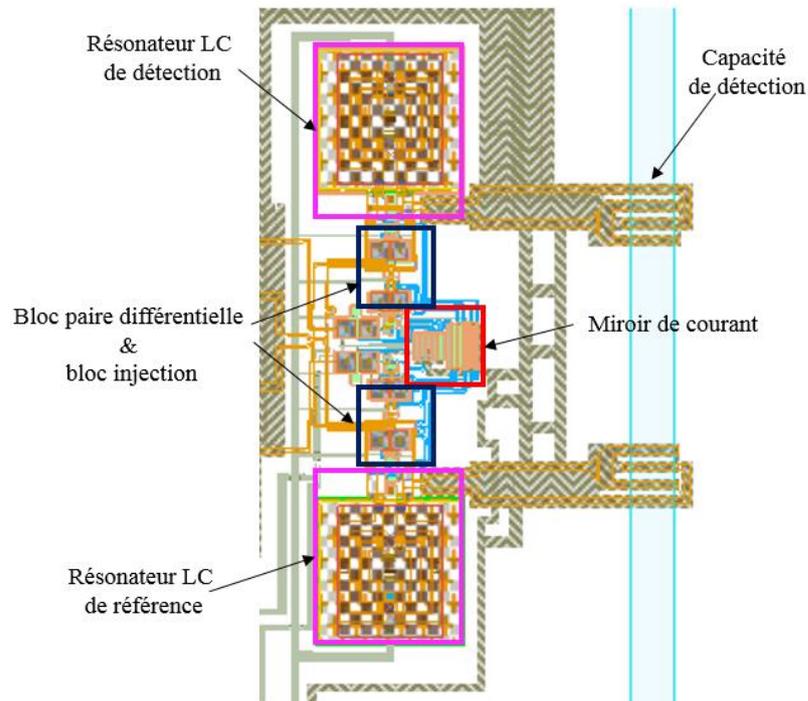


Figure III. 5 Zoom sur le dessin des masques d'un système de détection implémenté avec son canal microfluidique.

La Figure III.5 reporte le dessin des masques de la fonction électronique du système de détection. Le circuit occupe une superficie de $1580 \times 400 \mu\text{m}^2$ majorée par la superficie de l'inductance comme le montre la Figure III.5. On observe les différents modules constituant le circuit. Nous allons maintenant détailler le dessin des masques de chacun des modules en explicitant les choix d'implémentation que nous avons fait.

Nous avons choisi d'utiliser les deux premiers niveaux de métallisation pour la polarisation DC : la masse est amenée par une piste en Métal 1 et les tensions de polarisation par des pistes en Métal 2. Nous avons également utilisé le niveau de métal « TopMétal 2 » et « Métal3 » pour les connexions RF puisque plus le niveau de métallisation est élevé, plus il présente de faibles pertes.

- Module de polarisation

Le module de polarisation est réalisé avec deux miroirs de courant : un dédié pour le buffer de sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence (Figure III.6(a)) et un autre qui amène les tensions d'alimentation continues nécessaires dans chaque module du système de détection (Figure III.6(b)). Comme on l'observe sur la Figure III.5, l'implémentation du bloc miroir de courant a été faite au centre du circuit intégré dans le but de garantir une équipotentialité pour tout le circuit. Les tensions V_{trans} et V_{Buffer} sont acheminées par une

piste de métallisation en Métal 2 et le courant alimentant chaque bloc est distribué par une piste en Métal 3 pour éviter tout risque de court-circuit lors du croisement avec les pistes en Métal 2. Les transistors NMOS du miroir de courant qui polarise les blocs de la paire différentielle de l'oscillateur, du circuit d'injection, des buffers intermédiaires, de l'amplificateur différentiel et du buffer de sortie ont été implémentés en subdivisant chacun en un nombre de transistors parallélisés dans le but d'assurer une meilleure symétrie et agencement des transistors. Sur la Figure III.6, nous observons en 1 et 1', les transistors montés en diodes, notés « $M_{réf}$ » dans le paragraphe II.5.3 du chapitre 2, dont chacun mesure 10 μ m/1 μ m. En 2, se trouve la résistance de polarisation permettant d'avoir le courant de référence $I_{réf}=500 \mu$ A nécessaire pour polariser les modules constituant le système de détection. En 2', se trouve la résistance de polarisation permettant d'avoir le courant de référence $I'=2$ mA pour polariser le buffer de sortie. Nous avons intégré, de plus, des transistors fictifs (en 3 et 3') servant à protéger le module contre la dispersion du process (la grille est reliée au drain et la source reliée à la masse, ils sont notés « dummy »).

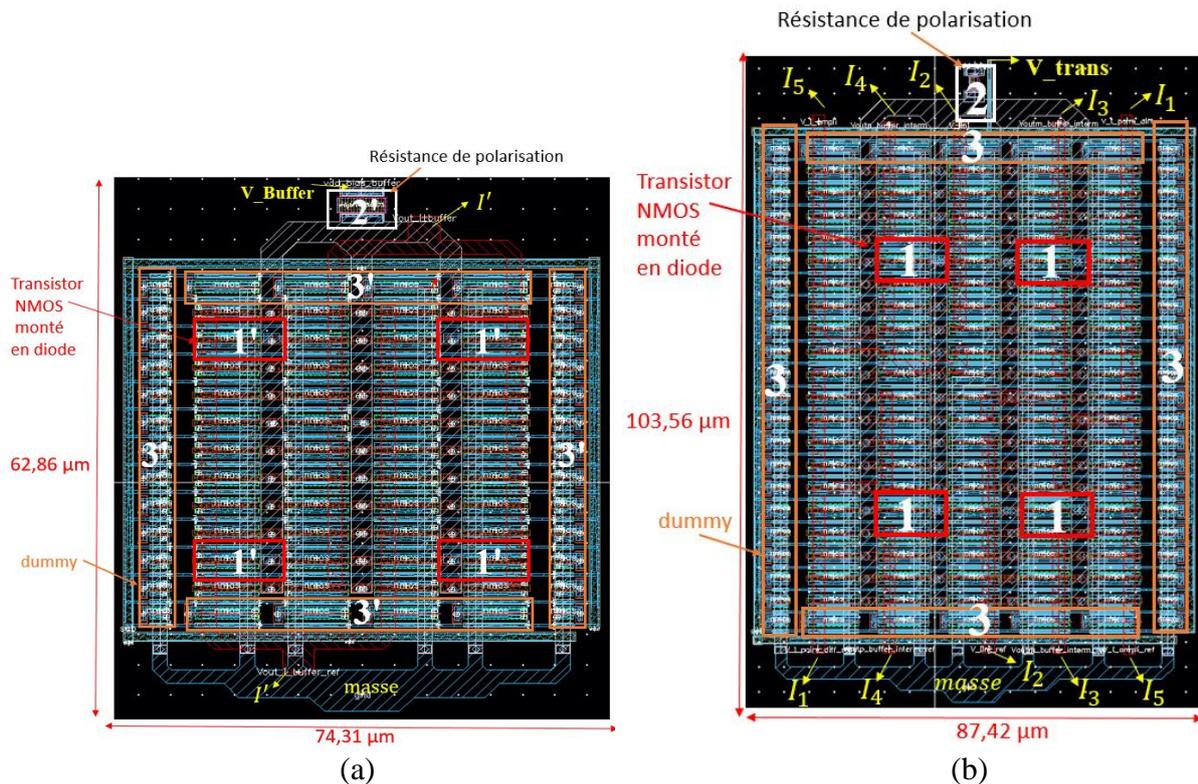


Figure III. 6. Dessin des masques du miroir du courant : (a) des buffers de sortie des deux oscillateurs, (b) qui alimente le reste des modules du circuit.

- Partie active

La partie active d'un oscillateur représente le cœur du circuit. Son implémentation exige une attention bien particulière lors du dessin des masques. Un dimensionnement optimal de ses composants a été effectué tout en maintenant une implémentation différentielle parfaitement symétrique en privilégiant des pistes RF les plus courtes possibles avec le minimum de croisements possibles de manière à éviter tout déséquilibre. Il faut assurer la symétrie de la structure afin de conserver et d'assurer le comportement différentiel de l'oscillateur.

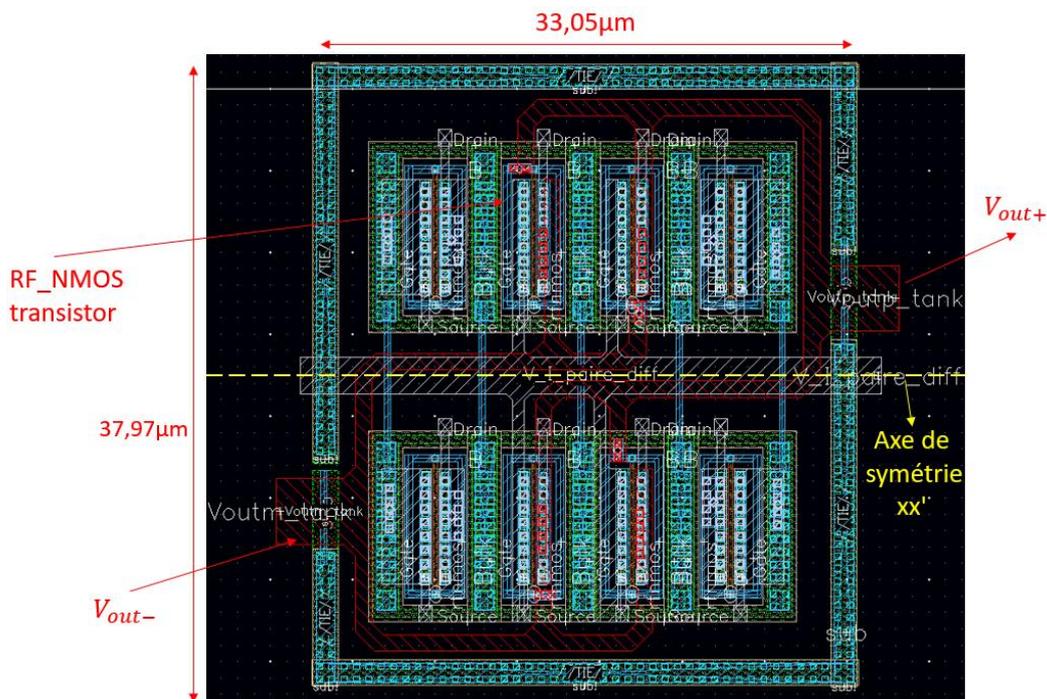


Figure III. 7. Dessin des masques du bloc de la paire différentielle de l'oscillateur.

La Figure III.7 présente le dessin des masques de la paire différentielle. Nous avons utilisé lors de la conception du circuit, deux transistors NMOS de taille 14 μ m/0,25 μ m. Comme le montre la Figure III.7, nous avons utilisé quatre transistors de taille 7 μ m/0,25 μ m deux à deux en miroir selon l'axe de symétrie horizontale xx' afin d'améliorer la dispersion technologique (matching).

Nous avons également suivi la même démarche pour l'implémentation du module d'injection comme le montre la Figure III.8. Nous avons implémenté deux résistances de 20 k Ω et deux capacités de découplage de 2 pF afin de polariser les transistors d'injection. On peut y voir que ces derniers occupent une surface importante. Nous avons décomposé chaque

résistance de polarisation en quatre résistances de 5 k Ω afin de pouvoir les disposer plus facilement autour de l'architecture existante.

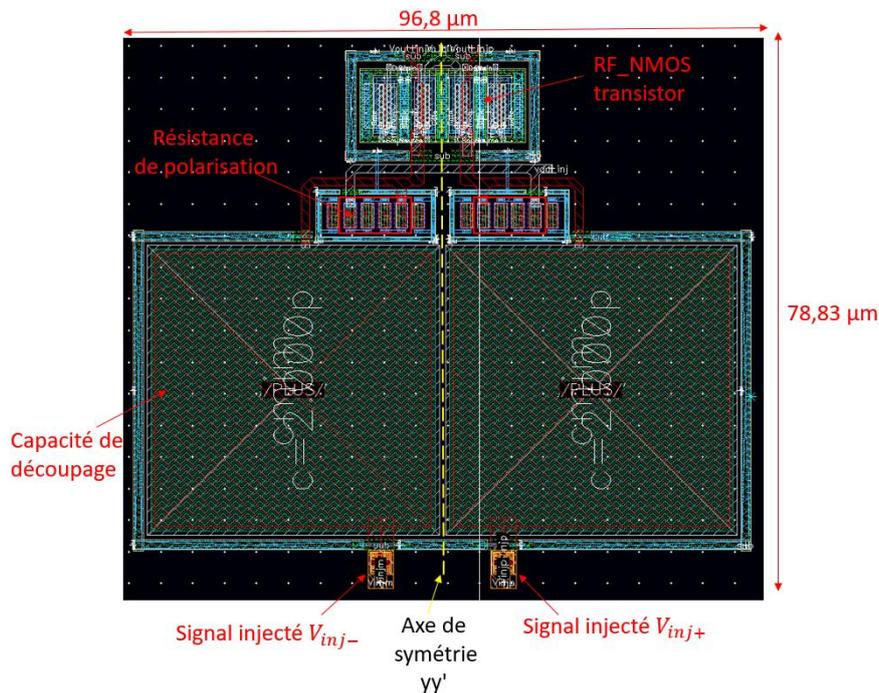


Figure III. 8. Dessin des masques du bloc circuit d'injection.

- Résonateur

La librairie SG25H4 du « design-kit » d'IHP propose des modèles d'inductance différentielle dont les performances ont été validées. Comme nous avons expliqué dans le paragraphe II.5.4.2 du chapitre 2, l'inductance que nous avons sélectionnée présente un facteur de qualité à 5 GHz de 21,16 pour une valeur d'inductance de 1,7 nH. Elle est implémentée sur les niveaux de métaux TopMétal 2 et Métal3 dans l'objectif de maximiser les performances du circuit en minimisant les pertes ohmiques et en limitant l'effet inductif de pistes trop longues. Nous avons intégré les capacités (C_{MIM} et C_{sens}) de 436 fF et 150 fF respectivement au plus près de l'inductance différentielle. L'ensemble est connecté directement à la partie différentielle. La couche de métallisation TopMetal 2 a été utilisée pour implémenter la capacité de détection C_{sens} qui sera plongée dans le canal microfluidique comme illustré sur la Figure III.9.

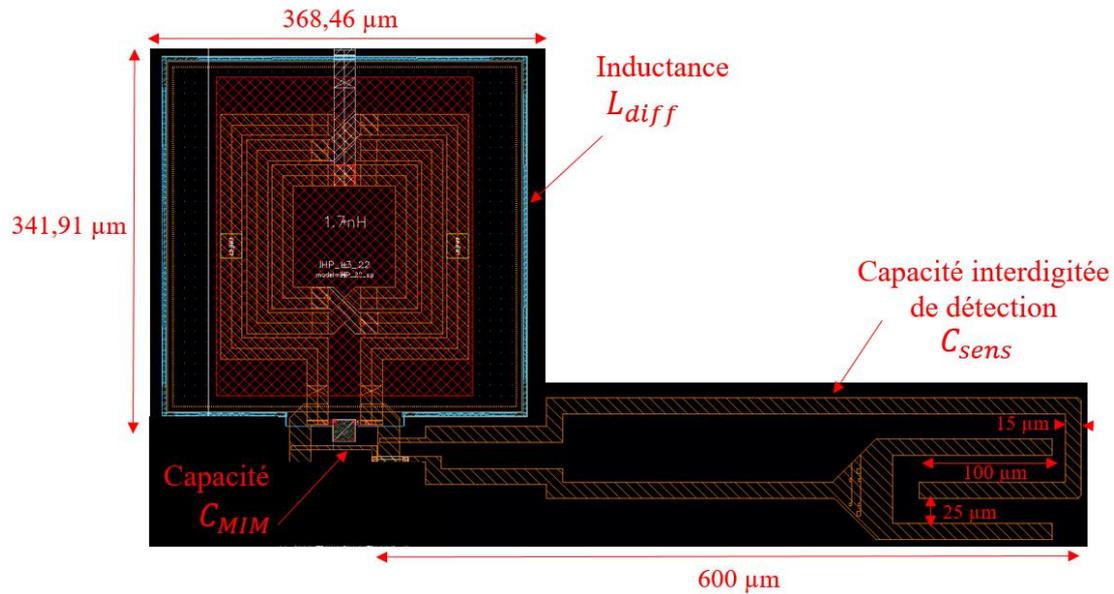
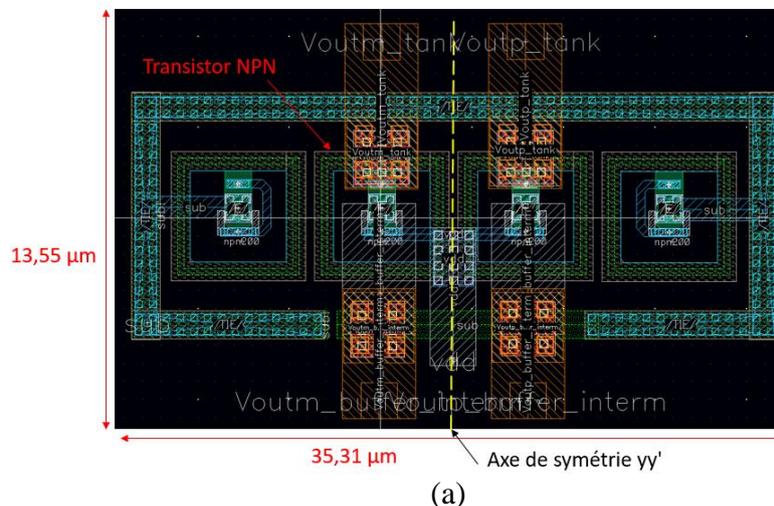


Figure III. 9. Dessin des masques du résonateur du circuit.

- Module de l'étage amplificateur différentiel et du buffer de sortie

Comme nous l'avons expliqué dans le paragraphe II.5.5 du chapitre 2, des buffers intermédiaires et un module d'amplificateur différentiel suivi d'un étage buffer ont été implémentés à la sortie de l'oscillateur afin de convertir la sortie différentielle en une seule sortie. Le signal de sortie sera alors prélevé sur une seule sortie chargée par une impédance 50 Ω afin de faciliter les mesures à partir d'un oscilloscope. La Figure III.10(a) montre le dessin des masques des buffers intermédiaires. Les Figures III.10(b) et (c) représentent le dessin des masques du module amplificateur différentiel et du buffer de sortie respectivement où chacun de ces modules intègre à l'entrée des résistances et des capacités de découplage, qui occupent une surface conséquente, mais sont nécessaires pour polariser de manière optimale les transistors de chacun des modules.



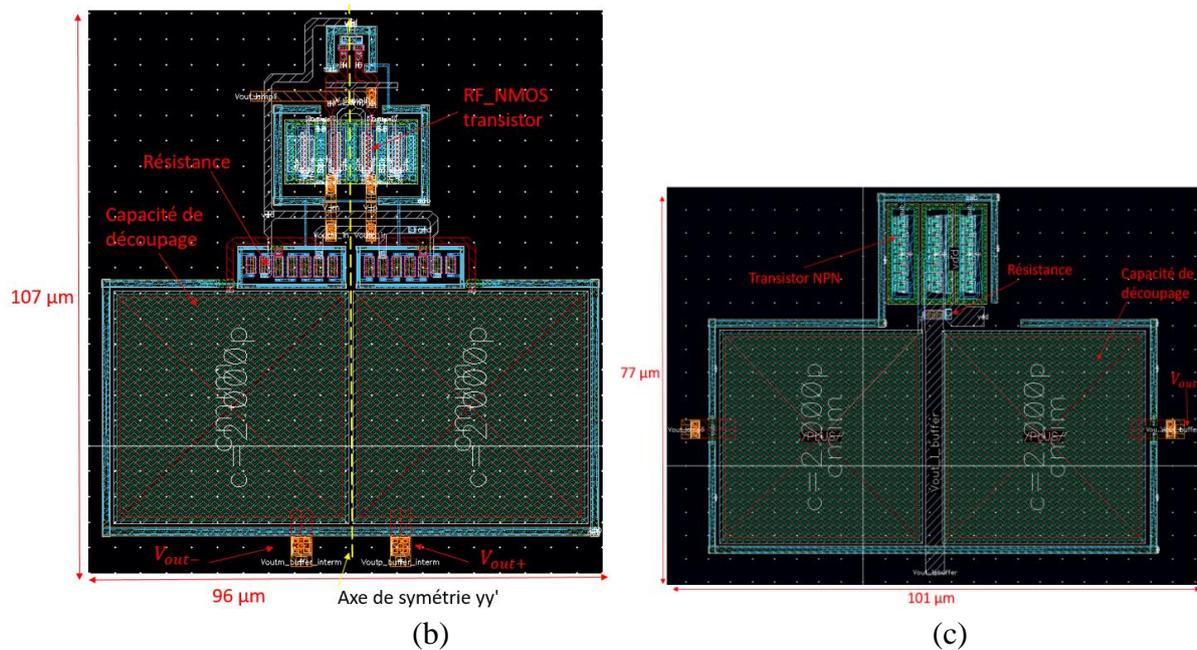


Figure III. 10. Dessin des masques des modules (a) buffers intermédiaires, (b) amplificateur différentiel et, (c) buffer de sortie.

III.2.2.2. Implémentation de la puce globale en technologie SiGe :C BiCMOS 0,25 μ m

Dans ce paragraphe, nous allons présenter l'implémentation de la puce globale sur la technologie SG25H4 SiGe :C BiCMOS 0,25 μ m d'IHP. Le dessin des masques de la puce est donné sur la Figure III.11. Les règles de dessin définies dans le paragraphe III.2.1 ont également été scrupuleusement respectées. Les différents modules ont été implémentés de part et d'autre du canal microfluidique qui occupe une position centrale. La puce occupe une surface totale de 7 x 7 mm^2 imposée par l'intégration de la partie microfluidique et ses contraintes de surface dédiée au maintien du capot de PDMS sur la puce comme le montre la Figure III.11.

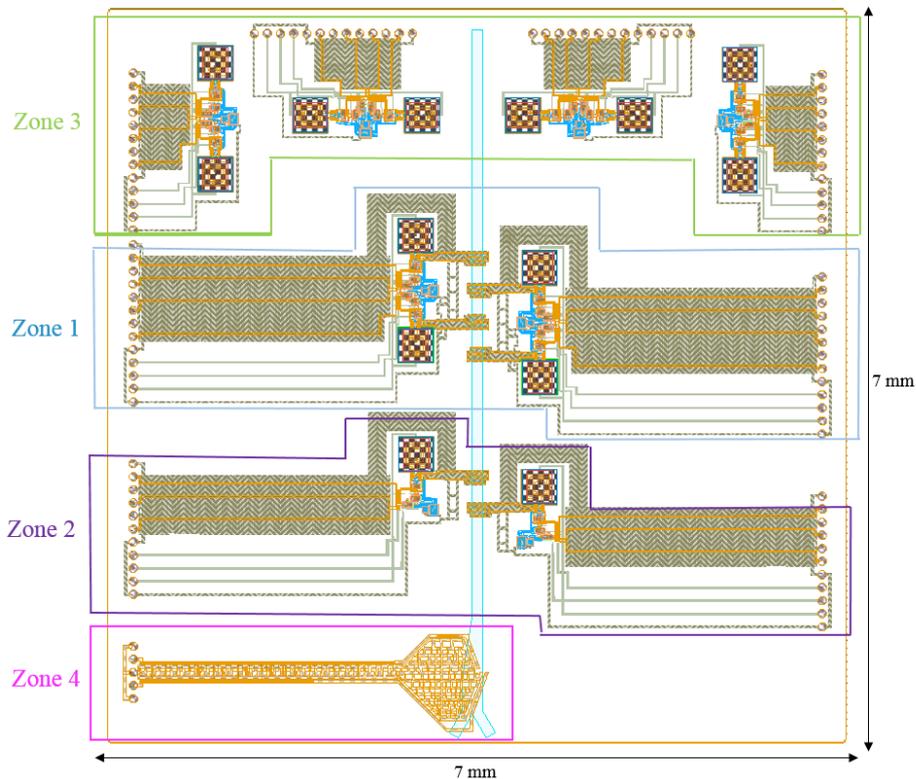


Figure III. 11. Implémentation de la puce globale.

Comme on peut le constater, la puce regroupe différents circuits. On peut identifier quatre zones distinctes :

✓ *Zone 1 :*

Elle représente l'implémentation du système de détection complet dans le canal microfluidique détaillé dans la section III.2.2.1. Nous pouvons y voir deux systèmes de détection identiques, implémentés face à face partageant le même canal microfluidique dans l'objectif d'optimiser la surface occupée par le laboratoire sur puce.

✓ *Zone 2 :*

Nous avons choisi d'intégrer dans la zone 2 de la puce, le circuit oscillateur de détection seul dans le but d'évaluer, lors des expérimentations, les performances de ce dernier sans son oscillateur de référence.

✓ *Zone 3 :*

La zone 3 est constituée de quatre circuits de test. Nous avons choisi d'implémenter quatre circuits permettant de valider le principe de fonctionnement du capteur en s'affranchissant de la couche microfluidique et de la capacité interdigitée immergée présentée

précédemment. Pour cela, une modification a été introduite en remplaçant la capacité interdigitée par une capacité MIM équivalente mais de valeur fixe et parfaitement maîtrisée comme le montre le dessin des masques de la Figure III.12. En effet, l'idée est de préconfigurer le système de détection avec une différence de capacité entre les oscillateurs de détection et de référence fixée à 1 fF. Cette valeur est bien supérieure à l'effet que pourrait avoir une cellule mais elle devrait permettre d'évaluer les capacités de détection dans des conditions expérimentales moins contraintes qu'avec l'impact de la microfluidique et en connaissant parfaitement la différence de capacité induite. Ainsi, l'oscillateur de détection sera constitué d'une capacité MIM supplémentaire égale à 151 fF alors que la capacité de l'oscillateur de référence sera de 150 fF.

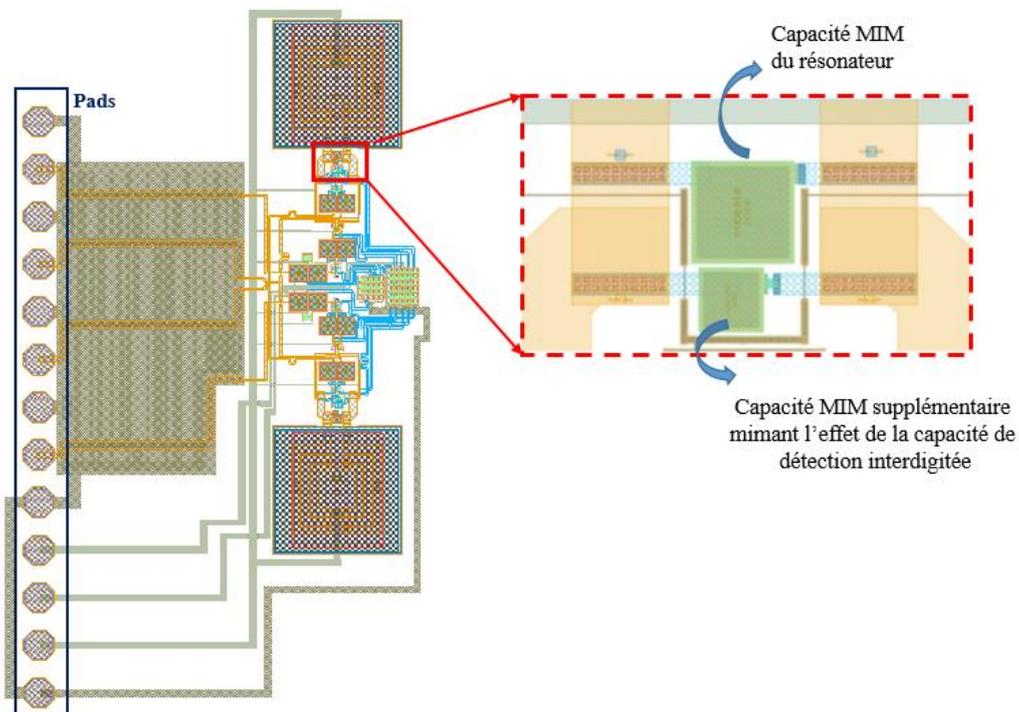


Figure III. 12. Dessin des masques du système de détection de test intégrant des capacités fixes à la place de la capacité interdigitées de détection.

✓ Zone 4 :

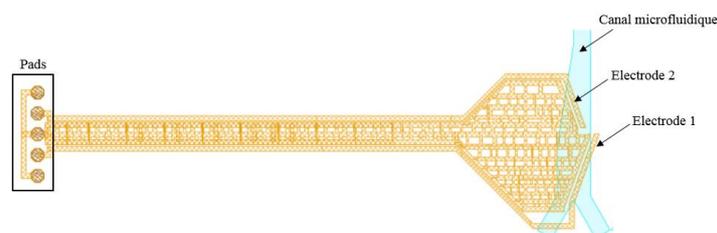


Figure III. 13. Modèle trieur de cellules biologiques.

Le système de détection proposé permet, comme nous l'avons déjà expliqué, de détecter des cellules biologiques et de déterminer leurs propriétés diélectriques. Un trieur de cellules a donc été intégré à l'extrémité du canal microfluidique pour pouvoir éventuellement isoler les cellules potentiellement d'intérêt sur la base des informations données par les détecteurs en amont. Ce module de tri a en effet pour rôle de guider les cellules après avoir été caractérisées et de les mener au canal de droite par défaut. Les cellules identifiées comme d'intérêt seront quant à elles déviées par diélectrophorèse et conduites dans le canal de gauche comme l'illustre la Figure III.13. Le trieur est constitué principalement de deux électrodes, implémentées en TopMétal 2 et plongées dans le canal microfluidique. Quand on active l'électrode 2, la cellule sera déviée à droite. Cette électrode sera donc activée en permanence pour guider toutes les cellules vers la paroi droite du canal. C'est par l'intermédiaire de l'électrode 1 que se fera l'extraction des cellules d'intérêt. En l'activant, l'ensemble des cellules accumulées sur le bord droit du canal seront redirigées vers le bord gauche pour sortir par la sortie gauche. En la laissant inactive, les cellules sortiront par la sortie de droite. L'activation et la désactivation des électrodes se fait en les polarisant avec un champ électrique basse fréquence dans une gamme de fréquence de l'ordre de quelques dizaines du kHz en appliquant une tension de quelques volts. Ce principe a été illustré dans [2],[3].

La Figure III.14 présente la photographie de la puce fabriquée avec les différents modules.

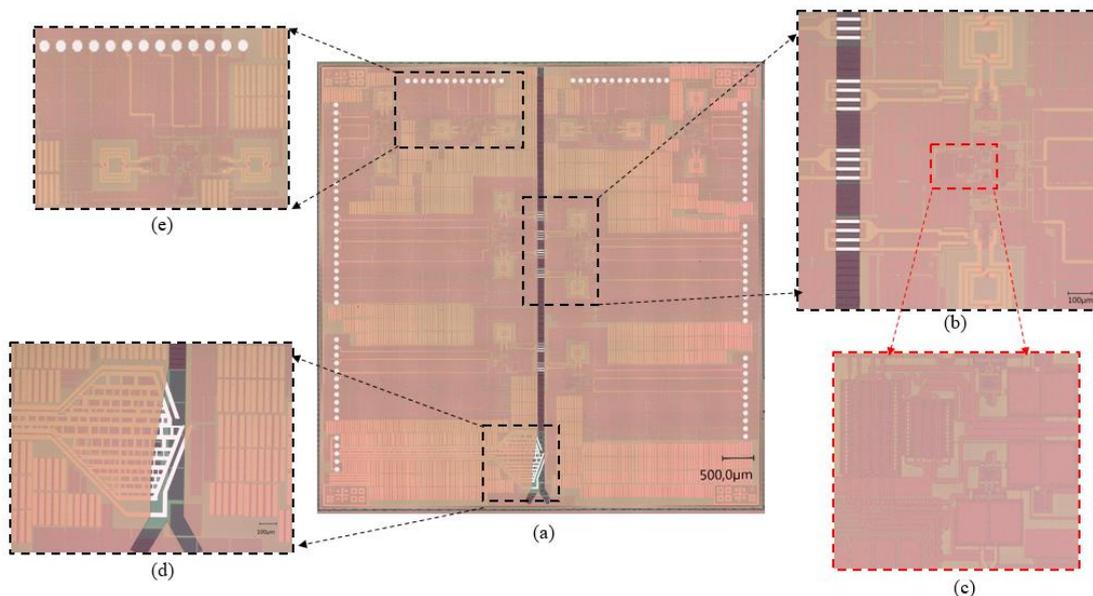


Figure III. 14. (a) Microphotographie de la puce globale, (b) Zoom sur le circuit avec une capacité de détection immergée dans le canal microfluidique, (c) Zoom sur la partie active du circuit, (d) Zoom sur le trieur de cellule, (e) Zoom sur le circuit de test (variation de capacité fixe de 1 fF).

III.2.2.3. Conception et réalisation du PCB

Pour les tests, la puce doit être montée sur une carte de test de type PCB (Printed Circuit Board) au moyen de fils d'or de type « wire bonding ». Pour concevoir cette carte, nous avons implémenté, sous l'environnement « MOMENTUM », un circuit de routage pour les signaux RF et les alimentations DC polarisant les différents modules actifs de la puce. Il a été réalisé sur un substrat de type ITERA d'épaisseur 500 μ m et de permittivité 3,38 utilisé par la société « EuroCircuit » (Figure III.15). Cette carte de test fournit un support mécanique aux puces et aux connecteurs RF et DC pour une interconnexion électrique optimale avec l'environnement de test. Comme le montre la Figure III.15, des Composants Montés en Surface (CMS) ont été intégrés pour découpler les commandes de polarisations DC d'éventuels signaux parasites. Des lignes coplanaires de type CPW, d'impédance caractéristique 50 Ω , présentant une largeur de 1mm et un gap égal à 350 μ m, ont été implémentées pour guider les signaux RF jusqu'à la puce et de simples lignes conductrices sont utilisées pour amener la polarisation DC.

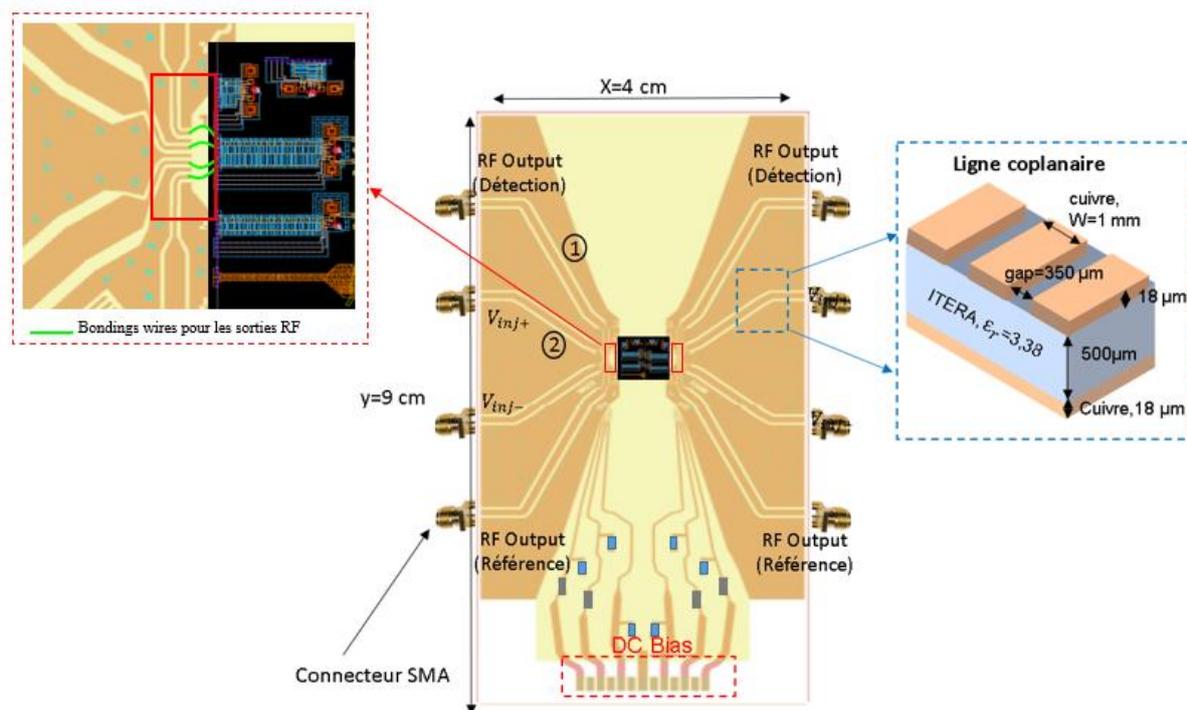


Figure III. 15. Implémentation du PCB sous l'environnement « MOMENTUM ».

La Figure III.16 présente les résultats de simulation des paramètres de transmission S_{21} et de réflexion S_{11} de deux des lignes RF (numérotées 1 et 2 sur la Figure III.15), les six autres étant identiques. Comme on peut le constater, la ligne 1 présente, à 5 GHz, un niveau de pertes de $-0,47$ dB et d'adaptation de $-12,5$ dB et la ligne 2 présente un niveau de pertes de $-0,36$ dB un peu plus faible que la ligne 1 puisqu'elle est plus courte. En revanche, au niveau

des zones de bondings au plus près de la puce, il n'est plus possible de maintenir l'impédance 50 Ω , c'est pour cette raison que le niveau d'adaptation des lignes est légèrement dégradé (zone encadrée en rouge sur la Figure III.15).

La Figure III.17 montre une photo de la carte de test fabriquée avec la puce montée et connectée avec des bondings. L'alimentation de la carte est effectuée à l'aide d'une nappe qui sera connectée directement aux sources d'alimentation.

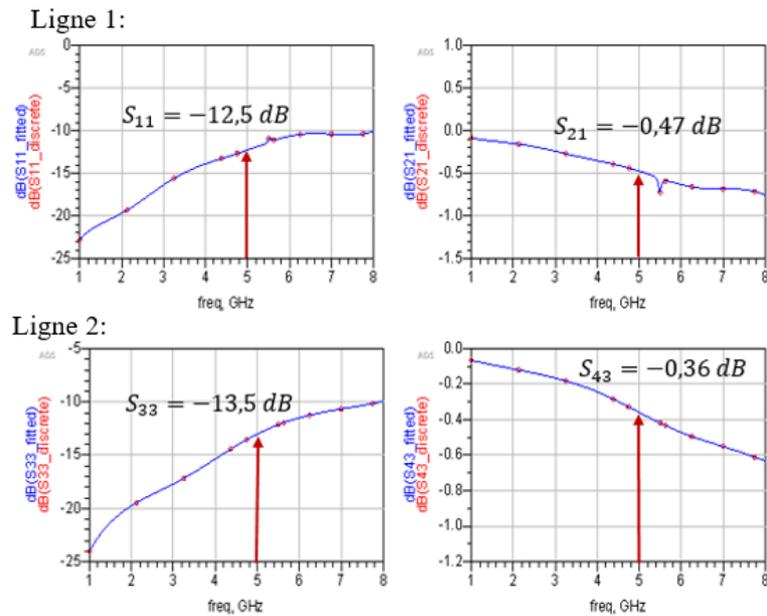


Figure III. 16. Paramètres S des lignes 1 et 2 du PCB simulées sous « Momentum ».

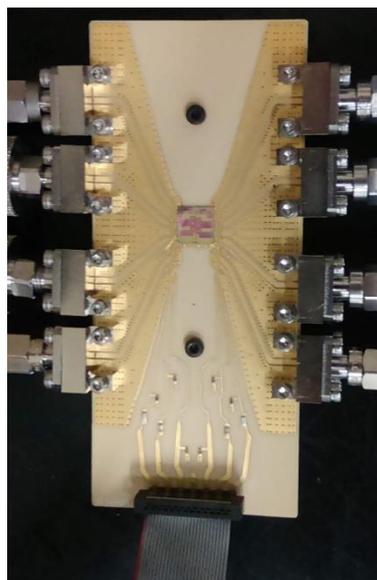


Figure III. 17. Photo du PCB fabriqué avec la puce montée.

A ce stade de notre étude, nous avons conçu un système de détection à base de deux oscillateurs différentiels verrouillés par injection et nous avons décrit son implémentation en technologie SG25H4 d'IHP. Nous avons également conçu un banc de mesure dédié à la caractérisation des puces qui ont été réalisées. Nous allons présenter dans le paragraphe suivant, les performances du circuit attendues grâce à des simulations post-layout effectuées avec Cadence Spectre RF ainsi que les résultats de mesures.

III.3. Résultats de mesures et comparaison avec les simulations post-layout du système de détection

III.3.1. Résultats de simulations post-layout

Après avoir réalisé le dessin des masques et avoir extrait les éléments parasites (résistifs, inductifs et capacitifs) à l'aide du module Assura de Cadence Virtuoso, nous avons réalisé les simulations dites « post-layout » à l'aide de l'outil de simulation « SPECTRE RF ».

Ainsi, nous allons présenter les simulations post-layout du système de détection, incluant le modèle de la capacité interdigitée. La Figure III.18(a) indique la fréquence à laquelle l'oscillateur devrait osciller librement. La Figure III.18(b) montre le signal de sortie différentiel de l'oscillateur de détection en oscillation libre et la Figure III.18(c) montre le signal de sortie « single-ended » de l'oscillateur de détection en oscillation libre à l'aide d'une analyse temporelle. Comme nous pouvons le constater, les simulations montrent que les oscillations démarrent et l'oscillateur oscille à une fréquence égale à 4,96 GHz, relativement proche de celle obtenue en simulation électrique sous l'environnement « ADS ». Le caractère différentiel du circuit est parfaitement respecté. On observe que les signaux V_{out-} et V_{out+} sont en opposition de phase. L'amplitude des oscillations a diminué de 30 % en comparaison à celle obtenue sous ADS. Cet écart fréquentiel et cette diminution de l'amplitude sont causés par les éléments parasites rajoutés pendant l'étape de dessin des masques.

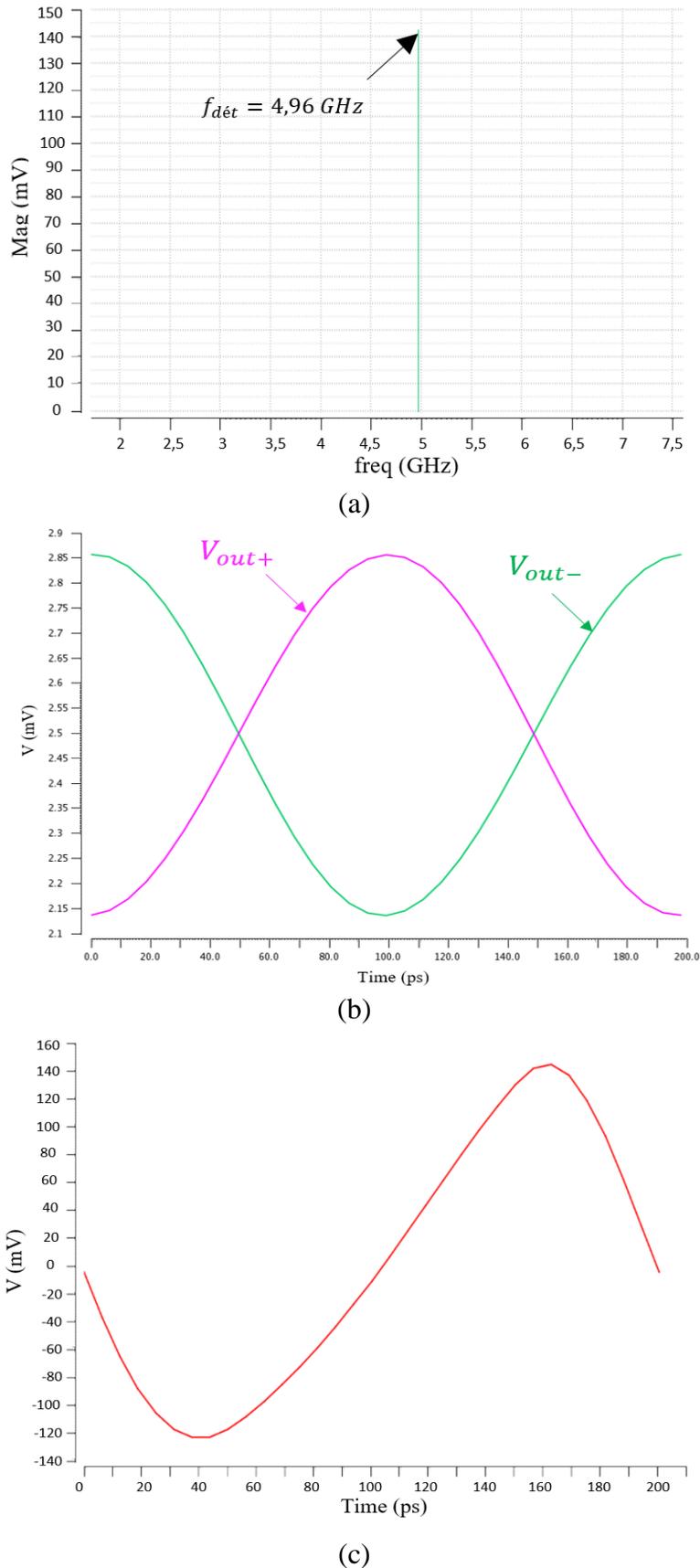


Figure III. 18. Signal en sortie de l'oscillateur de détection : (a) Spectre du signal en oscillation libre, (b) Signal en sortie de la paire différentielle de l'oscillateur, (c) Signal « single-ended » en sortie du buffer de l'oscillateur.

Nous avons effectué également des simulations post-layout afin d'examiner les performances du circuit lorsqu'il est verrouillé par injection et nous avons vérifié qu'il est possible d'atteindre les seuils de détection de contraste capacitif visés lors des simulations électriques. La Figure III.19 présente la réponse du signal en sortie de l'oscillateur lorsque le système est verrouillé par injection sur une fenêtre temporelle large pour une amplitude d'injection appliquée de 35 mV.

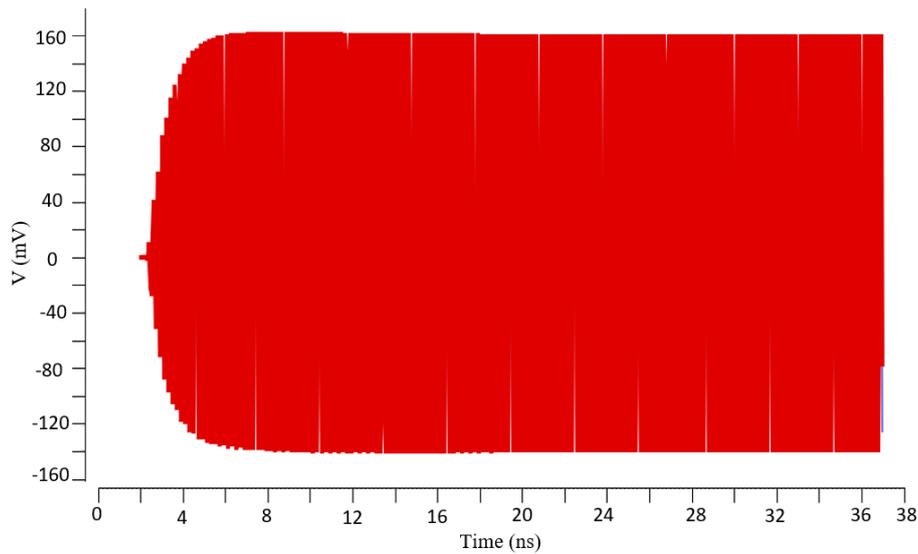
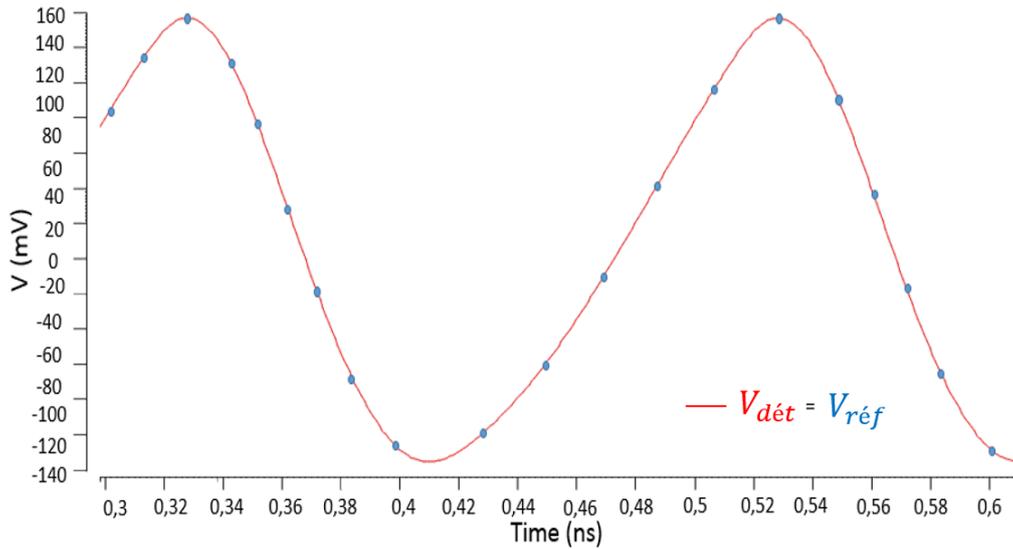
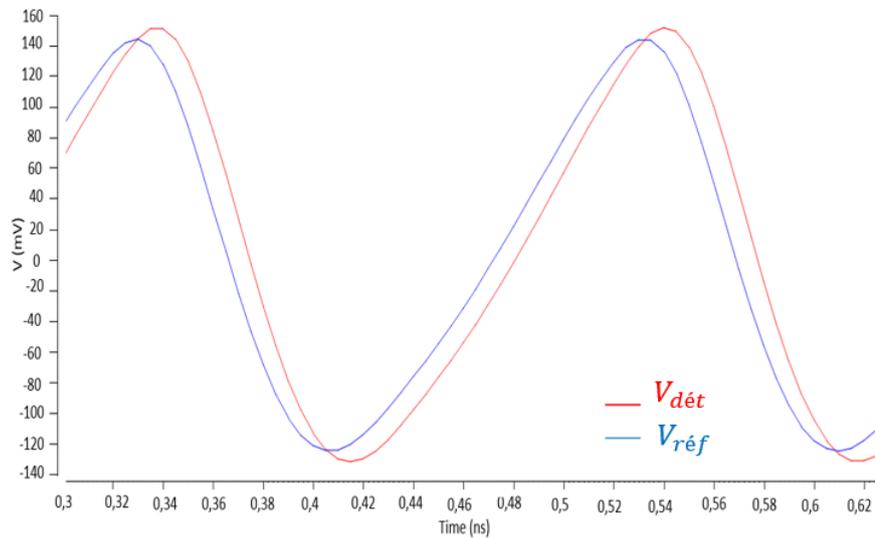


Figure III. 19. Forme d'onde du signal en sortie de l'oscillateur de détection sur une fenêtre temporelle large.

En considérant maintenant un signal injecté de même amplitude (35 mV) à une fréquence d'injection égale à la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection $f_{dét}$ et celle de référence $f_{réf}$ ($f_{inj}=f_{dét}=f_{réf}= 4,96$ GHz), les deux oscillateurs de référence et de détection sont bien verrouillés et génèrent, lorsqu'aucun élément perturbant n'est présent au voisinage de la zone de détection, un déphasage nul ($\phi_{dét}-\phi_{réf}= 0^\circ$) comme le montre la Figure III.20(a). La Figure III.20(b), au contraire, montre le déphasage se produisant entre les deux sorties des deux oscillateurs de référence et de détection lorsqu'un changement capacitif ($\Delta C=C_{dét}-C_{réf}$) entre les deux oscillateurs de 200 aF est considéré. Le retard entre les deux signaux vaut 7,61 ps ce qui correspond à un déphasage de $13,5^\circ$. Cette valeur de variation de capacité de détection peut être considérée comme équivalente à la présence d'une cellule en suspension passant au-dessus du capteur de détection [4],[5], la capacité de l'oscillateur de référence n'étant pas perturbée.



(a)



(b)

Figure III. 20. (a) Formes d'onde en sortie du système de détection lorsque $f_{\text{dét}} = f_{\text{réf}} = f_{\text{inj}}$, (b) Formes d'onde en sortie du système de détection pour une variation capacitive $\Delta C = C_{\text{dét}} - C_{\text{réf}} = 200$ aF en considérant une amplitude de signal injecté de 35 mV.

La Figure III.21 montre un décalage de phase résultant de 23,5°, pour une variation capacitive de 20 aF en considérant à présent une amplitude du signal injecté de l'ordre de 7 mV. En effet, nous avons vu précédemment, que pour atteindre une sensibilité de détection ultime, il est nécessaire de réduire le niveau du signal d'injection. Nous vérifions ici l'aptitude du système à détecter de très faibles variations de capacité. Cette variation capacitive de 20 aF est représentative de la différence de capacité qui pourrait exister entre deux cellules biologiques différentes.

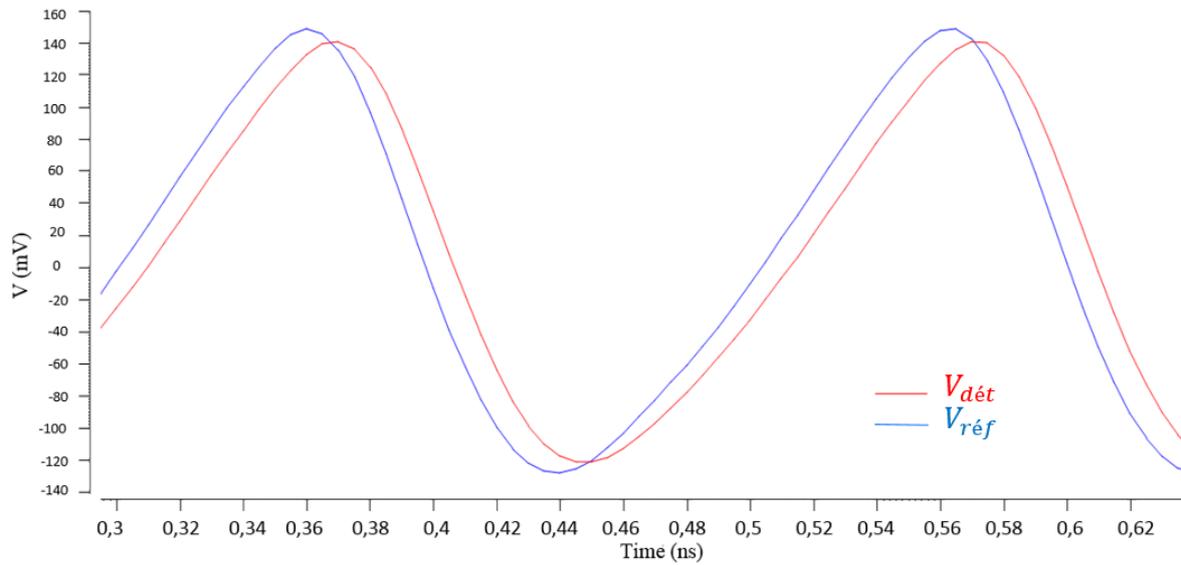


Figure III. 21. Formes d'ondes en sortie du système de détection pour une variation capacitive $\Delta C = C_{\text{dét}} - C_{\text{réf}} = 20$ aF en considérant une amplitude de signal injecté de 7 mV.

Nous avons évalué les capacités de détection du circuit pour différentes configurations. Les paramètres de simulation et les performances attendues et prédites par les simulations post-layout du système de détection proposé sont synthétisés dans le tableau ci-dessous.

Variation Capacitive	3 aF	10 aF		20 aF		200 aF	500 aF
Amplitude du signal injecté (mV)	7	7	15	7	15	35	50
Déphasage simulé en post-layout (°)	3	11,5	7	23,5	16	13,5	12,5
Déphasage simulé sur ADS (°)	3	12	8	24	16	14	13

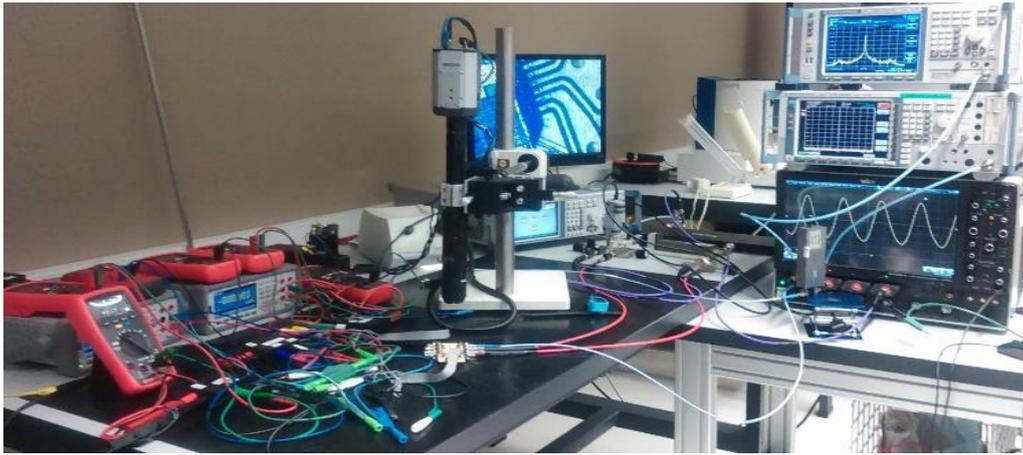
Comme on peut le constater, le système de détection implémenté, même en prenant en compte les dégradations des performances liées aux éléments parasites du layout, est capable de détecter des variations capacitatives aussi faible que 3 aF ce qui devrait permettre d'atteindre une sensibilité satisfaisante pour détecter des différences de propriétés diélectriques fines entre deux cellules biologiques différentes analysées par le capteur.

Nous constatons donc que les performances du circuit, en simulations post-layout sous « Cadence », montrent une bonne concordance avec les performances simulées sous « ADS ». Une légère dégradation des performances et un léger écart entre les fréquences d'oscillation simulées du système de détection ont été constatés causés principalement par les capacités, les résistances et les inductances parasites ramenées par l'étape de dessin des masques. Il est important de noter que lors de l'étape de conception du circuit sous « ADS », une marge suffisante a été prise en compte sur le dimensionnement des composants et sur le courant consommé, pour assurer les conditions de démarrage des oscillations de l'oscillateur et ainsi palier aux potentiels problèmes que peuvent générer les parasites se rajoutant lors de l'implémentation du dessin des masques. Enfin, malgré les précautions prises lors de l'étape de dessin des masques du circuit, les éléments parasites ont un impact non négligeable sur l'amplitude du signal de sortie de l'oscillateur qui reste néanmoins dans une gamme détectable à l'aide d'un oscilloscope performant. Malgré tout, l'incidence est négligeable sur le déphasage entre les deux signaux de référence et de détection qui ne semble pas être affecté. Nous avons cherché à identifier les origines de ce problème de la dégradation de l'amplitude du signal de sortie. Elles sont multiples et cumulatives. Pour des contraintes de temps, nous n'avons pas pu les solutionner et nous avons opté pour envoyer le circuit en fabrication dans le délai imposé par l'institut IHP. Ceci étant, les simulations post-layout effectuées ont permis de montrer que le système de détection avait néanmoins un niveau de performance suffisant, même s'il n'était pas aussi bon que nous l'aurions souhaité, pour pouvoir détecter des événements avec une amplitude du signal de sortie mesurable. Dans le paragraphe suivant, nous allons nous intéresser au développement du banc de mesure expérimental qui nous a permis d'évaluer les performances réelles du système que nous avons conçu.

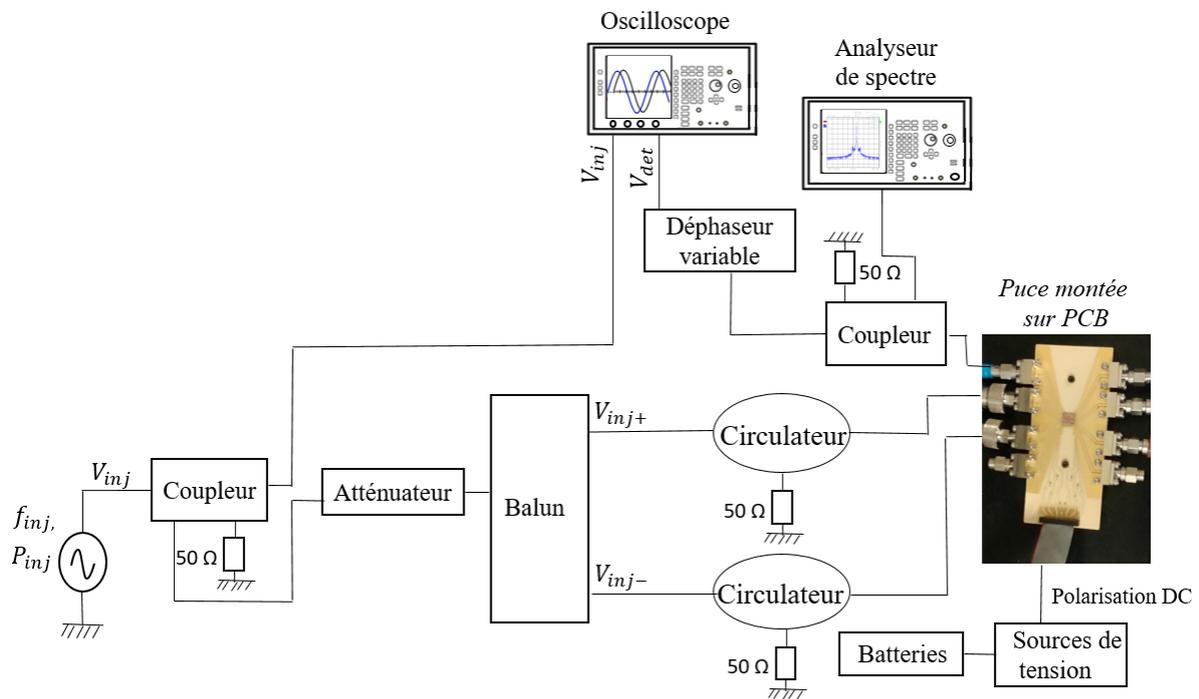
III.3.2. Expérimentations et résultats de mesure

III.3.2.1. Protocole de mesure

Nous avons développé un banc de mesure spécifique (comme le montre la Figure III.22(a)), pour pouvoir caractériser les puces fabriquées par IHP. Il nous permettra de confronter les résultats de mesures aux résultats prédits par les simulations.



(a)



(b)

Figure III. 22. (a) Photo du banc de mesure, (b) Schéma de principe du banc de mesure.

Le schéma de principe du banc de mesure est présenté sur la Figure III.22(b). À l'entrée du circuit, le signal d'injection CW (Continuous Wave) est généré à une fréquence f_{inj} et à une puissance P_{inj} via une source RF à faible bruit de phase (Rohde & Schwarz SMF100A). Un coupleur 10 dB est utilisé pour visualiser le signal sur un oscilloscope. Une partie du signal issue de la source SMF100A est prélevée, à nouveau atténuée de 10 dB via un atténuateur, dans l'objectif de pouvoir délivrer la valeur souhaitée de la puissance P_{inj} à l'entrée du circuit tout en ayant un signal visualisable à l'oscilloscope (P_{inj} pouvant être très faible dans les configurations de détection les plus poussées). Le signal issu de l'atténuateur est injecté dans un balun RF (Focus Microwaves BUN-750-IN). Les sorties différentielles de ce balun sont

associées avec des circulateurs pour limiter les effets de réflexion du signal au niveau du PCB et ainsi éviter les effets de couplages entre les deux oscillateurs verrouillés par injection. Le signal de sortie de l'oscillateur de détection est connecté à un coupleur 10 dB pour visualiser à la fois le spectre du signal de sortie et pouvoir ainsi mesurer précisément la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur grâce à un analyseur de spectre (Rohde & Schwarz FSV) et pour visualiser également le signal de sortie en temporel à l'aide d'un oscilloscope (Lecroy SDA 816 Zi-A 16 GHz 40 GS/s). L'oscilloscope nous permet ainsi de pouvoir mesurer un déphasage entre le signal de sortie de l'oscillateur $V_{dét}$ et le signal d'injection V_{inj} . Un déphaseur variable est utilisé sur l'une des voies de l'oscilloscope pour compenser et annuler le déphasage résiduel entre les signaux V_{inj} et $V_{dét}$ dû à la dissymétrie des interconnexions du montage utilisé pour ces mesures (effet des câbles, coupleurs, connecteurs...). Les pertes liées à l'ajout de l'atténuateur, des coupleurs, des câbles et ainsi que celles liées au Balun, ont été mesurées : 25 dB de pertes pour le montage complet. De plus, des batteries sont utilisées comme sources d'alimentation. Elles alimentent des sources de tension que nous avons fabriquées spécialement pour effectuer ces mesures dans l'objectif d'éviter les signaux parasites externes et de minimiser les sources de bruits extérieures, notamment celles qui pourraient être présentées si nous avions utilisé des générateurs de tensions classiques alimentés par le réseau 50 Hz.

Les sources de tension utilisées sont présentées sur la Figure III.23. Il s'agit d'un montage AOP suiveur permettant de faire une adaptation d'impédance (Figure III.23(a)). La Figure III.23(b) montre la source qui délivre la tension VDD avec laquelle nous avons alimenté tout le circuit oscillateur. Nous appliquons une tension d'entrée à 12V délivrée par la batterie et en ajustant une résistance variable R montée en diviseur de tension, nous récupérons ainsi à la sortie la tension $V_{DD} = 2,5$ V. Nous remarquons que nous avons utilisé pour cette source deux amplificateurs AOP en parallèle afin de pouvoir disposer de suffisamment de courant pour alimenter le circuit. La Figure III.23(c) illustre la source qui délivre la tension V_{Buffer} (illustré sur la Figure II.29), en ajustant la résistance variable R1, pour polariser le bloc buffer de sortie, et la tension V_{trans} (illustré sur la Figure II.29), en ajustant la résistance variable R2, pour polariser le reste des éléments constituant l'oscillateur.

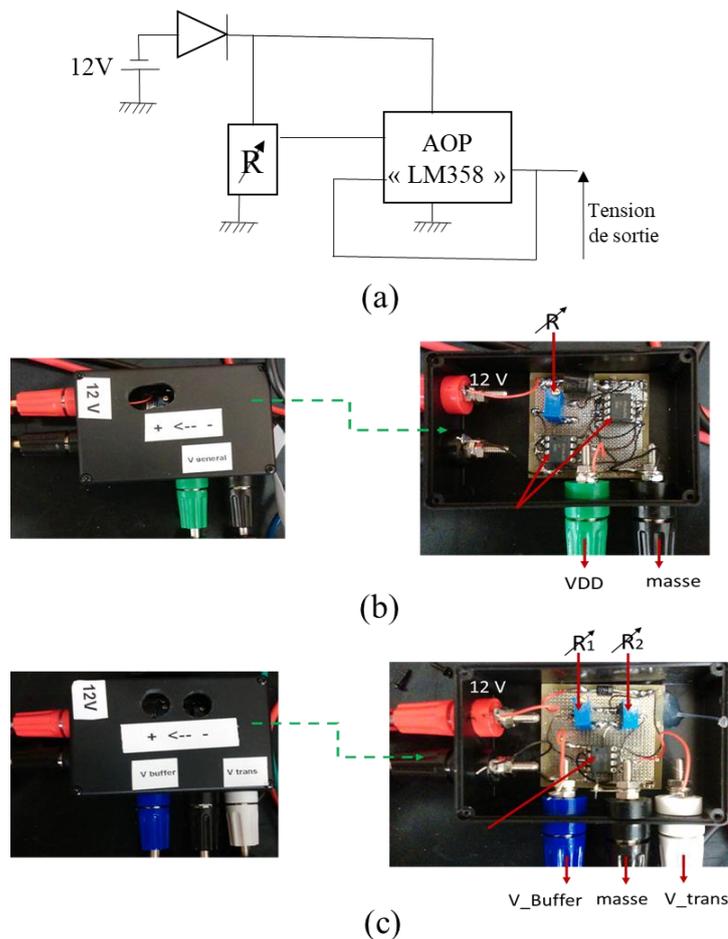


Figure III. 23 (a) Schéma électrique d'un montage suiveur à AOP, (b) Source de tension continue permettant d'alimenter le circuit (VDD), (c) Source de tension permettant de polariser le cœur du circuit et le bloc Buffer de sortie.

III.3.2.2. Comportement statique du circuit

Nous avons commencé par caractériser les circuits de test intégrant une capacité MIM fixe illustrée sur la Figure III.12 et implémentée dans la zone 3 de la puce dans l'objectif de valider tout d'abord le principe et le fonctionnement du circuit. Le tableau III.2 présente les conditions statiques obtenues en mesures et celles prédites par les simulations post-layout du circuit. Dans ce tableau, nous constatons que la consommation totale en courant du circuit en mesure et en simulation est identique. Par contre, le courant de référence qui polarise l'ensemble du circuit à l'exception du module buffer de sortie est supérieur à celui prévu en simulation. En effet, lors des tests expérimentaux de l'oscillateur en oscillation libre, lorsque nous imposons un courant de référence égal à 0,5 mA, il apparaît que le courant total consommé est de 34 mA donc inférieur à la consommation attendue (37 mA). De plus, avec cette valeur de courant, l'oscillateur n'arrive pas à démarrer. Ce résultat peut être expliqué par la possibilité que la recopie du courant ne s'effectue pas correctement. Malheureusement, il est difficile d'identifier

exactement l'origine du problème étant donné que le miroir de courant en question alimente tous les éléments actifs du circuit sauf les buffers de sortie. Or, une augmentation du courant de référence de 0,5 mA à 0,8 mA s'est avérée nécessaire afin de faire naître les oscillations et de retrouver ainsi la consommation totale attendue (37 mA). Ce problème pourrait venir d'un problème de dispersion technologique du process lors de la fabrication comme il pourrait venir aussi du fait que les transistors implémentés n'ont pas au final le même comportement que leurs modèles du design-kit utilisés lors des simulations. Une autre explication pourrait être qu'un des transistors intégré se retrouve mal polarisé et au final ne recopie pas le courant correctement.

Tableau III.2 Comparaison des paramètres statiques du circuit en simulations post-layout et en mesure.

Conditions minimales d'oscillations établies	Simulations post-layout	Mesures
Tension d'alimentation (V)	2,5	2,5
Courant de référence (mA)	0,5	0,8
Courant de référence du bloc buffers de sortie (mA)	2	2
Courant consommé (mA)	37	37
Puissance totale consommée (mW)	98,75	99,5

III.3.2.3. Comportement du circuit en oscillations libres

Les résultats de mesure montrent qu'en pratique le circuit oscille à une fréquence d'oscillation libre $f_{dét}=4,693$ GHz lorsqu'aucun signal d'injection n'est appliqué. Les simulations prévoyaient une fréquence d'oscillation libre de 4,96 GHz. La Figure III.24 montre le spectre du signal $V_{dét}$ en sortie de l'oscillateur de détection sur une charge 50 Ω .

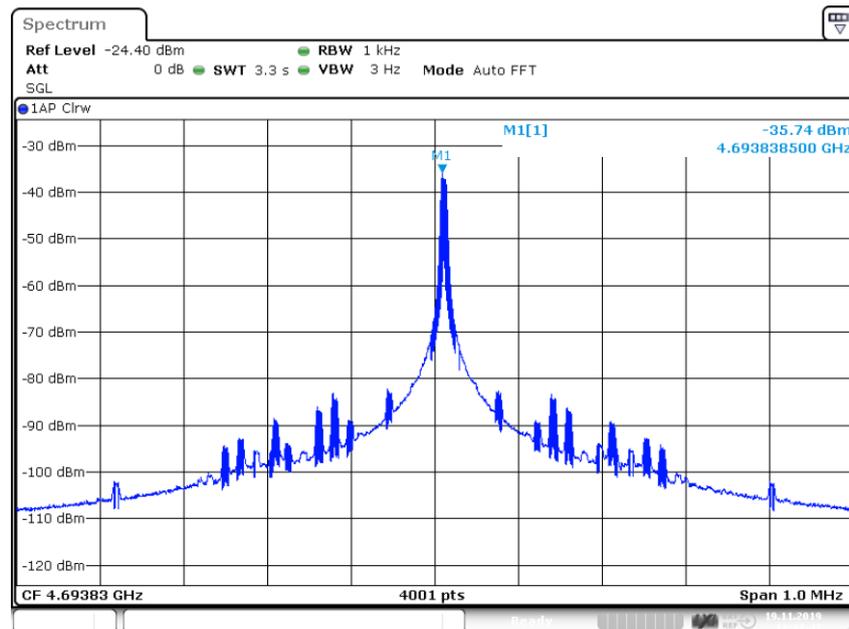


Figure III. 24. Spectre du signal de sortie en oscillations libres.

Comme nous pouvons le constater, la fréquence d'oscillation mesurée est légèrement inférieure à la fréquence d'oscillation obtenue en simulation post-layout sous l'environnement Cadence. Ce léger écart de fréquence de 270 MHz pourrait s'expliquer par une sous-estimation des effets parasites générés par l'étape de dessin des masques du circuit mais pourrait également s'expliquer par le fait que les modèles du design-kit utilisés en simulation ne présentent pas exactement le comportement réel des composants. Il est également possible que le problème statique évoqué dans le paragraphe précédent fasse que l'oscillateur ne fonctionne pas dans les mêmes conditions de polarisation que celles attendues.

La Figure III.25 illustre la forme d'onde du signal obtenu en sortie de l'oscillateur sur une charge 50 Ω . Nous pouvons constater que le signal présente une amplitude crête de 35 mV, inférieure à celle obtenue en simulation post-layout (140 mV). Cet écart d'amplitude pourrait avoir les mêmes origines que celles évoquées pour expliquer l'écart de fréquence d'oscillation. Mais cela peut également dénoter que le résonateur LC de l'oscillateur présente plus de pertes que prévues en simulation. A cela, s'ajoutent les pertes supplémentaires provenant de la carte PCB de test et de ses connectiques (wire bonding) qui n'avaient pas été prises en compte lors des simulations. Néanmoins, nous pouvons raisonnablement estimer, grâce à des mesures sous pointes réalisées directement sur la puce, que ces pertes n'excèdent pas 1,5 dB.

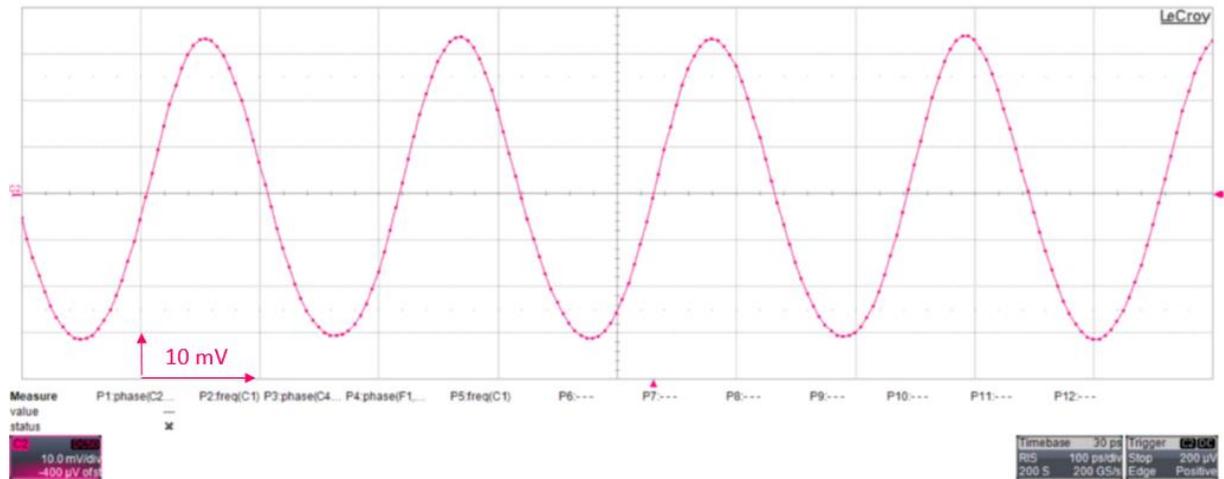


Figure III. 25. Forme d'onde mesurée du signal en sortie de l'oscillateur en oscillations libres.

III.3.2.4. Comportement du circuit sous injection

Nous avons appliqué un signal injecté de puissance $P_{inj} = -25$ dBm et de fréquence $f_{inj}=f_{dét} = 4,693$ GHz, à la même fréquence que celle d'oscillation libre de l'oscillateur. Dans ces conditions, l'oscillateur se verrouille sur f_{inj} , comme le montre la Figure III.26. Comme nous pouvons l'observer, le bruit de phase près de la porteuse est considérablement réduit par rapport au cas où aucune injection n'est appliquée. En effet, dans ces conditions, le circuit proposé sera plus à même de mesurer efficacement les faibles variations capacitatives que nous visons, de l'ordre de quelques attoFarads.

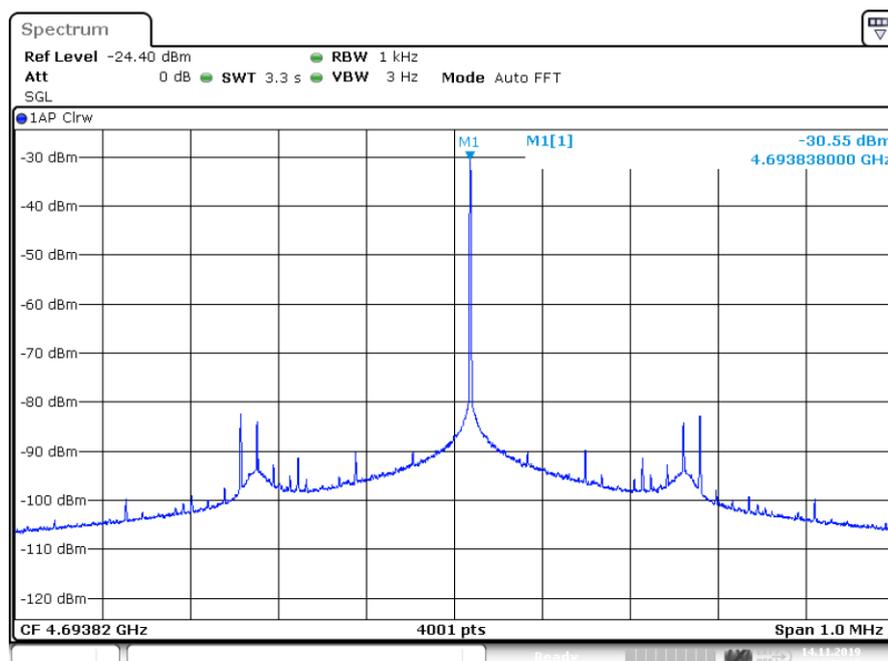


Figure III. 26. Spectre de sortie de l'oscillateur verrouillé par injection pour $f_{inj}=f_{dét}$.

La Figure III.27 présente les formes d'ondes des signaux à l'entrée V_{inj} et à la sortie $V_{dét}$ de l'oscillateur. En injectant ce signal, il existe néanmoins un déphasage résiduel $\phi_{dét} - \phi_{inj}$. Ce dernier a été totalement compensé en ajustant le déphaseur variable présenté dans le schéma du banc de mesure de la Figure III.22. Les mesures de déphasage sont réalisées avec un oscilloscope Lecroy SDA 816 Zi-A 16 GHz 40 GS/s. Le signal d'injection V_{inj} que nous observons sur la Figure III.27, est le signal qui est en amont du balun et de l'atténuateur car nous n'avons pas la résolution pour visualiser un signal de puissance faible à l'oscilloscope.

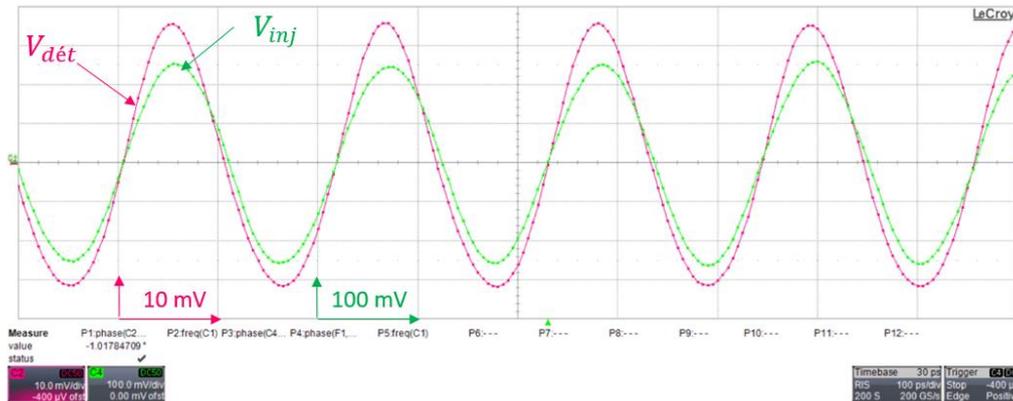


Figure III. 27. Formes d'ondes des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{inj}=f_{dét}$.

La Figure III.28 montre le tracé du déphasage linéaire mesuré (entre $\pm 30^\circ$) entre le signal de sortie de l'oscillateur de détection (dont la fréquence d'oscillation libre est $f_{dét}$) et le signal maître réglé sur la fréquence f_{inj} lorsque les conditions d'injection varient. Comme le montre cette figure, lorsque $f_{inj} = f_{dét}$, le déphasage résultant $\phi_{dét} - \phi_{inj}$ est nul. Ainsi, dans ces conditions d'injection, nous avons fait varier la fréquence d'injection f_{inj} tout en maintenant une fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ fixe et une puissance d'injection P_{inj} fixe dans l'objectif de générer un déphasage $\phi_{dét} - \phi_{inj} \neq 0$ induit par une variation de fréquence $\Delta f = f_{dét} - f_{inj}$. Les résultats de mesures, illustrés sur la Figure III.28(a), montrent bien qu'en diminuant le niveau d'amplitude du signal injecté, nous augmentons la différence de phase présentée entre ces deux signaux pour un Δf donné ce qui vérifie la théorie d'Adler. En effet, avec l'architecture du circuit proposée et en réduisant le niveau d'injection jusqu'à -50 dBm, les résultats de mesure de la Figure III.28(a), montrent sur la courbe rouge qu'il est possible de mesurer des déphasages représentatifs pour une variation de la fréquence allant de -100 kHz à +100 kHz autour de 4,693 GHz. Les mesures montrent que le circuit proposé semble bien capable de générer un déphasage ($\phi_{dét} - \phi_{inj}$) de 3° , traduisant un décalage de la fréquence d'injection de 10 kHz autour de 4,693 GHz.

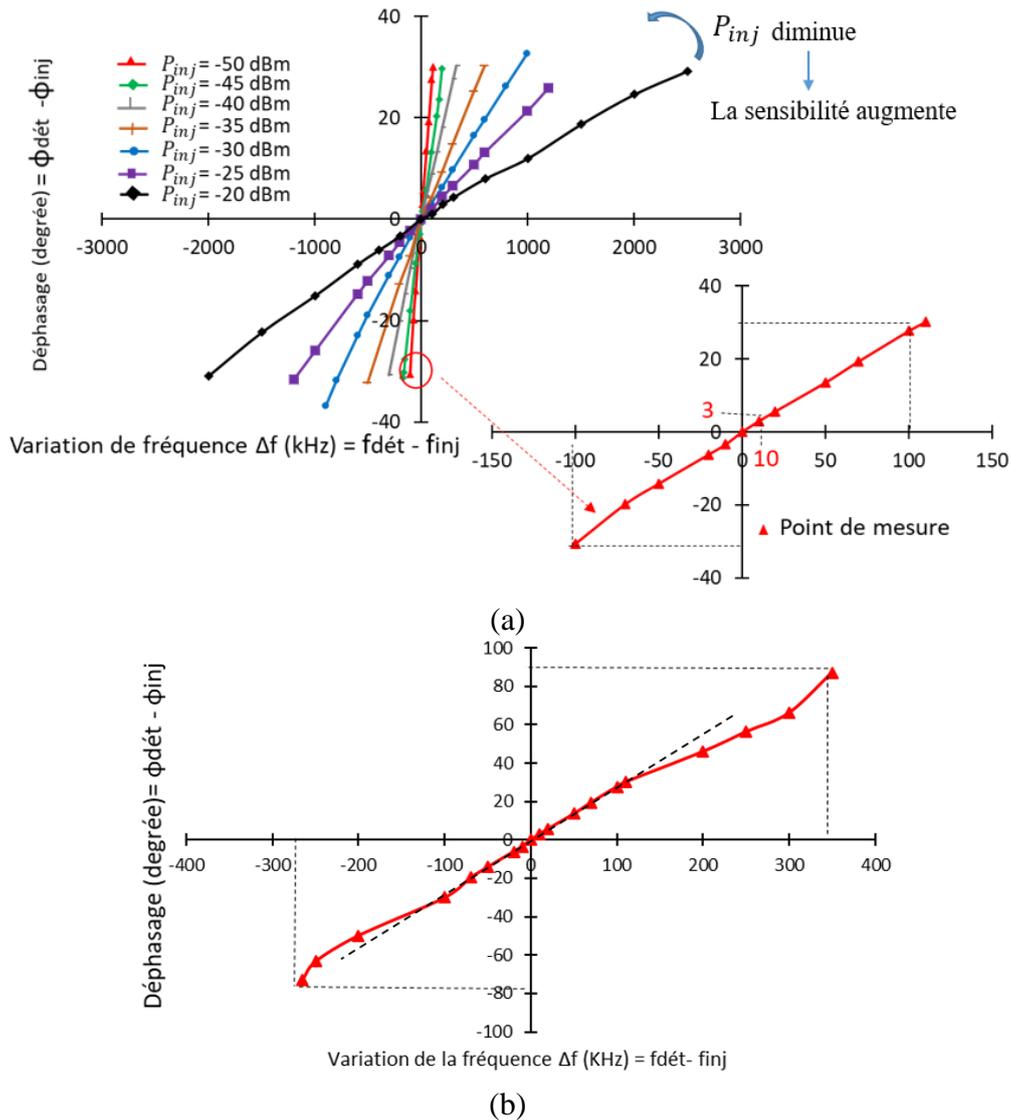
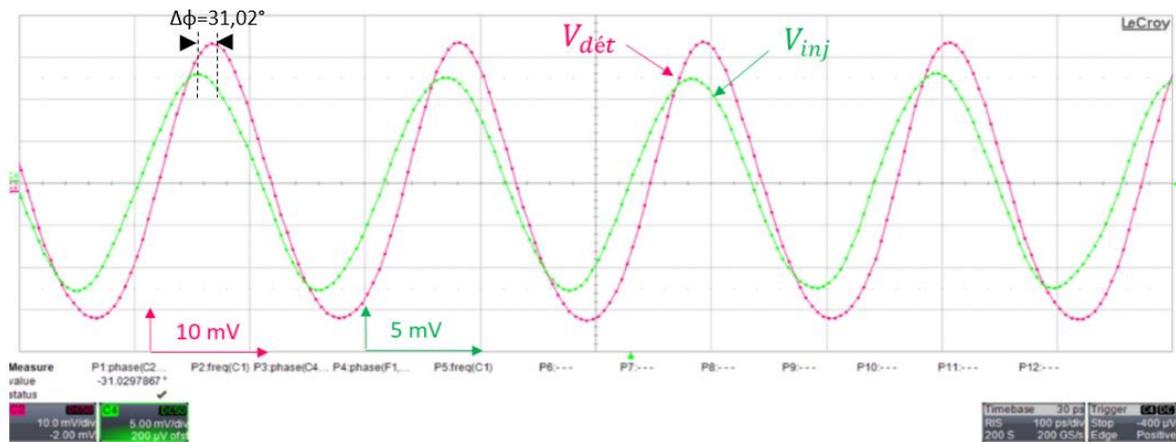


Figure III. 28 Déphasage mesuré en fonction de la différence entre la fréquence d'oscillation libre et la fréquence d'injection (a) pour différentes puissances d'injection, (b) pour une puissance d'injection $P_{\text{inj}} = -50$ dBm sur toute la plage de verrouillage.

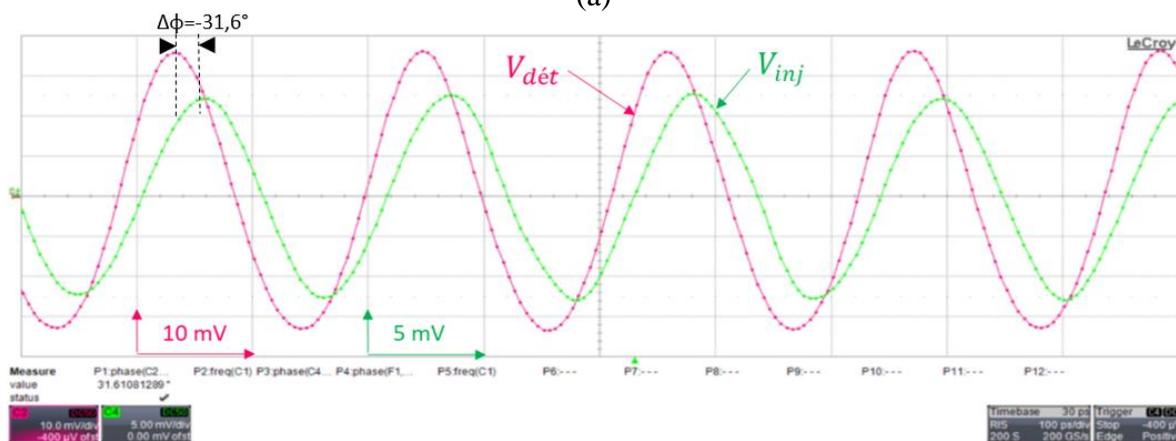
La Figure III.28(b) illustre le comportement de l'oscillateur verrouillé par injection sur toute sa plage de verrouillage pour une puissance d'injection de -50 dBm. Nous remarquons qu'il atteint, dans ces conditions, une bande de verrouillage de [-265 kHz, 350 kHz] engendrant un déphasage compris entre [-75°, 87°]. Nous remarquons la linéarité du déphasage dans la plage [-30°, +30°] et sa forte non-linéarité aux extrémités de la plage de verrouillage. Par conséquent, la détection des valeurs de déphasages au-delà de $\pm 30^\circ$ ne semble pas intéressante pour détecter des fortes variations de fréquence. Nous avons plutôt intérêt à appliquer une puissance d'injection nous permettant de travailler dans la zone linéaire. Comme nous pouvons le constater, le comportement théorique de l'oscillateur verrouillé par injection est vérifié en mesures. Le niveau de sensibilité obtenu en mesures est celui qui est attendu pour l'application

que nous visons, et devrait donc nous permettre de pouvoir détecter et quantifier les différences de propriétés diélectriques existantes entre des cellules biologiques, comme nous l'avons détaillé dans le chapitre 2.

La Figure III.29 présente deux exemples de formes d'ondes des signaux d'entrée et de sortie de l'oscillateur obtenues pour une fréquence d'injection présentant un $\Delta f = \pm 100$ kHz par rapport à la fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ de l'oscillateur et cela pour une puissance d'injection $P_{inj} = -50$ dBm. Comme on le retrouve sur les Figures III.29 (a) et (b), la valeur du déphasage correspondante est de $+31,02^\circ$ et de $-31,6^\circ$ pour, respectivement, $\Delta f = +100$ kHz et $\Delta f = -100$ kHz. Sur la Figure III.30, on peut noter un déphasage plus faible entre les signaux d'entrée et de sortie de l'oscillateur de $-14,12^\circ$, il correspond à une variation de fréquence de $\Delta f = -40$ kHz en considérant toujours la même puissance d'injection $P_{inj} = -50$ dBm.



(a)



(b)

Figure III. 29. Formes d'onde des signaux en entrée et en sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque (a) $f_{dét} - f_{inj} = +100$ kHz, (b) $f_{dét} - f_{inj} = -100$ kHz.

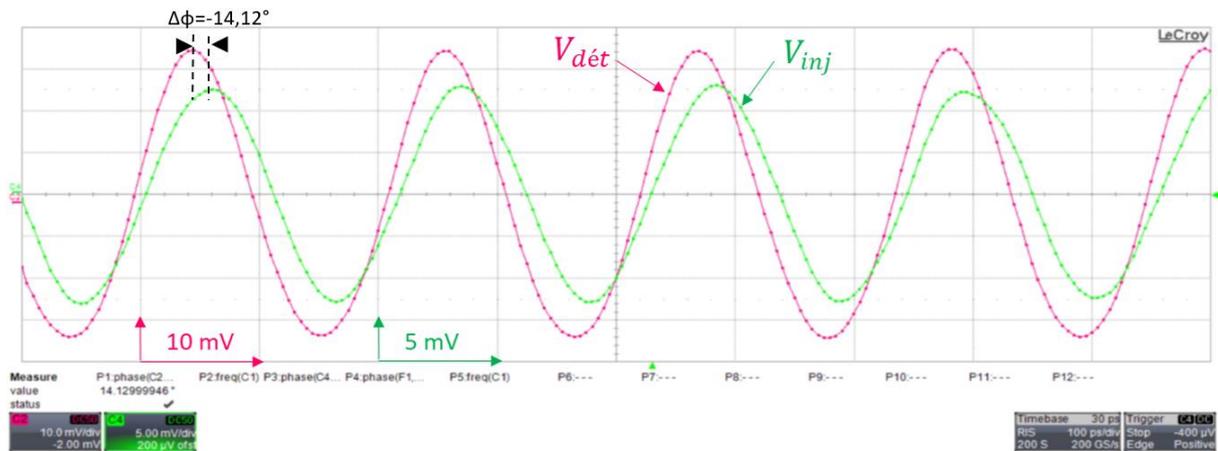


Figure III. 30. Signal à l'entrée et à la sortie de l'oscillateur verrouillé par injection lorsque $f_{dét}-f_{inj}=-40$ kHz.

A présent, nous allons considérer une mesure différentielle entre le signal en sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence. Pour les circuits de test utilisés, nous avons créé une différence de capacité, en intégrant une capacité MIM de valeur fixe et supérieure de 1 fF à la valeur équivalente de la capacité interdigitée, en parallèle au résonateur de l'oscillateur de détection. Nous espérons ainsi générer un décalage de fréquence de l'oscillation libre de 3 MHz autour de 5 GHz entre les oscillateurs de détection et de référence. L'objectif avec ces circuits de test est de valider le fonctionnement du circuit avant de s'engager dans des campagnes de mesure avec des cellules biologiques.

Lorsque nous avons voulu mesurer la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de référence et de l'oscillateur de détection, nous nous sommes rendu compte qu'ils oscillaient exactement à la même fréquence, quelle que soit la puce testée. Ce comportement surprenant nous a interpellé et donne l'impression de l'existence d'un couplage entre les deux oscillateurs. Les deux oscillateurs partageant les mêmes miroirs de courant et donc les mêmes sources de polarisation, nous n'avons aucun moyen expérimental de trouver l'origine du problème par rapport à la présence ou non d'un éventuel couplage.

Nous nous sommes donc orientés vers des simulations post-layout, ces dernières n'ayant pas été effectuées sur ces circuits de tests avant fabrication, faute de temps vis-à-vis de la date limite de réception des masques fixée par IHP pour intégrer le run MPW (Multi Project Wafer) dont nous avons bénéficié. Les simulations post-layout ayant été menées de manière privilégiée sur les systèmes de détection avec la capacité interdigitée.

Nous avons donc opté pour une autre solution pour effectuer une mesure différentielle et déterminer les performances et la sensibilité de détection du système. Nous avons utilisé deux circuits de deux puces distinctes montées sur deux cartes PCB différentes. Nous avons dû modifier le banc de mesure comme illustré sur la Figure III.31. Nous avons rajouté des « diviseurs de puissance », sur chacune des voies différentielles du Balun afin de pouvoir injecter les deux circuits avec le même système d'asservissement des oscillateurs. De plus, nous avons rajouté un coupleur permettant de mesurer la fréquence d'oscillation libre du second circuit sur un deuxième analyseur de spectre et de visualiser son signal de sortie sur une des voies de l'oscilloscope. Les deux analyseurs de spectre sont synchronisés avec le même signal d'horloge 10 MHz. La puce 1 est utilisée comme un circuit de détection et la puce 2 comme un circuit de référence.

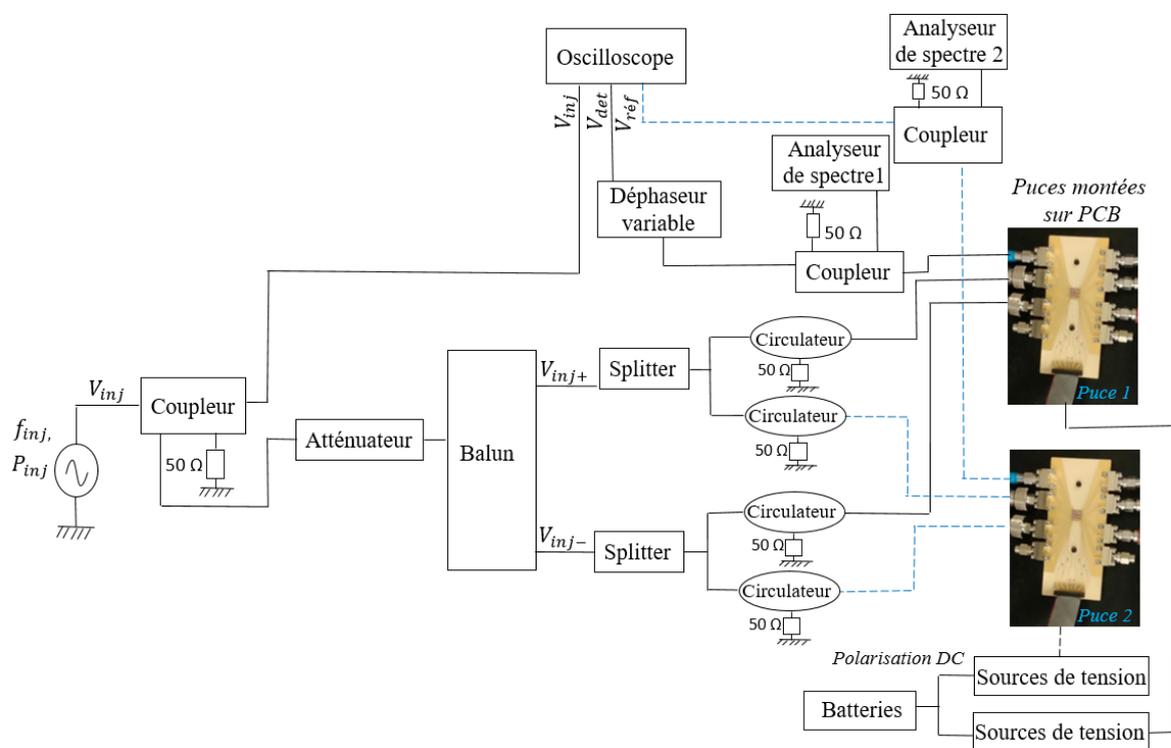


Figure III. 31. Schéma de principe du banc d'essai modifié pour une mesure différentielle.

Comme les deux puces sont montées sur deux PCB différents, les oscillateurs testés ne présentent pas nécessairement exactement la même fréquence d'oscillation (une tolérance de 3 à 5 MHz, c'est-à-dire quelques centaines de ppm autour de 4,693 GHz, est observée entre les deux puces) à cause de petites différences sur la connexion des câbles, longueurs des bondings qui ne peuvent pas être strictement les mêmes sur les deux PCB ou encore de la dispersion technologique, les puces étant issues de zones géographiques différentes du wafer. Nous avons réussi à annuler la différence de fréquence d'oscillation entre les deux oscillateurs en jouant sur

la polarisation externe de chacun. Les sources de tension qui délivrent le courant de référence permettent de polariser chacun des deux PCB de façon indépendante comme le montre la Figure III.31. En effet, nous avons commencé par polariser le circuit de la puce 2 oscillant à une fréquence d'oscillation libre $f_{réf}$. Par la suite, en jouant sur les tensions de polarisation de la puce 1, nous avons ajusté la fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ pour la faire converger vers $f_{réf}$.

En effet, en changeant les conditions de polarisation des transistors de l'oscillateur, nous arrivons à jouer sur les valeurs des capacités non linéaires ramenées par ces transistors, qui contribuent à la capacité globale du circuit résonant LC. Ainsi, il est possible de contrôler et de synchroniser artificiellement la fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ avec la fréquence $f_{réf}$ et faire comme le montre la Figure III.32, que les deux circuits oscillent bien à la même fréquence d'oscillation libre $f_{réf}=f_{dét}=4,693$ GHz.

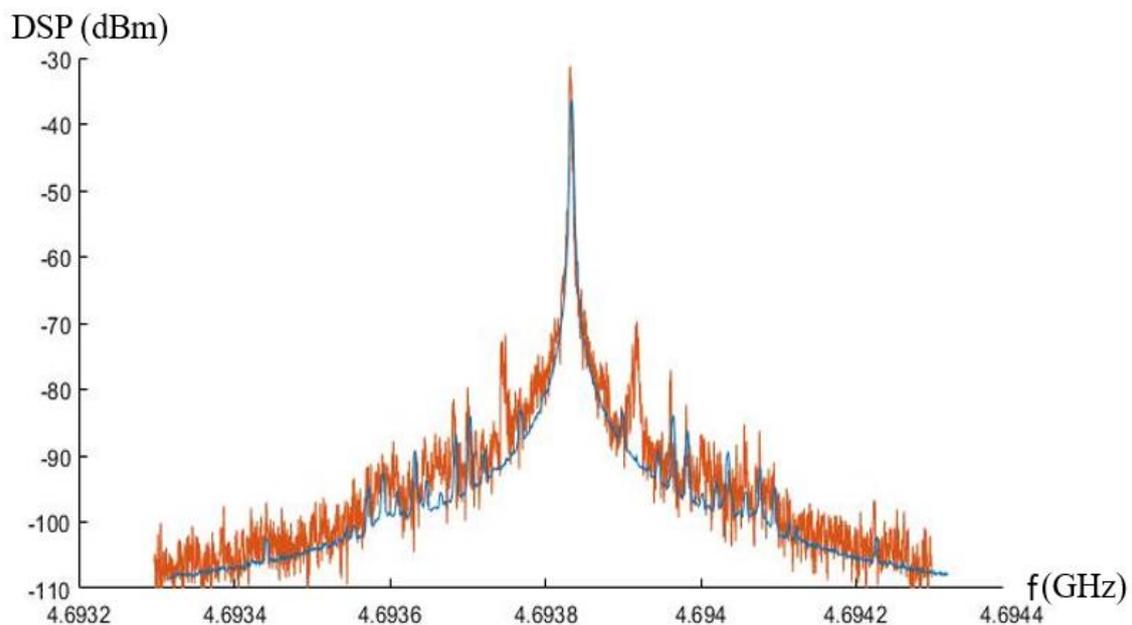


Figure III. 32. Densité spectrale des signaux de sortie des deux oscillateurs (détection & référence) sur deux PCB différents.

Ensuite, nous avons cherché à générer, toujours artificiellement, un décalage fréquentiel $\Delta f = \pm 500$ kHz entre les fréquences d'oscillation du circuit de détection et le circuit de référence (Figure III.33). Il nous suffit pour cela de modifier légèrement la polarisation du PCB 1 de détection, tout en maintenant fixe le PCB 2.

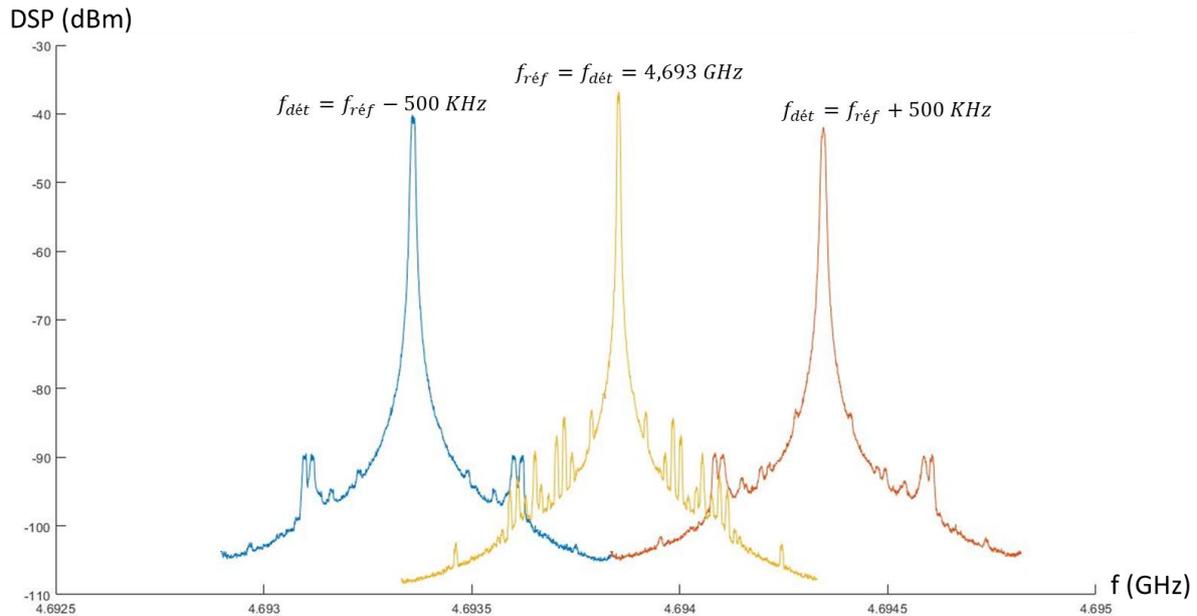


Figure III. 33. Densités spectrales de puissance : génération d'un décalage fréquentiel de ± 500 kHz autour de la fréquence d'oscillation libre de référence de 4,693 GHz.

Ce décalage fréquentiel représente pour notre application, un décalage équivalent à l'effet que pourrait avoir une cellule biologique qui passerait par la zone de détection (équivalent à un décalage capacitif voisin de 200 aF) comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent. Nous pouvons constater que le système est bien capable de détecter sans ambiguïté ce changement de fréquence et cela sans avoir recourt au principe d'injection.

A présent, pour pouvoir détecter des variations fréquentielles de quelques kHz (similaires à celle que pourraient générer des différences de propriétés diélectriques entre deux cellules biologiques), le mode d'injection apparaît indispensable comme on peut le voir sur la Figure III.34 où apparaît un décalage fréquentiel de 10 kHz que nous avons pu générer entre $f_{dét}$ et $f_{réf}$.

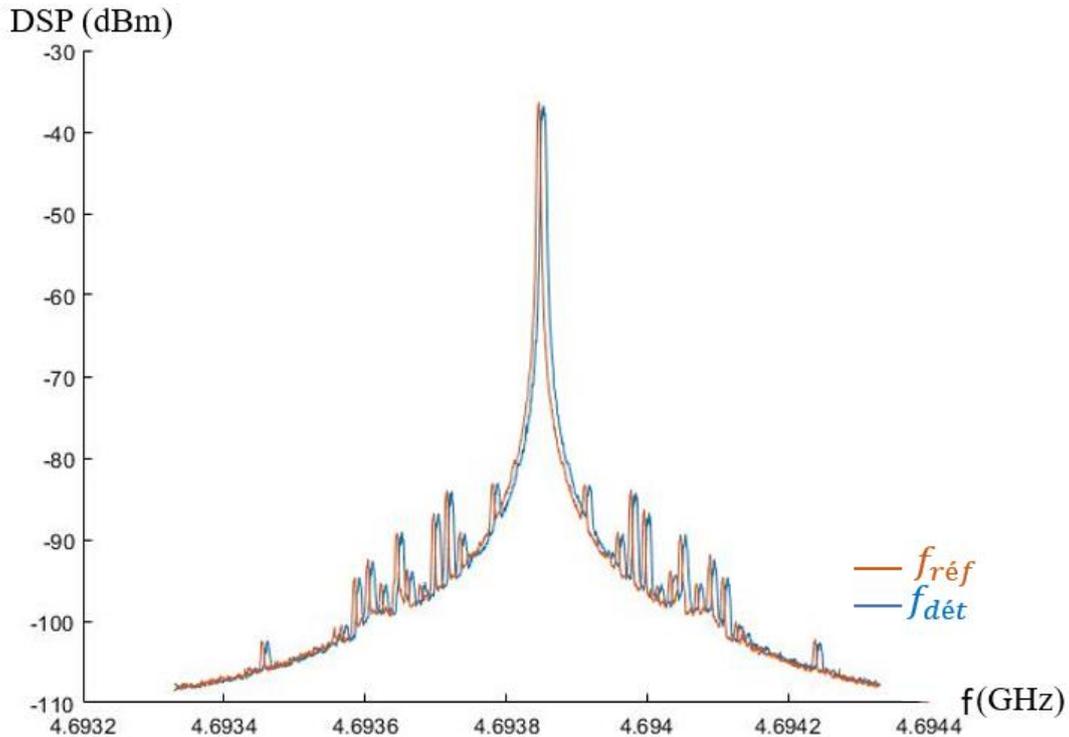


Figure III. 34. Densités spectrales de puissance : décalage fréquentiel de +10 kHz autour de la fréquence d'oscillation libre de référence de 4,693 GHz.

En mode injection, lorsque les deux circuits oscillent à la même fréquence d'oscillation $f_{dét}=f_{réf}$, nous appliquons un signal injecté de fréquence $f_{inj}=f_{dét}=f_{réf}$. Un déphasage nul apparaît entre les sorties des deux oscillateurs une fois le déphasage résiduel, entre ces deux dernières, compensé avec le déphaseur variable. Pour une fréquence d'injection f_{inj} et une puissance d'injection P_{inj} données, nous avons fait varier la tension de polarisation de l'oscillateur de détection pour ajuster sa fréquence d'oscillation libre $f_{dét}$ vis-à-vis de $f_{réf}$. Modifier artificiellement $f_{dét}$ entraîne ainsi une variation de déphasage ($\phi_{dét} - \phi_{réf}$) dont la valeur peut être maximisée pour être plus facilement détectée en ajustant la puissance du signal injecté. La Figure III.35 montre les mesures de la différence de phase entre les deux signaux en sortie de l'oscillateur de détection de la puce 1 et de l'oscillateur de référence de la puce 2 en fonction de la différence de fréquence générée entre $f_{dét}$ et $f_{réf}$ et ce, pour différentes puissances d'injection. Nous avons cherché à diminuer la puissance d'injection au fur et à mesure jusqu'à atteindre le niveau de sensibilité maximal comme l'illustre la Figure III.35. Une fois que la puissance du signal injecté est réduite à -50 dBm, la sensibilité la plus élevée du système de détection a pu être atteinte.

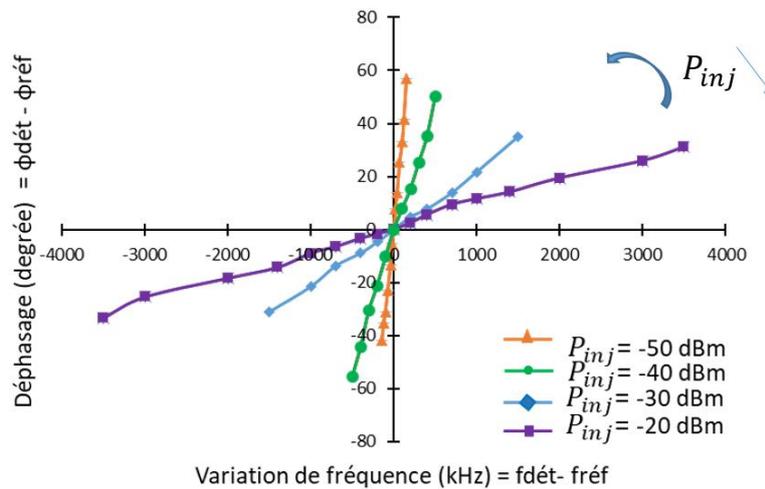
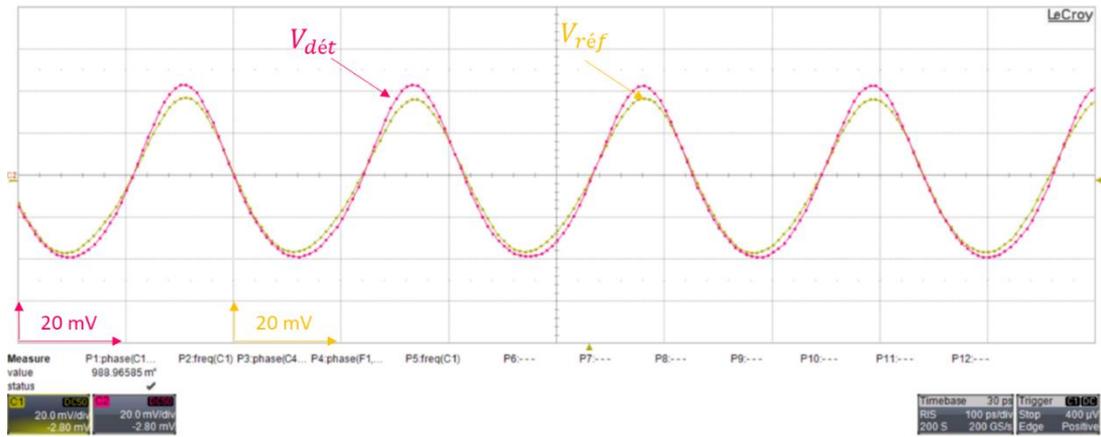


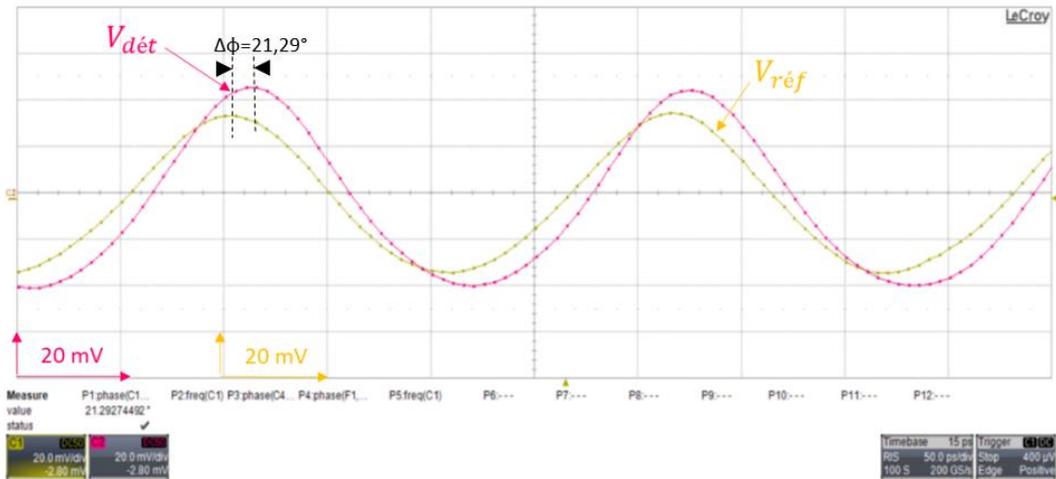
Figure III. 35. Déphasage mesuré entre les deux signaux de sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence pour différentes variations de fréquence entre oscillateurs.

Sur la Figure III.36, nous observons des exemples de formes d'ondes entre les signaux de sortie de l'oscillateur de détection et celui de référence pour différents décalages fréquentiels. La Figure III.36(a) présente une différence de phase nulle, après avoir corrigé le déphasage résiduel à l'aide du déphaseur variable du banc présenté sur la Figure III.31, lorsque $f_{dét} = f_{réf}$ à une puissance d'injection $P_{inj} = -40$ dBm. La Figure III.36(b) montre, pour un décalage fréquentiel artificiel généré de +200 kHz, que les deux signaux de sortie des deux oscillateurs présentent un déphasage mesuré égal à +21,29°.

Pour pouvoir mesurer avec précision un déphasage traduisant un décalage fréquentiel plus faible, nous avons réduit la puissance d'injection P_{inj} à -50 dBm. Les Figures III.37 (a) et (b) montrent un exemple présentant une différence de phase mesurée respectivement égale à 13,7° et 32,46° lorsque nous avons généré un changement de fréquence de +40 kHz et +100 kHz pour une puissance d'injection $P_{inj} = -50$ dBm. Comme nous pouvons le constater, ces résultats de mesures montrent qu'avec le principe de détection différentielle, nous validons le fonctionnement du système de détection.

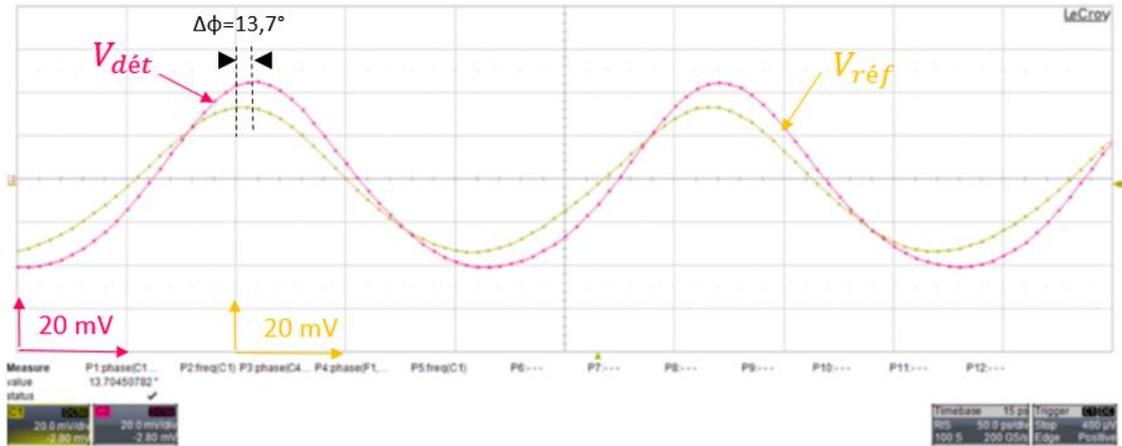


(a)

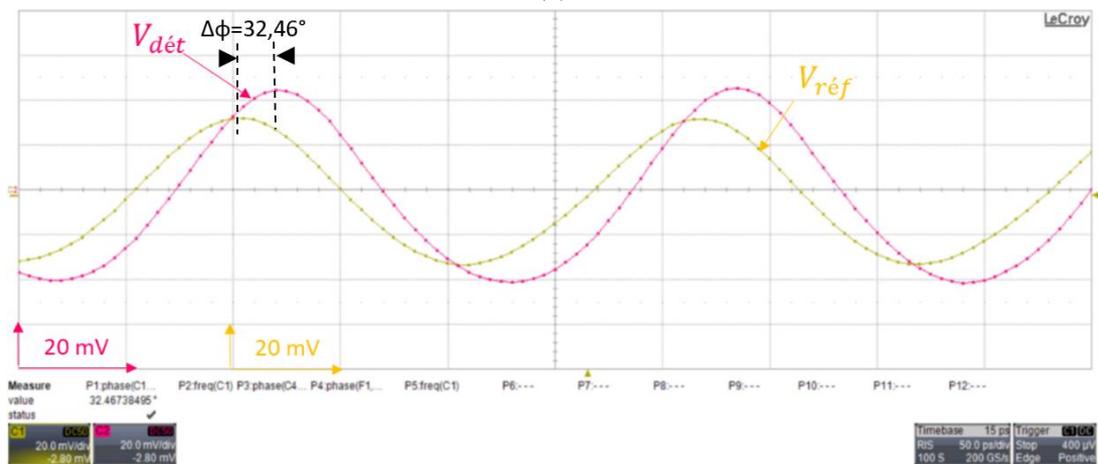


(b)

Figure III. 36. Formes d'onde en sortie des deux oscillateurs de détection et de référence pour $P_{inj} = -40$ dBm et pour (a) $f_{inj} = f_{dét} = f_{réf}$, une fois le déphasage résiduel compensé, (b) pour $f_{dét} = f_{réf} + 200$ kHz.



(a)



(b)

Figure III. 37. Formes d'onde en sortie des deux oscillateurs de détection et de référence pour $P_{inj}=-50$ dBm et (a) pour $f_{dét}=f_{réf} +40$ kHz, (b) pour $f_{dét}=f_{réf} +100$ kHz.

La Figure III.38 présente le déphasage résultant mesuré et simulé entre les signaux de sortie des deux oscillateurs verrouillés par injection ($f_{inj}=f_{réf}= 4,693$ GHz) à la puissance d'injection $P_{inj}=-50$ dBm. Un très bon accord est obtenu entre les résultats de mesures et les performances attendues simulées sous Cadence. Les simulations post-layout prédisent que ce même décalage de fréquence $f_{dét}- f_{réf}$ correspond à une variation de capacité allant de -31 à +31 aF comme on peut le voir sur la Figure III.38. Ces résultats de simulations pourraient permettre de calibrer le capteur et ainsi, à partir d'un déphasage donné, d'estimer la variation de capacité de détection associée. En conséquence, nous pouvons noter qu'un déphasage mesuré de 3° (traduisant un décalage de fréquence de 10 kHz autour de 4,693 GHz) se traduit par une variation capacitive de 3 aF. Ainsi, le circuit proposé présente une sensibilité de détection de fréquence de 2,13 ppm en mesure contre 2 ppm en simulation post-layout et électrique.

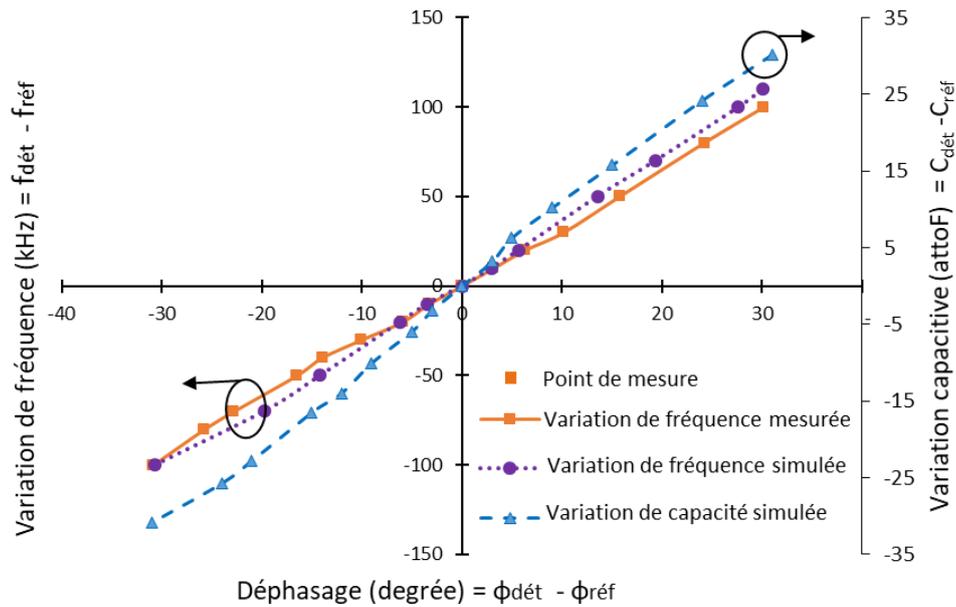


Figure III. 38. Mesure du décalage de la fréquence d'oscillation libre entre l'oscillateur de détection et de référence en fonction du déphasage induit entre les deux signaux de sortie.

En résumé, nous avons validé l'approche et l'architecture de capteur à oscillateur verrouillé par injection développé. En effet, le fonctionnement du circuit a été établi et la sensibilité maximale que nous pouvons atteindre avec ce dispositif en mesure correspond bien à nos attentes. Pour des contraintes de temps, nous n'avons pas eu le temps dans le cadre de la thèse de pousser la phase expérimentale plus en avant, et de tester nos capteurs en conditions réelles en présence de cellules. Ces expérimentations sont planifiées et devraient pouvoir être menées très prochainement.

III.4.Conclusion

Dans de ce chapitre, nous avons démontré le potentiel d'une architecture originale d'un capteur RF à très haute sensibilité de détection, à base de deux oscillateurs verrouillés par injection intégrés avec la technologie BiCMOS SG25H4 SiGe :C 0,25 μ m développée par l'Institut *IHP*. La première partie de ce chapitre a été consacrée à introduire l'implémentation du système de détection. Les simulations post-layout ont démontré une bonne concordance avec les simulations électriques présentées dans le chapitre précédent. Un prototype a été réalisé et fabriqué par IHP. La deuxième partie de ce chapitre a permis de présenter les principaux résultats expérimentaux obtenus à partir de premiers prototypes. Un protocole expérimental a été développé et les résultats de mesures obtenus ont été comparés aux résultats de simulations. Les premiers tests ont été effectués, sans microfluidique, pour valider de prime abord le concept et le bon fonctionnement du circuit. Nous avons montré que l'oscillateur oscille librement et que sous injection avec une puissance injectée égale à -50 dBm, le système de détection est capable d'atteindre une sensibilité de détection de mesure égale à 2,13 ppm. Cette étude a permis de montrer la pertinence d'utiliser une structure différentielle verrouillée par injection. En effet, dans les conditions de faible injection, nous avons pu mesurer, pour de très faibles variations fréquentielles de l'ordre de quelques dizaines de kilohertz autour d'une fréquence d'oscillation libre de 4,693 GHz, un déphasage à la sortie de l'oscillateur détectable et égal à 3° . Des décalages fréquentiels aussi faibles que 10 kHz ont pu être mesurés ce qui correspondant selon les simulations à une variation capacitive de 3 aF.

En conclusion, la faisabilité du système de détection proposé a été prouvée. Ces premières constatations montrent une sensibilité très intéressante ouvrant ainsi des perspectives en termes d'analyse cellulaire par spectroscopie diélectrique haute fréquence permettant potentiellement de détecter une cellule individuelle de façon non-invasive. Malheureusement, nous n'avons pas eu le temps d'effectuer des mesures avec des éléments biologiques dans le cadre de ses travaux de recherche, mais des premières expérimentations devraient être menées très prochainement.

- [1] "IHP - Start." [Online]. Available: <https://www.ihp-microelectronics.com/en/start.html>.
- [2] I. F. Cheng, H. C. Chang, D. Hou, and H. C. Chang, "An integrated dielectrophoretic chip for continuous bioparticle filtering, focusing, sorting, trapping, and detecting," *Biomicrofluidics*, vol. 1, no. 2, pp. 1–15, 2007.
- [3] M. Kersaudy-Kerhoas, R. Dhariwal, and M. P.Y Desmulliez, "Recent advances in microparticle continuous separation," *IET nanobiotechnology*, vol. 1, no. 1, pp. 10–14, 2007.
- [4] A. Tamra, M. Deburghgraeve, D. Dubuc, M. P. Rols, and K. Grenier, "Microwave dielectric spectroscopy for single cell irreversible electroporation monitoring," *IEEE MTT-S Int. Microw. Symp. Dig.*, vol. 2016–August, pp. 1–4, 2016.
- [5] A. Zedek, D. Dubuc, and K. Grenier, "Microwave permittivity extraction of individual biological cells submitted to different stimuli," *IEEE MTT-S Int. Microw. Symp. Dig.*, pp. 865–868, 2017.



Conclusion générale



Conclusion générale

Le domaine des biocapteurs subit actuellement une importante révolution grâce à la mise en œuvre de techniques innovantes comme la spectroscopie diélectrique hyperfréquence qui permettent l'analyse et la caractérisation d'éléments biologiques avec des sensibilités de plus en plus élevées. Ces travaux de thèse, s'inscrivent dans ce contexte, avec le développement d'une architecture originale de capteur ultrasensible pour l'analyse de cellules biologiques. L'objectif visé était non seulement de détecter et de pouvoir discriminer des cellules cancéreuses en suspension dans un canal microfluidique mais aussi de mesurer avec précision des différences de propriétés diélectriques qui existent entre elles avec une sensibilité de détection de l'ordre de 2 ppm.

Le biocapteur développé dans ces travaux de thèse est basé sur deux oscillateurs LC verrouillés par injection qui opèrent aux fréquences microondes et sont intégrés en technologie BiCMOS SG25H4 SiGe : C 0,25 μm .

Dans le premier chapitre de ce manuscrit, nous avons montré pourquoi il est pertinent de mettre à profit des ondes hautes fréquences pour la détection cellulaire. Dans cette gamme de fréquence, nous avons montré qu'il est possible d'analyser et de caractériser les échantillons biologiques d'une façon non invasive et non destructive. Ainsi, pour l'étude de cellules biologiques, cela présente le potentiel de pouvoir sonder le contenu intracellulaire sans les altérer. De plus, ces types de capteurs hyperfréquences miniaturisés sont compatibles avec une approche d'intégration de type « laboratoires sur puce ». Nous avons mené une étude bibliographique afin d'identifier les architectures de biocapteurs capacitifs parmi les plus performants dans la littérature. Cela nous a permis de discuter pour chacune, leurs principaux avantages et inconvénients. Il en ressort qu'inévitablement, l'implémentation d'un tel dispositif en technologie CMOS est très pertinente en termes de miniaturisation et d'intégration d'autant plus que cette approche permet potentiellement d'atteindre une sensibilité d'analyse bien plus élevée (de l'ordre de quelques de ppm). Les constats effectués nous ont permis de choisir l'architecture originale, proposée dans cette thèse. Il nous est apparu intéressant de concevoir un biocapteur RF basé sur des oscillateurs afin d'atteindre le niveau de sensibilité nécessaire pour pouvoir être en mesure de détecter des différences de propriétés diélectriques entre cellules.

Ainsi, nous avons introduit, dans le deuxième chapitre, des notions sur la théorie des oscillateurs afin de choisir la technique et la topologie de circuit appropriée pour mettre au point un système de détection performant. Le principe de la bio-détection mis à profit repose sur



Conclusion générale

l'utilisation d'un système oscillant utilisant une zone de détection formée par une capacité planaire. Etant très sensible à de petites variations capacitives, la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de détection est ainsi amenée à varier en fonction des propriétés diélectriques des éléments biologiques interagissant avec cette capacité.

D'une façon générale, les oscillateurs intégrés souffrent du fait qu'ils peuvent être très sensibles aux perturbations environnementales extérieures telles que des variations de température, le bruit et les interférences électromagnétiques environnantes qui peuvent provoquer une gigue importante sur le signal de sortie de l'oscillateur. Or, pour atteindre l'objectif visé dans ce travail de thèse, une forte stabilité de la fréquence d'oscillation et un très faible bruit de phase sont indispensables pour voir l'impact avec précision du décalage de fréquence induit par le passage des cellules biologiques dans la zone de détection. Pour surmonter ce problème et obtenir une détection à haute sensibilité, nous avons mené une étude à partir d'architectures de systèmes de détection présentées dans la littérature et conçues à partir d'oscillateurs. Cette étude nous a permis de fixer notre choix sur la technique d'oscillateurs verrouillés par injection pour limiter le bruit de phase près de la porteuse et atteindre une forte stabilité en fréquence. Le système de détection, conçu pour opérer autour de 5 GHz, utilise deux oscillateurs LC différentiels identiques : un oscillateur de détection exposé à la présence d'une cellule dans sa zone de détection et un autre utilisé comme référence qui ne sera affecté que par les perturbations environnementales. Les deux oscillateurs sont verrouillés par le même signal d'injection. Ces derniers permettront de différencier au travers la différence de phase induite entre les deux signaux de sortie des deux oscillateurs, uniquement l'effet de la cellule sur la capacité de détection. La conception et l'architecture du circuit proposé a été présentée dans la deuxième partie de ce chapitre. Les résultats de simulations ont prouvé la faisabilité de notre approche et le fait que le système développé est capable d'atteindre la sensibilité de détection visée. En effet, en travaillant en mode faible injection, nous avons montré que pour un décalage de la fréquence d'oscillation libre de 10 kHz autour de 5 GHz induite par une variation de la capacité de détection de 3 aF autour d'une capacité globale du résonateur de l'ordre de 600 fF, un déphasage de 3° peut être obtenu. Il représente le seuil minimal de détection atteignable avec notre dispositif. Ces déphasages ainsi générés sont donc liés aux propriétés diélectriques intrinsèques de l'élément biologique passant au niveau de la zone de détection de l'oscillateur de détection, une calibration du système sera par conséquent nécessaire pour accéder aux valeurs de permittivités diélectriques correspondantes.

Ces résultats nous ont amené, lors du chapitre 3 de ce manuscrit, jusqu'à l'étape d'implémentation de ce capteur actif sur un substrat silicium en technologie BiCMOS SiGe:C 0,25 μm de IHP. La première partie de ce chapitre a été consacrée à la discussion sur les choix faits lors du dessin des masques pour atteindre l'objectif visé. Les résultats de simulations post-layout montrent que le système de détection est capable d'atteindre les performances requises pour permettre l'analyse et la caractérisation des propriétés diélectriques de ces cellules une par une avec une sensibilité de l'ordre de l'attoFarad. Une fois fabriqué, le circuit a été monté sur une carte de test (PCB). Un banc de mesure spécifique a été développé et mis en place pour pouvoir évaluer les performances du circuit fabriqué. Les résultats de mesures ont montré d'excellentes performances. En effet, les premières expérimentations ont été menées avec un circuit de test sans faire intervenir la microfluidique dans l'objectif de valider le fonctionnement du circuit. Un léger écart au niveau de la fréquence d'oscillation libre a été observé durant les mesures ainsi qu'une consommation de courant de référence supérieure à celle prévue en simulation. Malgré cela, le circuit présente d'excellentes performances en ce qui concerne la sensibilité de détection. En effet, dans les conditions d'injection, en appliquant une faible puissance injectée de l'ordre de -50 dBm à une fréquence d'injection égale à la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur, le circuit présente une sensibilité de mesure suffisante (2,13 ppm) pour détecter une variation de fréquence de 10 kHz autour de la fréquence d'oscillation en générant un déphasage de 3° ce qui concorde avec les résultats de simulations.

Cela ouvre donc de nombreuses perspectives à notre travail de recherche et montre que des améliorations doivent être apportées à l'architecture présentée. Ainsi, l'intégration d'une varicap au circuit pourrait, lors de l'étape de calibration, permettre d'ajuster et de faire varier la fréquence d'oscillation libre de l'oscillateur de façon à annuler la différence de fréquence de manière inhérente entre les deux circuits à cause de petites différences de montages des puces (positionnement, longueur des bondings...), de la connexion des câbles, ou d'une dispersion du process technologique.

De plus, une seconde amélioration pourrait être apportée concernant le déphasage résiduel qui existe entre les signaux lorsque les deux oscillateurs oscillent à la même fréquence d'oscillation. En effet, il pourrait être intéressant d'intégrer un déphaseur variable sur puce polarisé indépendamment du reste du circuit afin d'annuler ce déphasage résiduel et calibrer plus facilement le système. L'idée à termes est de concevoir un microsystème totalement intégré.

Conclusion générale

Finally, as we have seen, the first results obtained are very encouraging and show a very good detection sensitivity. The detection principle has been demonstrated. The fabrication of the chips was longer than expected and the first measurements in microfluidic conditions have not yet been carried out. Detection, with moving particles, remains to be validated. Unfortunately, due to lack of time, we have not been able to use this prototype to analyze and discriminate cancer cells. This will be the first objective to be achieved through other doctoral work.

Thus, through the improvements of the system that we propose, we have high hopes that this detection system can open an important way in the analysis and characterization of individual biological cells in a non-destructive and non-invasive way by high-frequency dielectric spectroscopy.

Productions scientifiques

- **Communication dans des congrès internationaux :**

M. Babay ; C. Hallepee ; C. Dalmay ; B. Barelaud ; E.C. Durmaz ; C. Baristiran Kaynak ; M. Kaynak ; D. Cordeau ; A. Pothier, « **Highly sensitive capacitive sensor based on injection locked oscillators with ppm sensing resolution** », IEEE International Microwave Symposium: IMS 2020, Jun 2020, Los Angeles, United States.

M. Babay ; C. Dalmay ; B. Barelaud ; E.C. Durmaz ; C. Baristiran Kaynak ; M. Kaynak ; D. Cordeau ; A. Pothier, « **Design and Implementation of Injection Locked Oscillator Biosensors** », 49th European Microwave Conference (EuMC), Oct 2019, Paris, France.

Meissa Babay, Claire Dalmay, Bruno Barelaud, Emre Can Dumaz, Canan Baristiran Kaynak et al. « **Lab-On-A -Chip for cellular analysis by dielectric spectroscopy based on injection locked oscillators** », PLUMEE 2019 : Colloque francophone PLUridisciplinaire sur les Matériaux, l'Environnement et l'Electronique, Apr 2019, Limoges, France.

- **Communication dans un congrès national :**

Meissa Babay, Claire Dalmay, Emre Can Dumaz, Canan Baristiran Kaynak, Mehmet Kaynak et al. « **Potentialités d'architectures de biocapteurs basées sur des oscillateurs hyperfréquences verrouillés par injection** », *XXIèmes Journées Nationales Microondes*, May 2019, Caen, France.

- **Publications dans des revues internationales :**

Aurélié Lacroix, Elise Deluche, Ling Yan Zhang, Claire Dalmay, Carole Mélin, Jonathan Leroy, Meissa Babay et al. « **A New Label-Free Approach to Glioblastoma Cancer Stem Cell Sorting and Detection** », *Analytical Chemistry*, American Chemical Society, 2019.



Etude de nouvelles architectures intégrées sur CMOS de laboratoires sur puces pour les applications biomédicales

Résumé : Le travail proposé dans ce manuscrit de thèse concerne le développement, la conception et l'implémentation d'une architecture originale et innovante d'un biocapteur RF actif dédié à la spectroscopie diélectrique hyperfréquence. Le capteur développé est basé sur une détection capacitive. Il permet de détecter, d'analyser et de discriminer des échantillons biologiques mis sous test telles que des cellules cancéreuses, en suspension dans un canal microfluidique, en fonction de leurs propriétés diélectriques. Il est capable de mesurer les différences existantes entre elles avec une très haute sensibilité. Le système de détection développé est basé sur deux oscillateurs LC verrouillés par injection, fonctionnant à une fréquence proche de 5 GHz et intégré sur un substrat silicium en technologie BiCMOS SiGe:C 0,25 μm de IHP. Le fonctionnement du circuit a été validé en premier lieu avec des simulations électriques et post-layout. Le système de détection proposé est capable d'atteindre, en travaillant en mode faible injection, les performances requises en ce qui concerne la sensibilité de détection (de l'ordre de 2 ppm), ce qui permet de pouvoir à termes détecter et caractériser avec précision les propriétés diélectriques de cellules biologiques. Un banc de mesure dédié a été développé une fois le prototype fabriqué afin de caractériser le circuit. Les expérimentations ont démontré que le dispositif présente des résultats de mesures prometteurs qui concordent avec les simulations. Cela démontre le fort potentiel de l'approche proposée permettant à termes de pouvoir détecter et mesurer des différences entre les éléments biologiques d'une manière non invasive.

Mots-clés : Biocapteur RF, Oscillateurs verrouillés par injection, BiCMOS, Spectroscopie diélectrique

Study of new CMOS integrated architectures of lab-on-chip for biomedical applications

Abstract: The proposed work presented in this thesis concerns the design and the implementation of an original and innovative architecture of an active RF biosensor dedicated to microwave dielectric spectroscopy. The developed sensor is based on capacitive detection. It is able to detect, analyze and discriminate biological samples, such as cancer cells, suspended in a microfluidic channel, according to their dielectric properties. It is capable of measuring the existing differences between them with a very high sensitivity. A detection system, based on two LC injection locked oscillators (ILOs) operating at a frequency close to 5 GHz and integrated on a silicon substrate using a BiCMOS SiGe: C 0.25 μm technology, was designed. The concept was at the first validated with electrical and post-layout simulations. The detection system is capable of achieving, in low injection mode, the required performance regarding the detection sensitivity (in the order of 2 ppm), which makes it possible to detect and characterize with precision the dielectric properties of biological cells. A dedicated measurement bench have been developed once the prototype manufactured in order to characterize the circuit. Experiments have demonstrated that the proposed circuit presents promising measurement results with a good agreement with simulations. This demonstrates the high potential of the proposed approach, which make it possible to detect and measure differences between biological elements in a non-invasive way.

Keywords : RF biosensors, injection locked oscillator, BiCMOS, dielectric spectroscopy

