



HAL
open science

Caractérisation hyperfréquence par spectroscopie diélectrique de composés biologiques en environnement microfluidique

Houssein Mariam

► **To cite this version:**

Houssein Mariam. Caractérisation hyperfréquence par spectroscopie diélectrique de composés biologiques en environnement microfluidique. Optique / photonique. Université Paris-Est, 2020. Français. NNT : 2020PESC2046 . tel-03337220

HAL Id: tel-03337220

<https://theses.hal.science/tel-03337220v1>

Submitted on 7 Sep 2021

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 PARIS-EST

École Doctorale Mathématiques, Sciences et Technologies de l'Information et de la
Communication (MSTIC)

THÈSE

Pour obtenir le grade de :

Docteur de l'Université PARIS-EST

Spécialité : Électronique, optronique et systèmes (CNU 63)

Caractérisation hyperfréquences par spectroscopie diélectrique de composés biologiques en environnement microfluidique

Thèse soutenue publiquement le 16 Décembre 2020 par :

Houssein MARIAM

Directeur de thèse : **Olivier FRANCAIS**

Co-directrice de thèse : **Elodie RICHALOT**

Encadrants : **Hakim TAKHEDMIT, Patrick POULICHET**

Rapporteurs :

Cédric QUENDO Pr. à l'univ. de Bretagne Occidentale (Lab-STICC) (Président du Jury)

Hamid KOKABI Pr. à Sorbonne Université (GeePS)

Examineurs :

Claire DALMAY Maître de Conférences à l'université de Limoges (XLIM)

Florian KOLBL Maître de Conférences à l'université de Cergy-Pontoise (ETIS)

Elodie RICHALOT Professeure à l'université Gustave Eiffel (ESYCOM)

Olivier FRANÇAIS Professeur à l'ESIEE-Paris (ESYCOM)

Hakim TAKHEDMIT Maître de Conférences à l'UPEM (ESYCOM)

Patrick POULICHET Professeur Associé chez ESIEE-Paris (ESYCOM)

Invité

Frédérique DESHOURS Maître de Conférences à Sorbonne Université (L2E)

Je dédie cette thèse à celle qui a attendu avec impatience les fruits de sa bonne éducation ... à ma mère, à celui qui me montre le bon chemin en me rappelant que la volonté fait toujours de grands hommes ... à mon père, à mes frères et sœurs et à ma fiancée pour leur soutien tout au long de ces années et leur confiance en moi qui reste toujours ma source d'espoir pour continuer, en leur souhaitant des jours les plus beaux...

Remerciements

Le travail présenté dans ce mémoire a été réalisé au sein laboratoire d'Electronique, SYstèmes de Communications et Microsystèmes (ESYCOM, CNRS UMR 9007), commun à l'Université de Paris-Est Marne-la-Vallée (UPEM), à l'École Supérieure d'Ingénieurs en Electronique et Electrotechnique (ESIEE Paris) et au CNAM Paris, ESIEE-Paris, UPEM.

Avant toute considération scientifique, je me dois de remercier un certain nombre de personnes qui m'ont accompagné pendant ces trois dernières années.

En premier lieu, j'adresse mes sincères remerciements à mon Directeur de thèse, Directeur de la recherche de l'ESIEE-Paris Monsieur Olivier FRANÇAIS, ainsi qu'à ma co-directrice de thèse, Professeur à l'université Gustave Eiffel, Madame Elodie RICHALOT pour la confiance qu'ils m'ont accordée en acceptant de diriger et co-encadrer ce travail doctoral, pour leurs multiples conseils et pour toutes les heures qu'ils ont consacrées à diriger cette recherche.

J'exprime également ma profonde gratitude à mes encadrants, l'Enseignant-Chercheur à l'UPEM Monsieur Hakim TAKHEDMIT et le Professeur Associé chez ESIEE-Paris Monsieur Patrick POULICHET.

J'aimerais leur dire à quel point j'ai apprécié leur grande disponibilité et leur respect sans faille des délais serrés de relecture des documents que je leur ai adressés. Enfin, j'ai été extrêmement sensible à leurs qualités humaines d'écoute et de compréhension tout au long de ce travail doctoral. Je les remercie chaleureusement pour m'avoir aiguillé, soutenu et motivé tout au long de ces trois années. Par leur abnégation, leur patience et leur esprit objectif ainsi que pour l'approche physique des problèmes, ils sont à l'origine de bien des idées et des résultats présentés dans cet ouvrage. Je vous suis très reconnaissant de tous vos conseils avisés, votre soutien continu et votre encouragement.

Je tiens à exprimer ma profonde reconnaissance et mes sincères remerciements aux membres du jury qui ont accepté d'évaluer ce travail :

Je remercie Monsieur Hamid KOKABI, et Monsieur Cédric QUENDO d'avoir accepté de rapporter mes travaux et pour le temps qu'ils ont consacré à la lecture du manuscrit.

J'exprime également ma reconnaissance à Madame Claire DALMAY et à Monsieur Florian KOLBL pour leur participation au jury en tant qu'examineurs.

Je tiens à remercier aussi Monsieur Jean-Marc LAHEURTE, directeur de l'ESYCOM, pour m'avoir accueilli dans son laboratoire, et Madame Laurence LAYANI, la secrétaire de notre équipe qui contribue de façon importante au bon déroulement de notre vie au laboratoire.

Je remercie également Madame Frédérique DESHOURS qui a consacré beaucoup de temps pour m'accompagner lors des mesures sous pointes.

Je remercie l'ensemble du personnel du laboratoire ESYCOM de l'UPEM et de l'ESIEE-Paris, enseignants, chercheurs, personnels administratifs et techniques, et doctorants pour leur soutien moral ainsi que pour la chaleureuse ambiance qu'ils ont su créer.

Table des matières

Remerciements	i
Table des matières	iii
Introduction générale	1
1 Techniques de caractérisation hyperfréquence des matériaux diélectriques par ondes électromagnétiques	5
1.1 Les ondes électromagnétiques dans le domaine hyperfréquence	7
1.1.1 Utilisation des ondes EM dans le domaine médical	9
1.1.2 Effets possibles des rayonnements électromagnétiques micro-ondes sur les êtres vivants	11
1.1.3 Diagnostic des structures de génie civil par ondes EM	12
1.2 Spectroscopie diélectrique hyperfréquence	13
1.2.1 Notions fondamentales sur la polarisation des matériaux et les propriétés diélectriques	14
1.2.2 Phénomène de relaxation diélectrique	16
1.3 Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs macro	18
1.3.1 Ligne de transmission	18
1.3.2 Mesure en espace libre	19
1.3.3 Cavité résonante	20
1.3.4 Sonde coaxiale à extrémité ouverte	20
1.4 Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs micro	21
1.4.1 Les biocapteurs RF microfluidiques large bande	21
1.4.2 Les biocapteurs résonants	23
1.5 Technologies microfluidiques hyperfréquences pour la caractérisation diélectrique de cellules biologiques	25
1.6 Conclusion	31
1.7 Objectif de mon travail de thèse	32
2 Spectroscopie diélectrique hyperfréquence	41
2.1 Introduction	42
2.2 Sonde coaxiale à extrémité ouverte	43
2.3 Procédure d'extraction des paramètres du liquide à partir du coefficient de réflexion	47
2.3.1 Principe de cette méthode	47
2.3.2 Etape d'étalonnage	49

2.4	Résultats expérimentaux avec la sonde coaxiale	50
2.5	Fabrication en salle blanche	55
2.5.1	Elaboration du circuit HF	56
2.5.2	Elaboration du micro-canal microfluidique	60
2.5.3	Elaboration du piège mécanique	61
2.6	Dispositif d'adaptation aux connecteurs SMA	62
2.7	Dispositif expérimental pour la mesure sous pointes	64
2.8	Conclusion	65
3	Dispositifs miniaturisés pour la spectroscopie diélectrique hyperfréquence des milieux fluidiques	72
3.1	Introduction	74
3.2	Dispositifs d'extraction de paramètres diélectriques des milieux fluidiques	74
3.2.1	Technique réflectométrique	75
3.2.2	Technique en transmission	79
3.3	Dispositifs pour la mesure sous-pointes	80
3.4	Méthode de caractérisation des propriétés diélectriques à partir de S_{21} . .	82
3.4.1	Principe de fonctionnement	82
3.4.2	Etape de calibrage	85
3.5	Analyse des capteurs par simulations numériques	86
3.6	Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en réflexion	89
3.6.1	Mise en œuvre du capteur et mesures	90
3.6.2	Caractérisation sous-pointes	93
3.6.3	Influence des milieux de calibrage	95
3.6.4	Extraction des permittivités complexes des mélanges	97
3.7	Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en transmission	102
3.8	Conclusion et discussion	106
4	Méthode de de-Embedding destinée à la caractérisation diélectrique des milieux fluidiques	111
4.1	Introduction	112
4.2	Technique de de-embedding : principe et défis	113
4.3	Méthode de caractérisation de la permittivité diélectrique à partir de l'admittance du canal	116
4.4	Application de la méthode de de-embedding en mesure	121
4.5	Conclusion	131
5	Spectroscopie diélectrique hyperfréquence d'une cellule suspendue	135
5.1	Introduction	136
5.2	Biocapteur compatible avec l'analyse d'une cellule unique	138
5.2.1	Description du circuit HF	138
5.2.2	Dispositif de piégeage d'une cellule unique	140
5.3	Analyse des capteurs et caractérisation par simulation numérique	143
5.4	Expérimentations	157
5.5	Conclusion	168

Conclusion générale et perspectives	173
Table des figures	178
Liste des tableaux	186

Introduction générale

Ces dernières années, d'importants besoins dans les domaines de la biologie et de la médecine ont suscité un vif intérêt pour le développement de bio-capteurs. Ils permettent une analyse précise et rapide d'éléments biologiques qu'il s'agisse de milieux biologiques liquides (sang, urines...) ou des particules biologiques (cellules, bio-molécules, ADN...). Le domaine de la biologie cellulaire et moléculaire sont des domaines qui attendent beaucoup du développement de tels dispositifs. Dans ce contexte, différentes méthodes de bio-analyse ont donc été développées. Elles peuvent être essentiellement optiques, mécaniques, chimiques, enzymatiques ou électriques. Ces caractérisations d'échantillons de taille très réduite nécessitent le développement de nouveaux outils d'analyse et de diagnostic du vivant. Elles requièrent en effet des résolutions nanométriques à micrométrique pour être dans le même ordre de grandeur que les cibles biologiques visées, ce n'est pas sans poser des problèmes de sensibilité liée par la réduction du volume des échantillons, et ceci tout en cherchant à réduire les coûts et le temps d'analyse.

Les systèmes de bio-analyse par voie optique ont fait l'objet d'intenses recherches depuis déjà plusieurs années. Ils ont montré des performances intéressantes notamment avec la cytométrie en flux qui permet une analyse efficace des systèmes biologiques et qui est aujourd'hui une des techniques de caractérisation les plus utilisées dans les laboratoires de biologie. Ces systèmes présentent en revanche certains inconvénients comme leur complexité de mise en œuvre ainsi que le recours nécessaire à des biomarqueurs spécifiques qui peuvent influencer chimiquement l'entité biologique à analyser, de sorte que cette dernière peut difficilement être réutilisée après cette analyse pour des investigations supplémentaires par exemple.

En revanche, l'utilisation des techniques de la microélectronique dans le domaine des biocapteurs permet en particulier, d'envisager la production massive de capteurs rapides, fiables et faible coût. Le développement des capteurs électroniques RF miniaturisés connaît un intérêt croissant grâce notamment au développement de la microélectronique qui apporte de nouvelles possibilités et perspectives au domaine biomédical. Ces techniques permettent des mesures précises des propriétés de diverses substances et le développement d'outils d'analyse ne nécessitant pas le recours à des marqueurs spécifiques. En particulier, associée à l'utilisation des hautes fréquences, cette technologie permet la miniaturisation des biocapteurs qui atteignent des sensibilités compatibles avec une analyse à l'échelle de la cellule unique, et notamment l'interrogation et l'analyse du contenu intracellulaire. Ce dernier point représente aujourd'hui un enjeu majeur dans la compréhension de nombreux phénomènes biologiques tels que l'apoptose cellulaire (mort cellulaire) ou encore le développement de cancers sans avoir recours à un marquage des cellules. En parallèle, le développement de la technologie microfluidique présente l'intérêt de s'adapter à des structures miniatures. En particulier, l'intégration de fonctionnalités microfluidiques sur des circuits électroniques RF permet de travailler avec des petits volumes d'échan-

tillons circulant dans des canaux de taille micrométrique voire nanométrique et donc à l'échelle des cibles biologiques visées. Aussi, le couplage entre des réseaux microfluidiques et des capteurs exploitant les ondes électromagnétiques permet d'effectuer des analyses non invasives sur des cellules biologiques en milieu liquide tout en minimisant la perturbation introduite par le liquide sur la réponse RF du dispositif. Cette technique permet d'extraire les propriétés diélectriques internes des particules et permet d'envisager de travailler à l'échelle de la cellule unique pour des études statistiques. Il en résulte le développement de systèmes de mesure sur des cellules vivantes en suspension dans leur milieu de culture, et de suivi en quasi temps réel, des processus biologiques mal connus. Il est donc possible, grâce aux ondes RF, de pénétrer et d'imaginer le milieu intracellulaire d'une cellule pour étudier les propriétés diélectriques et enfin il est possible de tendre vers des systèmes d'analyse complets et portables.

L'exploitation des ondes électromagnétiques hyperfréquences est en effet judicieuse à bien des égards pour l'analyse de milieux biologiques. Dans ce contexte, nous avons développé une méthode de caractérisation basée sur l'interaction des cellules avec des ondes électromagnétiques. Elles s'appuie sur une zone dite d'analyse où un canal microfluidique assure le passage des cellules biologiques ciblées. De nombreuses techniques, résonantes ou large bande, permettent l'analyse des propriétés diélectriques des cellules. Mes travaux de thèse concernent le développement et l'optimisation de biocapteurs pour l'analyse de liquides ainsi que de solutions cellulaires, sensibles et miniaturisé, basés sur une méthode de détection électrique et capables de fonctionner aux fréquences RF et micro-ondes. Ces gammes de fréquences sont d'un grand intérêt, car les ondes peuvent traverser la membrane cellulaire pour sonder le contenu intracellulaire. Les propriétés diélectriques sont informatives sur la nature de la cellule ainsi que sur de nombreux paramètres biologiques (comme par exemple son état pathologique ou encore son stade de différenciation). Combinées aux micro-technologies, elles permettent aussi d'obtenir des dispositifs d'analyse de taille très réduite pour être compatible avec la taille d'une cellule unique et ainsi atteindre une sensibilité accrue au niveau de la cellule.

En particulier, le principe de bio-détection mis à profit dans le cadre de cette thèse, repose sur l'utilisation de dispositifs planaires, large bande et basés sur une détection capacitive par nature très sensible à de petites variations de paramètres.

Dans ce mémoire, nous allons tout d'abord présenter un état de l'art des techniques hyperfréquences pour l'analyse des matériaux diélectriques ainsi que pour l'analyse des propriétés physiques des cellules biologiques.

Nous introduirons également les notions fondamentales sur la spectroscopie diélectrique hyperfréquence, les matériaux, les propriétés diélectriques et les phénomènes de relaxation et de polarisation associés, ainsi que sur les modèles empiriques permettant de décrire ces phénomènes.

Ce manuscrit est organisé en cinq chapitres :

Le premier chapitre permet de définir le contexte de notre travail de thèse. Nous verrons, dans une première partie, la définition de l'onde électromagnétique et ses applications dans les différents domaines ainsi que la méthode de spectroscopie diélectrique hyperfréquence. La seconde partie est consacrée à présenter les différentes technologies microfluidiques hyperfréquences qui sont actuellement utilisées pour la caractérisation diélectrique de matériaux et de cellules biologiques. Ces méthodes seront décrites afin de distinguer leur principe de fonctionnement, leur domaine de validité diélectrique, leur précision de caractérisation de la permittivité diélectrique et de la tangente de pertes et

surtout les conditions nécessaires imposées sur les échantillons à caractériser.

Le deuxième chapitre de ce manuscrit présentera la technique de caractérisation hyperfréquence par spectroscopie diélectrique ainsi que les mesures de milieu liquide effectuées à l'aide d'une sonde coaxiale à extrémité ouverte. Ces mesures nous permettent, combinées à des données expérimentales issues de la littérature, de caractériser les propriétés diélectriques de matériaux. La deuxième partie de ce chapitre sera dédiée aux différents procédés de fabrication des microcomposants retenus afin de mener à bien des mesures hyperfréquences de milieux fluidiques, réalisés au sein de la plateforme technologique d'ESIEE-Paris. Ces micro-dispositifs d'analyse d'échantillons à l'échelle micrométrique, visant ici des applications dans les domaines biologique et médical, sont aussi connus sous le nom de « Lab-on-chip » ou laboratoire sur puce.

Le troisième chapitre présente les composants et les techniques développées pour appliquer la spectroscopie diélectrique hyperfréquence de liquides. Les volumes de liquide seront à l'échelle du sub-nanolitre (assurant une forte miniaturisation des volumes d'analyse) et pourront contenir des cellules biologiques vivantes dans leur milieu de culture. Il retrace ainsi les étapes de conception et caractérisation de biocapteurs hyperfréquences large bande pour l'analyse diélectrique de solutions aqueuses. Une partie de ce chapitre présentera une nouvelle technique de caractérisation hyperfréquence en large bande par une spectroscopie diélectrique. Nous présenterons également nos différents résultats expérimentaux obtenus avec des fluides. Les structures proposées nous permettent de mesurer la permittivité large bande avec une haute sensibilité.

Le quatrième chapitre est dédié à la caractérisation expérimentale et à la modélisation électromagnétique de dispositifs passifs intégrés ainsi que des interconnexions associées, afin de pouvoir, via un procédé d'épluchage ou de « de-embedding », extraire l'admittance complexe du matériau cible à partir des paramètres S mesurés. Ce procédé permet d'éliminer des résultats de la mesure sous-pointes l'effet des transitions jusqu'à la zone sensible. Ce procédé est décrit en détail dans ce chapitre. Les résultats expérimentaux obtenus par ce procédé d'extraction sont confrontés à ceux obtenus par modélisation électromagnétique à l'aide du logiciel commercial HFSS d'Ansys afin de les valider et les utiliser dans la suite de nos travaux.

Le dernier chapitre propose des capteurs dédiés à la spectroscopie diélectrique hyperfréquence opérant au niveau de la cellule unique, pour permettre à terme l'analyse et le suivi des effets intracellulaires de l'électroporation sur des cellules vivantes dans leur milieu de culture et ceci sur une large bande fréquentielle. Nous présentons de manière plus détaillée les méthodes d'analyse des propriétés des cellules ainsi que la performance du biocapteur en fonction du couplage électromagnétique avec la particule dans la zone d'analyse. Ces études préliminaires nous permettent de mieux comprendre et prédire le comportement du capteur une fois réalisé le piégeage d'une particule dans la zone sensible.

1

Techniques de caractérisation hyperfréquence des matériaux diélectriques par ondes électromagnétiques

*Techniques de caractérisation hyperfréquence des matériaux
diélectriques par ondes électromagnétiques*

Sommaire

1.1	Les ondes électromagnétiques dans le domaine hyperfréquence . . .	7
1.1.1	Utilisation des ondes EM dans le domaine médical	9
1.1.2	Effets possibles des rayonnements électromagnétiques micro- ondes sur les êtres vivants	11
1.1.3	Diagnostic des structures de génie civil par ondes EM	12
1.2	Spectroscopie diélectrique hyperfréquence	13
1.2.1	Notions fondamentales sur la polarisation des matériaux et les propriétés diélectriques	14
1.2.2	Phénomène de relaxation diélectrique	16
1.3	Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs macro	18
1.3.1	Ligne de transmission	18
1.3.2	Mesure en espace libre	19
1.3.3	Cavité résonante	20
1.3.4	Sonde coaxiale à extrémité ouverte	20
1.4	Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs micro	21

1.4.1	Les biocapteurs RF microfluidiques large bande	21
1.4.2	Les biocapteurs résonants	23
1.5	Technologies microfluidiques hyperfréquences pour la caractérisation diélectrique de cellules biologiques	25
1.6	Conclusion	31
1.7	Objectif de mon travail de thèse	32

L'accès aux caractéristiques des cellules biologiques, et notamment au niveau de la cellule unique [1] est d'une importance primordiale et a conduit au développement d'outils performants d'analyse à l'échelle cellulaire et moléculaire. Ceux-ci sont néanmoins pour une large majorité invasifs et nécessitent des méthodes de marquage avec des fluorochromes, qui peuvent induire des modifications cellulaires et donc des observations erronées ou indésirables. Le développement de nouveaux instruments d'analyse cellulaire et moléculaire non invasifs représente par conséquent un défi important et attrayant pour les chercheurs avec des applications en biochimie, biologie et sciences biomédicales.

La caractérisation de matériaux en spectroscopie diélectrique par réflectométrie fréquentielle est un procédé connu qui permet la caractérisation de milieux homogènes, inhomogènes et/ou poreux (béton, milieux biologiques, ...). Plusieurs technologies sont présentées dans la littérature, chaque technologie se basant sur une méthode d'analyse différente opérée sur une bande de fréquence définie et une zone sensible spécifique (volume d'analyse) [2–4].

Les travaux présentés dans ce manuscrit s'inscrivent dans le cadre de la caractérisation diélectrique des cellules biologiques dans leur milieu de culture, avec l'objectif d'opérer à l'échelle de la cellule unique. Pour cela, l'extraction de la permittivité diélectrique complexe se fait par la méthode de spectroscopie diélectrique hyperfréquence. Dans ce contexte nous nous sommes attardés sur l'interaction des ondes électromagnétiques avec des milieux biologiques fluides afin de réaliser des biocapteurs de caractérisation hyperfréquence large bande.

Nous allons tout d'abord, au travers de ce premier chapitre, introduire et discuter les méthodes et les instruments les plus couramment utilisés dans le domaine de la caractérisation diélectrique hyperfréquence. Pour introduire la méthode de caractérisation diélectrique, qui fera l'objet des travaux présentés dans les chapitres suivants, nous allons d'abord présenter les différentes méthodes de caractérisation qui ont été développées ou qui sont actuellement utilisées pour aborder leurs avantages et inconvénients.

Pour bien appréhender le contexte de notre étude, nous détaillerons le principe de mesure des propriétés diélectriques HF d'un matériau. Nous étudierons les comportements des paramètres diélectriques en fonction de la fréquence. Une partie de ce chapitre sera donc consacrée à la présentation générale des matériaux diélectriques et des phénomènes de relaxation et de polarisation associés.

Enfin, nous présenterons un état de l'art des dispositifs développés pour la caractérisation hyperfréquence des propriétés diélectriques des matériaux, en commençant par les structures macroscopiques avant de nous focaliser sur les structures microfluidiques et, pour finir, sur celles dédiées à la caractérisation de cellules biologiques.

1.1 Les ondes électromagnétiques dans le domaine hyperfréquence

Une onde électromagnétique (EM) est le résultat de la vibration couplée d'un champ électrique et d'un champ magnétique variables dans le temps. Elle est susceptible de se propager dans l'air comme dans le vide à une vitesse constante ($c = 3.10^8 \text{ m.s}^{-1}$: vitesse de la lumière dans le vide). L'onde électromagnétique se propage aussi dans la matière

sans modifier de façon permanente ses propriétés et est capable de transporter des informations. Les variations du champ électrique et du champ magnétique sont liées par les équations de Maxwell [5].

Les ondes électromagnétiques sont classées en fonction de leur longueur d'onde dans le vide ou de leurs fréquences (Fig. 1.1). Elles sont caractérisées par leur période T ou leur fréquence f . Leur longueur d'onde est définie par la distance parcourue par l'onde pendant une période T à la vitesse v :

$$\lambda = vT = \frac{v}{f} \quad (1.1)$$

En revanche, la longueur d'onde dépend des conditions de propagation (vitesse de propagation).

Les ondes électromagnétiques occupent l'univers entier et cela a été découvert par les physiciens américains R. W. Wilson et A. A. Penzias en 1964 [6–8]. Elles sont omniprésentes dans le monde actuel des communications et de la haute technologie [9, 10]. Elles sont utilisées dans la transmission des données [11] et dans les domaines militaires [12], médical [13], de l'instrumentation scientifique [14, 15] (résonance de spin électronique, ESR en anglais/spectroscopie de résonance ferromagnétique, FMR en anglais), des radars ou encore des satellites ... Elles sont présentes dans de nombreux secteurs industriels telles que l'automobile, le traitement informatique ou encore l'instrumentation hyperfréquence [16–20]. Par ailleurs, le traitement de signaux hyperfréquences dans la gamme de 5 à 50 GHz est exploité pour des applications de sécurité, militaires et de communication [20, 21]. Ces ondes jouent déjà un rôle important dans le développement des villes intelligentes avec les transports intelligents, l'énergie intelligente, les soins médicaux intelligents [22].

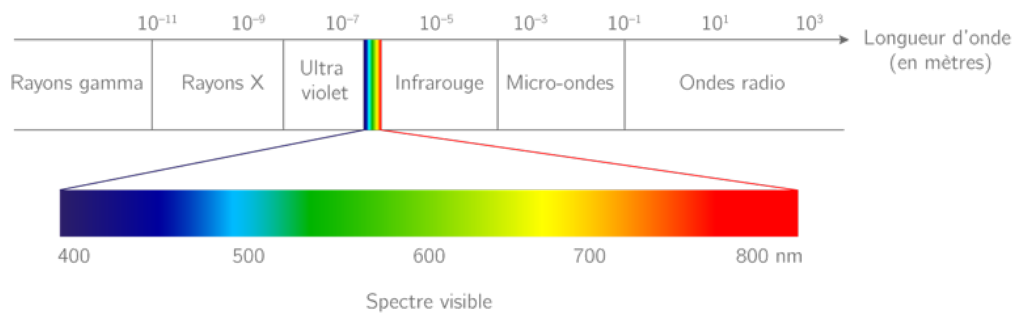


Figure 1.1 – Les différentes bandes du spectre électromagnétique.

La Fig. 1.1 montre un spectre électromagnétique avec la définition de ses différentes bandes. La Fig. 1.2 montre des exemples emblématiques de certaines des applications modernes des micro-ondes.

Les micro-ondes correspondent à des longueurs d'ondes approximativement dans la gamme de 1 mètre (300 MHz) à 1 millimètre (300 GHz), c'est-à-dire inférieures à celles du spectre radiofréquence.

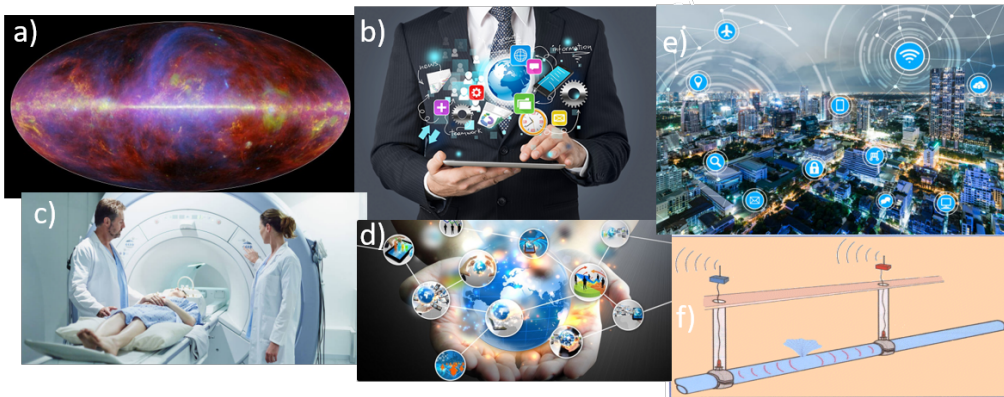


Figure 1.2 – Les micro-ondes dans le spectre électromagnétique vont de 300 MHz (1m) à 300 GHz (1mm) [8]. Des micro-ondes sont présentes dans : (a) l'univers entier, une vue micro-ondes capturée par le satellite Planck de l'Agence spatiale européenne [23]; b) la technologie numérique [24, 25]; c) l'utilisation biomédicale [26]; d) les télécommunications; e) le développement des villes intelligentes [22] et f) l'infrastructure et réseaux, détection de fuite, etc.

1.1.1 Utilisation des ondes EM dans le domaine médical

Sur la Fig. 1.3, nous montrons, à titre d'illustration, l'une des applications des ondes électromagnétiques supports des signaux entrant et sortant de capteurs magnétiques à micro-fils implantés chez des patients afin de suivre la récupération postopératoire suite à une opération chirurgicale [13].

Le champ électromagnétique rayonné traverse les tissus et est diffracté par l'implant, à savoir un fil, un film ou une tige. Une partie du champ diffracté est détectée par le récepteur où l'information est alors traitée. Ce principe est également utilisé dans les sciences de l'atmosphère [25] et dans les radars à canon pour détecter des objets rapides.

Une deuxième application des ondes électromagnétiques dans le domaine médical est l'imagerie par résonance magnétique (IRM) présentée sur la Fig. 1.4. C'est une technique d'imagerie médicale qui repose sur le couplage entre le moment magnétique du noyau atomique et le champ magnétique statique (B_0) extérieur. Elle est non-invasive, indolore, fiable et permet d'obtenir des vues en 2D et 3D de l'ensemble des tissus du corps humain tout en permettant de traduire les propriétés tissulaires à partir du spectre chimique. Ce procédé d'imagerie repose sur un certain nombre de mécanismes de contraste qui reflètent, quoique de manière très compliquée, les propriétés microscopiques des tissus.

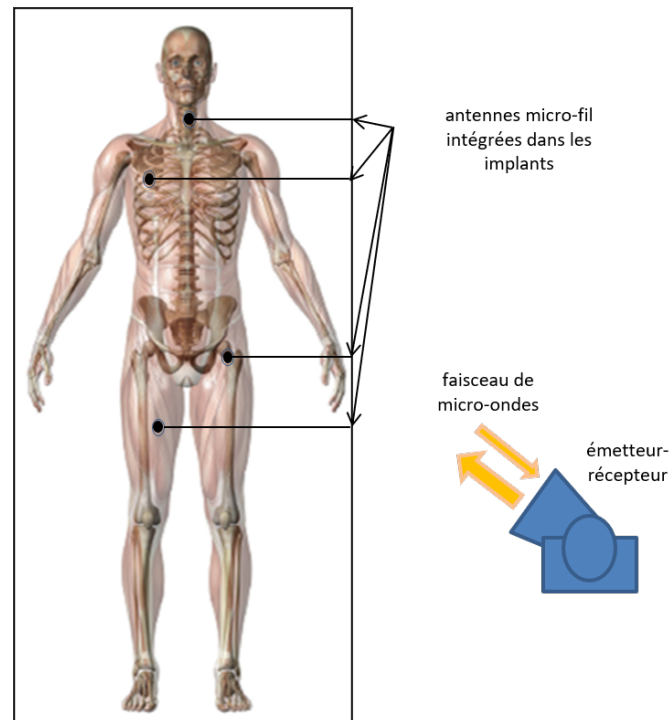


Figure 1.3 – Les micro-ondes pour interroger les capteurs magnétiques à micro-fils implantés chez les patients afin de suivre la récupération postopératoire [13]. L'émetteur-récepteur abrite à la fois la source et le détecteur micro-ondes.

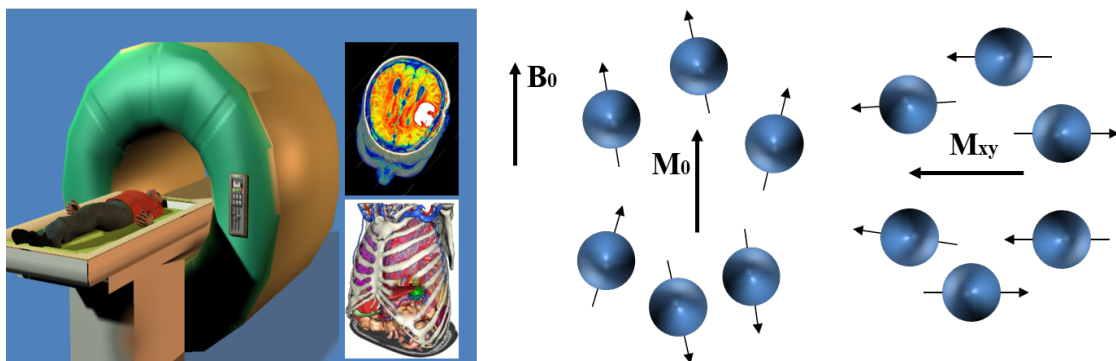


Figure 1.4 – Imagerie médicale par IRM (gauche), Résonance de spins de protons en présence du champ magnétique externe (droite).

Cette technique est basée sur l'observation de la résonance magnétique nucléaire (RMN) des protons de l'eau qui constitue environ 70% du corps humain (en masse). En effet, le proton H^+ est naturellement abondant dans l'eau et très sensible à la RMN. Le proton est l'atome stable présentant le plus grand moment magnétique. L'intensité du signal observé va donc dépendre de la concentration en eau dans le corps du patient et aussi du temps de relaxation des spins nucléaires.

Les micro-ondes sont également utilisées pour traiter des tumeurs cancéreuses. En effet, l'application de champs électriques modifie la perméabilité des membranes plasmiques de cellules biologiques ce qui peut grandement faciliter la pénétration de molécules anticancéreuses à l'intérieur des cellules [27, 28].

Nous allons, grâce à la micro-électronique et aux micro-technologies, mettre à profit

ces propriétés des signaux micro-ondes pour concevoir des biocapteurs miniaturisés permettant l'analyse cellulaire par spectroscopie diélectrique micro-ondes. Nous mettrons ainsi au point une méthode ne nécessitant pas le recours à des marqueurs et permettant de sonder le contenu intra cellulaire, par des ondes électromagnétiques afin d'en extraire des informations sur le type cellulaire étudié, ainsi que sur son état pathologique.

1.1.2 Effets possibles des rayonnements électromagnétiques micro-ondes sur les êtres vivants

Les rayonnements micro-ondes présentent des risques potentiels sur la santé des êtres vivants qui sont exposés à des niveaux variables de champs électromagnétiques radiofréquences. Les dangers varient selon la distance des antennes émettrices (Fig. 1.5), la présence de réémetteurs (structures métalliques, bâtiments...), le nombre de communications de la station et la position de l'utilisateur par rapport à l'orientation de l'antenne.

Les structures biologiques (crâne, organes, cellules, molécules) exposées aux micro-ondes peuvent entrer en résonance avec des fréquences particulières lorsque leur taille approche la moitié de la longueur de l'onde incidente. Les longueurs d'onde des systèmes cellulaires de téléphonie (12 à 37 cm) sont de l'ordre de grandeur des structures biologiques et, par conséquent, sont capables d'exercer des influences sur les organismes vivants. De subtils changements dans la conformation de l'architecture moléculaire peuvent être provoqués par l'énergie absorbée ce qui provoque des altérations biochimiques par détérioration de l'activité enzymatique [29].

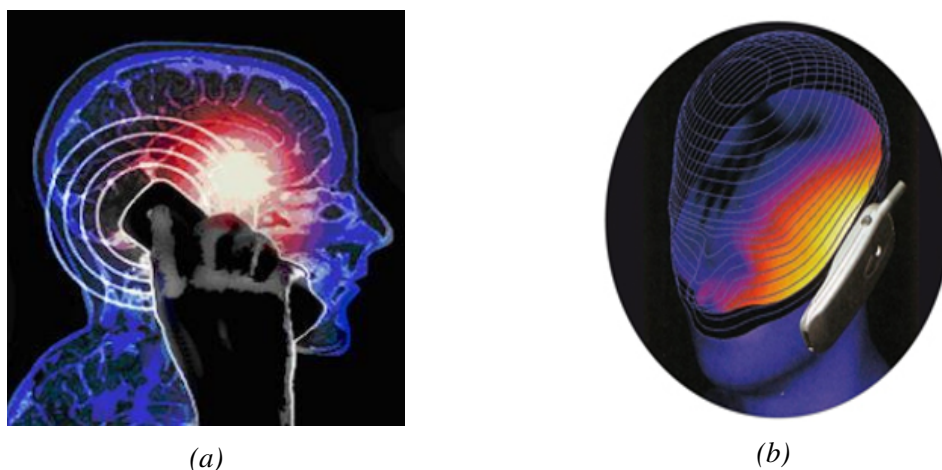


Figure 1.5 – Rayonnements émis lors de l'utilisation d'un téléphone portable, (b) Augmentation de température marquée près de la zone où la personne tient son portable.

Les champs électromagnétiques à haute fréquence ont donc des conséquences potentielles sur la santé. Les effets sur l'organisme pourraient être l'altération des systèmes nerveux et endocrinien, l'échauffement des tissus biologiques, les troubles visuels, etc. Les micro-ondes émises par le portable pourraient donc avoir des effets négatifs à long terme sur le système nerveux [30,31] et sur la fonction cognitive [32], de même que sur le sommeil [33] et la réplique électrique cérébrale (Electroencéphalogramme (EEG) [34,35]. Ces ondes pourraient provoquer des céphalées et d'autres altérations du système nerveux chez l'homme.

De plus, les micro-ondes, ont pour particularité d'être absorbées par les molécules d'eau qui composent environ 70% du corps humain et notre cerveau baignant dans le liquide cébro-spinal est lui-même composé à 99% d'eau. Lors de cette absorption, les liaisons hydrogènes des molécules d'eau s'agitent ce qui produit un échauffement. Pour information, le portable ne possède aucun élément pour protéger l'utilisateur des ondes émises et il reçoit par conséquent directement les ondes.

La Fig. 1.5b montre l'intérieur de la tête d'un individu en train de téléphoner. On remarque une augmentation de température marquée près de la zone où la personne tient son portable, qui est de plus en plus faible en s'éloignant de cette zone. Ainsi, on estime que lors d'un appel téléphonique d'une demi-heure, la température du cerveau augmente localement de 2 à 3 degrés Celsius. Cependant, notre cerveau est protégé par le cortex qui peut absorber une augmentation de température de 1 degré.

Dans les études traitant des effets des rayonnements de téléphonie sur les êtres vivants, il est nécessaire de tenir compte des caractéristiques techniques de sources de rayonnement (puissance, rendement, fréquences et intensités), de leur hauteur par rapport au sol, de la distance et la hauteur à laquelle se trouve l'être vivant et de la topographie locale. L'indice de débit d'absorption spécifique (DAS) (ou Specific Absorption Rate (SAR) en anglais) est un indicateur permettant de mesurer la quantité d'énergie rayonnée absorbée par le corps lors de l'utilisation d'un téléphone mobile ou d'un appareil radioélectrique. L'indice DAS maximal autorisé en Europe est limité à 2 W/kg. Le débit d'absorption spécifique DAS se calcule à partir de l'élévation de température dT/dt dans les tissus : $DAS = c_i \frac{dT}{dt}$ où c_i représente la capacité thermique du tissu en J/(kg.K).

1.1.3 Diagnostic des structures de génie civil par ondes EM

Il existe également un grand nombre d'utilisations des ondes électromagnétiques pour le diagnostic dans le domaine du génie civil, des infrastructures et des réseaux de distribution comme le montre la Fig. 1.6 : caractérisation hydrique de bétons par méthodes électromagnétiques par exemple, suivi de l'évolution de la corrosion et détection des dégradations dans le béton, étude de la corrosivité des sols, imagerie des systèmes racinaires dans les ouvrages hydrauliques, etc. D'autres applications des ondes électromagnétiques en génie civil visent essentiellement à détecter des cavités [36], la délamination dans les tabliers de ponts [37, 38], la localisation de canalisations [39], à mesurer la profondeur d'armatures [40–42], l'épaisseur des dalles et des éléments en béton, l'épaisseur de la couche de roulement des chaussées [38] et à déterminer la teneur en eau et en chlorures dans le béton et le mortier [43, 44].

Suivant les matériaux, les ondes électromagnétiques sont réfléchies, transmises ou absorbées différemment. Leurs propriétés en réflexion et/ou en transmission peuvent alors fournir des informations sur les milieux rencontrés.

Dans cette partie de ce chapitre nous présentons des méthodes qui ont été proposées pour la caractérisation des matériaux diélectriques dans la bande ISM (industriel, scientifique et médical). Les paragraphes suivants décrivent plus en détail ces différentes techniques de mesure des propriétés diélectriques. Il est introduit le phénomène de relaxation diélectrique avec le concept de permittivité complexe et son comportement fréquentiel, qui rend compte de l'énergie absorbée par le matériau.

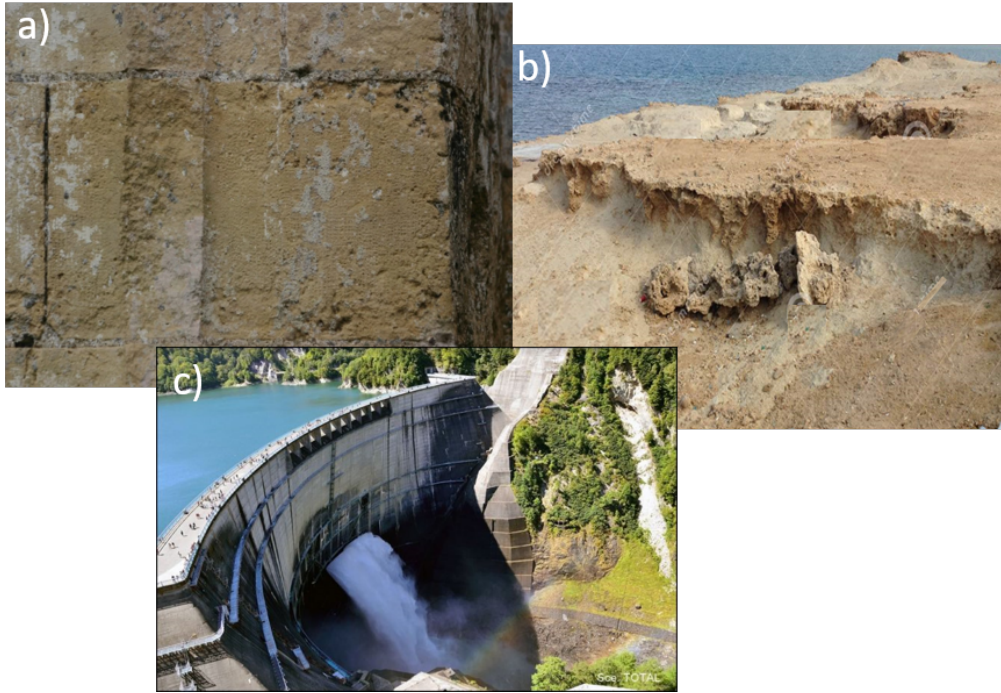


Figure 1.6 – Application des micro-ondes dans le domaine du génie civil et de l'infrastructure et réseau : a) La corrosion de béton, b) La corrosivité des sols, c) Les ouvrages hydrauliques.

1.2 Spectroscopie diélectrique hyperfréquence

La caractérisation des matériaux par onde électromagnétique, à l'exception des méthodes résonantes, se base sur l'analyse de l'onde réfléchie sur l'objet et/ou de l'onde transmise au travers de ce dernier. Le principe de base de la réflectométrie peut être compris facilement en considérant le cas canonique de la réflexion d'une onde plane sur un milieu semi-infini à caractériser (Fig. 1.7); les coefficients de réflexion et de transmission sont dans ce cas connus de façon analytique (coefficients de Fresnel) et s'écrivent en fonction de la permittivité ϵ^* du milieu ainsi que de l'angle d'incidence et de la polarisation de l'onde incidente. Ainsi, les coefficients de réflexion s'écrivent suivant la polarisation TE ou TM de l'onde incidente :

$$R_{TE} = \frac{\sqrt{\epsilon_0} \cos \theta_i - \sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_t}{\sqrt{\epsilon_0} \cos \theta_i + \sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_t} \quad (1.2)$$

et

$$R_{TM} = \frac{\sqrt{\epsilon_0} \cos \theta_t - \sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_i}{\sqrt{\epsilon_0} \cos \theta_t + \sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_i} \quad (1.3)$$

où l'angle de transmission t est donné par [45] :

$$\sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_t - \sqrt{\epsilon_0} \sin \theta_i \quad (1.4)$$

$$\sqrt{\epsilon^*} \cos \theta_r - \sqrt{\epsilon_0} \sin \theta_i \quad (1.5)$$

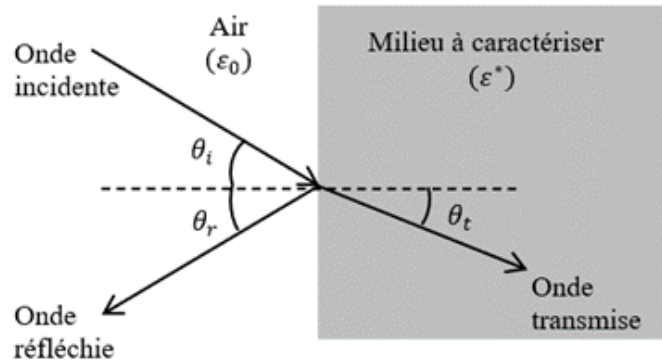


Figure 1.7 – Illustration du mécanisme fondamental de la réflectométrie : réflexion d'une onde plane à l'interface entre l'air et un milieu diélectrique semi-infini.

La Fig. 1.7 montre qu'il y a une relation entre les différences de permittivité air et milieu à caractériser- et la réflexion du champ électromagnétique. Toute nos mesures seront basées sur la détermination de la permittivité à déterminer d'après l'onde réfléchie ou transmise.

La spectroscopie diélectrique est une technique de mesure permettant de caractériser l'interaction entre un champ électrique et les échantillons en fonction de la fréquence. Elle est basée sur la détermination de la permittivité complexe. Elle permet de fournir des informations sur la composition interne de la matière. Elle présente certains avantages par rapport à d'autres méthodes comme l'analyse optique ou chimique : elle est rapide, facile à mettre en œuvre, nécessite peu ou pas de préparation de l'échantillon et elle peut être non destructive et/ou peu destructive. Le phénomène résultant, à savoir la polarisation de la matière, peut s'exprimer au moyen de la permittivité complexe en fonction de la fréquence, qui caractérise les fluctuations de densité de charges dans la matière.

1.2.1 Notions fondamentales sur la polarisation des matériaux et les propriétés diélectriques

Les matériaux qui nous entourent peuvent être regroupés en isolant (i.e. diélectrique), conducteur et semi-conducteur. Lorsqu'on applique un champ électromagnétique à un matériau diélectrique polarisable mais initialement neutre (sans orientation préférentielle), ce champ oriente les dipôles suivant sa direction et on parle alors de polarisation (Fig. 1.8). Cette polarisation met en jeu plusieurs phénomènes de natures différentes : réorientation des molécules (polarisation dipolaire ou dite d'orientation), leur déplacement (polarisation atomique ou ionique) ou la déformation du nuage électronique de chaque atome (polarisation électronique).

La somme des polarisations de chacune des entités du matériau (molécules, atomes et électrons) représente sa polarisation totale. Les trois catégories de mécanisme de polarisation qui interviennent sous l'effet d'un champ électrique sont :

- La polarisation électronique, toujours présente quel que soit l'état du matériau (solide, liquide ou gazeux), résulte de la déformation du nuage électroniques et est habituellement établie à des temps très courts ($\sim 10^{-15}$ s) soit des fréquences très élevées (PHz)

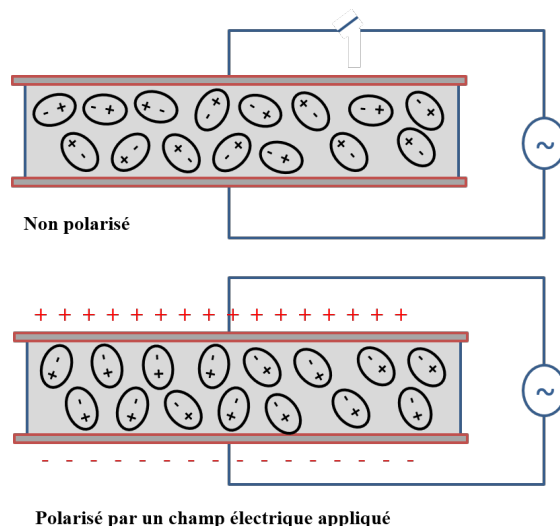


Figure 1.8 – Polarisation d'un milieu diélectrique par un champ électrique.

- La polarisation atomique est due aux déplacements atomiques au sein d'une molécule par rapport à leur position d'équilibre. Cette polarisation a aussi un temps d'établissement très rapide ($\sim 10^{-13}$ à $\sim 10^{-12}$ s) avec des gammes de fréquence de l'ordre du THz.
- La polarisation dipolaire ou dite d'orientation résulte des réorientations des molécules qui possèdent un moment dipolaire permanent. Ces molécules ont tendance à s'orienter suivant le sens du champ électrique appliqué. Cette polarisation est fortement dépendante de la température. En raison de la grande diversité des dipôles impliqués et de leur environnement moléculaire, le temps d'orientation de ces dipôles est beaucoup plus important que dans les deux cas précédents ($\sim 10^{-9}$ à $\sim 10^{-5}$ s) ce qui est associé à des fréquences de l'ordre du GHz.

Dans l'approximation linéaire, la polarisation macroscopique de l'échantillon diélectrique quantifie l'impact du phénomène de polarisation sur la réponse électromagnétique des matériaux et est proportionnelle à l'intensité du champ électrique externe appliqué \vec{E} [46] :

$$\vec{P} = \chi_e \varepsilon_0 \vec{E} \quad (1.6)$$

Où χ_e et ε_0 sont des constantes représentant respectivement la susceptibilité du matériau et la permittivité du vide ($\varepsilon_0 = 8,85418782 * 10^{-12} \text{Fm}^{-1}$)

La superposition de la polarisation au champ électrique se quantifie par le champ de déplacement électrique \vec{D} induit par la polarisation qui vaut :

$$\vec{D} = \varepsilon_0 \vec{E} + \vec{P} = \varepsilon_0 (1 + \chi_e) \vec{E} \quad (1.7)$$

Cette relation montre comment le champ électrique appliqué \vec{E} induit un champ de déplacement électrique \vec{D} proportionnel ainsi qu'un courant dit de déplacement \vec{J}_D ($\frac{d\vec{D}}{dt}$) et fonction de la nature du matériau étudié. Ce coefficient de proportionnalité nous permet d'introduire une quantité adimensionnelle caractérisant le matériau interagissant avec le champ électrique qui se nomme permittivité relative ε_r du matériau :

$$\varepsilon_r = \frac{\varepsilon}{\varepsilon_0} = (1 + \chi_e) = 1 + \frac{\vec{P}}{\varepsilon_0 \vec{E}} \quad (1.8)$$

La permittivité diélectrique relative, définie comme le rapport de la permittivité du matériau à celle du vide, résume à elle seule la réponse du matériau au champ électrique. Traditionnellement, elle est également appelée constante diélectrique, car en régime linéaire, elle est indépendante de l'intensité du champ. Cependant, elle peut être fonction de nombreuses autres variables. Par exemple, pour les champs variables dans le temps, elle dépend de la fréquence du champ électrique appliqué, de la température de l'échantillon, de la densité de l'échantillon (ou de la pression appliquée à l'échantillon), de la composition chimique de l'échantillon, etc.

C'est de là que vient le principe de la spectroscopie diélectrique des matériaux. Nous allons voir dans les paragraphes suivants que la mesure de cette quantité complexe (la permittivité relative complexe) est la signature électrique que nous cherchons à obtenir pour les matériaux biologiques à analyser.

1.2.2 Phénomène de relaxation diélectrique

La relaxation diélectrique se définit comme le retard entre le champ appliqué et l'effet de la polarisation. Elle se mesure par le temps de relaxation τ_r qui s'écrit :

$$\tau_r = \frac{1}{2\pi f_r} \quad (1.9)$$

où f_r est la fréquence de relaxation.

Ce phénomène de relaxation diélectrique se modélise par une dépendance en fréquence de la permittivité complexe du matériau décrite par l'équation suivante :

$$\varepsilon_r^*(f) = \varepsilon'(f) - j\varepsilon''(f) \quad (1.10)$$

où ε' et ε'' représentent respectivement la permittivité relative et les pertes diélectriques du matériau.

La Fig. 1.9 présente l'évolution de la permittivité complexe en fonction de la fréquence et met en évidence les différents mécanismes de relaxation des matériaux diélectriques. Il existe certaines fréquences où de nombreux dipôles subissent une perte importante de leur mobilité, entraînant un changement notable de la valeur de permittivité. La partie réelle de la permittivité affichera une diminution soudaine et la partie imaginaire augmentera. Ces changements sont connus sous le nom de relaxation diélectrique dipolaire pour le premier pic représenté ici. Nous constatons que ε' est presque constant au-dessous de la relaxation, une transition se produisant à proximité de la fréquence de relaxation. En outre, les pertes diélectriques (ε'') sont faibles au-dessus et au-dessous de la fréquence de relaxation où un maximum apparaît, image de la résonance du phénomène.

Dans la littérature, plusieurs modèles de relaxation sont proposés. Le plus connu est le modèle de « relaxation de Debye » qui permet une description empirique du comportement de la partie réelle ε' et de la partie imaginaire ε'' de la permittivité complexe ε_r^* [48, 49] :

$$\varepsilon_r^*(f) = \varepsilon_\infty + \frac{\varepsilon_s - \varepsilon_\infty}{1 + j\frac{f}{f_r}} \quad (1.11)$$

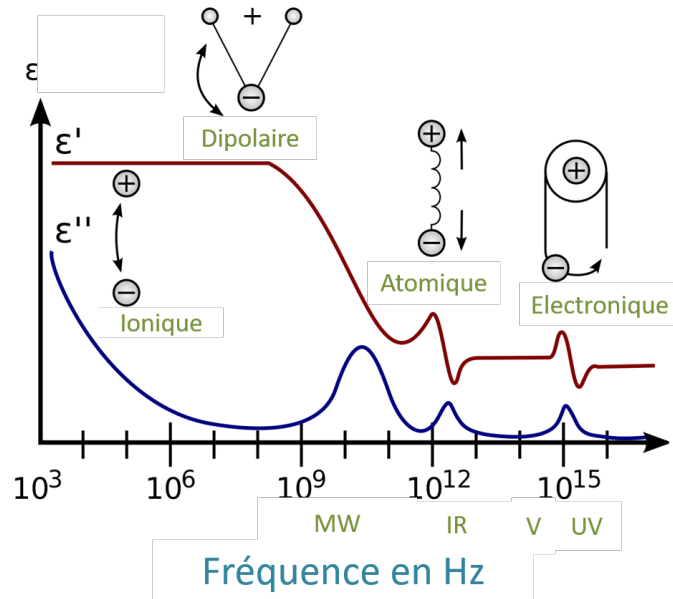


Figure 1.9 – Evolution de la permittivité complexe en fonction de la fréquence [47].

où ε_∞ et ε_s correspondent respectivement aux permittivités aux fréquences hautes et basses vis-à-vis de la fréquence de relaxation f_r .

Dans la gamme de fréquence utilisée dans ce travail, du Mégahertz jusqu'à la dizaine de Gigahertz, c'est la polarisation dipolaire qui opère principalement. La Fig. 1.10 suivante présente le modèle théorique pour la permittivité complexe d'un milieu quelconque dans la bande fréquentielle micro-onde. Dans ce cas, le Tab. 1.1 présente les valeurs des permittivités et des fréquences de relaxation du modèle de Debye de l'eau déionisée, du méthanol et de l'éthanol à 25 °C [50, 52, 52].

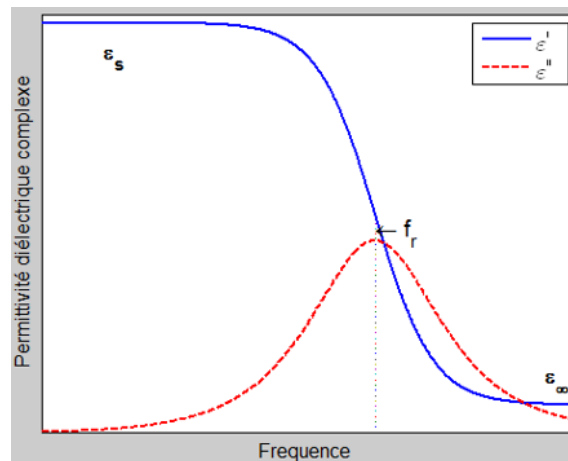


Figure 1.10 – La polarisation dipolaire dans la bande fréquentielle micro-onde [50, 52, 52].

Obtenir des informations sur la relaxation diélectrique associée au phénomène de réorientation des molécules dipolaires nous permet l'analyse de la composition de milieux liquides et/ou biologiques.

Tableau 1.1 – Valeurs des permittivités relatives aux fréquences hautes et basses, et fréquences de relaxation mesurées à 25 °C pour différents liquides

Liquide (à 25 °C)	ϵ_s	ϵ_∞	$f_r(\text{GHz})$
Eau déionisée (ED)	78.36	5.20	19.24
Méthanol	32.66	5.56	3.14
Ethanol	24.43	4.50	0.96
Acétone	20.59	4.21	27.44

1.3 Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs macro

Il est possible de dégager quatre techniques de mesure de la permittivité diélectrique complexe d'un matériau par ondes électromagnétiques : en utilisant une ligne de transmission, une sonde coaxiale à extrémité ouverte, une mesure en espace libre ou un résonateur. Le choix de la technique repose sur les caractéristiques de l'échantillon à caractériser : température, état (poudre, solide, liquide, etc.), taille (film mince, grand panneau, etc.), forme géométrique (substrat, pastille, etc.), bande de fréquence et précision désirée. Chaque technologie se base sur une méthode d'analyse différente fonctionnant sur une bande de fréquence définie et une zone sensible spécifique (volume d'analyse).

Les techniques de mesure large bande basées sur l'utilisation des sondes répondent particulièrement bien aux besoins exprimés par les applications biomédicales et agroalimentaires [53]. Ces techniques de mesure sont parmi les méthodes les plus utilisées dès lors que l'échantillon à analyser n'est pas de nature solide (liquide, poudre). La technique de la sonde coaxiale à extrémité ouverte est donnée en détail plus loin et les trois autres techniques de mesures sont brièvement décrites dans les paragraphes qui suivent.

1.3.1 Ligne de transmission

C'est une méthode de mesure large bande des propriétés diélectriques complexes des matériaux. Le dispositif de mesure est constitué d'une ligne de transmission comme montré sur la figure Fig. 1.11 [54, 55]. La caractérisation des matériaux par cette méthode, applicable aux solides et aux fluides, est basée sur la mesure de la constante de propagation d'une ligne de transmission chargée par un échantillon placé à l'intérieur de cette ligne. Tout d'abord, une mesure à vide doit être effectuée avec la ligne non chargée afin d'étalonner les paramètres du modèle théorique, avant de procéder à la mesure avec l'échantillon à caractériser. La constante de propagation linéique de la ligne chargée sera calculée à partir du coefficient de transmission. Puis, les propriétés diélectriques du matériau seront déterminées à partir d'un modèle théorique de la ligne reliant la constante de propagation et la permittivité du matériau.

Cette technique est aussi utilisée pour caractériser des couches minces déposées sur des substrats en imprimant une ligne de transmission sur cette couche. A l'aide de cette méthode, il est impossible de caractériser des échantillons ayant une inhomogénéité diélectrique. Cette méthode nécessite par ailleurs la préparation d'un échantillon (forme, dimension) et elle est ainsi classée parmi les méthodes destructives.

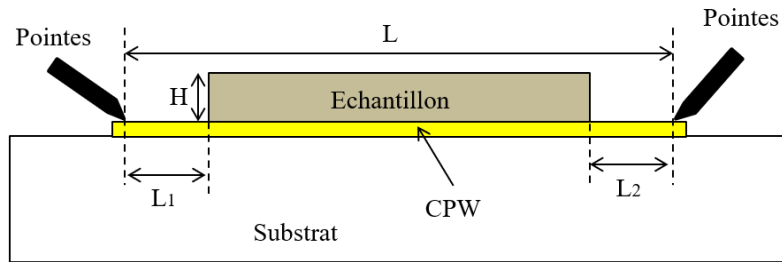


Figure 1.11 – Configuration de mesure pour une ligne de transmission [54, 55].

1.3.2 Mesure en espace libre

La technique de mesure en espace libre a été mentionnée pour la première fois dans une publication de C. K. Campbell [56] en 1978 et reprise ensuite dans une publication en 1984 de M.D. Afsar [57]. Cette technique consiste à placer un échantillon en parallèle entre deux antennes alignées qui fonctionnent dans une certaine gamme de fréquence (voir Fig. 1.12). Une antenne émet le signal tandis que l'autre fonctionne en réception. Les paramètres S sont alors mesurés. A partir de l'analyse de l'atténuation et du déphasage du signal réfléchi sur la surface de l'échantillon et/ou transmis à travers l'échantillon, les propriétés diélectriques peuvent être déterminées. En fonction de la taille de l'échantillon et de la fréquence, des lentilles de focalisation peuvent être utilisées.

Les configurations en espace libre sont des méthodes de mesure simples, non destructives, sans contact, utilisées en large bande et particulièrement appropriées pour la caractérisation de matériaux à des températures élevées et elles peuvent s'appliquer aussi bien à des diélectriques homogènes qu'inhomogènes [58].

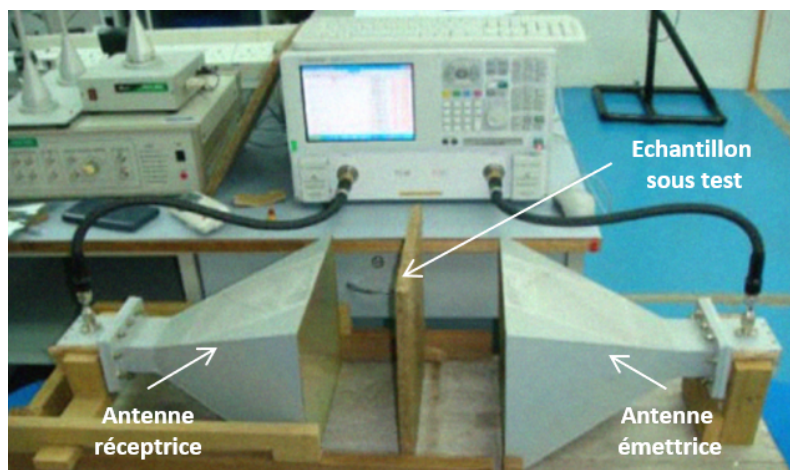


Figure 1.12 – Schéma d'un banc de mesure en espace libre [59].

En revanche, les erreurs d'alignement sonde / échantillon, ainsi que les effets de diffraction sont des sources d'erreur courantes avec cette technique. La fabrication et l'alignement précis des lentilles, et des échantillons larges et plats et ayant une surface supérieure à la largeur du rayonnement, sont nécessaires pour limiter les aberrations du front d'onde et les réflexions multiples.

1.3.3 Cavité résonante

La mesure en cavité résonante fournit des précisions élevées. Les techniques par résonance sont largement utilisées pour déterminer la permittivité et la tangente de perte de matériaux à faibles pertes à une fréquence unique ou sur un ensemble de fréquences discrètes [60–62].

L'échantillon à analyser est placé dans la cavité résonante dans laquelle une puissance est ensuite injectée. Les cavités résonnent spécifiquement pour le mode pour lequel elles ont été fabriquées. La plupart des cavités sont définies par leur mode de fonctionnement. En mode TE_{01n} par exemple, les lignes de champ électromagnétique sont tangentes à la surface du matériau diélectrique placé dans une section transverse du guide.

Le milieu à tester est placé à l'intérieur d'une cavité résonante ayant une fréquence de résonance et un facteur de qualité connus. Les caractéristiques de résonance dépendant du milieu sous test dans une cavité, son facteur de qualité et sa fréquence de résonance peuvent être mesurés pour déterminer les paramètres diélectriques. Les propriétés diélectriques peuvent être déterminées en mesurant d'abord la fréquence de résonance et le facteur de qualité d'une cavité vide. La deuxième étape consiste à répéter la mesure après avoir rempli la cavité avec le matériau sous teste (MUT ou « Material Under Test » en anglais). La permittivité ou la perméabilité du matériau peut ensuite être calculée en utilisant la fréquence, le volume et le facteur de qualité. La caractérisation du matériau devient moins précise pour les matériaux à fortes pertes, car le pic de résonance s'élargit à mesure que les pertes augmentent.

1.3.4 Sonde coaxiale à extrémité ouverte

La méthode des sondes coaxiales ouvertes [63–66] est une méthode non destructive. La sonde coaxiale ouverte est une section coupée d'une ligne de transmission (Fig. 1.13). Cette technique est idéale pour une variété de matériaux, y compris les semi-solides et les liquides, ainsi que pour la mesure sur une large bande. Il s'agit d'une méthode de réflexion « 1-port » non résonante par une sonde placée dans le MUT à l'état liquide ou pressée contre lui à l'état solide. Ce principe est plutôt robuste et peut résister à de nombreuses conditions physiques, en particulier une large gamme de températures.

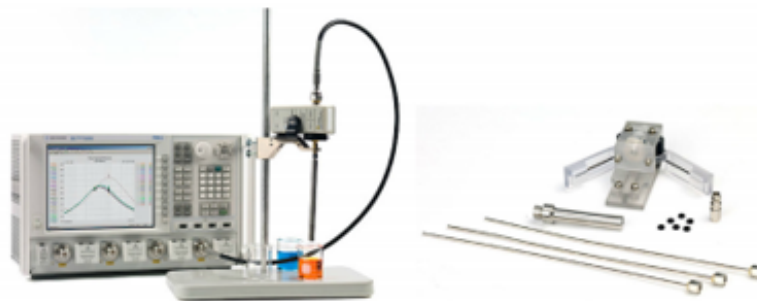


Figure 1.13 – Configuration de la sonde diélectrique (Agilent) [67].

Cette méthode a été utilisée pour déterminer la permittivité diélectrique des liquides dans la bande de fréquences allant de 200 MHz à 50 GHz. Le matériau solide est mesuré en touchant sa face plate par la sonde, en utilisant un embout adapté. Les champs

électromagnétiques à l'extrémité de la sonde pénètrent dans le matériau testé et le coefficient de réflexion est mesuré à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA pour Vector Network Analyzer). Le VNA avec un système de sonde est d'abord calibré de sorte que les mesures du coefficient de réflexion soient référencées au plan d'ouverture de la sonde. Cette étape d'étalonnage consiste à utiliser au moins trois milieux de référence bien connus dans la littérature. Un modèle analytique permet de calculer la permittivité diélectrique complexe à partir du signal réfléchi.

Il s'agit d'une technique de mesure pratique pour les liquides et les solides plats car elle ne nécessite pas de manipuler la géométrie du matériau diélectrique à tester. Pour les matériaux de faible permittivité, la méthode introduit des incertitudes et des déviations.

1.4 Techniques de mesure hyperfréquences des propriétés diélectriques de matériaux : dispositifs micro

Les techniques de mesure des propriétés diélectriques des matériaux ont été étendues à la caractérisation de liquides. Sur le même principe, d'autres types de dispositifs RF ont également été développés pour la caractérisation de cellules biologiques en suspension dans leur milieu de culture jusqu'à la cellule unique. En effet, l'analyse de milieux (liquides ou biologiques) repose sur une interaction onde/matière dans un canal microfluidique et ne requiert donc aucune enzyme, aucun réactif et aucun biomarqueur.

Cette partie est consacrée à une présentation générale de quelques-unes de ces techniques de mesures hyperfréquences qui ont été spécifiquement mises en œuvre pour la caractérisation de liquides et/ou de cellules biologiques que nous avons classées en deux catégories :

- Techniques en large bande
- Techniques résonantes

1.4.1 Les biocapteurs RF microfluidiques large bande

Ces dernières années, le développement de l'électronique et des microtechnologies a permis l'émergence de micro-capteurs. La technologie microfluidique, plus intégrée, présente l'intérêt de s'adapter à des structures miniatures ce qui la rend plus économe en volume d'échantillon.

Les premiers développements ont été réalisés sur des lignes de transmission coplanaires car leur configuration plane facilite l'intégration de réseaux microfluidiques sur des dispositifs RF.

Par exemple, un dispositif basé sur une ligne coplanaire pour la caractérisation diélectrique de liquides a été développé par G.R. Facer et al dans [68]. La Fig. 1.14 nous montre l'architecture du dispositif utilisé.

Ce dispositif est formé d'un guide d'onde coplanaire (CPW) sur lequel un microréservoir en PDMS, placé au milieu, a été implémenté pour contenir les échantillons liquides à analyser. Des analyses d'échantillons biologiques, comme l'hémoglobine, ont été menées dans une bande de fréquence allant de 40 Hz jusqu'à 26,5 GHz et démontrent le potentiel

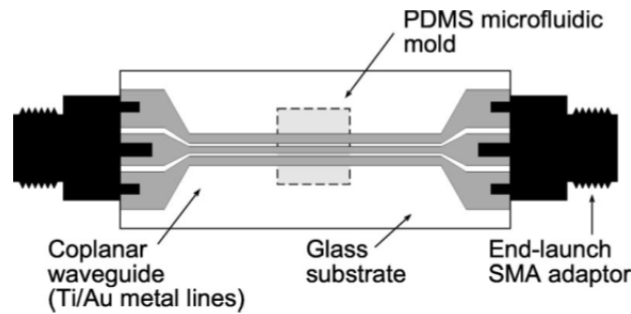
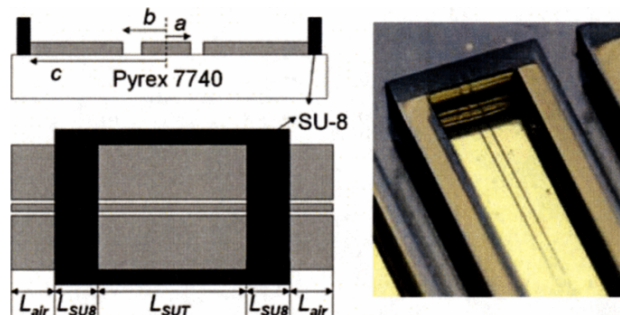


Figure 1.14 – Dispositif proposé par G.R. Facer pour la caractérisation diélectrique de liquides, basé sur un guide d'onde coplanaire [68].

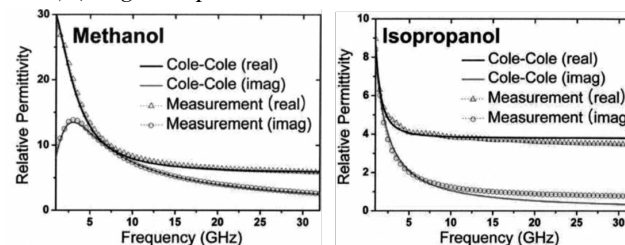
des structures hyperfréquences coplanaires pour la caractérisation d'échantillons biologiques.

Sur le même principe, Sanghyun Seo et al. [69] ont développé un dispositif formé d'une ligne coplanaire (CPW) sur un substrat de type Pyrex de 550 μm d'épaisseur. Sur cette ligne coplanaire est placé un microréservoir en SU-8 de 300 μm de profondeur comme le montre la Fig. 1.15a.

Des analyses sur différents liquides ont été menées dans la bande de fréquence allant de 1 à 32 GHz. La Fig. 1.15b montre un exemple de mesure sur des échantillons de méthanol et d'isopropanol. Les résultats des mesures effectuées avec ce dispositif montrent un bon accord avec l'équation de Cole-Cole pour la permittivité relative des milieux.



(a) Ligne coplanaire à microréservoir en SU8



(b) Exemple de mesure sur un échantillon de méthanol et d'isopropanol

Figure 1.15 – Dispositif développé par Sanghyun Seo et al. [69]

On peut également citer les travaux de James C. Booth dans [70] pour la caractérisation diélectrique de liquides dans la bande de fréquences allant de 45 MHz à 40 GHz. Les auteurs ont développé un capteur avec des lignes de transmission coplanaires en or,

d'épaisseur $0,4 \mu\text{m}$, déposées sur un substrat en quartz de 1 mm d'épaisseur, sur lequel est intégré un canal microfluidique formé d'un morceau de PDMS (polydiméthylsiloxane) moulé comme le montre la Fig. 1.16. Les dispositifs microfluidiques utilisent le PDMS liquide mélangé à un agent réticulant versé sur un moule. Pour permettre d'effectuer un étalonnage de type multi-lignes TRL (Through Reflect-Line), des structures d'étalonnage avec des géométries transversales identiques à la géométrie du capteur ont été fabriquées.

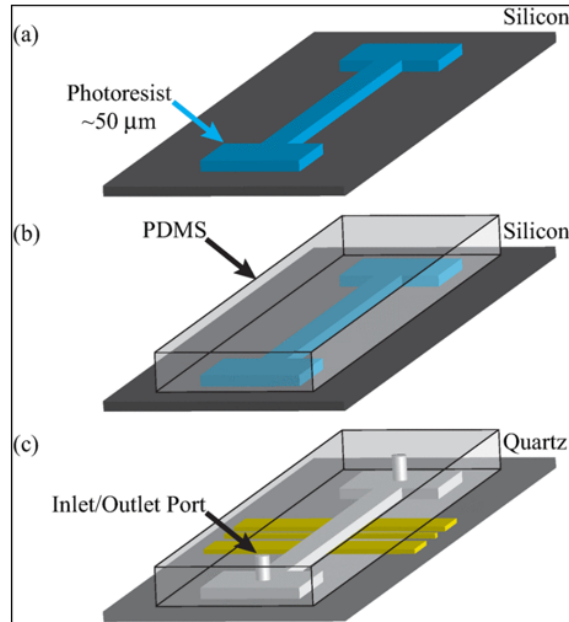


Figure 1.16 – Capteur développé par J.C. Booth [70].

Ce capteur permet d'extraire la permittivité complexe de l'échantillon liquide sous test à partir de la mesure de la variation de la capacité et de la conductance de la ligne de transmission. La méthode d'extraction utilisée consiste à déterminer expérimentalement tous les paramètres (impédance caractéristique Z_c et constante de propagation) de chaque région de la ligne (Air/Quartz, PDMS/Quartz et PDMS/Canal microfluidique/Quartz) à partir d'un ensemble de mesures sans avoir besoin d'un liquide de référence de permittivité connue. À partir de ces paramètres, la permittivité diélectrique du liquide sous test placé dans le canal microfluidique est extraite.

De la même manière, un autre exemple de couplage entre un système microfluidique et un dispositif hyperfréquence est reporté dans les travaux de T. Chen et al. [71]. Ils ont développé, un dispositif formé d'un guide d'onde coplanaire en série avec une capacité inter-digitée placée au-dessous d'un canal microfluidique qui concentre le champ électromagnétique et forme la zone d'analyse. La Fig. 1.17 présente le dispositif fabriqué. Ce capteur microfluidique a été utilisé pour analyser et identifier différents mélanges éthanol/eau à partir du contraste capacitif généré par le mélange par rapport à l'eau.

1.4.2 Les biocapteurs résonants

Les structures hyperfréquences résonantes qui offrent des performances intéressantes en terme de détection, ont également été intégrées au sein de dispositifs microfluidiques pour la caractérisation diélectrique de matériaux en général, et pour la caractérisation de

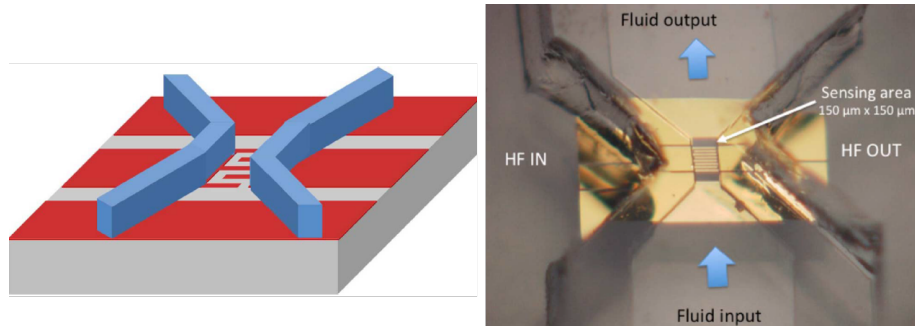


Figure 1.17 – Exemple de dispositif coplanaire couplé à un canal microfluidique pour l'analyse hyperfréquence de liquides biologiques [71].

liquides en particulier. Ces dispositifs résonants sont connus comme étant plus sensibles et donc plus précis que les dispositifs large bande. En revanche, ils ne peuvent déterminer la permittivité complexe du matériau sous test qu'à la fréquence de résonance de la structure (ainsi qu'aux éventuelles fréquences harmoniques), contrairement aux structures hyperfréquences à guide d'onde qui permettent de caractériser les matériaux sur une bande de fréquences très large.

● **Techniques de résonateur en mode de galerie (Whispering-Gallery mode, WGM)**

A.I. Gubin et al. [72, 73] ont proposé un capteur hyperfréquence pour la caractérisation de petits volumes dans la bande de fréquences Ka de 27 à 40 GHz. La technique est conçue pour étudier les liquides en petits volumes à l'aide d'une cellule de mesure développée sur la base d'un résonateur diélectrique WGM recouvert d'une couche de plastique intégrant un canal microfluidique. Elle se compose de :

- deux guides d'ondes diélectriques placés à l'entrée et la sortie d'un résonateur diélectrique,
- d'un résonateur à disque saphir (diamètre = 14,5 mm, hauteur = 2,5 mm),
- d'une couche plastique (Zeonex 480) de 0,69 mm d'épaisseur,
- d'un canal microfluidique (diamètre égal à 0,188 mm) placé sur la partie supérieure du résonateur comme le montre la Fig. 1.18 (gauche).

Le dispositif dispose également d'un capteur de température avec une précision supérieure à $\pm 0,01^\circ\text{C}$ pour stabiliser la température du résonateur et du liquide en cours de test (Fig. 1.18 (droite)).

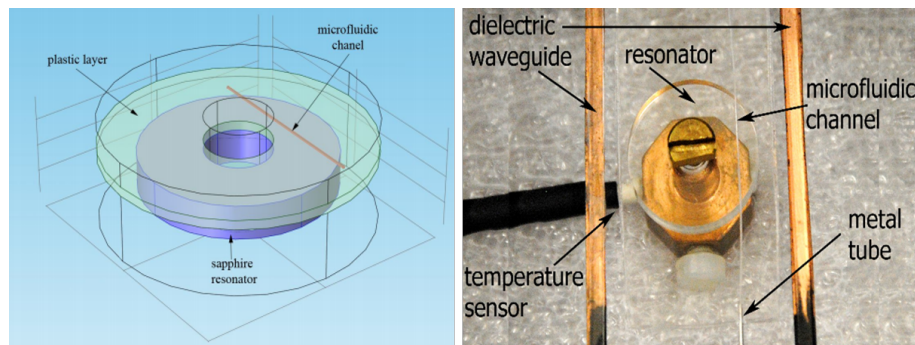


Figure 1.18 – Cellule de mesure constituée d'un résonateur WGM [72].

● **Circuit résonnant formé par un anneau microruban à double gap (DSSR)**

Nous pouvons également citer les travaux d'Ali Abduljabar et al. [74], qui utilise un résonateur formé par un anneau microruban à double gap (DSSR) et un microcapillaire fixé au substrat qui passe à l'intérieur des gaps comme le montre la Fig. 1.19. La technique se base sur la théorie des perturbations, dans laquelle la fréquence de résonance et le facteur de qualité d'un résonateur hyperfréquence dépendent des propriétés diélectriques du résonateur chargé par différents liquides. Par conséquent, la capacité formée par les gaps est affectée par le liquide, ce qui entraîne une modification des conditions de résonance du capteur.

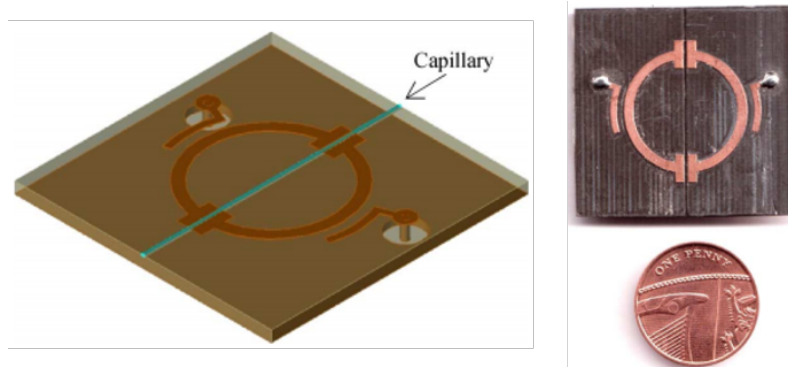


Figure 1.19 – Configuration du DSSR avec un microcapillaire passant par les deux gaps.

Des caractérisations des liquides ont été effectuées à 3 GHz pour plusieurs solvants communs avec différentes valeurs de permittivités complexes et de temps de relaxation. Les résultats obtenus montrent un bon accord entre les valeurs de la permittivité complexe mesurées et celles calculées à partir du modèle avec des erreurs de mesures faibles.

La sensibilité du capteur est limitée pour une permittivité élevée en raison des effets de la dépolarisation. Pour une faible permittivité, le capteur donne des résultats très sensibles et il permet de détecter de petits changements de permittivité des liquides, fournissant ainsi un moyen d'identification et de suivi des petites variations des propriétés d'un liquide en raison, par exemple, d'un changement chimique ou physique.

1.5 Technologies microfluidiques hyperfréquences pour la caractérisation diélectrique de cellules biologiques

Les méthodes d'analyse à l'échelle cellulaire ont connu un intérêt croissant et sont devenues un outil majeur dans le domaine du diagnostic clinique qui est toujours difficile, mais crucial, en thérapie cellulaire ou en oncologie.

En général, une cellule biologique est une structure hétérogène entourée par une membrane plasmique de rayon R et d'épaisseur d délimitant un espace intérieur, contenant un cytoplasme, et immergée dans un milieu externe (Fig. 1.20a). Ces différents milieux, à savoir le milieu extracellulaire et les deux milieux constituant la cellule, peuvent être modélisés par un modèle électrique composé d'une capacité C_{mem} représentant la membrane reliée en série avec une résistance R_i représentant le milieu intracellulaire [75, 76]. Le milieu externe est symbolisé par une résistance R_m en parallèle avec une capacité C_m

(Fig. 1.20b) [77].

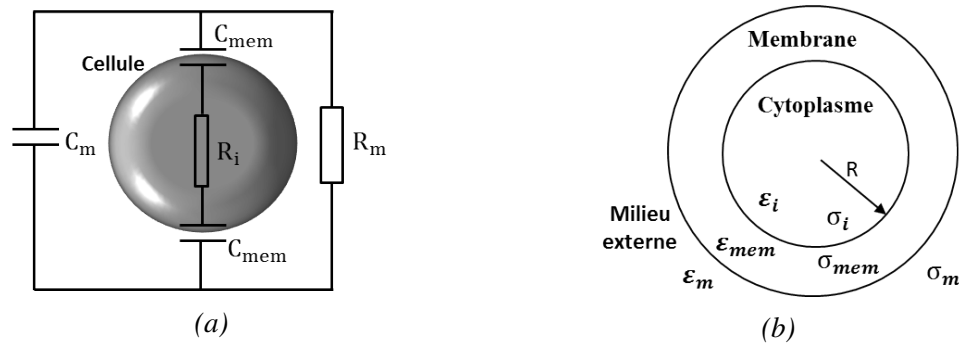


Figure 1.20 – (a) Modèle de circuit équivalent pour une cellule en suspension [77], (b) Vision « Matériau » d'une cellule de forme supposée sphérique.

L'interaction des ondes électromagnétiques avec la matière biologique a été bien établie au cours du siècle dernier avec de nombreuses contributions et notamment celles de Fricke [78], Cole [79] et Schwan [80] jusqu'à quelques GHz. La dépendance en fréquence des propriétés diélectriques de la matière biologique au champ électrique appliqué a été révélée et attribuée à plusieurs phénomènes de polarisation. Les recherches en large bande de Schwan ont conduit à une vision claire des différentes dispersions de la constante diélectrique relative ϵ_r , qui se produisent à des gammes de fréquences spécifiques et sont attribuées à des phénomènes physiques particuliers, comme indiqué sur la Fig. 1.21.

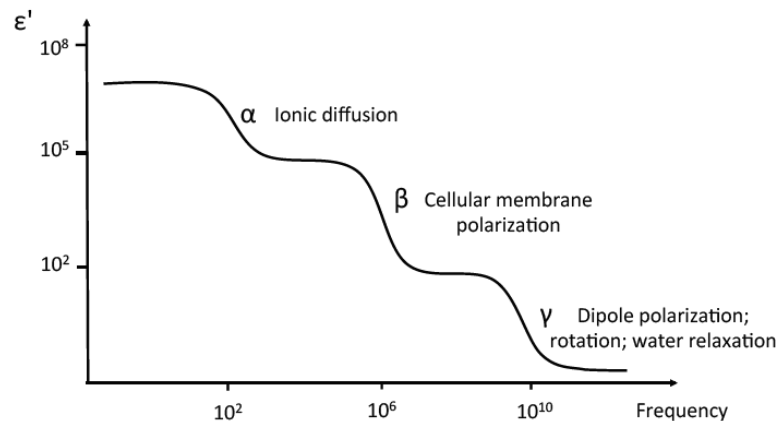


Figure 1.21 – Permittivité relative en fonction de la fréquence et des trois principales dispersions [80].

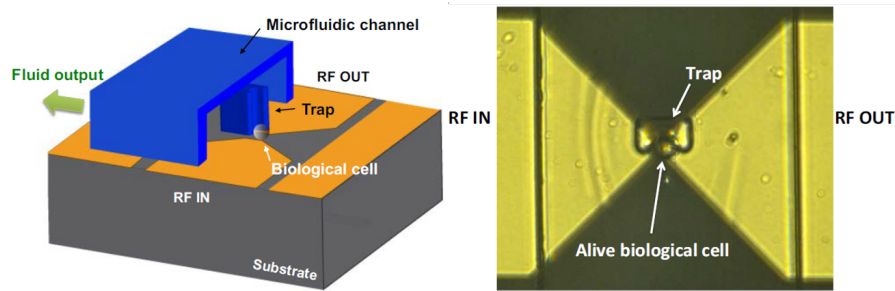
La première dispersion, nommée α , est attribuée aux diffusions ioniques, tandis que celle nommée β située dans la gamme du MHz est liée à la polarisation de la membrane cellulaire. En augmentant la fréquence, la barrière capacitive de la membrane cellulaire peut être franchie et des ondes peuvent pénétrer dans les cellules. La prochaine relaxation majeure appelée dispersion γ se situe alors aux micro-ondes et correspond principalement à la polarisation du moment dipolaire électrique des molécules. Il comprend la relaxation des molécules d'eau, avec une fréquence correspondante située autour de 20 GHz. Une quatrième dispersion supplémentaire et faible nommée δ peut également être distinguée entre celles β et γ dans certains cas. Plus loin en fréquence, dans le spectre THz, d'autres

mécanismes se produisent également en fonction des modes vibrationnels et des variations atomiques [81].

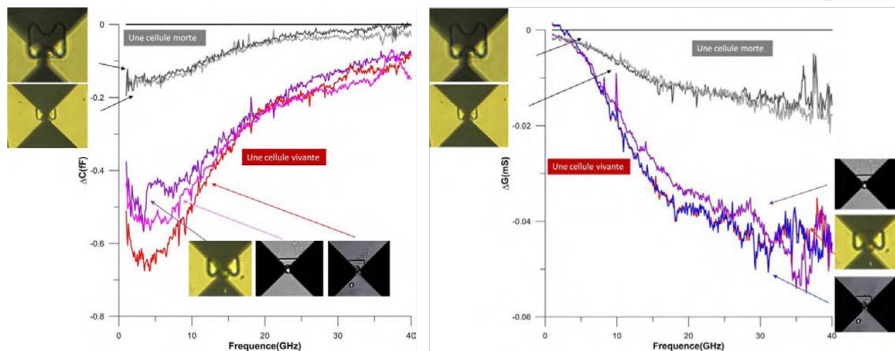
Dans la partie précédente, nous avons présenté quelques exemples de biocapteurs développés pour la caractérisation des milieux microfluidiques. Dans cette partie, nous allons nous focaliser sur quelques-unes de ces techniques qui ont été spécifiquement mises en œuvre pour la caractérisation de particules à l'échelle micrométrique.

● **Les biocapteurs à large bande appliqués à la biodétection**

Un exemple de capteur électromagnétique large bande pour l'analyse diélectrique d'une cellule unique a été développé dans [82]. Ce capteur est basé sur une ligne coplanaire discontinue qui réalise une capacité série utilisable pour l'analyse. Cette dernière est située au milieu d'un canal microfluidique réalisé en SU-8 (résine négative structurée par photolithographie) (Fig. 1.22a). Ce capteur est capable de sonder les caractéristiques diélectriques d'un liquide ou de particules flottantes s'écoulant au milieu du canal. Les lignes coplanaires constituées (d'épaisseur 0,3 μm) sont implémentées sur un substrat faibles pertes en quartz. La zone de détection est adaptée à la taille d'une cellule sphérique de l'ordre de 10 à 20 μm de diamètre. Un bloqueur mécanique placé sur les lignes permet de piéger ou bloquer la cellule biologique au centre de la capacité de détection.



(a) Schéma de principe 3D de l'architecture du capteur microfluidique



(b) Variation de capacité et de conductances de cellules de lymphome B vivantes et mortes en fonction de la fréquences

Figure 1.22 – Représentation du biocapteur à large bande appliqués à la biodétection, (a) l'architecture du biocapteur et (b) la variation des contrastes de cellules de lymphome B vivantes et mortes [82].

Ce capteur a été utilisé pour déterminer les contrastes capacitif et de conductance, par rapport au milieu de culture seul, de cellules de type lymphome B vivantes et mortes suspendues dans du milieu de culture (RPMI+10% SVF). Les contrastes de variation de capacité ΔC et de variation de conductance ΔG ont été extraits et sont présentés sur la

Fig. 1.22b. Les contrastes des cellules mortes sont plus faibles que ceux des cellules vivantes : un écart de ΔC entre cellules vivantes et mortes de 0,25 fF est atteint à 5 GHz, avec un écart de ΔG de 0,03 mS à 40 GHz.

Un deuxième exemple d'un circuit électromagnétique, basé sur une ligne micro-ruban présentant une discontinuité en son centre et formant une capacité série, a été développé dans [83] (Fig. 1.23). Ce capteur est formé d'une ligne micro-ruban de cuivre d'épaisseur $10\ \mu\text{m}$ et recouverte d'une couche mince d'or intégrée avec un canal microfluidique défini sur une largeur de $200\ \mu\text{m}$ et une profondeur de $25\ \mu\text{m}$. La largeur initiale des électrodes est de $410\ \mu\text{m}$ et se réduit à $380\ \mu\text{m}$ au niveau de la couche de SU-8 et du capot de PDMS. Cette ligne micro-ruban est progressivement rétrécie jusqu'à $20\ \mu\text{m}$ au niveau du gap pour former la zone capacitive de détection et présente une distance inter électrodes de $17\ \mu\text{m}$.

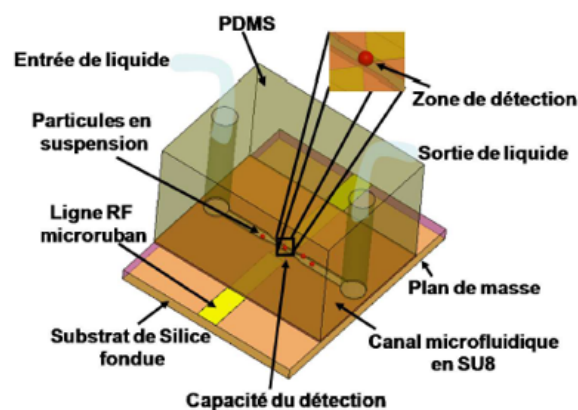


Figure 1.23 – Représentation schématique de l'architecture du capteur microfluidique développé au XLIM : distribution du champ électrique dans la section transversale au niveau de la zone sensible (gauche) et vue en 3D (droite) [83].

La Fig. 1.24 illustre la mesure effectuée en présence des 6 billes de polystyrène, avec une seule bille dans la zone de détection et 5 billes à l'extérieur. L'influence des billes parasites a été prise en compte grâce à une mesure de référence prise juste avant que la bille se rapproche de la zone de détection.

On peut y observer une différence de 3,8% entre la variation de la capacité du capteur mesurée en absence et en présence d'une seule bille dans la zone de détection et de 5 billes à l'extérieur.

● Les biocapteurs résonants appliqués à la bio-détection

Les premières générations de biocapteurs hyperfréquences exploitaient le fait que l'énergie du signal RF est essentiellement concentrée sur la surface des conducteurs et que l'introduction d'une particule diélectrique (cellule, biomolécule...) sur la ligne RF engendre des modifications sur la propagation du signal. L'un des représentants de ce type de capteur est le dispositif résonant LC développé par Young-II Kim et al. [84] pour la détection de biomolécules et représenté sur la Fig. 1.25.

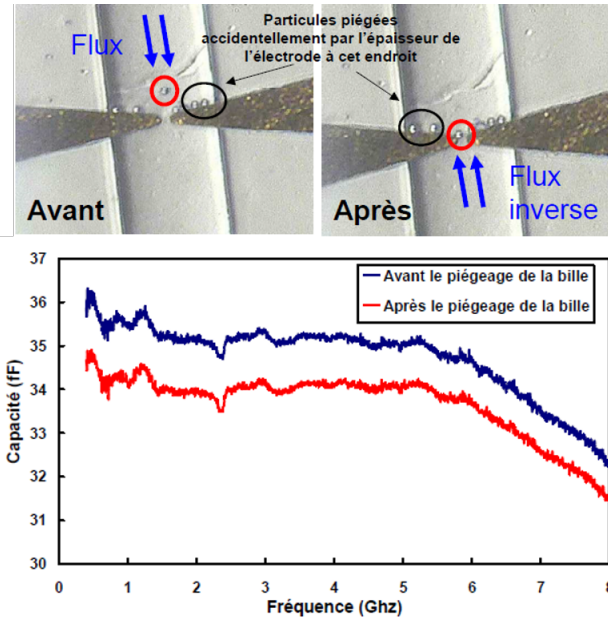


Figure 1.24 – Application à la spectroscopie diélectrique d'une bille de polystyrène [83].

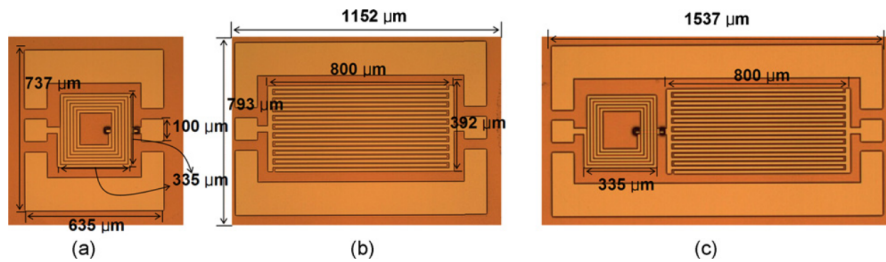


Figure 1.25 – Principe de détection de biomolécules en utilisant un circuit planaire RF résonant, (a) inductance en spirale, (b) capacité interdigitée et (c) résonateur global [84].

Le principe repose sur la mesure de variation de l'amplitude des paramètres S du signal RF à la résonance provoquée par la résistivité et la permittivité d'une biomolécule sur la surface du dispositif RF. Le circuit détecteur correspond à un résonateur LC formé par une inductance en spirale implémentée en série avec une capacité inter-digitée. Ces dispositifs après fabrication mesurent $635 \mu\text{m} \times 737 \mu\text{m}$ pour l'inductance (Fig. 1.25(a)), $1152 \mu\text{m} \times 793 \mu\text{m}$ pour la capacité inter-digitée (Fig. 1.25(b)) et pour le résonateur global après leur mise en série $1537 \mu\text{m} \times 793 \mu\text{m}$ (Fig. 1.25(c)). Cette méthode nécessite d'immobiliser les éléments biologiques sur la surface du résonateur. Pour cela, un matériau à faible constante diélectrique, le BCB, a été utilisé pour déterminer la réponse du résonateur en présence des charges biologiques.

La Fig. 1.26 montre la variation des pertes d'insertion entre le résonateur à vide et après l'immobilisation de biotines et d'avidines. À partir des données mentionnées, nous pouvons observer que la variation des pertes d'insertion entre le résonateur à vide et après l'immobilisation de biotines n'est pas très significative mais la perte de retour au point de résonance subit une grande variation après la fixation des biomolécules d'avidines. En revanche, la fréquence de résonance n'est pas décalée par la liaison biotine – avidine et cela signifie que la biomolécule agit comme une résistance et induit une variation d'impédance purement résistive du dispositif RF.

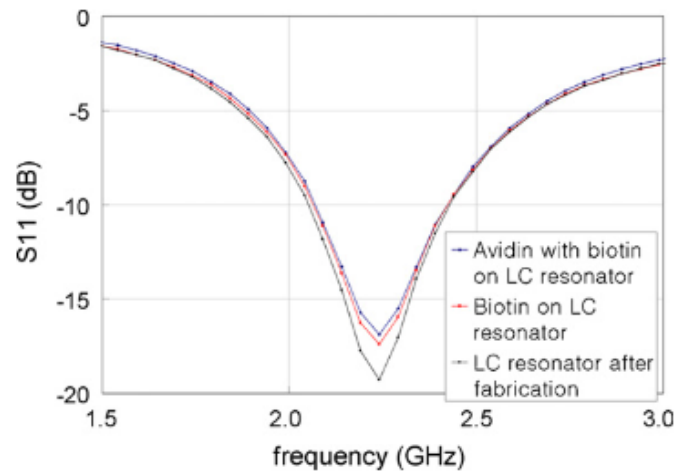


Figure 1.26 – Coefficient de réflexion (S_{11}) du résonateur LC mesuré à vide, après l’immobilisation de biotines et après fixation de biomolécules d’avidines sur le résonateur LC [84].

Sur le même principe, d’autres types de dispositifs RF résonants ont été également mis en œuvre. L’objectif est de tirer profit des interactions d’une onde électromagnétique haute fréquence avec une ou plusieurs cellules biologiques en suspension pour avoir une vision globale du contenu cellulaire. Nous pouvons notamment citer des biocapteurs, basés sur des résonateurs coupe-bande formés d’une inductance disposée en parallèle avec deux capacités inter-digitées (Fig. 1.27), développés au sein du laboratoire XLIM pour la caractérisation de cellules biologiques cancéreuses [85].

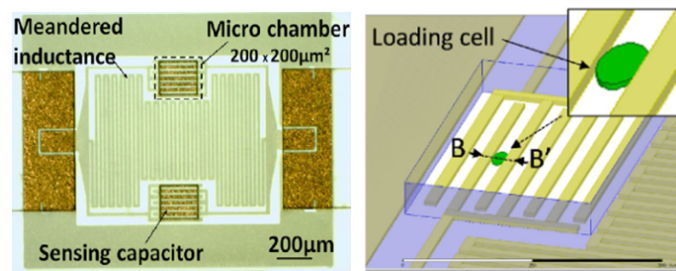


Figure 1.27 – Exemple de biocapteurs résonants passifs [85].

Les capacités inter-digitées constituent les zones d’interaction privilégiées avec les cellules biologiques où les particules diélectriques. Ces dernières, caractérisées par leurs permittivités et leurs conductivités et déposées entre les électrodes, font varier les paramètres S du résonateur et par conséquent la fréquence de résonance et le facteur de qualité à la fréquence de résonance du résonateur RF.

La Fig. 1.28 présente le décalage entre la fréquence de résonance du biocapteur à vide et celle du biocapteur mesuré avec trois cellules déposées dans une micro-chambre qui définit la zone d’interaction cellules/capteur. La perturbation diélectrique sur les condensateurs combinés entraîne un changement de résonance du capteur qui peut être facilement observé : la fréquence de résonance est décalée vers une fréquence inférieure et un léger changement d’atténuation du signal micro-ondes se produit à la résonance.

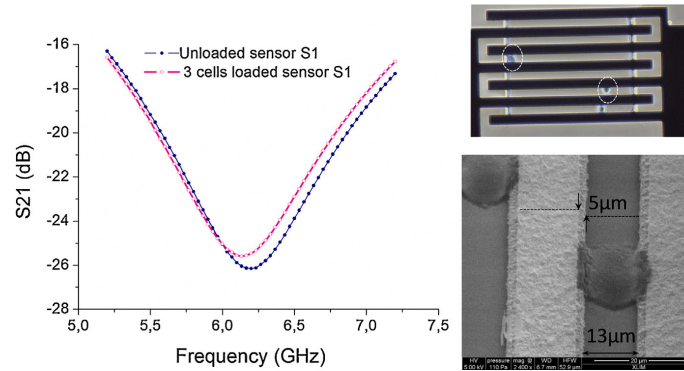


Figure 1.28 – Décalage de fréquence de résonance mesuré sur un capteur passif de la figure 27 une fois chargé avec 3 cellules DLD-1 [85].

1.6 Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté différentes techniques microondes utilisées pour l'analyse diélectrique de liquides et d'échantillons biologiques dans la bande micro-onde ainsi que leurs avantages et leurs limitations, en nous focalisant sur la spectroscopie diélectrique haute fréquence qui fait l'objet de ces travaux de thèse. L'intérêt des technologies microfluidiques a été mis à profit très rapidement dans le domaine de la caractérisation cellulaire dans des microsystèmes hautement intégrés. La possibilité de manipuler et caractériser des cellules vivantes reste en effet un enjeu majeur dans le secteur des industries de la santé, mais a aussi un rôle émergent dans les secteurs de l'environnement et de l'agriculture. Le développement des laboratoires sur puce ouvre d'importantes perspectives aussi bien du point de vue du diagnostic que du traitement.

Les méthodes d'analyses cellulaires usuelles sont globalement capables d'analyser des matériaux diélectriques, des molécules biologiques, des cellules, des tissus, etc. . . , mais pèchent par certains aspects qui peuvent cacher certains phénomènes biologiques et empêcher leurs études. En outre, cette étude bibliographique nous conduit à vouloir développer une nouvelle méthode de caractérisation qui soit fiable et précise dans la bande micro-onde et nous a permis en particulier de fixer le choix de la méthode de fabrication que nous allons utiliser pour réaliser nos canaux microfluidiques. Cette méthode sera basée sur la technique de microscopie en champ proche pour une caractérisation non destructive et une analyse diélectrique de liquides et d'échantillons biologiques de faible volume en se focalisant sur la spectroscopie diélectrique haute fréquence selon un protocole expérimental bien défini et explicite.

Dans cette partie nous avons montré l'intérêt d'intégrer les technologies microfluidiques aux dispositifs hyperfréquences pour l'analyse cellulaire. L'utilisation de petits volumes de liquide sur lesquels l'interaction est bien contrôlée permet d'assurer une bonne sensibilité de détection des dispositifs hyperfréquences tout en restant compatible avec la miniaturisation des biocapteurs. Dans ce contexte, le but de ces travaux de thèse a été de développer un capteur hyperfréquence, qui combine un système microfluidique avec le dispositif hyperfréquence, permettant la spectrographie HF large-bande de liquides mais également pour la détection et la caractérisation des cellules vivantes uniques en suspension dans leur milieu de culture.

Dans le prochain chapitre, nous allons présenter la technique de caractérisation hyperfréquence par spectroscopie diélectrique ainsi que des mesures de milieux liquides

effectuées par la sonde coaxiale. Pour réaliser des mesures précises, nous avons utilisé une méthode de calibrage dite de Wagner : celle-ci fait appel à trois liquides de référence. Les mesures que nous avons réalisées permettent, avec d'autres données expérimentales obtenues de la littérature, de caractériser et d'extraire les propriétés diélectriques de matériaux.

1.7 Objectif de mon travail de thèse

En biologie, la caractérisation cellulaire constitue une étape fondamentale qui fait encore actuellement l'objet de recherches scientifiques intenses. Cette thématique trouve de nombreuses applications dans le domaine médical aussi bien dans le développement d'outils de diagnostic que dans la mise au point de traitements thérapeutiques. Notamment, ces dernières années, des progrès remarquables ont été réalisés dans le domaine de l'analyse cellulaire, aboutissant au développement de méthodes variées nécessitant ou non le recours à des marqueurs. Notamment, les méthodes exploitant les ondes électromagnétiques (techniques destructives ou non destructives, résonantes ou large bande), sont aujourd'hui matures et utilisées en routine dans les laboratoires de biologie.

L'objectif de ce travail de thèse porte sur l'étude et le développement de nouvelles techniques d'analyse cellulaire. Elles sont basées sur la détection électrique par spectroscopie diélectrique permettant une mesure à l'échelle de la cellule unique, avec l'objectif de pouvoir faire une distinction entre différentes cellules mesurées. Il est cherché ici la possibilité de caractériser des échantillons des cellules de faible volume dans leur milieu, sans aucun traitement préalable. Pour cela, différentes structures de circuits passifs hyperfréquences intégrant un canal microfluidique ont été proposées et fabriquées pendant ce travail de thèse. Le schéma de la Fig. 1.29 suivante montre un exemple de biocapteur en technologie coplanaire assemblé avec un canal microfluidique permet le passage d'une solution contenant une ou plusieurs cellules biologiques au-dessus des électrodes en extrémité de ligne et ainsi le couplage du champ électromagnétique avec la cellule ; ce système d'analyse a été le point de départ de notre étude.

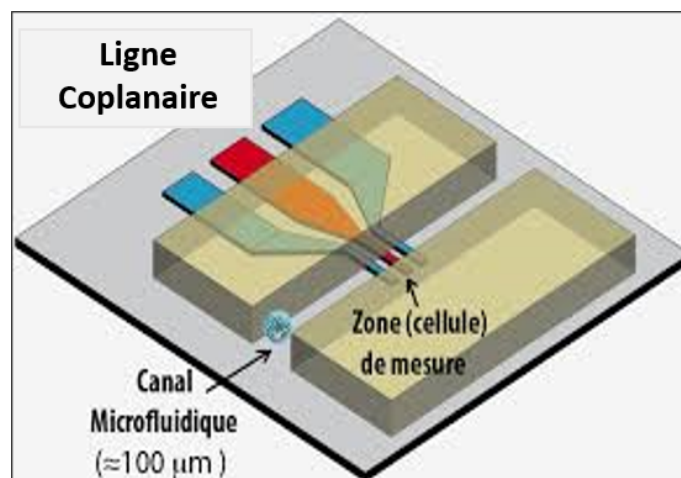


Figure 1.29 – Schéma de principe d'analyse cellulaire par spectroscopie diélectrique.

Bibliographie

- [1] D. Di Carlo, L. P. Lee, "Dynamic single-cell analysis for quantitative biology," *Anal. Chem.*, pp. 7918-7925, Dec. 2006.
- [2] Marsland T. and Evans S, Dielectric measurements with an open-ended coaxial probe. *IEE Proc. Microw., Antennas Propag.*, vol. 134, no. 4, pp. 341–349, Aug. 1987.
- [3] Dalmay C., Pothier A., Cheray M., Lalloue F., Jauberteau M-O., Blondy P. Label Free RF Biosensors for Human Cell Dielectric Spectroscopy. *Int. J. Microwave and. Wireless Technologies*, 2009, Vol. 1, pp. 497-504.
- [4] Wagner N., Schwing M. and Scheuermann A. Numerical 3-D FEM and Experimental Analysis of the Open-Ended Coaxial Line Technique for Microwave Dielectric Spectroscopy on Soil. *IEEE Geoscience and RemoteSensing Society*, 22 March 2013.
- [5] MAXWELL J. C., "A treatise on electricity and magnetism", 2ème édition, Edition Oxford : Clarendon Press, 1881.
- [6] Penzias AA, Wilson RW. A measurement of excess antenna temperature at 4080 Mc/s. *Astrophysical Journal Letters*. 1965 ;142 : 419-421. DOI : 10.1086/148307
- [7] Penzias AA, Wilson RW. A measurement of the flux density of CAS A at 4080 Mc/s. *Astrophysical Journal Letters*. 1965 ;142 :1149 1154. DOI : 10.1086/148384
- [8] National Aeronautics and Space Administration. Tests of Big Bang : The CMB [Internet]. Available from : <https://wmap.gsfc.nasa.gov/universe/bb-test-cmb.html> [Accessed : 04 December- 2018]
- [9] NASA Science. Tour of the electromagnetic spectrum. Microwaves [Internet]. <https://science.nasa.gov/ems/06-microwaves> [Accessed : 04- December-2018]
- [10] Electronic Design Innovation Conference 2018. EDI CON USA [Internet]. Available from : <http://www.ediconusa.com/> [Accessed : 04- December-2018]
- [11] Glyn S, Smith R, Devlin L, Dearn A, Pearson G. Design of the single chip front-end module for 28 GHz 5G. *Microwave Journal*. 2018 ;61(4) :22-35
- [12] Calif I. Defense opportunities and challenges in 2019. *Microwave Journal*. 2018 ;61(11) :22-32
- [13] Panina LV et al. Giant magnetoimpedance and magneto-inductive effects in amorphous alloys. *Journal of Applied Physics*. 1994 ;76(10) :6198. DOI : 10.1063/1.358310
- [14] Jeol. Instructions ESR Data System. Tokio. Japan : Ed. Jeol LTD ; 1992
- [15] Bruker. EPR Resonators. Ed. Bruker Biospin, [Internet]. Available from : <https://www.bruker.com/es/products/mr/epr.html> [Accessed : 04-December-2018]
- [16] Özgür U, Alivov Y, Morkoc HA. Microwave ferrite, part 1 : Fundamental properties. *Journal of Materials Science : Materials in Electronics*. 2009 ;20(9) : 789-834

-
- [17] Pardavi-Horvath M. Microwave applications of soft ferrites. *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. 2000;215-216 :171-183
- [18] News and Features. Krohne Group. [Internet]. Available from : <https://krohne.com/en/> [Accessed : 04-December-2018]
- [19] Shenhreen A, Manoh K, Veerakumar V, Bijoy KK. Microwave monolithic filter and phase shifter using magnetic nanostructures. *American Institute of Physics*. 2018;8 :056624
- [20] Huai-Wu ZT, Li J, Hua S, Chuan ZT, Yang L, Liang ZZ. Development and application of ferrite materials for low temperature co-fired ceramic technology. *Chinese Physics B*. 2013;22 (11) :117504
- [21] Santre A, Nasr I, Kim L. Reinventing radar : The power of 4D sensing. *Microwave Journal*. 2018;61(12) :22-37
- [22] IEEE MTT-S International Microwave Symposium [Internet]. Available from : <https://ims2018.org/> [Accessed : 04-December-2018]
- [23] ESA and the Planck Collaboration. Planck Maps the Microwave Background [Internet]. Available from : <https://apod.>
- [24] DeTomasi S. Navigating the 5G NR standards. *Microwave Journal*. 2018;61 (12) :72-83
- [25] NASA Science. Tour of the electromagnetic spectrum. *Microwaves* [Internet]. <https://science.nasa.gov/ems/06-microwaves> [Accessed : 04-December-2018]
- [26] Microwave Energize Medical Applications [Internet]. Available from : <https://www.mwrf.com/medical/medical-applications-see-wireless-solutions> [Accessed : 04-December-2018]
- [27] Rols, M. P. and J. Teissie (1992). "EXPERIMENTAL-EVIDENCE FOR THE INVOLVEMENT OF THE CYTOSKELETON IN MAMMALIAN CELL ELECTROPERMEABILIZATION." *Biochimica Et Biophysica Acta* 1111(1) : 45-50.
- [28] Mir, L. M., M. F. Bureau, J. Gehl, R. Rangara, D. Rouy, J. M. Caillaud, P. Delaere, D. Branellec, B. Schwartz and D. Scherman (1999). "High efficiency gene transfer into skeletal muscle mediated by electric pulses." *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 96(8) : 4262-4267.
- [29] DANIELLS, C., DUCE, I., THOMAS, D., SEWELL, P., TATTERSALL, J. DE POMERAI, D. (1998) : Transgenic nematodes as biomonitors of microwave induced stress. *Mutation Research*, 399 : 55-64.
- [30] KHUDNITSKII, S. S., MOSHKAREV, E. A. FOMENKO, T. V. (1999) : On the evaluation of the influence of cellular phones on their users. *Meditina Truda i Promyshlennaia Ekologija*, 9 : 20-24.
- [31] PETRIDES, M. (2000) : Exposure to electromagnetic fields by using cellular telephones and its influence on the brain. *Neuroreport*, 15 : F 15
- [32] KOIVISTO, M., REVONSUO, A., KRAUSE, C., HAARALA, C., SILLANMAKI, L., LAINE, M. HAMALAINEN, H. (2000) : Effects of 902 MHz electromagnetic field emitted by cellular telephones on response times in humans. *Neuroreport*, 11 : 413-415.
- [33] MANN, K. ROSCHKLE, J. (1996) : Effects of pulsed highfrequency electromagnetic fields on human sleep. *Neuropsychobiology*, 33 : 41-47.
-

- [34] EULITZ, C., ULLSPERGER, P., FREUDE, G. ELBERT ,T. “Mobile phones modulate response patterns of human brain activity”. *Neuroreport*, 9 : 3229-3232, 1998.
- [35] MARINO, A. A., NILSEN, E. FRILOT, C., “Nonlinear changes in brain electrical activity due to cell phone radiation”. *Bioelectromagnetics*, 24 : 339-346, 2003.
- [36] Pipan, M., Baradello L., Forte E. and Prizzon A., “GPR study of bedding planes, fractures and cavities in limestone”, *Proceedings, Eight International Conference on Ground Penetrating Radar, May 23–26, 2000, Gold Coast, Queensland, Australia. Proceedings of SPIE – The International Society of Optical Engineering, Bellingham, Washington*, p. 682 - 687.
- [37] Morey R., “Ground Penetrating radar for Evaluating Subsurface Conditions for Transportation Facilities”, *Synthesis of Highway Practice 255, National Cooperative Highway Research Program, Transportation Research Board. National Academy Press*, 1998.
- [38] Huston D., Fuhr P., Maser K. and Weedon W., “Nondestructive Testing of Reinforced Concrete Bridges Using Radar Imaging Techniques”, *The New England Transportation Consortium Report*, 94–92, 2002, p. 182p.
- [39] Cariou J., Chevassu G., Cote P., Dérobert X., Le Moal J.Y., “Application du radar géologique en génie civil”, *Bulletin des laboratoires des Ponts et Chaussées* 211, Sept/Oct 1997 - RÉF. 4135, p. 117 - 131.
- [40] Shaw M.R., Millard S.G., Molyneaux T.C.K., Taylor M.J., Bungey J.H., “Location of steel reinforcement in concrete using ground penetrating radar and neural networks”, *NDTE International* 38, 2005, p. 203 - 212.
- [41] Hugenschmidt J., *Concrete bridge inspection with a mobile GPR system, Construction and Building Materials* 16, 2002, p. 147 – 154.
- [42] Agred K., Klysz G., Balayssac J.P., 3D localization of the reinforcement in reinforced concrete slab by using GPR, in *NDT and diagnosis of problems, Concrete Solutions*, Edited by Grantham Michael G. Papayianni Ioanna Sideris Kosmas, Taylor Francis Group, 6000 Broken Sound Parkway NW, Suite 300, Boca Raton, FL 33487-2742 CRC Press, Pages 173–180
- [43] Filali B., Rhazi J. E., Ballivy G., “Mesure des propriétés diélectriques du béton par une large sonde coaxiale à terminaison ouverte”, *Presses scientifiques du CNRC, Can. J. Phys.* 84, 2006, p. 365 – 379
- [44] Balayssac J.-P., Kringkaï V., Sbartaï M., Klysz G., Laurens S., Arliguie G., “Contribution au développement du radar pour la caractérisation non destructive du béton”, *25e rencontre de l’AUGC*, 23-25 mai 2007, Bordeaux.
- [45] Perez J. Ph., Carles R., Fleckinger R., *Electromagnétisme, Vide et milieux matériels*. pp. 515–519. Dunod 1991.
- [46] C. Huber, « Synthèse et caractérisation de nouveaux matériaux ferroélectriques accordables pour applications hyperfréquence », *Thèse, Université Bordeaux I*, 2003.
- [47] Mario MAGLIONE, Rodolphe DECOURT, *Matériaux Diélectrique*, Livre, 2010.
- [48] Debye P., *Ver. Deut. Phys. Gesell.* 15, 777. Reprinted 1954 in collected papers of Peter J.W. Debye Interscience, New York. 1913.
- [49] Debye P., *Polar molecules, J. Soc. Chem. Ind.*, vol. 48, no. 43, pp. 1036–1037, Oct. 1929.

-
- [50] Kaatze U., Non-conducting and conducting reference liquids for the calibration of dielectric measurement systems. in Proc. 7th Int. Conf. Electromagn. WaveInteract. Water Moist Substances, 2007, pp.3–11.
- [51] Ellison W. J., Permittivity of pure water, at standard atmospheric pressure, over the frequency range 0–25 THz and the temperature range 0–100 °C. J. Phys. Chem. Ref. Data, vol. 36, no. 1, pp. 1–18, Mar. 2007.
- [52] Gregory A. P., Tables of the complex permittivity of dielectric reference liquids at frequencies up to 5 GHz. National Physical Laboratory, January 2012.
- [53] Athey T. W., Stuchly M. A., and Stuchly S. S., "Measurement of radio frequency permittivity of biological tissues with an open-ended coaxial line : part I", IEEE Transaction on Microwave Theory and Techniques, MTT-30, pp 82-92, January 1982.
- [54] A. Chandrasekhar, S. Brebels, S. Stoukatch, E. Beyne, W. Readt, « The influence of packaging materials on RF performance », Microelectronics Reliability Journal, New York, Elsevier, 2003, vol. 43, pp. 351-357.
- [55] T. Zwick, A. Chandrasekhar, U. Pfeiffer, « Determination of the complex permittivity of Packaging Materials at Millimeter-Wave Frequencies », IEEE Trans. Microw. Theory Tech., vol. 54, no. 3, pp. 1001-10103, March. 2006.
- [56] C.K. CAMPBELL, "Free-Space Permittivity Measurements on Dielectric Materials at Millimeter Wavelengths." IEEE Trans. on Instrumentation and Measurement, vol.IM-27, no. 1, p.54(1978).
- [57] M.N. AFSAR "Dielectric Measurement Of Millimeter-Wave Materials." IEEE Transactions on Microwave Theory and Techniques, vol. 32,no.12,pp.1598-1609(1984).
- [58] D. K. Ghod C. GAOnkar, V. V. Varadan and V. K. Varadan, « A free space method for measurement of dielectric constants and loss tangents at microwave frequencies », IEEE Transactions on instrumentation and measurement, vol. 38, no. 3, pp. 789–793, 1989.
- [59] Wee, F.H. et al, « Free space measurement technique on dielectric properties of agricultural residues at microwave frequencies », Microwave and Optoelectronics Conference (IMOC), 2009 SBMO/IEEE MTT-S International.
- [60] Jacob, M. V., Mazierska, J., Leong, K. and Krupka, J. 2002. Microwave properties of low-loss polymers at cryogenic temperatures. Ieee Transactions on Microwave Theory and Techniques. 50(2) : 474-480.
- [61] Jacob, M. V., Mazierska, J. and Krupka, J. 2005. Dielectric properties of Yttrium Vanadate crystals from 15 K to 295 K. Journal of Electroceramics. 15(3) : 237-24
- [62] Baker-Jarvis, J., Janezic, M. D. and DeGroot, D. C. 2010. High Frequency Dielectric Measurements. Part 24 in a Series of Tutorials on Instrumentation and Measurement.
- [63] Gabriel, S., Lau, R. W. and Gabriel, C. 1996. The dielectric properties of biological tissues : II. Measurements in the frequency range 10 Hz to 20 GHz. Physics in Medicine and Biology. 41(11) : 2251.
- [64] Ellison, W. J. and Moreau, J. M. 2008. Open-Ended Coaxial Probe : Model Limitations. Instrumentation and Measurement, IEEE Transactions on. 57(9) : 1984-1991. Technologies, A.
- [65] Technologies, A. 2010. Technical Overview : 85070E Dielectric Probe Kit 200 MHz to 50 GHz, online.
-

- [66] Yaw, K. C. 2012. Measurement of Dielectric Material Properties Application Note. Rhode and Schwartz Technical Publication.
- [67] Agilent 85070D dielectric probe kit, product overview, Discontinued product information.
- [68] G.R. Facer, D.A. Notterman and L.L. Sohn, "Dielectric spectroscopy for bioanalysis : From 40 Hz to 26.5 GHz in a microfabricated wave guide", Applied Physics Letters, 2001, Vol. 78, No. 996.
- [69] S. Seo, T. Stintzing, I. Block, D. Pavlidis, M. Rieke, P.G. Layer, "High frequency wideband permittivity measurements of biological substances using coplanar waveguides and application to cell suspensions", IEEE/MTT-S International Microwave Symposium, 15-20 June 2008, pp. 915-918.
- [70] 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 Transactions on Instrumentation and Measurement, 2010, Vol.59, No12, pp. 3279-3288.
- [71] T. Chen, D. Dubuc, and K. Grenier, "Accurate Nanoliter Liquid Complex Admittance Characterization up to 40 GHz for Biomedical Applications", IEEE/MTT-S International Microwave Symposium, 17-22 June 2012, pp. 1-3.
- [72] A.I.Gubin, A.A. Barannik, N.T. Cherpak, S.Vitusevich, A. Offenhaeusser and N.Klein, "Whispering-Gallery Mode Resonator Technique for Characterization of Small Volumes of Biochemical Liquids in Microfluidic Channel", Microwave Conference (EuMC), 10-13 October 2011, pp. 615-618.
- [73] A.I.Gubin, A.A. Barannik, I.A. Protsenko, N.T. Cherpak, A. Offenhaeusser and S.Vitusevich, "Biochemical Liquids Permittivity Characterization Technique Based on Whispering-Gallery Mode Resonator With Microfluidic Channel", Microwave Conference (EuMC), 6-10 October 2013, pp. 314-317.
- [74] A.A. Abduljabar, D.J. Rowe, A. Porch, and D.A. Barrow, "Novel Microwave Microfluidic Sensor Using a Microstrip Split-Ring Resonator", IEEE Transaction on Microwave Theory and Techniques, 2014, Vol. 62, No. 3, pp. 679-688.
- [75] J. Gimsa, "Particle characterization by AC-electrokinetic phenomena : 1. A short introduction to dielectrophoresis (DP) and electrorotation (ER)," Colloids Surf. Physicochem. Eng. Asp., vol. 149, no. 1-3, pp. 451-459, Apr. 1999.
- [76] H. Fricke, "The Electric Capacity of Suspensions of Red Corpuscles of a Dog," Phys. Rev., vol. 26, no. 5, pp. 682-687, Nov. 1925.
- [77] T. Sun, S. Gawad, C. Bernabini, N. G. Green, and H. Morgan, "Broadband single cell impedance spectroscopy using maximum length sequences : theoretical analysis and practical considerations," Meas. Sci. Technol., vol. 18, no. 9, p. 2859, 2007.
- [78] H. Fricke, "The electric resistance and capacity of blood for frequencies between 800 and 4.5 million cycles," J. Gen. Physiol., vol. 9, pp. 153-167, 1925.
- [79] K.S. Cole and R.H. Cole, "Dispersion and absorption in dielectrics. I. Alternating current characteristics," J. of Chemical Physics, vol. 9, pp. 341-351, 1941
- [80] C. Polk and E. Postow, Handbook of Biological Effects of Electromagnetic Fields. CRC Press, 1996, ch. 1 by K.R. Foster and H.P. Schwan.

- [81] G.J. Wilmink, J.E. Grundt, "Invited review article : Current state of research on biological effects of Terahertz radiation," *J. Infrared Milli Terahz Waves*, vol. 32, pp. 1074-1122, 2011.
- [82] T. Chen, F. Artis, D. Dubuc, J.J. Fournié, M. Poupot, K. Grenier, "Microwave biosensor dedicated to the dielectric spectroscopy of a single alive biological cell in its culture medium", *IEEE/MTT-S International Microwave Symposium*, 2-7 June 2013, pp. 1-4.
- [83] A. Landoulsi, C. Dalmay, A. Bessaudou, P. Blondy, A. Pothier : « A Microwave Sensor Dedicated to Dielectric Spectroscopy of nanoliter volumes of Liquids Medium and Flowing Particles», *IEEE Radio and Wireless Week (RWW 2015), Biosensor Conference*, Jan 2015, San Diego, United States.
- [84] Y.I. Kim, Y.Park, H.K Baik, "Development of LC resonator for label-free biomolecule detection", *Sensors and Actuators A*, 2008, Vol. 143, pp. 279–285.
- [85] L.Y.Zhang, C. Bounaix Morand du Puch, C. Dalmay, A. Lacroix, A. Landoulsi , J. Leroy, C. Mélin, F. Lalloué, S. Battu, C. Lautrette, S. Giraud, A. Bessaudou, P. Blondy, M.O. Jauberteau, A. Pothier, "Discrimination of colorectal cancer cell lines using microwave biosensors", *Sensors and Actuators A*, 2014, Vol. 216, pp. 405–416.

2

Spectroscopie diélectrique hyperfréquence

Spectroscopie diélectrique hyperfréquence

Sommaire

2.1	Introduction	42
2.2	Sonde coaxiale à extrémité ouverte	43
2.3	Procédure d'extraction des paramètres du liquide à partir du coefficient de réflexion	47
2.3.1	Principe de cette méthode	47
2.3.2	Étape d'étalonnage	49
2.4	Résultats expérimentaux avec la sonde coaxiale	50
2.5	Fabrication en salle blanche	55
2.5.1	Elaboration du circuit HF	56
2.5.2	Elaboration du micro-canal microfluidique	60
2.5.3	Elaboration du piège mécanique	61
2.6	Dispositif d'adaptation aux connecteurs SMA	62
2.7	Dispositif expérimental pour la mesure sous pointes	64
2.8	Conclusion	65

2.1 Introduction

Dans ce travail, nous cherchons à caractériser des liquides sur une large bande fréquentielle et à extraire les paramètres caractéristiques de leur modèle de Debye. C'est pourquoi nous nous focalisons sur les méthodes de caractérisation non résonantes.

Les méthodes non résonantes peuvent être classées en méthode par réflexion et méthode par transmission. Dans les méthodes utilisant la transmission, le matériau à tester est inséré dans un morceau de ligne de transmission, et les propriétés du matériau sont déduites de la mesure de la réflexion sur l'échantillon et de la transmission à travers lui. Cette méthode est largement utilisée dans la mesure de la permittivité et de la perméabilité de matériaux à faible conductivité, et elle peut également être utilisée dans la mesure de l'impédance de surface des matériaux à haute conductivité.

Dans ce chapitre, nous nous intéressons aux méthodes par réflexion. Le cas des méthodes par transmission sera abordé au chapitre suivant.

Parmi les approches par réflexion, on trouve des mesures à l'aide de câbles coaxiaux en circuit ouvert ou court-circuités. Ces dernières sont plus largement utilisées dans la mesure des propriétés diélectriques des matériaux à des températures élevées. Dans cette méthode par réflexion à l'aide d'un câble coaxial court-circuité, l'échantillon étudié est généralement électriquement court, et cette méthode est souvent utilisée pour mesurer la perméabilité magnétique [1, 2].

Les sondes coaxiales à extrémité ouverte (OPEN-ENDED) ont été initialement développées pour la détermination sur une large bande des propriétés diélectriques des tissus biologiques [3, 4] ainsi que pour la spectroscopie diélectrique micro-ondes de liquides [5–11]. De plus, la technique a été adaptée pour la télédétection [12–15], l'agriculture [16–18], la géotechnique [19] et les applications physiques des sols [20–25]. Des analyses approfondies des techniques spectrométriques diélectriques, y compris la technique des lignes coaxiales ouvertes ont été fournis dans [26, 27].

Récemment, un intérêt accru a été observé dans les mesures des propriétés diélectriques *in vivo* en utilisant une sonde d'impédance coaxiale. La technique des lignes coaxiales ouvertes est une méthode expérimentale non destructive permettant la détermination précise des propriétés diélectriques dépendantes de la fréquence des composés biologiques en environnement fluide. Dans ce contexte, des sondes coaxiales ouvertes ont été développées sur la base des lignes et connecteurs coaxiaux conventionnels disponibles, et analysées pour une utilisation dans les investigations couplées hydrauliques-diélectriques. Des sondes ouvertes commerciales sont disponibles auprès d'Agilent avec un logiciel d'analyse associé (Agilent 85070E Dielectric Probe Kit), et ont été fréquemment utilisées dans plusieurs applications [18], [20–23], [32], [33]. Néanmoins, ces sondes sont coûteuses et le logiciel ne fonctionne qu'en combinaison avec les VNA Agilent. Un grand volume d'échantillon ($> 20\text{mm}^3$) est par ailleurs nécessaire pour que les échantillons puissent être testés.

Dans ce chapitre, nous étudions la spectroscopie diélectrique micro-ondes de milieux fluidiques à l'aide d'une sonde coaxiale à extrémité ouverte combinée à un analyseur de réseau via la modélisation numérique 3D par éléments finis du fonctionnement de ce capteur. Les phases de conception et d'analyse de ce dispositif se sont appuyées sur l'utilisation du simulateur électromagnétique 3D HFSS © de la société ANSYS. Ce logiciel de simulation électromagnétique 3D permet de concevoir et de simuler des produits électroniques haute fréquence tels que des antennes et des composants RF ou hyperfréquences.

Dans la deuxième partie, nous présenterons en détail le protocole que nous avons mis

au point et retenu dans la suite de ce travail afin d'effectuer la spectroscopie diélectrique de milieux fluides. Les résultats des simulations numériques et des mesures présentés valident cette approche. Par cette technique d'analyse des paramètres diélectriques par spectroscopie hyperfréquence nous cherchons ici principalement à rendre compte de la relaxation dipolaire dans le domaine fréquentiel du gigahertz.

La dernière partie de ce chapitre sera dédiée aux différents procédés de fabrication de nos microcomposants réalisés au sein de la plateforme technologique d'ESIEE-Paris. Ces micro-dispositifs d'analyse d'échantillons à l'échelle micrométrique, visant ici des applications dans les domaines biologique et médical, sont aussi connus sous le nom de « Lab-on-chip » (« laboratoire sur puce »).

2.2 Sonde coaxiale à extrémité ouverte

Nous étudions ici l'utilisation d'une sonde coaxiale à extrémité ouverte (OC) pour la spectroscopie diélectrique micro-ondes des liquides au moyen de calculs numériques par éléments finis en 3D combinés à des études expérimentales.

Sur la base de l'hypothèse de la propagation des ondes électromagnétiques en mode transverse dans la ligne coaxiale, la sonde coaxiale à extrémité ouverte a été largement étudiée d'un point de vue théorique [7], [11], [16], [30], [31].

L'onde électromagnétique se propageant le long de la ligne coaxiale interagit, au niveau de l'ouverture de la sonde, avec l'échantillon sous test, et elle est alors partiellement réfléchi. Ainsi, le coefficient de réflexion mesuré par un analyseur de réseau vectoriel (VNA) est lié à la différence de permittivité complexe de l'échantillon par rapport à celle du substrat. Cette méthode de caractérisation suppose que les matériaux mesurés ne sont pas magnétiques et que les interactions du champ électromagnétique avec les limites sans contact de l'échantillon ne sont pas détectées par la sonde. Pour satisfaire la deuxième hypothèse, l'épaisseur de l'échantillon doit être beaucoup plus grande que le diamètre de l'ouverture de la ligne coaxiale ouverte et le matériau doit générer suffisamment de pertes.

Une sonde, basée sur une ligne coaxiale conventionnelle et un connecteur (N, SMA) est présentée sur la Fig. 2.1. Comme le montre cette figure, une sonde coaxiale ouverte est essentiellement une section tronquée d'une ligne coaxiale, avec une extension facultative d'un plan de masse. Dans les applications réelles, le conducteur extérieur à l'extrémité ouverte est généralement plan pour fournir une capacité appropriée et assurer la répétabilité du chargement des échantillons. Le dispositif de mesure est généralement appelé sonde diélectrique coaxiale.

Les conducteurs sont en cuivre. Le diamètre du conducteur central est de 1 mm et ceci sur une longueur de 7,5 mm avant le connecteur de mesure. L'espace entre le conducteur central et le conducteur extérieur, d'épaisseur 1,5 mm, est rempli d'un matériau diélectrique, tel que le Téflon. Le diamètre extérieur de plan de masse ayant une épaisseur de 0,5 mm est de 6 cm. La partie inférieure de la sonde a été réalisée en polydiméthylsiloxane (PDMS).

Afin d'observer les caractéristiques des ondes électromagnétiques à l'ouverture de la sonde et d'estimer la sensibilité spatiale de la sonde pour la détermination des spectres diélectriques, des calculs de champ ont été réalisés sous HFSS avec des matériaux stan-

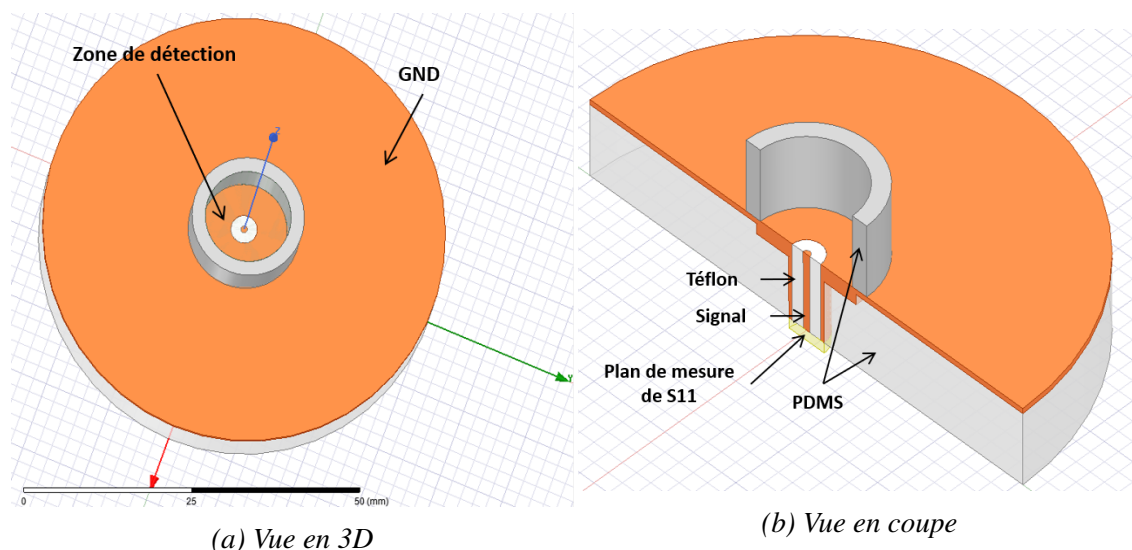
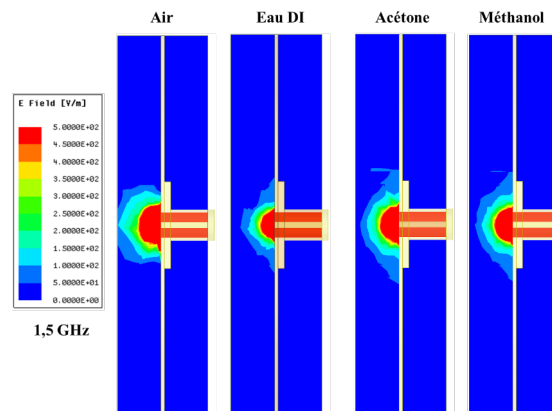


Figure 2.1 – Structure schématique de la sonde coaxiale.

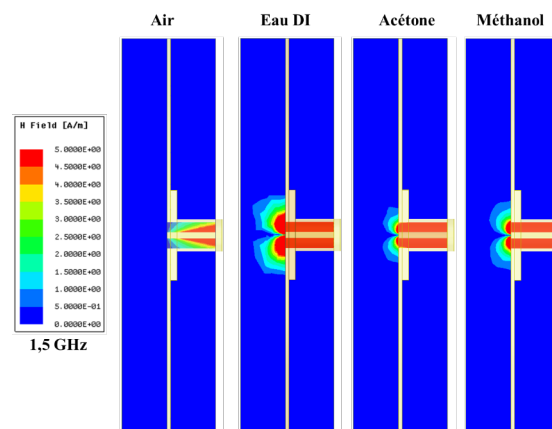
dard (liquides) dont les propriétés diélectriques sont bien définies suivant le modèle de Debye ((*éq. (1.11)*) du chap. 1). La structure électromagnétique 3D définie dans le logiciel Ansoft/HFSS est présentée sur la Fig. 2.1 et elle a été simulée sur une large bande de fréquences allant de 100 MHz à 7,5 GHz.

La Fig. 2.2 montre les distributions des amplitudes des champs électrique et magnétique à une fréquence de 1,5 GHz dans une section transversale de la sonde pour une hauteur d'échantillon de 7mm, et pour quelques matériaux étudiés (air, eau désionisée water, acétone et méthanol). La Fig. 2.3 montre la distribution en vue de dessus du champ électrique à l'ouverture de la sonde coaxiale ouverte à vide calculée à 1,5 GHz. Les distributions de champ électrique à 1,5 GHz indiquent une zone sensible stable d'environ 7 mm de hauteur sur un disque de rayon 4 mm au-dessus de l'ouverture de la sonde et ceci de façon presque indépendante des propriétés électromagnétiques des matériaux étudiés. Les simulations numériques indiquent en outre que cela est également vrai au-dessus de 1,5 GHz (non illustré ici). Cependant, le champ magnétique est affecté par les propriétés du matériau, ce qui devient clairement évident dans le cas de l'eau déionisée et indique des effets de rayonnement pour les matériaux à permittivité élevée et avec pertes. Ces effets peuvent conduire à des ondulations dans les spectres aux basses fréquences où la distribution est moins localisée et moins sensible au milieu.

Le coefficient de réflexion, mesuré à vide, est comparé avec celui simulé. Il est présenté dans le plan complexe sur la Fig. 2.4 suivante. On voit un bon accord entre la simulation et la mesure de la sonde à vide sur la bande fréquentielle 10 MHz- 7,5 GHz. Cependant, un petit décalage est observé entre les deux courbes. Cela s'explique par des erreurs systématiques liées au dispositif de mesure comprenant l'analyseur de réseau et la connectique associée.



(a) Amplitude du champ électrique à 1,5 GHz



(b) Amplitude du champ magnétique à 1,5 GHz

Figure 2.2 – Distributions des champs électrique et magnétique à 1,5 GHz en vue en coupe pour la sonde coaxiale en contact avec plusieurs matériaux standard.

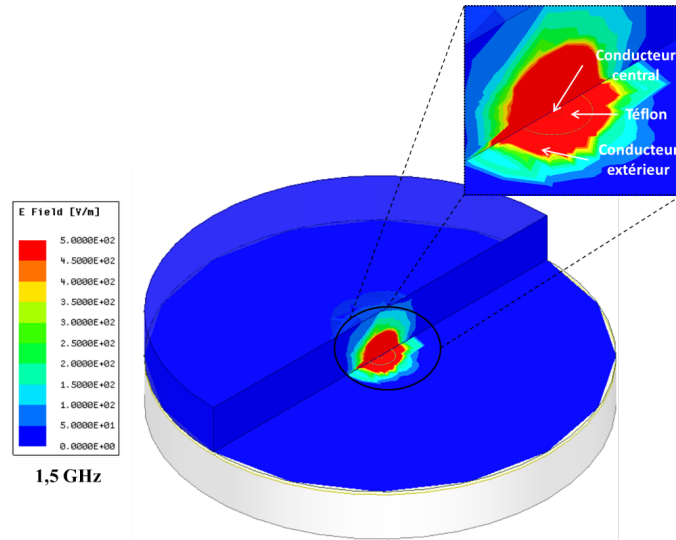


Figure 2.3 – Distribution du champ électrique de la ligne coaxiale ouverte à vide calculée à 1,5 GHz en vue 3D.

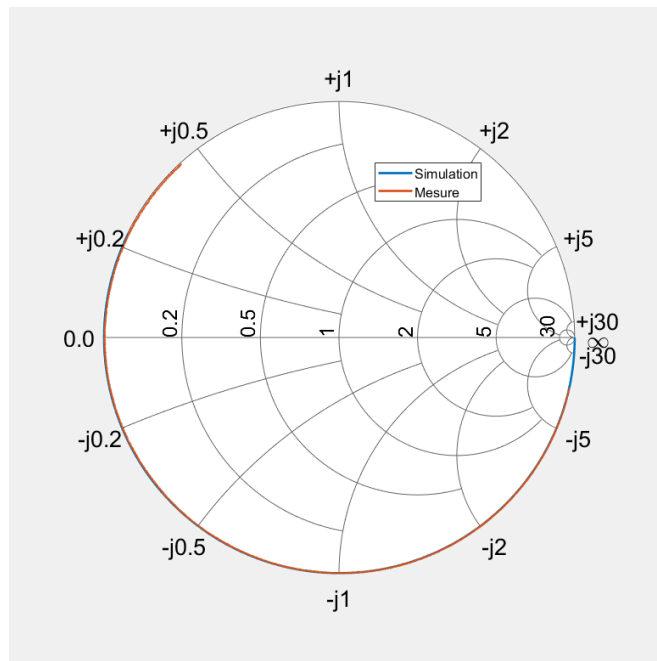


Figure 2.4 – Paramètre de coefficient de réflexion S_{11} sur l'Abaque de Smith, Comparaison simulation / mesure.

2.3 Procédure d'extraction des paramètres du liquide à partir du coefficient de réflexion

2.3.1 Principe de cette méthode

Sur la Fig. 2.5, un schéma électrique explicatif du fonctionnement de la sonde coaxiale est présenté ainsi qu'un schéma simplifié équivalent en éléments localisés. Les deux condensateurs placés en parallèle modélisent, dans une approximation du premier ordre, l'interface entre l'ouverture de la sonde et l'échantillon sous test. C_f est la capacité de frange associée à la sonde en ligne coaxiale et C_0 est une capacité de détection qui dépend des effets des champs situés à l'extérieur de la ligne et qui est couplée à l'échantillon via sa permittivité ϵ_r^* . L'impédance équivalente s'écrit donc :

$$Z^* = (j\omega C_f + j\omega \epsilon_r^* C_0)^{-1} \quad (2.1)$$

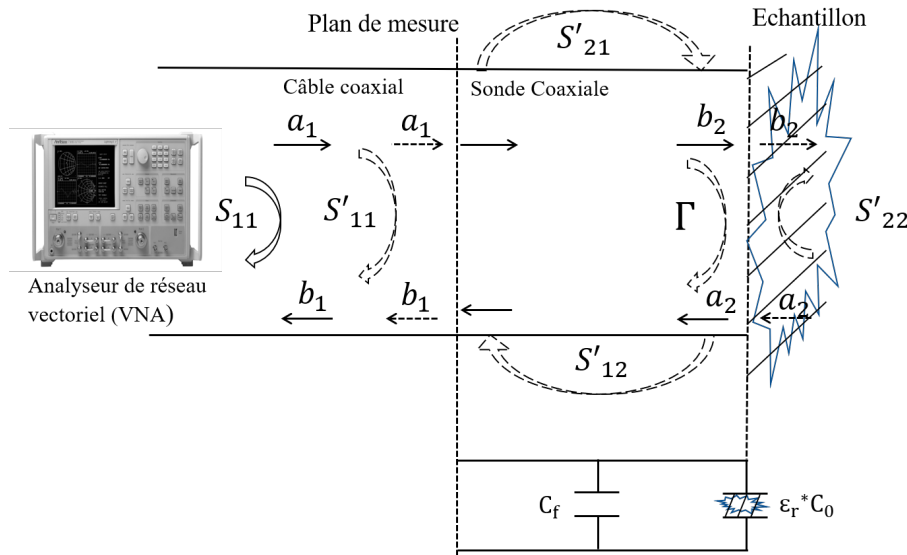


Figure 2.5 – Schéma électrique équivalent de la sonde coaxiale ouverte.

Comme le montre cette figure, il y a une discontinuité d'impédance (ou de permittivité) à l'interface entre l'extrémité ouverte de la ligne coaxiale et l'échantillon, et cette discontinuité d'impédance entraîne une réflexion à l'interface. Ainsi, l'interaction entre l'onde électromagnétique hyper-fréquence et le liquide qui est placé à l'extrémité de la sonde dépend des propriétés diélectriques du milieu. A partir du coefficient de réflexion complexe vu en bout de ligne, la permittivité diélectrique relative complexe peut donc être obtenue [34].

$$\epsilon_r^* = \frac{1 - \Gamma}{j\omega Z_0 C_0 (1 + \Gamma)} - \frac{C_f}{C_0} \quad (2.2)$$

où ω est la fréquence angulaire.

A partir du coefficient de réflexion complexe Γ à l'interface entre l'extrémité du capteur et l'échantillon, il est possible de déterminer l'impédance complexe Z^* qui dépend des propriétés diélectriques de ce dernier :

$$Z^* = \frac{1}{Y^*} = Z_0 \frac{1 - \Gamma}{1 + \Gamma} \quad (2.3)$$

où Z_0 est l'impédance caractéristique d'une ligne sans perte.

De manière générale, d'après le graphe de fluence de la sonde présenté sur la Fig. 2.6, la matrice de diffusion S' est donnée par :

$$\begin{pmatrix} b_1 \\ b_2 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} S'_{11} & S'_{12} \\ S'_{21} & S'_{22} \end{pmatrix} \begin{pmatrix} a_1 \\ a_2 \end{pmatrix} \quad (2.4)$$

Grâce au graphe de fluence de la sonde et l'éq. (2.4), et en notant que $S_1 = b_1/a_1$ et $\Gamma = a_2/b_2$, nous trouvons :

$$S_{11} = S'_{11} + S'_{12} \frac{a_2}{a_1} \quad \text{et} \quad \Gamma = \frac{S_{11} - S'_{11}}{S'_{22} S_{11} - \det S'} \quad (2.5)$$

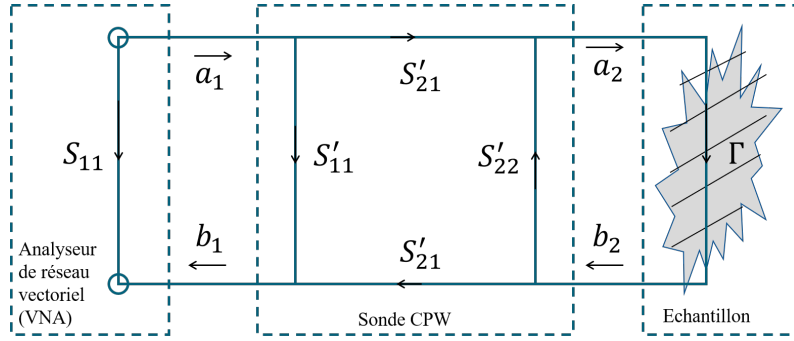


Figure 2.6 – Graphe de fluence de la sonde coaxiale ouverte.

En utilisant l'éq. (2.2) et l'éq. (2.5), on déduit l'équation bilinéaire suivante [9, 28] :

$$S_{11} = \frac{d_2 + d_3 \varepsilon_r^*}{d_1 + \varepsilon_r^*} \quad (2.6)$$

d_1 , d_2 et d_3 sont trois coefficients complexes données par :

$$d_1 = \frac{1 - S'_{22}}{j\omega Z_0 C_0 (1 + S'_{22})} + \frac{C_f}{C_0} \quad (2.7)$$

$$d_2 = \frac{S'_{11} - S'_{11} S'_{22} + S'_{12} S'_{21}}{j\omega Z_0 C_0 (1 + S'_{22})} + \frac{S'_{11} + S'_{11} S'_{22} - S'_{12} S'_{21}}{(1 + S'_{22})} \frac{C_f}{C_0} \quad (2.8)$$

$$d_3 = \frac{S'_{11} + S'_{11} S'_{22} - S'_{12} S'_{21}}{j\omega Z_0 C_0 (1 + S'_{22})} \quad (2.9)$$

Ainsi, à partir de la mesure du coefficient de réflexion S_{11} , il est possible d'extraire la permittivité complexe du milieu et ceci pour une large bande de fréquence. Cette méthode de mesure consiste à mesurer le paramètre S_{11} du circuit intégrant le matériau sous test avec un analyseur de réseau vectoriel (VNA). Pour calculer ces constantes d'étalonnage complexes, une procédure d'étalonnage doit être effectuée avant l'extraction des spectres diélectriques [35].

2.3.2 Etape d'étalonnage

En général, deux approches sont appliquées pour calculer le vecteur d :

- Procédure d'étalonnage en deux étapes : tout d'abord, le coefficient de réflexion est mesuré pour trois échantillons connus [5], [29], [35, 36], ensuite la permittivité complexe est calculée. On utilise la formulation théorique ou numérique du problème de la ligne coaxiale ouverte avec un plan de masse infini et une taille d'échantillon semi-infinie. Une inversion quasi analytique ou numérique est mise en œuvre [16], [35], [36], où les paramètres des éléments localisés ont été déterminés (avec ou sans tenir compte des effets du rayonnement) lors de la première étape [29].
- Procédure d'étalonnage en une étape : elle est basée sur une relation bilinéaire entre le coefficient de réflexion S_{11} mesuré avec le VNA et la permittivité complexe ε_r^* des matériaux de référence appropriés [9], [10], [27, 28], [37–39].

La caractérisation de la permittivité diélectrique du milieu sous test en deux étapes, utilisée dans ce travail, s'appuie sur l'analyse de la mesure du coefficient de réflexion S_{11} de la sonde et nécessite une phase d'étalonnage avec au moins trois milieux de référence qui ont un comportement bien connu dans la littérature (par exemple air, eau déionisée, acétone). L'équation suivante décrit une relation linéaire entre le coefficient de réflexion mesuré S_{11} et la permittivité relative complexe du milieu sous test :

$$\varepsilon_r^* = \frac{d_1 S_{11} - d_2}{d_3 - S_{11}} \quad (2.10)$$

où d_1 , d_2 et d_3 sont des nombres complexes déterminés par la mesure des coefficients de réflexion S_{11} des milieux de référence

Nous avons utilisé comme milieux d'étalonnage l'air ($\varepsilon_{r,O}^* = 1$, $S_{11} = S_{11}^O$), l'eau déionisée ($\varepsilon_r^* = \varepsilon_{r,W}^*$, $S_{11} = S_{11}^W$), et l'acétone ($\varepsilon_r^* = \varepsilon_{r,A}^*$, $S_{11} = S_{11}^A$) afin de calculer d_1 , d_2 et d_3 .

Ainsi, selon l'éq. (2.10), nous obtenons les relations (3.1) (3.2) (3.24) :

$$S_{11}^O d_1 - d_2 - \varepsilon_{r,O}^* d_3 = \varepsilon_{r,O}^* S_{11}^O \quad (2.11)$$

$$S_{11}^W d_1 - d_2 - \varepsilon_{r,W}^* d_3 = \varepsilon_{r,W}^* S_{11}^W \quad (2.12)$$

$$S_{11}^A d_1 - d_2 - \varepsilon_{r,A}^* d_3 = \varepsilon_{r,A}^* S_{11}^A \quad (2.13)$$

Ce système d'équations peut être réécrit sous forme matricielle comme suit :

$$\begin{pmatrix} S_{11}^O & -1 & -\varepsilon_{r,O}^* \\ S_{11}^W & -1 & -\varepsilon_{r,W}^* \\ S_{11}^A & -1 & -\varepsilon_{r,A}^* \end{pmatrix} \begin{pmatrix} d_1 \\ d_2 \\ d_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\varepsilon_{r,O}^* S_{11}^O \\ -\varepsilon_{r,W}^* S_{11}^W \\ -\varepsilon_{r,A}^* S_{11}^A \end{pmatrix} \propto M.d = e \quad (2.14)$$

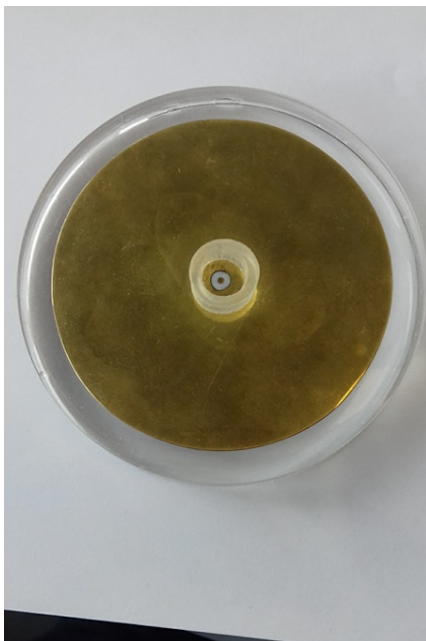
Dans ce cas, le vecteur c sera déterminé numériquement par la relation $d = M^{-1}.e$. Ensuite, la permittivité relative complexe ε_r^* d'un échantillon inconnu sera obtenue par la mesure du coefficient de réflexion S_{11} en utilisant l'éq. (2.10). Cependant, si les mesures sont faites avec plus de trois échantillons connus, alors l'inverse de la matrice M doit être réécrit comme $d = (M^T M)^{-1} M^T .e$ et résolu numériquement.

2.4 Résultats expérimentaux avec la sonde coaxiale

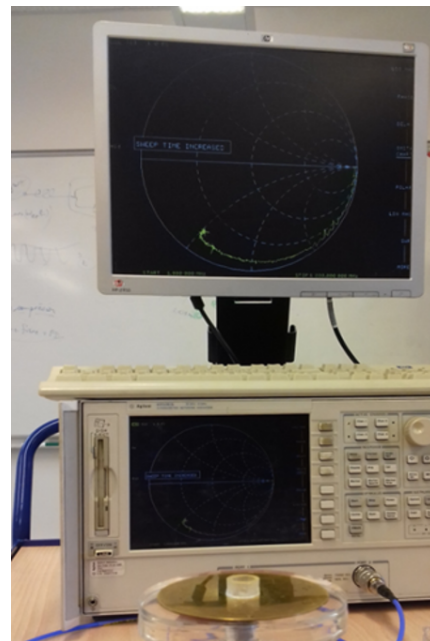
La sonde coaxiale à extrémité ouverte est largement utilisée pour mesurer les propriétés diélectriques d'un échantillon liquide ou semi-solide. Lorsqu'une sonde coaxiale est utilisée pour mesurer des échantillons solides, la rugosité de la surface de l'échantillon affectera les résultats de mesure, de sorte que les surfaces de mesure des échantillons sont généralement polies. La technique de mesure nécessite essentiellement que l'échantillon possède une seule surface plate et lisse. Son diamètre doit être au moins deux fois plus grand que le diamètre de la sonde. Dans les expériences, il est nécessaire que la présence d'un objet derrière l'échantillon n'affecte pas les résultats de mesure. Cela implique que l'épaisseur de l'échantillon permette à l'amplitude du champ électrique à l'extrémité de l'échantillon d'être d'au moins deux ordres de grandeur plus petite que celle à l'interface sonde / échantillon. La plupart des modèles théoriques supposent que l'échantillon est d'épaisseur semi-infinie.

Dans ce chapitre, une procédure d'étalonnage basée sur l'approche en deux étapes a été appliquée pour éviter les instabilités dans la détermination de la permittivité. Ces instabilités peuvent apparaître en raison d'hypothèses dans la formulation théorique du problème inverse ou d'erreurs numériques dans la modélisation de la sonde coaxiale ouverte utilisée.

Dans un premier temps, le calibrage de l'analyseur de réseau vectoriel est effectué. Ensuite, l'étalonnage à l'aide d'un matériau de référence (avec une constante diélectrique connue ϵ_r^* est réalisé avec la sonde en utilisant comme milieux de référence l'air, l'eau déionisée et l'acétone. Comme illustré sur la Fig. 2.7, les liquides testés sont contenus dans un réservoir de polydiméthylsiloxane (PDMS) entourant les électrodes de la sonde. Les mesures ont été effectuées sur une bande de fréquences de 400 MHz à 7,5 GHz. Les données extraites de l'analyseur de réseau pour chacun de ces milieux ont été stockées pour la phase de traitement.



(a) Vue en dessus



(b) Mesure du S_{11} de la sonde

Figure 2.7 – Sonde coaxiale à ligne ouverte.

Tous les échantillons ont été prélevés de bouteilles de liquides de haute pureté récemment ouvertes, obtenues auprès de salle blanche de l'ESIEE-Paris. Les liquides ont été choisis pour plusieurs raisons, notamment pour couvrir une gamme de valeurs de permittivité et de pertes. L'éthanol et le méthanol sont couramment utilisés comme liquides de référence et il était donc important de les inclure, tandis que l'isopropanol offre une permittivité un peu plus faible. L'acétone est un liquide largement utilisé, à faible toxicité et à faibles pertes. Cependant, toute personne utilisant ce liquide doit être consciente que l'exposition à l'atmosphère provoque une augmentation significative de la permittivité observée en très peu de temps car elle est très hygroscopique contrairement aux liquides organiques mesurés ici comme l'eau déionisée.

Lors de la simulation de la sonde, nous avons implémenté les valeurs de Debye des fluides utilisés pour valider la partie analyse de la méthode de caractérisation présentée et la conception de la sonde coaxiale. La Fig. 2.8 présente le positionnement des coefficients de réflexion obtenus par simulation et mesure. Les valeurs des permittivités complexes implémentées dans le logiciel de simulation sont issues de la littérature et correspondent à des liquides à la température de 20 °C. Cependant, les mesures ont été faites à la température ambiante, ce qui peut expliquer quelques différences.

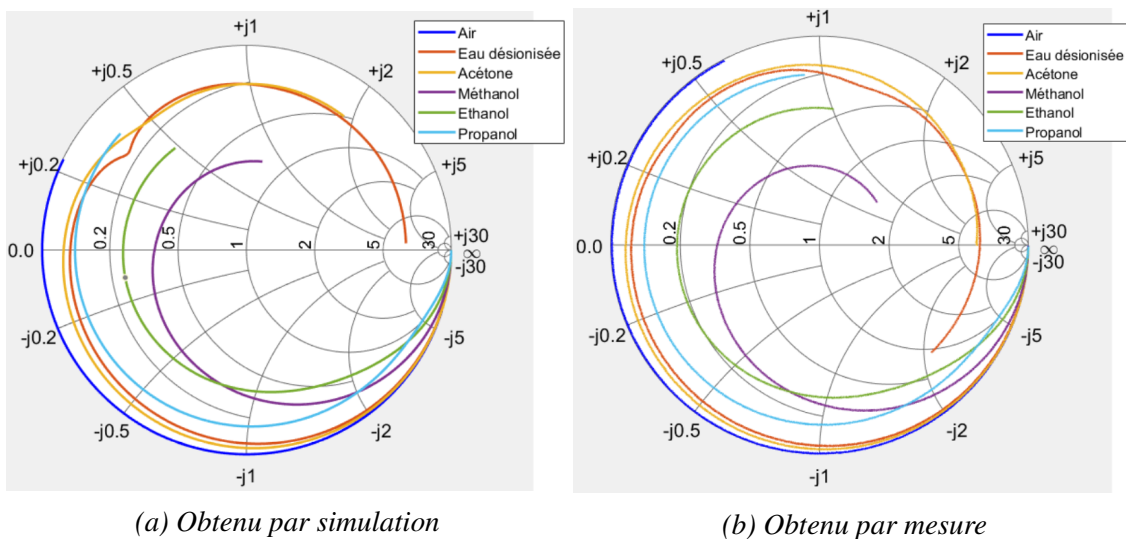


Figure 2.8 – Représentation du S_{11} sur l'Abaque de Smith correspondant à différents milieux sous-test.

L'amplitude et la phase du coefficient de réflexion détectées dépendent des propriétés diélectriques du matériau placé à l'extrémité de la sonde coaxiale ouverte. Les résultats numériques obtenus par simulation ont été utilisés pour valider le procédé d'extraction. Le traitement des données a été effectué sous Matlab (MathWorks) par un algorithme développé lors de ce travail. L'air, l'eau déionisée et l'acétone sont considérés comme des liquides de référence pour effectuer l'étape d'étalonnage nécessaire à la détermination des spectres diélectriques d'autres milieux. Ainsi, après un post-traitement, les résultats provenant de la simulation présentent une bonne concordance avec les valeurs théoriques implémentées et ceci sur toute la bande fréquentielle. La Fig. 2.9 présente les parties réelle et imaginaire de la permittivité extraite du méthanol, de l'éthanol et du propanol à 25 °C.

Tous les paramètres S issus des mesures sont stockés dans des fichiers, et l'analyse et le traitement des données sont intégrés dans le logiciel Matlab afin d'extraire les permittivités diélectriques des différents échantillons. Pour obtenir les valeurs de la permittivité

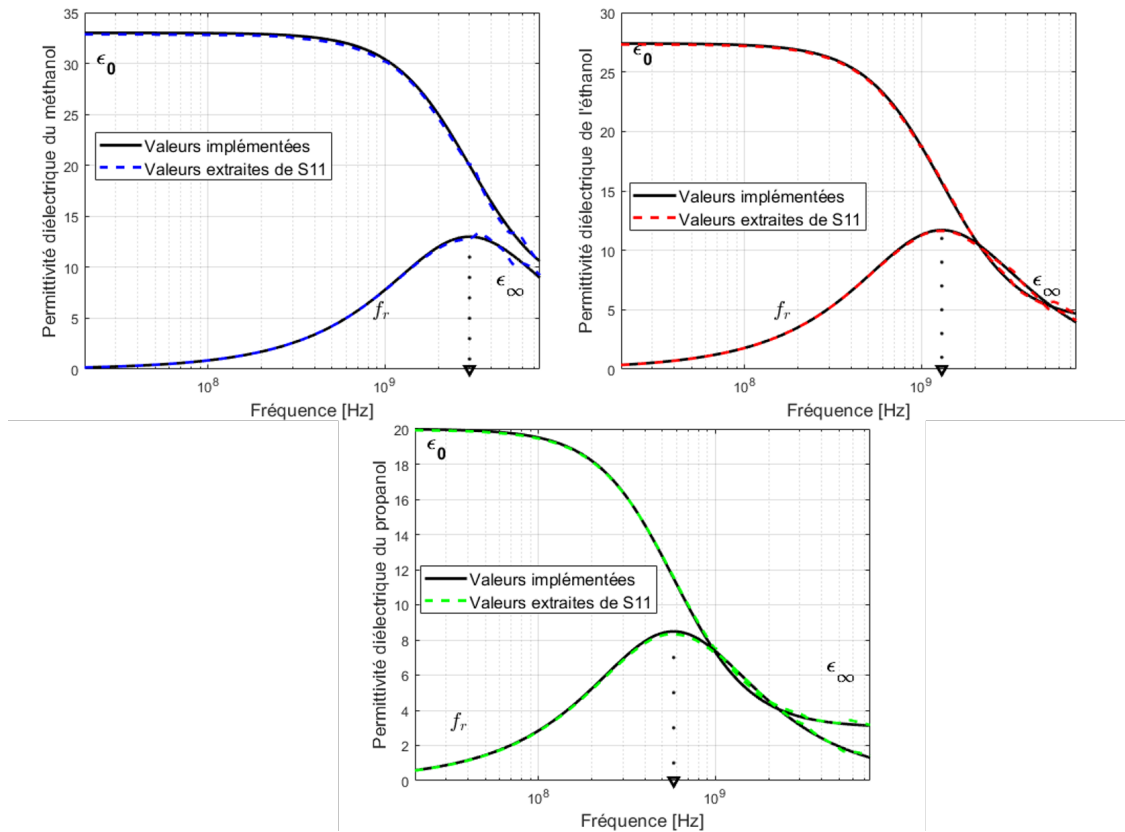


Figure 2.9 – Représentation des valeurs de ϵ_r^* extraites des simulations du capteur sous différentes conditions de charge.

complexe du liquide sous test à partir des données mesurées, le procédé d'étalonnage a été mise en œuvre à partir des mesures effectuées avec trois liquides de référence de permittivité bien connue que sont l'air, l'eau déionisée et l'acétone. Enfin, le méthanol, l'éthanol et l'isopropanol sont mesurés. Les résultats sont comparés dans les mêmes conditions aux valeurs obtenues avec la sonde commerciale l'Agilent 85070E (Fig. 2.10) avec le logiciel d'analyse associé (Agilent 85070E Dielectric Probe Kit) et ceci jusqu'à 7,5 GHz.

Une comparaison entre les parties réelle et imaginaire de la permittivité mesurées pour ces trois liquides en fonction de la fréquence avec les valeurs extraites avec la sonde Agilent 85070E est présentée sur les Figs. 2.11 à 2.13. Les données mesurées par ces deux dispositifs sont très proches les unes des autres prouvant que la procédure de mesure appliquée est adéquate. Cependant, comme prévu, la précision est considérablement réduite en dessous d'environ 100 MHz. Cette détérioration est particulièrement visible pour le propan-2-ol, avec une précision décroissante en dessous d'environ 150 MHz. De plus, dans le cas de l'eau déionisée ainsi que pour l'eau du robinet, des résonances marquées sont apparues sur les parties réelle et imaginaire dans la plage de fréquences autour de 1 GHz en raison de la géométrie de la sonde et des effets de rayonnement.

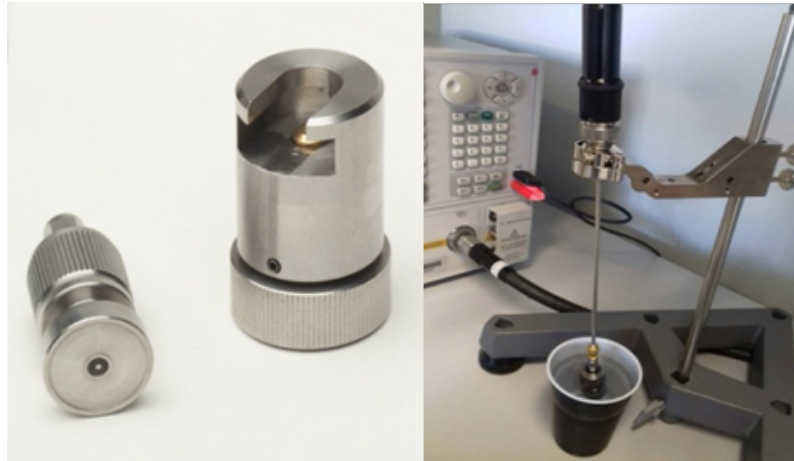


Figure 2.10 – Sonde à effet de bout 85070E d'Agilent(gauche), Mesure au laboratoire ESYCOM (droite).

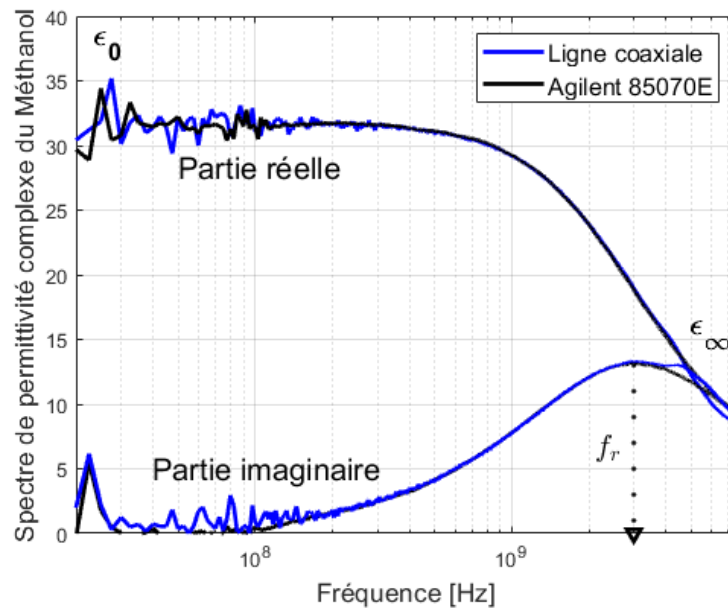


Figure 2.11 – Spectre de permittivité diélectrique du méthanol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.

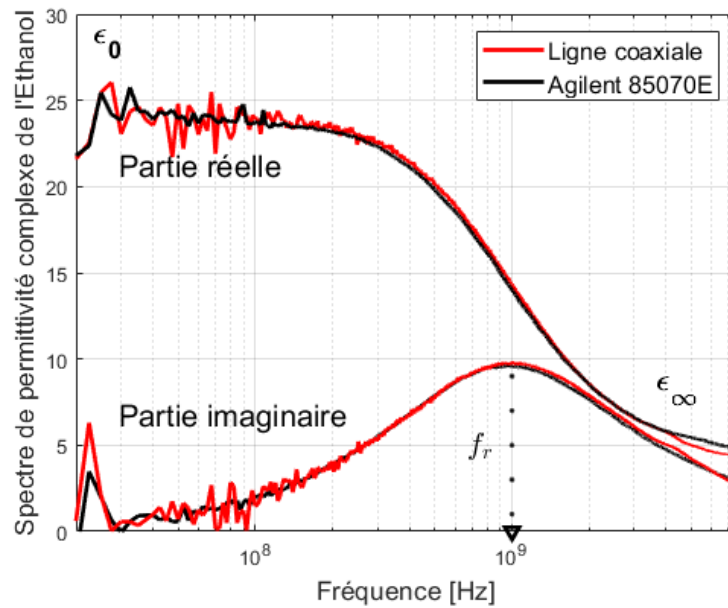


Figure 2.12 – Spectre de permittivité diélectrique de l'Ethanol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.

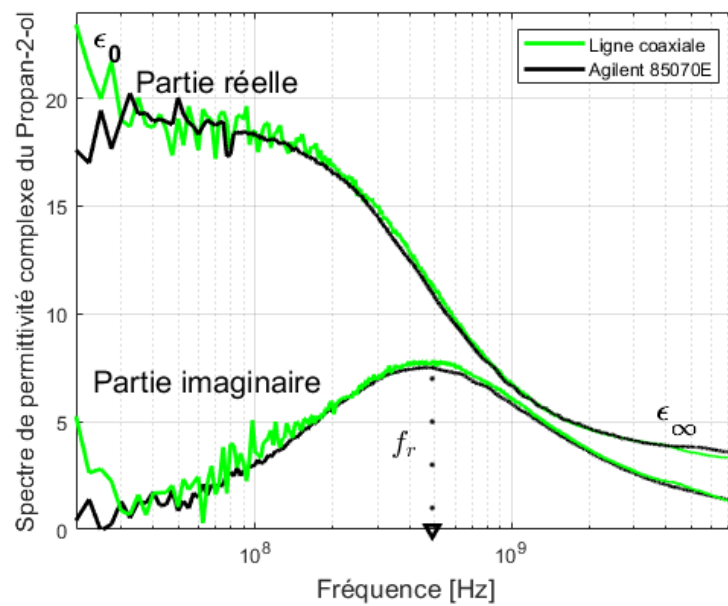


Figure 2.13 – Spectre de permittivité diélectrique du Propan-2-ol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.

Les avantages de la sonde coaxiale ouverte comprennent principalement la facilité relative de la procédure de mesure, les capacités de mesure à large bande et l'éventuelle mesure en ligne. D'autre part, les principaux inconvénients sont les étalonnages répétitifs, qui doivent être effectués avant chaque série de mesures de permittivité, et les erreurs, qui peuvent être causées par des entrefers formés entre la sonde et le liquide à tester.

Avec le développement de la microélectronique et des microtechnologies, nous pouvons transposer les méthodes d'analyse à l'échelle micrométrique, ce qui permet de réduire le volume d'analyse à celui d'une goutte élémentaire de solution injectée dans un canal microfluidique. L'ensemble de ces travaux montre que les dispositifs hyperfréquences présentent un fort potentiel pour l'investigation des liquides polaires. Nous avons donc, dans cette thèse, cherché à étendre ce type de capteurs à la caractérisation de cellules biologiques pour lesquelles les systèmes microfluidiques présentent de nombreux avantages puisqu'ils permettent de travailler à l'échelle cellulaire, sans avoir recours à un marquage des cellules et sans les dénaturer, tout en les conservant dans un milieu biologique.

La miniaturisation de ces types de dispositifs et la réduction des volumes de fluide à caractériser contribuent à enrichir l'étude et l'analyse des cellules biologiques. Durant notre travail de thèse, nous allons valider l'utilisation de la spectroscopie diélectrique hyperfréquence à l'aide d'un micro-dispositif, en fixant pour objectif de pouvoir révéler l'état interne d'une cellule biologique, et cela en opérant dans le milieu de culture, sans marquage et sans contact.

Au cours de la dernière partie de ce chapitre, nous présenterons les procédés de fabrication de nos microcomposants fluidiques réalisés au sein de la plateforme technologique de l'ESIEE-Paris qui seront utilisés dans les prochains chapitres de ce manuscrit pour la caractérisation diélectrique large bande de matériaux.

2.5 Fabrication en salle blanche

Ce paragraphe présente les techniques utilisées pour fabriquer les biocapteurs passifs utilisés par la suite pour la caractérisation diélectrique des milieux liquides. Afin de pouvoir réaliser un grand nombre de composants, l'utilisation de la technique de fabrication collective est privilégiée. Cela permet de réaliser environ 35 biocapteurs sur une plaquette de 10 cm de diamètre. Ces biocapteurs sont composés d'un guide d'onde coplanaire métallique en or sur lequel est intégré un canal microfluidique dont les murs sont constitués d'une résine photosensible négative, la SU-8. Ce canal permet le passage d'un fluide au-dessus de la zone sensible de détection. Les circuits HF sont fabriqués collectivement sur un substrat en verre par la technique de photolithographie. La fabrication se déroule en deux étapes :

- élaboration des lignes coplanaires en or sur le substrat de verre,
- élaboration du canal microfluidique réalisé à l'aide de la résine photosensible SU-8

La fabrication du biocapteur s'appuie sur l'utilisation des procédés issus de la microélectronique (photolithographie) [40]. Elle se décompose en 4 étapes principales :

1. dépôt d'une couche mince conductrice (Au) sur un substrat en verre,

2. photolithographie et gravure de la couche mince conductrice pour définir la ligne CPW,
3. dépôt d'une couche de résine SU-8 en vue de l'élaboration du micro-canal,
4. photolithographie et dissolution de la résine SU-8 pour la structuration du canal microfluidique en bout de ligne CPW.

D'un point de vue général, 4 étapes caractérisent tous les processus de fabrication, comme indiqué sur la Fig. 2.14 :

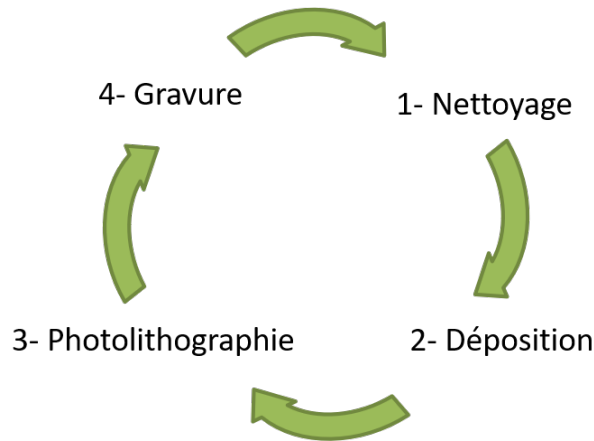


Figure 2.14 – Etapes des procédés de fabrication en salle blanche.

Dans ce contexte, la fabrication des canaux microfluidiques est un enjeu majeur dans la réalisation du biocapteur. Leur élaboration comporte certains points cruciaux :

- le matériau utilisé pour les micro-canaux doit être transparent et biocompatible car cette transparence permet une visualisation sous les microscopes,
- une fabrication des microcanaux collective est à privilégier afin de diminuer le coût de production et augmenter le rendement,
- enfin un alignement précis des pièges mécaniques et des murs du canal microfluidique par rapport aux coupures capacitives de circuit HF est nécessaire afin d'obtenir la meilleure sensibilité et reproductibilité des résultats de mesure.

Après avoir dessiné les différents niveaux des structures sur le logiciel HFSS, un jeu de masques a été fabriqué. Chaque niveau correspond à une étape technologique particulière. Dans notre cas, 3 niveaux sont requis : un pour la délimitation des circuits HF, un second pour la fabrication des canaux fluidiques et un troisième pour la fabrication des pièges afin de localiser les composés biologiques (ceux-ci seront présentés au chapitre 5).

2.5.1 Elaboration du circuit HF

● Nettoyage du substrat

Le procédé commence par un nettoyage du substrat (Fig. 2.15 et Fig. 2.16), de 1 mm (ou 0,5 mm) d'épaisseur, pour éliminer tout contaminant organique ou métallique présent sur le substrat. Le processus de nettoyage consiste en 2 étapes. La première, le nettoyage à l'acide, est utilisée pour attaquer la surface et éliminer le dioxyde de silicium natif des plaquettes. Cette étape n'est pas nécessaire dans le cas d'un substrat en verre. La deuxième, le nettoyage au solvant, a pour objectif d'éliminer les huiles et les résidus organiques qui apparaissent.



Figure 2.15 – Paillasse de chimie pour le nettoyage des substrats.

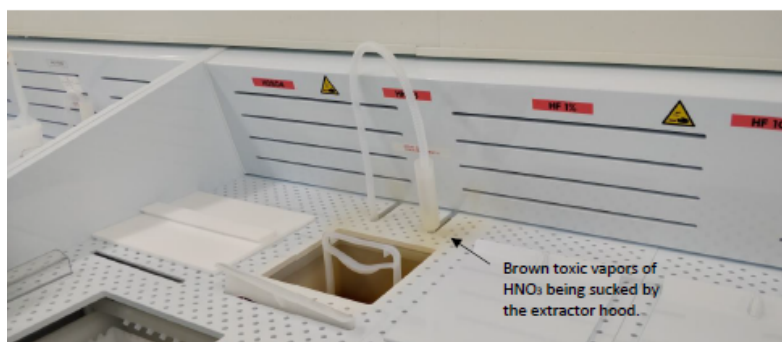


Figure 2.16 – Nettoyage à l'acide.

L'acide fluorhydrique (HF) est utilisé pour éliminer le dioxyde de silicium natif des plaquettes. L'HF est un produit chimique très dangereux de sorte qu'un équipement de protection doit être porté lors de son utilisation. L'utilisation d'HF nécessite au moins une autre personne dans la salle blanche. Il doit être manipulé dans un banc à flux d'air laminaire, avec des gants en néoprène et une protection oculaire. Tous les petits déversements doivent être essuyés immédiatement avec des lingettes et rincés. Ensuite, deux types de solvant ont été utilisés à savoir l'acide nitrique (HNO_3) et l'acide sulfurique (H_2SO_4).

- **Dépôt de métal (pulvérisation ou "Sputtering" en anglais)**

Le dépôt par pulvérisation est une méthode de dépôt physique en phase vapeur (PVD) consistant à déposer un film mince par pulvérisation. Le matériau à déposer (l'or dans notre cas) est placé sur une des électrodes (cathode) et le substrat (le verre) sur l'autre électrode (Anode) (Fig. 2.17). La Fig. 2.18 montre l'équipement utilisé pour ce processus.

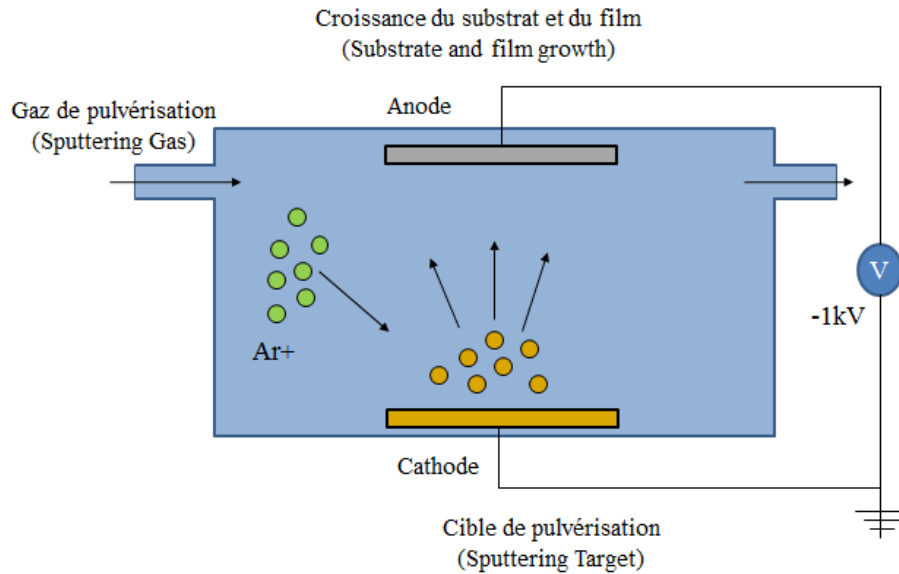


Figure 2.17 – Principe de dépôt de couches minces.



Figure 2.18 – Équipement de dépôt de couches minces.

Lors de la première étape, des couches minces de TiW (20 nm – couche d'accroche) puis d'or (300 nm – couche de métallisation) sont déposées par pulvérisation cathodique sur le substrat en verre. La Fig. 2.19 présente la plaquette de verre avant et après la pulvérisation cathodique.

Après la pulvérisation cathodique, une couche de résine photosensible d'épaisseur 1,1 μm est déposée par le processus de "spin coating" sur le substrat comme illustré sur la Fig. 2.20. La résine PFR est versée au centre de la cible et le support est mis en rotation. La plaquette est accélérée jusqu'à la vitesse de 3500 tr/min avec une accélération de 1000 m/s^2 pendant 30 secondes. Les forces centrifuges provoquent le déplacement de la résine photosensible sur toute la surface jusqu'à l'extérieur de la plaquette pour former un film mince de résine. L'épaisseur du film dépend de la viscosité du fluide, de la vitesse de rotation de la cible, du type de cible et de l'accélération au début de la rotation.

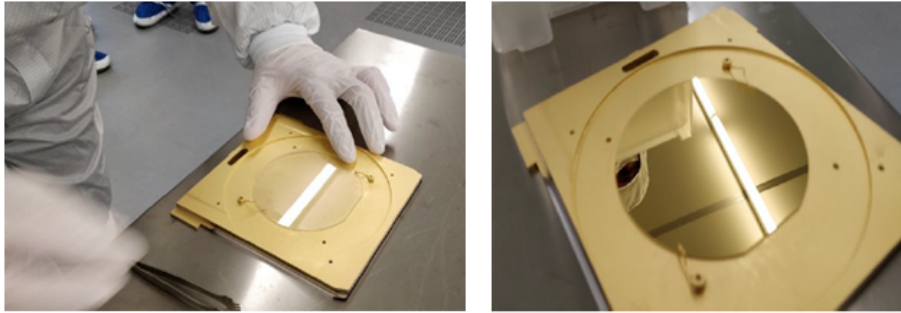


Figure 2.19 – Plaquette de verre avant (gauche) et après la pulvérisation (droite).

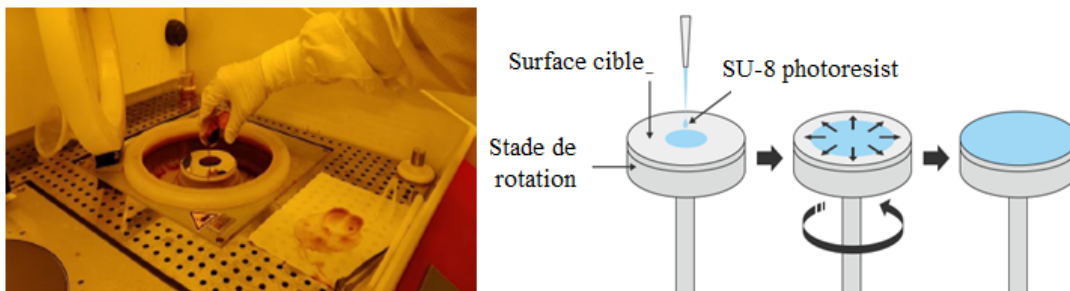


Figure 2.20 – Dépôt d'une couche mince de la résine photoresist par le processus « spin-coating ».

Après avoir réalisé un recuit de la résine, la plaquette a été exposée à la photolithographie (Fig. 2.21). Lors de cette étape, l'utilisation d'un masque, formé de zones opaques et transparentes, permet de transférer l'image du capteur que l'on souhaite reproduire sur la plaquette.

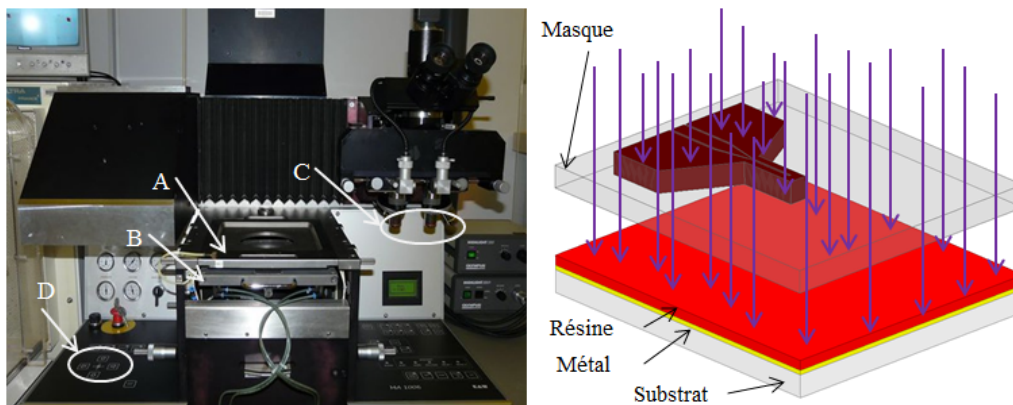


Figure 2.21 – Equipement de photolithographie MA1006 BSA d'ESIEE-Paris. A : support fixe le masque, B : support fixe le wafer, C, D : outils d'alignement.

L'exposition de la résine PFR aux rayons UV a pour objectif de modifier ses propriétés locales rendant ainsi la résine soluble ou non, après recuit, dans un solvant. La plaquette est ensuite développée, pour éliminer la résine au-dessus des zones métalliques exposées et non désirées. Ces ouvertures dans la résine permettent la gravure du métal pour structurer la couche du métal déposé sur le substrat (Fig. 2.22).

Ensuite, un nettoyage solvant est effectué pour enlever la résine et passer au processus de photolithographie dédié au micro-canal épais. Nous avons nettoyé nos plaquettes avec

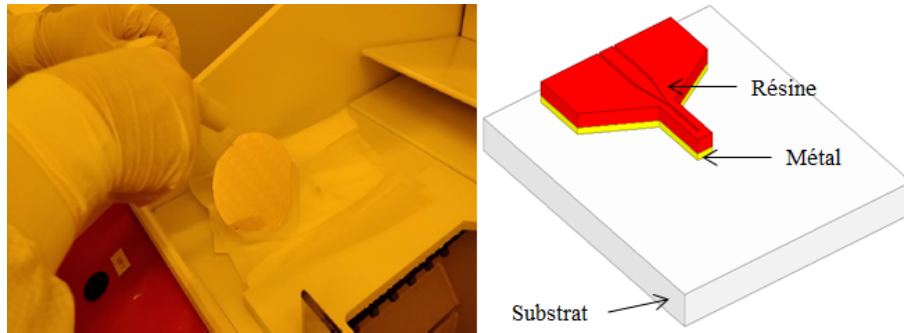


Figure 2.22 – Développement de la résine SU-8 et des zones métalliques exposées.

de l'acétone et de l'IPA suivi d'un rinçage à l'eau déionisée. Un passage à l'étuve à 250 °C pendant 15 min finalise cette étape. De cette façon, nous étions sûrs que la résine photosensible positive était complètement éliminée. Les dispositifs obtenus par ce procédé de fabrication sont présentés sur la Fig. 2.23.

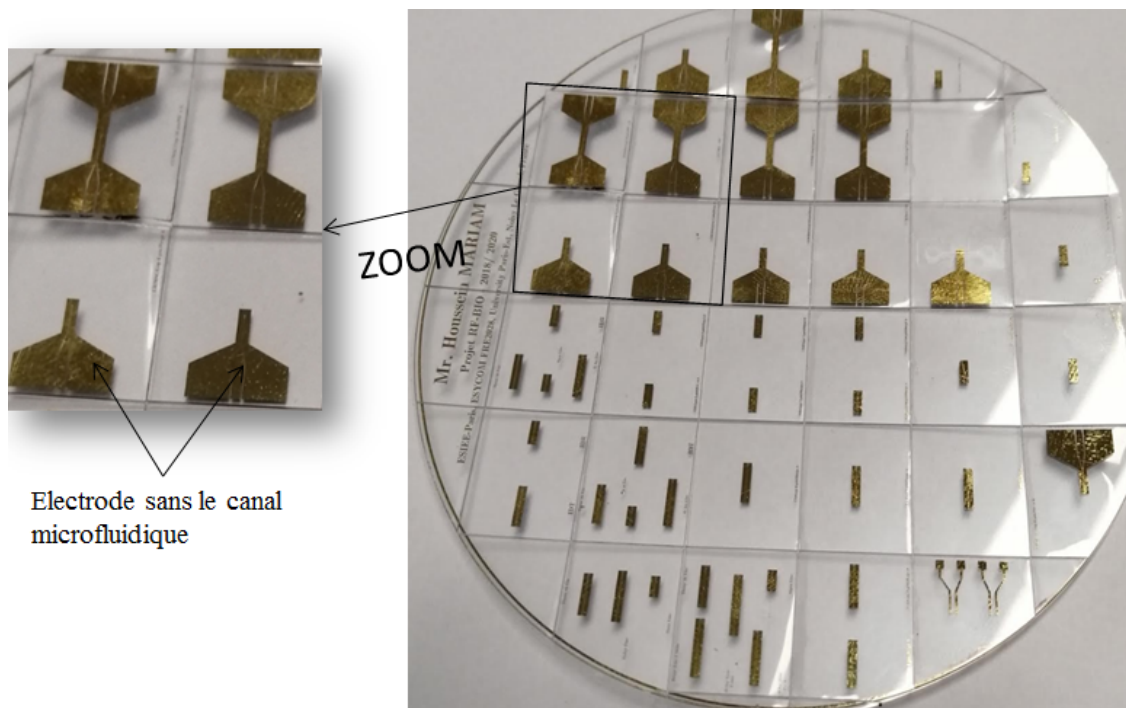


Figure 2.23 – Circuits hyperfréquences miniaturisés (après la découpe).

2.5.2 Elaboration du micro-canal microfluidique

Dans un deuxième temps, après avoir élaboré le circuit HF, nous avons réalisé un canal microfluidique en utilisant une résine photosensible (SU8-2025). Le processus de photolithographie précédemment réalisé pour la résine PFR 7790 est répété pour la résine négative SU8-2025. Le terme « négatif » désigne une résine photosensible dans laquelle les parties exposées aux UV deviennent réticulées, tandis que le reste du film reste soluble et peut être éliminé par solvant au cours du développement.

La première étape du spin coating est effectuée à 500 tours par minute, avec une accélération de 100 m/s^2 pendant 5 secondes. La deuxième étape du spin coating est

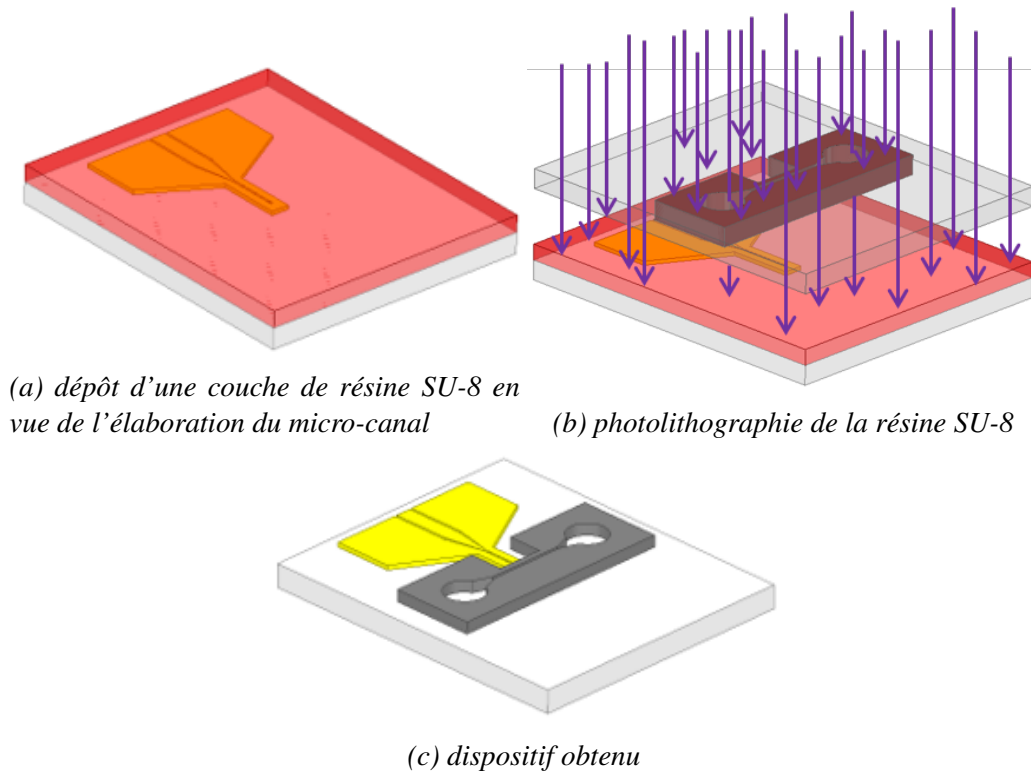


Figure 2.24 – Etapes de réalisation des canaux micro fluidiques.

réalisée à 3000 tr/min, avec une accélération de 300 m/s^2 pendant 30 secondes.

L'exposition aux UV se fait de la même manière que pour la résine photosensible négative, mais avec un masque positif qui définit la forme du microcanal lors du développement (Fig. 2.24b). Le développement est l'étape au cours de laquelle la résine photosensible SU8 non liée est diluée dans un solvant. Le temps de développement de la SU8 dépend de l'épaisseur de la couche. Une fois cette étape terminée, les canaux sont prêts (Fig. 2.24c) et la plaquette est prête à être coupée et testée. Les dispositifs obtenus par ce procédé de fabrication sont présentés sur la Fig. 2.25.

2.5.3 Elaboration du piège mécanique

Le canal microfluidique et le piège mécanique sont réalisés en polymère photosensible (résine SU8-2025). Les circuits HF et les canaux microfluidiques sont fabriqués collectivement sur le substrat en verre par la technique de "lift-off". Dans ce contexte, la fabrication des pièges est un enjeu majeur dans la réalisation du biocapteur. Leur élaboration revêt certains points cruciaux :

- le matériau utilisé doit être transparent et biocompatible, - il faut une bonne adhésion des pièges au substrat en verre et au circuit métallique afin d'éviter des problèmes de fuites,

- une fabrication collective des pièges est à privilégier afin de diminuer le coût de production et augmenter le rendement, - une forme du piège comporte une face concave transversale au sens de l'écoulement du fluide pour s'adapter à la forme sphérique des microparticules et ainsi mieux les piéger,

- enfin une précision d'alignement des pièges mécaniques sur le centre de la zone de détection de circuit HF est nécessaire afin d'obtenir la meilleure sensibilité et reproducti-

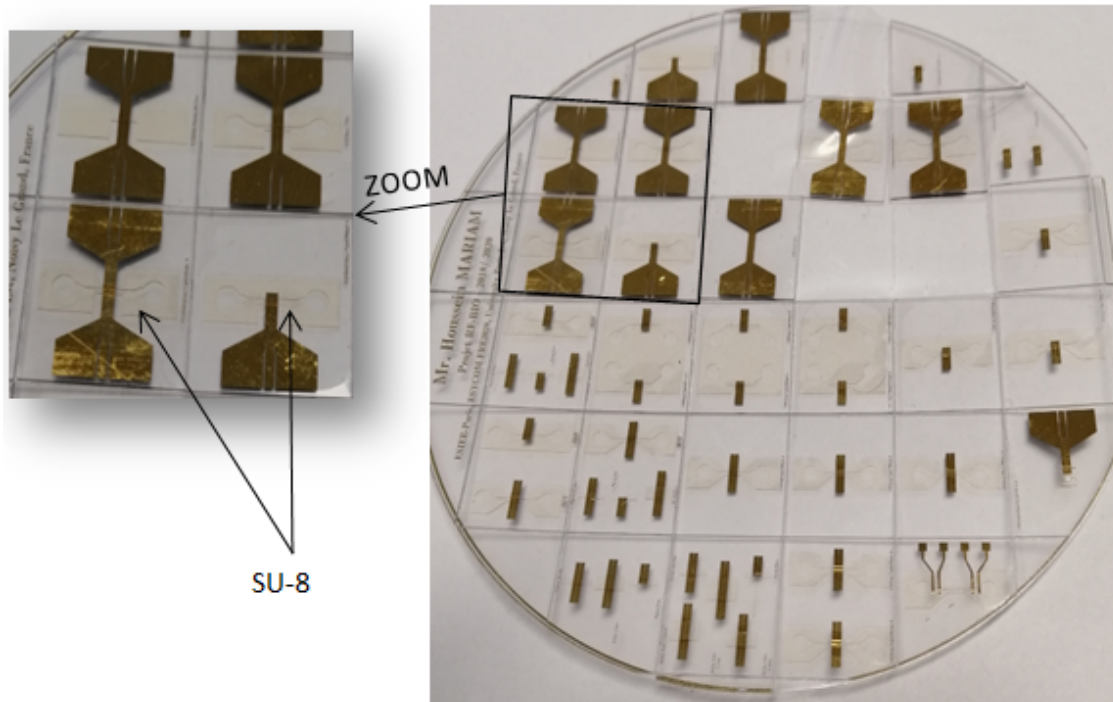


Figure 2.25 – Plaquette découpée prête à être testée.

bilité des résultats de mesure.

Le même processus de photolithographie précédemment réalisé pour la résine SU8-2025 pour les murs du micro-canal est répété pour élaborer le piège.

L’alignement de l’insolation aux UV de la résine SU-8 sur le circuit RF a été fait de façon manuelle à l’aide des platines d’alignement conventionnels sous un microscope. Pour faciliter l’alignement, des marques ont été prévues sur les wafers. Ces marques d’alignement se présentent sous la forme des croix (du métal) dans les anti-croix (SU-8) (Fig. 2.26). Les trois croix sont proches, avec un espacement de 200 microns entre les motifs d’alignement. Des flèches et des textes ont été également ajoutés pour indiquer là où sont placés les croix d’alignement. L’ensemble de croix/anti-croix est utilisé pour aligner le masque de la métallisation avec le masque qui définit le microcanal. Le deuxième ensemble assure l’alignement avec le masque qui définit le piège.

Ainsi, un bon alignement est assuré par la superposition des anti-croix dessinés sur le masque du canal microfluidique et celui des pièges avec les croix d’alignement présentes sur le masque du circuit HF.

2.6 Dispositif d’adaptation aux connecteurs SMA

Afin d’effectuer la mesure à l’aide d’un analyseur de réseau vectoriel (VNA : Vector Network Analyzer), nous avons proposé un dispositif de mesure permettant d’assurer un contact entre un biocapteur planaire comme précédemment présenté et un PCB intégrant un connecteur SMA, et ceci à l’aide d’un support 3D ad hoc. La Fig. 2.27 ci-dessous présente les dimensions du support et du PCB utilisés.

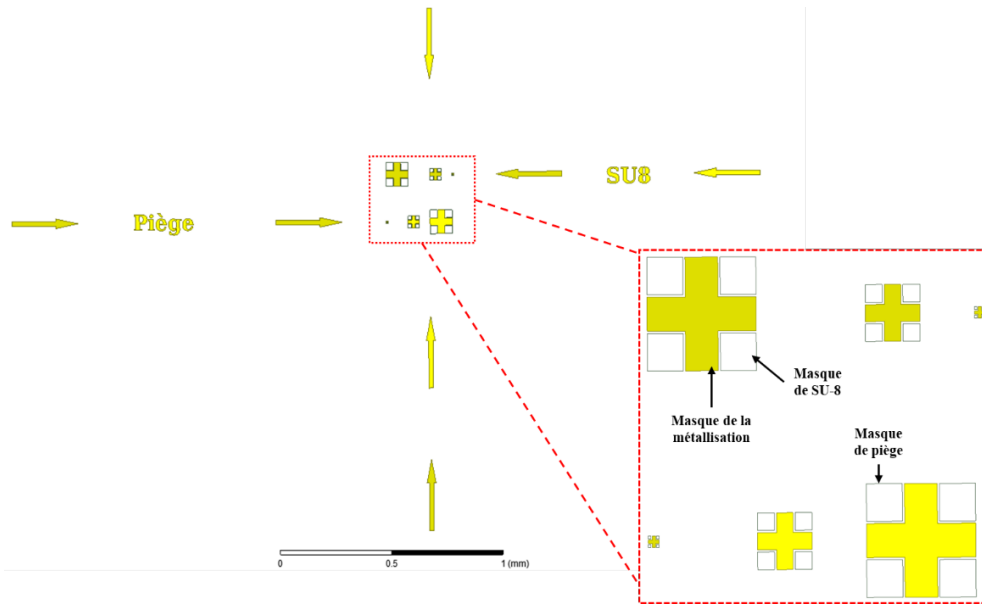


Figure 2.26 – Motifs d'alignement des masques.

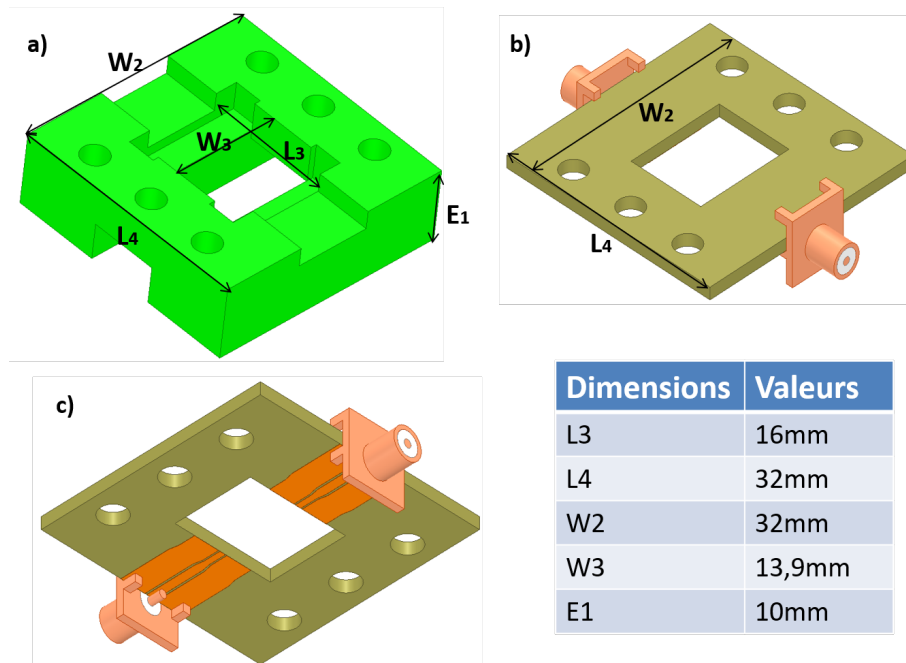


Figure 2.27 – a- Support 3D, b- Vue du dessus du PCB, b- Vue du dessous du PCB

Ces différents composants sont ensuite fixés par des vis permettent de garder le contact entre la métallisation du PCB et celle du biocapteur comme montré sur la Fig. 2.28. Le connecteur SMA nous permet d'effectuer la mesure à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA) par l'intermédiaire de câbles.

L'architecture de la métallisation du PCB a été choisie pour s'adapter aux dimensions des transitions des biocapteurs. Les métallisations des lignes CPW sur le PCB ont été dimensionnées pour avoir une impédance caractéristique de 50Ω et pour pouvoir souder un connecteur SMA. De plus, nous avons proposé une deuxième version formée d'un PCB avec des connecteurs à ressort comme le montre la Fig. 2.29 suivante pour changer facilement la puce à tester.

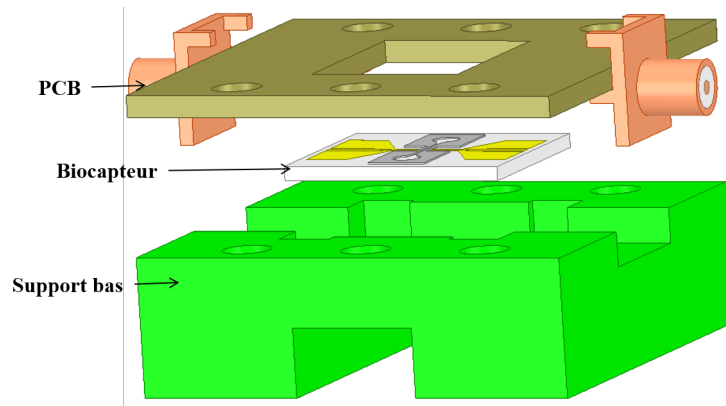


Figure 2.28 – Système de mesure à l'échelle macroscopique

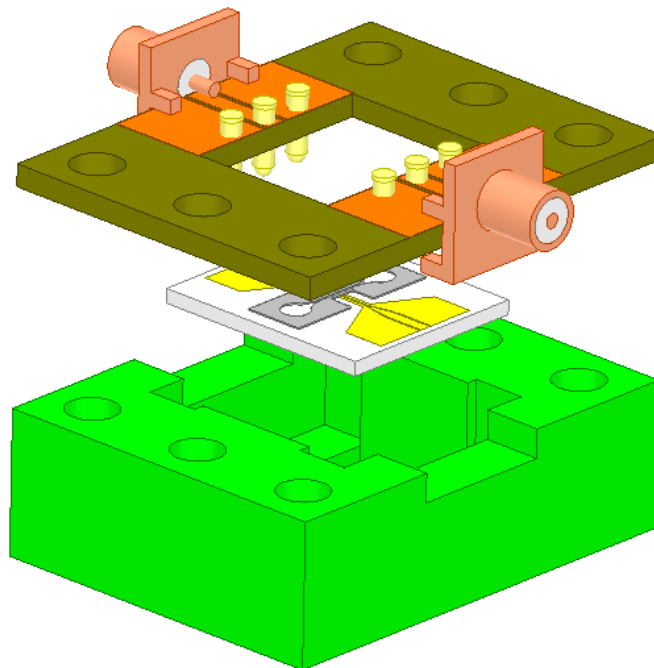


Figure 2.29 – Puce assemblée avec le PCB et le support mécanique

Les supports sont dimensionnés selon la taille des puces. Les circuits sont placés entre le support et le PCB. L'ensemble est assemblé et fixé par des vis. Ainsi, les circuits peuvent être changés, nettoyés et réutilisés plusieurs fois toujours dans des conditions optimales pour permettre d'obtenir des résultats reproductibles.

2.7 Dispositif expérimental pour la mesure sous pointes

Afin d'augmenter la sensibilité des mesures, il est préférable d'effectuer la mesure au plus près du dispositif sensible en s'affranchissant des transitions. Des mesures sous pointes sont alors effectuées directement sur le micro-capteur, en posant les pointes sur les accès coplanaires de la structure imprimée (Fig. 2.30).

Dans ce cas, notre dispositif expérimental de caractérisation diélectrique est composé des éléments suivants :

1. Un biocapteur microfluidique de caractérisation HF de milieu fluide : liquide homogène ou comportant des billes diélectriques ou une cellule biologique
2. Un support pour installer les microcomposants fluidiques
3. Une table anti-vibration pour une mesure sous-pointes
4. Une pousse seringue de précision pour l'injection de l'échantillon fluide/biologique
5. Un kit de calibrage « Short-Open-Load-Through » (SOLT) pour calibrer le système de mesure
6. Un analyseur de réseau vectoriel (VNA) et un écran de visualisation externe pour surveiller les changements sur les paramètres S au cours des mesures
7. Une caméra CCD située au-dessus de la station de mesures pour observer le positionnement des pointes, le passage du fluide et la capture des billes ou de la cellule
8. Un ordinateur pour le contrôle de l'acquisition de la sauvegarde des données et du traitement.
9. Des échantillons prélevés de bouteilles de liquides de grande pureté

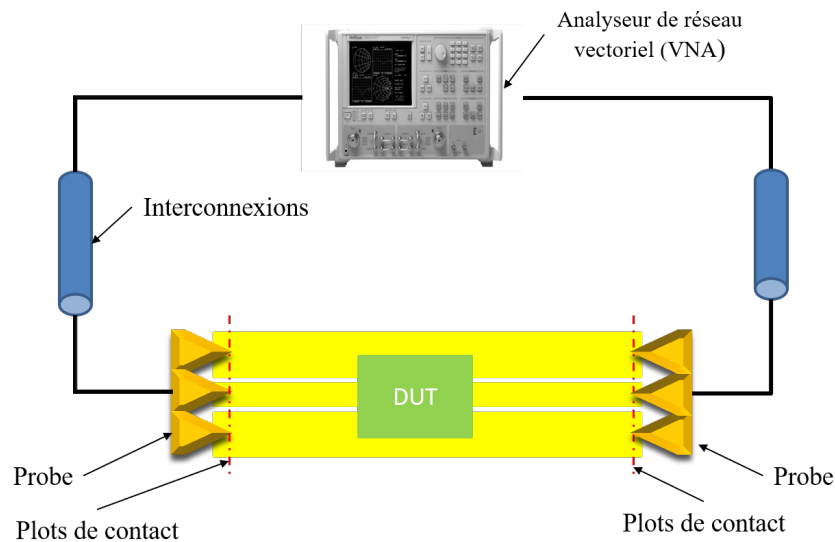


Figure 2.30 – Banc expérimental pour la mesure sous pointes.

2.8 Conclusion

Au cours de ce second chapitre, une sonde coaxiale à extrémité ouverte basée sur une ligne coaxiale et un connecteur coaxial disponible (SMA) a été fabriquée et caractérisée sur une large bande de 300 MHz à 7,5 GHz en combinant des études théoriques, numériques et expérimentales. Nous avons présenté les caractéristiques de cette sonde

pour effectuer la spectroscopie diélectrique hyperfréquence des milieux fluides, ainsi que son principe de fonctionnement et la méthode de mesure. Ce dispositif hyperfréquence nous a permis de mieux comprendre et maîtriser les paramètres essentiels à prendre en compte pour une caractérisation optimale des propriétés diélectriques de l'échantillon. Nous avons observé les caractéristiques des ondes électromagnétiques à l'ouverture de la sonde où est située la zone sensible, et avons estimé la sensibilité spatiale de la sonde lors la détermination des spectres diélectriques des matériaux standard (liquides) dont les propriétés diélectriques sont bien définies suivant le modèle de Debye. Les résultats d'extraction de la permittivité diélectrique complexe, mesurée et obtenus avec une sonde coaxiale, sont comparés avec les valeurs extraites avec la sonde Agilent 85070E, sur une large bande de fréquences allant de 400 MHz à 7,5 GHz.

Après avoir ainsi prouvé l'adéquation de ce capteur à la mesure par spectroscopie, nous avons montré que cette mesure, associée à une approche d'extraction des propriétés diélectriques des milieux testés, fournit des résultats fiables et précis, et permet d'analyser des liquides, semi-liquides et/ou solides. Toutefois, le volume de l'échantillon à analyser par ce capteur est de l'ordre de quelques mL, ce qui rend impossible son utilisation pour effectuer une analyse cellulaire, ou à fortiori pour répondre à notre objectif d'aboutir à l'd'analyser d'une cellule unique.

Dans le but d'améliorer ce système d'analyse et de l'adapter à des applications dans le domaine de l'analyse cellulaire, nous avons proposé une nouvelle génération de capteur (basée sur la technologie coplanaire), plus sensible et permettant l'analyse de petits volumes jusqu'à la cellule unique. C'est ce que nous allons étudier dans les prochains chapitres. Par ailleurs, nous avons vu les procédés de fabrication utilisés pour la réalisation de ces bio-capteurs dans la salle blanche de l'ESIEE-Paris. Les dispositifs miniaturisés présentés dans les paragraphes V et VI de ce chapitre sont exploités dans le chapitre III pour la détermination hyperfréquence de la permittivité diélectrique complexe de milieux liquides.

Bibliographie

- [1] Guillon, P. "Microwave techniques for measuring complex permittivity and permeability of materials", in *Materials and Processes for wireless Communications*, T. Negas and H. Lings, Eds., The American Ceramic Society, Westerville, 65 - 71. 1995.
- [2] Fannis P. C., Relihan T. and Charles S.W. "Investigation of ferromagnetic resonance in magnetic fluids by means of the short-circuited coaxial line techniques", *Journal of Physics D : Applied Physics*, 28 (1995) 2003 - 2006.
- [3] Stuchly M. A., Brady M. M., Stuchly S. S., and Gajda G., "Equivalent circuit of an open-ended coaxial line in a lossy dielectric," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. IM-31, no. 2, pp. 116–119, Jun. 1982.
- [4] Stuchly M., Athey T., Samaras G., and Taylor G., "Measurement of radio frequency permittivity of biological tissues with an open-ended coaxial line : Part II—Experimental results," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 30, no. 1, pp. 87–92, Jan. 1982.
- [5] Kraszewski A., Stuchly M. A., and Stuchly S., "ANA calibration method for measurements of dielectric properties," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 32, no. 2, pp. 385–387, Jun. 1983.
- [6] Wei Y.-Z. and Sridhar S., "Technique for measuring the frequency dependent complex dielectric constants of liquids up to 20 GHz," *Rev. Sci. Instrum.*, vol. 60, no. 9, pp. 3041–3046, May 1989.
- [7] Wei Y.-Z. and Sridhar S., "Radiation-corrected open-ended coax line technique for dielectric measurements of liquids up to 20 GHz," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 39, no. 3, pp. 526–531, Mar. 1991.
- [8] Bao J. Z., Davis C. C., Li L., and Swicord M. L., "Microwave dielectric spectroscopy of human erythrocyte suspensions with the open-ended coaxial probe technique," in *Proc. 15th Annu. Int. Conf. IEEE Eng. Med. Biol. Soc.*, Oct. 1993, pp. 1441–1442.
- [9] Bao J. Z., Davis C., and M. Swicord, "Microwave dielectric measurements of erythrocyte suspensions," *Biophys. Soc. All Rights Res. Biophys. J.*, vol. 66, no. 6, pp. 2173–2180, Jun. 1994.
- [10] Bao J. Z., Swicord M., and Davis C., "Microwave dielectric characterization of binary mixtures of water, methanol, and ethanol," *J. Chem. Phys.*, vol. 104, no. 12, pp. 4441–4450, Mar. 1996.
- [11] Goettmann O., Kaatze U., and Petong P., "Coaxial to circular waveguide transition as high-precision easy-to-handle measuring cell for the broad band dielectric spectrometry of liquids," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 7, no. 4, p. 525, 1996.
- [12] El-Rayes M. and Ulaby F., "Microwave dielectric spectrum of vegetation-part I : Experimental observations," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. GE-25, no. 5, pp. 541–549, Sep. 1987.

-
- [13] Ulaby F., Bengal T., M. Dobson, J. East, J. Garvin, and D. Evans, "Microwave dielectric properties of dry rocks," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 28, no. 3, pp. 325–336, May 1990.
- [14] Shrestha B. L., Wood H. C., and Sokhansanj S., "Modeling of vegetation permittivity at microwave frequencies," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 45, no. 2, pp. 342–348, Feb. 2007.
- [15] Lasne Y., Paillou P., Freeman A., Farr T., McDonald, Ruffie K. G., Malezieux J.-M., Chapman B., and Demontoux F., "Effect of salinity on the dielectric properties of geological materials : Implication for soil moisture detection by means of radar remote sensing," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 46, no. 6, pp. 1674–1688, Jun. 2008.
- [16] Sheen N. and Woodhead I., "An open-ended coaxial probe for broadband permittivity measurement of agricultural products," *J. Agricult. Eng. Res.*, vol. 74, no. 2, pp. 193–202, Oct. 1999.
- [17] Skierucha W., Walczak R., and Wilczek A., "Comparison of open-ended coax and tdr sensors for the measurement of soil dielectric permittivity in microwave frequencies," *Int. Agrophys.*, vol. 18, no. 4, pp. 355–362, 2004.
- [18] Kelleners T. J., Robinson D. A., Shouse P. J., Ayars J. E., and Skaggs T. H., "Frequency dependence of the complex permittivity and its impact on dielectric sensor calibration in soils," *Soil Sci. Soc. Amer. J.*, vol. 69, no. 1, pp. 67–76, Jan. 2005.
- [19] Van Damme S., Franchois A., De Zutter D., and Taerwe L., "Nondestructive determination of the steel fiber content in concrete slabs with an open-ended coaxial probe," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 42, no. 11, pp. 2511–2521, Nov. 2004.
- [20] Chen Y. and Or D., "Effects of Maxwell-Wagner polarization on soil complex dielectric permittivity under variable temperature and electrical conductivity," *Water Resour. Res.*, vol. 42, no. 6, p. W06424, Jun. 2006.
- [21] Wagner N., Kupfer K., and Trinks E., "A broadband dielectric spectroscopy study of the relaxation behaviour of subsoil," in *Proc. 7th Int. Conf. Electromagn. Wave Interact. Water Moist Substances*, 2007, pp. 31–38.
- [22] Kupfer K., Trinks E., Wagner N., and Hübner C., "TDR measurements and simulations in high lossy bentonite materials," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 18, no. 4, pp. 1118–1136, 2007.
- [23] Wang Y.-H. and Dong X., "Laboratory characterization of the spatial variability in soils by the em-wave-based technique," *Can. Geotech. J.*, vol. 45, no. 1, pp. 102–116, 2008.
- [24] Robinson D. A., Campbell C. S., Hopmans J. W., Hornbuckle B. K., Jones S. B., Knight R., Ogden F., Selker J., and Wendroth O., "Soil moisture measurement for ecological and hydrological watershed-scale observatories : A review," *Vadose Zone J.*, vol. 7, no. 1, pp. 358–389, Feb. 2008.
- [25] Wagner N., Emmerich K., Bonitz F., and Kupfer K., "Experimental investigations on the frequency and temperature dependent dielectric material properties of soil," *IEEE Trans. Geosci. Remote Sens.*, vol. 47, no. 7, pp. 2518–2530, Jul. 2011.
- [26] Kaatze U. and Feldman Y., "Broadband dielectric spectrometry of liquids and biosystems," *Meas. Sci. Technol.*, vol. 17, no. 2, pp. R17–R35, Feb. 2006.
- [27] Kaatze U., "Techniques for measuring the microwave dielectric properties of materials," *Metrologia*, vol. 47, no. 2, p. S91, Mar. 2010.
-

- [28] Marsland T. and Evans S., "Dielectric measurements with an open-ended coaxial probe," *IEE Proc. Microw., Antennas Propag.*, vol. 134, no. 4, pp. 341–349, Aug. 1987.
- [29] Otto G. and Chew W., "Improved calibration of a large open-ended coaxial probe for dielectric measurements," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 40, no. 4, pp. 742–746, Aug. 1991.
- [30] Blackham D. V. and Pollard D. P., "An improved technique for permittivity measurements using a coaxial probe," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 46, no. 5, pp. 1093–1099, Oct. 1997.
- [31] Ellison W. and Moreau J.-M., "Open-ended coaxial probe : Model limitations," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 57, no. 9, pp. 1984–1991, Sep. 2008. Nelson S. and Bartley P., "Open-ended coaxial-line permittivity measurements on pulverized materials," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 47, no. 1, pp. 133–137, Feb. 1998.
- [32] Nelson S. and Bartley P., "Open-ended coaxial-line permittivity measurements on pulverized materials," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 47, no. 1, pp. 133–137, Feb. 1998.
- [33] Wagner N., Kupfer K., and Trinks E., "Development of TDR-sensors for moist materials using HFSS," in *Proc. 6th Int. Conf. Electromagn. Wave Interact. Water Moist Substances, 2005*, pp. 107–115.
- [34] Salsman, J. B. "Technique for measuring the dielectric properties of minerals as a function of temperature and density at microwave heating frequencies", *Materials Research Society Symposium Proceeding*, 189, 509 – 515. 1991.
- [35] Blackham D. and Pollard R., "An improved technique for permittivity measurements using a coaxial probe," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 46, no. 5, pp. 1093–1099, Oct. 1997.
- [36] Popovic D., McCartney L., Beasley C., Lazebnik M., Okoniewski M., Hagness S., and Booske J., "Precision open-ended coaxial probes for in vivo and ex vivo dielectric spectroscopy of biological tissues at microwave frequencies," *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 53, no. 5, pp. 1713–1721, May 2005.
- [37] Kaatze U., "Non-conducting and conducting reference liquids for the calibration of dielectric measurement systems," in *Proc. 7th Int. Conf. Electromagn. Wave Interact. Water Moist Substances, 2007*, pp. 3–11.
- [38] Schwing M., Scheuermann, A. and Wagner N., "Experimental investigation of dielectric parameters of soils during shrinkage," in *Proc. 1st Eur. Conf. Moisture Meas., Aquametry, 2010*, pp. 511–519.
- [39] Folgero K., "Broad-band dielectric spectroscopy of low-permittivity fluids using one measurement cell," *IEEE Trans. Instrum. Meas.*, vol. 47, no. 4, pp. 881–885, Aug. 1998.
- [40] Jaeger R.C., "Lithography". *Introduction to Microelectronic Fabrication (2nd ed.)*. Upper Saddle River : Prentice Hall. ISBN 0-201-44494-1 ; 2002

3

Dispositifs miniaturisés pour la spectroscopie diélectrique hyperfréquence des milieux fluidiques

Dispositifs miniaturisés pour la spectroscopie diélectrique hyperfréquence des milieux fluidiques

Sommaire

3.1	Introduction	74
3.2	Dispositifs d'extraction de paramètres diélectriques des milieux fluidiques	74
3.2.1	Technique réflectométrique	75
3.2.2	Technique en transmission	79
3.3	Dispositifs pour la mesure sous-pointes	80
3.4	Méthode de caractérisation des propriétés diélectriques à partir de S_{21}	82
3.4.1	Principe de fonctionnement	82
3.4.2	Etape de calibrage	85
3.5	Analyse des capteurs par simulations numériques	86
3.6	Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en réflexion	89
3.6.1	Mise en œuvre du capteur et mesures	90
3.6.2	Caractérisation sous-pointes	93
3.6.3	Influence des milieux de calibrage	95
3.6.4	Extraction des permittivités complexes des mélanges	97
3.7	Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en transmission	102

3.1 Introduction

Le premier chapitre de ce manuscrit nous a dirigé vers les technologies microondes pour la caractérisation de matériaux diélectrique par réflectométrie fréquentielle. Afin de pouvoir se limiter à de petits échantillons et procéder à des caractérisations à l'échelle de cellules biologiques, des dispositifs miniaturisés sont nécessaires. L'enjeu est d'avoir de nouvelles opportunités pour imager les propriétés diélectriques des cellules en relation avec la présence ou l'absence d'une pathologie (type cellulaire, cellule cancéreuse, anémie, etc.) afin de pouvoir les discriminer.

Le développement de tels dispositifs pour la caractérisation non destructive des échantillons nécessite tout d'abord de mieux comprendre les mécanismes qui sous-tendent la sensibilité de ces biocapteurs, et en particulier l'interaction entre le fluide et le champ électromagnétique dans un canal microfluidique. En effet, la propagation d'une onde électromagnétique dans un matériau dépend de ses propriétés électriques et magnétiques. La connaissance précise de ces propriétés fournit des informations essentielles pour la conception et la modélisation en vue de la fabrication de ces capteurs. D'autre part, ces paramètres doivent être pris en compte dans une perspective applicative afin de concevoir des structures fortement sensibles à la moindre variation des propriétés du milieu sous test.

Pour permettre la détermination sur une large bande des propriétés diélectriques de petits échantillons de liquides biologiques, des micro-dispositifs constitués d'une ligne de transmission coplanaire combinée avec un canal microfluidique ont été développés.

Tout d'abord, les caractérisations des milieux à l'aide des microdispositifs développés ont été effectuées à partir des systèmes de mesure, présentés dans la partie VI du chapitre 2. Ils sont composés du biocapteur couplé à la connectique intégré sur un support PCB comportant des transitions vers un connecteur SMA. Des pièces ont été réalisées en impression 3D pour assembler les éléments du système de mesures et permettre de changer facilement le micro-dispositif sensible à insérer.

Dans un deuxième temps, nous avons proposé de nouveaux micro-capteurs adaptés à des mesures sous pointes. La zone sensible de ces dispositifs microscopiques a les mêmes dimensions que dans le cas macroscopique.

Dans ce chapitre, nous présenterons ces différents systèmes ainsi que les méthodes de caractérisation diélectrique des milieux sous test que nous avons développées. Les techniques de mesures hyperfréquences proposées dans ce chapitre ainsi que dans les chapitres suivants sont classées en deux catégories : techniques en réflectométrie et techniques en transmission. Les phases de conception et d'analyse de ces nouveaux dispositifs se sont appuyées sur l'utilisation du simulateur électromagnétique 3D HFSS ©.

3.2 Dispositifs d'extraction de paramètres diélectriques des milieux fluidiques

La technologie coplanaire (CPW : CoPlanar Waveguide) demeure la structure planaire la plus utilisée pour la réalisation de dispositifs microondes et millimétriques, ceci en raison de la souplesse et de la simplicité de son procédé technologique. La ligne CPW est

constituée d'un substrat diélectrique supportant sur sa face supérieure, un ruban métallique central (Signal) et deux plans de masse situés symétriquement de part et d'autre du ruban Signal. Cette technologie est très souvent utilisée pour des applications, consistant à mesurer et à caractériser, les propriétés diélectriques de substances biologiques telles que des tissus ou des fluides biologiques cellules/sang par des ondes électromagnétiques. C'est un candidat adéquat pour ce type d'application en raison de son faible encombrement, de son intégration aisée et son faible coût de fabrication par rapport à d'autres structures planaires telles que les lignes microruban et stripline. En effet, le choix de cette technologie pour la détection capacitive facilite la co-intégration avec le canal microfluidique couplé perpendiculairement avec les électrodes. La conception des composants passifs et des circuits pour la caractérisation des matériaux nécessite l'utilisation de structures de grande sensibilité pour détecter la moindre variation des propriétés diélectriques de l'échantillon, la sensibilité étant reliée à une variation élevée de la réponse du capteur entre la présence et l'absence d'un échantillon.

Dans ce paragraphe, nous présenterons des structures à base d'un guide d'onde coplanaire (CPW) à effet de bout, fonctionnant en réflexion et permettant la caractérisation de milieux liquides par spectroscopie diélectrique. Les transitions associées à ces biocapteurs permettent une mesure directe à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA : Vector Network Analyzer en anglais). Au bout de la ligne coplanaire, une discontinuité forme une zone capacitive appelée capacité de détection où est inséré un canal microfluidique.

3.2.1 Technique réflectométrique

Dans un premier temps, un biocapteur se présentant comme une ligne coplanaire (CPW) à extrémité ouverte a été étudié. Le capteur proposé permet de caractériser un liquide s'écoulant dans un canal microfluidique intégré au dispositif et positionné à l'extrémité de la ligne CPW (ligne à effet de bout). Le milieu sous test occupe un volume d'analyse de l'ordre du nanolitre, ce qui permettra d'effectuer une mesure sur une ou plusieurs cellules biologiques. Ce capteur a été fabriqué dans la salle blanche de l'ESIEE-Paris. Le procédé de fabrication est le même que celui présenté dans la section (II.V) du chapitre précédent mais le masque de la métallisation est différent. Les dimensions sont présentées sur la Fig. 3.1 suivante.

Un canal microfluidique de hauteur $25\ \mu\text{m}$ et d'une largeur de $300\ \mu\text{m}$ est réalisé en résine SU-8 et placé en bout de ligne. Il guide le fluide à analyser au-dessus de la zone sensible qui n'est autre qu'une partie de la ligne CPW de longueur $150\ \mu\text{m}$.

La Fig. 3.2 illustre la distribution de l'amplitude du champ électrique à 5 GHz dans la zone d'analyse. La simulation électromagnétique montre que le champ électrique est fortement concentré dans le canal sur une épaisseur de $25\ \mu\text{m}$ environ au-dessus de l'extrémité de la ligne, et ceci sur une largeur de $150\ \mu\text{m}$, ce qui donne un volume d'analyse autour de la dizaine de nanolitres.

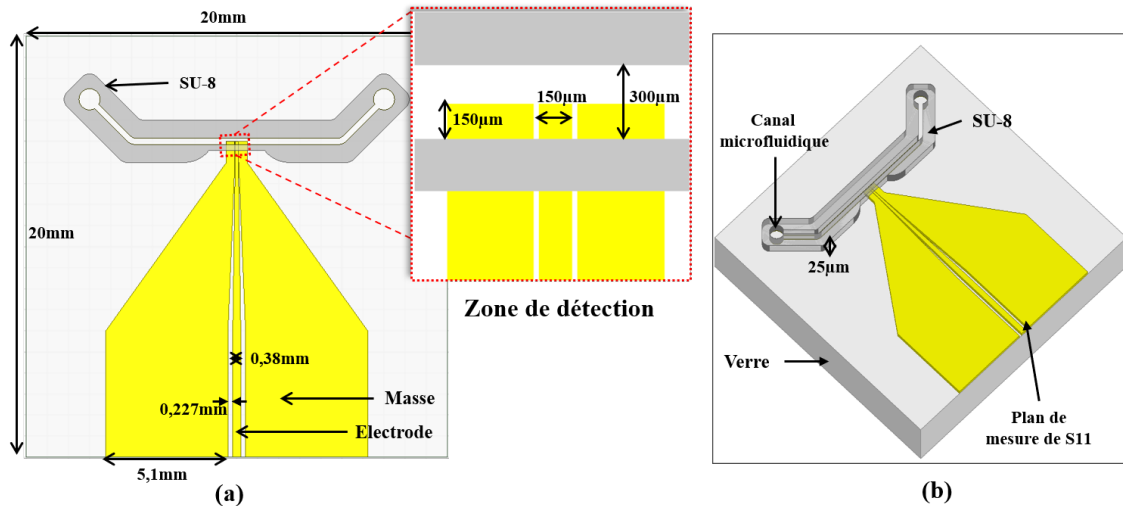


Figure 3.1 – Schéma du dispositif sensible utilisé en réflexion (a) en vue de dessus, (b) schéma en 3D.

Les résultats de simulation obtenus ont permis de valider la méthode d'extraction des propriétés diélectriques des liquides retenue par la suite.

Le couplage fluide / champ électromagnétique se produisant dans le biocapteur est le phénomène permettant d'assurer la sensibilité de la sonde à la variation de permittivité relative et de tangente de pertes des échantillons. La diminution de l'espace entre l'électrode et l'échantillon sous test entraîne une augmentation du couplage, ce qui augmente la perturbation du biocapteur en présence d'un échantillon en contact avec la pointe. Par suite, la sensibilité de la sonde pour une faible variation de la permittivité relative de l'échantillon est augmentée.

Afin d'atteindre cet objectif, une structure interdigitée en réflectométrie, présentée sur la Fig. 3.3, a été retenue. La zone sensible de détection se représente comme une capacité interdigitée au bout d'une ligne de transmission coplanaire et située sous un canal microfluidique. Le zoom représente la zone de détection des matériaux. Nous verrons plus loin l'intérêt de cette configuration interdigitée. En effet, la simulation montre que le champ est uniformément intense dans la zone interdigitée définissant ainsi la zone sensible au-dessus de laquelle l'échantillon liquide à mesurer circule dans le micro-canal.

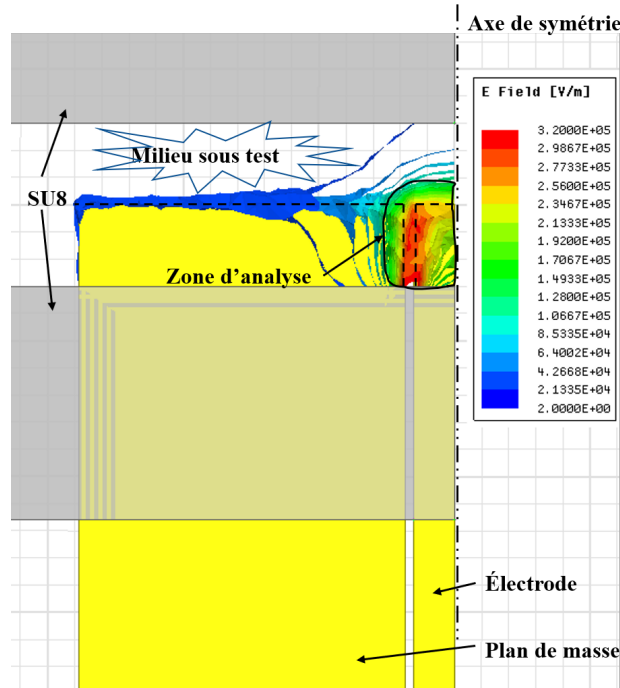


Figure 3.2 – Distribution de l'amplitude du champ électrique dans le canal microfluidique vue de dessus. En raison des propriétés de symétrie, seule la moitié (partie gauche) de la structure est représentée.

La taille typique de la zone de détection diélectrique est associée à une surface de $150\ \mu\text{m}$ de long x $90\ \mu\text{m}$ de large. Le confinement du liquide est assuré avec un canal microfluidique composé de résine photosensible SU-8 sur une hauteur de $75\ \mu\text{m}$. Ce polymère présente les principaux avantages d'être biocompatible et simplement structuré. Sa viscosité facilite l'obtention de films uniformes, sans défaut et sans contrainte et, plus tard, l'élimination de la résine non solidifiée (indésirable) pendant l'étape de développement. Sa transparence permet une observation aisée des fluides et des cellules biologiques placés dans le canal. Les parois du canal microfluidique sont d'une largeur de $300\ \mu\text{m}$ au niveau de la zone sensible. Le liquide passe à travers un canal de largeur $150\ \mu\text{m}$ dans la zone de détection. L'IDC (interdigitated capacitor pour capacité interdigitée) présente des rubans et des fentes d'une largeur de $10\ \mu\text{m}$. Les électrodes sont constituées d'une fine couche de titane (TiW - $20\ \text{nm}$) et d'or ($300\ \text{nm}$) sur une plaquette en verre pour minimiser les pertes diélectriques supplémentaires dues au substrat. Le volume à tester se situe dans la gamme des nanolitres, ce qui est compatible avec la caractérisation des cellules biologiques et représente un progrès dans ce domaine d'intérêt. Un diagramme résumant les étapes principales du cycle de fabrication en salle blanche est présenté sur la Fig. 3.4 suivante.

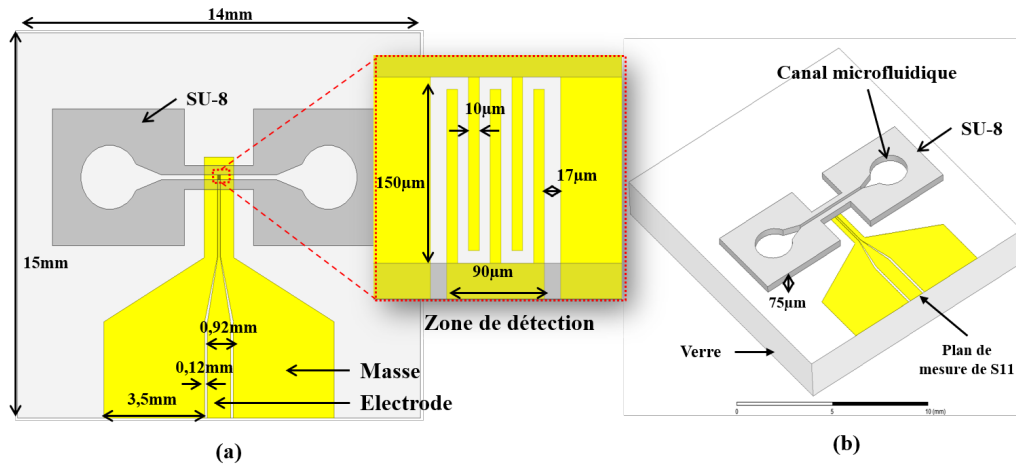


Figure 3.3 – Dispositif interdigité en réflexion (a) vue du dessus avec un zoom de la zone sensible, (b) Modèle 3D simulé sous HFSS.

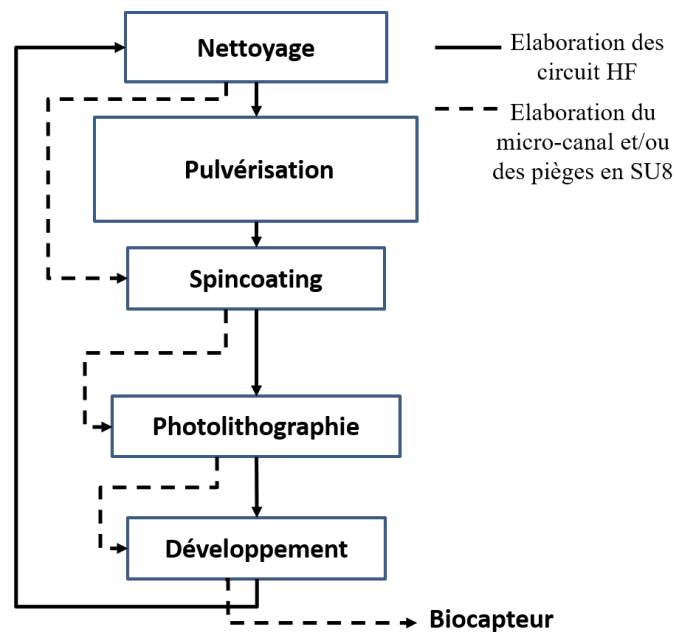
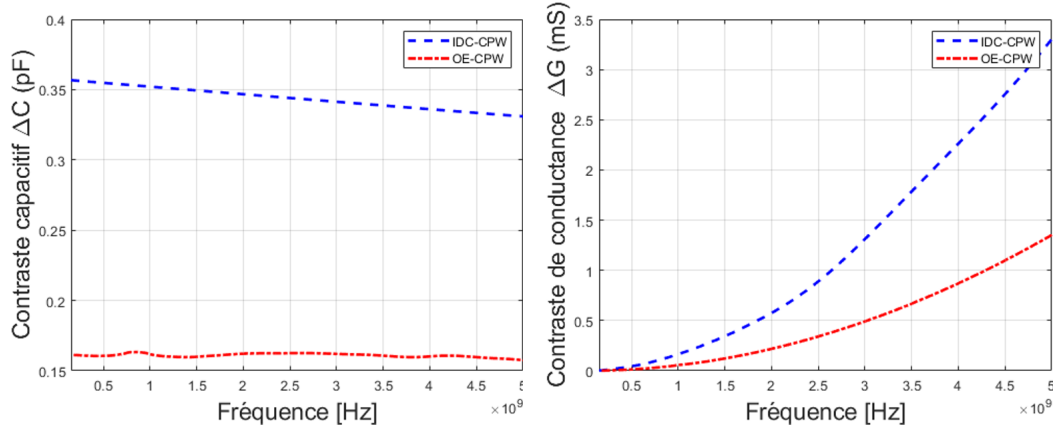


Figure 3.4 – Séquence des étapes de la fabrication des biocapteurs.

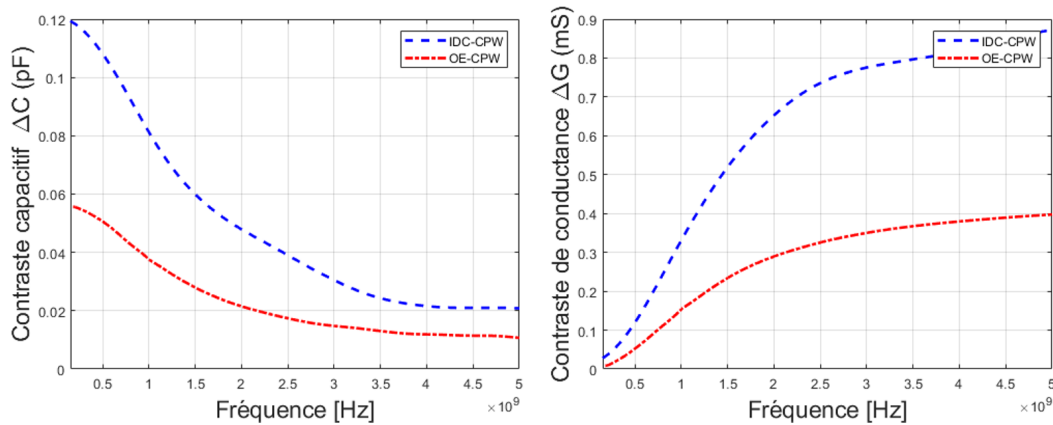
Nous allons ici comparer le comportement de ces deux sondes avec soit une capacité simple à extrémité ouverte (CPW-OE) ou capacité interdigitée (CPW-IDC). Ces deux capteurs CPW proposés sont analysés pour une utilisation en réflexion dans le but d’extraire les propriétés diélectriques des milieux liquides dans la bande de fréquences comprise entre 0,15 et 5 GHz. La Fig. 3.5 montre, pour les géométries OE et IDC, les contrastes capacitif et de conductance de la zone sensible lorsque le liquide considéré varie. Cette variation a été extraite de simulations sous HFSS et en considérant la capacitance et la conductance associées au bout de la ligne, à partir de la paroi en SU-8 du canal. Sur la Fig. 3.5a, la variation est obtenue pour des capteurs remplis d’eau ou d’air, tandis que sur la Fig. 3.5b, les deux milieux considérés sont l’éthanol et l’air.

Nous pouvons facilement voir que les contrastes obtenus avec l’IDC sont deux fois plus élevés que ceux obtenus par le capteur OE. Cette différence indique que le couplage

entre le condensateur interdigité et l'échantillon testé dans le canal est plus important que dans le cas d'une ligne à extrémité ouverte. Cette augmentation du contraste permet d'estimer de manière plus sensible les valeurs de la permittivité complexe. Une meilleure sensibilité des capteurs à IDC est donc attendue.



(a) Contrastes capacitif et de conductance entre les capteurs remplis d'eau et d'air



(b) Contrastes capacitif et de conductance entre les capteurs chargés d'éthanol et d'air

Figure 3.5 – Contrastes capacitif et de conductance entre les capteurs remplis d'un fluide et d'air pour les deux géométries : structure à extrémité ouverte (CPW-OE) et capacité interdigité (CPW-IDC).

3.2.2 Technique en transmission

Ce paragraphe présente la structure interdigitée utilisée en transmission (CPW-IDT) qui sera placée sur un PCB avec connecteur SMA. Le biocapteur est composé d'électrodes de géométrie symétrique en dehors de la zone sensible. Cette dernière est formée d'une zone capacitive appelée capacité de détection sur laquelle est placé un canal microfluidique. Les lignes de transmission coplanaires de part et d'autre véhiculent les signaux HF vers la capacité. La zone de détection a les mêmes dimensions que dans le cas en réflexion. Une vue schématique 3D du dispositif est présentée sur la Fig. 3.6 suivante.

Les capteurs proposés permettent donc de caractériser un liquide, s'écoulant dans le canal microfluidique intégré au dispositif et occupant un volume d'analyse de l'ordre du nanolitre, échelle permettant d'effectuer une mesure sur une ou plusieurs cellules biolo-

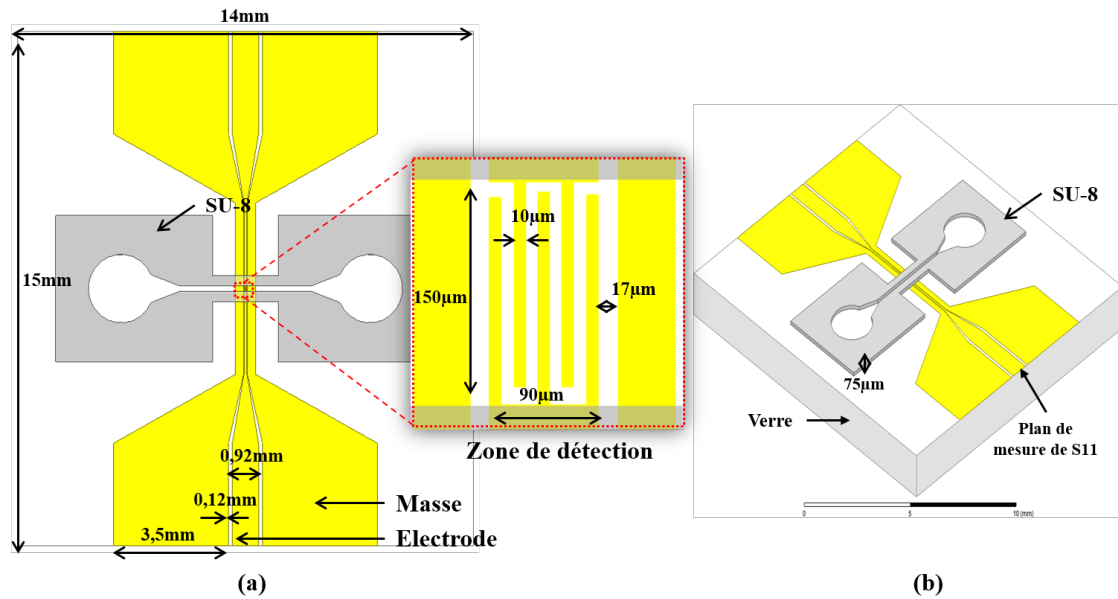


Figure 3.6 – Dispositif interdigité en transmission, (a) vue du dessus avec un zoom de la zone sensible, (b) Modèle 3D du CPW-IDT simulé sous HFSS.

giques. Les lignes de transmission sont caractérisées par une impédance caractéristique qui dépend de la largeur du ruban central et des caractéristiques du substrat.

Afin d’obtenir un circuit large bande, il est nécessaire que la ligne coplanaire reste le plus longtemps possible adaptée sur 50 ohms. Les dimensions des lignes d’accès coplanaire sont donc choisies de façon à avoir une impédance caractéristique de 50 ohms et sont également adaptées pour avoir un bon contact avec la métallisation du support PCB. Le ruban signal et les rubans de masse sont respectivement de largeur 120 µm et 3,5mm. La distance qui les sépare est de 12 µm. Les lignes sont uniformes sur une longueur de 3 mm puis la largeur est progressivement rétrécie dans la zone centrale.

Les procédés de microtechnologie utilisés pour fabriquer les dispositifs couplés aux capacités microfluidiques sont ceux exposés au chapitre précédent. Le choix de la configuration coplanaire de la détection capacitive facilite la cointégration avec le canal microfluidique en raison de son caractère planaire.

3.3 Dispositifs pour la mesure sous-pointes

A partir de la structure HF à capacité interdigitée présentée dans la section précédente, nous avons modifié les transitions d’accès pour permettre des mesures sur un banc de mesure sous-pointes. Les techniques de mesures hyperfréquences présentées dans cette partie sont des techniques qui utilisent la réflectométrie ou la transmission. Les structures retenues ainsi que leurs dimensions sont présentées sur la Fig. 3.7. La Fig. 3.7a présente le capteur utilisé en réflectométrie. Le capteur en transmission est présenté sur la Fig. 3.7b. Le ruban central a une largeur de 90 µm et une longueur de 5 mm dans le cas en transmission contre 3,125 mm dans le cas en réflexion. Le plan de masse a une largeur de 250

μm . Les fentes entre les plans de masse et le signal mesurent $17 \mu\text{m}$.

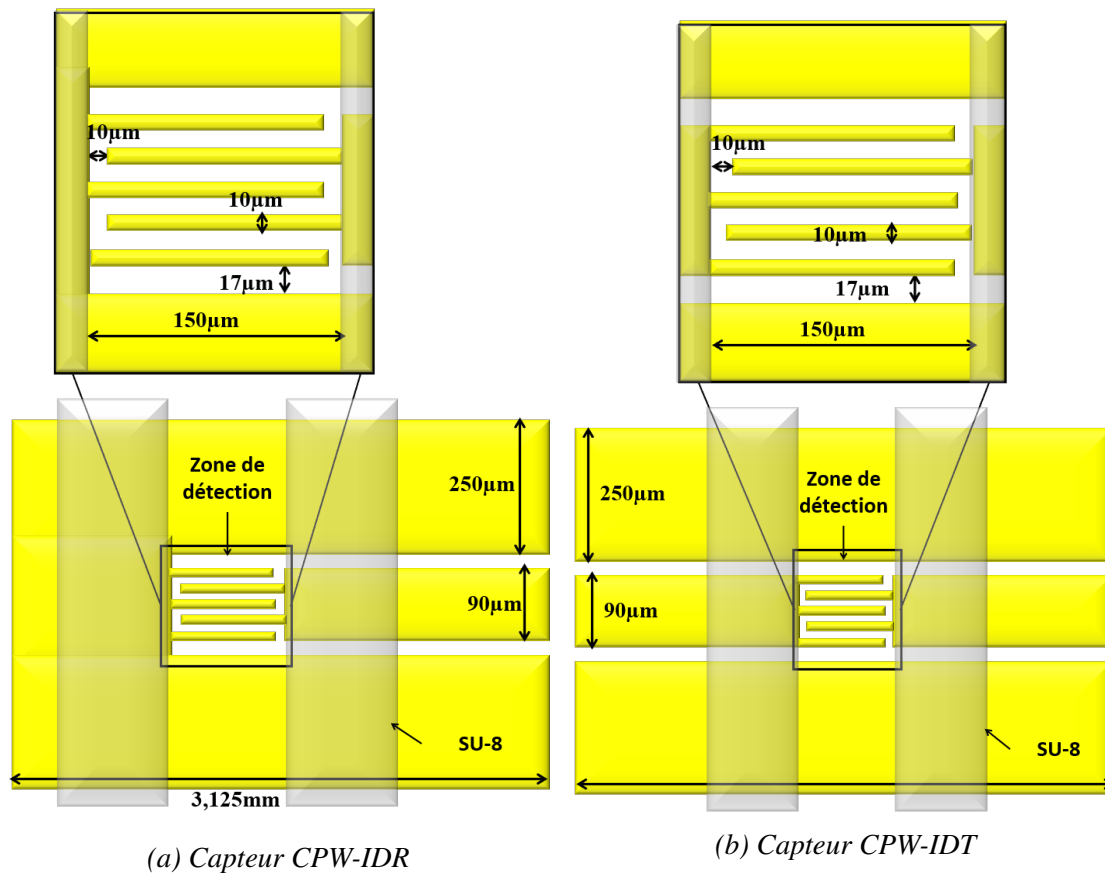


Figure 3.7 – Structures des biocapteurs pour les mesures sous-pointes.

Afin d'effectuer des mesures sous pointes, les dimensions des transitions d'accès du biocapteur ont été choisies de manière à avoir 50 ohms à l'entrée tout en étant adaptées aux dimensions des pointes de type masse-signal-masse (GSG : Ground-Signal-Ground) disponibles dans notre laboratoire. Ces pointes de type GSG consistent en trois aiguilles parallèles dont deux, latérales, seront en contact avec les plans de masse et une, centrale, sera posée avec la ligne de signal. Ce système présente un espacement entre pointes latérales (pitch) de $300 \mu\text{m}$ compatible avec les dimensions de la ligne coplanaire utilisée pour l'excitation des biocapteurs.

La Fig. 3.8 montre la distribution du champ électrique à 5 GHz dans la zone d'analyse en vue de dessus et en coupe pour les deux cas : réflexion et transmission. Le champ est fortement concentré dans la zone de la capacité interdigitée où l'interaction entre le champ et le liquide se produit. Au-dessus de la capacité, le champ est fortement concentré jusqu'à une hauteur de $5 \mu\text{m}$ environ, où il est compris entre 80% et 100% de sa valeur maximale (zone rouge). Il reste intense jusqu'à une hauteur de $10 \mu\text{m}$ environ, avec une valeur de champ compris entre 40% et 80% de la valeur maximale et devient négligeable au-delà de $10 \mu\text{m}$. Ces valeurs élevées du champ électrique (supérieures à 40% de sa valeur maximale) sont observées sur une longueur de $140 \mu\text{m}$ et une largeur de $90 \mu\text{m}$, ce qui donne un volume d'analyse autour de $126.10^3 \mu\text{m}^3$ équivalent à 0,126 nanolitres

Nous avons présenté dans le chapitre précédent une méthode de caractérisation hyperfréquence par spectroscopie diélectrique appliquée à des mesures en réflexion. Rappelons que cette technique est basée sur l'exploitation du coefficient de réflexion S_{11} . Cependant,

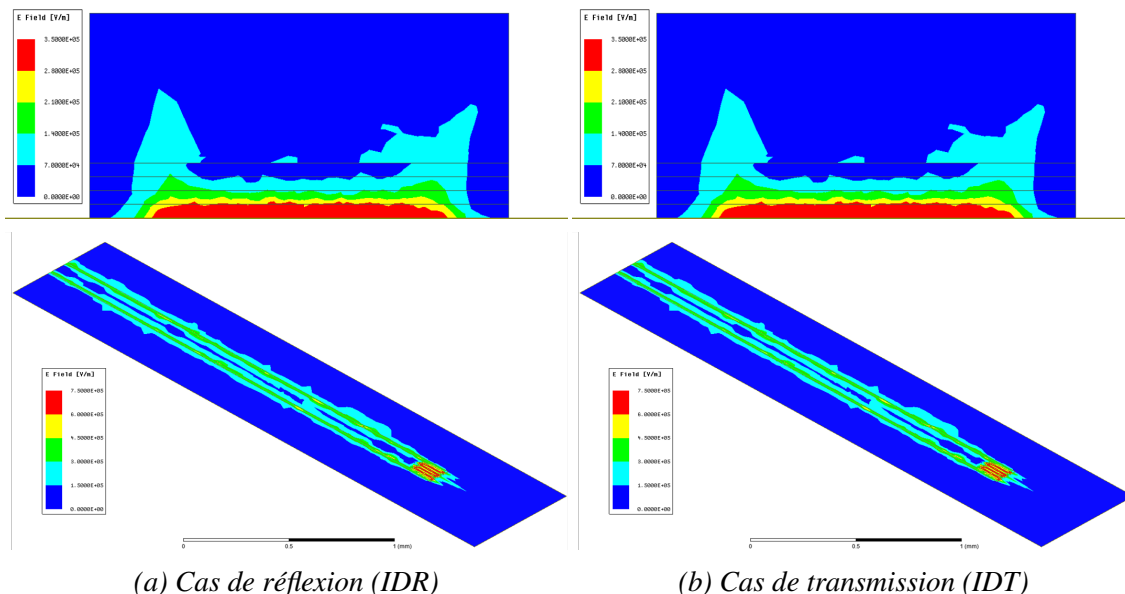


Figure 3.8 – Amplitude du champ électrique vue en coupe (au milieu de la zone sensible) et en vue de dessus pour les dispositifs ID en réflexion et en transmission.

pour les nouvelles structures en transmission, nous avons adapté cette méthode d'extraction des paramètres à la transmission. La méthode se base sur la connaissance des coefficients de transmission S_{21} et /ou de réflexion S_{11} et sera détaillée dans la suite de ce chapitre.

3.4 Méthode de caractérisation des propriétés diélectriques à partir de S_{21}

Comme l'onde transmise dépend de la valeur de la permittivité du milieu placé dans la zone sensible de la sonde, nous allons développer une technique de caractérisation basée sur la mesure des coefficients de réflexion et de transmission à l'aide d'un analyseur de réseaux vectoriel. Ainsi, l'obtention des caractéristiques hyperfréquences d'un échantillon à partir de plusieurs paramètres permet d'atteindre une bonne précision. En effet, les propriétés des matériaux peuvent être extraites à partir de la réflexion des ondes sur le matériau diélectrique et/ou de leur transmission au travers du matériau à analyser comme nous allons le voir dans le paragraphe suivant.

3.4.1 Principe de fonctionnement

La structure du biocapteur de caractérisation diélectrique en transmission se compose de deux transitions symétriques en technologie coplanaire entre lesquelles est placé le circuit sensible (voir Fig. 3.6). La Fig. 3.9 suivante montre trois quadripôles cascades ainsi que le diagramme de fluence associé.

La méthode de mesure consiste à mesurer les paramètres S du circuit intégrant le

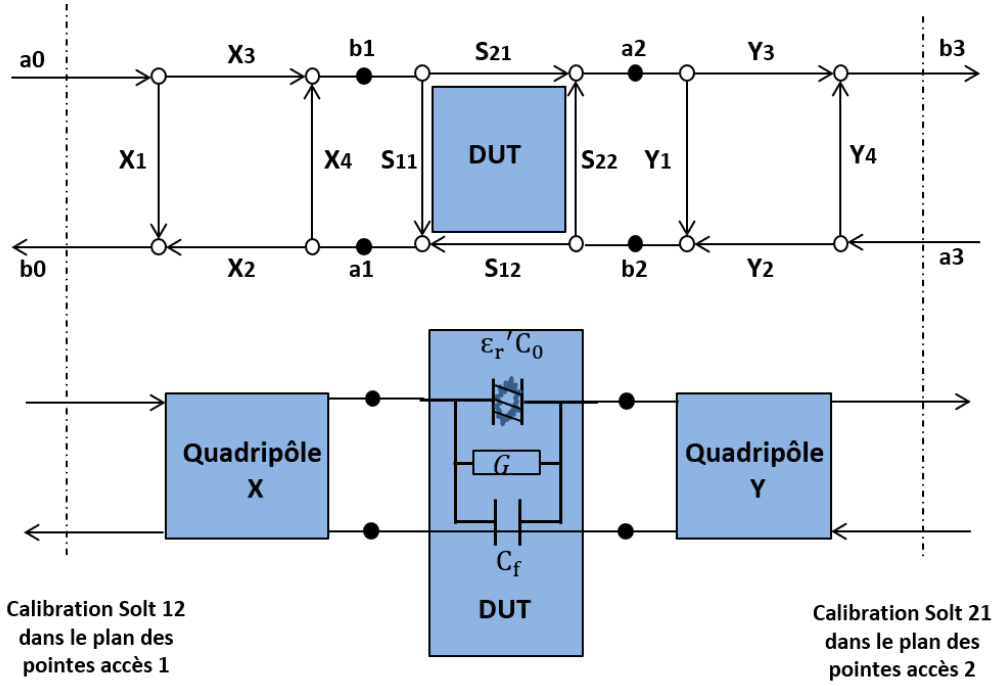


Figure 3.9 – Cascade des 3 quadripôles et diagramme de fluence associé à un capteur en transmission.

matériau sous test à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA).

Pour pouvoir faire le produit matriciel de ces trois entités, nous devons transformer les matrices $[S]$ en matrices de chaîne $[T]$. Les formules de passage de la matrice $[S]$ à la matrice $[T]$ et inversement sont données à la référence [1] :

$$[T] = \begin{pmatrix} T_{11} & T_{12} \\ T_{21} & T_{22} \end{pmatrix} = \frac{1}{S_{21}} \begin{pmatrix} -\Delta S & S_{11} \\ -S_{22} & 1 \end{pmatrix} \quad (3.1)$$

$$[S] = \begin{pmatrix} S_{11} & S_{12} \\ S_{21} & S_{22} \end{pmatrix} = \frac{1}{T_{22}} \begin{pmatrix} T_{12} & \Delta T \\ 1 & -T_{21} \end{pmatrix} \quad (3.2)$$

$$\text{Avec } \Delta S = S_{11} \cdot S_{22} - S_{12} \cdot S_{21}$$

Par symétrie des accès, nous pouvons exprimer le quadripôle Y en fonction du quadripôle X et inversement, d'où la relation :

$$\begin{pmatrix} TY_1 & TY_2 \\ TY_3 & TY_4 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} TX_1 & -TX_3 \\ -TX_2 & TX_4 \end{pmatrix} \quad (3.3)$$

Pour une impédance en série Z_{eq}^* , les matrices $[S]$ et $[T]$ associées sont données par :

$$[S_{DUT}] = \frac{1}{2Z_0 + Z_{eq}^*} \begin{pmatrix} Z_{eq}^* & 2Z_0 \\ 2Z_0 & Z_{eq}^* \end{pmatrix} \quad (3.4)$$

$$[T_{DUT}] = \frac{1}{2Z_0} \begin{pmatrix} 2Z_0 - Z_{eq}^* & Z_{eq}^* \\ -Z_{eq}^* & 2Z_0 + Z_{eq}^* \end{pmatrix} \quad (3.5)$$

Avec Z_0 l'impédance caractéristique de 50Ω dans notre cas, et, pour notre capteur, Z_{eq}^* l'impédance du canal microfluidique chargé par un milieu fluide ayant une permittivité complexe ε_r^* , dont l'expression est la suivante :

$$Z_{eq}^* = (j\omega C_f + j\omega \varepsilon_r' C_0 + G)^{-1} \quad (3.6)$$

On va utiliser une notation complexe pour la permittivité relative, de la forme :

$$\varepsilon_r^* = \varepsilon_r' - j\varepsilon_r'' \quad (3.7)$$

L'éq.(3.6) devient alors :

$$Z_{eq}^* = (j\omega C_f + j\omega \varepsilon_r^* C_0)^{-1} \quad (3.8)$$

avec $G = C_0 \omega \varepsilon_r''$

La matrice de répartition $[S_{mes}]$ de l'ensemble ainsi formé se transforme en matrice chaîne $[T_{mes}]$.

Nous calculons ensuite le produit matriciel suivant :

$$[T_{mes}] = [TX] \cdot [T_{DUT}] \cdot [TY] \quad (3.9)$$

On obtient :

$$T_{11,mes} = \frac{2Z_0(TX_1^2 - TX_2^2) - Z_{eq}^*(TX_1 + TX_2)^2}{2Z_0} \quad (3.10)$$

$$T_{12,mes} = \frac{2Z_0(TX_2 \cdot TX_4 - TX_1 \cdot TX_3) + Z_{eq}^*(TX_1 + TX_2)(TX_3 + TX_4)}{2Z_0} \quad (3.11)$$

$$T_{21,mes} = \frac{2Z_0(TX_1 \cdot TX_3 - TX_2 \cdot TX_4) - Z_{eq}^*(TX_1 + TX_2)(TX_3 + TX_4)}{2Z_0} \quad (3.12)$$

$$T_{22,mes} = \frac{2Z_0(TX_4^2 - TX_3^2) + Z_{eq}^*(TX_3 + TX_4)^2}{2Z_0} \quad (3.13)$$

A partir des éqs.(3.2) et (3.13), nous obtenons :

$$S_{21,mes} = \frac{2Z_0}{2Z_0(TX_4^2 - TX_3^2) + Z_{eq}^*(TX_3 + TX_4)^2} \quad (3.14)$$

En combinant cette équation avec l'éq.(3.8), nous trouvons la relation linéaire entre la permittivité complexe de l'échantillon sous test et le coefficient de transmission :

$$\varepsilon_r^* = \frac{\beta_1 S_{21,mes} - \beta_2}{\beta_3 - S_{21,mes}} \quad (3.15)$$

Avec β_i sont des nombres complexes liés à la géométrie du biocapteur et déterminés par la mesure des coefficients de transmission $S_{21,mes}$ des milieux de référence (voir section 3.4.2). Ils sont donnés par :

$$\beta_1 = \frac{(TX_3 + TX_4)^2}{2j\omega Z_0 C_0 (TX_4^2 - TX_3^2)} + \frac{C_f}{C_0} \quad (3.16)$$

$$\beta_2 = \frac{1}{(TX_4^2 - TX_3^2)} \frac{C_f}{C_0} \quad (3.17)$$

$$\beta_3 = \frac{1}{(TX_4^2 - TX_3^2)} \quad (3.18)$$

De la même manière, exploitant les éqs.(3.2), (3.11) et (3.13), nous obtenons :

$$S_{11,mes} = \frac{2Z_0(TX_2.TX_4 - TX_1.TX_3) + Z_{eq}^*(TX_1 + TX_2)(TX_3 + TX_4)}{2Z_0(TX_4^2 - TX_3^2) + Z_{eq}^*(TX_3 + TX_4)^2} \quad (3.19)$$

En combinant cette équation avec l'éq.(3.8), nous trouvons une relation linéaire entre la permittivité complexe de l'échantillon sous test et le coefficient de réflexion :

$$\varepsilon_r^* = \frac{\alpha_1 S_{11,mes} - \alpha_2}{\alpha_3 - S_{11,mes}} \quad (3.20)$$

α_i sont des nombres complexes qui dépendent de la géométrie du biocapteur et ils sont déterminés par la mesure des coefficients de réflexion $S_{11,mes}$ des milieux de référence (voir section 3.4.2) et sont donnés par :

$$\alpha_1 = \frac{(TX_3 + TX_4)^2}{2j\omega Z_0 C_0 (TX_4^2 - TX_3^2)} + \frac{C_f}{C_0} \quad (3.21)$$

$$\alpha_2 = \frac{(TX_1 + TX_2)(TX_3 + TX_4)}{2j\omega Z_0 C_0 (TX_4^2 - TX_3^2)} + \frac{(TX_2 TX_4 - TX_1 TX_3) C_f}{(TX_4^2 - TX_3^2) C_0} \quad (3.22)$$

$$\alpha_3 = \frac{(TX_2 TX_4 - TX_1 TX_3)}{(TX_4^2 - TX_3^2)} \quad (3.23)$$

3.4.2 Etape de calibrage

Selon l'éq. (3.15), la connaissance de ε_r^* de l'échantillon sous test à partir du coefficient de transmission nécessite la détermination des coefficients complexe β_i . Pour cela, une phase de calibrage, avec au moins trois milieux différents, est nécessaire pour pouvoir calculer ces constantes complexes, ce qui nécessite des milieux de référence ayant un comportement bien connu dans la littérature :

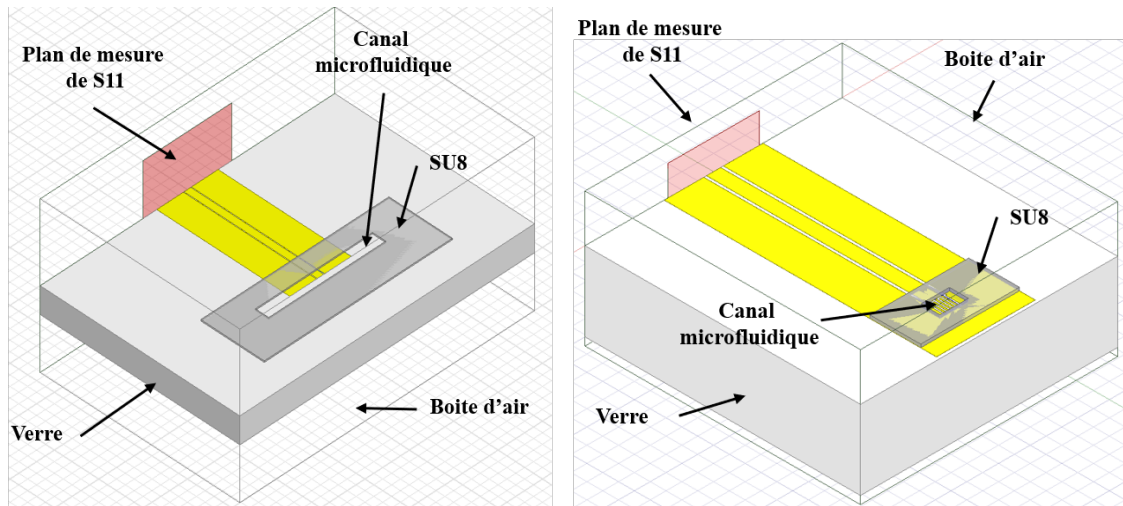
$$\begin{pmatrix} S_{21}^O & -1 & -\varepsilon_{r,O}^* \\ S_{21}^W & -1 & -\varepsilon_{r,W}^* \\ S_{21}^A & -1 & -\varepsilon_{r,A}^* \end{pmatrix} \begin{pmatrix} \beta_1 \\ \beta_2 \\ \beta_3 \end{pmatrix} = \begin{pmatrix} -\varepsilon_{r,O}^* S_{21}^O \\ -\varepsilon_{r,W}^* S_{21}^W \\ -\varepsilon_{r,A}^* S_{21}^A \end{pmatrix} \propto M.\beta = e \quad (3.24)$$

Le système sera résolu numériquement comme $\beta = M^{-1} \cdot e$ et ϵ_r^* de l'échantillon inconnu peut ensuite être calculé à partir du coefficient de transmission mesuré S_{21} conformément à (3.15). Cependant, si plus de trois échantillons connus sont mesurés, alors la matrice M n'est plus carrée et son inversion est remplacée par la forme $\beta = (M^T M)^{-1} M^T \cdot e$ résolue numériquement. Nous avons utilisé, comme pour la mesure en réflexion, l'air ($\epsilon_{r,O}^* = 1$), l'eau déionisée ($\epsilon_r^* = \epsilon_{r,W}^*$) et l'acétone ($\epsilon_r^* = \epsilon_{r,A}^*$) pour calculer α_i et β_i .

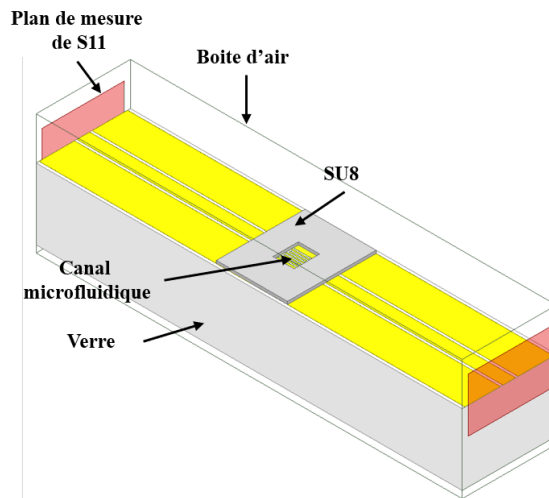
De la même manière (voir section 2.3.2 du chapitre 2), on peut déterminer le vecteur α_i et la permittivité complexe ϵ_r^* de l'échantillon inconnu à partir de mesure du coefficient de réflexion S_{11} conformément à (3.20).

3.5 Analyse des capteurs par simulations numériques

La simulation et l'analyse des résultats ont été effectuées sur HFSS sur la bande fréquentielle allant de 200 MHz à 25 GHz. La Fig. 3.10 présente les modèles 3D des structures simulées. Les valeurs de capacité IDC dépendent de la largeur des fentes et des doigts constituant la configuration de la capacité interdigitée. Ces largeurs sont affectées par l'étape de développement et la gravure latérale de la métallisation. C'est pourquoi des simulations ont été effectuées sur HFSS en considérant différentes largeurs de doigt (8 μm , 9 μm , 9,5 μm , 9,7 μm , 9,8 μm , 9,9 μm et 10 μm). La Fig. 3.11 montre le contraste capacitif entre les capacités extraites pour les capteurs interdigités en réflexion ou en transmission lorsqu'elles sont chargées d'eau ou à vide (air).



(a) Capteur à extrémité ouverte (OE-CPW) (b) Capteur interdigité en réflexion (CPW-IDR)



(c) Capteur interdigité en transmission (CPW-IDT)

Figure 3.10 – Modèle 3D du dispositif simulé sur HFSS.

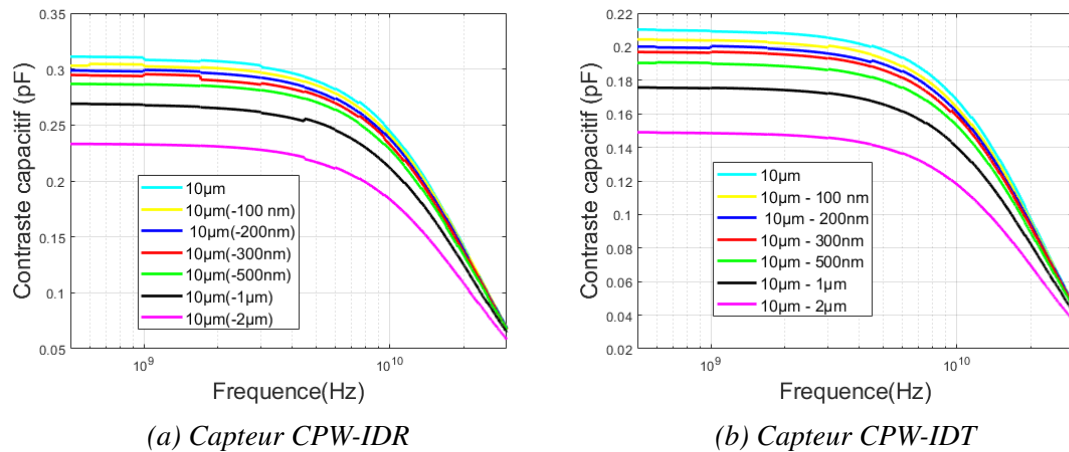


Figure 3.11 – Capacités extraites, pour différentes largeurs de doigt, en considérant le capteur chargé par l'eau et l'air.

La Fig. 3.12 représente l'évolution des coefficients de réflexion S_{11} simulés pour différents milieux introduits dans le canal. En considérant l'air, l'eau déionisée et l'acétone comme milieux de référence, les parties réelle et imaginaire des permittivités diélectriques du méthanol et de l'éthanol sont extraites de ces coefficients pour le capteur en réflexion (Fig. 3.13). Les valeurs obtenues sont comparées à celles implémentées dans le logiciel de simulation HFSS et décrit par un modèle de Debye (courbes théoriques).

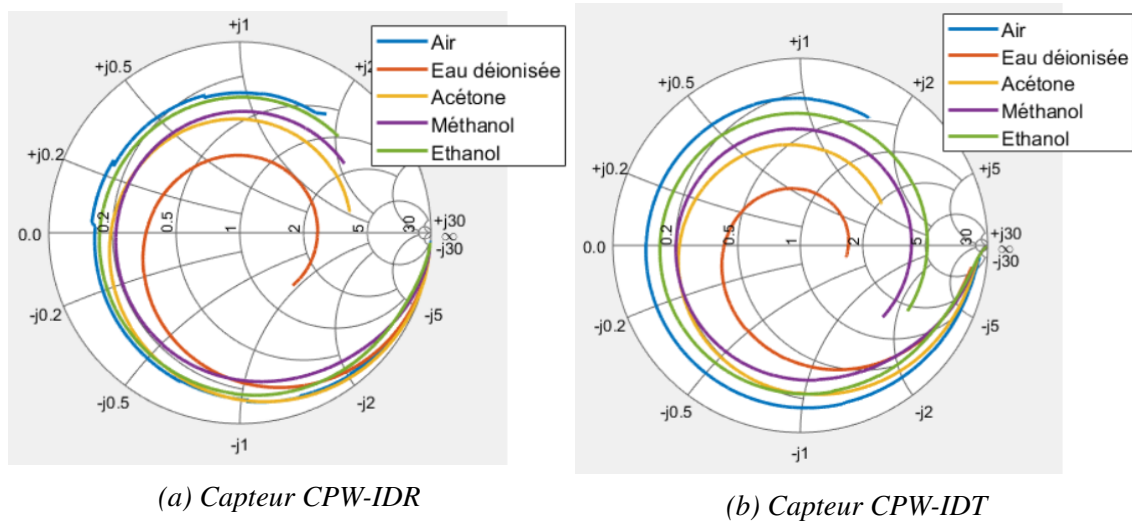


Figure 3.12 – Représentation des coefficients de réflexion S_{11} simulés de 200 MHz à 25 GHz sur l'abaque de Smith pour différents liquides dans le canal microfluidique.

La Fig. 3.14 présente les courbes des parties réelle et imaginaire des permittivités diélectriques des différents milieux obtenus par la simulation de la structure interdigitée en transmission. Ces valeurs sont extraites des paramètres S_{11} (Fig. 3.14a) et de S_{21} (Fig. 3.14b) après la phase de post-traitement exposée ci-dessus, en prenant pour milieux de référence l'air, l'eau déionisée et l'acétone.

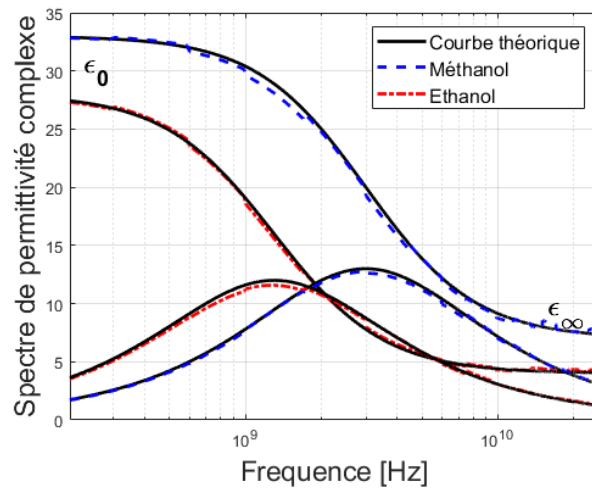
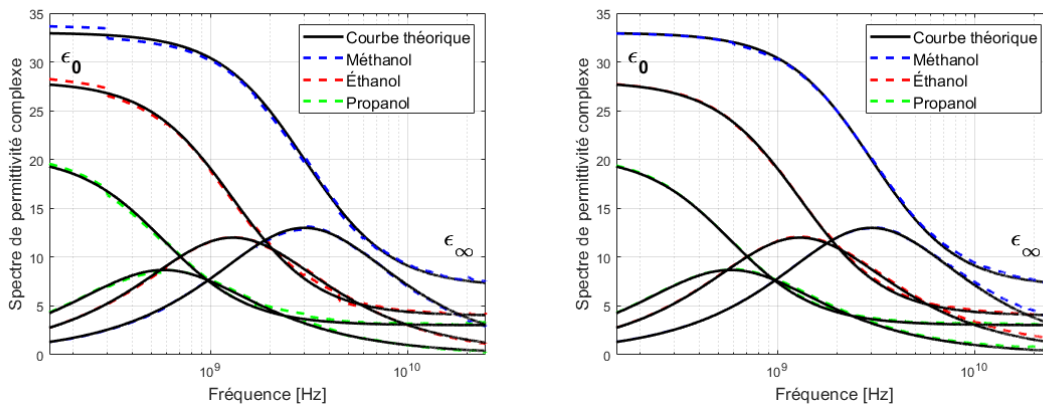


Figure 3.13 – Propriétés diélectriques théoriques (en noir) ou extraites des simulations du CPW-IDR sur HFSS.



(a) Extraction à partir des paramètres S_{11}

(b) Extraction à partir des paramètres S_{21}

Figure 3.14 – Propriétés diélectriques extraites des simulations du CPW-IDT comparées avec les courbes théoriques implémentées dans HFSS.

Aussi bien en réflexion (CPW-IDR) qu'en transmission, on obtient une très bonne adéquation entre la permittivité diélectrique ainsi estimée et celle, théorique, ayant alimentée le modèle HFSS pour chacun des milieux. Ceci montre la pertinence du capteur miniaturisé associé à la méthode d'extraction utilisée pour déterminer le modèle de Debye des milieux testés, et ceci sur une large bande de fréquences allant de 200 MHz à 25 GHz.

3.6 Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en réflexion

Dans cette partie de ce chapitre, nous décrivons en détail les structures utilisées et nous présentons les différentes mesures réalisées afin de valider les résultats théoriques

obtenus.

Pour l'ensemble des mesures, le coefficient de réflexion S_{11} est mesuré à l'aide d'un analyseur de réseaux vectoriel (PNA E8361C de Keysight) préalablement calibré. Ce calibrage est effectué à l'aide de 4 standards "Short – Open – Load – Through" (SOLT). Afin de corriger l'amplitude et la phase des paramètres S et éliminer les erreurs systématiques dues à l'instrumentation de mesure, un court-circuit (Short), un circuit ouvert (Open) et une charge adaptée (Load) sont placés aux extrémités des deux câbles de connexion (ou des pointes), puis les deux câbles sont reliés via une transition calibrée. Une fois la phase de calibrage menée à son terme, l'analyseur de réseau corrige automatiquement les paramètres S mesurés.

3.6.1 Mise en œuvre du capteur et mesures

Les premières mesures ont été effectuées pour le paramètre S_{11} à l'aide d'un banc instrumenté. La puce a été assemblée sur un support PCB intégrant un connecteur SMA pour le système d'excitation. Les excitations des capteurs sont de type coplanaire adapté 50 Ω , compatible avec des connecteurs SMA. L'utilisation de ce type de connecteur est privilégiée en raison de sa comptabilité avec le système de câblage utilisé dans la mesure du capteur. Les biocapteurs proposés, analysés et caractérisés en réflexion dans la bande de fréquences comprise entre 200 MHz et 8 GHz sont présentés sur la Fig. 3.15. La Fig. 3.16 montre les capteurs finaux après l'assemblage sur le support PCB et la soudure des connecteurs SMA.

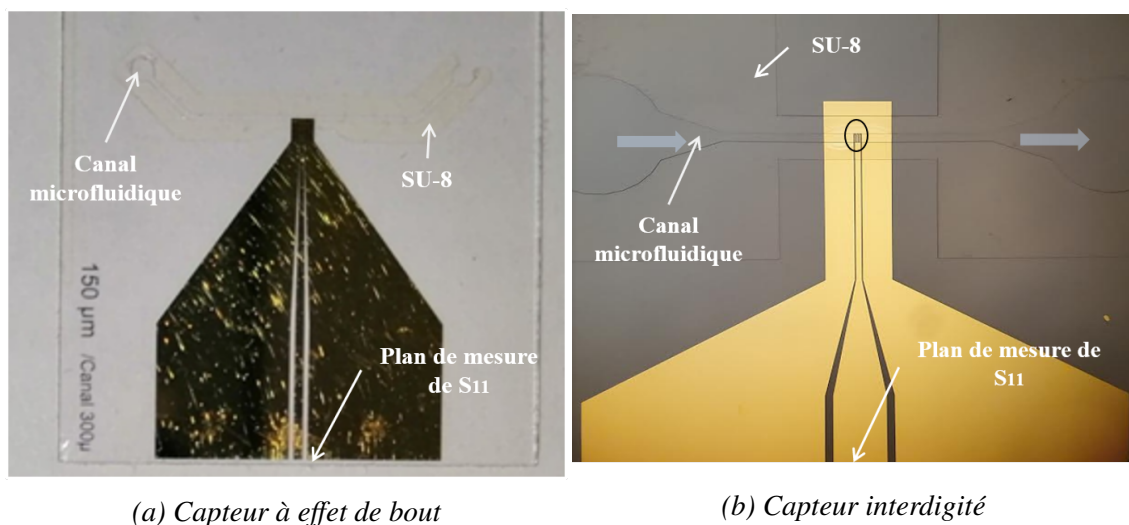


Figure 3.15 – Dispositifs fabriqués en salle blanche de l'ESIEE-Paris

Les premières mesures ont été effectuées avec le capteur OE-CPW dans la gamme fréquentielle allant de 0,4 à 6 GHz par pas de 2,5 MHz et à une température ambiante ($T = 25 \text{ }^\circ\text{C}$). Dans un deuxième temps, le capteur CPW-IDR a été utilisé dans la bande fréquentielle 300 MHz - 8 GHz. Selon les milieux mesurés (air, eau déionisée, acétone, méthanol et éthanol), le coefficient de réflexion S_{11} se positionne différemment sur l'abaque de Smith selon les propriétés diélectriques des différents milieux testés (Fig. 3.17) ; on peut remarquer une plus grande différence entre les courbes obtenues avec différents milieux dans le cas du capteur CPW-IDR, ce qui indique une meilleure sensibilité.

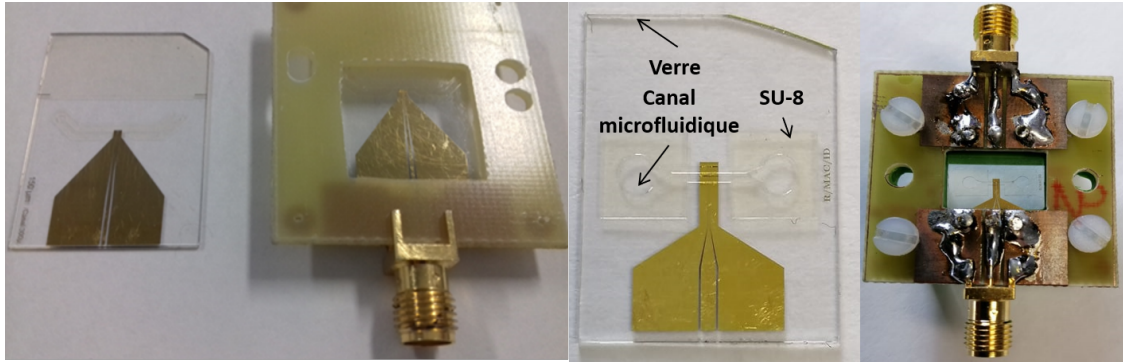


Figure 3.16 – Puces micro fluidiques connectorisées

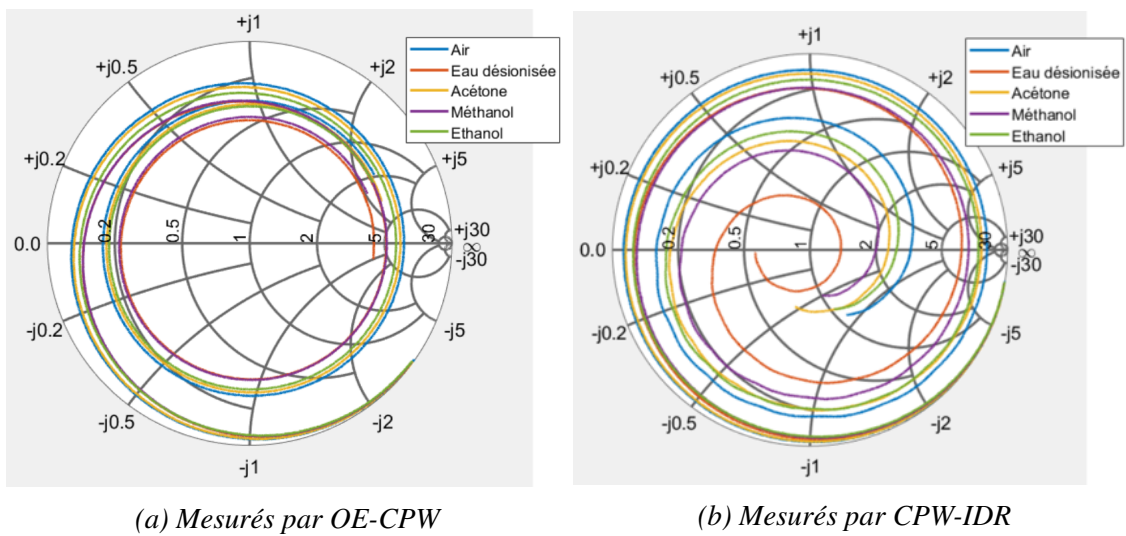


Figure 3.17 – Coefficients de réflexion S_{11} mesurés pour différents liquides dans le canal microfluidique et représentés sur l'abaque de Smith.

En utilisant les résultats des mesures et les protocoles d'extraction s'appuyant sur les trois milieux de calibrage (Air, eau déionisée, Acétone), les permittivités complexes diélectriques du méthanol et de l'éthanol ont été déterminées. Les Figs. 3.18 et 3.19 représentent, respectivement, les permittivités diélectriques extraites à partir des résultats de mesure du méthanol et de l'éthanol comparées avec des courbes obtenues par ajustement sous le logiciel de calcul scientifique Matlab® (à l'aide de la fonction Matlab® lsqcurvefit). Ce programme permet d'approcher au mieux le tracé d'une courbe au sens des moindres carrés avec l'expression analytique sous la forme donnée en éq.(1.11).

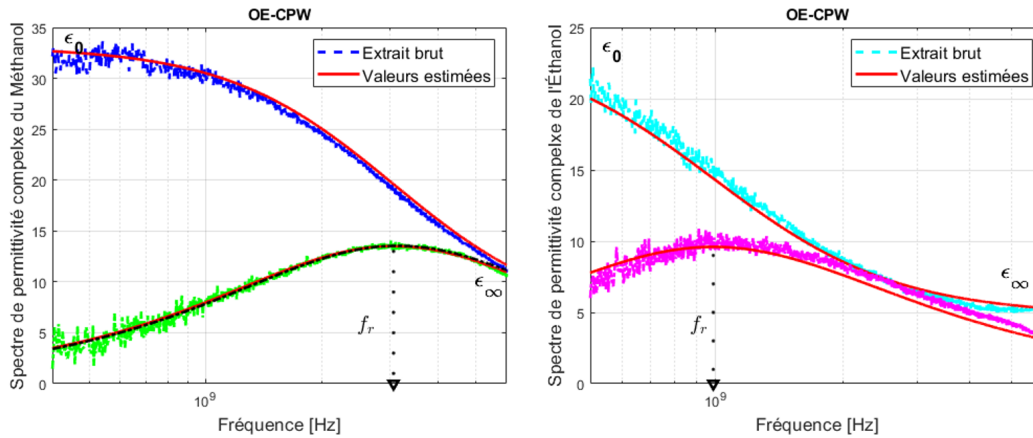


Figure 3.18 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol théoriques et extraites des résultats de mesure avec le OE-CPW (résultats bruts et courbes d’ajustement).

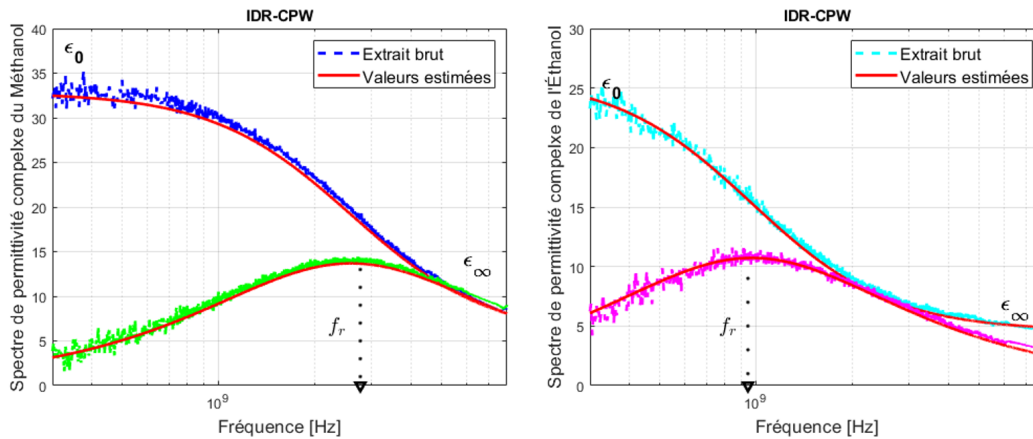


Figure 3.19 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol théoriques et extraites des résultats de mesure avec le CPW-IDR (résultats bruts et courbes d’ajustement).

Le Tab. 3.1 suivant présente une synthèse des différentes valeurs de permittivité complexe et fréquence de relaxation obtenues par ajustement après l’extraction et l’écart en % par rapport aux valeurs théoriques.

Ainsi, les résultats obtenus en simulation et lors de campagnes de mesure (Tab. 3.1) ont permis de valider à la fois le principe du capteur proposé (intégration au sein d’un canal microfluidique) et la méthode d’extraction des propriétés diélectriques. On retrouve pour les permittivités des trois matériaux un comportement du type de Debye avec une constante de relaxation et valeurs de limites de permittivité attendue. Il est à noter que la mesure des propriétés de l’éthanol est plus délicate en raison de son évaporation au cours de la mesure.

Sur la Fig. 3.20, une comparaison est présentée entre la permittivité extraite par l’OE-CPW, celle mesurée par la sonde Agilent 85070E (Fig. 2.10) et par la sonde coaxiale à ligne ouverte (Fig. 2.7). Un bon accord est obtenu entre les différentes méthodes de caractérisation.

Tableau 3.1 – Valeurs des permittivités et fréquences de relaxation obtenues par ajustement à 25 °C, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques

Liquide (à 25 °C)	ϵ_s	ϵ_∞	$f_r(\text{GHz})$
Méthanol			
(CPW-IDR)	32,83 (2,4%)	5,46 (3,4%)	2,60 (7,8%)
(OE-CPW)	32,60 (1,3%)	5,76 (7,1%)	2,95 (5,9%)
Ethanol			
(CPW-IDR)	26,02 (3,4%)	4,58 (1,1%)	0,97 (17,8%)
(OE-CPW)	23,31 (5,0%)	4,37 (6,1%)	1,06 (11,7%)

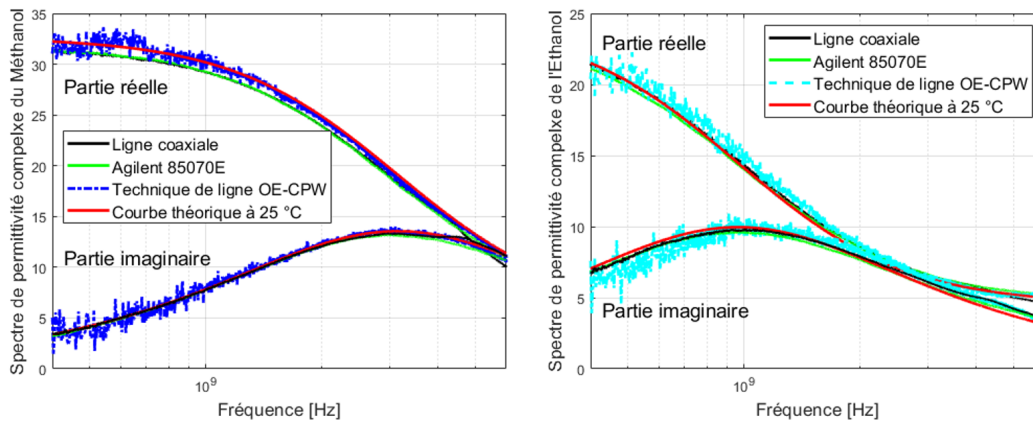


Figure 3.20 – Comparaison de ϵ_r^* du méthanol mesuré par trois dispositifs différents.

3.6.2 Caractérisation sous-pointes

Afin d’augmenter la sensibilité du capteur, il est nécessaire de s’affranchir de la transition vers le connecteur SMA rendue nécessaire par le dispositif de mesure ici utilisé et d’optimiser l’impédance d’accès à la zone de mesure. Une solution, au-delà d’un redimensionnement de la puce, est de permettre des mesures sous pointes au niveau de l’accès coplanaire. C’est pourquoi la caractérisation sous-pointes a été effectuée. La Fig. 3.21 suivante montre le biocapteur retenu.

Notre banc de mesure est présenté sur la Fig. 3.22. Il est constitué d’un analyseur de réseau vectoriel (PNA E8361C de Keysight) connecté à un écran. Le banc de mesure sous-pointes est constitué d’une pompe à vide pour fixer la puce sur la plaquette, trois platines de déplacement pour le déplacement micrométrique de la sonde : deux pour contrôler le déplacement de la sonde sur l’axe XY et le troisième pour contrôler le déplacement de la sonde sur l’axe Z.

La première étape consiste à aligner la pointe GSG avec la paquette afin d’avoir un bon contact entre eux. Ensuite, on place la puce microfluidique sur la plaquette et on démarre la pompe à vide pour assurer un bon maintien de la puce. Dans notre système de mesure nous utilisons une technique manuelle de contrôle de la distance pointe - puce. La sonde se déplace selon les axes X, Y et Z vers la puce (descendante) jusqu’à obtenir un contact

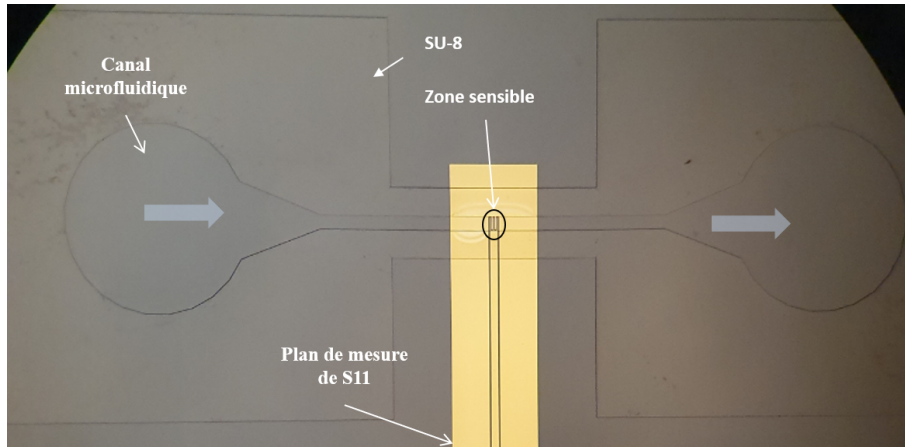


Figure 3.21 – Capteur à effet de bout en capacité interdigitée.

entre la sonde et la métallisation du capteur. Le mouvement de la pointe, sur les derniers microns est contrôlé par une surveillance de la variation du coefficient de réflexion sur l'abaque de Smith.

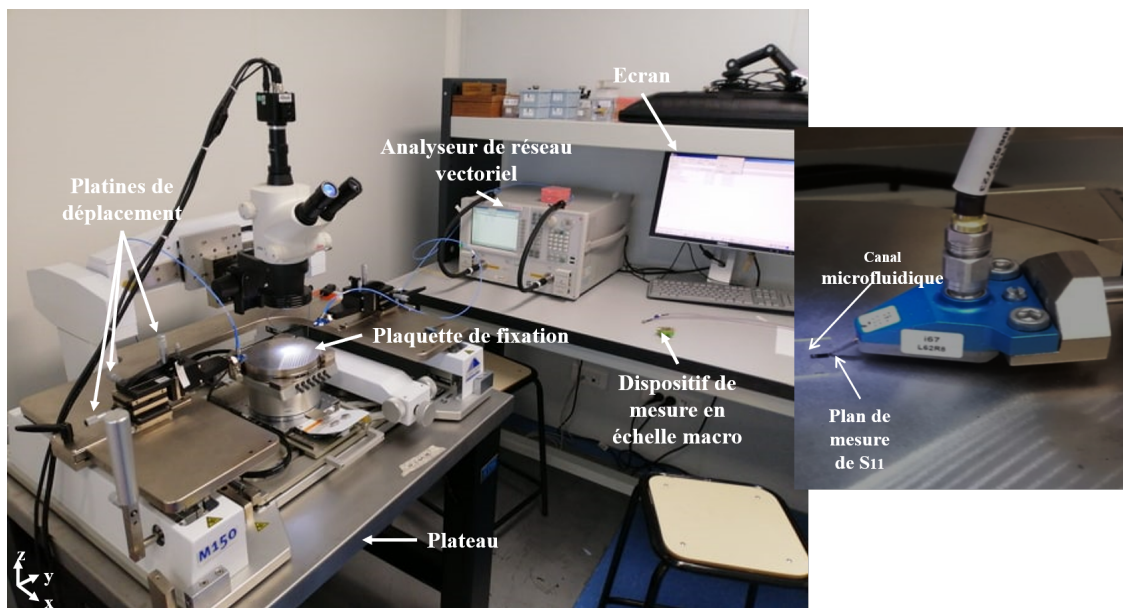


Figure 3.22 – Banc de mesure sous-pointes.

Les mesures ont été réalisées à 20 °C sur une large gamme fréquentielle allant de 200 MHz à 25 GHz.

Les résultats bruts d'extraction des parties réelles et imaginaires de permittivité complexe du méthanol et l'éthanol sont présentés sur la Fig. 3.23 et on retrouve la permittivité des milieux extraits avec une très bonne précision. L'air, l'eau déionisée et l'acétone sont toujours mesurés et conservés pour l'étape de calibration. La courbe rouge montre les valeurs extraites après l'ajustement. On peut voir le bon d'accord entre les fréquences de relaxation mesurées ainsi extraites. De même, on voit que la valeur de la permittivité statique et celle à très hautes fréquence correspondent à celles attendues. Ainsi, dans le cas du méthanol, la permittivité statique estimée est de 32,97 contre 33,64 en théorie et la fréquence de relaxation est de 2,55 GHz contre 2,82 en théorie. Pour l'éthanol, on estime

la permittivité statique à 23,72 contre 25,16 en théorie et la fréquence de relaxation à 1,01 GHz contre 0,83 en théorie.

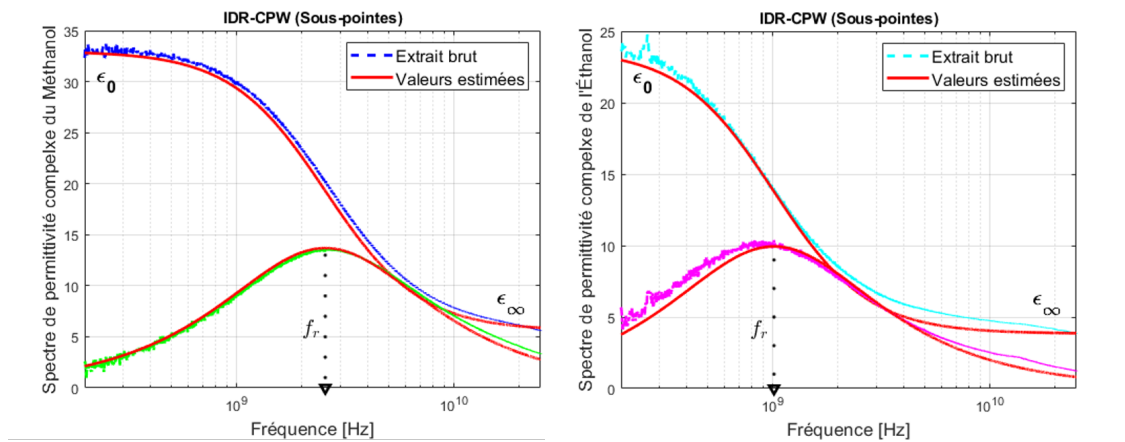


Figure 3.23 – Parties réelles et imaginaires de permittivité complexe du méthanol et l'éthanol brutes et extraites (200 MHz - 25 GHz). Mesures effectuées sous-pointes.

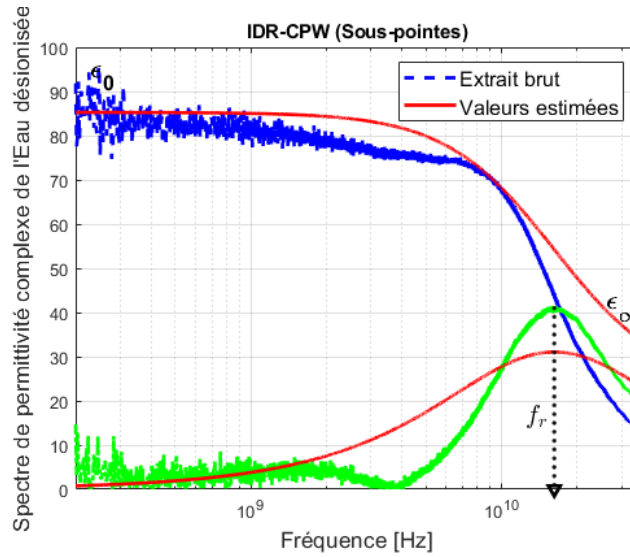
Afin de montrer la robustesse de la méthode vis-à-vis du choix des milieux de référence pour le calibrage, nous avons effectué l'extraction des propriétés de milieux à partir des mesures en considérant à chaque fois trois milieux de référence différents.

3.6.3 Influence des milieux de calibrage

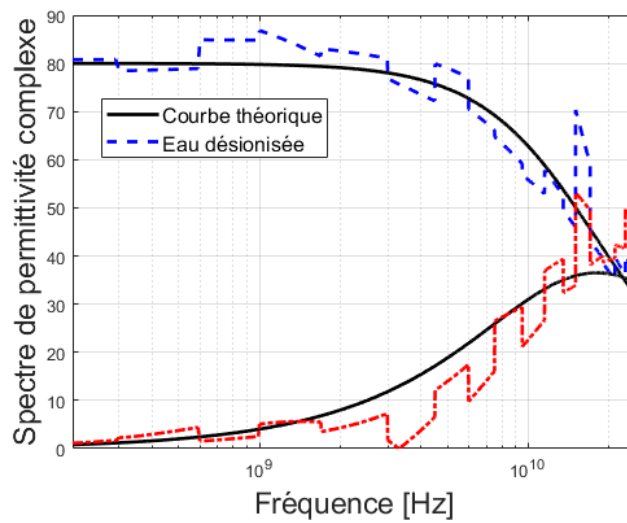
● Cas 1 : Air, Acétone et Méthanol

Bien que la permittivité statique réelle de l'eau ait une valeur très éloignée de celles des milieux utilisés pour le calibrage et excède largement la permittivité la plus élevée des milieux de référence ($\epsilon_{r,O}^* = 1$ pour l'air, $\epsilon_{r,A}^* = 21$ pour l'acétone et $\epsilon_{r,M}^* = 32,66$ pour le méthanol), on retrouve, en mesures, une permittivité de l'eau déionisée très proche de celle théorique à savoir 80,21, ici $\epsilon_{r,W}^* = 85,27$ (Fig. 3.24a). De même, la fréquence de relaxation estimée en mesure est de 16,18 GHz contre 17,00 GHz en théorie. Nous avons effectué une extraction de la permittivité de l'eau à partir de simulations en utilisant les mêmes milieux de référence pour voir si le résultat trouvé en mesure est cohérent avec celui obtenu en simulation. La Fig. 3.24b présente les valeurs extraites des simulations. La permittivité est très fluctuante notamment en haute fréquence autour de la fréquence de relaxation en raison des erreurs numériques. Notons que les résultats numériques obtenus des simulations dans la bande de fréquence allant de 200 MHz à 25 GHz sont réalisés en plusieurs sous bandes afin d'avoir un maillage par éléments finis adapté aux fréquences considérées ; ceci explique les discontinuités observées sur les résultats de simulation.

La courbe rouge sur la Fig. 3.25 nous montre qu'avec ces nouvelles références de calibrage, on retrouve le même comportement du type de Debye pour l'éthanol sur la bande de fréquences. La fréquence de relaxation estimée dans ce cas de calibrage est de 0.96 GHz contre 0,83 GHz en théorie.



(a) Mesures



(b) Simulations

Figure 3.24 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'eau déionisée extraites ou par ajustement de la mesure (a) et de la simulation (b) avec un calibrage : air, méthanol, acétone. Mesures effectuées sous-pointes.

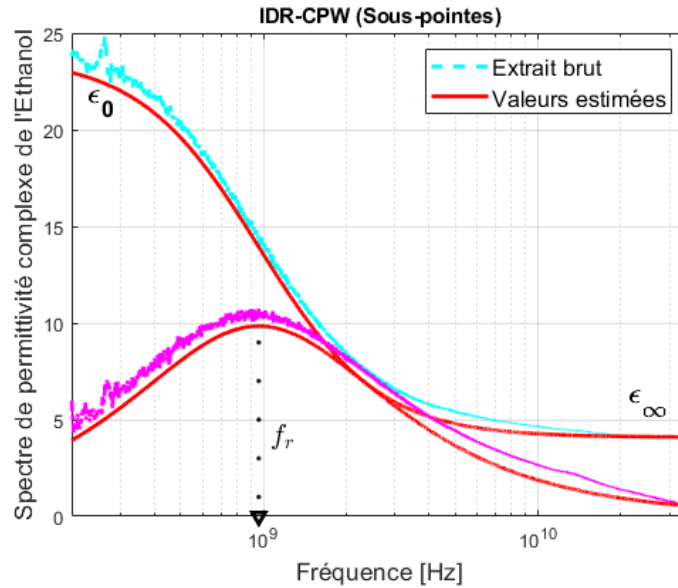


Figure 3.25 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'éthanol extraites des simulations avec un calibrage : air, méthanol, acétone.

● **Cas 2 : Air, Eau déionisée, Méthanol**

La Fig. 3.26 présente les résultats de caractérisation de la permittivité diélectrique de l'acétone. On retrouve les caractéristiques diélectriques de l'acétone (ainsi que de l'éthanol) avec une bonne corrélation dans notre gamme de mesure (0,2 à 25 GHz).

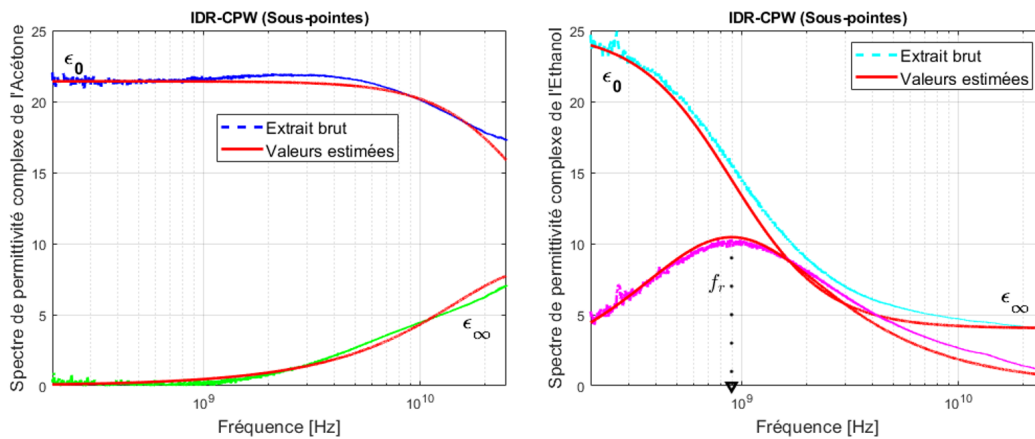


Figure 3.26 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'acétone (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites ou par ajustement de la mesure. Mesures effectuées sous-pointes.

3.6.4 Extraction des permittivités complexes des mélanges

Afin d'étudier et d'optimiser la sensibilité d'un biocapteur, l'impact de l'introduction d'un liquide sur la variation de la capacité globale du capteur a été évalué. Pour ce faire, nous avons utilisé des liquides dont les permittivités sont bien connues comme par exemple l'eau pure et le méthanol. Dans le cas du liquide pur ou de mélanges eau/méthanol,

la permittivité relative varie en fonction de la fréquence en suivant des lois de type Debye (éq. (1.11)) comme discuté dans le chapitre 1.

Les Figs. 3.27 et 3.28 représentent respectivement l'évolution de la partie réelle et imaginaire de la permittivité en fonction de la fréquence pour différents mélanges eau/méthanol (pris à une température de 20 °C).

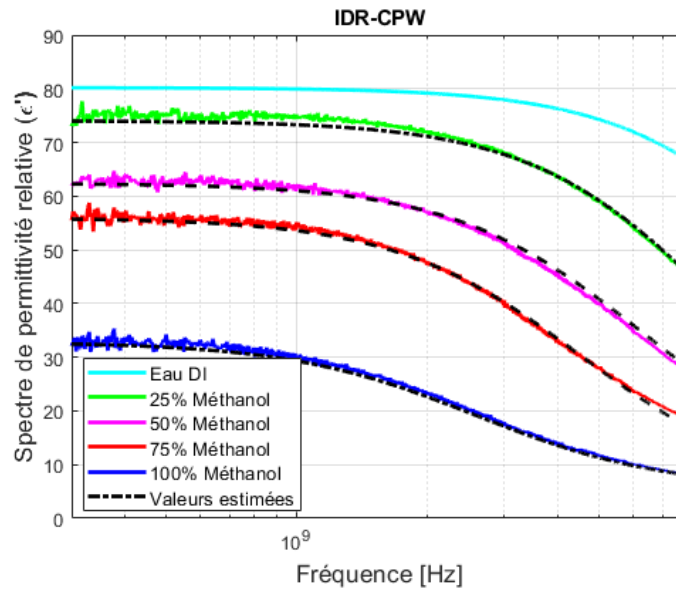


Figure 3.27 – Evolution de la partie réelle de la permittivité en fonction de la fréquence de chaque milieu liquide choisi. Modèle théorique pour l'eau, valeurs extraites des mesures pour le méthanol et les mélanges, en pointillés modèles de Debye estimés à partir des valeurs extraites.

Pour les différents mélanges, l'équation de Debye nécessite trois paramètres (ϵ_0 , f_r , ϵ_∞) pour décrire le comportement fréquentiel de relaxation diélectrique des mélanges binaires. Dans ce paragraphe, nous avons étudié les trois paramètres des mélanges de solvants qui sont liés à ceux des solvants purs à travers des "règles de mélange" appropriées.

Les permittivités diélectriques sont extraites à partir des résultats de mesure à 20 °C des mélanges comparées avec des courbes obtenues par ajustement sous Matlab®. Une méthode d'optimisation par la méthode des moindres carrés a été utilisée pour extraire les trois paramètres (ϵ_0 , f_r , ϵ_∞) en considérant l'expression analytique de Debye.

Pour évaluer la variation des paramètres qui permettent de tracer la variation de permittivité en fonction de la fréquence, nous avons tracé l'écart entre tous les paramètres obtenus en mesure et les valeurs théoriques obtenus par les équations décrites ci-dessous en fonction de la fraction volumique de la phase dispersé :

- **Temps de relaxation diélectrique** : la relaxation diélectrique fait référence à la réponse de relaxation d'un milieu diélectrique à un champ électrique externe de fréquence micro-onde. Cette relaxation est souvent décrite en termes de permittivité en fonction de la fréquence qui peut être décrite par l'équation de Debye. Une formule de mélange pour le temps de relaxation à température constante a été proposée par Lou et al.10 en [2].

$$\ln\tau_{mix} = X_1\ln\tau_1 + X_2\ln\tau_2 \quad (3.25)$$

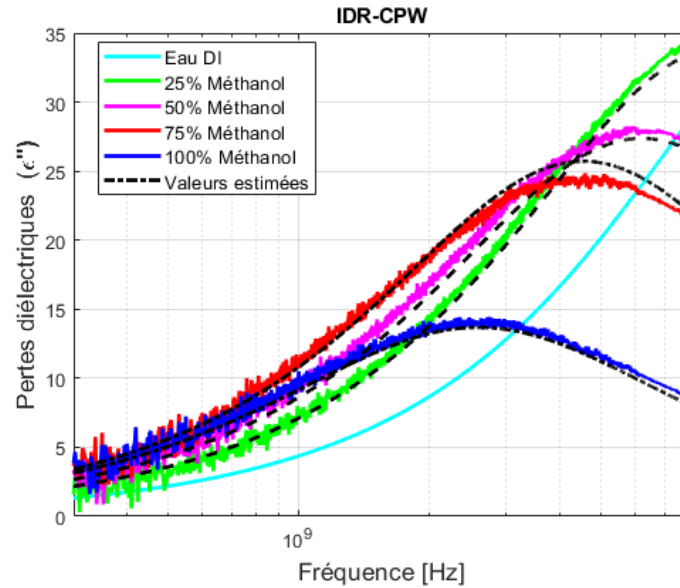


Figure 3.28 – Evolution de la partie imaginaire de la permittivité en fonction de la fréquence de chaque milieu liquide choisi. Modèle théorique pour l'eau, valeurs extraites des mesures pour le méthanol et les mélanges, en pointillés modèles de Debye estimés à partir des valeurs extraites.

où les indices 1 et 2 représentent respectivement les deux solvants. X_1 et X_2 ($X_1 + X_2 = 1$) sont les fractions volumiques des composants respectifs. Ce type de variation suggère qu'une association intermoléculaire a lieu dans ce système binaire et que les interactions induites par la liaison hydrogène produisent un champ tel que les dipôles efficaces tournent plus lentement. La Fig. 3.29 présente l'écart entre les fréquences de relaxation diélectriques des mélanges issus de mesure et celles théoriques obtenus par l'éq. (3.25).

- **Constante diélectrique haute fréquence :** la valeur des mélanges de solvants peut être calculée sur la base de modèles théoriques ainsi que de nombreuses formules empiriques. Un modèle simple s'est avéré suffisant pour calculer la valeur des mélanges de solvants. La Fig. 3.30 suivante montre les valeurs estimées de ϵ_∞ théoriquement et obtenus par ajustement.

$$\frac{1}{\epsilon_{\infty,mix}} = \frac{X_1}{\epsilon_{\infty,1}} + \frac{X_2}{\epsilon_{\infty,2}} \quad (3.26)$$

Comme le montre la Fig. 3.30, un décalage est observé entre les valeurs théoriques et celles estimées des constantes diélectriques haute fréquence des mélanges. Cependant, comme ϵ_∞ représente la limite haute fréquence de la permittivité diélectrique ($f \gg 20$ GHz), ces valeurs sont difficiles à estimer à partir des mesures sur la bande considérée pour l'analyse des signaux (ici 300 MHz – 8 GHz).

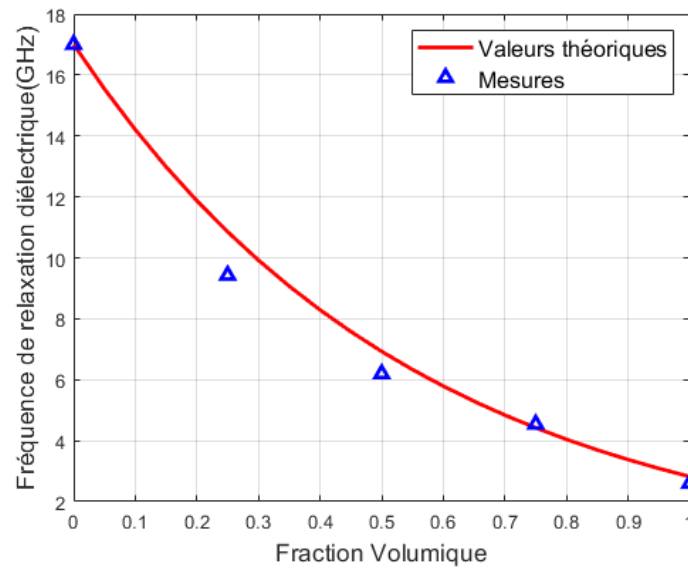


Figure 3.29 – Représentation des fréquences de relaxation diélectriques des mélanges obtenus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectorisé.

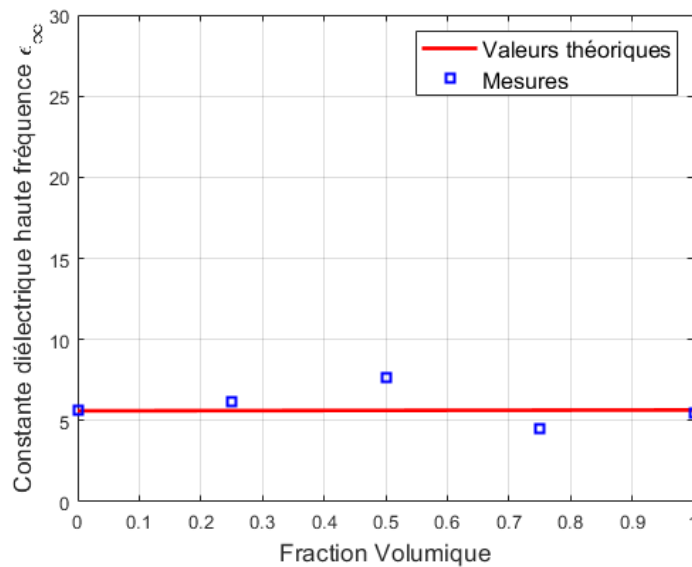


Figure 3.30 – Représentation de constante diélectrique haute fréquence des mélanges obtenus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectorisé.

— **Constante diélectrique statique** : plusieurs équations de mélange diélectrique ont été utilisées dans la littérature pour estimer les propriétés diélectriques des mélanges binaires. De nombreuses équations se sont avérées applicables aux données expérimentales de la littérature précédente. Une équation de la constante diélectrique basée sur l'électrostatique et pour une dispersion diluée d'inclusions sphériques a été développée par Bruggeman [3] :

$$\left(\frac{\epsilon_{mix}-\epsilon_1}{\epsilon_2-\epsilon_1}\right)\left(\frac{\epsilon_2}{\epsilon_{mix}}\right)^{\frac{1}{3}} = 1 - X \quad (3.27)$$

où les indices 1 et 2 désignent respectivement les deux composants solvants et X est la fraction volumique de la phase dispersée. Les valeurs trouvées par la mesure de mélange et les valeurs théoriques sont présentées sur la Fig. 3.31 suivante.

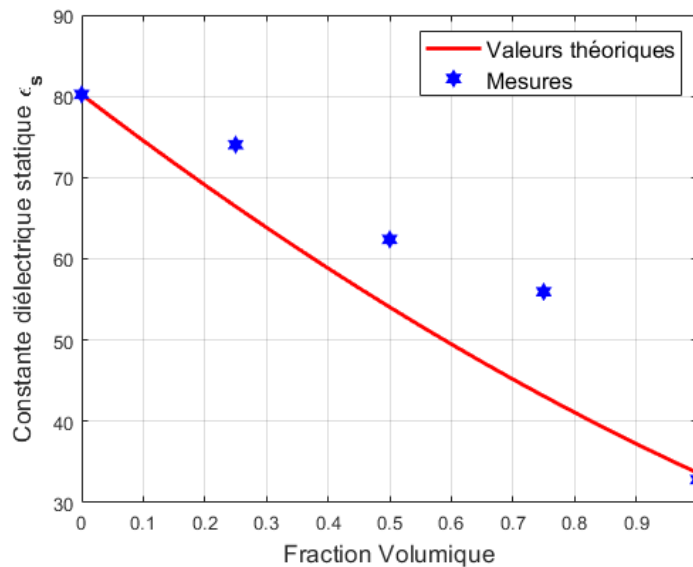


Figure 3.31 – Représentation de constante diélectrique statique des mélanges issus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectisé.

À partir de ces mesures, nous avons tracé, sur la Fig. 3.32, la valeur de la permittivité statique des mélanges, à certaines fréquences, en fonction de la fraction volumique du liquide présent dans le canal.

Les paramètres qui permettent de tracer la variation de permittivité en fonction de la fréquence sont présentés dans le Tab. 3.2.

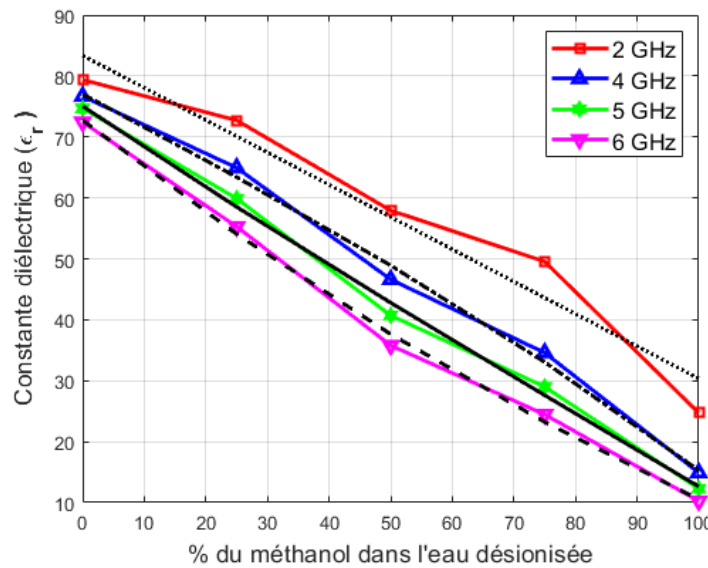


Figure 3.32 – Permittivité statique des mélanges, à certaines fréquences, en fonction de fraction volumique. Mesure effectuée sur un capteur connectorisé.

Tableau 3.2 – Paramètres de relaxation diélectrique pour différents mélanges obtenues par ajustement à 20 °C

% volumique	ϵ_s	ϵ_∞	$f_r(\text{GHz})$
25% Méthanol	74,04	6,20	9,42
50% Méthanol	62,83	7,63	6,19
75% Méthanol	55,95	4,51	4,54
100% Méthanol	32,83	5,60	2,60
100% Eau déionisée (ED)	80,23	5,60	17,00

3.7 Extraction et analyse des propriétés diélectriques des milieux mesurés en transmission

L'obtention de coefficients de réflexion et de transmission d'un échantillon sous test nous permet d'obtenir plus précisément ses caractéristiques physiques en fonction de la fréquence. Les paramètres de réflexion et de transmission sont donc mesurés de 200 MHz à 7 GHz par l'utilisation du dispositif interdigité utilisé en transmission présenté sur la Fig. 3.33.a. Le capteur final après l'assemblage sur le support PCB et la soudure des connecteurs SMA est présenté sur la Fig. 3.33.b. Un calibrage « Short-Open-Load-Through » (SOLT) du VNA ramène les plans de mesure aux extrémités des câbles d'accès c'est-à-dire au niveau des entrées des connecteurs SMA.

Les milieux fluidiques purs (Eau déionisée, Acétone, Méthanol et Ethanol) ont été mesurés dans la gamme de fréquence allant de 200 MHz jusqu'à 7 GHz. L'introduction de ces différents liquides dans le canal microfluidique modifie la permittivité complexe du liquide dans le canal. Ces variations de caractéristiques diélectriques du milieu de propagation de l'onde électromagnétique modifient donc la réponse en transmission S_{21} et

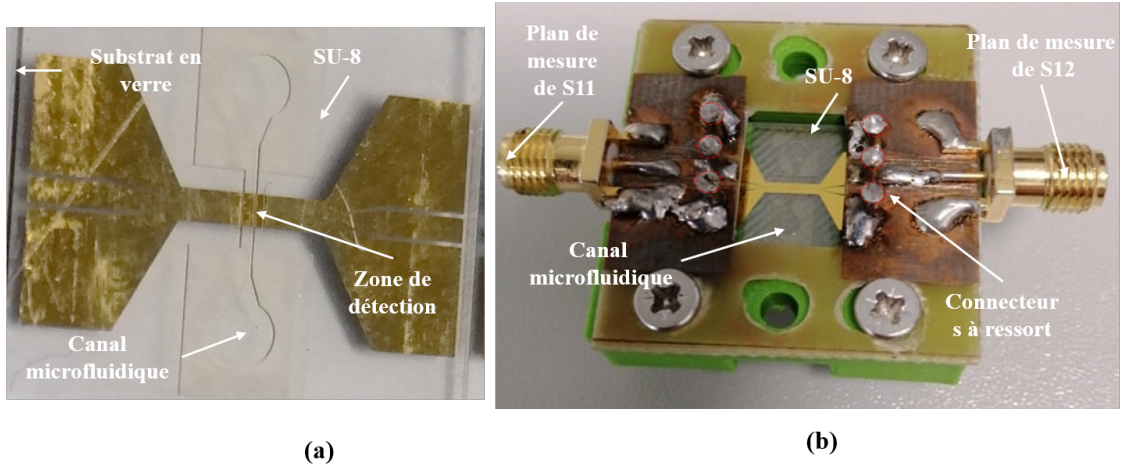


Figure 3.33 – Puce microfluidique interdigitée en transmission (a) fabriquée et (b) connectorisée.

en réflexion S_{11} du capteur. Il y a également une variation de la capacité globale du bio-capteur. L'extraction de ε_r^* requiert une dernière étape de post-traitement après l'étape de calcul des vecteurs α et β . Nous pouvons ensuite extraire d'après l'éq. (3.15) et l'éq. (3.20) la permittivité relative complexe d'un milieu sous test.

De la même manière, le dispositif a été calibré en considérant cette fois trois autres milieux de référence, à savoir l'air, l'eau déionisée et l'acétone, et les calculs de la permittivité complexe diélectrique du méthanol et de l'éthanol sont effectués par le protocole d'extraction présenté dans le paragraphe III de ce chapitre. Selon les milieux mesurés, le coefficient de réflexion S_{11} est positionné différemment sur l'abaque de Smith, comme illustrée à la Fig. 3.34.

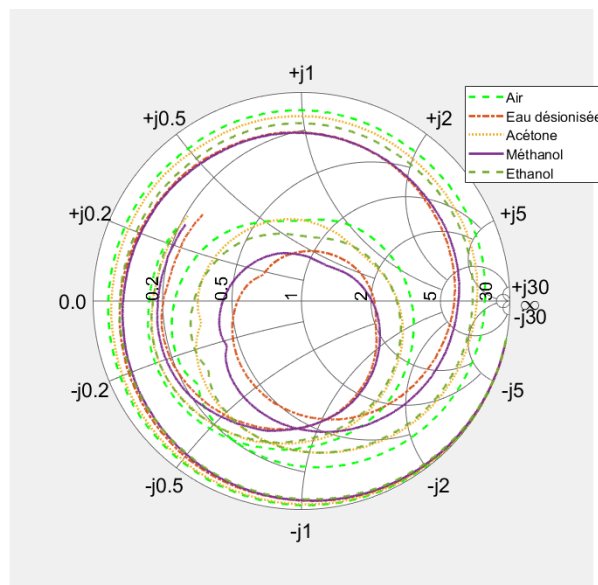


Figure 3.34 – Représentation de S_{11} obtenu sur des mesures de puce CPW-IDT sur l'abaque de Smith pour différents liquides dans le canal microfluidique.

Les Figs. 3.35 et 3.36 présentent les permittivités diélectriques extraites à partir des résultats de mesure de S_{11} et S_{21} , respectivement du méthanol pur et de l'éthanol pur,

comparées avec des courbes obtenues par ajustement sous le logiciel de calcul scientifique Matlab®.

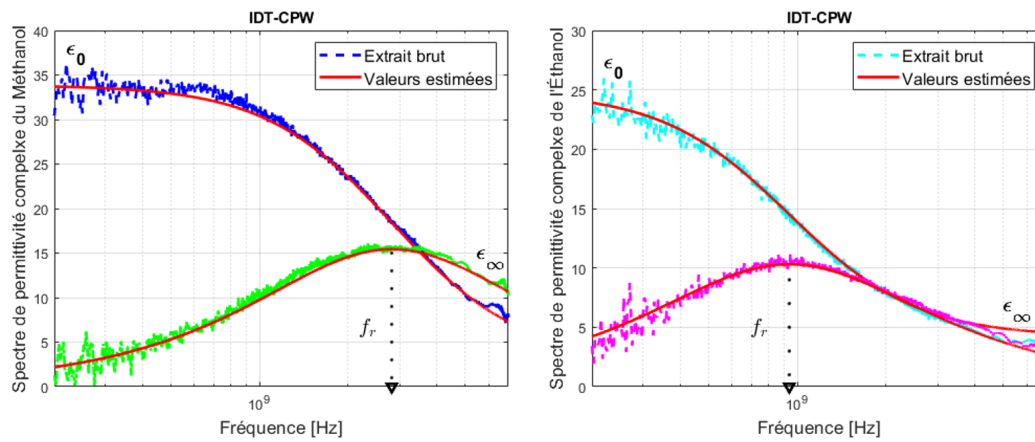


Figure 3.35 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites des mesures de S_{11} .

La forme des courbes indique qu'une réponse de type Debye de chaque constante de relaxation attendue peut être extraite à 20 °C. Une comparaison entre les permittivités estimées par notre appareil et celles mesurées par une sonde coaxiale à ligne ouverte fabriquée de manière artisanale et par la sonde Agilent 85070E [4] a été effectuée et présente des résultats similaires validant la fonctionnalité du capteur miniaturisé.

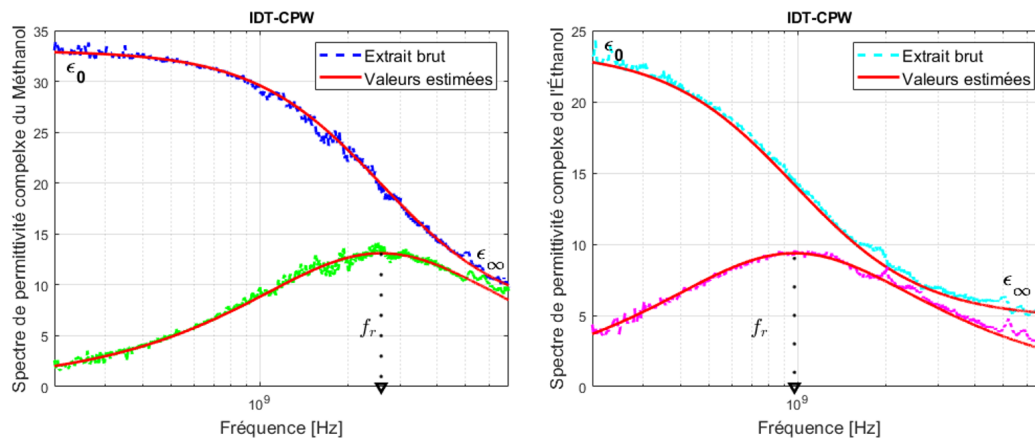


Figure 3.36 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites des mesures de S_{21} .

● Caractérisation sous-pointes en transmission dans la gamme de fréquence 1 GHz -10 GHz

La technique de caractérisation en transmission a été également testée. Le spectre de permittivité complexe du méthanol a été estimé à 20 °C par l'exploitation des coefficients de réflexion S_{11} et S_{22} , et de coefficient de transmission S_{21} . Le résultat expérimental obtenu avec le biocapteur sous pointes IDT - CPW en utilisant le banc de mesure présenté sur la Fig. 3.22 est présenté sur la Fig. 3.37. Les mêmes milieux fluidiques de référence du paragraphe précédent ont été utilisés pour la phase de calibrage.

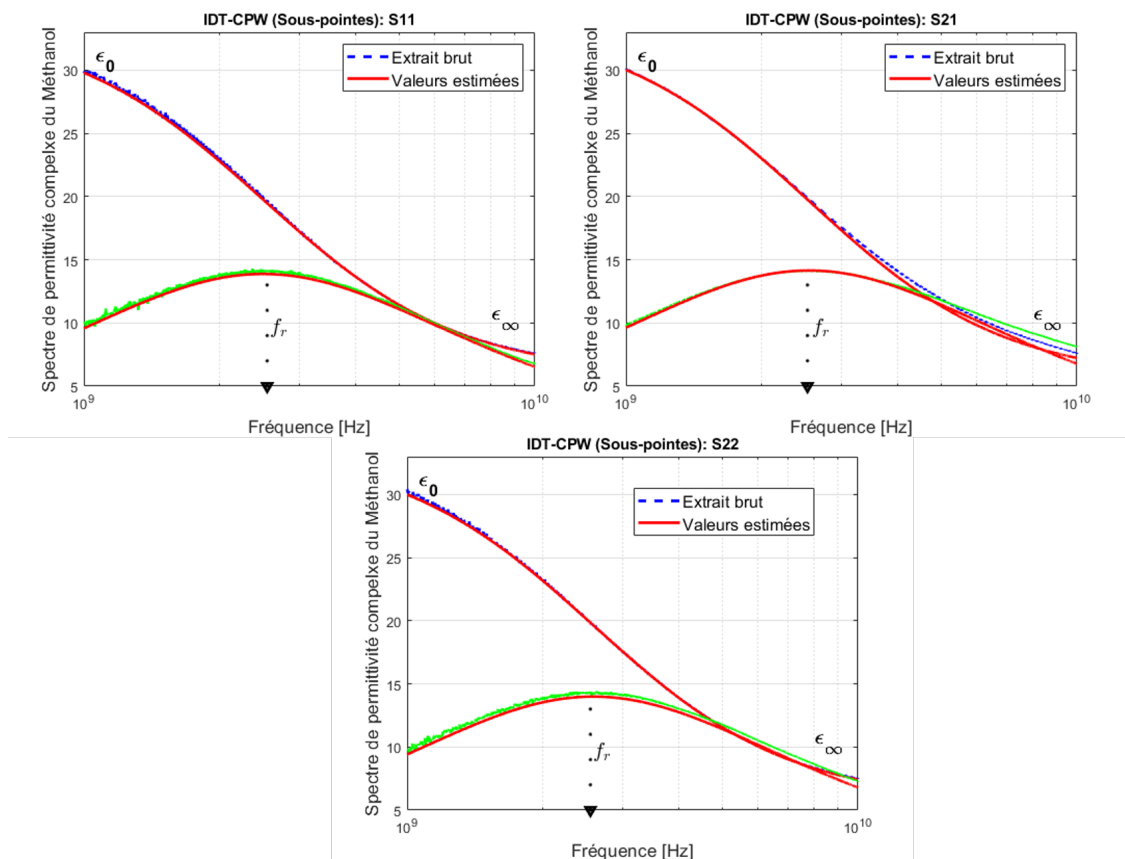


Figure 3.37 – Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol extraites des mesures des paramètres [S].

Les Tabs. 3.3 et 3.4 suivants résument les paramètres de relaxation diélectrique pour différents milieux obtenus par ajustement à 25 °C à partir des résultats de mesure des paramètres [S] du biocapteur CPW-IDT celui connectorisé et sous -pointes respectivement. L'écart en % par rapport aux valeurs théoriques est également présenté.

Les résultats obtenus montrent que le système sous pointe reste la méthode la plus propre pour extraire les paramètres du modèle de Cole Cole. Ce système par contre est contraignant en terme d'utilisation et limite le contexte applicatif du principe de mesure. Le système en connectorisé permet de s'affranchir de cette contrainte. Les résultats obtenus sont dégradés mais permettent néanmoins d'avoir des résultats satisfaisants pour une première analyse.

Tableau 3.3 – Paramètres de relaxation diélectrique pour différents milieux obtenues par ajustement à 25 °C de biocapteur CPW-IDT, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques

Liquide (à 25 °C) (erreur en %)	ϵ_s	ϵ_∞	f_r (GHz)
Méthanol			
S_{11}	33,85 (3,6%)	3,00 (46%)	2,81 (10 %)
S_{21}	33,01 (1,0%)	6,80 (22%)	2,58 (17%)
Ethanol			
S_{11}	24,82 (1,6%)	4,20 (6,7%)	0,93 (2,7%)
S_{21}	23,52 (3,6%)	4,80 (5,6%)	0,97 (1,2%)

Tableau 3.4 – Paramètres de relaxation diélectrique pour différents milieux obtenues par ajustement à 20 °C de biocapteur CPW-IDT sous-pointes, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques

Liquide (à 25 °C) (erreur en %)	ϵ_s	ϵ_∞	f_r (GHz)
Méthanol			
S_{11}	33,64 (0,0%)	5,88 (4,0%)	2,50 (11,5%)
S_{21}	33,80 (0,5%)	5,50 (2,5%)	2,54 (9,7%)
S_{22}	33,64 (0,0%)	5,65 (0%)	2,58 (8,3%)

3.8 Conclusion et discussion

Au travers de ce troisième chapitre, nous avons présenté plusieurs géométries de biocapteurs qui permettent de mesurer la permittivité diélectrique de l'échantillon analysé à partir de paramètres de réflexion S_{11} et S_{22} et le paramètre de transmission S_{12} ou S_{21} .

Pour valider expérimentalement les performances du capteur, ces paramètres ont été mesurés à la fois en l'absence de liquide et pour un canal rempli de plusieurs types de liquides et en utilisant les deux types de capteurs : connectorisé et sous-pointes. Plusieurs liquides courants, avec des valeurs différentes de permittivités complexes et de temps de relaxation, ont été choisis pour tester la sensibilité du capteur en comparant ces résultats avec ceux obtenus par des simulations.

Les résultats obtenus autant par la simulation que par la caractérisation expérimentale montrent qu'il est pertinent de s'appuyer sur les microtechnologies en vue de réaliser un biocapteur permettant la mesure des propriétés diélectriques de milieux liquides ou de

nature biologique.

La méthode d'extraction de la permittivité complexe des milieux liquides, utilisant une étape de calibrage à l'aide de trois références, s'est montrée fonctionnelle et a permis de valider le fonctionnement global du capteur. Il est à noter que les résultats obtenus en simulation et en mesure sont très proches.

Les résultats de mesures obtenus sont comparés avec ceux provenant de mesures réalisées par des capteurs similaires, mais adressant des volumes beaucoup plus grands. Les permittivités complexes extraites sont très proches et permettent de valider le bon fonctionnement de notre biocapteur. La connaissance des permittivités et fréquences de relaxation peuvent ensuite permettre l'identification des liquides et en particulier des mélanges.

L'ensemble des résultats expérimentaux montre une bonne concordance entre les permittivités extraites et les résultats théoriques après application de la méthode d'extraction et ceci quelques soient les milieux de calibrage. Néanmoins, les mesures sous pointes sont plus propres que celles prises avec les capteurs connectés. La permittivité présente moins de fluctuations notamment à basse fréquence. Cela peut s'expliquer par une désadaptation de l'impédance d'entrée du biocapteur connecté ou par une surface de capture du bruit plus élevée comparée avec une mesure sous pointes.

La procédure de calibrage nécessite un bon nettoyage de la zone de mesure entre chaque étape ainsi qu'une bonne maîtrise de la zone du capteur impactée par le liquide. Cette étape joue un rôle important et peut aussi jouer sur la précision de mesure. Cependant, nos résultats de mesures ont été largement influencés par la précision de la température mesurée des milieux de référence. Cela rend la comparaison avec les valeurs théoriques difficile.

Les perspectives d'applications en rapport avec la caractérisation de milieux hétérogènes concernent l'analyse d'échantillons de quelques nanolitres et contenant quelques cellules biologiques. On cherchera à analyser les propriétés diélectriques en lien avec la présence ou non d'une pathologie (type cellulaire, cancer, anémie, ...) car des variations de propriétés diélectriques sont observées sur des tissus malades [5, 6].

Bibliographie

- [1] « De-embedding and Embedding S-Parameter Networks Using a Vector Network Analyzer ». Application Note 1364-1, AGILENT Technologies, Innovating the HP Way.
- [2] J.F. Lou, T.A. Hatton and P.E. Laibinis, J. Phys. Chem. A, 101, 5262 (1997).
- [3] www.keysight.com/en/pd-304506-pn-85070E/dielectric-probe-kit?cc=FRlc=fr
- [4] Bruggeman. D. A. G., "Berechnung verschiedener physikalischer konstanten von heterogenen substanzen, i. dielektrizitätskonstanten und leitfähigkeiten der mischkörper aus isotropen substanzen", Ann. Phys., pp. 636–664, 1935.
- [5] Hussein M., Awwad F., Jithin D., El Hasasna H., Athamneh K. Iratni R. « Breast cancer cells exhibits specific dielectric signature in vitro using the open-ended coaxial probe technique from 200MHz to 13.6GHz” 18 March 2019
- [6] Khan U., Al-Moayed N., Nguyen N., Obol M., Korolev K., Afsar M. and Naber S., “High Frequency Dielectric Characteristics of Tumorous and Nontumorous Breast Tissues”.

4

Méthode de de-Embedding destinée à la caractérisation diélectrique des milieux fluidiques

Méthode de De-Embedding destinée à la caractérisation diélectrique des milieux fluidiques

Sommaire

4.1	Introduction	112
4.2	Technique de de-embedding : principe et défis	113
4.3	Méthode de caractérisation de la permittivité diélectrique à partir de l'admittance du canal	116
4.4	Application de la méthode de de-embedding en mesure	121
4.5	Conclusion	131

4.1 Introduction

Le système de caractérisation HF développé dans ce travail est constitué de deux parties principales : le circuit biocapteur hyperfréquence constitué de lignes coplanaires (CPW pour CoPlanar Waveguide) combiné avec un canal microfluidique qui localise le fluide à analyser au-dessus de la zone active qui se comporte en première approximation comme une capacité. Nous allons explorer dans ce chapitre la méthodologie qui, à partir d'une bonne maîtrise des caractéristiques électriques de l'ensemble des éléments constituant cette chaîne, permet d'obtenir un modèle équivalent et de développer une procédure d'extraction analytique des paramètres diélectriques du milieu sous test. Le signal émis par la source se dirige vers le dispositif sous test (DUT) et une partie du signal est réfléchi tandis qu'une autre est transmise pour être captée par la deuxième voie. L'analyse des données mesurées sur les signaux réfléchis et transmis permet d'extraire les caractérisations diélectriques d'un milieu inconnu placé dans la zone de détection.

Dans le chapitre 3, nous avons présenté les résultats des mesures effectuées à la fois par des mesures sous pointes et avec les biocapteurs assemblés sur un support PCB intégrant un connecteur SMA, instrumentés pour la mesure à l'aide d'un analyseur de réseau vectoriel (VNA : Vector Network Analyzer) via une connexion par câble. Il a alors été montré qu'une meilleure précision était obtenue avec une mesure sous pointes. En s'aidant du logiciel commercial HFSS pour la simulation RF du dispositif, les méthodes d'extraction des paramètres à partir du coefficient de transmission S_{21} et/ou de réflexion S_{11} , présentées dans la section 3.4 du chapitre précédent, ont été validées numériquement et expérimentalement.

Étudions la Fig. 4.1 représentant nos structures en transmission et réflexion. C'est au bout ou au centre de ces structures que sera inséré le motif sous test. Comme seules les caractéristiques (admittance) du matériau cible nous intéressent, nous avons dû, pour extraire cette admittance complexe, concevoir des outils pour supprimer l'effet des autres éléments présents.

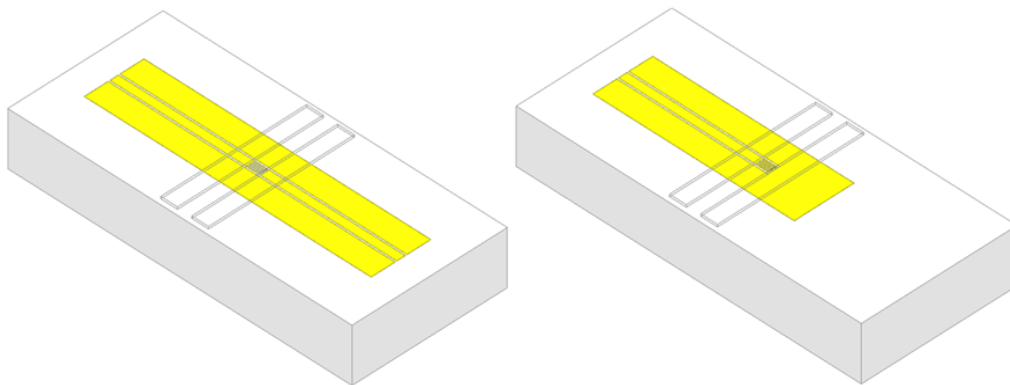


Figure 4.1 – Dispositifs sous pointes sélectionnés pour appliquer la méthode de « deembedding ».

Afin d'augmenter la sensibilité du capteur, les mesures vont être effectuées directement sous pointes sur wafer de verre. Nous proposons ici une méthode de « de-embedding » permettant de supprimer l'effet des différentes transitions pour extraire les caractéristiques de la zone sensible. Celle-ci est par ailleurs associée à des post-traitements permettant d'extraire les propriétés diélectriques des milieux fluidiques inconnus.

4.2 Technique de de-embedding : principe et défis

Nous considérons des mesures effectuées sous pointes suivant le dispositif présenté en Fig. 4.2. Les pointes, reliées au VNA via des câbles, sont posées au bout des lignes d'accès coplanaires. La zone d'intérêt est reliée aux pointes par des lignes et transitions coplanaires dont nous allons chercher à éliminer les effets. Avant toute mesure, l'étalonnage de l'analyseur de réseau vectoriel permet d'éliminer les effets des interconnexions du VNA et des sondes, en ramenant le plan de référence de la mesure aux extrémités des sondes.

La mesure après calibrage compense les effets parasites des plots de contact et des lignes d'interconnexion coplanaires. Ces effets doivent être compensés des résultats mesurés pour obtenir les caractéristiques intrinsèques du DUT. Le processus de compensation mathématique des effets parasites indésirables est appelé « de-embedding » [1, 2]. La phase de de-embedding est similaire à celle du calibrage du banc de mesure hyperfréquence, et est réalisée en mesurant différentes structures de test qui peuvent être de type « Open », « Short », « Load », « Line » ou « Thru », selon la méthode [3, 4]. Le plan de référence après de-embedding est illustré à la Fig. 4.2. Une bonne méthode de de-embedding doit pouvoir prendre en compte les effets parasites des plots, des interconnexions et du couplage du substrat.

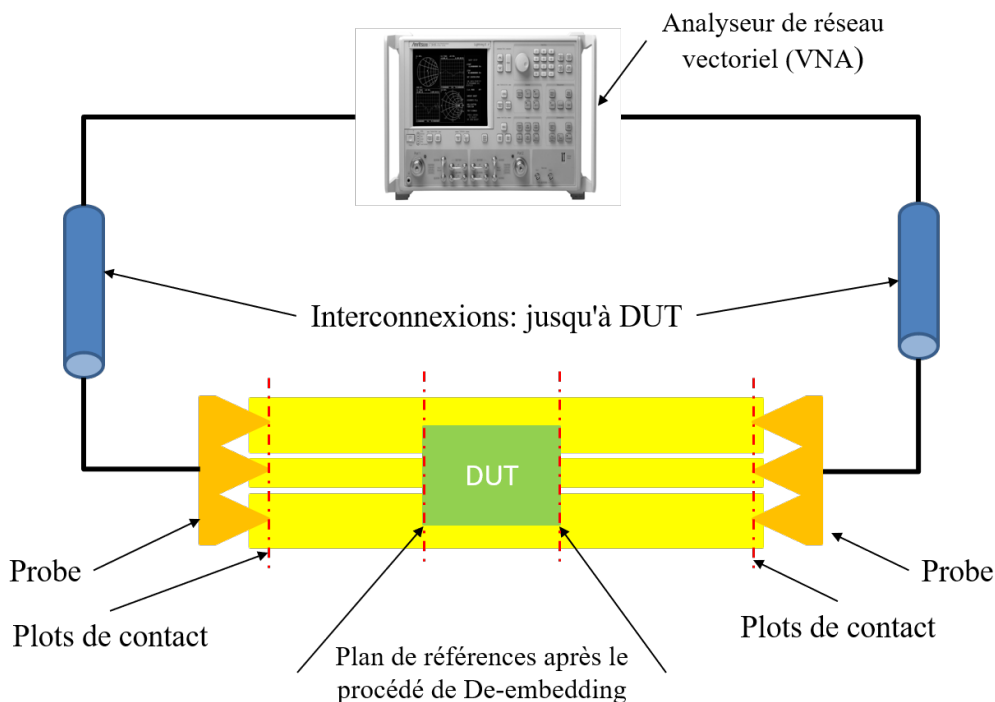


Figure 4.2 – Analyseur de réseaux vectoriel raccordé au dispositif mesuré.

En général, pour réaliser la mesure sur wafer, les sondes RF utilisées présentent les caractéristiques suivantes :

- Bande fréquentielle d'utilisation définie
- Précision, fiabilité et répétabilité de mesure élevées
- Résistance de contact stable entre la pointe de la sonde et la métallisation qui doit être très faible pour de meilleures performances

- Bonnes caractéristiques de diaphonie
- Limite les couplages indésirables entre la sonde et la plaquette, la sonde et les appareils les plus proches

La Fig. 4.3 présente les trois principales sondes RF à choisir en fonction de la fréquence d'utilisation, des différentes applications et de la configuration de la pointe de la sonde.



Figure 4.3 – Différents types de sondes RF

Le modèle de la sonde Infinity retenu pour nos mesures est illustré à la Fig. 4.3c. La sonde Infinity utilise des lignes de transmission microruban pour transporter le signal entre le connecteur coaxial et les pointes de la sonde. Les lignes de transmission de la technologie à couche mince Infinity donnent des champs de franges plus confinés que les pointes coplanaires conventionnelles.

Les méthodes de de-embedding peuvent être classées [5] en trois types selon la stratégie sous-jacente

- modèle de circuits équivalents groupés [5–7]
- modèle basé sur des matrices en cascade
- matrices en cascade avec modèles équivalents groupés

La deuxième méthode est utilisée dans ce travail. Cette méthode s'apparente à celle de la TRL (Through/Reflect/Line) à 8 termes d'erreur. Elle est basée sur la mise en cascade

de plusieurs matrices [5, 8, 9]. Dans ce modèle, les effets parasites des plots et des interconnexions sont déterminés différemment, et chaque effet parasite est pris en compte pour obtenir l'effet total des parasites. Dans les méthodes basées sur les matrices en cascade, la structure mesurée est représentée sous la forme d'un réseau matriciel en cascade. En particulier, les éléments distribués sont représentés par un modèle matriciel. Pour pouvoir faire le produit matriciel des différentes entités (dans notre cas les deux lignes d'accès et la zone sensible), nous devons transformer les matrices [S] en matrices chaîne [T].

La Fig. 4.4 montre le modèle du dispositif mesuré sous la forme de trois quadripôles cascades ainsi que le diagramme de fluence associé. Le quadripôle X correspond à la ligne d'accès 1 à laquelle s'ajoutent les parasites des plots de contact. Le quadripôle Y représente la partie symétrique avec la ligne d'accès 2. Le but de la méthode de de-embedding est d'éliminer ces deux quadripôles pour extraire la matrice représentant le DUT.

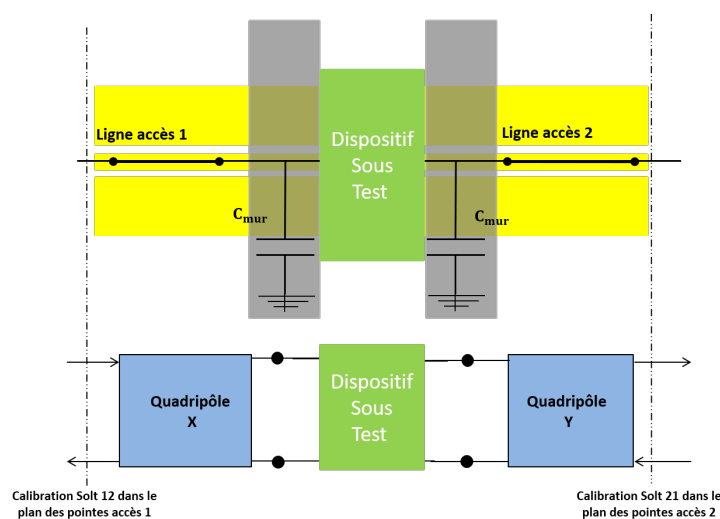


Figure 4.4 – Modèle du dispositif mesuré comprenant le dispositif sous test.

La méthode d'étalonnage « Ligne de longueur nulle/Réflexion/Ligne de longueur définie » ou TRL (Through/Reflect/Line) a été développée par Engen et Hoer [3] en 1979. La TRL utilise trois structures de de-embedding : une ligne de longueur nulle d'impédance caractéristique Z_c (Through), un dipôle à fort coefficient de réflexion (Reflect) et une longueur de ligne avec les mêmes propriétés électriques que la ligne de longueur nulle (Line). Les structures de de-embedding utilisées dans notre cas sont illustrées à la Fig. 4.5.

L'opération de de-embedding consiste d'une manière générale à réaliser les étapes suivantes :

- **Première étape : mesure de la ligne d'une longueur nulle (Through Line) :** Dans un premier temps, nous mesurons une structure composée de deux transitions entre lesquelles est insérée une ligne de longueur nulle (transitions tête-bêche) (Fig. 4.5a).
- **Deuxième étape : mesure de la ligne d'une longueur L_1 (Delay Line) :** Nous mesurons ensuite une deuxième structure composée d'une ligne de transmission de longueur L_1 que nous insérons entre les deux transitions. Cette ligne engendre un retard lié à sa longueur physique. L_1 est choisie de façon à obtenir un déphasage inférieur à 180° à la plus haute fréquence de mesure (Fig. 4.5b).

- **Troisième étape : Circuit ouvert de longueur L_2 (Open Line)** Enfin, nous mesurons le coefficient de réflexion lorsque la zone d'analyse est une ligne ouverte de longueur L_2 et de même impédance caractéristique que la ligne L_1 (Fig. 4.5c).

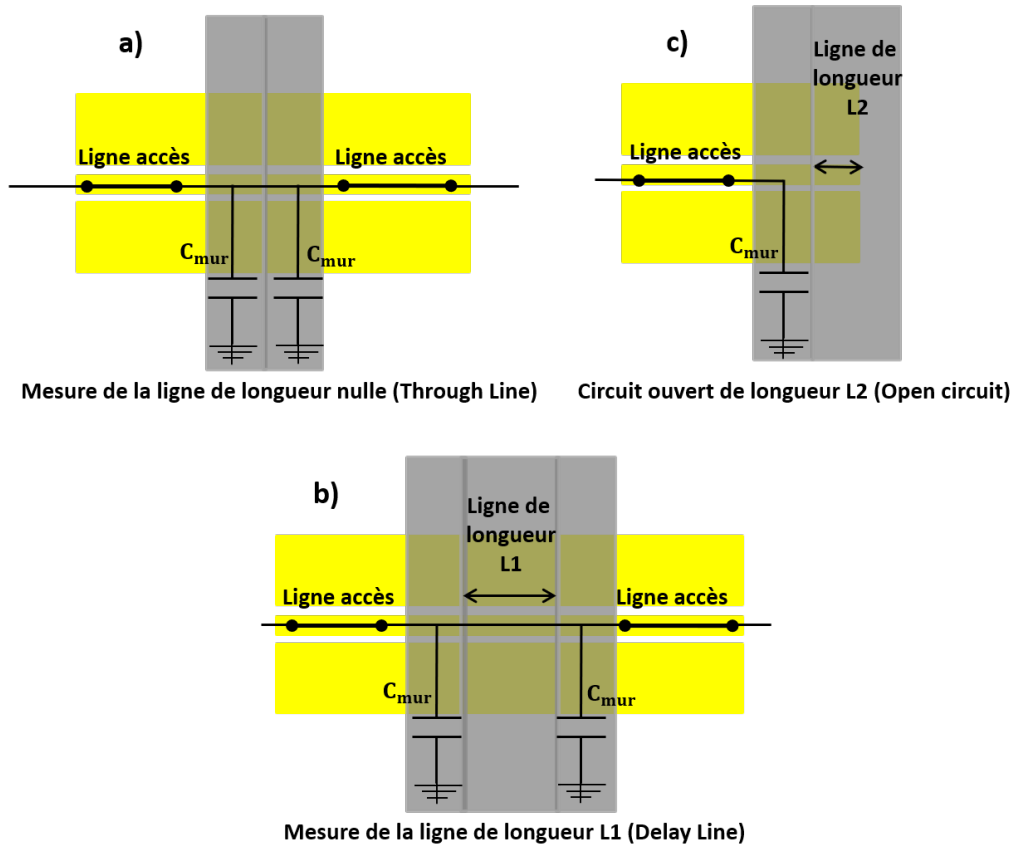


Figure 4.5 – Dispositifs mesurés pour le procédé de ‘de-embedding’ : (a) : structure d’une ligne de longueur nulle, (b) : structure d’une ligne de longueur L_1 insérée entre les deux transitions, (c) : structure d’une ligne à extrémité ouverte.

Suivre ces étapes nous permet de spécifier l’impédance, la longueur physique (ou le retard), les pertes par unité de longueur et la constante diélectrique relative (effective) de la ligne de transition. Connaissant ces paramètres, nous pouvons extraire les paramètres [S] des transitions X ou Y et donc déduire, à l’aide d’opérations matricielles, la matrice de la zone DUT.

4.3 Méthode de caractérisation de la permittivité diélectrique à partir de l’admittance du canal

Les biocapteurs fonctionnant en transmission présentent à leurs accès des lignes CPW avec 3 électrodes : masse – signal – masse. La structure générale est symétrique par rapport au plan longitudinal. La Fig. 4.6 montre le circuit électrique équivalent d’un biocapteur en transmission et sa représentation par la mise en cascade de trois quadripôles.

4.3. Méthode de caractérisation de la permittivité diélectrique à partir de l'admittance du canal

Nos mesures sont donc associées à l'ensemble 'ligne coplanaire + zone d'analyse + ligne coplanaire'.

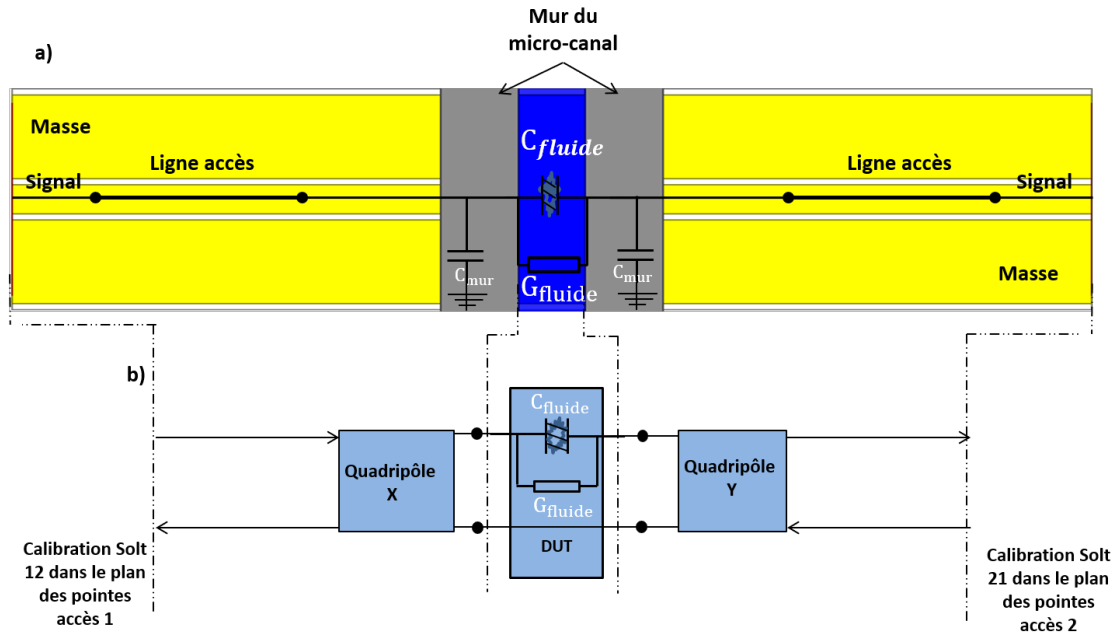


Figure 4.6 – Capteur en transmission, (a) Schéma électrique équivalent du biocapteur, (b) Représentation équivalente par trois quadripôles en cascade.

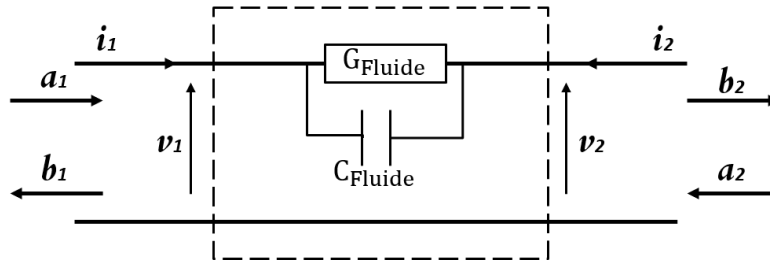


Figure 4.7 – Admittance série sur une ligne.

Considérons une admittance Y en série dans une ligne (Fig. 4.7), la matrice admittance $[Y]$ associée s'écrit :

$$[Y] = \begin{pmatrix} Y_{11} & -Y_{12} \\ -Y_{21} & Y_{22} \end{pmatrix} \quad (4.1)$$

D'après le schéma électrique présenté ci-dessus, l'admittance représentant le canal microfluidique correspond à la mise en parallèle d'une capacité et d'une conductance, et elle s'écrit :

$$-Y_{21} = G_{fluide}^T + j\omega C_{fluide}^T \quad (4.2)$$

On en déduit le lien entre l'admittance complexe et la permittivité complexe du matériau sous test :

$$C_{milieu}^T = \left| \frac{Im(Y_{21})}{2\pi f} \right| = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon'_{milieu} + \varepsilon'_{substrat}}{2} * K_{Geom}^T \quad (4.3)$$

$$G_{milieu}^T = \left| Re(Y_{21}) \right| = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon''_{milieu} + \varepsilon''_{substrat}}{2} * 2\pi f * K_{Geom}^T \quad (4.4)$$

Où K_{Geom}^T est un coefficient qui ne dépend que de la distribution des champs électromagnétiques dans le biocapteur. Les contrastes capacitif et conductif des fluides sous test par rapport au vide sont donnés par :

$$\Delta C^T = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon'_{milieu} - 1}{2} * K_{Geom}^T \quad (4.5)$$

$$\Delta G^T = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon''_{milieu} - 0}{2} * 2\pi f * K_{Geom}^T \quad (4.6)$$

Pour une mesure en réflexion, le schéma bloc se réduit à deux quadripôles cascades. La représentation schématique de l'ensemble est donnée à la Fig. 4.8. On utilise le quadripôle X d'une transition qui a les mêmes propriétés que pour la structure en transmission.

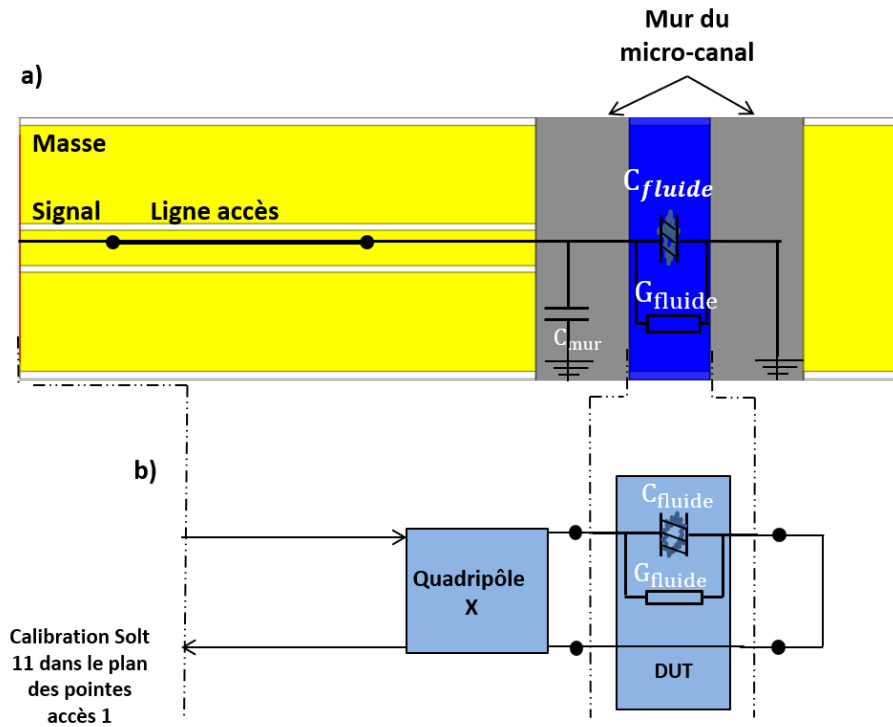


Figure 4.8 – Capteur en réflexion, (a) Schéma électrique équivalent du biocapteur, (b) Représentation sous forme de deux quadripôles cascades.

Notons que les dimensions des transitions d'accès d'un biocapteur sous pointes en transmission et celles du canal microfluidique sont les mêmes que dans le cas en réflexion. Dans ce cas, nous obtenons la même forme que les éqs. (4.2), (4.3) et (4.4), avec toutefois des paramètres différents :

$$Y_{11} = G_{fluide}^R + j\omega C_{fluide}^R \quad (4.7)$$

$$C_{milieu}^R = \left| \frac{Im(Y_{11})}{2\pi f} \right| = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon'_{milieu} + \varepsilon'_{substrat}}{2} * K_{Geom}^R \quad (4.8)$$

$$G_{milieu}^R = \left| Re(Y_{11}) \right| = \varepsilon_0 \frac{\varepsilon''_{milieu} + \varepsilon''_{substrat}}{2} * 2\pi f * K_{Geom}^R \quad (4.9)$$

La Fig. 4.9a montre le spectre de permittivité complexe extrait de l'admittance complexe Y_{11} dans le cas de réflexion en présence de méthanol (matériau cible). Le coefficient K_{Geom}^R est calculé à partir de l'eau DI. Cette courbe est obtenue en simulant uniquement la zone capacitive de détection, c'est-à-dire le DUT. Les contrastes capacitif et conductif sont également présentés sur la Fig. 4.9b.

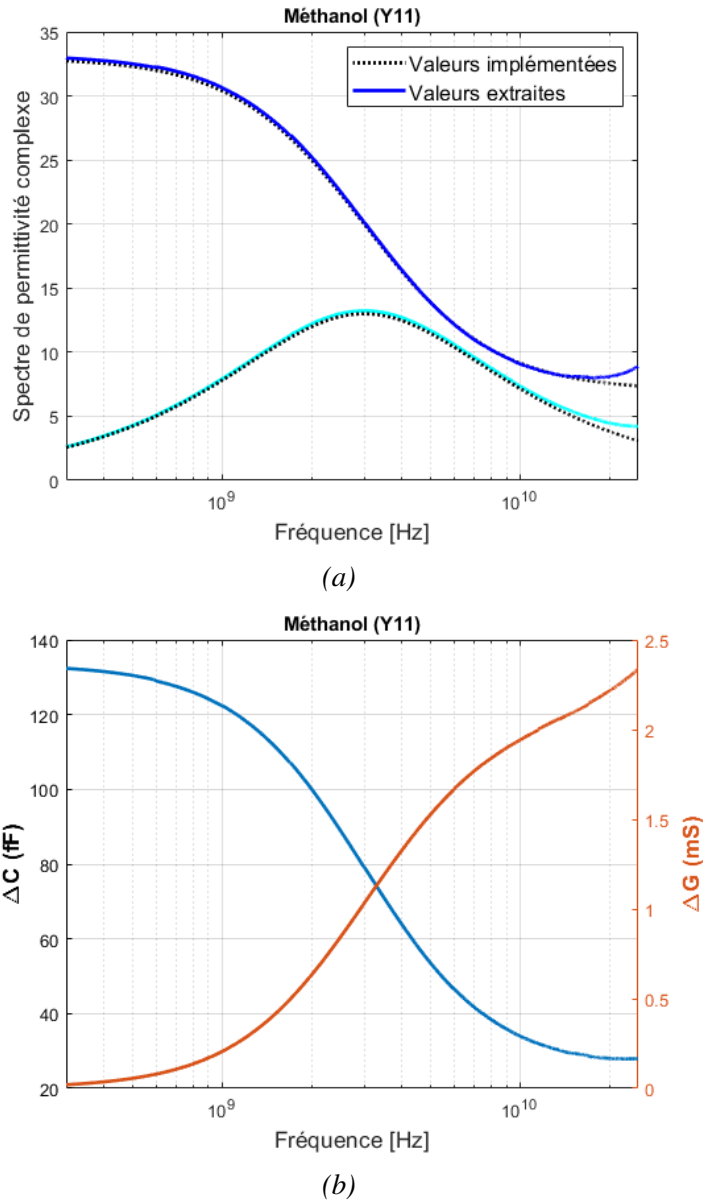


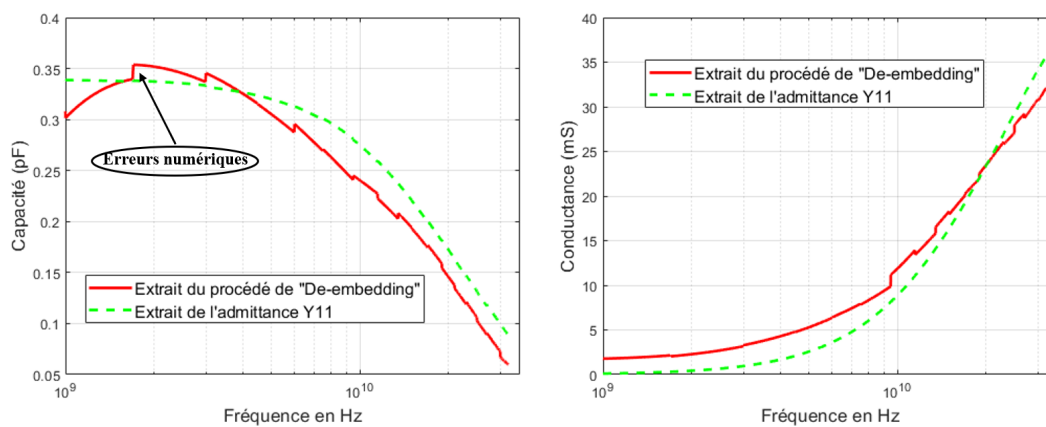
Figure 4.9 – (a) Permittivité complexe extraite de l'admittance complexe simulée dans le cas de réflexion du Méthanol, (B) Contrastes capacitif et conductif associés.

Ces valeurs sont comparées avec celles implémentées dans le logiciel de simulation.

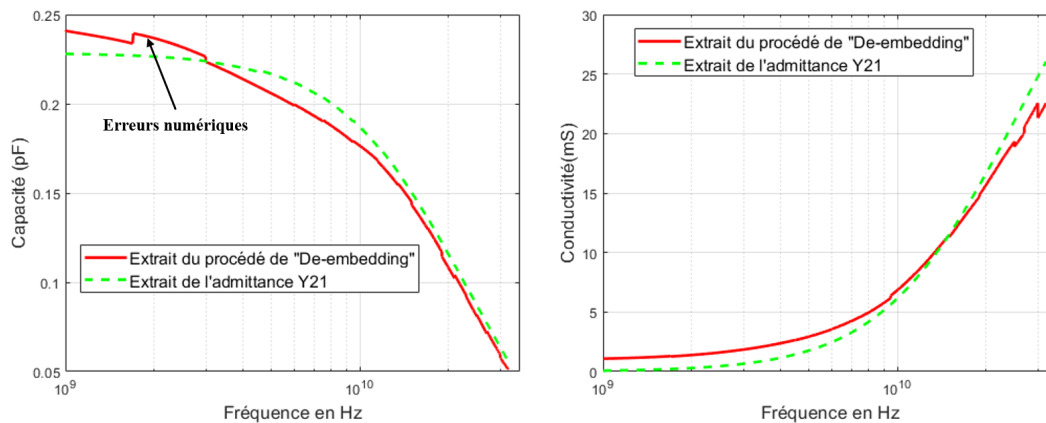
On voit que l'accord entre simulation et théorie est excellent jusqu'à 25 GHz. Ces résultats valident le modèle équivalent proposé.

Ainsi, la méthode d'extraction des paramètres consiste donc à déterminer les admittances du matériau cible à partir des paramètres S mesurés. Pour cela, nous devons appliquer d'abord un procédé dit de 'de-embedding' afin d'éliminer les effets des lignes d'accès et des parois du microcanal. Ce procédé permet d'extraire les caractéristiques électriques intrinsèques d'un composant enfoui dans un environnement complexe. La détection de la matrice de la zone DUT dite matrice de détection nous permet ensuite d'extraire l'admittance complexe du milieu cible, donc dans notre cas C_{fluide} et G_{fluide} .

Les calculs sont effectués en utilisant un programme exécuté sous le logiciel de calcul scientifique Matlab® pour extraire les paramètres d'intérêt à partir des résultats de simulation et de mesure, et le logiciel HFSS est utilisé pour les simulations.



(a) Cas de réflexion



(b) Cas de transmission

Figure 4.10 – Contrastes capacitif et conductif extraites de simulation après un procédé de Deembedding.

Afin de tester la méthode de de-embedding, deux simulations ont été faites. La première est faite en mettant des accès d'excitation au niveau du canal, de façon à ne simuler que le DUT. La deuxième reproduit ce qui serait fait en mesure : la structure totale avec les transitions est mesurée, ainsi que les 3 motifs nécessaires à la phase de de-embedding. Le modèle équivalent au canal est alors extrait par la méthode de de-embedding. Les résultats des paramètres extraits sont montrés sur la Fig. 4.10. La courbe rouge représente

les valeurs de l'admittance complexe du DUT après l'utilisation de la méthode de de-embedding, à savoir C_{fluide}^T et G_{fluide}^T pour la mesure en transmission et C_{fluide}^R et G_{fluide}^R pour la mesure en réflexion. Elle est comparée avec les valeurs de l'admittance complexe extraite de la simulation du DUT seul.

La réponse fréquentielle montre un assez bon accord entre les résultats issus des deux approches dans la bande simulée. L'erreur sur l'admittance complexe après de-embedding provient principalement de la simulation numérique réalisée sur des structures complexes et de dimensions assez importantes aux longueurs d'onde considérées.

On notera par ailleurs que les capacités et conductances équivalentes ne sont pas les mêmes en transmission et réflexion. En effet, les distributions des champs électromagnétiques sont différentes pour ces deux types de structures, de sorte que ces éléments distribués équivalents présentent des comportements différents. Ceci est pris en compte par des paramètres K_{Geom}^R et K_{Geom}^T différents.

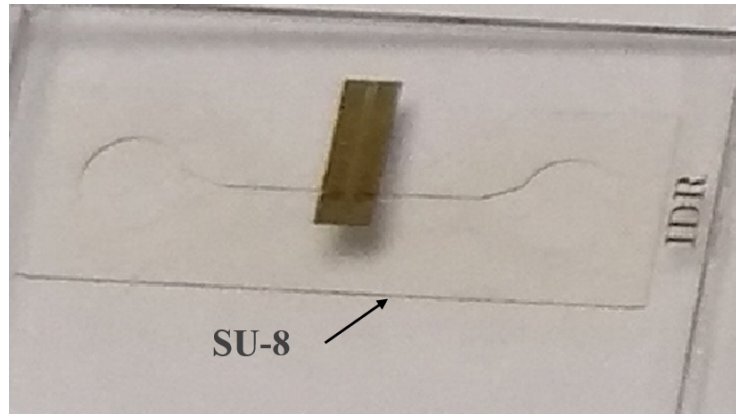
4.4 Application de la méthode de de-embedding en mesure

Les mesures expérimentales ont été faites dans la gamme fréquentielle allant de 1 GHz à 10 GHz. La structure complète intégrant les transitions coplanaires nécessaires pour réaliser des mesures sous pointes est présentée sur la Fig. 4.11. Comme expliqué précédemment, lors des mesures avec l'analyseur de réseau vectoriel, une étape de calibration est tout d'abord nécessaire afin de corriger les erreurs systématiques engendrées par le banc de mesure.

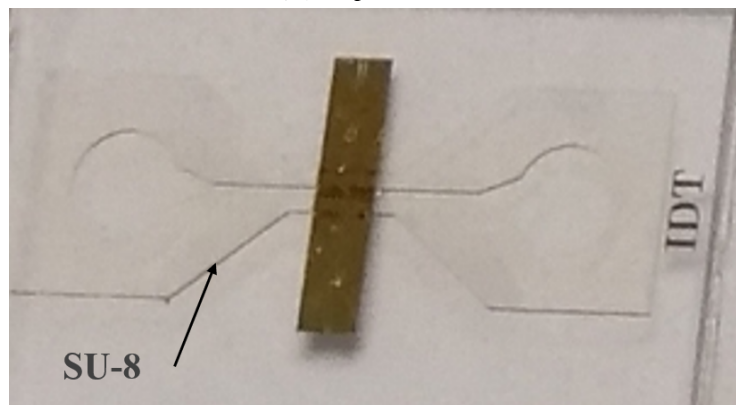
La Fig. 4.12 présente les structures nécessaires utilisées pour réaliser le « de-embedding » et extraire les propriétés du canal microfluidique seul. Pour le premier motif, on réalise deux lignes CPW sur verre de mêmes caractéristiques physiques et diélectriques inversées symétriquement "Ligne coplanaire/Ligne coplanaire inversée". Ce premier motif correspond au cas où le quadripôle DUT est une ligne de longueur nulle (Through Line). La partie SU-8 mesure dans ce cas 600 μm de longueur (2*300 μm) correspondant à la largeur du mur du canal microfluidique.

Pour le second motif, nous utilisons une ligne de transmission de longueur 2 mm que nous insérons entre les quadripôles X et Y (Delay Line). La constante de propagation complexe « γ » inconnue dépend des caractéristiques de la ligne ajoutée. Le dernier motif correspond au cas où le DUT est une ligne ouverte de longueur L_2 (nous avons choisi pour L_2 une longueur nulle).

La mesure de ces trois motifs est ainsi nécessaire pour effectuer le de-embedding.



(a) Capteur IDR



(b) Capteur IDT

Figure 4.11 – Capteurs sous-pointes

Afin de valider la fonctionnalité de la méthode de « Deembedding », nous avons comparé les résultats issus des mesures et des simulations électromagnétiques effectuées à l'aide du logiciel HFSS©. La Fig. 4.13 présente les parties réelle et imaginaire de la constante de propagation $\gamma = \alpha + j\beta$ de la ligne CPW située sous le SU-8 entre les deux transitions (motif « Delay Line »). Les Figs. 4.13a et 4.13b présentent respectivement l'atténuation [Np/m] et le déphasage linéique [rad/m] simulés et mesurés.

Nous obtenons une assez bonne concordance entre les simulations et les mesures pour la constante de phase. L'accord est en revanche moins bon pour la constante d'atténuation ; ceci s'explique par la faible contribution de cette petite longueur de ligne aux pertes globales de la structure, ce qui rend difficile l'extraction de cette contribution. La ligne présente de faibles pertes, à savoir 30 Np/m à 1 GHz, 47 Np/m à 4 GHz, 53 Np/m à 6 GHz et 60 Np/m à 9 GHz. Les résultats divergent aux plus hautes fréquences. Ceci s'explique par les moins bonnes performances des transitions aux plus hautes fréquences, comme montré ci-après. Ainsi, avec la dégradation des performances des transitions, les caractéristiques de la ligne sont masquées par les pertes globales de la structure.

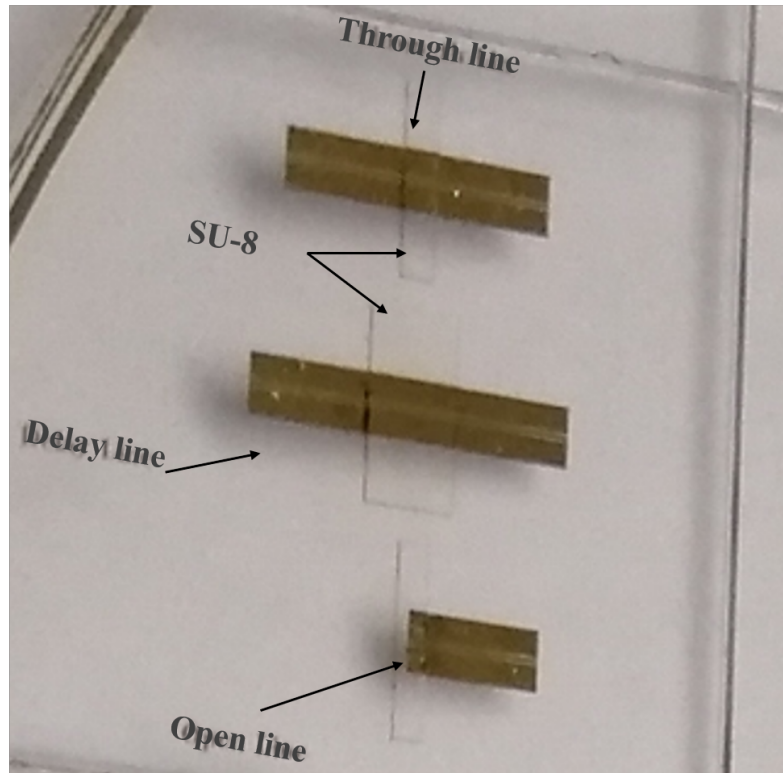
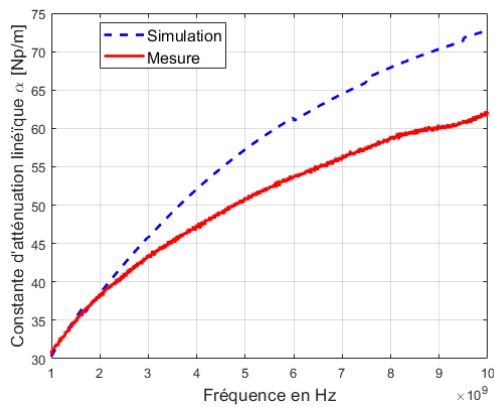
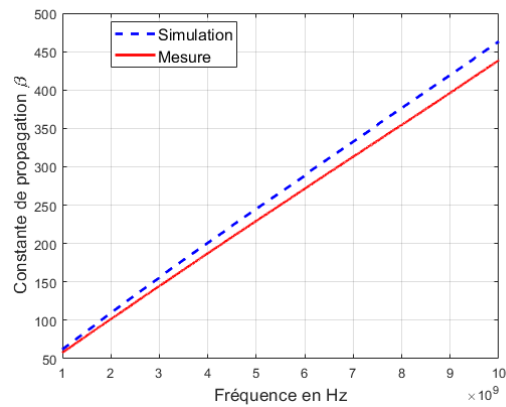


Figure 4.12 – Motifs utilisés pour faire le « De-embedding ».



(a) Constante d'atténuation α (Np/m)



(b) Constante de phase

Figure 4.13 – Représentation de la constante d'atténuation α (Np/m) et de la constante de phase β obtenues par simulation et mesure.

Les paramètres [S] d'une transition, extraits des mesures des trois motifs en Fig. 4.12 ou obtenus par la simulation d'une transition, sont présentés sur la Fig. 4.14. On note un léger décalage entre la simulation et la mesure mais les tendances et ordres de grandeurs sont similaires. Sachant que les paramètres [S] sont extrêmement sensibles aux valeurs des impédances de normalisation, il est probable que les largeurs des lignes d'accès du capteur mesuré ne soient pas strictement égales à celles simulées. De plus, l'écart peut être dû aux variations de l'épaisseur du SU-8 entre les différents motifs, ce qui change les caractéristiques des lignes coplanaires.

On voit que S_{11} et S_{22} sont différents. En effet, le coefficient S_{11} est associé au plan externe d'excitation d'un biocapteur (accès 1 : pointes-métallisations) tandis que S_{22} correspond au plan d'accès au DUT comme illustré à la Fig. 4.15.

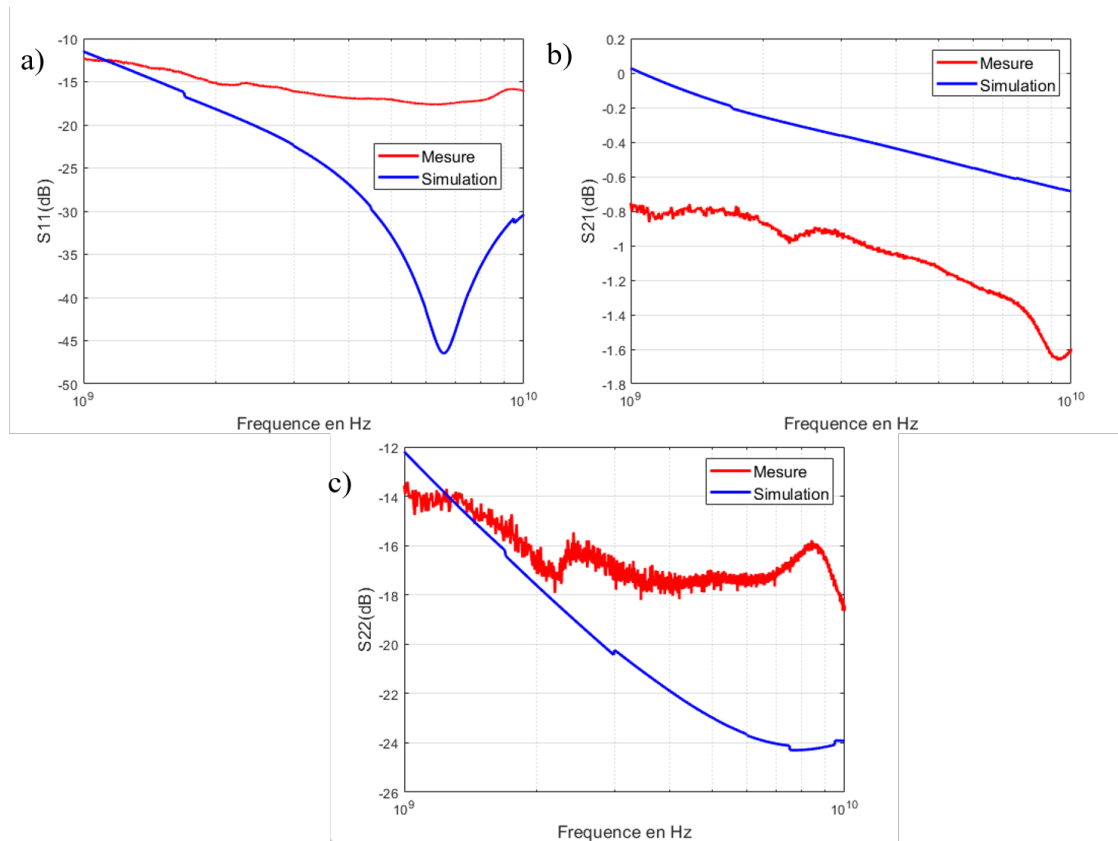


Figure 4.14 – Représentations des paramètres de réflexion et transmission mesurés (rouge) et obtenus par les simulations (bleu) du quadripôle X représentant la transition d'entrée.

Le calibrage et le de-embedding sont des techniques complémentaires qui ont pour objectif d'extraire les grandeurs associées au DUT seul, en corrigeant les erreurs engendrées par l'environnement de mesure. Les erreurs, pouvant être corrigées par un calibrage adéquat, résultent de causes diverses qui peuvent aussi expliquer les écarts observés entre la valeur théorique et la valeur expérimentale : l'analyseur de réseau vectoriel lui-même (le VNA), les sondes de mesure hyperfréquences, les câbles coaxiaux assurant la liaison entre les sondes et l'analyseur et les divers connecteurs introduits entre les sondes et l'analyseur et les plots de connexion.

Les paramètres de réflexion ou transmission des deux capteurs à vide sont mesurés et simulés au niveau des plans d'excitation. Les résultats sont présentés sur la Fig. 4.16. On observe une bonne concordance entre simulation et mesure. Ceci valide la fabrication et le bon fonctionnement du biocapteur, ainsi que les simulations prédictives effectuées.

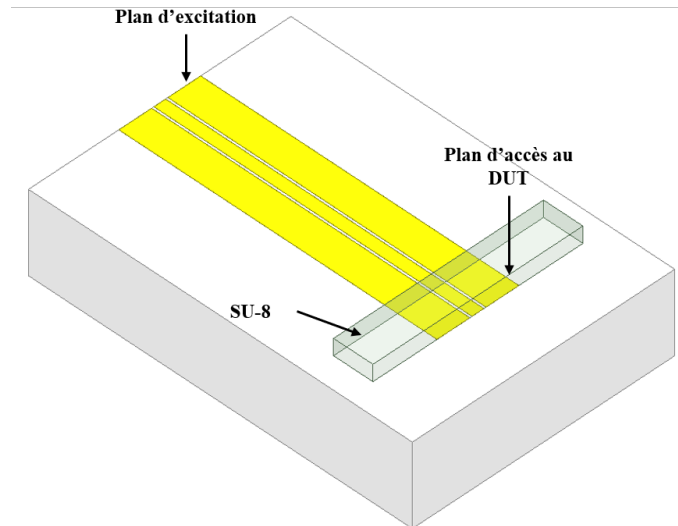


Figure 4.15 – Représentation graphique de la ligne d'accès coplanaire.

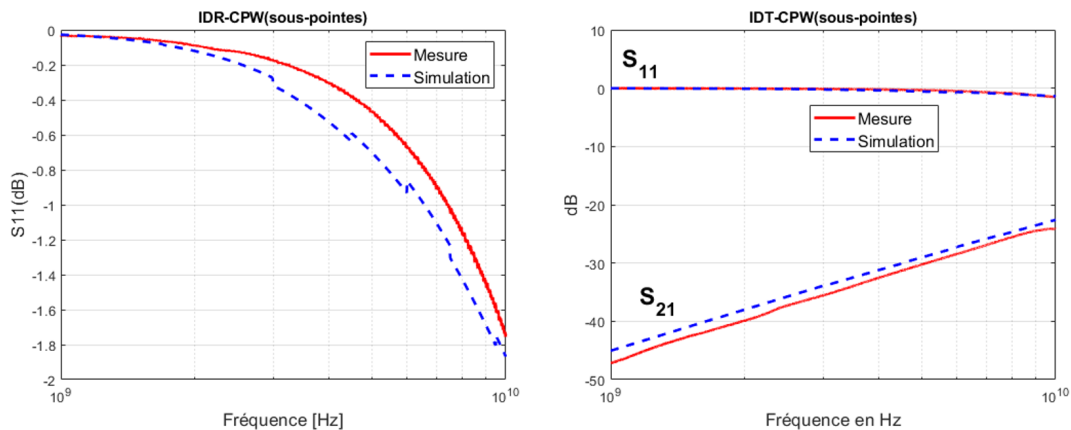


Figure 4.16 – Paramètres de réflexion ou transmission mesurés et simulés des capteurs CPW-IDR (gauche) et CPW-IDT (droite) à vide.

A partir de la mesure à vide de la structure interdigitée en transmission CPW-IDT, les valeurs de capacité et conductivité extraites, après le procédé De-embedding, sont présentées en fonction de la fréquence sur la Fig. 4.17. La capacité interdigitée est toujours formée de cinq doigts de longueur $140\ \mu\text{m}$ et de largeur $10\ \mu\text{m}$ espacés de $10\ \mu\text{m}$ avec une épaisseur de métallisation de $200\ \text{nm}$.

Après cette validation du modèle de notre dispositif, la mesure du biocapteur nous permet de calculer l'admittance du canal chargé après l'application du procédé d'épluchage. Nous avons évalué ses capacités, en les mesurant, chargées par des liquides à une température de $22,5\ ^\circ\text{C}$. Dans un premier temps, nous avons utilisé notre banc de mesure avec le capteur sous pointes CPW-IDT présenté ci-dessus. Les fluides standards : eau DI, acétone, méthanol et éthanol ont été mesurés. Nous avons utilisé une pousse seringue pour remplir notre composant. Après une mesure à vide, l'acétone, ensuite l'alcool et enfin l'eau DI ont été mesurés. Pour faciliter la phase de nettoyage, la manipulation dans cet ordre d'application des fluides est recommandée. En effet, l'eau, après son passage dans le canal microfluidique est souvent difficile à faire sécher. Les paramètres [S] du biocapteur chargé sont donc mesurés. Les calculs sont effectués en utilisant un programme exécuté

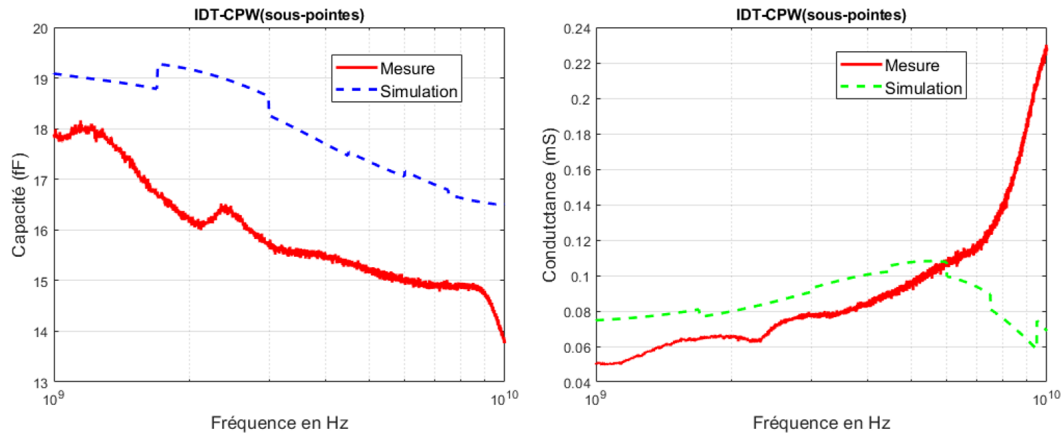
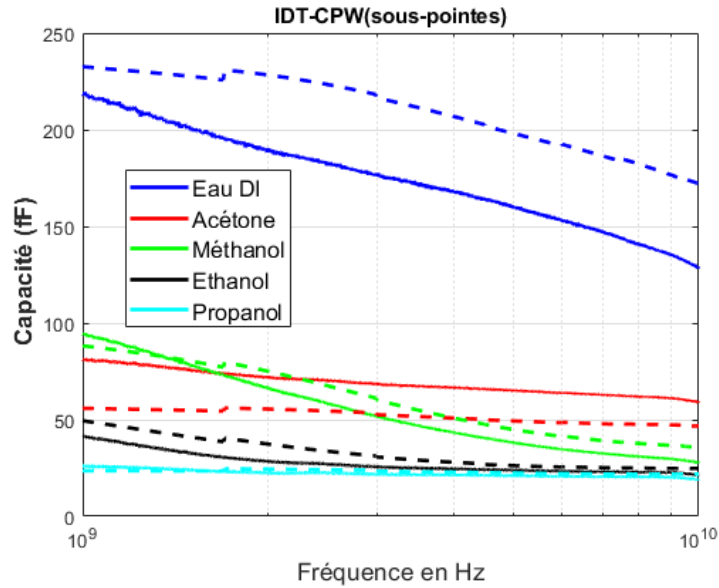


Figure 4.17 – Valeurs extraites de la capacité et de la conductance (C_{air}^T et G_{air}^T) de la structure interdigitée en transmission à vide en fonction de la fréquence.

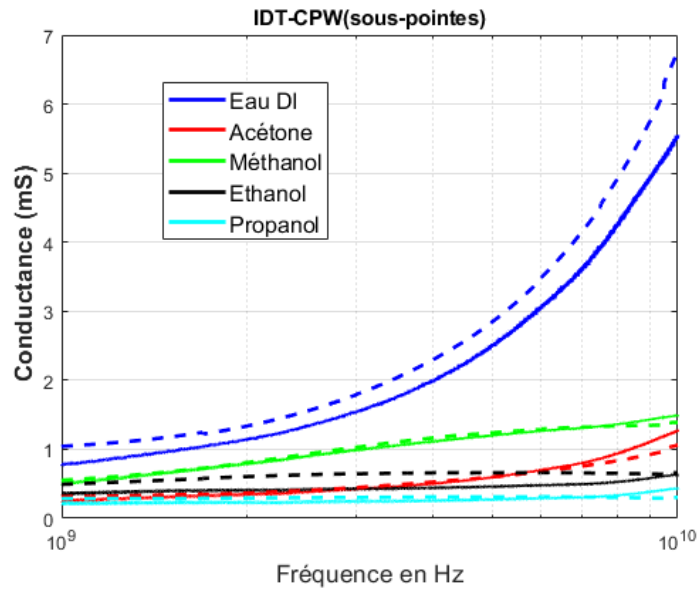
sur Matlab® pour extraire les paramètres d'intérêt à partir des résultats de simulation et de mesure. La Fig. 4.18 présente les valeurs de la capacité et de la conductance extraites en fonction de la fréquence de 1 GHz à 10 GHz que nous avons comparé avec les simulations faites avec HFSS. La courbe en pointillés représente les valeurs extraites de simulations.

Ces résultats nous montrent un bon accord entre les mesures et les simulations avec une tendance de comportement identique. Nous voyons également qu'il est possible de discriminer différents types des milieux fluidiques. La procédure d'extraction de C_{fluide} et G_{fluide} est également validée numériquement et expérimentalement.

De la même manière, d'autres mesures ont été faites avec le capteur en réflexion CPW-IDR. Les valeurs de capacité C_{fluide}^R et conductance G_{fluide}^R sont extraites pour la structure CPW-IDR après la mise en œuvre du même procédé de de-embedding. La Fig. 4.19 suivante compare ces valeurs en fonction de la fréquence entre la simulation et la mesure.



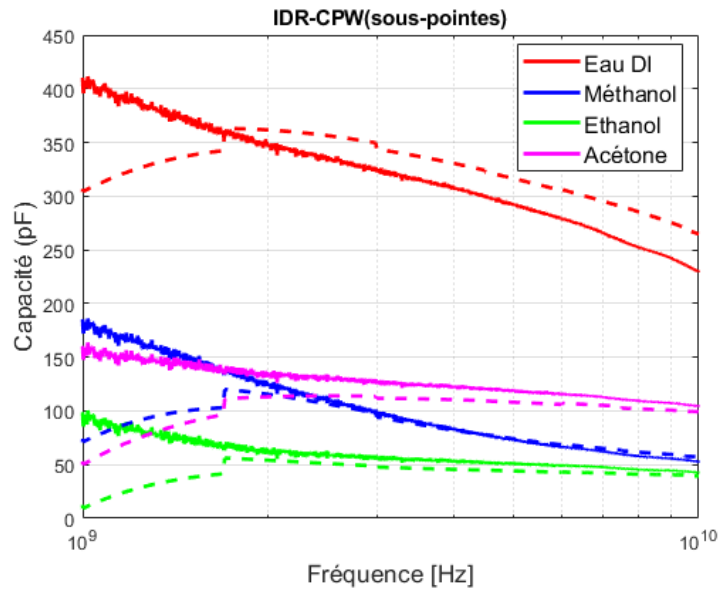
(a) Comparaison simulations/mesures entre les valeurs de la capacité C_{fluide}^T obtenues avec CPW-IDT



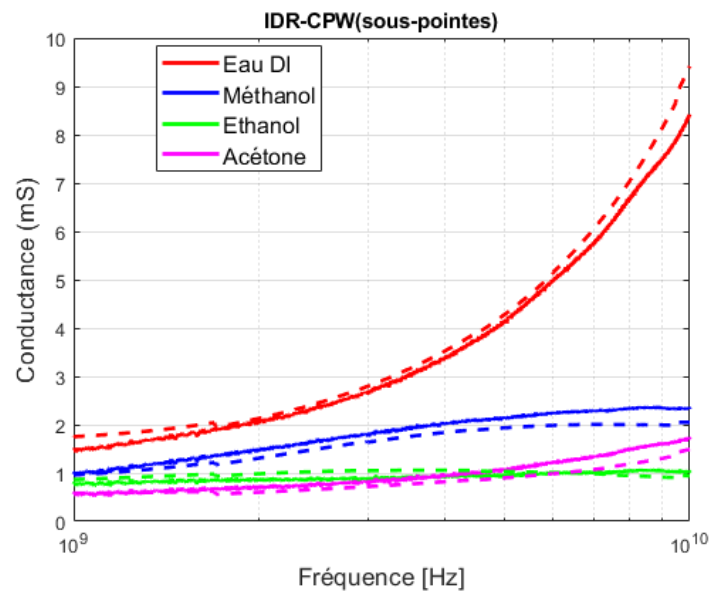
(b) Comparaison simulations/mesures entre les valeurs de la conductance G_{fluide}^T obtenues avec CPW-IDT.

Figure 4.18 – Comparaison simulations/mesures en fonction de la fréquence entre les valeurs de la capacité C_{fluide}^T et de la conductance G_{fluide}^T pour de l'eau DI, l'acétone, le méthanol et l'isopropanol.

La valeur de la capacité mesurée avec l'CPW-IDR est presque deux fois plus grande que celle obtenue avec l'CPW-IDT. Par exemple, nous obtenons pour l'eau DI une valeur de la capacité de 293 fF pour l'CPW-IDR à 5 GHz contre 160 fF pour l'CPW-IDT, ce qui montre que le couplage entre les électrodes est fort dans le cas en réflexion. Cependant, à basse fréquence, nous remarquons un saut de permittivité sur les courbes obtenues par simulation dans la bande de fréquence 1 GHz – 1.5 GHz. Ce saut est dû aux erreurs numériques introduites lors du de-embedding.



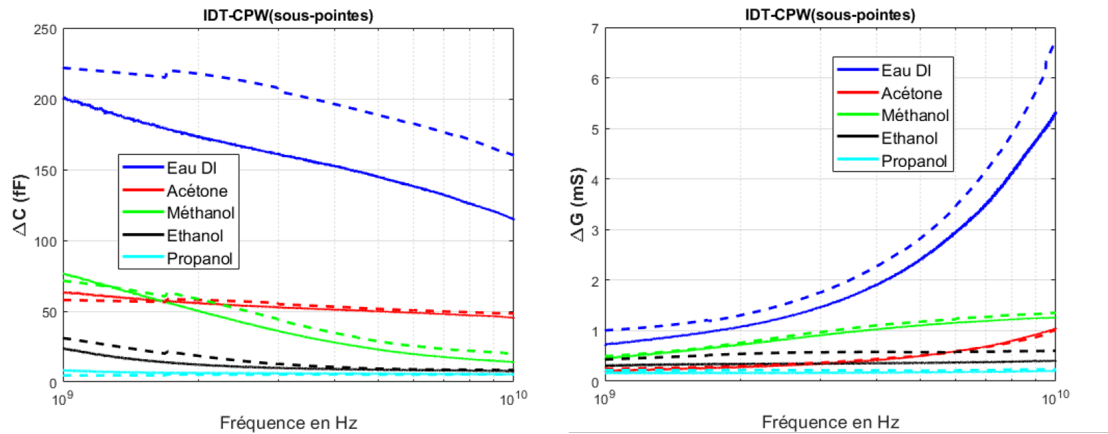
(a) Comparaison simulations (tirés)/mesures (traits pleins) entre les valeurs de la capacité C_{fluide}^R obtenues avec CPW-IDR.



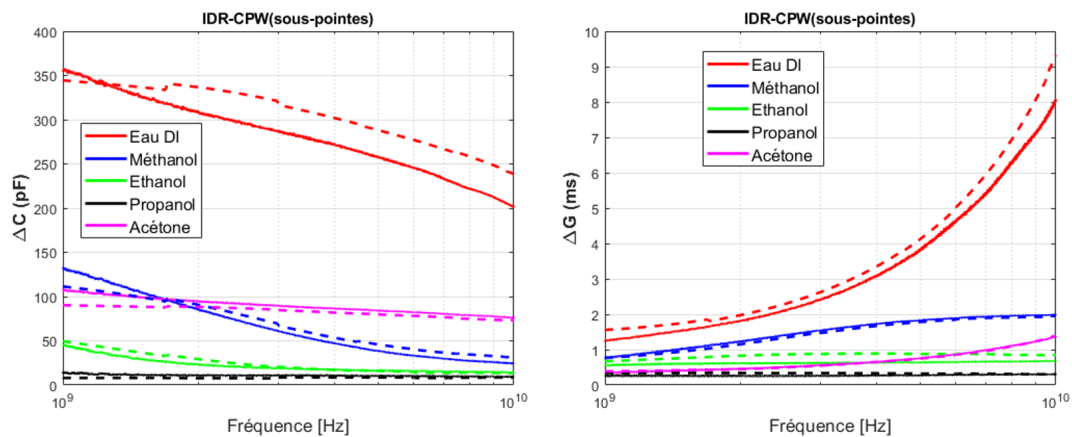
(b) Comparaison simulations (tirés)/mesures (traits pleins) entre les valeurs de la conductance G_{fluide}^R obtenues avec CPW-IDR.

Figure 4.19 – Comparaison simulations (tirés)/mesures (traits pleins) en fonction de la fréquence pour les valeurs de la capacité C_{fluide}^R et de la conductance G_{fluide}^R en chargeant le capteur CPW-IDR avec de l'eau DI, de l'acétone, du méthanol et de l'éthanol.

Le bilan des résultats concernant les contrastes ΔC et ΔG obtenus par les 2 composants est présenté sur la Fig. 4.20. Les contrastes sont toujours extraits par rapport au même milieu de référence : l'air. On peut voir que les contrastes sont plus grands (presque de deux fois) en réflexion qu'en transmission.



(a) Contrastes ΔC et ΔG obtenus avec CPW-IDT



(b) Contrastes ΔC et ΔG obtenus avec CPW-IDR

Figure 4.20 – Contrastes ΔC et ΔG obtenus par les 2 composants : CPW-IDT et CPW-IDR. Comparaison simulation (tirés)/mesure (traits pleins).

Il existe un décalage acceptable entre les capacités mesurée et simulée pour l'eau dés-ionisée avec CPW-IDT, sachant que l'admittance du canal est extrêmement sensible aux valeurs des permittivités complexes du milieu. La température des liquides mesurés est notée à 20,5 C° tandis que celle considérée pour le modèle de Debye dans les simulations est de 20°C. Malgré des petits décalages entre les mesures et les simulations, les résultats sont tout à fait encourageants.

*** Comparaison avec la technique de détection du chapitre 3**

Nous avons tout d'abord mesuré nos nouveaux dispositifs avec des milieux fluidiques. Nous avons utilisé une technique d'extraction de la permittivité diélectrique à partir du coefficient de réflexion S_{11} ou du coefficient de transmission S_{21} . Après un calibrage de l'analyseur de réseaux vectoriel, cette technique nécessite aussi une étape de calibrage par la mesure avec, au moins, trois liquides standards bien connus dans la littérature. La précision de leurs propriétés diélectriques est très importante car le résultat de mesure en dépend.

Dans ce chapitre nous avons présenté une nouvelle technique de détection qui se base sur la détermination de l'admittance d'entrée ou de transfert d'un matériau cible. Le principe de cette méthode nécessite d'abord, après un calibrage du VNA, un post-traitement dit 'de-embedding' afin d'extraire la matrice [S] de la transition entre les plots de contact

Tableau 4.1 – Comparaison entre les techniques de détection utilisées dans ce travail

Caractéristiques	Méthode de De-Embedding	Utilisation du coefficient de réflexion ou transmission
Calibrage du VNA :	Obligatoire	De préférence
Calibrage du biocapteur :	Procédé de-embedding	Mesure avec 3 milieux standards de référence
Accès à la caractéristique diélectrique par :	La mesure de l'admittance du canal (admittance d'entrée pour le cas en réflexion ou admittance de transfert pour le cas en transmission)	Exploitation du coefficient de réflexion ou de transmission (coefficient de réflexion pour le cas en réflexion ou coefficient de réflexion et/ou de transmission pour le cas en transmission)
Identification rapide du milieu sous test, mesure de ϵ_r^* :	Calcul des contrastes capacitif et de conductance puis du coefficient de distribution des champs électromagnétiques dans le biocapteur K_{Geom}	Oui, une fois mesuré S_{11} ou S_{21}
Nombres des dispositifs utilisés pour une mesure :	Trois structures de de-embedding + un biocapteur	Seulement le biocapteur
Sources d'erreur :	Incertitudes sur l'épaisseur de la métallisation, du substrat diélectrique, sur les dimensions des structures utilisées pour le procédé de de-embedding et sur les propriétés diélectriques du milieu de référence (l'eau DI par exemple)	Incertitudes sur les propriétés diélectriques des milieux standards de référence (eau DI et acétone par exemple)
Mesures macroscopiques avec des connecteurs SMA et un support PCB :	Non, impossible de déterminer la matrice de répartition [S] de la transition	Oui, possibilité d'assembler la puce sur un support PCB intégrant un connecteur SMA pour le système d'excitation

et le canal microfluidique. Son application nécessite une mesure des trois structures présentées sur Fig. 4.12 pour la détermination de la matrice de répartition [S]. Les erreurs à chaque mesure peuvent conduire à des incertitudes importantes sur les caractéristiques diélectriques du milieu sous test. Le Tab. 4.1 suivant résume les différences entre les deux techniques développées dans ce travail.

4.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté une deuxième technique proposée pour déterminer les propriétés diélectriques des liquides étudiés. Au début de ce chapitre, nous avons défini les caractéristiques de la technologie qui permet de placer le(s) plan(s) de référence(s) de mesure sur la zone active de détection, ainsi que le principe et la méthode de mesure. Nous avons ensuite présenté les équations associées à l'admittance du canal et à la détermination de la permittivité diélectrique et la constante diélectrique des matériaux liquides placés dans ce dernier. Cependant, bien que la mesure expérimentale de la permittivité d'un milieu cible n'ait pas abouti, notre tentative pour la déterminer par simulation semble réussie. Par conséquent, la méthode de-embedding constitue un outil appréciable pour la détermination des caractéristiques diélectriques des matériaux fluides. Nous avons abordé les problèmes qui se posent lorsque l'on souhaite mener des mesures RF avec cette technique de caractérisation.

En conclusion, la méthode proposée pour analyser le milieu diélectrique semble être très prometteuse. En effet, grâce aux bio-capteurs développés, nous avons montré la possibilité de discriminer des fluides différenciés présentant des propriétés diélectriques différentes. Ces premières constatations ouvrent des voies nouvelles pour l'analyse des cellules dans leurs milieux de culture ainsi que des solutions alternatives à l'utilisation, souvent trop compliquée, de marqueurs spécifiques.

Le développement d'une seconde génération de bio-capteurs, basés sur des circuits hyper-fréquences avec un conducteur central progressivement rétréci, que nous allons voir dans le prochain chapitre, nous permet d'envisager la spectrographie HF d'une cellule unique.

Bibliographie

- [1] Williams D. F., Corson P., Sharma J., Krishnaswamy H., Tai W., George Z., Ricketts D. S., Watson P. M., Dacquay E., and Voinigescu S. P., “Calibrations for Millimeter-Wave Silicon Transistor Characterization,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 62, no. 3, pp. 658–668, 2014.
- [2] Li N., Matsushita K., Takayama N., Ito S., Okada K., and Matsuzawa A., “Evaluation of a Multi-Line De-Embedding Technique up to 110 GHz for Millimeter-Wave CMOS Circuit Design,” *IEICE Trans. Fun-dam. Electron. Commun. Comput. Sci.*, vol. E93-A, no. 2, pp. 431–439, Feb. 2010.
- [3] Engen G. F. and Hoer C. A., “Thru-Reflect-Line : An Improved Technique for Calibrating the Dual Six-Port Automatic Network Analyzer,” *IEEE Trans. Microw. Theory Tech.*, vol. 27, no. 12, pp. 987–993, Dec. 1979.
- [4] Torres-Torres R., Hernandez-Sosa G., Romo G., and Sanchez A., “Characterization of Electrical Transitions Using Transmission Line Measurements,” *IEEE Trans. Adv. Packag.*, vol. 32, no. 1, pp. 45–52, Feb 2009.
- [5] Zhang B., Xiong Y.-Z., Wang L., Hu S., and Li J. L.-W., “On the De-Embedding Issue of Millimeter-Wave and Sub-Millimeter-Wave Measurement and Circuit Design,” *IEEE Trans. Compon. Packag. Manuf. Technol.*, vol. 2, no. 8, pp. 1361–1369, Aug. 2012.
- [6] Vandamme E. P., Schreurs D. M. M., and van Dinther C., “Improved Three-Step De-Embedding Method to Accurately Account for the Influence of Pad Parasitics in Silicon On-Wafer RF Test-Structures,” *IEEE Trans. Electron Devices*, vol. 48, no. 4, pp. 737–742, Apr. 2001.
- [7] Hamidipour A., Jahn M., Starzer F., Wang X., and Stelzer A., “On-Wafer Passives De-Embedding Based on Open-Pad and Transmission Line Measurement,” in 2010 IEEE Bipolar/BiCMOS Circuits and Technology Meeting (BCTM), pp. 102–105, 2010.
- [8] Loo X. S., Yeo K. S., Chew K. W. J., Chan L. H. K., Ong S. N., Do M. A., and Boon C. C., “A New Millimeter-Wave Fixture De-embedding Method Based on Generalized Cascade Network Model,” *IEEE Electron Device Lett.*, vol. 34, no. 3, pp. 447–449, Mar. 2013.
- [9] Lin Y., Yen H.-T., Chen H.-H., Jou C.-P., Kuo C.-W., Jeng M.-C., Hsueh F.-L., Hsiao C.-H., and Huang G.-W., “An extended de-embedding method for on-wafer components,” in 2012 IEEE International Conference on Microelectronic Test Structures (ICMTS), pp. 166–168, 2012.

5

Spectroscopie diélectrique hyperfréquence d'une cellule suspendue

*Spectroscopie diélectrique hyperfréquence d'une cellule sus-
pendue*

Sommaire

5.1	Introduction	136
5.2	Biocapteur compatible avec l'analyse d'une cellule unique	138
5.2.1	Description du circuit HF	138
5.2.2	Dispositif de piégeage d'une cellule unique	140
5.3	Analyse des capteurs et caractérisation par simulation numérique	143
5.4	Expérimentations	157
5.5	Conclusion	168

5.1 Introduction

Les travaux présentés dans les chapitres précédents ont permis d'une part de valider le fonctionnement qui résulte de l'interaction entre le champ électromagnétique et les fluides étudiés. Nous avons utilisé des biocapteurs instrumentés miniaturisés, sous-pointes ou assemblés sur un support PCB intégrant un connecteur SMA. Nous avons, d'autre part, comparé plusieurs géométries de capteurs hyperfréquences afin d'améliorer leur sensibilité. Par ailleurs, les méthodes de caractérisation des propriétés diélectriques des milieux fluidiques inconnus associées aux mesures hyperfréquences ont également été présentées. Les résultats des mesures obtenus montrent une très bonne adéquation entre les valeurs théoriques associées au modèle de Debye et celles extraites par les protocoles de caractérisation développés.

Les composants proposés aux chapitres 3 et 4 ne permettent qu'une analyse sur une population de cellules et non une cellule unique, alors que chaque cellule a une individualité qui la différencie qualitativement de l'ensemble. L'individualité cellulaire signifie simplement qu'au sein d'une population cellulaire, chaque cellule est un être vivant unique et donc qu'aucune cellule ne peut être exactement identique à une autre [1]. Il y a individualité cellulaire en lien avec la membrane plasmique qui règle les échanges entre la cellule et son environnement. L'existence de différences individuelles dans les caractéristiques cellulaires au sein des organismes multicellulaires suggère que, parmi les cellules individuelles, il doit exister des différences dans les caractéristiques associées à la susceptibilité de ces cellules aux maladies ou aux stress environnementaux. Par exemple, morphologiquement, les différences individuelles dans la forme et la taille des cellules peuvent être facilement observées parmi n'importe quel type de cellules. De même, des variations de quantités d'antigènes peuvent également être observées au sein de populations cellulaires d'un type identique par des techniques telles que l'immunocoloration.

Notre objectif est d'imager diélectriquement des cellules uniques et de mesurer directement, par la technique hyperfréquence, leur propriété en polarisation dans leur milieu de culture liquide. Pour cela, de nouveaux dispositifs spécifiques à l'analyse et l'étude d'une seule cellule ont été développés dans ce travail. Ils permettent, de manière non invasive, l'analyse d'une cellule biologique unique et vivante dans son milieu de culture liquide pour extraire, en temps réel, ses propriétés diélectriques spécifiques qui peuvent refléter son état physiologique. L'approche proposée est basée sur la détection capacitive d'échantillons en utilisant des ondes électromagnétiques micro-ondes comme méthode d'analyse simple et non invasive. Le principe consiste à surveiller en temps réel les variations de capacité du capteur en fonction des changements de propriétés diélectriques du liquide ou des particules en circulation traversant le capteur. Basée sur la spectroscopie micro-onde de liquides et de particules microscopiques, cette technologie est particulièrement attractive car elle permet l'observation d'une zone focalisée, où le champ électromagnétique est fortement concentré. Par conséquent, il est possible d'effectuer une analyse à partir de très petites quantités de liquide (typiquement quelques nanolitres). De plus, la configuration planaire est entièrement compatible avec les technologies microfluidiques.

Notre objectif, rappelons-le, est de manipuler des cellules uniques et de mesurer directement, par la technique hyperfréquence, leurs propriétés diélectriques dans leur milieu de culture liquide. Pour cela, de nouveaux dispositifs spécifiques à l'analyse et l'étude d'une seule cellule ont été développés dans ce travail. Ils permettent, de manière non invasive et à l'échelle de la cellule unique, l'analyse d'une cellule biologique unique et vivante dans son milieu de culture liquide pour extraire, en temps réel, ses propriétés diélec-

triques spécifiques qui peuvent refléter son état physiologique. L'approche proposée est basée sur la détection capacitive d'échantillons en utilisant des ondes électromagnétiques micro-ondes comme méthode d'analyse simple et non invasive. Le principe consiste à surveiller en temps réel les variations de capacité du capteur en fonction des changements de propriétés diélectriques du liquide ou des particules en circulation traversant le capteur. Basée sur la spectroscopie micro-onde de liquides et de particules microscopiques, cette technologie est particulièrement attractive car elle permet l'observation d'une zone focalisée, où le champ électromagnétique est fortement concentré. Par conséquent, il est possible d'effectuer une analyse à partir de très petites quantités de liquide (typiquement quelques nanolitres). De plus, la configuration planaire est entièrement compatible avec les technologies microfluidiques.

Le présent chapitre réutilise les outils des chapitres précédents de ce manuscrit afin de développer des capteurs performants en terme de précision pour la détermination des propriétés des cellules biologiques. La zone d'interaction entre les champs électromagnétiques et le milieu sous test (troisième partie de ce chapitre) devra être à l'échelle de la cellule unique ainsi capturée. Pour l'aspect fluide, décrit dans la deuxième partie de ce chapitre, un dispositif de piégeage placé au centre du micro-canal assure la capture d'une cellule unique grâce à la force hydrodynamique. Des nouvelles technologies et méthodes d'analyse cellulaire sont également présentées.

● Historique

Les propriétés diélectriques des cellules et tissus biologiques sont étudiées depuis près de cent ans. Les premiers travaux remontent aux années 1910, lorsque Hober [2–4] a comparé la conductivité basse et haute fréquence des érythrocytes (globules rouges) et a démontré électriquement l'existence de la membrane cellulaire. En 1924 et 1925, Fricke a publié une série d'articles sur la modélisation mathématique de la conductivité électrique et de la capacité des systèmes dispersés [5–13], en utilisant les principes énoncés par Maxwell [14]. À partir des mesures des globules rouges canins, Fricke a calculé la capacité de la membrane à 8,1 mF/m² et a déterminé l'épaisseur de la membrane à 3,3 nm. En 1935, Fricke et Curtis [15] ont utilisé des mesures d'impédance complexe pour suivre la lyse des érythrocytes de mammifères. À peu près au même moment, Cole [16, 17] a utilisé l'équation du mélange de Maxwell pour déterminer l'impédance complexe d'une cellule à coque unique en suspension. Il a proposé un modèle à angle de phase constant (CPA) pour la membrane cellulaire et en a déduit l'équation du tracé de Cole-Cole [18]. Cole et Cole ont publié plusieurs articles [19–21] sur l'impédance électrique des œufs biologiques (*Hippoonoe*, *Asteria* et *Arbacia*). Les mesures sur une seule cellule ont été faites pour la première fois en 1937 lorsque Curtis et Cole [22] ont développé une méthode pour mesurer l'impédance électrique transversale d'une cellule en incorporant deux électrodes dans des rainures dans lesquelles une cellule *Nitella* a été placée. En 1938, les mêmes auteurs [23] ont mesuré des œufs isolés placés à l'intérieur d'un tube capillaire. Schwan a été le pionnier des mesures diélectriques à large bande en étendant la limite de fréquence supérieure à 1 GHz. Il a mesuré une gamme de matériaux biologiques allant des suspensions cellulaires aux tissus [24], ainsi que l'identification des trois dispersions (α , β et γ) [25, 26].

Typiquement, en spectroscopie diélectrique, l'impédance d'une suspension biologique est mesurée en utilisant un signal d'excitation en courant alternatif. La suspension est maintenue dans une cellule de mesure contenant deux, trois ou quatre électrodes. Le courant traversant le système est mesuré en fonction de la fréquence pour en extraire les pro-

priétés électriques des particules en suspension. Actuellement, il existe de nombreuses approches pour la mesure diélectrique des suspensions biologiques et les revues des techniques sont disponibles dans la littérature [27–37].

5.2 Biocapteur compatible avec l'analyse d'une cellule unique

5.2.1 Description du circuit HF

La méthode de détection est basée sur la surveillance des changements de distribution de champ électromagnétique à haute fréquence lorsqu'une particule diélectrique est introduite dans la zone sensible. Afin d'obtenir un effet significatif du champ électromagnétique sur la particule étudiée, il faut avoir un champ maximal à l'endroit où la particule est placée. Comme vu précédemment pour la mesure des propriétés diélectriques de fluides, la technologie coplanaire est très bien adaptée à l'intégration d'un canal microfluidique en raison de son caractère planaire, et c'est donc la technologie retenue ici.

Dans cette section, nous développons un biocapteur dont la zone de détection est réduite pour être compatible avec la taille d'une cellule unique. Le choix des géométries des électrodes constitue une étape cruciale qui doit répondre à plusieurs conditions critiques :

- Intégration des électrodes dans un microcanal fluidique
- Possibilité de réalisation par les techniques classiques de photolithographie
- Possibilité d'effectuer une mesure sur une seule cellule suspendue
- Sensibilité suffisante pour pouvoir mesurer une seule cellule

Ces critères sont interdépendants et liés aux dimensions du microcanal et du piège placé au milieu qui doit pouvoir recevoir et piéger une cellule (ou particule). De plus, les dimensions des électrodes doivent être choisies de sorte que le champ électrique qu'elles produiront lors des mesures couvre bien la zone où la cellule sera présente et ceci sans trop excéder cette zone afin de maximiser la sensibilité aux propriétés de la cellule et d'éviter l'influence de plusieurs cellules si celles-ci sont peu éloignées. Les structures avec une électrode centrale progressivement rétrécie (structures « en pointe ») sont donc bien adaptées car l'extrémité de l'électrode centrale est de largeur inférieure ou égale au diamètre de la cellule biologique à analyser (la plupart des cellules ont une taille d'une dizaine de micromètres). Les structures de type interdigité ne sont en revanche pas adaptées car la zone sensible est trop importante (échelle de plusieurs cellules).

Les capteurs développés dans ces travaux sont constitués de trois éléments principaux : un circuit hyperfréquence couplé perpendiculairement à un canal microfluidique au centre duquel est placé un piège mécanique des cellules/particules. Ce piège, en SU-8, a un rôle fondamental pour la capture d'une cellule/particule de diamètre compris entre 7 μm et 15 μm et sa localisation précise dans la zone sensible. La partie hyperfréquence consiste en une structure capacitive permettant d'effectuer des mesures large bande sur la gamme de fréquences visée. La partie microfluidique impose des contraintes à prendre en compte lors de la conception du dispositif RF afin que sa topologie et ses dimensions soient compatibles avec l'implémentation d'un réseau microfluidique pour des applications de type « Laboratoire sur Puce ». Les structures retenues et décrites ci-après visent à caractériser des cellules biologiques par spectroscopie diélectrique.

A partir des structures HF capacitives présentées au chapitre précédent, le choix s'est porté sur un biocapteur prenant la forme qu'une ligne coplanaire dont le conducteur central se rétrécit progressivement jusqu'à une coupure capacitive (gap capacitif) de largeur de $10\ \mu\text{m}$ (Figs. 5.1 et 5.2).

Deux structures simples à l'échelle microscopique sont envisageables à partir de ces géométries d'électrodes de base : des structures coplanaires en transmission et en réflexion. Le biocapteur en transmission est une structure symétrique en technologie CPW : ligne coplanaire – zone capacitive – ligne coplanaire comme montré sur la Fig. 5.1.

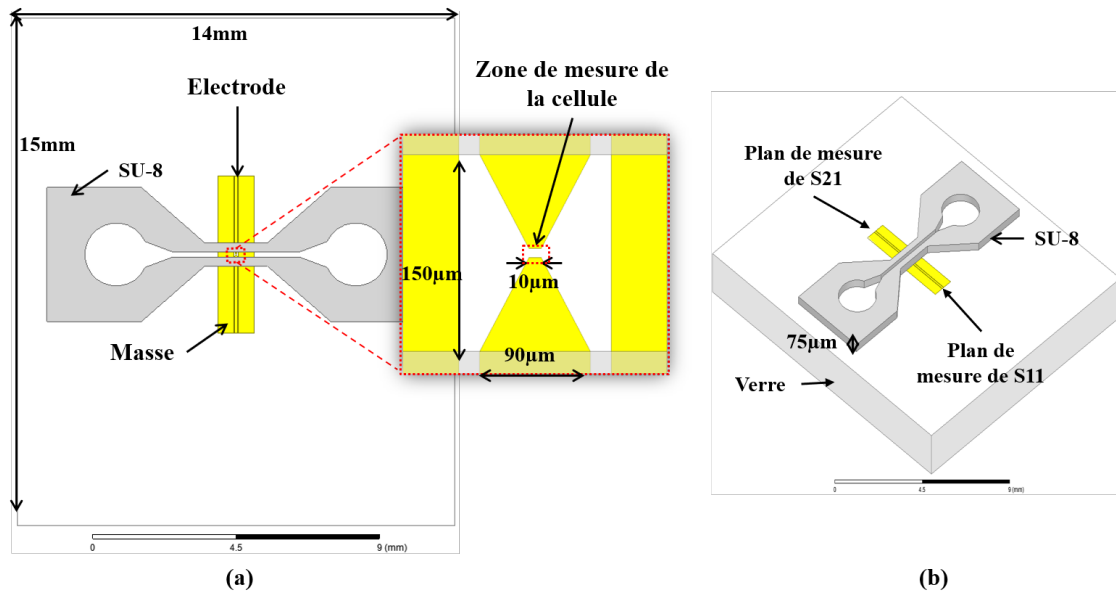


Figure 5.1 – Capteur en transmission (CPW-CT) avec conducteur central progressivement rétréci, (a) vue de dessus du capteur et zoom de la zone de détection, (b) vue 3D.

La Fig. 5.2 présente le capteur utilisé en réflexion. La structure hyperfréquence est composée d'une ligne coplanaire dont le ruban central se rétrécit vers la zone capacitive à son extrémité. Le champ électromagnétique au niveau du gap interagit avec l'échantillon sous test. Ainsi, lors du piégeage d'une cellule dans la zone sensible, la variation de la réactance et de la conductance du matériau équivalent dans la zone mesurée modifie le coefficient de réflexion de la structure coplanaire.

La mesure des paramètres de réflexion et de transmission est effectuée par un analyseur de réseau vectoriel (VNA) et en utilisant des pointes de mesure posées sur les lignes CPW. L'interaction entre l'onde électromagnétique hyper-fréquence et le fluide au sein du canal microfluidique dépend des propriétés diélectriques du milieu. Ainsi, la distribution du champ sur la structure hyperfréquence, et par conséquent les paramètres de réflexion et transmission, sont modifiés par l'interaction avec le milieu sous test. Cette modification s'observe à la fois sur l'amplitude et la phase des coefficients complexes de transmission et de réflexion :

- ✓ Le retard (appelé aussi déphasage) est relié à la partie réelle de la permittivité complexe ϵ_r^* , paramètre influencé par la capacitance du milieu.
- ✓ L'atténuation (ou diminution de l'amplitude de la transmission) est reliée à la partie imaginaire de la permittivité complexe ϵ_r^* , et correspond à la conductance du milieu étudié.

Ces deux paramètres mesurés reflètent donc les propriétés diélectriques de la cellule ainsi que le liquide environnant. Cela devrait permettre d'effectuer des analyses de cellules sans marquage et sans contact.

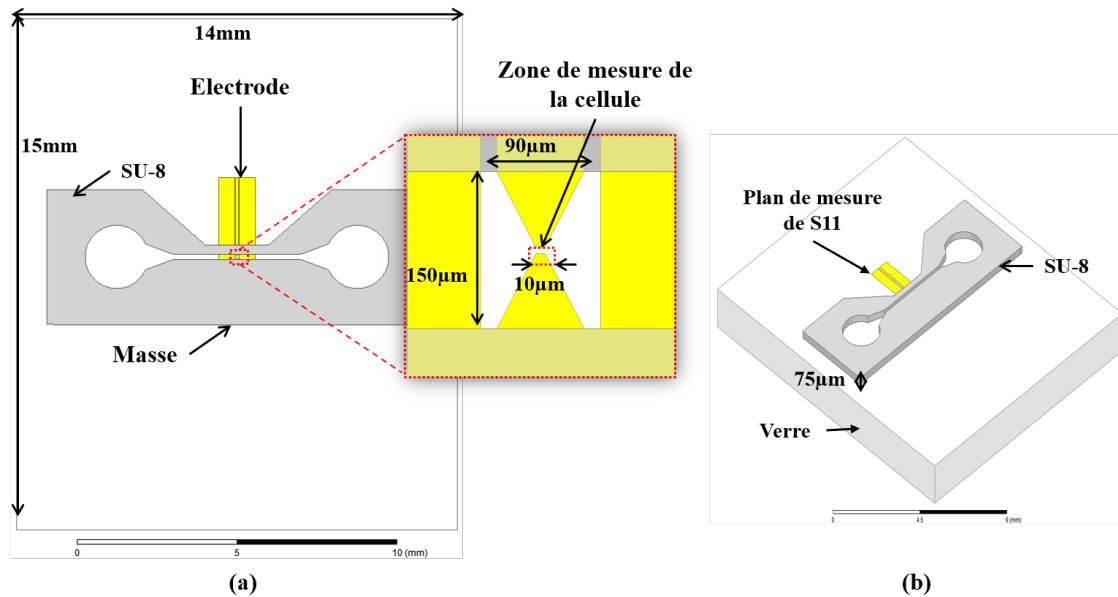


Figure 5.2 – Capteur en réflexion (CPW-CR) avec conducteur central rétréci, (a) vue de dessus du capteur et zoom de la zone de détection, (b) vue 3D.

5.2.2 Dispositif de piégeage d'une cellule unique

L'objectif est de caractériser et d'analyser, par spectroscopie hyperfréquence, une seule cellule/particule dans son milieu de culture, et de pouvoir notamment étudier dynamiquement l'évolution de cette cellule isolée. Evidemment, le blocage de cette cellule est une étape cruciale qui doit être compatible avec la méthode de mesure. Dans ce contexte, deux méthodes de piégeage d'une seule microsphère ont été proposées :

* Piégeage par diélectrophorèse (DEP) :

La force de diélectrophorèse (DEP) est l'une des techniques utilisées non seulement pour manipuler mais aussi pour séparer, trier et identifier les cellules dans les systèmes microfluidiques. Cette technique est capable de séparer une cellule dans son milieu hôte et de la déplacer vers des zones privilégiées par l'application d'un champ électrique non-uniforme à l'échelle d'une particule diélectrique (une cellule dans notre cas). La Fig. 5.3 illustre l'application de cette technique sur une cellule située dans le canal microfluidique ; celle-ci se déplace rapidement vers le bas en raison des forces DEP (ici positives – attractives) induites sur les bords des électrodes. Cette technique assure également la libération de la cellule préalablement piégée en commutant la tension de l'électrode de commande de + V à -V.

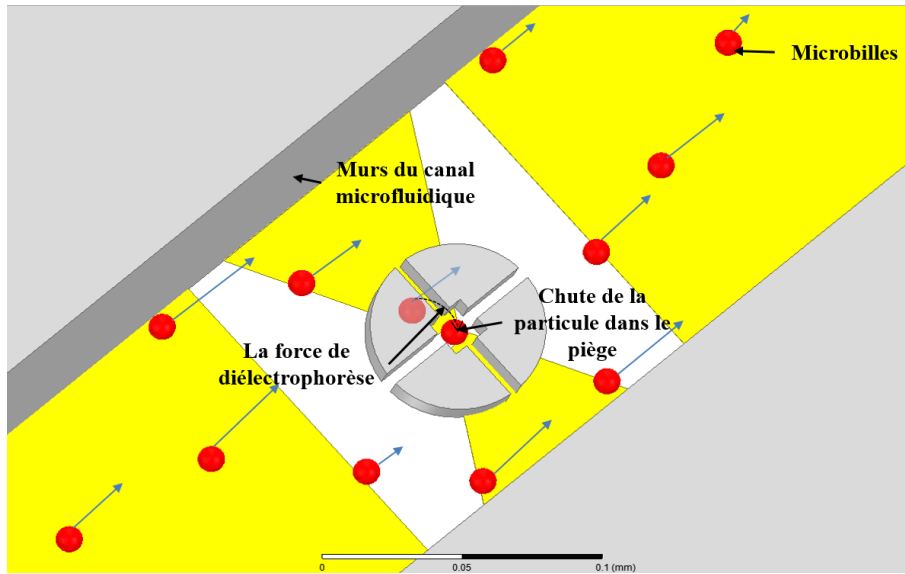


Figure 5.3 – Schéma de principe du mécanisme de piégeage par diélectrophorèse.

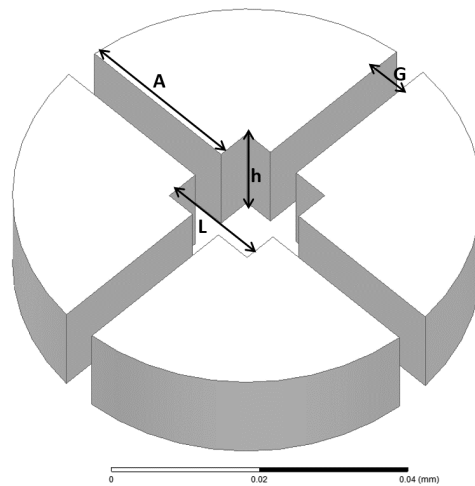


Figure 5.4 – Vue schématique en 3D du piège par diélectrophorèse.

La Fig. 5.4 et le Tab. 5.1 détaillent les dimensions du dispositif de piégeage retenu. Il est constitué de quatre blocs de hauteur $17\ \mu\text{m}$, localisés au centre du micro-canal, et séparés par une petite ouverture de $5\ \mu\text{m}$ qui permet au fluide de circuler et de faciliter la capture. La particule est confinée dans une petite chambre de surface $15\ \mu\text{m} \times 15\ \mu\text{m}$, ce qui correspond aux dimensions d'une particule. Les autres cellules en suspension continuent leur chemin de part et d'autre du piège comme le présente la Fig. 5.3.

Tableau 5.1 – Dimensions du piège par diélectrophorèse

Dimensions	Valeurs
A	24,4 μm
L	15 μm
h	17 μm
G	5 μm

* Piégeage par la force hydrodynamique :

La partie fluidique a pour rôle, non seulement l'acheminement des cellules dans la zone d'analyse, mais aussi la capture d'une cellule et sa localisation précise dans la zone d'étude. Le principe consiste à bloquer une cellule en la « coinçant » dans le dispositif de piégeage grâce à la force hydrodynamique tout en laissant passer les autres cellules dans le canal.

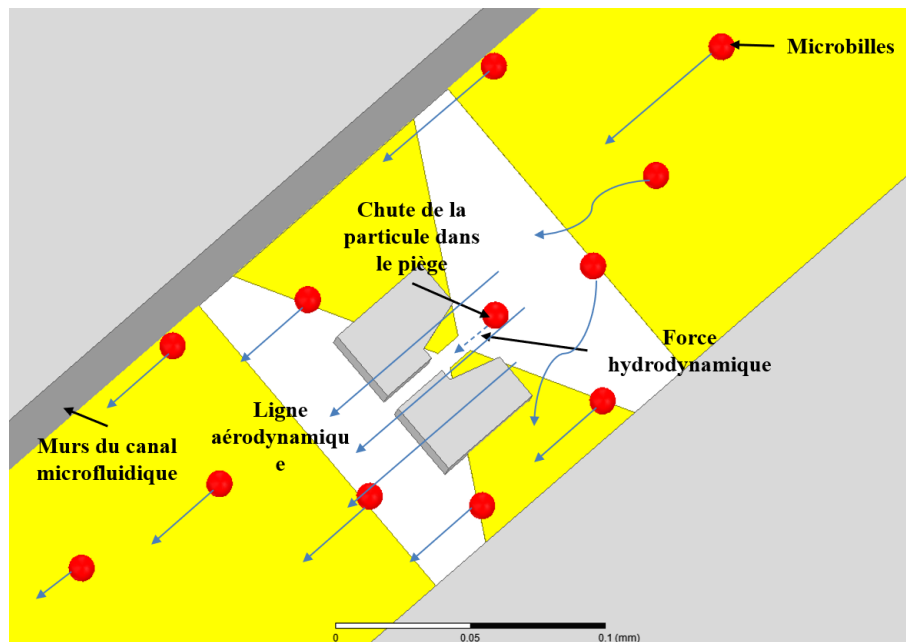


Figure 5.5 – Schéma de principe du mécanisme de piégeage hydrodynamique.

Le dispositif de piégeage mécanique est constitué de deux piliers entre lesquels un gap d'air de 5 μm sur toute leur hauteur permet le passage d'un courant de fluide en son centre. Ces piliers présentent une face de forme conique adaptée à la forme des objets à recevoir (forme sphérique dans notre cas) afin de les bloquer. Ce piège est localisé au centre du micro-canal et attaché à la fois au substrat et au métal. Les microsphères (cellules) en suspension dans le milieu de culture sont injectées dans le micro-canal par une pousse seringue externe. Le gap du piège permet le passage d'une fraction de fluide et favorise en conséquence la conduite, par des lignes de courant fluide, d'une cellule vers le piège. Les autres cellules en suspension sont alors déviées de part et d'autre du piège comme le présente la Fig. 5.5. Une vue schématique 3D du dispositif dessiné sur HFSS est présentée sur la Fig. 5.6. Les dimensions sont données dans le Tab. 5.2.

Tableau 5.2 – Dimensions du piège mécanique

Dimensions	Valeurs
X	64 μm
X_1	15 μm
X_2	26,6 μm
Y	41,6 μm
h	17 μm
G	5 μm

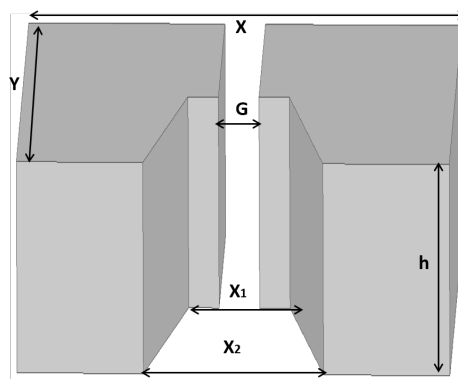


Figure 5.6 – Vue schématique en 3D du piège hydrodynamique.

Les procédés de fabrication des biocapteurs commencent par le transfert de l'image du capteur d'un masque vers un substrat avant l'étape de photolithographie (Voir chapitre 2.). Le substrat est alors couvert par évaporation d'une couche mince de TiW (20 nm) et d'or (200 nm) pour former la métallisation de la structure CPW. Cette couche mince est recouverte d'une résine photosensible et est ensuite exposée aux UV, à travers le masque puis développée afin d'éliminer la résine aux endroits où la métallisation est non désirée (zones non exposées). La suite du process est identique à celle présentée dans le paragraphe 2.5.2 du chapitre 2 : elle consiste en un dépôt de résine SU-8 et une photolithographie sur le substrat comportant le circuit HF pour fabriquer le canal microfluidique et le piège. Le piège doit être placé précisément afin que la particule piégée soit située au-dessus de la capacité de détection.

5.3 Analyse des capteurs et caractérisation par simulation numérique

Les phases de conception et d'analyse de ce nouveau dispositif s'appuient sur l'utilisation du simulateur électromagnétique 3D HFSS © de la société ANSYS.

Afin d'évaluer la sensibilité et la précision des biocapteurs, des simulations électromagnétiques de ces biocapteurs ayant un gap capacitif de 7 μm ont été effectuées. Elles

ont été réalisées avec le logiciel HFSS en plaçant dans le canal microfluidique un milieu hôte (Eau DI) ayant un comportement de Debye conformément à l'éq. (1.11) du chapitre I. Une bille sphérique de polystyrène de 10 μm de diamètre d'une permittivité relative $\epsilon' = 2,6$ ($\epsilon'' = 0$) a été placée dans le piège. Les Figs. 5.7 et 5.8 présentent le modèle 3D des structures simulées. La simulation et l'analyse des résultats ont été effectuées sur la bande fréquentielle allant de 300 MHz à 25 GHz.

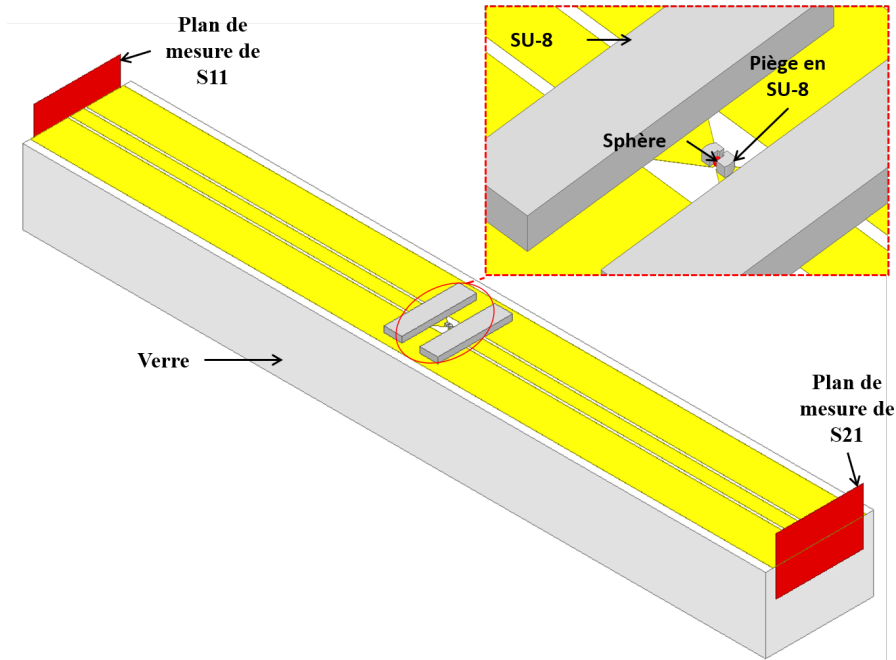


Figure 5.7 – Vue 3D du dispositif d'analyse HF d'une cellule unique simulé en transmission (CPW-CT).

L'intensité du champ électrique calculée à 5 GHz pour ces deux structures est illustrée sur les Figs. 5.9 et 5.10. La simulation est effectuée avec une particule piégée de diamètre 10 μm de polystyrène ($\epsilon' = 2,6$) dans un milieu hôte dont ϵ_r^* varie en fonction de la fréquence conformément à l'équation de Debye (milieu = eau DI).

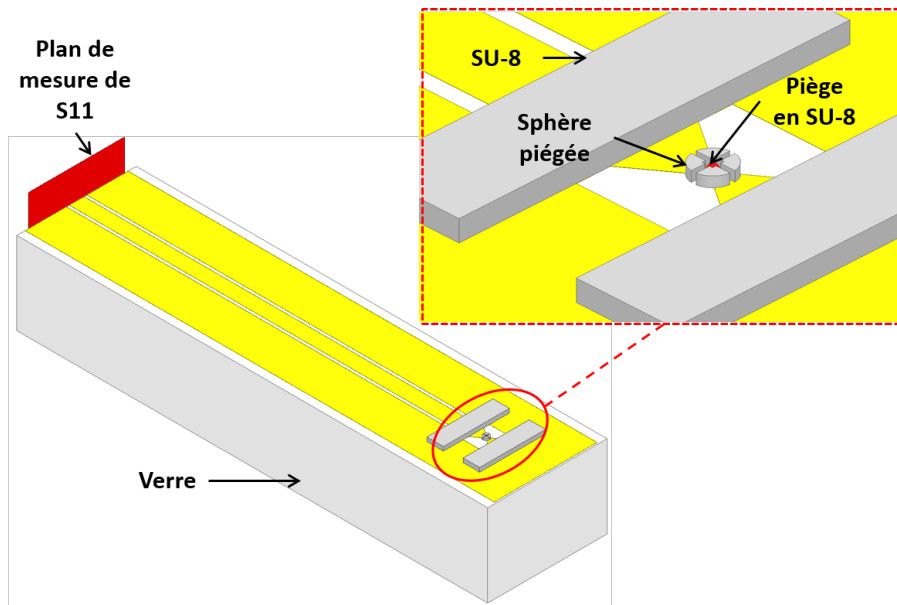


Figure 5.8 – Vue 3D du dispositif d'analyse HF d'une cellule unique simulé en réflexion (CPW-CR).

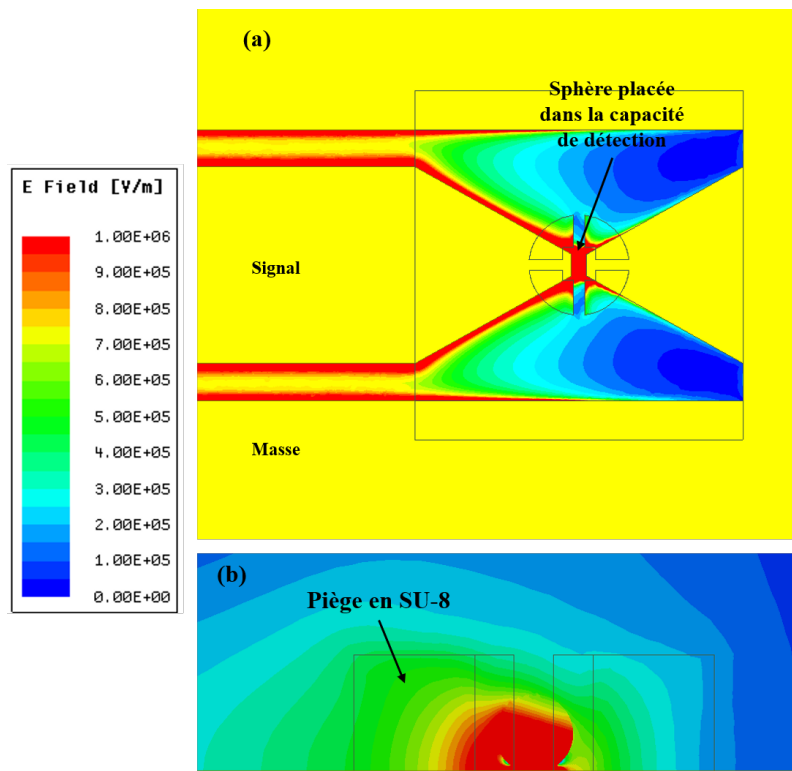


Figure 5.9 – Distribution du champ électrique à 5GHz dans la zone d'analyse du dispositif CPW-CR (a) en vue de dessus et (b) dans le plan de coupe vertical passant par le milieu du gap et perpendiculaire au ruban de la ligne.

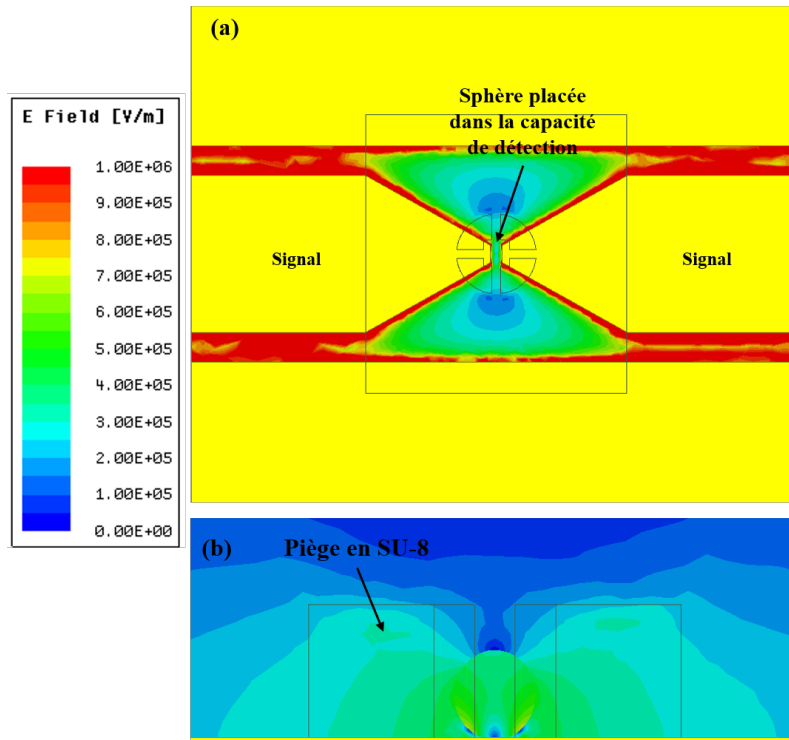


Figure 5.10 – Distribution du champ électrique à 5GHz dans la zone d'analyse du dispositif CPW-CT (a) en vue de dessus et (b) dans le plan de coupe verticale passant par le milieu du gap et perpendiculaire au ruban de la ligne.

Les simulations montrent que la distribution de champ est bien concentrée dans la zone sensible du dispositif dans laquelle l'interaction cellule – champ est maximale pour le capteur fonctionnant en réflexion tandis que, pour le capteur de détection en transmission, elle est fortement concentrée dans les gaps coplanaires et dans le gap de la capacité de détection. Cette distribution a une extension d'environ 20 μm au-dessus du substrat si on considère la zone sur laquelle l'amplitude du champ reste supérieure à 50% de sa valeur maximale. Cela implique que l'interaction microsphère – champ électromagnétique s'exerce sur l'intégralité de la particule tant que le diamètre de la particule à analyser reste inférieur à 20 μm .

Afin de valider la fonctionnalité des méthodes de caractérisation proposées par la suite, de mettre en évidence l'interaction ondes-fluide et de prédire les paramètres S de la structure lorsque le canal est rempli d'air, d'eau DI, et d'eau DI avec une bille diélectrique, nous avons effectué d'autres simulations en piégeant une bille de Polyméthacrylate de méthyle (PMMA – methyl methacrylate en anglais) de permittivité relative complexe $\epsilon_r^* = 3,4 - j3,4 \cdot 10^{-3}$, ainsi qu'une bille de Saphir (Sapphire en anglais) d'une permittivité relative $\epsilon' = 10$ ($\epsilon'' = 0$) et de diamètre égal à 10 μm .

Les Figs. 5.11 et 5.12 représentent, respectivement, la variation entre 300 MHz et 25 GHz des coefficients de réflexion S_{11} et de transmission S_{21} obtenus pour les capteurs CPW-CR et CPW-CT, respectivement, simulés sans et avec une bille placée dans la zone de détection.

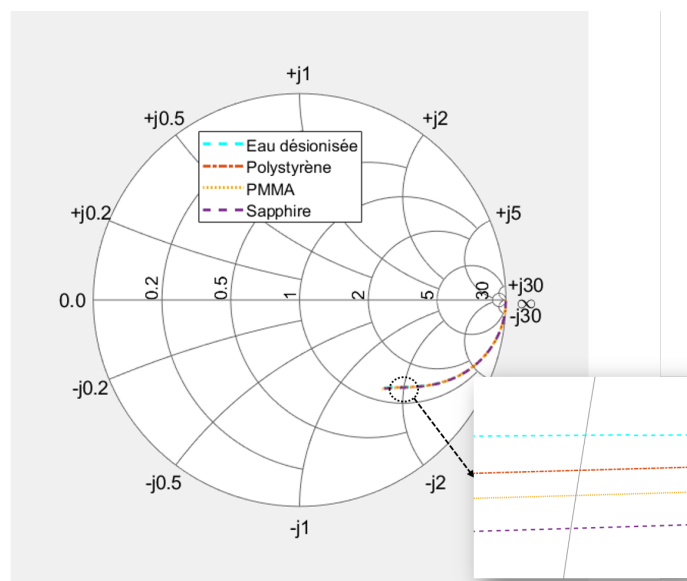
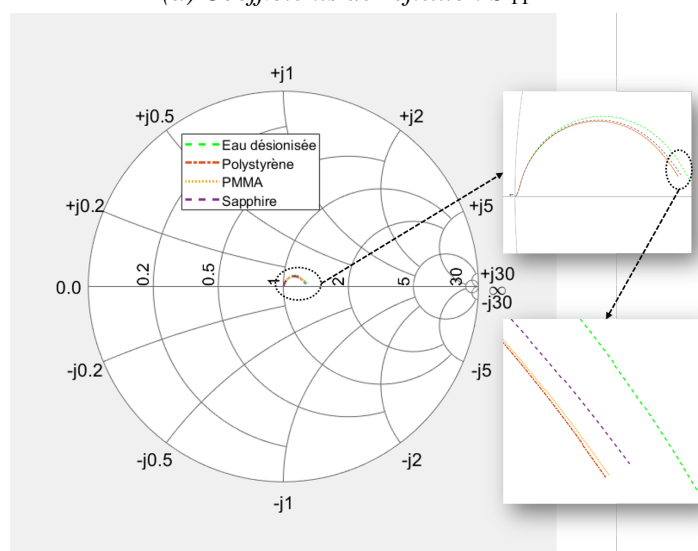

 (a) Coefficients de réflexion S_{11}

 (b) Coefficients de transmission S_{21}

Figure 5.11 – Représentation, dans le plan complexe, des coefficients de réflexion et de transmission simulés pour le capteur CPW-CR et CPW-CT respectivement, avec ou sans bille dans le canal rempli d'eau déionisée.

Lorsqu'une particule en suspension dans son milieu hôte est piégée, l'admittance complexe Y mesurée dépend de ces deux éléments : particule + milieu hôte. Les contrastes capacitif et conductif par rapport au milieu hôte seul sont donc données par :

$$\Delta C = C_{\text{milieu+Part.}} - C_{\text{milieu}} = \varepsilon_0 * (\varepsilon'_{\text{Part.}} - \varepsilon'_{\text{milieu}}) * K_{\text{Geom}} * A \quad (5.1)$$

$$\Delta G = G_{\text{milieu+Part.}} - G_{\text{milieu}} = 2\pi f * \varepsilon_0 * (\varepsilon''_{\text{Part.}} - \varepsilon''_{\text{milieu}}) * K_{\text{Geom}} * A \quad (5.2)$$

où A est un coefficient correspondant à la proportion des lignes de champ électrique dans la particule comme l'illustre la Fig. 5.13. Le coefficient $K_{\text{Geom}} * A$ est déterminé par la mesure de l'admittance complexe d'une particule de référence dans son milieu hôte.

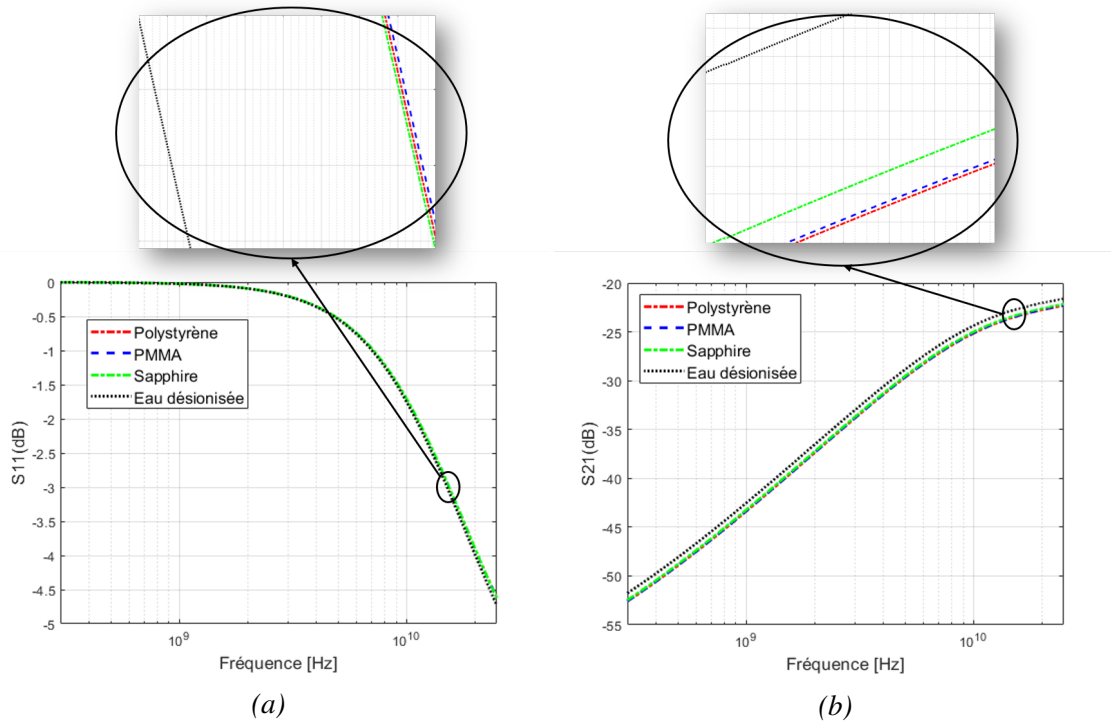


Figure 5.12 – Coefficients de réflexion S_{11} (a) et de transmission S_{21} (b) pour les capteurs CPW-CR et CPW-CT respectivement simulés sans ou avec une bille placée dans la zone de détection remplie d'eau déionisée.

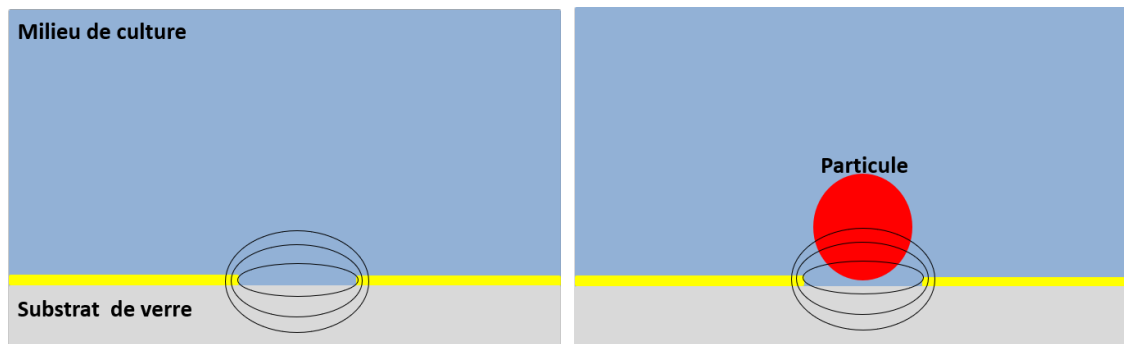


Figure 5.13 – Représentation des lignes de champs sans (à gauche) et avec (à droite) la particule.

La mesure de l'admittance complexe Y du matériau sous test à partir des paramètres S simulés (ou mesurés) nécessite d'abord un procédé dit de 'de-embedding', décrit dans le chapitre précédent, afin d'éliminer l'effet des autres éléments présents. Nous effectuons ensuite l'extraction de l'admittance complexe : C_{fluide} et G_{fluide} du matériau cible. Les contrastes capacitifs et de conductance obtenus après la mise en œuvre du de-embedding sont présentés sur les Figs. 5.14 et 5.15.

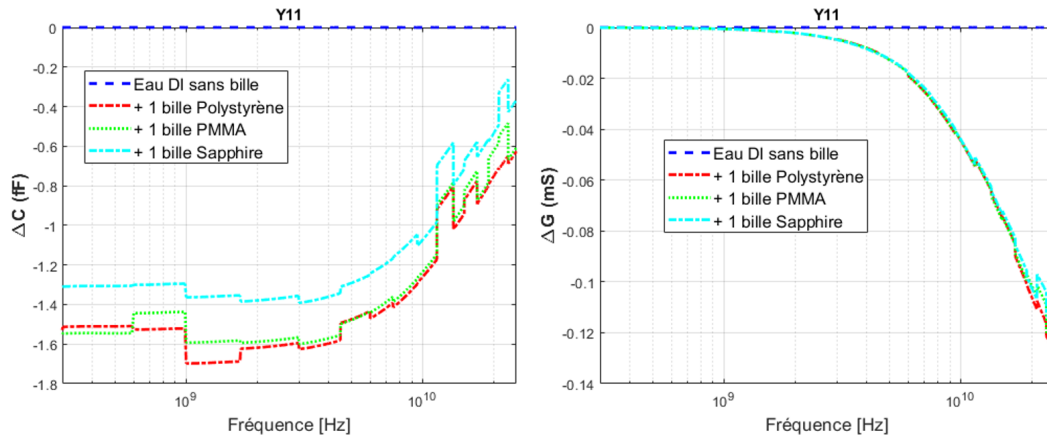


Figure 5.14 – Contraste capacitif ΔC et conductif ΔG entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence d’une bille en fonction de la fréquence obtenus par simulation de CPW-CR.

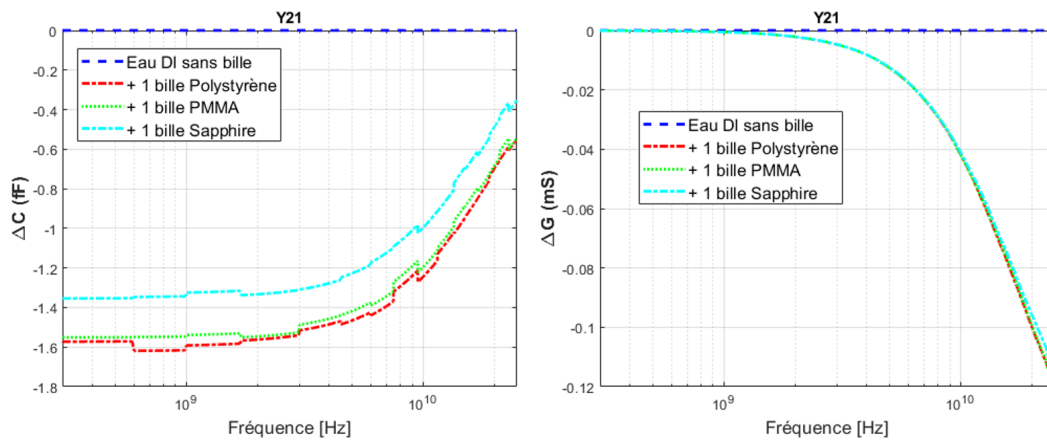


Figure 5.15 – Contraste capacitif ΔC et conductif ΔG entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence d’une bille en fonction de la fréquence obtenus par simulation de CPW-CT.

Une fois effectué le procédé de ‘de-embedding’, nous utilisons les résultats issus des simulations électromagnétiques et obtenus avec une bille de polystyrène (10 μm) dans de l’eau DI pour calculer le coefficient A lié à la proportion des lignes de champs dans la bille. Ce coefficient connu, on peut procéder à l’extraction de la permittivité complexe du PMMA conformément aux éqs. (5.1) et (5.2).

Dans l’étude précédente, nous avons considéré principalement des objets de diamètre 10 μm ce qui correspond au diamètre moyen des cellules biologiques (cellules sanguines, cellules cancéreuses (HCT 116, SW620, BL-41, ...)). D’une manière générale, la transformation de la cellule normale en cellule cancéreuse lui fait acquérir des propriétés nouvelles. Ces diamètres sont donc différenciés d’une cellule à une autre. Pour valider ces techniques d’extraction de permittivité d’une cellule unique, nous venons d’utiliser comme biocapteur un détecteur capacitif ayant un gap de 7 μm . La sensibilité de détection d’un biocapteur s’évalue en étudiant si la présence ou l’absence d’une cellule est détectable via la mesure, et si la variation des propriétés des cellules peut être observée. Pour chercher à optimiser cette sensibilité, une étude paramétrique a été faite en fonction de la largeur du gap capacitif (Fig. 5.16). Les largeurs de 5 μm , 7 μm et 10 μm du gap capacitif ont été considérées dans les simulations.

La Fig. 5.17 présente l’impact de la diminution du gap de capacité de détection sur

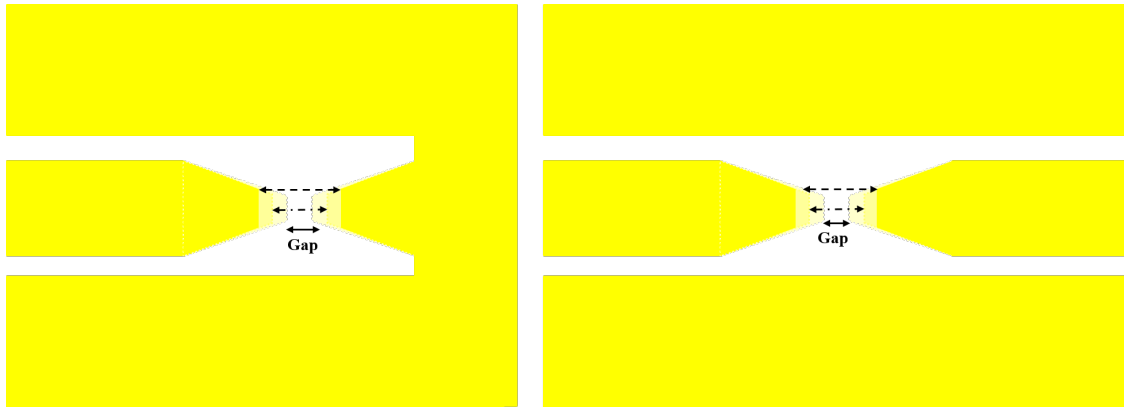


Figure 5.16 – Représentation schématique de changement de largeur du gap dans les structures fonctionnant en réflexion et en transmission.

les spectres des contrastes capacitifs ΔC et conductifs ΔG . Les simulations ont été faites pour le capteur CPW-CR avec un canal rempli d'eau déionisée (considérée comme milieu hôte) dans un premier temps puis d'eau déionisée avec une particule de polystyrène de diamètre $10 \mu\text{m}$ au milieu du gap.

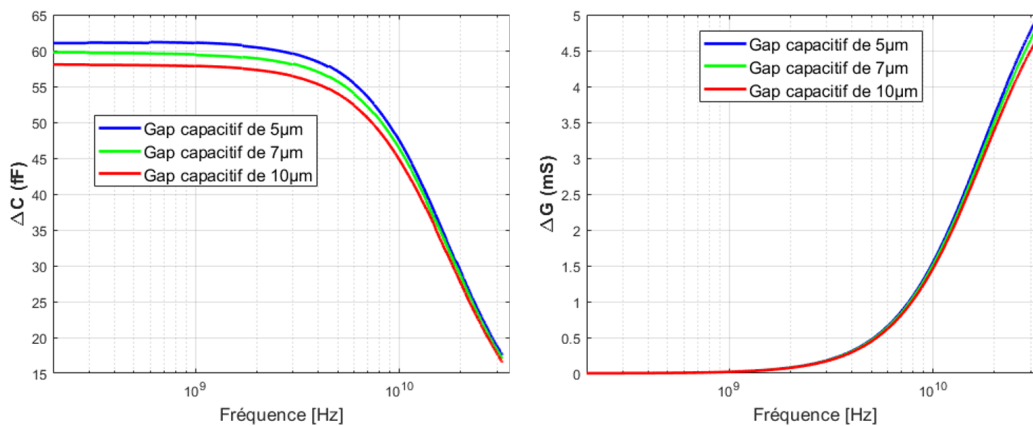


Figure 5.17 – Contrastes ΔC et ΔG simulés avec le CPW-CR en présence d'une bille de polystyrène piégée.

Cette figure nous montre que les contrastes diélectriques augmentent lorsque la largeur du gap diminue. Cela peut se traduire par le fait que la proportion du champ électrique en interaction avec une microsphère considérée augmente lorsque le gap du détecteur capacitif diminue.

Dans la partie suivante, nous allons étudier l'impact du diamètre d'une particule placée dans le piège au-dessus du gap de détection sur les spectres ΔC et ΔG (Fig. 5.18). La largeur du gap considérée est toujours de $7 \mu\text{m}$.

Pour ce faire, des simulations avec une bille de polystyrène placée au centre de la zone capacitive et dont le diamètre varie entre $10 \mu\text{m}$ et $14 \mu\text{m}$ ont été effectuées. L'évolution des contrastes diélectriques en fonction de la fréquence est présentée sur la Fig. 5.19.

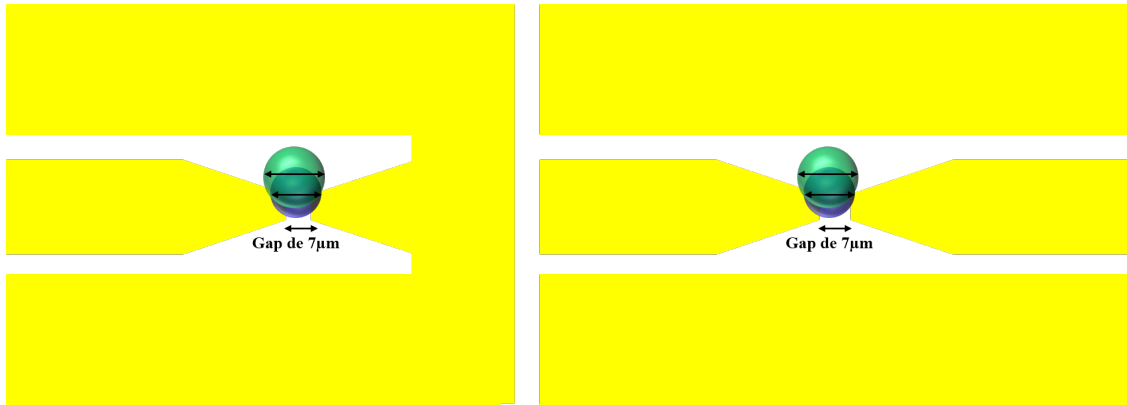
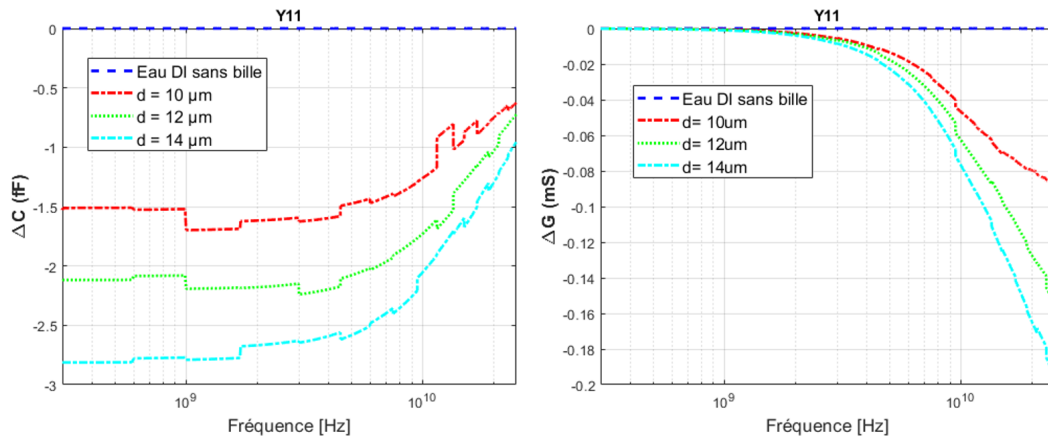
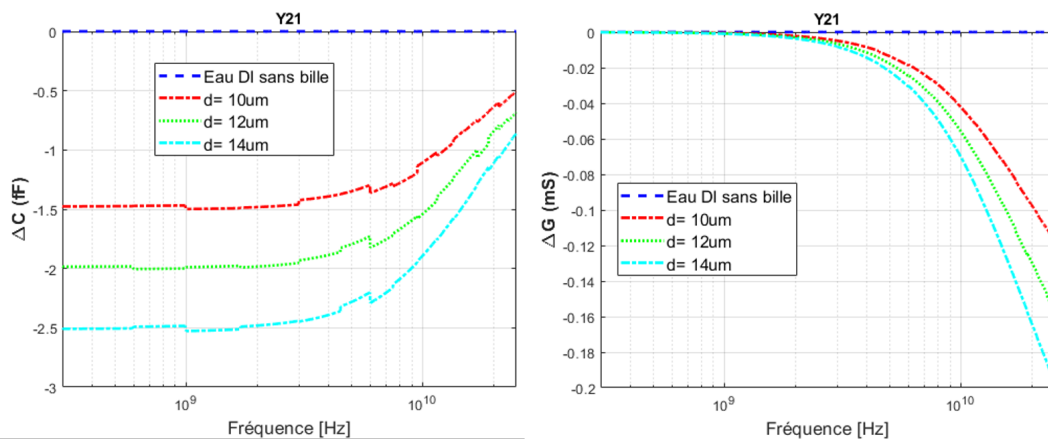


Figure 5.18 – Représentation schématique de changement du diamètre d'une particule placée au-dessus du gap capacitif de détection.



(a) Capteur CPW-CR



(b) Capteur CPW-CT

Figure 5.19 – Effet du diamètre de la bille de polystyrène sur les contrastes ΔC et ΔG dans les deux cas : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT

On voit que ces contrastes augmentent lorsque le volume de la bille augmente, ce qui était attendu. Par exemple, nous pouvons observer que le contraste ΔC détectable à 1 GHz pour une bille de diamètre 14 μm vaut 2,5 fF tandis qu'il n'est que de 1,5 fF pour une bille de 10 μm . De même à 25 GHz, on obtient un contraste ΔG de 0,2

mS pour une bille de 14 μm contre 0,12 mS pour une bille de 10 μm . Consécutivement, lorsque le diamètre de la particule piégée augmente, la variation de la proportion de champ électrique en interaction bille/champ à l'intérieur des billes est plus faible et donc, les variations relatives de caractéristiques diélectriques intracellulaires sont moins marquées. Cette étude confirme l'intérêt de travailler avec un gap adapté à la taille des particules à analyser.

Cette étude montre que les contrastes de ΔC et ΔG issus de notre spectroscopie hyperfréquence sont fortement dépendants de la largeur de la capacité d'analyse et du diamètre de la particule piégée. Ainsi, la diminution du gap de la capacité de détection ainsi que l'augmentation de la taille de la bille piégée résultent en une augmentation des contrastes diélectriques.

Par ailleurs, pour évaluer la sensibilité de notre capteur par rapport à la position verticale de la particule, différentes positions de bille de 10 μm de diamètre placée au-dessus de la zone de détection ont été simulées comme l'illustre la Fig. 5.20.

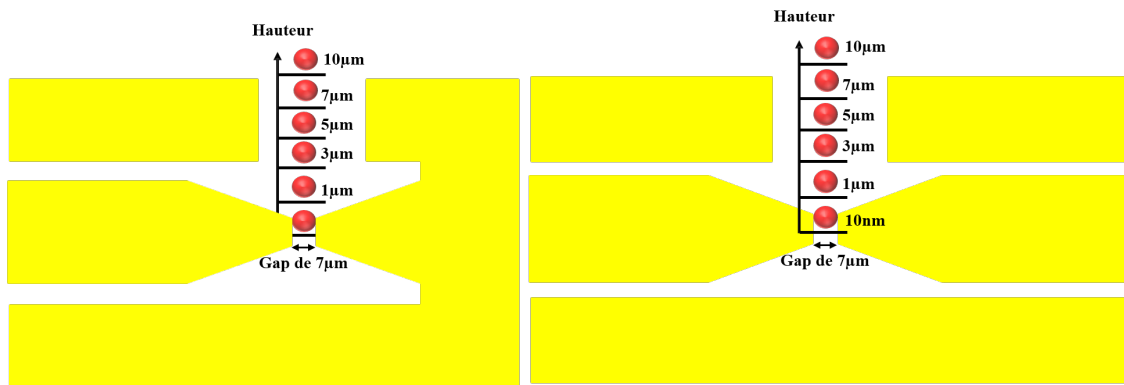


Figure 5.20 – Représentation des différentes positions simulées pour une bille de polystyrène.

Dans cette étude, nous avons utilisé les mêmes électrodes que dans les simulations précédentes (gap de 7 μm) et nous avons calculé les valeurs des contrastes pour une bille de polystyrène de diamètre 10 μm placée à différentes hauteurs H par rapport au substrat au-dessus de la zone d'interaction optimale avec le champ électrique. La Fig. 5.21 montre la variation de ces contrastes en fonction des différentes positions pour la même permittivité. Nous pouvons bien observer que les contrastes diminuent lorsque la bille s'éloigne du centre de la zone capacitive. La courbe en rouge sur la Fig. 5.21 montre la variation de la valeur des contrastes diélectriques en fonction de la fréquence par rapport à la première position qui correspond au cas idéal où l'interaction bille / champ électromagnétique est maximale, à savoir $H = 10 \text{ nm}$. D'après cette figure, il existe une limite à partir de laquelle la perturbation sur la réponse en réflexion ou transmission du capteur devient négligeable et n'est plus détectable. Cela correspond à la limite pour laquelle la bille n'interagit plus suffisamment avec la zone de fort champ électromagnétique. A partir d'une hauteur de 10 μm du centre du gap, la perturbation induite devient difficilement détectable par la simple mesure de paramètres $[S]$ (courbe bleue).

La méthode de caractérisation diélectrique des matériaux à partir du coefficient de réflexion S_{11} ou de transmission S_{21} a été mise en œuvre pour la mesure de permittivité complexe de liquides dans les chapitres précédents. Cependant, comme vu aux chapitre 2 et chapitre 3, paragraphe III, cette technique peut être également utilisée pour mesurer la permittivité diélectrique de l'ensemble "milieu hôte + cellule" d'après l'éq. (5.3) :

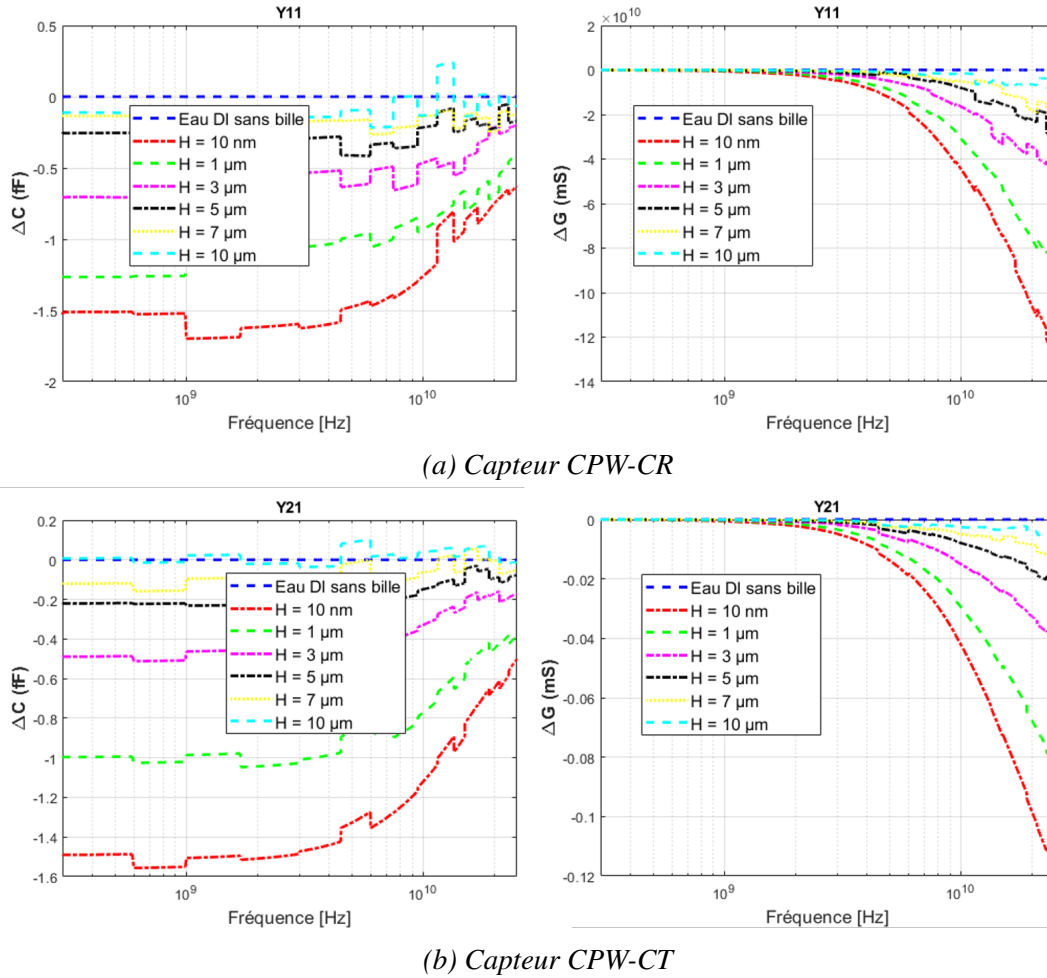


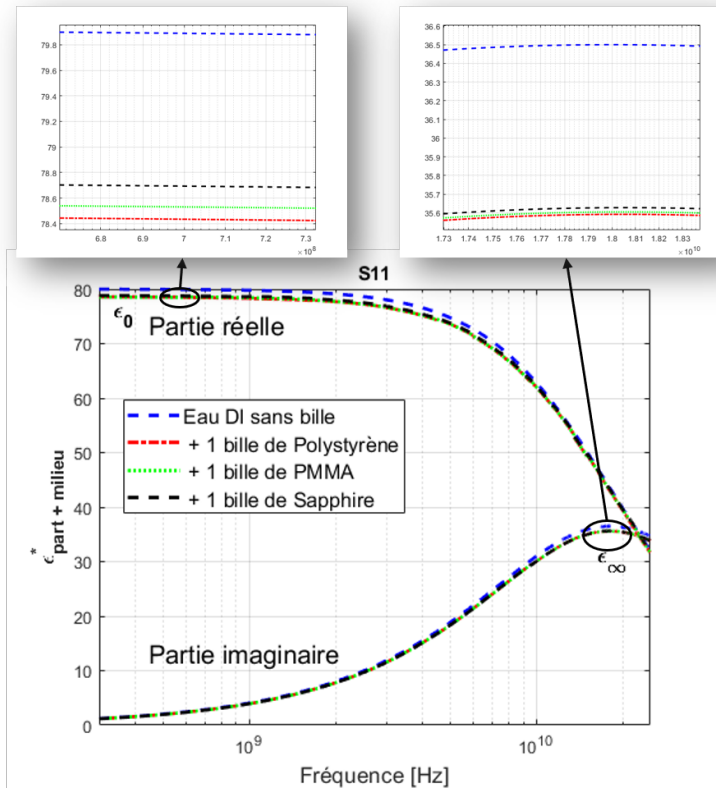
Figure 5.21 – Contrastes diélectriques en fonction de la position verticale de la bille.

$$\varepsilon_{mes, Part+milieu}^* = \frac{x_1 S_{ij}^{Part+milieu} - x_2}{x_3 - S_{ij}^{Part+milieu}} \quad (5.3)$$

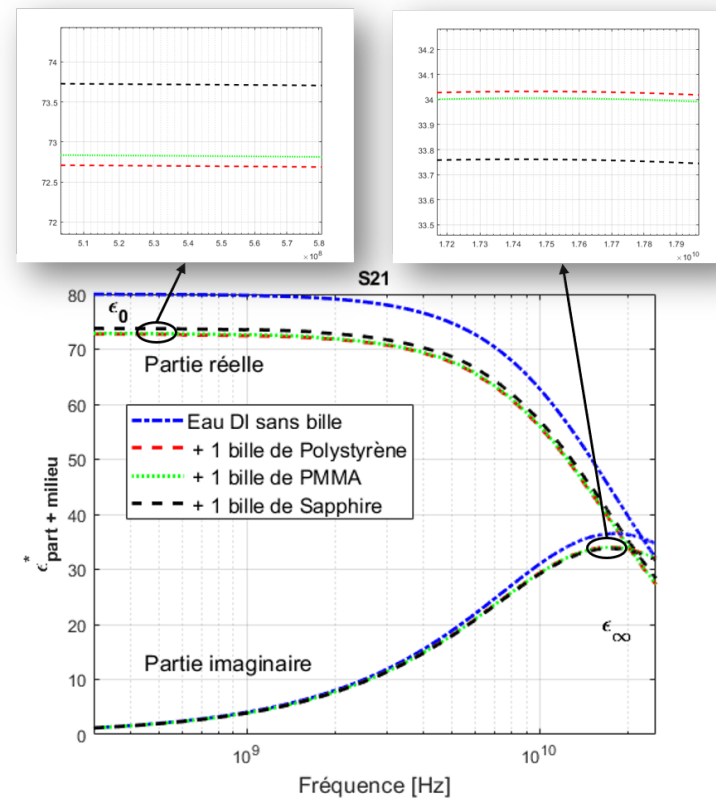
$i = j = 1$ dans le cas de mesure en réflexion et, $i = 2$ et $j = 1$ dans le cas en transmission.

Rappelons que les coefficients complexe x_i peut être calculé par un calibrage avec au moins trois milieux de référence bien connus dans la littérature (air, eau DI, acétone, par exemple). La permittivité globale de l'ensemble « milieu hôte + cellule » estimée à partir de S_{11} (obtenu avec CPW-CR) ou de S_{21} (obtenu avec CPW-CT) est donnée sur la Fig. 5.22 suivante. La courbe bleue représente les valeurs de la permittivité complexe de l'eau DI sans particule. On observe qu'il existe un décalage significatif et distinct entre la permittivité de référence et celle estimée en présence des particules de propriétés diélectriques différentes dans la zone de détection. Ces résultats permettent de confirmer la sensibilité de notre capteur pour ce type d'application.

En utilisant les résultats des simulations précédentes, la même étude a été réalisée pour évaluer la performance de notre biocapteur en utilisant la méthode d'extraction de la permittivité à partir des coefficients de réflexion ou transmission (voir section III des chapitre 2 et chapitre 3). La permittivité diélectrique complexe de l'ensemble « milieu hôte + une bille de polystyrène » extraite dans ce cas est présentée ici.



(a) Capteur CPW-CR



(b) Capteur CPW-CT

Figure 5.22 – Spectre de permittivité complexe d'un ensemble « milieu hôte + particule » obtenu avec (a) CPW-CR et (b) CPW-CT. Les capteurs ont un gap de $7 \mu\text{m}$ et la bille est placée à une hauteur de 200 nm au-dessus du centre du gap.

La Fig. 5.23 montre la variation de la permittivité globale du mélange en fonction du diamètre de la bille placée dans la zone de détection. Comme nous pouvons le voir sur cette figure, la permittivité complexe diminue quand le diamètre augmente. Comme déjà constaté, cette quantité dépend des propriétés diélectriques des constituants, ainsi que de leurs fractions volumiques respectives c'est-à-dire de la taille de la bille.

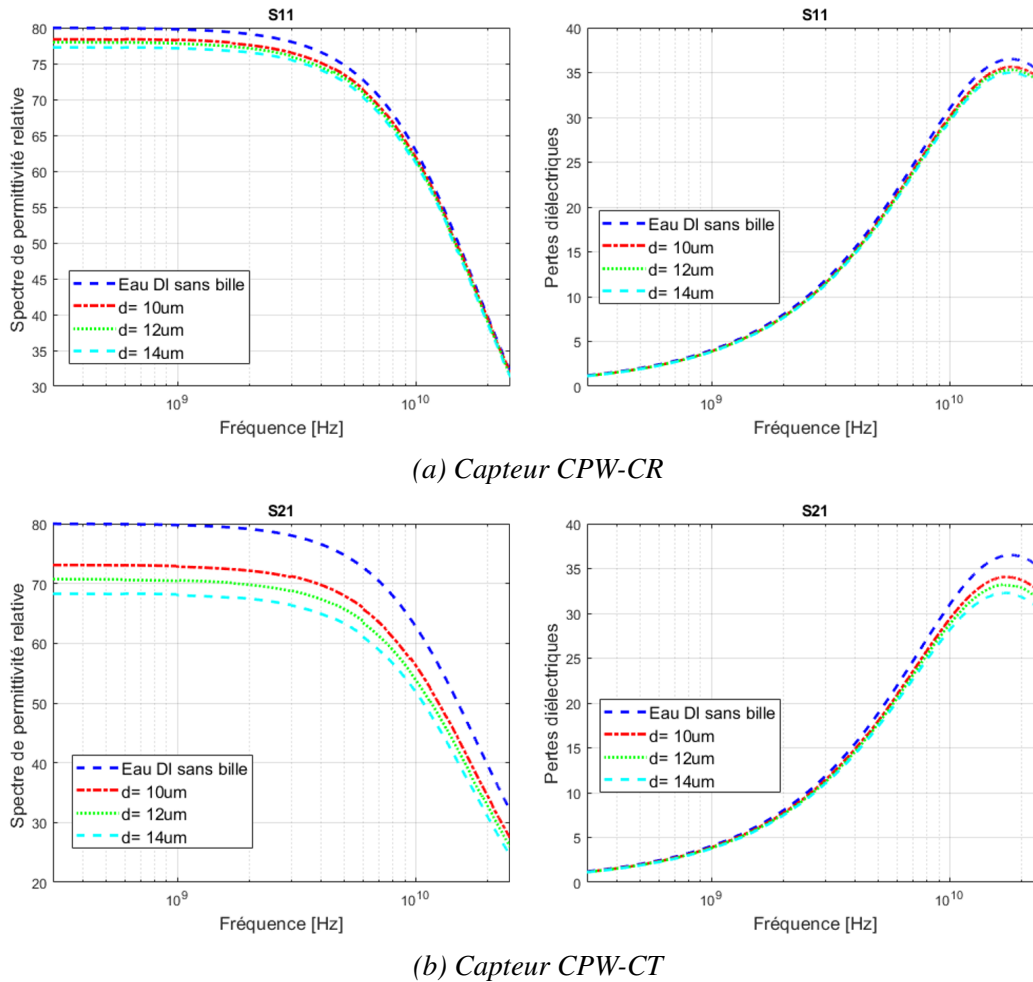


Figure 5.23 – Spectre de la permittivité complexe d'un « milieu hôte + particule » extraite en fonction du diamètre de la bille : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT.

De même, à partir de la perturbation introduite sur les paramètres de réflexion ou de transmission du biocapteur, nous avons évalué l'évolution de la permittivité globale du capteur chargé avec de l'eau DI et avec une bille dans l'eau DI placée à différentes hauteurs. Cela permet d'apprécier la marge d'erreur sur la détermination des propriétés diélectriques d'une particule en fonction de sa position au moment de la mesure des paramètres [S] du biocapteur. La Fig. 5.24 montre les parties réelle et imaginaire des contrastes de permittivité complexe estimée $\Delta\epsilon^* = \epsilon_{milieu+part}^* - \epsilon_{milieu}^*$ dans les différents cas de simulation.

On voit que les valeurs de la permittivité globale sur la bande étudiée se rapprochent des valeurs de permittivité présentées par le capteur dont le canal est uniquement rempli d'eau lorsque la bille s'éloigne du centre de la zone capacitive. En réflexion, à partir de 5 μm de hauteur, la permittivité globale du capteur est quasiment confondue avec celle

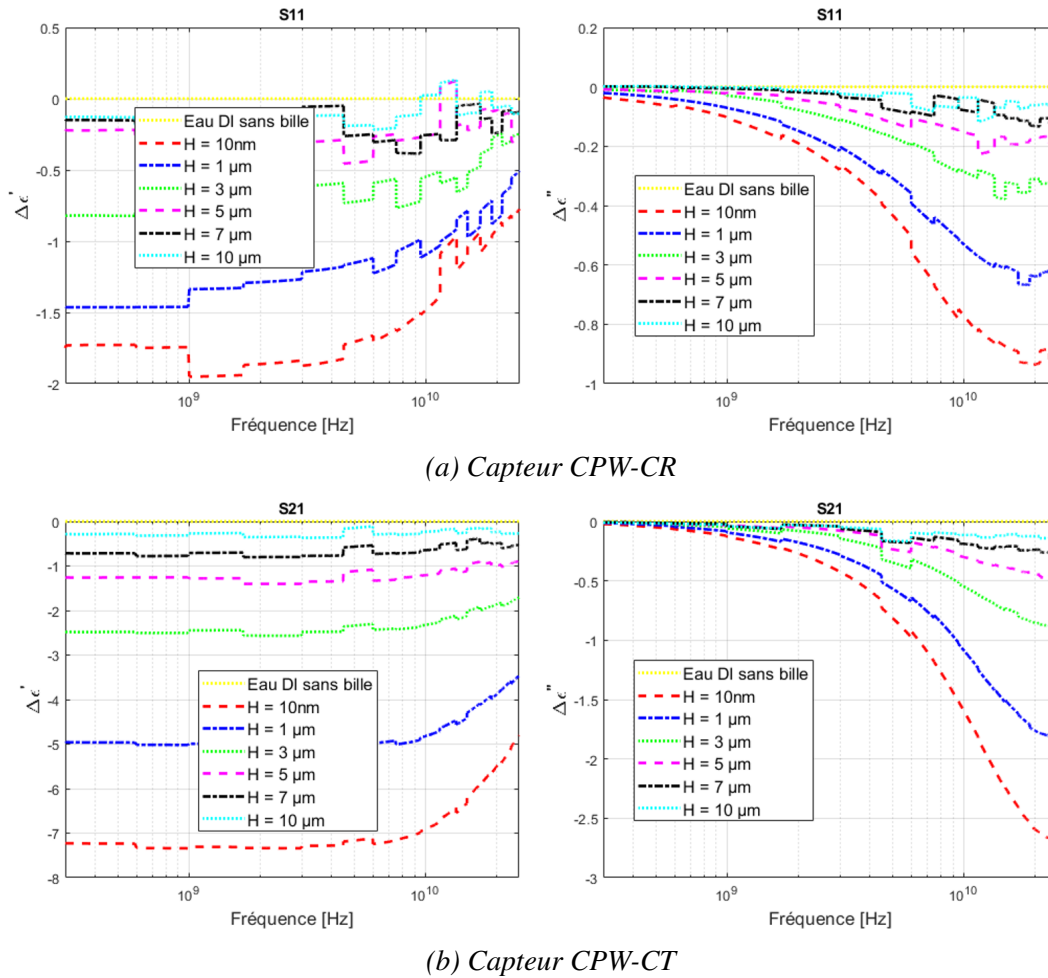


Figure 5.24 – Contraste de permittivité complexe extraite en fonction de la position verticale de la bille : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT.

du capteur sans particule. Et dès la hauteur 7 μm , il semble difficile de pouvoir assurer la détection de la présence de la particule et sa caractérisation en présence de potentielles perturbations. Les écarts sont en revanche plus marqués avec les mesures en transmission.

D'après ces études, au-delà d'une simple détection de la présence d'une particule dans la zone d'analyse du biocapteur, pour extraire les propriétés diélectriques de la particule, il est donc indispensable de positionner la particule au plus près du centre du gap.

Par ailleurs, grâce à l'éq. (5.4) suivante, il est possible d'extraire la permittivité complexe de la cellule piégée dans son milieu hôte :

$$\varepsilon_{mes,milieu+part}^* = A * \varepsilon_{Part}^* + (1 - A) * \varepsilon_{milieu}^* \quad (5.4)$$

Pour calculer le coefficient A, une première étape de calibrage est nécessaire avec une bille (de polystyrène par exemple) dont les propriétés diélectriques sont connues.

En raison des contraintes technologiques et des coûts de fabrication, deux largeurs de 7 μm et 10 μm du gap capacitif ont été retenues pour les structures réalisées afin de maximiser les contrastes diélectriques des mesures.

Ce paragraphe a présenté les résultats numériques d'analyse par spectroscopie HF de particules individuelles telle que le polystyrène. Ces résultats sont capitaux pour nos travaux de recherche car ils démontrent que nous sommes capables de caractériser des

cellules vivantes dans leur milieu de culture grâce aux dispositifs et aux techniques d'extraction de permittivité diélectrique développés.

5.4 Expérimentations

Dans un premier temps, pour valider notre banc expérimental, nous avons choisi le capteur interdigité en réflexion pour réaliser des expérimentations sur des billes de polystyrène et de PMMA suspendues dans un milieu de suspension aqueux. Ce capteur a été étudié dans le chapitre 3 de ce manuscrit. Pour évaluer numériquement la fonctionnalité de ces biocapteurs, la Fig. 5.25 montre la structure simulée en présence de huit billes diélectriques de diamètre $10\ \mu\text{m}$ avec leur emplacement dans la zone de détection.

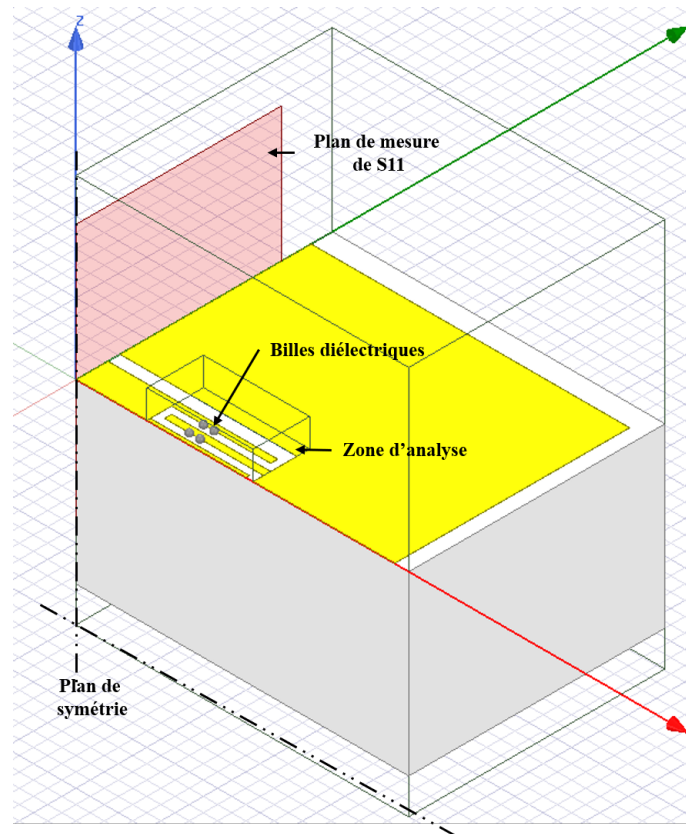


Figure 5.25 – Structure du capteur CPW-IDR sous-pointes simulées sur HFSS en présence des billes diélectriques. Par raison de symétrie par rapport au plan xOz , seule la moitié de la structure est représentée.

La Fig. 5.26 représente l'évolution des parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe en fonction de la fréquence avec uniquement le milieu hôte puis en présence des billes diélectriques de deux types.

Les résultats des simulations présentées sur cette figure montrent que notre biocapteur interdigité permet de détecter la présence des particules (cellules) en induisant un décalage des parties réelle et imaginaire de la permittivité. Ces résultats de simulation montrent l'évolution de la variation des parties réelle et imaginaire de la permittivité du matériau

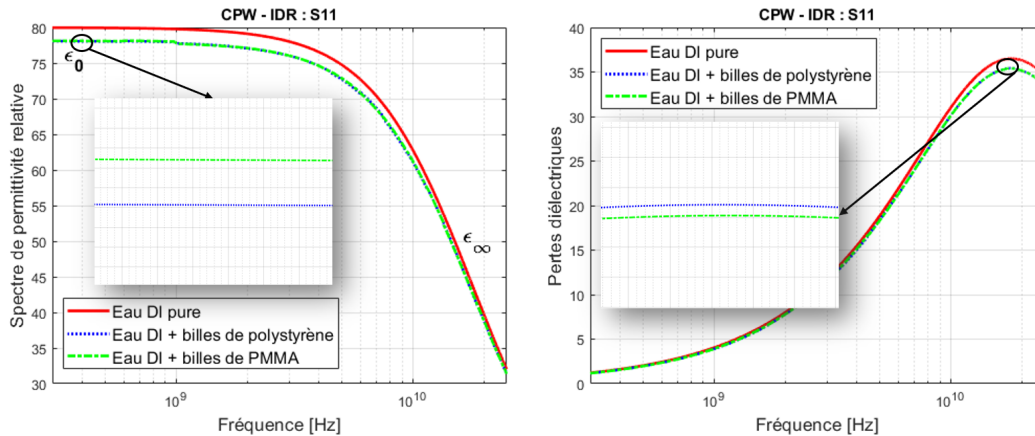


Figure 5.26 – Spectre de permittivité complexe d'un « milieu hôte + particule » diélectrique obtenu de simulation du Capteur CPW-IDR.

équivalent dans le canal microfluidique. Par exemple, à 1 GHz, l'insertion de huit billes de polystyrène de permittivité 2,6 génère un décalage de la partie réelle de la permittivité de 2,5%

Pour évaluer expérimentalement la sensibilité du biocapteur en présence des particules dans la zone de détection, nous avons choisi de travailler avec des microsphères de polystyrène présentant un diamètre de 20 μm et de PMMA de diamètre de 10 μm . Ces dimensions sont comparables à la taille des cellules biologiques. Tout d'abord, une mesure avec trois milieux de calibration a été faite (air, eau déionisée, acétone). Ensuite, des microbilles en suspension dans l'eau sont injectées par un pousse seringue dans le canal comme le montre la Fig. 5.27.

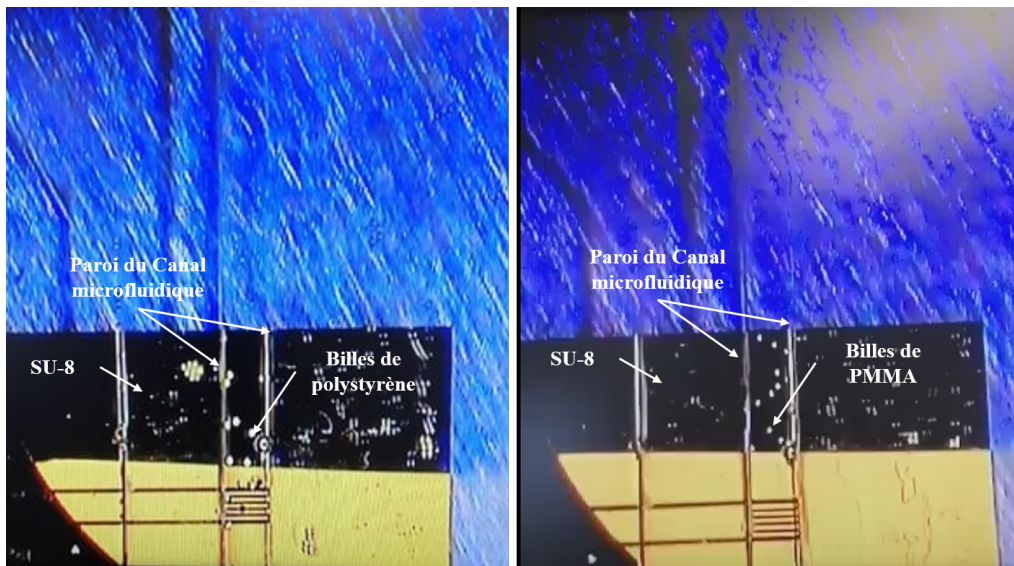


Figure 5.27 – Photographie des billes de polystyrène et de PMMA présentes dans la zone de détection du capteur interdigité sous-pointes en réflexion CPW-IDR.

L'intérêt d'utiliser ces particules est multiple : (i) leurs propriétés diélectriques sont uniformes et bien connues, (ii) elles sont très bien calibrées en taille et s'adaptent à des structures miniatures, (iii) elles n'ont pas besoin d'une préparation préalable et (iv) la

mise en œuvre de l'expérimentation est simplifiée par rapport à la mesure de cellules biologiques.

Les paramètres [S] du capteur sont mesurés et enregistrés. La mesure des paramètres S du dispositif à l'aide du VNA nécessite un étalonnage préalable du banc de mesure. Une méthode de type SOLT a été choisie. Un court-circuit (Short), un circuit ouvert (Open), une charge adaptée (Load) et une ligne de transmission sont successivement placés sous les pointes de mesure pour ramener les plans de mesure au niveau des extrémités des lignes d'accès coplanaires. Une représentation dans le plan complexe des coefficients de réflexion S_{11} mesurés à l'issue de cette phase de calibrage est présentée sur la Fig. 5.28.

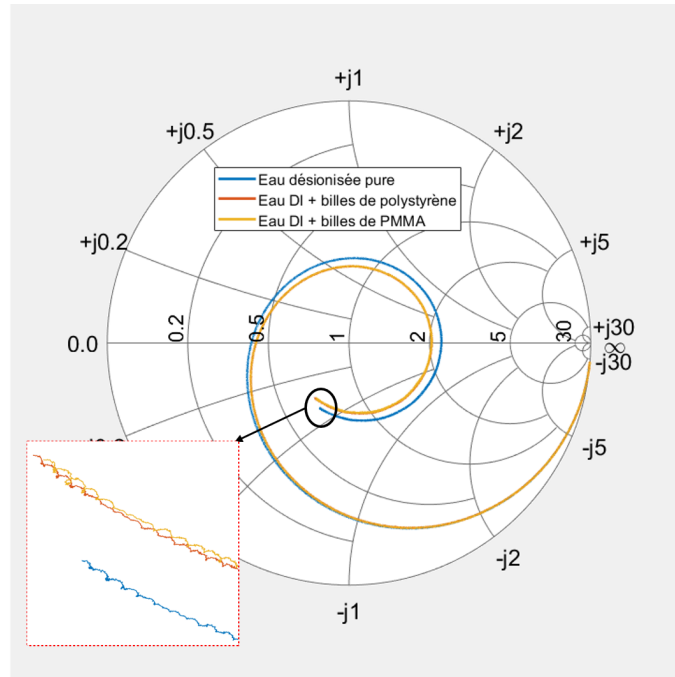


Figure 5.28 – Représentation du coefficient de réflexion S_{11} dans le plan complexe avec le capteur interdigité en réflexion CPW-IDR.

La Fig. 5.29 montre l'évolution des parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe du milieu fluide/billes présent dans le canal microfluidique obtenues par extraction à partir des coefficients de réflexion mesurés.

Dans un deuxième temps, nous avons évalué ce biocapteur en le mesurant en présence d'un nombre des billes de polystyrène bien connus dans la zone de détection : une bille, deux billes, trois billes, puis il est mesuré lorsque le canal est totalement rempli par des billes comme le montre la Fig. 5.30.

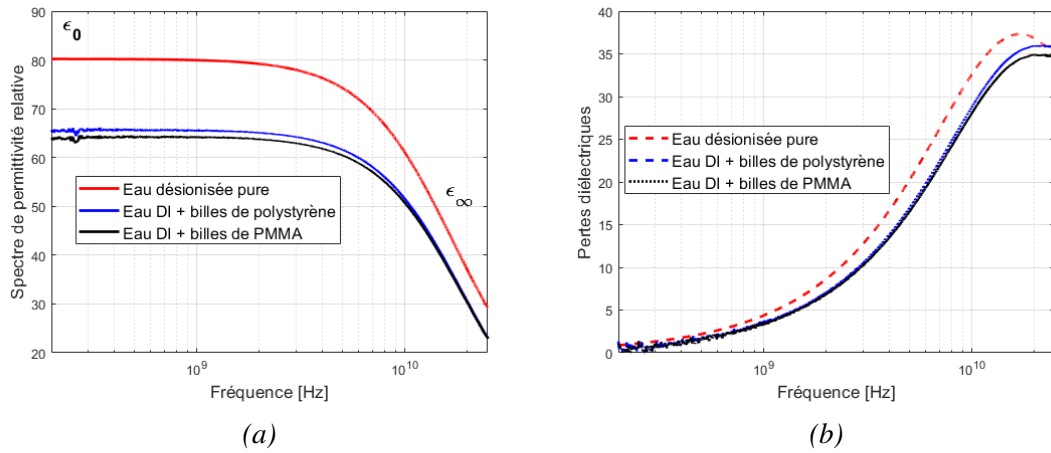


Figure 5.29 – Evolution de la partie réelle (a) et imaginaire (b) de la permittivité complexe des fluides/billes présents dans le canal microfluidique.

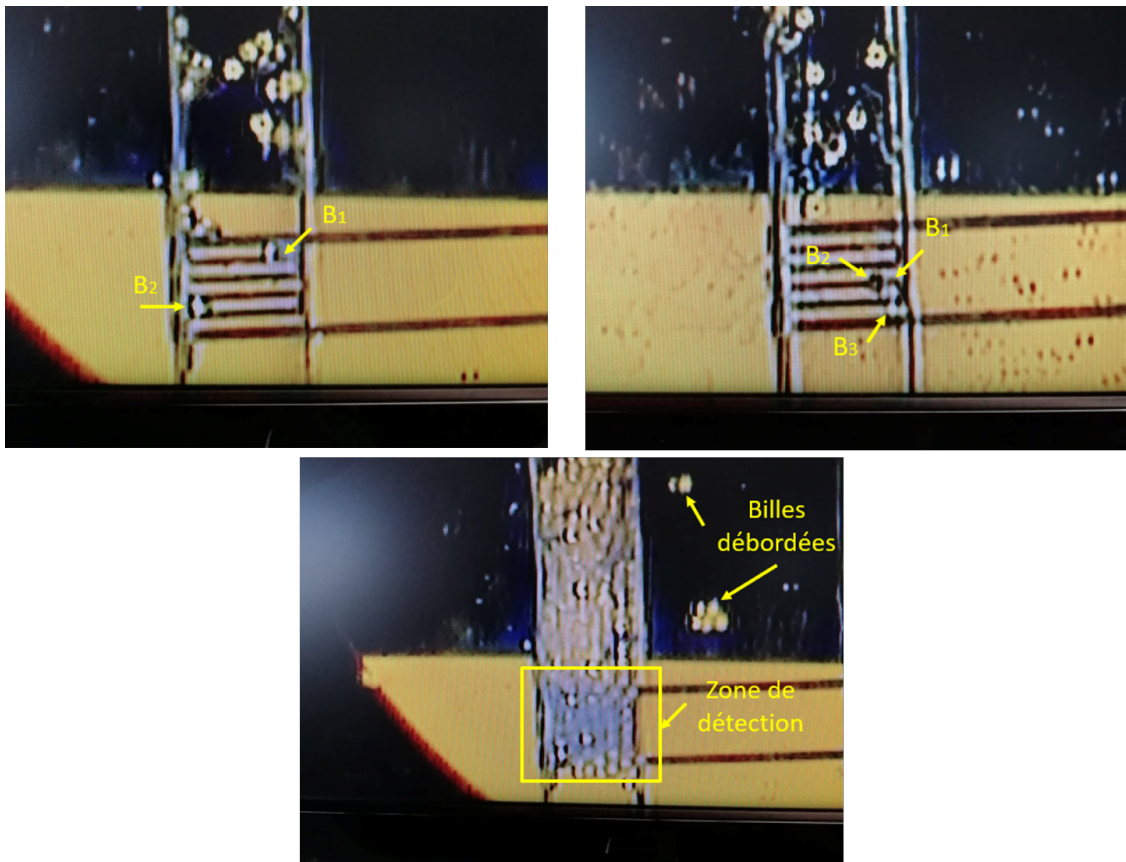


Figure 5.30 – Photographies des billes de polystyrène piégées dans la zone de détection. Le biocapteur CPW-IDR est utilisé pour la mesure sous-pointes.

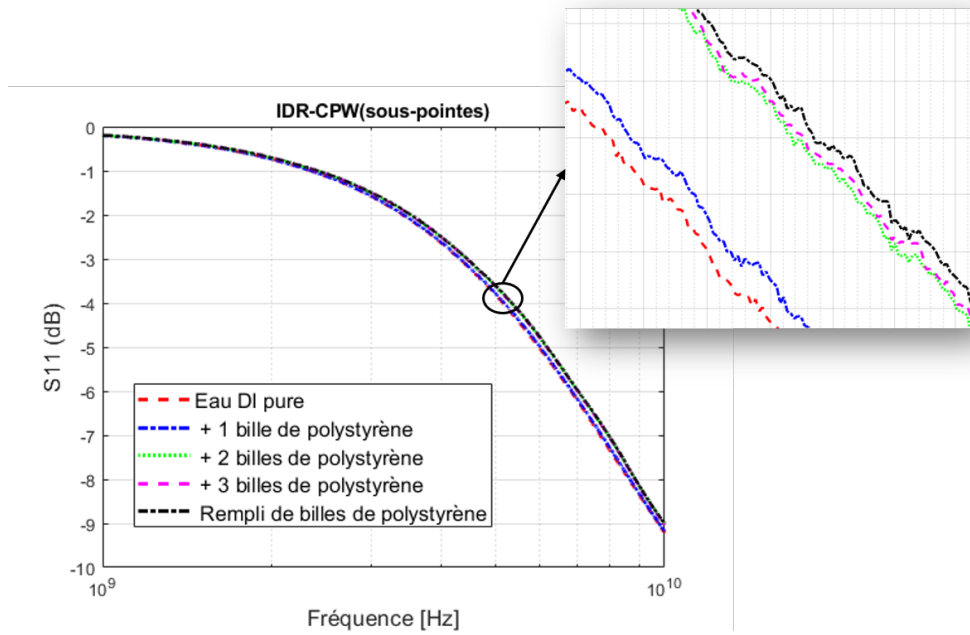


Figure 5.31 – Paramètres de réflexion S_{11} mesurés à l'entrée du Capteur CPW-IDR.

Les amplitudes des paramètres de réflexion S_{11} mesurés dans la bande fréquentielle allant de 1 GHz jusqu'à 10 GHz sont présentées sur la Fig. 5.31. La courbe rouge décrit la réflexion à l'entrée du biocapteur lorsque le canal microfluidique est rempli d'eau DI (c'est-à-dire sans billes). Les autres courbes présentent la réponse en réflexion à l'entrée du capteur lorsque le canal contient des billes. Ces mesures ont été faites dans les mêmes conditions. La Fig. 5.31 représente les écarts de coefficient de réflexion S_{11} (en dB) mesuré à l'entrée du biocapteur.

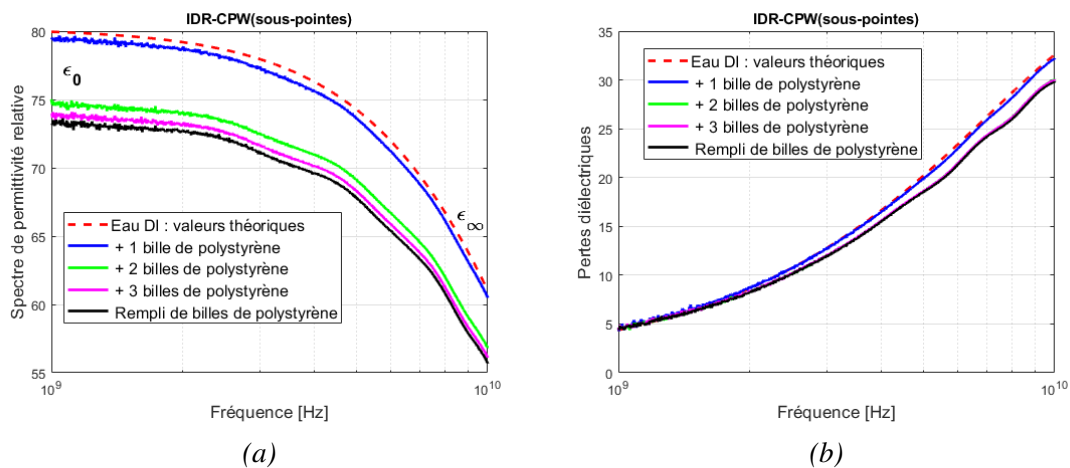


Figure 5.32 – Parties réelle (a) et imaginaire (b) de la permittivité complexe globale obtenue en présence des billes diélectriques dans la zone de détection. Mesure effectuée avec le biocapteur CPW-IDR.

La Fig. 5.32 présente la partie réelle et la partie imaginaire de la permittivité relative complexe mesurée du milieu fluide/billes présent dans le canal microfluidique. Lorsque les microbilles arrivent dans la zone sensible, la permittivité complexe globale

du milieu diminue car la permittivité de la bille, plus faible, diminue la capacité de bout du capteur.

La courbe bleue présente la permittivité globale mesurée lorsqu'une seule cellule est présente dans la zone sensible de détection. Un écart de 0,8% est obtenu par rapport au milieu hôte (l'eau désionisée), ce qui correspond à un écart de 0,5 de permittivité relative. Cela signifie que notre biocapteur est capable de détecter la présence d'une seule particule lorsqu'elle est dans la zone de caractérisation. Ainsi, nous pouvons observer un écart significatif des permittivités complexes entre le milieu hôte et la présence des billes et ceci suivant leur nombre : 6,2% pour deux billes, 7,4% pour 3 billes et 8,4% pour un grand nombre de billes.

Cependant, on voit que la courbe rose, qui correspond à la présence de 3 billes, et la courbe noire, qui correspond à la mesure avec beaucoup de billes, sont proches. Cela signifie que ces billes n'ont pas toutes la même influence et ceci vient certainement du fait qu'elles ne sont pas situées à la même hauteur dans le microcanal. En effet, l'étude faite dans le paragraphe . 5.3 de ce chapitre montre l'effet de la hauteur de la bille sur les paramètres mesurés.

En exploitant la méthode de de-embedding proposée dans le chapitre précédent, nous avons extrait les contrastes capacitif et de conductance pour les 5 manipulations. Le résultat de cette expérience est montré sur la Fig. 5.33.

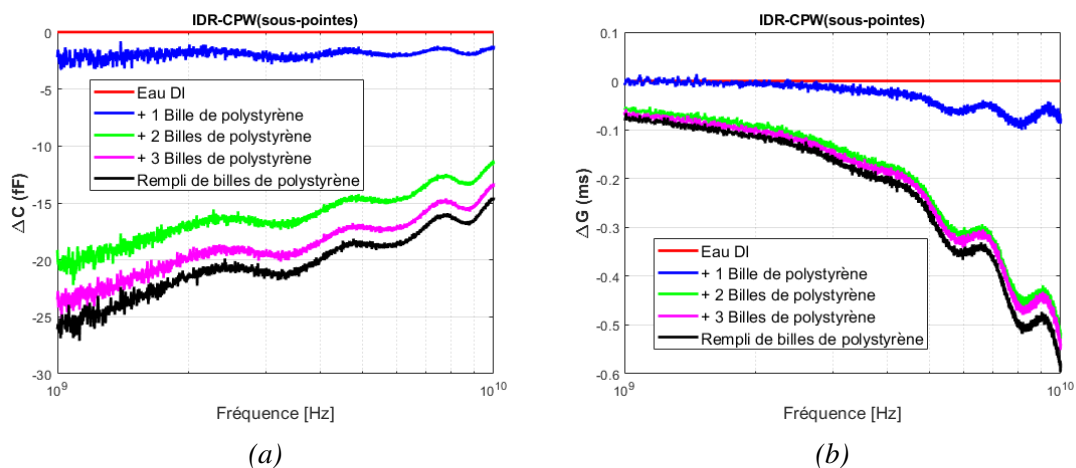


Figure 5.33 – Contraste capacitif ΔC (a) et conductif ΔG (b) entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence des billes diélectriques dans la zone de détection. Mesure effectuée avec le biocapteur CPW-IDR.

Les écarts capacitif et de conductance obtenus à basse fréquence sont résumés dans le tableau suivant :

L'introduction de ces différentes billes dans le canal microfluidique modifie la permittivité complexe du milieu hôte à l'intérieur du canal. Ces variations de caractéristiques diélectriques du milieu de propagation de l'onde électromagnétique perturbent donc la réponse en réflexion du biocapteur. Cette perturbation des paramètres S est engendrée par une variation de la capacité globale au bout du capteur. Comme le montrent les Figs. 5.29 et 5.32, les parties réelle et imaginaire de la permittivité globale du milieu avec billes varient de manière similaire à celles de l'eau déionisée, en fonction de la fréquence. Toutefois, lorsque la fraction volumique des billes augmente dans le mélange, la capacité du capteur diminue puisque la permittivité du mélange eau + billes diminue (voir Fig. 5.23).

Tableau 5.3 – Ecart capacitif et de conductance obtenus à 1GHz :

Nombre de billes	Ecart en % de ΔC	Ecart en ΔC	Ecart en % de ΔG	Ecart en ΔG
1 bille	0,64%	2,58 fF	0,3%	4,8 μS
2 billes	5,00%	20,00 fF	3,8%	56,6 μS
3 billes	5,90%	23,67 fF	4,3%	63,4 μS
> 50 billes	6,40%	26,00 fF	5,2%	77,8 μS

Nous avons étudié de même le cas en transmission, avec le capteur interdigité sous-pointes en transmission CPW-IDT que nous avons simulé sur HFSS avec deux particules de polystyrène de diamètre 20 μm placées dans la zone active du biocapteur (Fig. 5.34). Le spectre de la permittivité complexe globale de l'eau DI + particules est présenté de 300 MHz jusqu'à 25 GHz sur la Fig. 5.35. La Fig. 5.35a présente le spectre global obtenu à partir du coefficient de transmission S_{21} et la Fig. 5.35b présente celui obtenu à partir du coefficient de réflexion S_{11} conformément aux eqs.(3.15) et (3.20) respectivement.

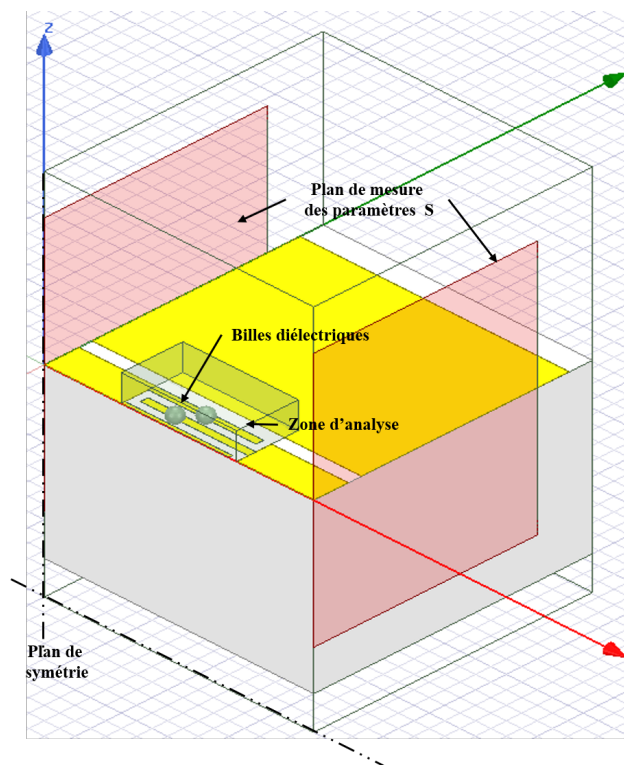


Figure 5.34 – Structure du capteur CPW-IDT sous-pointes simulées sur HFSS en présence de 4 billes diélectriques. Bande fréquentielle 300 MHz – 25 GHz.

Cette structure a été mesurée sur la bande de fréquences allant de 1 GHz à 10 GHz. La permittivité globale de l'eau déionisée contenant quatre billes de polystyrène de diamètre 20 μm , Fig. 5.36, a été mesurée.

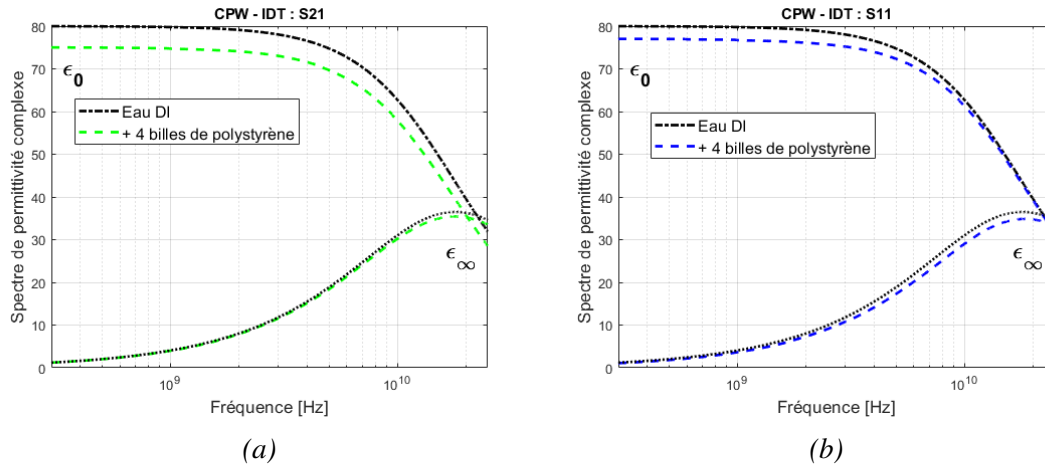


Figure 5.35 – Spectre de permittivité complexe issu des simulations du capteur CPW-IDT en présence de 4 billes diélectriques.



Figure 5.36 – Photographie de quatre billes de polystyrène piégée dans la zone de détection. Le biocapteur CPW-IDT est utilisé pour la mesure sous-pointes.

Les coefficients de transmission obtenus par simulation et mesure en présence des billes au-dessus de la capacité interdigitée sont présentés dans le plan complexe sur la Fig. 5.37. On voit bien sur l'Abaque de Smith la différence de positionnement entre les coefficients S_{21} en fonction de la valeur de la permittivité globale estimée. Nous remarquons que, lorsque la permittivité globale diminue (en présence de billes), la réponse dans le plan complexe se rapproche du cercle unitaire, ce qui est en concordance avec la simulation.

Ces résultats expérimentaux obtenus avec ce capteur sont ensuite exploités pour calculer les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe globale à partir des paramètres S mesurés. Les résultats sont présentés sur la Fig. 5.38.

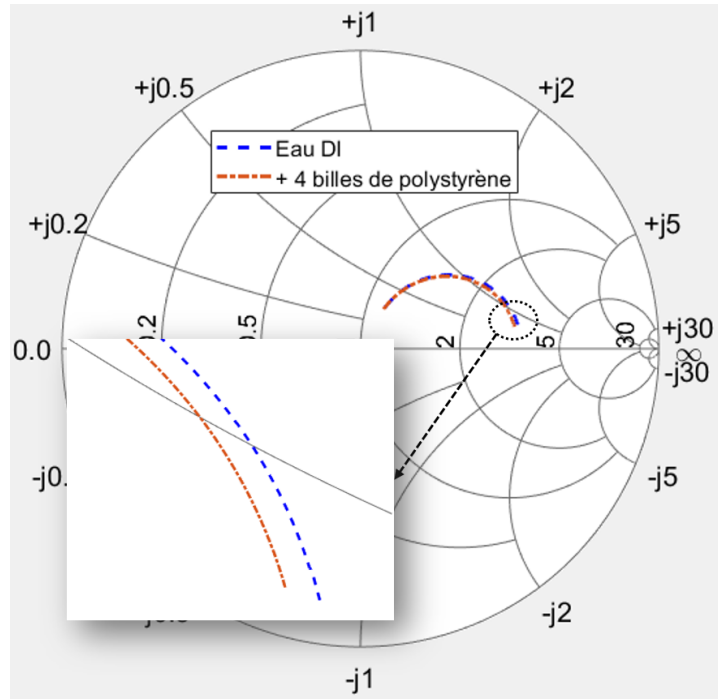
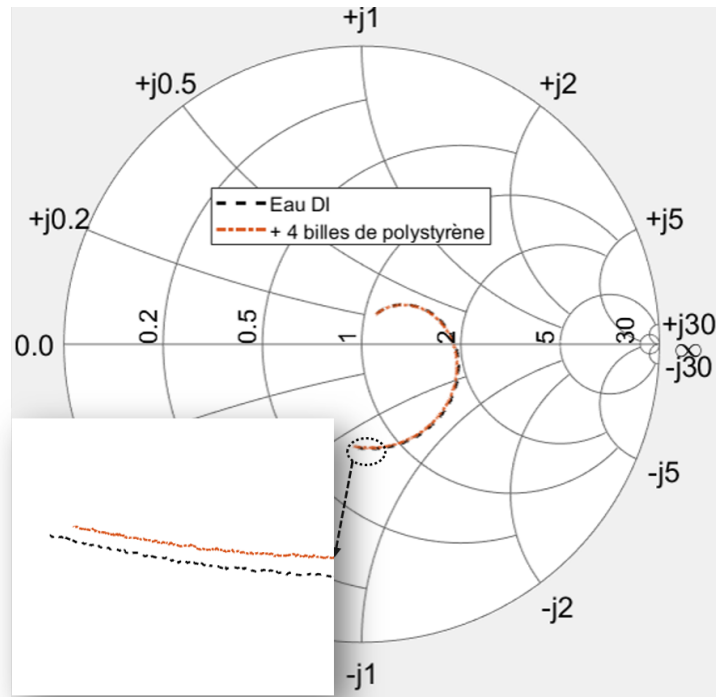
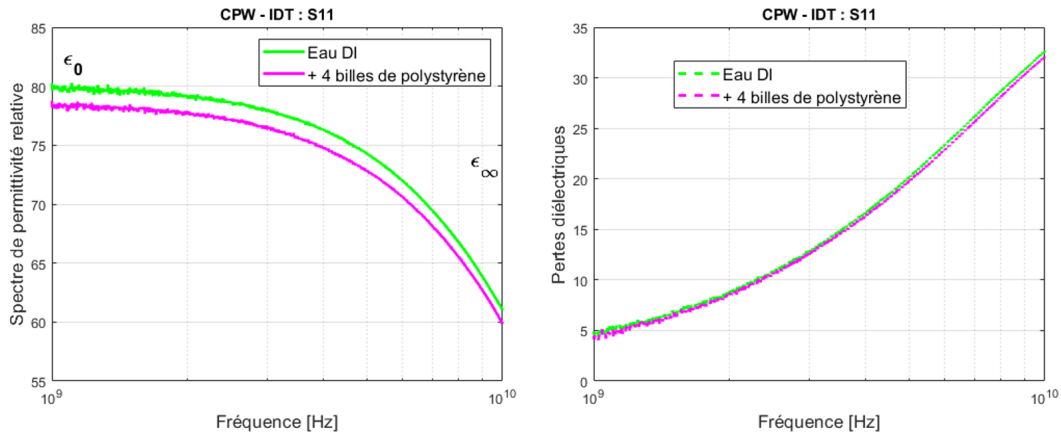
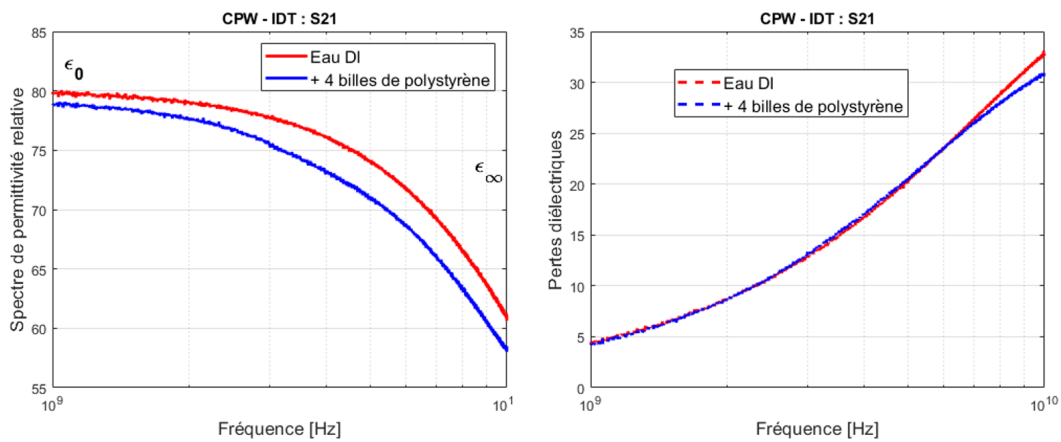
(a) S_{21} obtenus de simulation(b) S_{21} obtenus de mesure

Figure 5.37 – Représentation, dans le plan complexe, des coefficients de transmission en présence et en absence des billes diélectriques dans la zone active de détection.

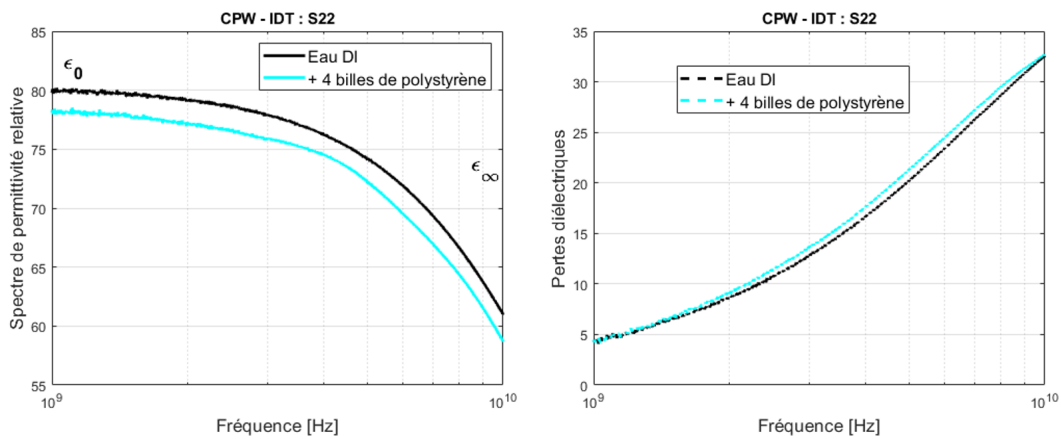
Ensuite, le procédé de de-embedding a été appliqué pour calculer la capacité $C_{\text{fluide+billes}}^T$ et la conductance $G_{\text{fluide+billes}}^T$ en présence des billes diélectriques dans la zone de détection et les comparer avec C_{fluide}^T et G_{fluide}^T associées au milieu hôte seul. Les résultats



(a) Spectres obtenus à partir de S_{11} : partie réelle (gauche) et partie imaginaire (droite)



(b) Spectres obtenus à partir de S_{21} : partie réelle (gauche) et partie imaginaire (droite)

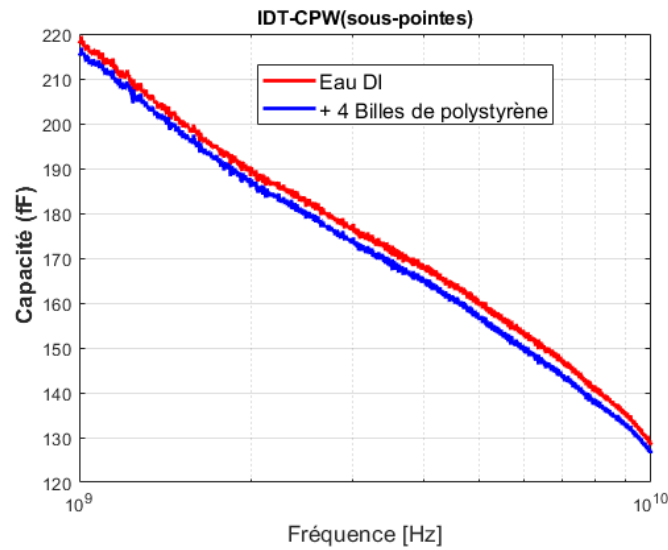


(c) Spectres obtenus à partir de S_{22} : partie réelle (gauche) et partie imaginaire (droite)

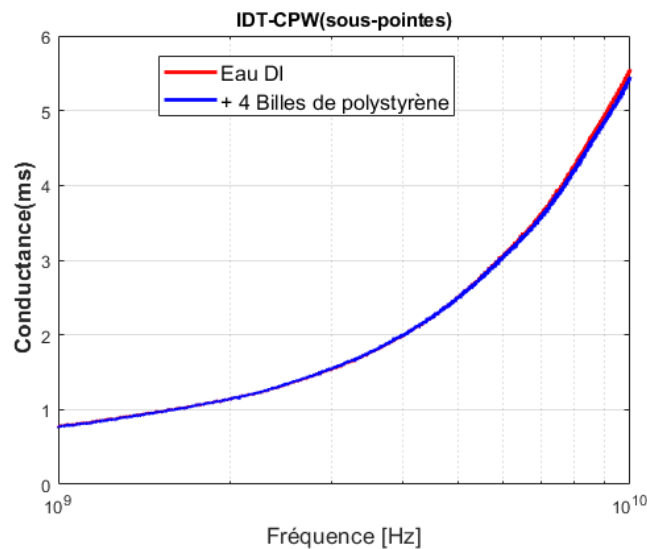
Figure 5.38 – Spectres de permittivité complexe obtenus à partir de mesures avec le capteur CPW-IDT en présence de 4 billes diélectriques.

sont présentés sur la Fig. 5.39. Nous pouvons observer un écart significatif entre le milieu hôte seul et en présence de quatre billes de polystyrène. Par exemple, nous avons un écart capacitif de 1,3% correspondant à 2,75 fF et un écart de conductance de 0,92% correspondant à 7,6 μ S à 1GHz. L'écart de conductance augmente jusqu'à 0,1 mS à 10 GHz. Cette variation de capacité et de conductance permet clairement de détecter la présence

des particules dans l'eau lors de leur passage au travers de la zone capacitive avec un contraste capacitif moyen de 2,5 fF sur toute la bande fréquentielle.



(a) Comparaison entre $C_{\text{fluide+billes}}^T$ et $C_{\text{fluide+billes}}^T$



(b) Comparaison entre $G_{\text{fluide+billes}}^T$ et $G_{\text{fluide+billes}}^T$

Figure 5.39 – Comparaison, en fonction de la fréquence, entre les valeurs de la capacité et de la conductance pour de l'eau DI et l'eau DI + 4 billes diélectriques.

Nous avons vu que les tests de sensibilité réalisés avec les billes de polystyrène ont montré des performances intéressantes en accord avec ce que nous attendions. Ce résultat confirme que notre biocapteur, avec les méthodes de caractérisation proposées, peut être utilisé pour effectuer un suivi en temps réel de cellules uniques d'une manière non-invasive et non-destructive.

Dans la partie précédente, nous avons validé les performances de notre capteur interdigité, en le mesurant chargé d'eau DI et avec des billes diélectriques. Nous avons ensuite extrait les parties réelle et imaginaire de la permittivité complexe du mélange «Eau DI + billes» en fonction de la fréquence de 40 MHz à 25 GHz, et avons comparé ces résultats à ceux obtenus par des simulations faites sous HFSS. Les résultats nous montrent un bon

accord entre les mesures et les simulations et valident la fabrication et le bon fonctionnement du biocapteur, ainsi que les simulations prédictives effectuées.

5.5 Conclusion

Après avoir discuté des différentes contraintes imposées par le développement d'un dispositif de caractérisation diélectrique large bande de milieux liquides, nous avons présenté dans ce chapitre les choix des différentes structures que nous avons réalisées pour mettre au point un ou des capteurs de permittivité performants. La technologie des lignes de transmission coplanaires a été choisie, cette filière technologique permettant la réalisation de circuits métallisés hyperfréquences sur substrat en verre avec des canaux fluidiques entièrement obtenus par des techniques de fabrication standard accessibles dans la salle blanche de l'ESIEE-Paris. Concernant la répartition du champ électrique générée dans cette structure, nous observons qu'une forte intensité de champ est bien localisée dans le gap situé entre les électrodes qui se font face, de sorte que cette zone est celle où la cellule devra être localisée.

Deux systèmes de piégeage d'une cellule unique ont également été présentés. Un premier dispositif de piégeage assure la capture d'une cellule grâce à la force hydrodynamique tandis qu'un deuxième dispositif repose sur l'utilisation de la diélectrophorèse ou DEP. La cellule piégée peut être libérée après la mesure. Nous avons étudié et développé également des nouveaux principes et méthodes de mesure. L'extraction de la permittivité est faite en exploitant les coefficients de réflexion ou de transmission mesurés via un analyseur de réseau vectoriel, ou sur l'admittance qui en est déduite. Ainsi, au cours de ce dernier chapitre, nous avons démontré que notre biocapteur de spectroscopie diélectrique HF est capable de déterminer si une cellule est présentée dans la zone sensible de détection.

En conclusion, dans ce chapitre de thèse, nous avons démontré que l'approche par spectroscopie diélectrique hyperfréquence associée aux microtechnologies permet une analyse de cellules individualisées. C'est une technique efficace pour analyser des cellules vivantes et discriminer l'état de viabilité cellulaire en temps réel, de manière non-invasive et de produire des données expérimentales de qualité reflétant les propriétés diélectriques de cellules individualisées. Il est également possible d'analyser des cellules mortes et soumises à différents traitements thermiques et chimiques et/ou électriques et cela permet ainsi d'enrichir la vision que les biologistes peuvent avoir des cellules. En effet, les cellules mortes ou souffrantes possèdent généralement une membrane altérée, et elles deviennent alors perméables aux échanges entre le contenu de la cellule et son milieu extérieur. Ainsi, si le milieu intracellulaire s'échappe complètement et s'il est remplacé par le milieu extracellulaire, les différences entre les deux milieux disparaissent et par conséquent, il y a un fort changement de propriétés diélectriques dans le cas de cellules mortes.

Bibliographie

- [1] J.Zhao, Cell individuality : A basic multicellular phenomenon and its role in the pathogenesis of disease, *Medical Hypothese*, 44, 400-402 ; 1995.
- [2] Hber R 1910 Eine Methode die elektrische Leitfaehigkeit im Innern von Zellen zu messen *Arch. Ges. Physiol.* 133 237–59
- [3] Hber R 1912 Ein zweites Verfahren die Leitfaehigkeit im Innern von Zellen zu messen *Arch. Ges. Physiol.* 148 189–221
- [4] Hber R 1913 Messungen der inneren Leitfaehigkeit von Zellen III *Arch. Ges. Physiol.* 150 15–45
- [5] Fricke H 1924 A mathematical treatment of the electrical conductivity of colloids and cell suspensions *J. Gen. Physiol.* 6 375–84
- [6] Fricke H 1924 A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems : I. The electric conductivity of a suspension of homogeneous spheroids *Phys. Rev.* 24 575–87
- [7] Fricke H 1924 The electric conductivity of disperse systems *J. Gen. Physiol.* 6 741–6
- [8] Fricke H and Morse S 1925 An experimental study of the electrical conductivity of disperse systems : I. Cream *Phys. Rev.* 25 361–7
- [9] Fricke H 1925 A mathematical treatment of the electric conductivity and capacity of disperse systems : II. The capacity of a suspension of conducting membrane for a current of low frequency *Phys. Rev.* 26 678–81
- [10] Fricke H 1925 The electric capacity of suspensions of a red corpuscles of a dog *Phys. Rev.* 26 682–7
- [11] Fricke H 1925 The electric capacity of suspensions with special reference to blood *J. Gen. Physiol.* 9 137–52
- [12] Fricke H 1925 The electric resistance and capacity of blood for frequencies between 800 and 4.5 million cycles *J. Gen. Physiol.* 9 153–67
- [13] Fricke H 1931 The electric conductivity and capacity of disperse systems *Physics* 1 106–15
- [14] Maxwell J C 1954 *A Treatise on Electricity and Magnetism* (New York : Dover)
- [15] Fricke H and Curtis H J 1935 The electric impedance of hemolyzed suspensions of mammalian erythrocytes *J. Gen. Physiol.* 18 821–36
- [16] Cole K S 1928 Electric impedance of suspensions of spheres *J. Gen. Physiol.* 12 29–36
- [17] Cole K S 1928 Electric impedance of suspensions of Arbacia eggs *J. Gen. Physiol.* 12 37–54

-
- [18] Cole K S 1932 Electric phase angle of cell membranes *J. Gen. Physiol.* 15 641–9
- [19] Cole K S 1935 Electric impedance of Hippoⁿo^e eggs *J. Gen. Physiol.* 18 877–87
- [20] Cole K S and Cole R H 1936 Electric impedance of Asteria eggs *J. Gen. Physiol.* 19 609–23
- [21] Cole K S and Cole R H 1936 Electric impedance of Arbacia eggs *J. Gen. Physiol.* 19 625–32
- [22] Curtis H J and Cole K S 1937 Transverse electric impedance of Nitella *J. Gen. Physiol.* 21 189–201
- [23] Cole K S and Curtis H J 1938 Electric impedance of single marine eggs *J. Gen. Physiol.* 21 591–9
- [24] Schwan H P 1999 The practical success of impedance techniques from a historical perspective *Ann. N.Y. Acad. Sci.* 873 1-12
- [25] Schwan H P 1957 Electrical properties of tissue and cell suspensions *Adv. Biol. Med. Phys.* 5 147–209
- [26] Schwan H P 1963 Electrical properties of tissue and cell suspensions *Physical Techniques in Biological Research* ed W L Nastuk (New York : Academic) 6 323–406
- [27] Pethig R and Kell D B 1987 The passive electrical properties of biological systems : their significance in physiology, biophysics and biotechnology *Phys. Med. Biol.* 32 933–70
- [28] Foster K R and Schwan H P 1989 Dielectric properties of tissues and biological materials : A Critical Review *Critical Rev. Biomed. Eng.* 17 25–104
- [29] Jones T B 1995 *Electromechanics of Particles* (Cambridge : Cambridge University Press)
- [30] Zimmermann U, Friedrich U, Mussauer H, Gessner P, Hamel K and Sukhorukov V 2000 Electromanipulation of mammalian cells : fundamentals and application *IEEE Trans. Plasma Sci.* 28 72–82
- [31] Grimnes S and Martinsen Ø G 2000 *Bioimpedance Bioelectricity and Basics* (New York : Academic)
- [32] Gascoyne P R C and Vykoukal J 2002 Particle separation by dielectrophoresis *Electrophoresis* 23 1973–83
- [33] Asami K 2002 Characterization of heterogeneous systems by dielectric spectroscopy *Prog. Polym. Sci.* 27 1617–59
- [34] Morgan H and Green N G 2003 *AC Electrokinetics : Colloids and Nanoparticles* (Baldock, Hertfordshire, England : Research Studies Press Ltd.)
- [35] Feldman Yu, Ermolina I and Hayashi Y 2003 Time domain dielectric spectroscopy study of biological systems *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insul.* 10 728–53
- [36] Weaver J C 2003 Electroporation of biological membranes from multicellular to nano scales *IEEE Trans. Dielectr. Electr. Insula* 10 754–768
- [37] K'owino I O and Sadik O A 2005 Impedance spectroscopy : A powerful tool for rapid biomolecular screening and cell culture monitoring *Electroanalysis* 17 2101–13

Conclusion générale et perspectives

Ces travaux de thèse se placent dans le contexte du développement d'une technique et d'une technologie de caractérisation par spectroscopie diélectrique hyperfréquence de liquides et de particules à l'échelle micrométrique. Cette technique est basée sur le couplage de capteurs hyperfréquences avec la technologie microfluidique. L'objectif est d'aboutir à de la spectroscopie diélectrique de liquides et de microparticules dans le domaine hyperfréquence en visant l'analyse à l'échelle de la cellule unique. Les bio-capteurs conçus lors de ces travaux de thèse ont été basés sur des lignes coplanaires fonctionnant aux fréquences microondes. Le concept de détection des différents capteurs utilisés repose sur le changement produit par la présence de l'échantillon liquide ou micro-sphérique sur la réponse RF du dispositif (en transmission ou en réflexion) qui peut être exploité pour extraire la valeur de la permittivité complexe de l'échantillon. Ce type de capteur hyperfréquence pourrait par exemple être utilisé pour l'analyse de petits volumes de liquide ainsi que pour le suivi non-invasif et en temps réel de l'évolution cellulaire. Il permettrait d'analyser une ou plusieurs particules, et notamment des cellules biologiques, dans leur milieu de culture sans les dénaturer, et ceci sans contact entre le détecteur et l'échantillon, ni préparation spécifique au préalable ou marquage des cellules. Ces capteurs permettent aussi une intégration simple au sein d'un réseau microfluidique et sont compatibles pour envisager un « laboratoires sur puce » qui exploiterait cette technique d'analyse.

Dans la première partie de ce manuscrit, nous avons présenté l'état de l'art sur les méthodes d'analyse de milieux fluidiques et de cellules, avec une mise en lumière des méthodes électriques et notamment dans le domaine des hyperfréquences. Nous avons montré l'intérêt de travailler dans la gamme des hyperfréquences pour l'analyse de cellules biologiques car elles permettent d'une part de pénétrer à l'intérieur de la cellule pour étudier le contenu intracellulaire et donc de discriminer les cellules entre elles et d'autre part, les longueurs d'ondes associées, grâce à l'évolution des microtechnologies, permettent de fabriquer des dispositifs miniaturisés assurant des analyses cellulaires jusqu'à l'échelle de la cellule unique.

Après avoir étudié un système macroscopique qui nous a permis de mettre en place la méthodologie d'extraction des paramètres, la deuxième partie du travail a été consacrée à la spectroscopie diélectrique de milieux fluidiques de volumes microscopiques où un microsystème de spectroscopie diélectrique hyperfréquence de liquides a été conçu et son fonctionnement validé. L'obtention d'un tel microsystème nécessite à la fois la conception électromagnétique du circuit hyperfréquence de détection des variations de permittivité dans sa zone sensible, l'implémentation d'un système microfluidique sur le circuit RF par des microtechnologies, et le développement d'une méthode d'extraction des paramètres électriques recherchés. Nous avons présenté l'architecture de nos microcomposants et les procédés de microfabrication mis en œuvre au sein de la plateforme technologique de l'ESIEE-Paris. Après avoir caractérisé numériquement le principe de fonctionnement des dispositifs hyperfréquences, nous avons démontré expérimentalement la bonne sensibi-

lité de détection de notre biocapteur, le grand potentiel de discrimination de solutés en solution aqueuse, ainsi que la fiabilité et la pertinence de la technique d'identification diélectrique par spectroscopie diélectrique.

Il est donc possible, de détecter et d'analyser une très faible concentration de cellules et de discriminer des états biologiques à l'échelle des cellules et non plus des tissus. Ainsi, la première génération de bio-capteurs développée dans ces travaux à partir d'une ligne coplanaires micro-ondes a permis de démontrer la faisabilité de la méthode de détection proposée.

En exploitant pleinement les capacités de miniaturisation de la microtechnique, nous avons dans un second temps adapté ces dispositifs à l'analyse d'une seule cellule. Outre l'étude paramétrique de la sensibilité de détection du biocapteur, nous avons également abordé les aspects hydrodynamiques de la capture cellulaire dans les microcanaux. Deux systèmes de piégeage ont été proposés pour assurer la capture d'une cellule unique : un piège hydromécanique et un piège diélectrophorétique. Nous avons ainsi travaillé sur la conception et le développement de nouveaux dispositifs hyper-fréquences, toujours basés sur une ligne coplanaire, de façon à augmenter la sensibilité de mesure, au travers de l'amélioration du couplage champ électrique/échantillon, mais aussi pour accroître la sensibilité de détection des propriétés du milieu intra cellulaire. Nous avons montré que la spectroscopie diélectrique peut être utilisée pour mesurer les propriétés diélectriques de cellules individuelles sur une large gamme de fréquences en vue d'aider au diagnostic. Nous avons ainsi pu expérimentalement démontrer, via des mesures avec de billes diélectrique de polystyrène dans de l'eau DI, une très forte corrélation entre les résultats de spectroscopie HF et les résultats issus des simulations électromagnétiques. Les résultats expérimentaux présentés dans le dernier chapitre de ce manuscrit montrent qu'il est possible d'extraire les paramètres diélectriques des cellules analysées et en particulier leur permittivité relative complexe. Ces études ouvrent également des perspectives pour la spectroscopie hyperfréquence de cellules biologiques uniques.

Après avoir validé les approches d'extraction de permittivité complexe et des contrastes des milieux proposées dans ce manuscrit, et démontrer, par des simulations numériques et mesures, que les biocapteurs que nous avons conçus et fabriqués pendant ces trois ans de travail ont des bonnes performances et précisions et sont capables de mesurer la permittivité d'un tel milieu fluide inconnu circulant dans le microcanal, les résultats innovants obtenus montrent une sensibilité intéressante qui ouvre des perspectives intéressantes en termes de spectroscopie large-bande pour la caractérisation non-invasive et en temps réel de cellules biologiques.

Dans un premier temps, nous pouvons voir comment exploiter ces différents biocapteurs pour des applications à l'analyse des milieux biologiques pouvant contenir quelques cellules biologiques et les caractériser en temps réel sans contact de manière non invasive et non destructive et sans d'utiliser des marqueurs. Dans un deuxième temps, nous pouvons utiliser les dispositifs sous-pointes, interdigités et ceux qui sont dédiés à la caractérisation large-bande d'une seule cellule, pour une spectroscopie cellulaire. Ceci nous permettra d'extraire les paramètres diélectriques intracellulaires des cellules uniques dans leur milieu hôte et de discriminer les cellules entre elles. Ainsi, la comparaison entre les différents biocapteurs et méthodes d'extraction nous permet d'obtenir plus précisément les caractéristiques physiques d'un échantillon sous test en fonction de la fréquence, ce qui ouvre des perspectives pour des applications de criblage pharmaceutique.

Malgré les bonnes performances offertes par la structure interdigité en matière de dé-

tection de la présence de billes et d'extraction des propriétés du mélange, l'utilisation de ce capteur reste complexe. En effet, pendant les mesures il est difficile d'éviter que des billes ne viennent se fixer sur les bords des électrodes. C'est pourquoi, nous avons opté pour d'autres structures qui permettent de réduire cet effet dans l'optique d'une différenciation entre une cellule saine et une cellule pathologique.

Rappelons que ces structures sont données et étudiées en détail dans le paragraphe III de ce chapitre. Cette structure proposée correspond à un capteur en pointe obtenu par le rétrécissement progressif du ruban signal et de deux plans de masse qui se situent symétriquement de part et d'autre du conducteur central (Figs. 5.7 et 5.8). Au centre de ce dernier se situe un piège en SU-8 qui permet de capturer une cellule unique et de la positionner au-dessus du gap capacitif de détection. Cette structure (CPW-R ou CPW-T) est capable de générer un champ électrique non uniforme qui sera déformé une fois que la cellule présente. Un exemple d'un capteur fonctionnant en réflexion est présenté sur la Fig. 5.40 suivante. La Fig. 5.41 présente un capteur pour des mesures en transmission.

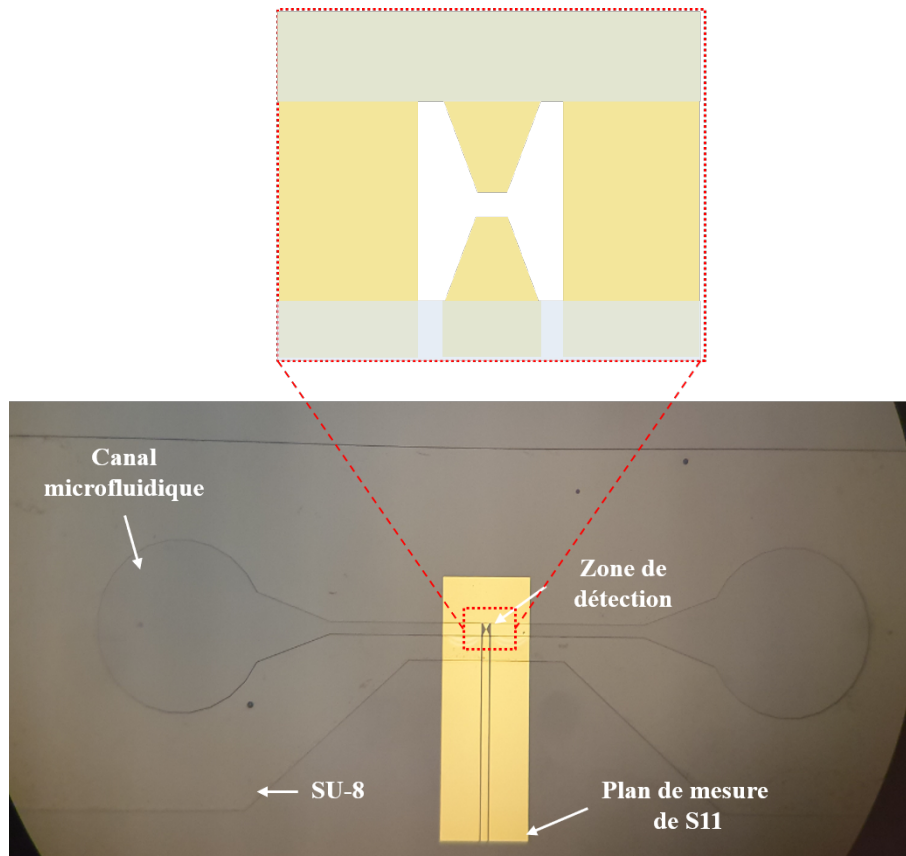


Figure 5.40 – Capteur CPW- CR de caractérisation cellulaire en réflexion.

Dans un premier temps, il conviendrait de tester le bon fonctionnement des deux pièges fabriqués, et la sensibilité de ses deux capteurs à la présence d'un élément piégé. Ceci pourrait tout d'abord être effectué à l'aide de micro-billes comme celles utilisées dans ce travail, en raison de la connaissance précise de leurs propriétés, avant d'envisager des tests avec des cellules biologiques. Pour cette dernière étape, un rapprochement avec des biologistes sera nécessaire afin de choisir des cellules adéquates et de les tester dans de bonnes conditions.

Par ailleurs, en vue de la conception d'un laboratoire sur puce fiable, l'utilisation

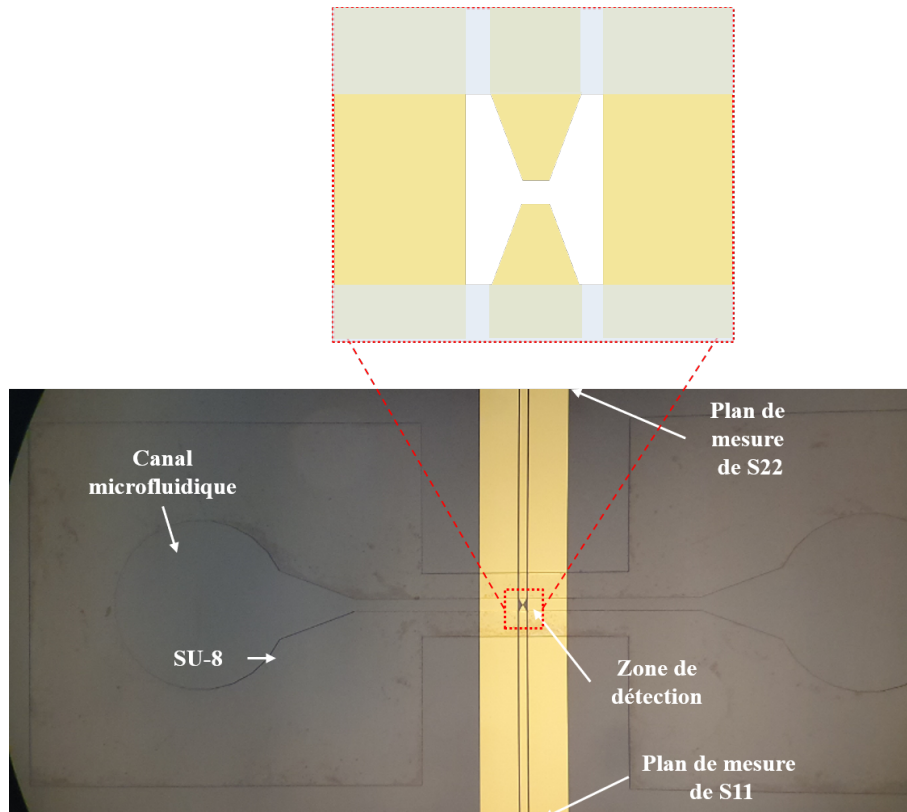


Figure 5.41 – Capteur CPW- CT de caractérisation cellulaire en transmission.

conjointe de capteurs micro-fluidiques résonants pourrait être envisagés. En effet, ils permettent d'atteindre une bonne sensibilité mais souffrent de ne donner accès aux propriétés diélectrique du milieu qu'à leur fréquence de résonance ; ces propriétés sont donc complémentaires au fonctionnement large bande de nos dispositifs et leur utilisation conjointe permettrait une analyse plus précise et fiables des milieux testés.

Table des figures

1.1	Les différentes bandes du spectre électromagnétique.	8
1.2	Les micro-ondes dans le spectre électromagnétique vont de 300 MHz (1m) à 300 GHz (1mm) [8]. Des micro-ondes sont présentes dans : (a) l'univers entier, une vue micro-ondes capturée par le satellite Planck de l'Agence spatiale européenne [23]; b) la technologie numérique [24,25]; c) l'utilisation biomédicale [26]; d) les télécommunications; e) le développement des villes intelligentes [22] et f) l'infrastructure et réseaux, détection de fuite, etc.	9
1.3	Les micro-ondes pour interroger les capteurs magnétiques à micro-fils implantés chez les patients afin de suivre la récupération postopératoire [13]. L'émetteur-récepteur abrite à la fois la source et le détecteur micro-ondes.	10
1.4	Imagerie médicale par IRM (gauche), Résonance de spins de protons en présence du champ magnétique externe (droite).	10
1.5	Rayonnements émis lors de l'utilisation d'un téléphone portable, (b) Augmentation de température marquée près de la zone où la personne tient son portable.	11
1.6	Application des micro-ondes dans le domaine du génie civil et de l'infrastructure et réseau : a) La corrosion de béton, b) La corrosivité des sols, c) Les ouvrages hydrauliques.	13
1.7	Illustration du mécanisme fondamental de la réflectométrie : réflexion d'une onde plane à l'interface entre l'air et un milieu diélectrique semi-infini.	14
1.8	Polarisation d'un milieu diélectrique par un champ électrique.	15
1.9	Evolution de la permittivité complexe en fonction de la fréquence [47].	17
1.10	La polarisation dipolaire dans la bande fréquentielle micro-onde [50,52,52].	17
1.11	Configuration de mesure pour une ligne de transmission [54,55].	19
1.12	Schéma d'un banc de mesure en espace libre [59].	19
1.13	Configuration de la sonde diélectrique (Agilent) [67].	20
1.14	Dispositif proposé par G.R. Facer pour la caractérisation diélectrique de liquides, basé sur un guide d'onde coplanaire [68].	22
1.15	Dispositif développé par Sanghyun Seo et al. [69]	22
1.16	Capteur développé par J.C. Booth [70].	23
1.17	Exemple de dispositif coplanaire couplé à un canal microfluidique pour l'analyse hyperfréquence de liquides biologiques [71].	24
1.18	Cellule de mesure constituée d'un résonateur WGM [72].	24
1.19	Configuration du DSSR avec un microcapillaire passant par les deux gaps.	25

1.20	(a) Modèle de circuit équivalent pour une cellule en suspension [77], (b) Vision « Matériau » d'une cellule de forme supposée sphérique.	26
1.21	Permittivité relative en fonction de la fréquence et des trois principales dispersions [80].	26
1.22	Représentation du biocapteur à large bande appliqués à la biodétection, (a) l'architecture du biocapteur et (b) la variation des contrastes de cellules de lymphome B vivantes et mortes [82].	27
1.23	Représentation schématique de l'architecture du capteur microfluidique développé au XLIM : distribution du champ électrique dans la section transverse au niveau de la zone sensible (gauche) et vue en 3D (droite) [83].	28
1.24	Application à la spectroscopie diélectrique d'une bille de polystyrène [83].	29
1.25	Principe de détection de biomolécules en utilisant un circuit planaire RF résonant, (a) inductance en spirale, (b) capacité interdigitée et (c) résonateur global [84].	29
1.26	Coefficient de réflexion (S_{11}) du résonateur LC mesuré à vide, après l'immobilisation de biotines et après fixation de biomolécules d'avidines sur le résonateur LC [84].	30
1.27	Exemple de biocapteurs résonants passifs [85].	30
1.28	Décalage de fréquence de résonance mesuré sur un capteur passif de la figure 27 une fois chargé avec 3 cellules DLD-1 [85].	31
1.29	Schéma de principe d'analyse cellulaire par spectroscopie diélectrique. . .	32
2.1	Structure schématique de la sonde coaxiale.	44
2.2	Distributions des champs électrique et magnétique à 1,5 GHz en vue en coupe pour la sonde coaxiale en contact avec plusieurs matériaux standard.	45
2.3	Distribution du champ électrique de la ligne coaxiale ouverte à vide calculée à 1,5 GHz en vue 3D.	46
2.4	Paramètre de coefficient de réflexion S_{11} sur l'Abaque de Smith, Comparaison simulation / mesure.	46
2.5	Schéma électrique équivalent de la sonde coaxiale ouverte.	47
2.6	Graphe de fluence de la sonde coaxiale ouverte.	48
2.7	Sonde coaxiale à ligne ouverte.	50
2.8	Représentation du S_{11} sur l'Abaque de Smith correspondant à différents milieux sous-test.	51
2.9	Représentation des valeurs de ϵ_r^* extraites des simulations du capteur sous différentes conditions de charge.	52
2.10	Sonde à effet de bout 85070E d'Agilent(gauche), Mesure au laboratoire ESYCOM (droite).	53
2.11	Spectre de permittivité diélectrique du méthanol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.	53
2.12	Spectre de permittivité diélectrique de l'Ethanol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.	54
2.13	Spectre de permittivité diélectrique du Propan-2-ol mesuré à 25 °C avec la sonde coaxiale comparé avec la sonde commerciale d'Agilent.	54
2.14	Etapes des procédés de fabrication en salle blanche.	56
2.15	Paillasses de chimie pour le nettoyage des substrats.	57
2.16	Nettoyage à l'acide.	57
2.17	Principe de dépôt de couches minces.	58

2.18	Équipement de dépôt de couches minces.	58
2.19	Plaquette de verre avant (gauche) et après la pulvérisation (droite).	59
2.20	Dépôt d'une couche mince de la résine photoresist par le processus «spin-coating».	59
2.21	Equipement de photolithographie MA1006 BSA d'ESIEE-Paris.A : support fixe le masque, B : support fixe le wafer, C, D : outils d'alignement.	59
2.22	Développement de la résine SU-8 et des zones métalliques exposées.	60
2.23	Circuits hyperfréquences miniaturisés (après la découpe).	60
2.24	Etapes de réalisation des canaux micro fluidiques.	61
2.25	Plaquette découpée prête à être testée.	62
2.26	Motifs d'alignement des masques.	63
2.27	a- Support 3D, b- Vue du dessus du PCB, b- Vue du dessous du PCB	63
2.28	Système de mesure à l'échelle macroscopique	64
2.29	Puce assemblée avec le PCB et le support mécanique	64
2.30	Banc expérimental pour la mesure sous pointes.	65
3.1	Schéma du dispositif sensible utilisé en réflexion (a) en vue de dessus, (b) schéma en 3D.	76
3.2	Distribution de l'amplitude du champ électrique dans le canal microfluidique vue de dessus. En raison des propriétés de symétrie, seule la moitié (partie gauche) de la structure est représentée.	77
3.3	Dispositif interdigité en réflexion (a) vue du dessus avec un zoom de la zone sensible, (b) Modèle 3D simulé sous HFSS.	78
3.4	Séquence des étapes de la fabrication des biocapteurs.	78
3.5	Contrastes capacitif et de conductance entre les capteurs remplis d'un fluide et d'air pour les deux géométries : structure à extrémité ouverte (CPW-OE) et capacité interdigité (CPW-IDC).	79
3.6	Dispositif interdigité en transmission, (a) vue du dessus avec un zoom de la zone sensible, (b) Modèle 3D du CPW-IDT simulé sous HFSS.	80
3.7	Structures des biocapteurs pour les mesures sous-pointes.	81
3.8	Amplitude du champ électrique vue en coupe (au milieu de la zone sensible) et en vue de dessus pour les dispositifs ID en réflexion et en transmission.	82
3.9	Cascade des 3 quadripôles et diagramme de fluence associé à un capteur en transmission.	83
3.10	Modèle 3D du dispositif simulé sur HFSS.	87
3.11	Capacités extraites, pour différentes largeurs de doigt, en considérant le capteur chargé par l'eau et l'air.	88
3.12	Représentation des coefficients de réflexion S_{11} simulés de 200 MHz à 25 GHz sur l'abaque de Smith pour différents liquides dans le canal microfluidique.	88
3.13	Propriétés diélectriques théoriques (en noir) ou extraites des simulations du CPW-IDR sur HFSS.	89
3.14	Propriétés diélectriques extraites des simulations du CPW-IDT comparées avec les courbes théoriques implémentées dans HFSS.	89
3.15	Dispositifs fabriqués en salle blanche de l'ESIEE-Paris	90
3.16	Puces micro fluidiques connectées	91

3.17	Coefficients de réflexion S_{11} mesurés pour différents liquides dans le canal microfluidique et représentés sur l'abaque de Smith.	91
3.18	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol théoriques et extraites des résultats de mesure avec le OE-CPW (résultats bruts et courbes d'ajustement).	92
3.19	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol théoriques et extraites des résultats de mesure avec le CPW-IDR (résultats bruts et courbes d'ajustement).	92
3.20	Comparaison de ε_r^* du méthanol mesuré par trois dispositifs différents. . .	93
3.21	Capteur à effet de bout en capacité interdigitée.	94
3.22	Banc de mesure sous-pointes.	94
3.23	Parties réelles et imaginaires de permittivité complexe du méthanol et l'éthanol brutes et extraites (200 MHz - 25 GHz). Mesures effectuées sous-pointes.	95
3.24	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'eau déionisée extraites ou par ajustement de la mesure (a) et de la simulation (b) avec un calibrage : air, méthanol, acétone. Mesures effectuées sous-pointes.	96
3.25	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'éthanol extraites des simulations avec un calibrage : air, méthanol, acétone.	97
3.26	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique de l'acétone (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites ou par ajustement de la mesure. Mesures effectuées sous-pointes.	97
3.27	Evolution de la partie réelle de la permittivité en fonction de la fréquence de chaque milieu liquide choisi. Modèle théorique pour l'eau, valeurs extraites des mesures pour le méthanol et les mélanges, en pointillés modèles de Debye estimés à partir des valeurs extraites.	98
3.28	Evolution de la partie imaginaire de la permittivité en fonction de la fréquence de chaque milieu liquide choisi. Modèle théorique pour l'eau, valeurs extraites des mesures pour le méthanol et les mélanges, en pointillés modèles de Debye estimés à partir des valeurs extraites.	99
3.29	Représentation des fréquences de relaxation diélectriques des mélanges obtenus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectivé.	100
3.30	Représentation de constante diélectrique haute fréquence des mélanges obtenus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectivé.	100
3.31	Représentation de constante diélectrique statique des mélanges issus de mesure et celles théoriques. Mesure effectuée sur un capteur connectivé.	101
3.32	Permittivité statique des mélanges, à certaines fréquences, en fonction de fraction volumique. Mesure effectuée sur un capteur connectivé.	102
3.33	Puce microfluidique interdigitée en transmission (a) fabriquée et (b) connectivée.	103
3.34	Représentation de S_{11} obtenu sur des mesures de puce CPW-IDT sur l'abaque de Smith pour différents liquides dans le canal microfluidique.	103
3.35	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites des mesures de S_{11}	104
3.36	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol (gauche) et de l'éthanol (droite) extraites des mesures de S_{21}	104

3.37	Parties réelle et imaginaire de la permittivité diélectrique du méthanol extraites des mesures des paramètres [S].	105
4.1	Dispositifs sous pointes sélectionnés pour appliquer la méthode de « deembedding ».	112
4.2	Analyseur de réseaux vectoriel raccordé au dispositif mesuré.	113
4.3	Différents types de sondes RF	114
4.4	Modèle du dispositif mesuré comprenant le dispositif sous test.	115
4.5	Dispositifs mesurés pour le procédé de ‘de-embedding’ : (a) : structure d’une ligne de longueur nulle, (b) : structure d’une ligne de longueur L1 insérée entre les deux transitions, (c) : structure d’une ligne à extrémité ouverte.	116
4.6	Capteur en transmission, (a) Schéma électrique équivalent du biocapteur, (b) Représentation équivalente par trois quadripôles en cascade.	117
4.7	Admittance série sur une ligne.	117
4.8	Capteur en réflexion, (a) Schéma électrique équivalent du biocapteur, (b) Représentation sous forme de deux quadripôles cascades.	118
4.9	(a) Permittivité complexe extraite de l’admittance complexe simulée dans le cas de réflexion du Méthanol, (B) Contrastes capacitif et conductif associés.	119
4.10	Contrastes capacitif et conductif extraites de simulation après un procédé de Deembedding.	120
4.11	Capteurs sous-pointes	122
4.12	Motifs utilisés pour faire le « De-embedding ».	123
4.13	Représentation de la constante d’atténuation α (Np/m) et de la constante de phase β obtenues par simulation et mesure.	123
4.14	Représentations des paramètres de réflexion et transmission mesurés (rouge) et obtenus par les simulations (bleu) du quadripôle X représentant la transition d’entrée.	124
4.15	Représentation graphique de la ligne d’accès coplanaire.	125
4.16	Paramètres de réflexion ou transmission mesurés et simulés des capteurs CPW-IDR (gauche) et CPW-IDT (droite) à vide.	125
4.17	Valeurs extraites de la capacité et de la conductance (C_{air}^T et G_{air}^T) de la structure interdigitée en transmission à vide en fonction de la fréquence.	126
4.18	Comparaison simulations/mesures en fonction de la fréquence entre les valeurs de la capacité C_{fluide}^T et de la conductance G_{fluide}^T pour de l’eau DI, l’acétone, le méthanol et l’isopropanol.	127
4.19	Comparaison simulations (tirés)/mesures (traits pleins) en fonction de la fréquence pour les valeurs de la capacité C_{fluide}^R et de la conductance G_{fluide}^R en chargeant le capteur CPW-IDR avec de l’eau DI, de l’acétone, du méthanol et de l’éthanol.	128
4.20	Contrastes ΔC et ΔG obtenus par les 2 composants : CPW-IDT et CPW-IDR. Comparaison simulation (tirés)/mesure (traits pleins).	129
5.1	Capteur en transmission (CPW-CT) avec conducteur central progressivement rétréci, (a) vue de dessus du capteur et zoom de la zone de détection, (b) vue 3D.	139

5.2	Capteur en reflexion (CPW-CR) avec conducteur central rétréci ,(a) vue de dessus du capteur et zoom de la zone de détection, (b) vue 3D.	140
5.3	Schéma de principe du mécanisme de piégeage par diélectrophorèse.	141
5.4	Vue schématique en 3D du piège par diélectrophorèse.	141
5.5	Schéma de principe du mécanisme de piégeage hydrodynamique.	142
5.6	Vue schématique en 3D du piège hydrodynamique.	143
5.7	Vue 3D du dispositif d'analyse HF d'une cellule unique simulé en transmission (CPW-CT).	144
5.8	Vue 3D du dispositif d'analyse HF d'une cellule unique simulé en réflexion (CPW-CR).	145
5.9	Distribution du champ électrique à 5GHz dans la zone d'analyse du dispositif CPW-CR (a) en vue de dessus et (b) dans le plan de coupe vertical passant par le milieu du gap et perpendiculaire au ruban de la ligne.	145
5.10	Distribution du champ électrique à 5GHz dans la zone d'analyse du dispositif CPW-CT (a) en vue de dessus et (b) dans le plan de coupe vertical passant par le milieu du gap et perpendiculaire au ruban de la ligne.	146
5.11	Représentation, dans le plan complexe, des coefficients de réflexion et de transmission simulés pour le capteur CPW-CR et CPW-CT respectivement, avec ou sans bille dans le canal rempli d'eau déionisée.	147
5.12	Coefficients de réflexion S_{11} (a) et de transmission S_{21} (b) pour les capteurs CPW-CR et CPW-CT respectivement simulées sans ou avec une bille placée dans la zone de détection remplie d'eau déionisée.	148
5.13	Représentation des lignes de champs sans (à gauche) et avec (à droite) la particule.	148
5.14	Contraste capacitif ΔC et conductif ΔG entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence d'une bille en fonction de la fréquence obtenus par simulation de CPW-CR.	149
5.15	Contraste capacitif ΔC et conductif ΔG entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence d'une bille en fonction de la fréquence obtenus par simulation de CPW-CT.	149
5.16	Représentation schématique de changement de largeur du gap dans les structures fonctionnant en réflexion et en transmission.	150
5.17	Contrastes ΔC et ΔG simulés avec le CPW-CR en présence d'une bille de polystyrène piégée	150
5.18	Représentation schématique de changement du diamètre d'une particule placée au-dessus du gap capacitif de détection.	151
5.19	Effet du diamètre de la bille de polystyrène sur les contrastes ΔC et ΔG dans les deux cas : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT	151
5.20	Représentation des différentes positions simulées pour une bille de polystyrène.	152
5.21	Contrastes diélectriques en fonction de la position verticale de la bille.	153
5.22	Spectre de permittivité complexe d'un ensemble « milieu hôte + particule » obtenu avec (a) CPW-CR et (b) CPW-CT. Les capteurs ont un gap de 7 μm et la bille est placée à une hauteur de 200 nm au-dessus du centre du gap.	154

5.23	Spectre de la permittivité complexe d'un « milieu hôte + particule » extraite en fonction du diamètre de la bille : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT.	155
5.24	Contraste de permittivité complexe extraite en fonction de la position verticale de la bille : (a) en réflexion avec CPW-CR et (b) en transmission avec CPW-CT.	156
5.25	Structure du capteur CPW-IDR sous-pointes simulées sur HFSS en présence des billes diélectriques. Par raison de symétrie par rapport au plan xOz, seule la moitié de la structure est représentée.	157
5.26	Spectre de permittivité complexe d'un « milieu hôte + particule » diélectrique obtenu de simulation du Capteur CPW-IDR.	158
5.27	Photographie des billes de polystyrène et de PMMA présentes dans la zone de détection du capteur interdigité sous-pointes en réflexion CPW-IDR.	158
5.28	Représentation du coefficient de réflexion S_{11} dans le plan complexe avec le capteur interdigité en réflexion CPW-IDR.	159
5.29	Evolution de la partie réelle (a) et imaginaire (b) de la permittivité complexe des fluides/billes présents dans le canal microfluidique.	160
5.30	Photographies des billes de polystyrène piégées dans la zone de détection. Le biocapteur CPW-IDR est utilisé pour la mesure sous-pointes.	160
5.31	Paramètres de réflexion S_{11} mesurés à l'entrée du Capteur CPW-IDR.	161
5.32	Parties réelle (a) et imaginaire (b) de la permittivité complexe globale obtenue en présence des billes diélectriques dans la zone de détection. Mesure effectuée avec le biocapteur CPW-IDR.	161
5.33	Contraste capacitif ΔC (a) et conductif ΔG (b) entre le milieu hôte (Eau DI) et la présence des billes diélectriques dans la zone de détection. Mesure effectuée avec le biocapteur CPW-IDR.	162
5.34	Structure du capteur CPW-IDT sous-pointes simulées sur HFSS en présence de 4 billes diélectriques. Bande fréquentielle 300 MHz – 25 GHz.	163
5.35	Spectre de permittivité complexe issu des simulations du capteur CPW-IDT en présence de 4 billes diélectriques.	164
5.36	Photographie de quatre billes de polystyrène piégée dans la zone de détection. Le biocapteur CPW-IDT est utilisé pour la mesure sous-pointes.	164
5.37	Représentation, dans le plan complexe, des coefficients de transmission en présence et en absence des billes diélectriques dans la zone active de détection.	165
5.38	Spectres de permittivité complexe obtenus à partir de mesures avec le capteur CPW-IDT en présence de 4 billes diélectriques.	166
5.39	Comparaison, en fonction de la fréquence, entre les valeurs de la capacité et de la conductance pour de l'eau DI et l'eau DI + 4 billes diélectriques.	167
5.40	Capteur CPW- CR de caractérisation cellulaire en réflexion.	175
5.41	Capteur CPW- CT de caractérisation cellulaire en transmission.	176

Liste des tableaux

1.1	Valeurs des permittivités relatives aux fréquences hautes et basses, et fréquences de relaxation mesurées à 25 °C pour différents liquides	18
3.1	Valeurs des permittivités et fréquences de relaxation obtenues par ajustement à 25 °C, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques	93
3.2	Paramètres de relaxation diélectrique pour différents mélanges obtenues par ajustement à 20 °C	102
3.3	Paramètres de relaxation diélectrique pour différents milieux obtenues par ajustement à 25 °C de biocapteur CPW-IDT, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques	106
3.4	Paramètres de relaxation diélectrique pour différents milieux obtenues par ajustement à 20 °C de biocapteur CPW-IDT sous-pointes, entre parenthèses les différences par rapport aux valeurs théoriques	106
4.1	Comparaison entres les techniques de détection utilisées dans ce travail .	130
5.1	Dimensions du piège par diélectrophorèse	142
5.2	Dimensions du piège mécanique	143
5.3	Ecart capacitif et de conductance obtenus à 1GHz :	163

"Liste des publications"

Revue scientifique

«Dielectric Property Characterization of Liquid Media Using an Open-Ended Probe Within a Microfluidic Chip»,Houssein Mariam ; Patrick Poulichet ; Hakim Takhedmit ; Elodie Richalot ; Olivier Francais, Instrumentation Mesure Métrologie ; Vol. 19, No. 3, June, 2020, pp. 169-177.

Conférence

“Dielectric Spectroscopy Characterization within a Microfluidic Device based on Open-Ended Coplanar Waveguide”,Houssein Mariam ; Patrick Poulichet ; Hakim Takhedmit ; Elodie Richalot ; Olivier Francais, EuCAP, March 2020, Copenhagen, Denmark.

« Mesure hyperfréquence large-bande sur puce microfluidique pour la détermination des propriétés diélectriques complexes de milieux liquides »,Houssein Mariam ; Patrick Poulichet ; Hakim Takhedmit ; Elodie Richalot ; Olivier Francais, JNM, May 2019, Caen, France.

« Puce microfluidique instrumentée pour la caractérisation HyperFréquence de fluides par spectroscopie diélectrique »,Houssein Mariam ; Patrick Poulichet ; Hakim Takhedmit ; Rousseau Lionel ; Bruno Le Pioufle ; Abdelhatif El Fellahi ; Elodie Richalot ; Olivier Français ; C2i, Jan 2019, Talence, France.

Résumé

"Caractérisation hyperfréquences par spectroscopie diélectrique de composés biologiques en environnement microfluidique"

Ce sujet de thèse propose le développement d'un capteur exploitant les ondes électromagnétiques (gamme 100 MHz - 20 GHz) pour mesurer les propriétés diélectriques de composés biologiques. Un avantage indéniable de ce type d'analyse est son caractère non-invasif permettant de garder l'environnement biologique intègre. Ce principe de mesure de la "signature diélectrique" large bande d'un milieu biologique sera mis en œuvre à l'aide d'une ligne de propagation dont les caractéristiques seront couplées à celles du composé biologique. L'enjeu de la thèse est donc de concevoir, réaliser et caractériser ce dispositif afin qu'il puisse être opérationnel à l'échelle d'une cellule biologique unique (taille 10 μm). La finalité est l'extraction des paramètres diélectriques intracellulaires permettant de discriminer les cellules entre elles.

Mots-clés : Bio-capteur, Ondes électromagnétiques, Microfluidique, Hyperfréquence, Diélectrique, Extraction de paramètres

Abstract

"Characterization of biological cells, in microfluidic environment, by microwave dielectric spectroscopy"

This thesis aims to develop a micro sensor using electromagnetic waves (100 MHz - 20 GHz range) to measure the dielectric properties of biological cells. This technique presents the advantage to be non-invasive, which makes it particularly interesting to monitor intracellular reactions. This principle of measuring the broadband "dielectric footprint" of a biological medium will be implemented using transmission lines whose characteristics will depend on the biological cells properties. The challenge of the thesis is therefore to design, fabricate and experimentally characterize this device so that it can operate at the scale of a single biological cell (typical size 10 μm). The purpose is the extraction of the intracellular dielectric parameters making it possible to discriminate between biological cells.

Keywords : Bio-sensor, Electromagnetic waves, Microfluidic, RadioFrequency, Dielectric parameters, Parameter extraction