N° d'ordre 74-2012 Année 2012

THESE DE L'UNIVERSITE DE LYON

Délivrée par

L'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON 1

Ecole Doctorale Interdisciplinaire Sciences-Santé
ED n°205

DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 7 août 2006)

Spécialité : Biochimie – Génie biologique

Soutenue publiquement le 12 juin 2012 à Villeurbanne

par

M. BENLARBI Mouhssine

Etude de composites conducteurs et semi-conducteurs : transducteurs électrochimiques pour biocapteurs

Directeur de thèse : M. BLUM Loïc J.
Co-encadrant : M. MARQUETTE Christophe A.

Jury :

M. BOUJTITA Mohammed (maitre de conférence de l'université de Nantes)	*Rapporteur*
M .LAWRENCE Marcus F. (professeur de Concordia university, Montréal)	*Rapporteur*
M. ROUX Stéphane (professeur de l'université de Franche Comté, Besançon)	*Rapporteur*
M. BLUM Loïc J. (professeur de l'université Lyon 1)	*Examinateur*
M. MARQUETTE Christophe A. (chargé de recherché de l'université Lyon 1)	*Examinateur*

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

Président de l'Université	**M. François-Noël GILLY**
Vice-président du Conseil d'Administration	M. le Professeur Hamda BEN HADID
Vice-président du Conseil des Etudes et de la Vie Universitaire	M. le Professeur Philippe LALLE
Vice-président du Conseil Scientifique	M. le Professeur Germain GILLET
Secrétaire Général	M. Alain HELLEU

COMPOSANTES SANTE

Faculté de Médecine Lyon Est – Claude Bernard	Directeur : M. le Professeur J. ETIENNE
Faculté de Médecine et de Maïeutique Lyon Sud – Charles Mérieux	Administrateur provisoire : M. le Professeur G. KIRKORIAN
UFR d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur D. BOURGEOIS
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : Mme la Professeure C. VINCIGUERRA.
Institut des Sciences et Techniques de la Réadaptation	Directeur : M. le Professeur Y. MATILLON
Département de formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE

COMPOSANTES ET DEPARTEMENTS DE SCIENCES ET TECHNOLOGIE

Faculté des Sciences et Technologies	Directeur : M. le Professeur F. De MARCHI
Département Biologie	Directeur : M. le Professeur F. FLEURY
Département Chimie Biochimie	Directeur : Mme le Professeur H. PARROT
Département GEP	Directeur : M. N. SIAUVE
Département Informatique	Directeur : M. le Professeur S. AKKOUCHE
Département Mathématiques	Directeur : M. le Professeur A. GOLDMAN
Département Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
Département Physique	Directeur : Mme S. FLECK
Département Sciences de la Terre	Directeur : Mme la Professeure I. DANIEL
UFR Sciences et Techniques des Activités Physiques et Sportives	Directeur : M. C. COLLIGNON
Observatoire de Lyon	Directeur : M. B. GUIDERDONI
Polytech Lyon	Directeur : M. P. FOURNIER
Ecole Supérieure de Chimie Physique Electronique	Directeur : M. G. PIGNAULT
Institut Universitaire de Technologie de Lyon 1	Directeur : M. C. VITON
Institut Universitaire de Formation des Maîtres	Directeur : M. R. BERNARD
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : Mme la Professeure V. MAUME-DESCHAMPS

Thèse préparée au sein de l'équipe Génie Enzymatique Membrane Biomimétique et Assemblage Supramoléculaire au sein de l'ICBMS sous la direction du Pr. Loïc J. Blum et l'encadrement du Dr. Christophe A. Marquette.

ICBMS, Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires

UMR 5246

Université Claude Bernard Lyon 1

Bât. CPE – 43 boulevard du 11 novembre 1918

69622 Villeurbanne cedex - France

Remerciements

Ce travail n'aurait pas été possible sans le bienveillant soutien de Dieu qui m'a facilité l'aboutissement de cette thèse malgré mes nombreux écarts et qui a placé sur ma route d'aussi remarquables personnes. Je suis incapable de dire avec les mots qui conviennent, le rôle qu'elles ont pu jouer à mes côtés pour en arriver là. Cependant, je voudrais les prier d'accueillir ici toute ma gratitude qui vient du fond du cœur, en acceptant mes remerciements.

Alors bien sur, un grand merci à l'ensemble des membres de l'équipe GEMBAS,

Tout d'abord au Pr. Loïc Blum pour m'avoir accueilli dans son laboratoire et qui a pris de son temps bien des fois pour m'écouter et me conseiller, également au Dr. Christophe Marquette bien évidemment pour son encadrement et surtout sa patience pour tout ce que je lui ai fait subir ces trois dernières années,
à tous les membres de l'équipe titulaire ou non que j'ai eu le plaisir de côtoyer tout au long de cette thèse, ce fut toujours très agréable de partager avec vous des petites discussions et particulièrement avec certaines personnes qui j'en suis sur ce reconnaitrons.

Je remercie bien sûr les rapporteurs, le Docteur Boujtita et les professeurs Roux et Lawrence, de m'avoir fait l'honneur de corriger ce travail ce qui je le concède n'a pas du être chose aisée.

Je remercie également certains membres de l'Institut des Nanotechnologies de Lyon et plus particulièrement le Dr. Lysenko pour son aide et son temps, ainsi que Khaled et Raouf.

Enfin, une pensée émue pour tous mes amis étudiants docteurs ou doctorants, ainsi que tous les frères et sœurs extérieurs à l'université pour leur aide tant moral qu'intellectuelle, ainsi que tout ceux avec qui j'ai partagé au cours de mon cursus, une nuit blanche, une salle, un repas, un café ou juste un mot, merci à vous tous.

Abréviations :

ABA : AminoBenzylAmine

ADN : Acide Désoxyribonucléique

ATR : *Attenuated Total Reflection* (infrarouge)

BBD : Bromobenzène diazonium

BSA : *Bovine Serum Albumin* (albumine de sérum bovin)

CCD : *Charge Couple Device*

CVD: *Chemical Vapor Deposition*

CE : Contre-Electrode

HF : Acide fluorhydrique

HRP : Peroxydase du Raifort

ITO: *Indium Tin Oxide* (film d'oxyde d'indium dope à l'étain)

NBD : Nitrobenzène diazonium

$\mathbf{N_D}$: Nombre d'atomes donneurs (dopants au sein d'un semi-conducteur)

NiO : Oxyde de Nickel

PDMS : Polydiméthylsiloxane

PGMEA : Propylène glycol monométhyl éther acétate

PMMA : Polyméthyle méthacrylate

Pt : Platine

u.a : Unités arbitraires

UV : Ultra-Violets

VBS : *Veronal- Buffer Saline* (tampon phosphate salin)

SAM : *Self Assembly Monolayer* (monocouche auto-assemblée)

SCE : *Satured Calomel Electrode*

ZnO : Oxyde de Zinc

Sommaire

Introduction 14

Chapitre I : nanomatériaux : nanostructurations et/ou nanocomposites 17

I. Modification du support par traitement de surface 19

1. Techniques d'élaboration de couches minces 19

1.1. Dépôts en phase vapeur 20

1.1.1. Dépôts chimiques en phase vapeur (CVD) 20

1.1.2. Dépôts physiques en phase vapeur (PVD) 21

1.2. Dépôts en phase liquide 23

1.2.1. Procédés sol-gel 24

1.2.2. Voie électrochimique 26

1.2.3. Auto-assemblages 28

2. Techniques d'élaborations de couches mésoscopiques 30

2.1. Trempage (« *dip-coating* ») 30

2.2. Pulvérisation (« *spray-coating* ») 31

2.3. Centrifugation (« *spin-coating* ») 32

2.4. Sérigraphie 32

II. Matériaux composites et nanocomposites 33

1. Renforts ou additifs 34

2. Matrices 35

3. Des applications tournées vers le biomédical 39

III. Modification de surface et fonctionnalisation des matériaux formés 42

1. Modifications sur les semi-conducteurs 42

2. Modifications sur le conducteurs 46

2.1. Or 46

2.2. Carbone 48

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes 51

I. Matériels 53

1. Instrumentations 53

2. Logiciels 53
3. Réactifs 53
4. Enzymes, Protéines et Acides Nucléiques 54
5. Tampons 54
II. Méthodes 55
1. Préparation des encres 55
1.1. Le liant organique 55
1.2. Le matériau actif 56
1.3. Obtention des nanoparticules de silicium (approche dites top-down) 56
1.3.1. Anodisation électrochimique 57
1.3.2. Récupération des nanoparticules de silicium 61
2. Méthodes de dépôt 64
2.1. Dépôt sur support par « *spin coating* » 64
2.2. Sérigraphie 65
3. « Photopatterning » 69
3.1. Composite SU-8 / carbone 69
3.2. Elaboration du composite : Protocole de photolithographie 71
4. Mesures électrochimiques 76
5. Fonctionnalisation du support et Mesures de Luminescence 77
5.1. Electro-adressage des sels de diazonium et dérivés. 77
5.2. Electro-adressage sur réseau d'électrodes 78
6. Hybridation et Chimiluminescence (CL) 79
7. Méthodes de caractérisations 81
7.1. Profilomètre optique 3D 81
7.2. Microscopie électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET) 83
7.3. Spectroscopie infrarouge par réflexion totale atténuée (IR-ATR) 83
Chapitre 3 : Résultats et Discussions 85
Partie 1 : Composites semi-conducteurs 87
1. Caractérisation morphologique 87
2. Caractérisation de la réponse électrochimique. 95
2.1. Dépôt par spin coating sur carbone vitreux 95

2.1.1. Essais sur composites Gwent-oxyde métalliques 96
2.1.2. Essais sur la résine et le support 98
2.2. Evaluation du comportement électrique des composites 100
2.2.1. Mesures de Mott-Schottky 101
- Composites à base d'oxydes métalliques 103
- Composite à base de silicium 106
2.2. Dépôt par sérigraphie 107
3. Modification et fonctionnalisation des composites. 110
3.1. Composite à base de silicium 110
3.2. Composite à base d'oxyde de Zinc 116
3.2.1. Fonctionnalisation par le 4-BBD 116
3.2.2. Fonctionnalisation par des oligonucléotides 118
3.2.3. Essais d'optimisation du greffage 124
Partie 2 : composite conducteur photopolymérisable 133
1. Caractérisations morphologiques 134
2. Caractérisations électrochimiques 136
2.1. Etudes préliminaires 136
2.2. Essais de prétraitement des supports 137
2.3. Caractérisations électrochimiques après prétraitement 139
3. Fonctionnalisation des supports : greffage de dérivé diazonium 140
3.1. Détection par marquage chimiluminescent 140
3.2. Détection électrochimique par spectroscopie d'impédance 142
Conclusion-Perspectives 147
Références bibliographiques 151
Publications……...161

Introduction

Le laboratoire GEMBAS de l'institut ICBMS de l'université Lyon 1 s'implique depuis de nombreuses années dans l'étude et le développement de biocapteurs à partir de supports originaux et de nouvelles voies de fonctionnalisations. Dans ce domaine, la voie tend vers les systèmes multiparamétriques et les systèmes intégrés avec pour conséquence incontournable, la course à la miniaturisation. Les biocapteurs ont dès lors fait appel de plus en plus aux technologies de la microélectronique avec cependant certains désavantages notamment liés aux coûts et aux techniques mises en œuvre souvent lourdes en investissement. En effet les micro-capteurs sont pour la plupart basés sur la technologie silicium avec des transducteurs type transistor à effet de champ (FET) qui ont été à la base de toute une gamme de capteurs intégrés de type ChemFET (iSFET, GasFET, EnFET). C'est ce contexte qui a motivé la décision du laboratoire d'entreprendre l'élaboration de transducteurs par des techniques se présentant comme une bonne alternative à savoir, la sérigraphie et le spin coating.

La méthode de détection influençant le choix du support, la maîtrise de l'élaboration du matériau-support et de sa fonctionnalisation est un critère déterminant pour la transduction optimale du signal. La possibilité d'utiliser des supports semi-conducteurs comme biocapteurs

a été mise en évidence pour détecter l'hybridation entre oligonucléotides [1]. En mesurant l'impédance de la structure semi-conductrice, les auteurs sont parvenus à détecter une hybridation spécifique en utilisant des concentrations d'ADN de l'ordre du µg/mL. Les supports conducteurs étant quant à eux utilisés depuis plus longtemps dans la réalisation des biocapteurs, puisque au milieu du 20ème siècle, le premier dispositif conçu à partir d'une électrode de Clark (spécifique de l'oxygène), couplée à un élément biologique [2] est apparu. En effet, les systèmes physiques ou chimiques peuvent se modéliser par des circuits électriques constitués de résistances, de capacités, et autres. Ainsi une cellule électrochimique peut être considérée comme un dipôle électrique possédant une impédance et une résistance, principe essentiel pour les détections électrochimiques.

A ce titre nous nous sommes engagés dans l'élaboration de composites aux propriétés électriques semi-conductrices et conductrices qui serviraient à la réalisation de transducteurs et de couches sensibles par les méthodes de dépôts choisies. L'autre problématique essentielle lors de la réalisation de biocapteurs, réside dans le choix de la méthode de fonctionnalisation du support. De nombreuses techniques existent à l'heure actuelle. Pour la majorité d'entre elles, plusieurs traitements chimiques et étapes sont nécessaires, ce qui entraîne un allongement du temps de préparation et un accroissement de la complexité. C'est pour cela que nous avons opté pour une technique récente développée au laboratoire il y a quelques années [3; 4; 5] et basée sur la chimie du diazonium. Il s'agit d'un électrogreffage s'appuyant sur l'application d'un potentiel électrochimique aux bornes d'une électrode, afin d'immobiliser spécifiquement et de manière localisée, des biomolécules à la surface d'un support conducteur.
Ce mémoire s'organise ainsi en trois chapitres. Le premier chapitre présente des généralités sur les méthodes de dépôt, les matériaux composites et une brève exposition de la fonctionnalisation de quelques matériaux semi-conducteurs et conducteurs. Le deuxième chapitre présente les techniques utilisées ainsi que les conditions expérimentales et les modes opératoires. Enfin les composites obtenus seront présentés dans le troisième chapitre, qui exposera donc les résultats expérimentaux du travail effectué.

Chapitre I : nanomatériaux : nanostructurations et/ou nanocomposites

Depuis peu ce sont les nanostructurations de surface et les nanomatériaux plus généralement qui accaparent une partie de l'attention des chercheurs. Ceci puisque les nanomatériaux présentent une surface spécifique élevée de quelques m²/g à plusieurs centaines de m²/g. Leur capacité d'interaction avec leur environnement est de ce fait très importante. En effet nombreuses sont les techniques qui permettent d'obtenir des revêtements nanostructurés et des nanocomposites en couche mince ou couche mésoscopique et c'est pour cela qu'un grand nombre de méthodes d'obtention de nanomatériaux se sont développées. Il devient difficile parfois de classer ces méthodes car certaines sont en fait basées sur la croissance *in situ* (épitaxie) de nanomatériaux en surface d'un support, alors que d'autres sont basées sur un dépôt ou une association (nanocomposite) de nano-objets et d'autres enfin consistent à créer des motifs directement sur le support. Nous nous proposons donc ici de faire une brève description en premier lieu des méthodes de dépôts en couche mince et couche mésoscopique, et dans un second temps d'aborder le domaine des nanocomposites. Nous essayerons de mettre l'accent sur les composés semi-conducteurs et conducteurs. Puis, dans une dernière partie, nous évoquerons les possibilités de fonctionnalisation des ces matériaux.

I. Modification du support par traitement de surface

La modification d'un support, le plus souvent au niveau de sa surface, s'effectue généralement par traitement mécanique, chimique, électrochimique ou physique de cette surface. Ce processus mène à une modification d'aspect mais également de fonction des surfaces traitées. Ces opérations jouent un rôle important dans l'élaboration de supports actifs aux propriétés contrôlées dans divers domaines tels que, l'électronique, la microélectronique, la tribologie, l'optique, ou encore le biomédical. La réalisation de ces couches sensibles (conductrices ou semi-conductrices) nécessite notamment l'utilisation de technologies spécifiques aux attentes de l'expérimentateur. On distingue ainsi deux grands types de dépôts, à savoir en couche mince ou en couche mésoscopique, chacun faisant appel à des techniques distinctes.

1. Techniques d'élaboration de couches minces

L'une des méthodes de traitement et modification de surface les plus utilisées, est le dépôt par couche mince d'épaisseur allant de quelques nanomètres à quelques centaines de nanomètres. Les techniques utilisées peuvent être classifiées selon leur coût d'installation, le type d'atmosphère (milieu ambiant, sous vide poussé, sous plasma, ou encore sous gaz réactifs) ainsi que selon le processus mis en jeu (techniques physiques ou chimiques). La diversité des techniques de croissances actuelles permettent ainsi, d'une part l'élaboration de films minces présentant des propriétés physico-chimiques, thermo-électriques ou optiques différentes, mais aussi la réalisation d'une grande variété de microstructures. En effet, l'orientation cristalline, la taille des grains, les défauts, la composition et la morphologie sont fortement influencés par la procédure de croissance.

Plusieurs méthodes de dépôt se distinguent actuellement, les méthodes de dépôts sous vide (chimiques ou physiques), les méthodes en solution avec les procédés sol-gel et les électrodépots. On peut citer également une méthode plus atypique qu'est l'auto-assemblage. Néanmoins depuis peu la tendance est au dépôt sous vide avec l'évolution constante des techniques de CVD (« *Chemical Vapor Deposition* ») et PVD (« *Physical Vapor Deposition* »). Malgré tout, le choix d'une méthode est souvent intimement lié au choix d'un support à traiter, puisqu'il est important qu'il y ait une compatibilité chimique entre le matériau déposé et le matériau support. Nous proposons dans cette partie un rappel des principales techniques d'obtention des couches minces et par la suite des couches mésoscopiques.

1.1. Dépôts en phase vapeur :

Ce type de dépôt permet l'obtention de revêtements minces (de quelques nanomètres à moins de 10 micromètres d'épaisseur), réalisés à basse pression dans une enceinte sous vide partiel ($< 10^{-1}$ mbar). D'une manière générale, ce procédé fait appel à trois composantes :

Une source : (creuset, plaque métallique…) où le matériau à déposer (ou l'un de ses composants) est concentré. C'est le siège du phénomène physique de base, à savoir la dispersion de cet élément sous forme d'atomes, d'ions, et plus généralement de vapeur.

Un support : Il s'agit de l'élément à recouvrir. C'est ici qu'intervient le phénomène de condensation : la matière issue de la source, pure ou recombinée, vient s'y fixer jusqu'à conduire à la formation de la couche désirée.

Un milieu : Il s'agit de tout ce qui est compris entre la source et le support. C'est le siège du phénomène de transfert de matière. Il peut être aussi le siège de réactions chimiques [6] stade que l'on différencie, les dépôts chimiques en phase vapeur (CVD), des dépôts physiques en phase vapeur (PVD), selon le moyen utilisé pour produire la vapeur.

1.1.1. Dépôts chimiques en phase vapeur (CVD)

Le procédé de dépôt chimique en phase vapeur consiste à placer le matériau à déposer (sous forme volatile) en contact, soit avec un autre gaz au voisinage de la surface à recouvrir, soit avec la surface elle-même. Une ou plusieurs réactions chimiques, donnant au moins un produit solide est/sont alors initiée(s). La réaction est activée par chauffage du support à une température dont la valeur dépend du matériau déposé. On dénombre plusieurs procédés de CVD dont voici une description [6]:

- ✓ Technique de la (MO-CVD)

Ce procédé consiste à effectuer un dépôt par le biais de réactions chimiques entre un mélange gazeux formé à partir d'organométalliques dilués dans un gaz porteur, et un support chauffé. La décomposition thermique du mélange au-dessus du support libère des éléments qui interviennent dans la formation des dépôts en couche. Cette technique nécessite des températures très élevées (de l'ordre de 1000°C), ce qui implique donc que le dépôt ne peut s'effectuer que sur des supports résistants à ces températures (verre, silicium…). Ses inconvénients sont : la toxicité, les dangers liés aux produits utilisés, la contamination éventuelle issue des réactions parasites intervenant entre les différents produits utilisés. Certain chercheurs ont néanmoins adaptés cette technique afin de réaliser des dépôts à des températures plus basses, comme pour le dépôt d'oxydes métalliques (composés ferromagnétiques [7], oxyde de zinc [8] ...) semi-conducteurs ou non (pérovskite [9]) ou plus

généralement pour la croissance épitaxiale en couches minces de composés semi-conducteurs, pour l'élaboration de diodes notamment [10] [11].

- ✓ CVD assistée par plasma (PECVD)

Le principe de fonctionnement de la PECVD consiste à envoyer un champ électrique alternatif (source radiofréquence) qui interagit avec les gaz précurseurs, pour ainsi conduire à la formation d'un plasma. L'application ensuite d'une différence de potentiel électrique entre le plasma et le substrat accélère les ions vers le substrat où ils réagissent pour former le film final. Cette méthode est principalement utilisée pour le dépôt de couches de passivation ou couche diélectrique de silicate , SiO_2 [12] [13] ou de nitrure de silicium, SiNx [14] [15] .

- ✓ CVD Laser

En CVD laser, la réaction est initiée par l'énergie thermique fournie par un laser ou par l'excitation des molécules par irradiation UV. On distingue :

- le CVD laser thermique, dans lequel le laser chauffe un support absorbant et où aucune énergie n'est absorbée par les molécules de gaz,
- et le CVD photo-laser où la lumière active les gaz précurseurs en cassant les liaisons chimiques des molécules permettant ainsi de réaliser le dépôt à température ambiante.

D'une manière générale, le CVD laser a été utilisé pour produire une grande variété de produits (fibres, couches minces, micro-ressorts, structures à bandes interdites) à partir d'une grande variété de matériaux (C, Si, SiO_2, TiN,) [16] [17]. De plus, il offre la possibilité de réaliser des dépôts sélectifs [18], ce qui permet d'éliminer une étape de structuration (ex : gravure) de la surface. On notera tout de même certaines limites à cette méthode : les films déposés sont notamment peu denses, souvent contaminés par des gaz très réactifs (hydrogène, fluor, chlore...) issus de la réaction chimique, et enfin le système mis en œuvre est souvent couteux et complexe.

1.1.2. Dépôts physiques en phase vapeur (PVD)

A l'instar de la CVD, le dépôt physique en phase vapeur (PVD) est largement utilisé pour la modification de matériaux semi-conducteurs, le dépôt de couches métalliques et d'oxydes. La méthode présente en effet un certain nombre d'avantages : les films sont plus denses, le processus plus aisé à contrôler, il n'y a pas de pollution par des composés résiduels. On distingue trois principales techniques utilisant le PVD comme processus de dépôt : l'évaporation, l'ablation laser et la pulvérisation cathodique.

✓ Evaporation

Elle consiste à évaporer simultanément, sous un vide poussé de l'ordre de 10^{-8} mbar, les composés à déposer, eux-mêmes placés dans des creusets chauffés par effet Joule de haute précision, via une résistance ou un faisceau d'électron. Une fois évaporé le matériau est déposé par condensation sous forme de films sur le support. L'intérêt de cette méthode est la croissance épitaxiale de couche obtenue grâce à la faible vitesse de dépôt de 1nm/min à 10 µm/min.
Sa déclinaison plus récente, l'épitaxie par jet moléculaire ou MBE (*Molecular Beam Epitaxy*), est utilisée pour déposer des couches d'oxydes [19] et de nitrures [20] [21]. Cette technique a été initialement développée pour la microélectronique et la filière silicium [22].

✓ Ablation laser

Le principe de l'ablation laser consiste à bombarder le matériau à déposer par un faisceau laser focalisé pendant des temps très courts (nano- voire femto-seconde) afin d'éviter un échauffement du matériau et donc une éventuelle évaporation. Au-dessus du seuil d'ablation des atomes, des amas sont éjectés de la surface et il se crée alors un plasma à très forte densité. La puissance du laser nécessaire pour produire le plasma dépend du matériau cible. Le plasma est ensuite condensé sur le support d'intérêt à des températures proches de la température ambiante. Ceci constitue l'avantage majeur de cette méthode, cause de l'intérêt croissant qu'on lui porte. L'ablation laser permet ainsi le dépôt d'une variété de matériaux allant des semi-conducteurs [23] , aux métaux [24] ainsi que de nombreux oxydes, avec des films de grande qualité et ce sur un large panel de supports [25], incluant même des polymères comme le polyméthacrylate de méthyle (PMMA) [26].

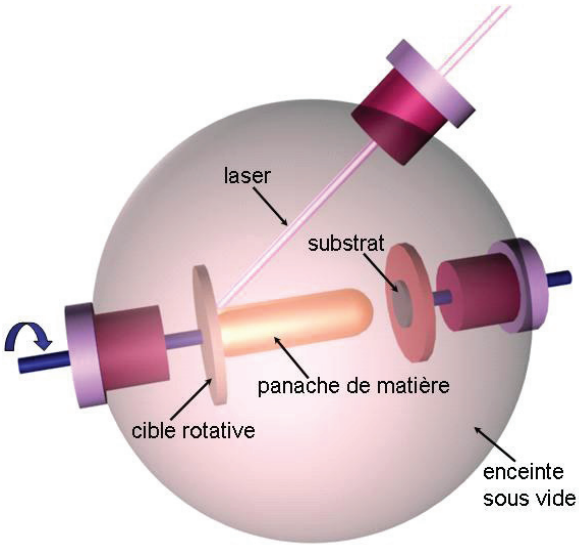


***Figure 1**. Schéma illustrant le principe de l'ablation laser*

✓ Pulvérisation cathodique

Cette technique découle en réalité des travaux de Grove et Plucker en 1852 qui montrèrent que l'établissement d'une décharge électrique entre deux électrodes placées dans une enceinte où règne une pression réduite de gaz inerte, entraînait l'apparition à l'anode d'une couche mince du composé constituant la cathode. Au départ ceci fut considéré comme une contrainte

puisque cela réduisait la durée de vie des lampes à décharge (de type « tube » à néon, argon, krypton, xénon) et ce n'est que récemment que cet effet fut étudié et utilisé pour la croissance des couches minces. La pulvérisation cathodique est donc un phénomène d'éjection des particules à partir de la surface d'un matériau, lorsque celui-ci est bombardé par un flux de particules énergétiques (souvent de l'argon sous forme ions) comme illustré sur le schéma ci-dessous (**figure 2**). Elle est utilisée par exemple lors de la métallisation d'échantillons en microscopie électronique. Cependant les collisions entres les ions dans le réacteur sont assez importantes, et mènent à un dépôt non homogène. Pour cette raison, les chercheurs ont développés la pulvérisation cathodique magnétron, qui du fait du champ magnétique limite les phénomènes de collisions.

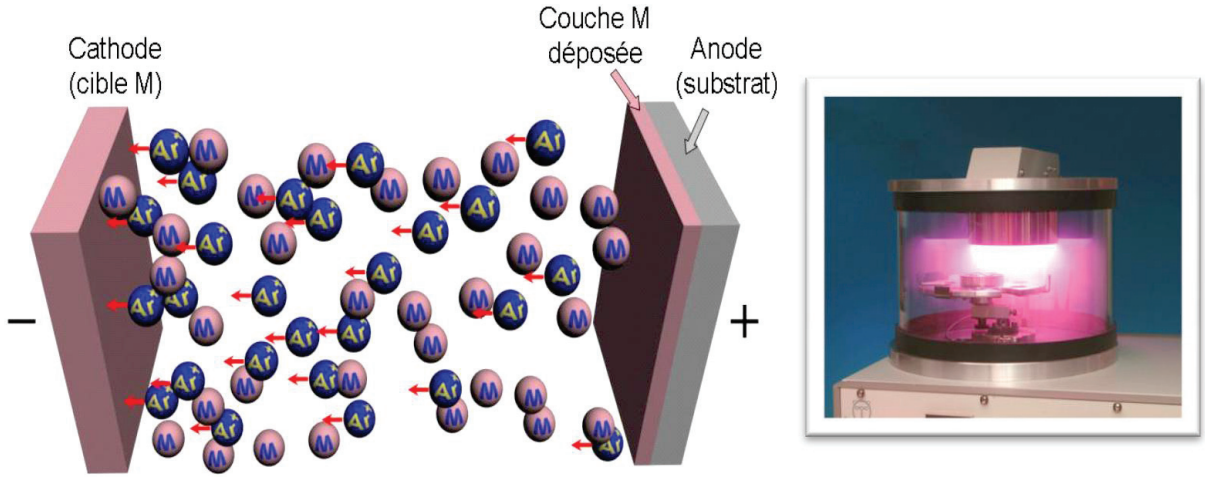


***Figure 2**. (à gauche) schéma illustrant le principe de la pulvérisation cathodique et (à droite) image d'un dépôt en cours de réalisation.*

1.2. Dépôts en phase liquide

Nous en venons ici à l'autre grande famille de méthodes de dépôt de couches minces, plus connus sous leurs dénominations anglo-saxonnes, LPD, pour « *Liquid Phase Deposition* », ou CSD, pour « *Chemical Solution Deposition* », elles sont bien moins coûteuses que les méthodes décrites précédemment du fait de leur simplicité de mise en œuvre et sont souvent réalisées à des températures bien inférieures aux précédentes méthodes. On y trouvera des techniques telles que les synthèses hydrothermales [27], les "spray-pyrolyses" [28], les précipitations [29], seulement par la suite nous présenterons plus particulièrement les procédés sol-gel et dans une moindre mesure les dépôts par voie électrochimique.

1.2.1. Procédés sol-gel

Ces procédés s'effectuent dans des conditions de chimie douce à des températures nettement plus basses que celles des voies classiques de synthèse, d'où leur originalité. Ils peuvent être utilisés dans différents domaines tels que l'élaboration de matériaux hyper-poreux, de céramiques, de composés hybrides organométalliques. Il faut rappeler que ce procédé fit son apparition comme nouvelle voie de synthèse du verre en 1845 avec la conversion de l'acide silicique en verre réalisée par le chimiste français Jacques-Joseph Ebelmen. Seulement, il faudra attendre plusieurs années avant que des chercheurs et industriels s'intéressent réellement à cette méthode. Ce procédé permit alors d'obtenir des matériaux vitreux, sans passer par l'étape de fusion à haute température, par simple polymérisation de précurseurs chimiques en solution. Par la suite, il fut élargi à d'autres matériaux non vitreux tel que les gels que ce soit des gels hybrides organique-inorganique ou encore des composites [30]. L'utilisation de sol précurseur pour la réalisation de revêtements en couches minces d'oxydes, fait l'objet de très nombreuses recherches [31] notamment sur le dépôt de films nanostructurés d'oxyde de zinc à partir de sel de zinc [32; 33; 34; 35]. On retrouvera le plus souvent non pas la dénomination procédé sol-gel mais « *Chemical bath deposition* ». Les **figures 3** et **4** illustrent les nanostructures obtenues par ce procédé. Une grande variété de formes et de très haute densité de dépôt peuvent être obtenue par simple modification des conditions de dépôt (type de solvant et durée d'incubation).

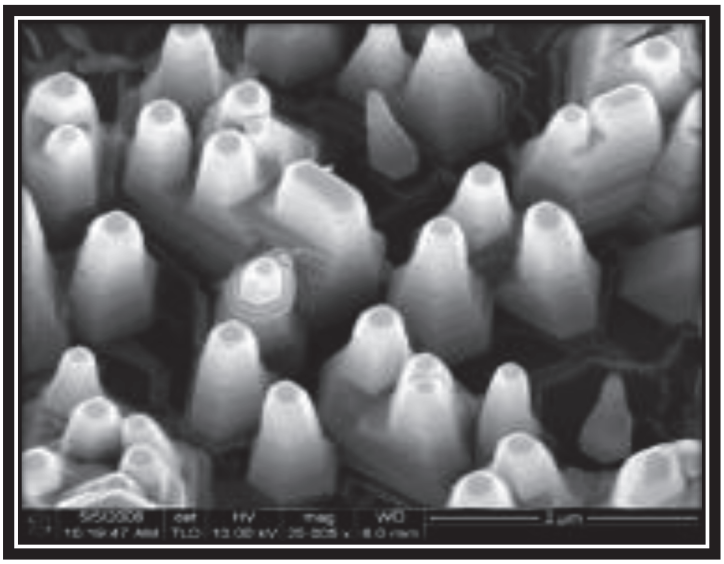


***Figure 3**. Image en microscopie électronique à balayage de nanostructures d'oxyde de Zinc déposées sur un support de $ScAlMgO_4$ (tiré de [29])*

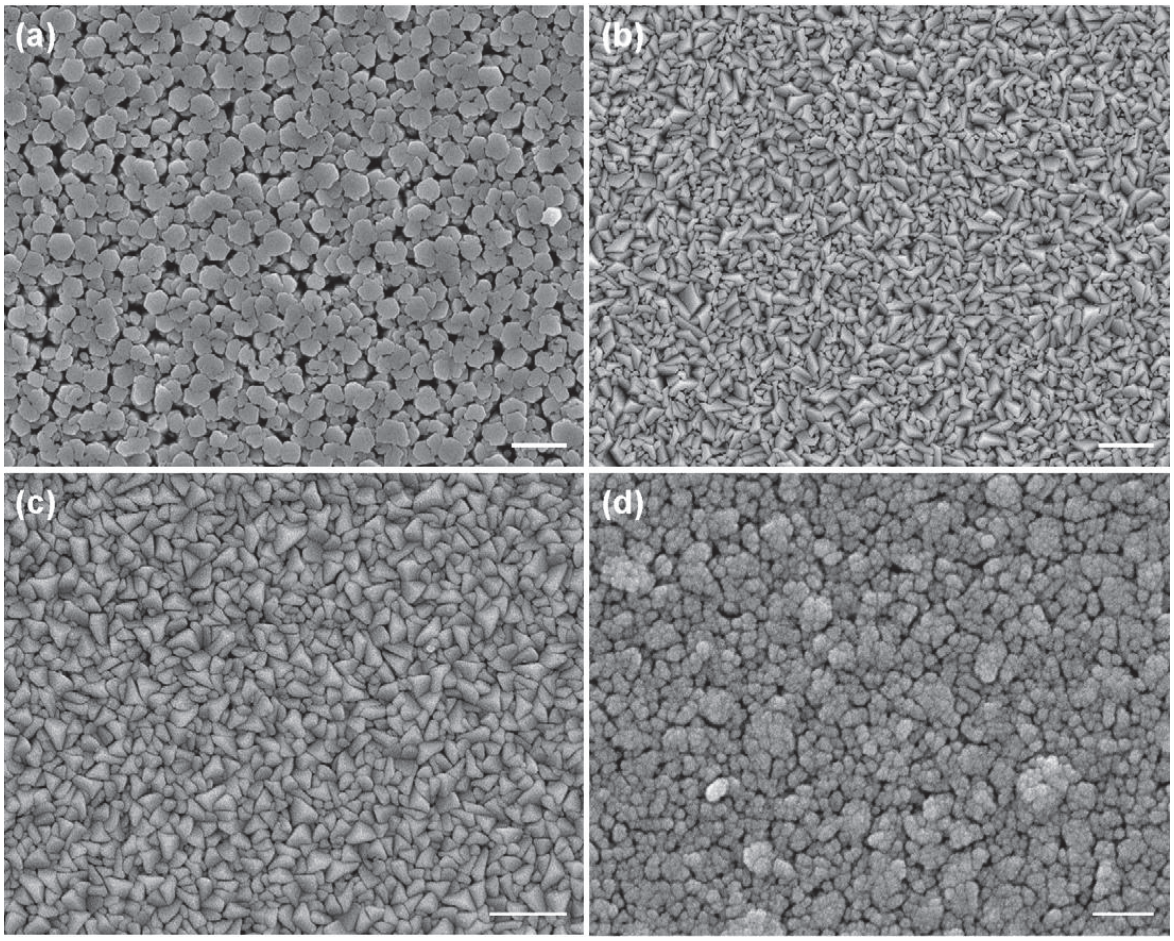


Figure 4. *Images en microscopie électronique à balayage d'échantillons d'oxyde de zinc déposés sur support de verre prétraité. (a) dépôt en solution aqueuse durant 1 h; (b) en solution mixte eau/éthanol (3/1) pendant 2h; (c) dans un mélange eau/éthanol (1/1) 3 h; (d) dans une solution éthanol pendant 4h. Les échelles sont de 1µm (a, b), 500nm (c) et 200 nm (d) (tiré de [26])*

Aujourd'hui, la méthode sol-gel est très employée pour réaliser des matériaux de type hybride organique-inorganique [36]. D'un point de vue expérimental, la voie sol-gel consiste à réaliser une solution stable (*i.e.* le sol) contenant les précurseurs chimiques et d'initier des réactions d'hydrolyse-condensation au sein de cet ensemble [37; 38; 39]. On peut distinguer deux principaux précurseurs chimiques :

- les cations métalliques dispersés en solution aqueuse s'hydrolysant pour former des liaisons métal-oxygène. Formant ainsi une voie de synthèse dite colloïdale [40; 41],
- les organométalliques ou alcoxydes (groupement organique alkyle de formule C_nH_{2n+1}) en solution organique entrant dans la voie dite polymère.

Ainsi l'agrégation ou la polymérisation de ces précurseurs conduit à la formation d'un réseau tridimensionnel interconnecté et stable, appelé gel. A partir de ces gels, il est possible d'obtenir des aérogels ou des xérogels en fonction du séchage [42] comme présenté sur la **figure 5**.

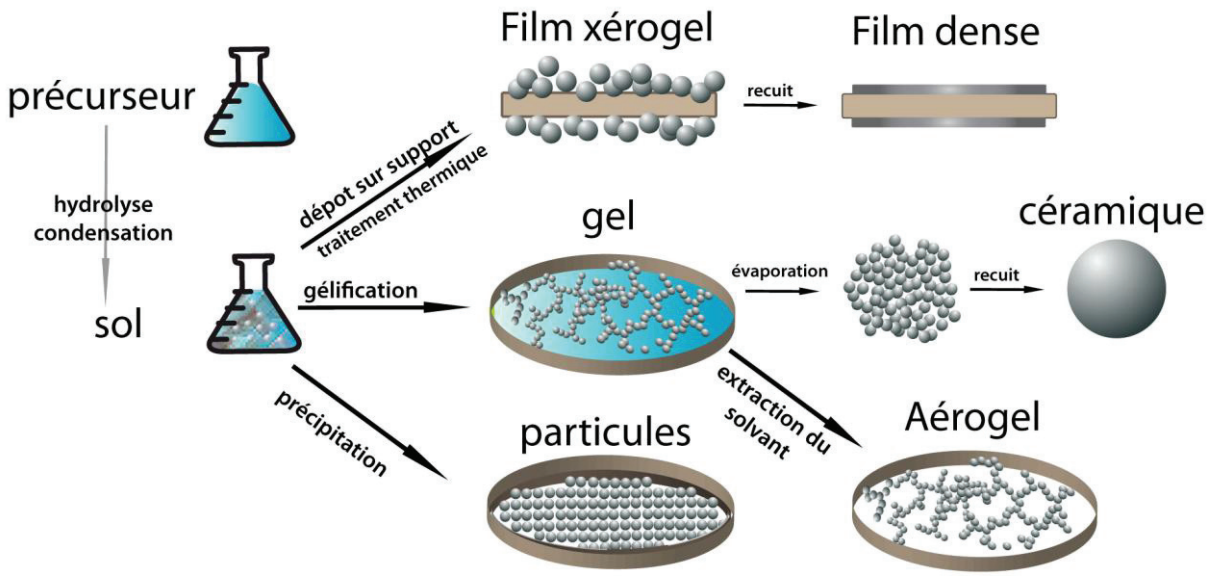


Figure 5. *Schéma général du procédé sol-gel et finalités*

A partir de sols, il est également possible de réaliser des fibres par coulage dans des capillaires mais aussi et surtout des couches minces par dépôt sur support. Les couches minces peuvent être réalisées à partir de la méthode sol-gel par pulvérisation (« *spraying* »), par trempage (« *dip-coating* ») ou encore par centrifugation (« *spin-coating* »). Ces techniques de dépôt sont aussi utilisées pour la réalisation de couches mésoscopiques comme nous le verrons par la suite. Quelques inconvénients de cette méthode doivent être soulignés et notamment pour la voie polymère. En effet, le coût de précurseurs alcoxydes peut être élevé et surtout d'un point de vue écologique, la manipulation d'une quantité importante de solvants peut avoir un impact important sur l'environnement. Par contre cette méthode produit souvent des couches de faibles épaisseurs (monocouche moléculaire sur le support), elle est donc avantageuse pour l'obtention de couche mince. De plus si l'on souhaite obtenir des épaisseurs plus importantes (centaines de nanomètres ou plus), il suffit alors de multiplier les étapes de dépôt et de séchage. Néanmoins la multiplication des étapes entraîne l'augmentation des risques de défauts au niveau des dépôts car les premières couches déposées subissent des étapes de séchages successifs.

1.2.2. Voie électrochimique

Cette méthode dite d'électrodépôt ou encore « *electroplatting* » est très largement répandue. On parle souvent de« galvanisation » des métaux, largement utilisée depuis des décennies dans les traitements contre la corrosion dans les secteurs consommateurs d'acier (bâtiment, automobile, aéronavale). Le procédé consiste à réaliser au sein d'une cellule électrochimique, un dépôt en surface d'un support (situé à la cathode) par application d'un courant électrique

au travers d'une solution électrolytique, contenant un sel du composé à déposer (exemples de sels : $AuClO_4$; Ag, Pd…). Il permet d'obtenir des couches minces typiquement comprises entre 0,1 et 30 microns [43].

Le domaine des semi-conducteurs fait également appel à ce type de technologie pour la réalisation de couches minces et de nanostructures. Sont principalement concernés les semi-conducteurs à base de composés binaires associant un élément du groupe II (cadmium, zinc) et un du groupe VI (groupe des chalcogènes avec l'oxygène, le soufre, le tellure, le sélénium). Si l'on se réfère aux travaux de Lincot publiés en 2005 [44], il apparait que le composé binaire le plus électrodéposé est le tellurure de cadmium CdTe. Les autres semi-conducteurs déposés par cette méthode sont les oxydes métalliques tels que l'oxyde de zinc [32; 45; 46; 47] qui se prête particulièrement bien aux nanostructurations et ce dans des conditions expérimentales assez simples [48; 49; 50]. De plus cette méthode permet un contrôle plus fin notamment au niveau des dimensions des structures des dépôts formés [51; 52]. Comme dans le cas des « *Chemical bath deposition* » cette voie de dépôt conduit à l'obtention de nanostructures de une à trois dimensions (**figure 6**.). Celles-ci se révèlent néanmoins particulièrement fragiles et d'une assez grande sensibilité au milieu, elles sont d'ailleurs essentiellement vouées à des applications optiques.

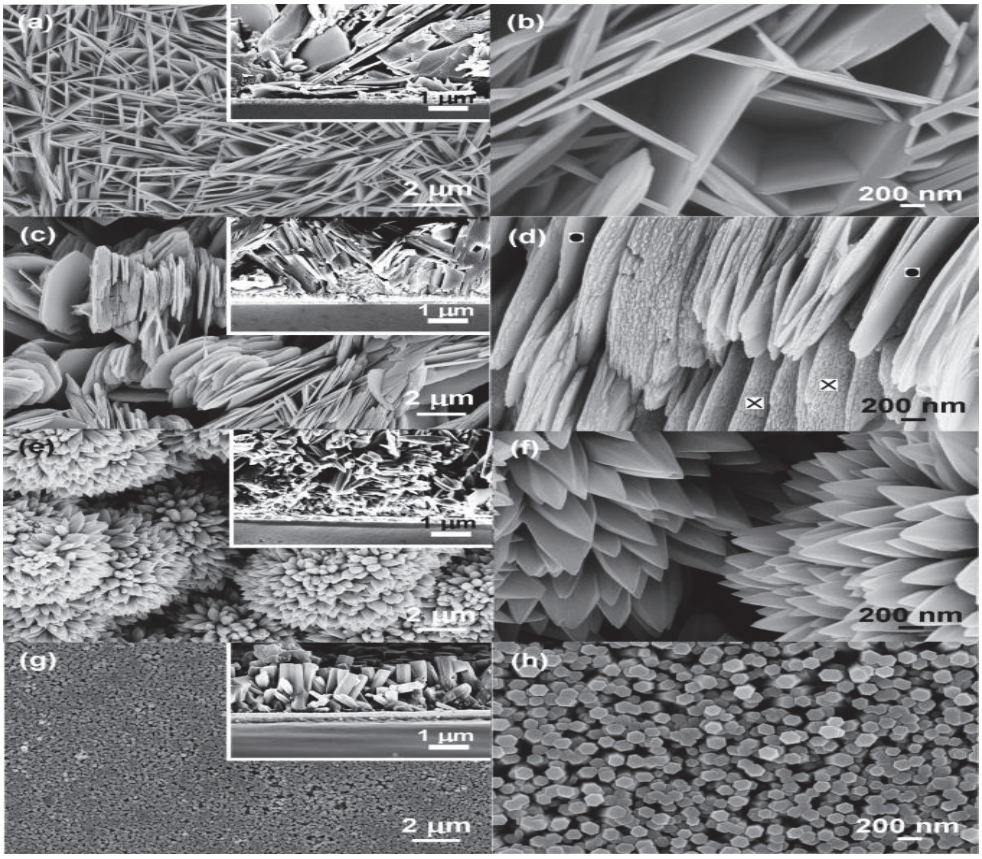
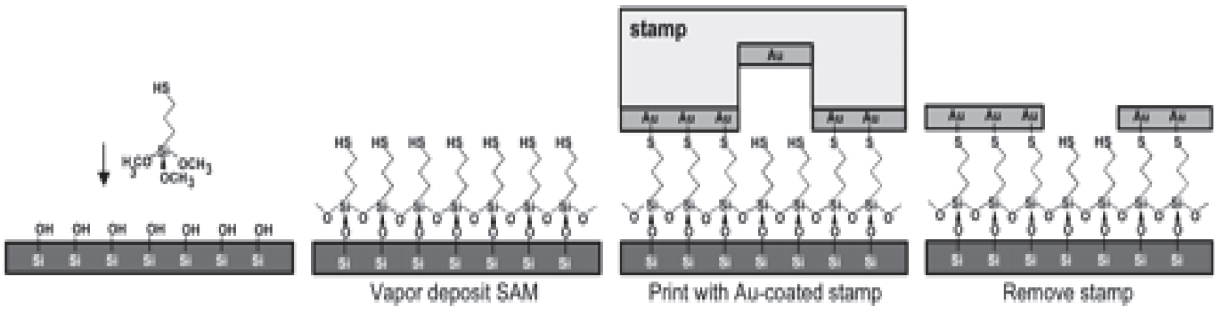


***Figure 6**. Images en microscopie à balayage de (a, b) nanofeuillets, (c, d) nanodisques, (e, f) nanopointes, et (g, h) nanocolonnes, de ZnO déposés sur support ITO à 70°C dans une solution à 0,1 M KCl contenant des concentrations différentes de $Zn(NO_3)_2 \cdot 6H_2O$ (tiré de [48])*

1.2.3. Auto-assemblages

L'auto-assemblage est l'obtention de structures organisées à partir de composants élémentaires se liant spontanément sous l'effet d'interactions physiques ou chimiques. Ils sont en général liés par des liaisons dites de faibles énergies telles que les liaisons hydrogène, les interactions électrostatiques et les liaisons hydrophobes. Cet assemblage spontané de molécules organisées peut être obtenu, suite à la recherche d'un niveau d'énergie minimal, ou être basée, sur une complémentarité structurale : si deux molécules ont des formes, ou des charges complémentaires, ces dernières auront tendance à s'assembler. L'auto-assemblage est présent dans toute matière vivante, il est à l'origine de l'obtention de structures très complexes. En effet, les molécules s'agitent de façon aléatoire sous l'effet du mouvement brownien mais dès lors qu'elles se trouvent en contact ou à proximité d'autres molécules présentant des sites réactifs spécifiques, il se produit une réaction d'auto-assemblage. La formation des microtubules au sein des cellules ou encore la formation de micelles à partir de molécules amphiphiles en sont des parfaits exemples.
De même, si l'on met en contact des molécules présentant une affinité pour un matériau donné, on observera la formation spontanée d'interactions avec la possibilité de création d'arrangements supramoléculaires. C'est le cas de molécules ayant un groupement thiol (alcane-thiol) à une extrémité, qui lorsqu'elles sont mises en présence d'un substrat métallique (or notamment), génèrent une couche mono-moléculaires très régulière c'est également le cas des silanes en contact avec la silice. L'auto-assemblage est notamment une des voies largement explorées en nanotechnologie pour fabriquer des composants par l'approche « *bottom up* ».

Une variante de ce procédé a conduit au développement de technique dites de micro- voir nano- tamponnage. La **figure 7** illustre l'utilisation de silane et de thiol pour la réalisation de dispositifs pour la microélectronique basés sur le dépôt d'or sur une surface de silicium [53].



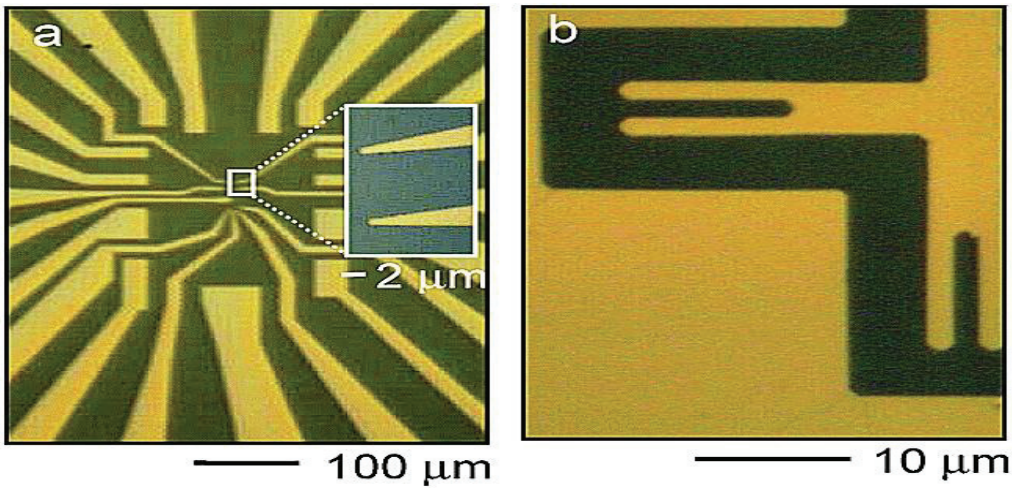


***Figure 7**. Illustration d'un nano-tamponnage sur (a) de l'oxyde natif à la surface d'un support silicium et (b) un support flexible de poly(éthylène téréphtalate) [53].*

Une autre application potentielle des auto-assemblages, non pas grâce à l'utilisation de groupements réactifs mais par une technique particulière dite de Langmuir-Blodgett a permis la réalisation d'assemblages multicouches de nanoparticule de ZnO et de SiO_2. Ainsi en 2008, Naszalyi *et al*. [54] ont développé des multicouches aux propriétés optiques et photocatalytiques, de par le couplage de ZnO et de SiO_2.

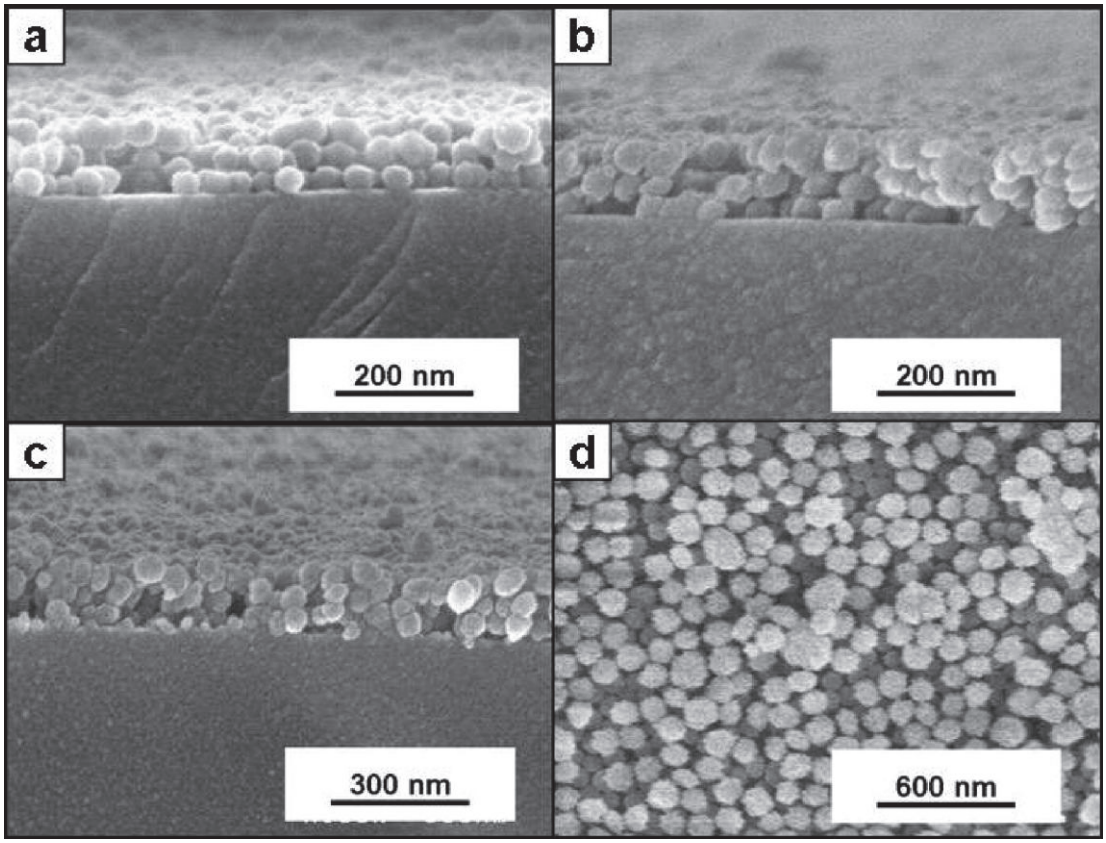


***Figure 8**. Dépôt de nanoparticules de ZnO et SiO_2 sur support verre ou silicium par Langmuir-Blodgett conduisant à la formation de multicouches. (d'après **[54]**).*

2. Techniques d'élaboration de couches mésoscopiques

Les couches mésoscopiques se distinguent des précédentes car elles permettent en plus de la réalisation de couches minces, le dépôt de couches d'épaisseur se situant le plus souvent dans la gamme du micromètre. On notera que l'essentiel des dépôts dits en couches mésoscopiques sont réalisés à partir d'éléments en phase liquide. Ces techniques permettent de déposer un réseau d'éléments conducteurs, semi-conducteurs ou passifs sur un support plan à partir d'encres et autres solutions spécifiques. C'est par exemple le cas des réalisations de certaines électrodes conductrices [4; 55] ou semi-conductrices (sérigraphie de ZnO [56]).

Il existe un certain nombre de techniques comme nous allons le voir dont la méthode par sérigraphie, largement utilisée depuis de nombreuses années au sein de l'équipe GEMBAS de l'**I**nstitut de **C**himie et **B**iochimie **M**oléculaire et **S**upramoléculaire [5; 57; 58].

2.1. Trempage (« *dip-coating* »)

Cette technique consiste à immerger un support dans une solution à viscosité définie puis à l'en extraire à vitesse contrôlée. Le contrôle de ces paramètres permet d'ajuster l'épaisseur souhaitée, c'est pour cela que cette technique sert également à la réalisation de couches minces par la voie sol-gel. Cette technique est particulièrement adaptée à la méthode sol-gel puisqu'un support plongé dans le sol précurseur et retiré à vitesse constante permet l'obtention d'un film mince dont l'épaisseur dépend de la concentration en éléments (sel ou alcoxyde) dans le sol. Le procédé permet ainsi d'obtenir avec précision des dépôts de qualité avec des épaisseurs de l'ordre de quelques dizaines de micromètres. En 2003 par exemple, une équipe japonaise a réalisé un dépôt conducteur d'ITO d'une épaisseur de 57 nm sur un support de verre, à partir d'une solution de chlorure d'étain et de chlorure d'indium [59]. Plus récemment en 2010, une équipe américaine a déposé, cette fois par voie colloïdale, alternativement des couches hydrophiles et hydrophobes de silice sur un support silicium avec des résolutions de l'ordre du micromètre [60]. Dans tous les cas, une étape de séchage à des températures (variables en fonction des échantillons) permet de libérer le solvant résiduel et de gélifier la couche. Enfin, un traitement thermique permet de libérer les radicaux organiques. Néanmoins, comme point négatif de cette méthode, on peut noter que la couche déposée n'a pas une épaisseur constante sur toute la surface du substrat. L'épaisseur est variable aux extrémités de la couche, mais constante sur une large surface au centre. Malgré tout cette méthode a l'avantage d'être facile à mettre en œuvre en étant également peu onéreuse.

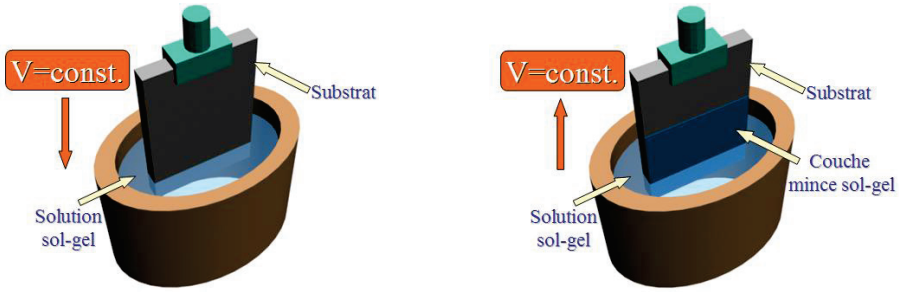


***Figure 9**. Illustration de la technique de trempage.*

2.2. Pulvérisation (« *spray-coating* »)

Elle fut largement utilisée particulièrement dans l'industrie, pour le dépôt de couches de peinture par exemple, néanmoins ici nous aborderons une pulvérisation particulière dite « *spray-pyrolysis* ». Cette méthode consiste à projeter une solution vaporisée en fines gouttes de deux ou plusieurs composés réactifs à l'aide d'un atomiseur (souvent à ultrasons) sur un support chauffé, ce qui permet d'activer thermiquement la réaction chimique entre les réactifs et le substrat et donc de produire le matériau désiré. A ces températures, certains produits de réactions seront immédiatement éliminés (des éléments volatils), il ne reste donc que le composé à déposer sur le substrat. L'intérêt d'une telle méthode résulte de sa simplicité de mise en œuvre, son faible coût, ainsi qu'un bon contrôle des conditions de dépôt (température du substrat, concentration de la solution de départ…) [61]. Toutefois la teneur en résidus de la solution de départ peut influencer l'évolution des propriétés du film. Dutta *et al*. ont pu adapter la technique au traitement de grandes surfaces [62], grâce au développement d'un réacteur permettant de déposer des couches uniformes sur des supports de 1m x 0.3m en couplant plusieurs chambres de dépôt. Plus tard en 2001, Veluchamy *et al.* ont également réussi à déposer sur une grande surface de CdTe des couches d'ITO d'aspect cristallin, en vue de l'élaboration de cellules solaires [63].

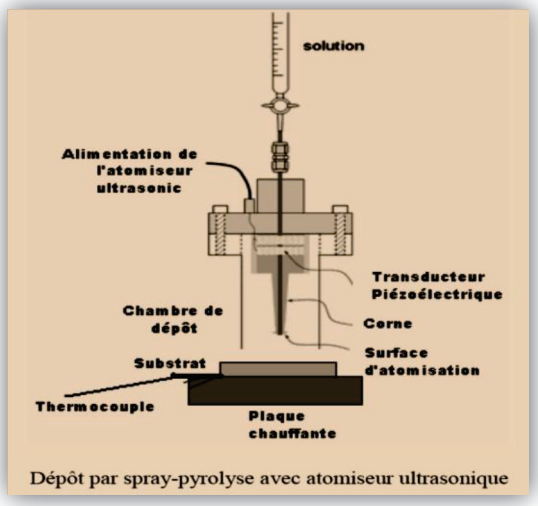


***Figure 10**. Illustration du principe par « spray-pyrolysis »*

2.3. Centrifugation (« *spin-coating* »)

Cette méthode couramment utilisée en micro-fabrication, permet l'obtention de couches relativement homogènes et ce dans des conditions peu contraignantes et à bas coût. Inversement proportionnelle à la vitesse de rotation, l'épaisseur du film dépend également de la viscosité du mélange et de la durée de rotation. On retrouve son utilisation dans de nombreux cas à travers la littérature notamment au niveau des techniques de photolithographie, que nous aborderons au chapitre 3.

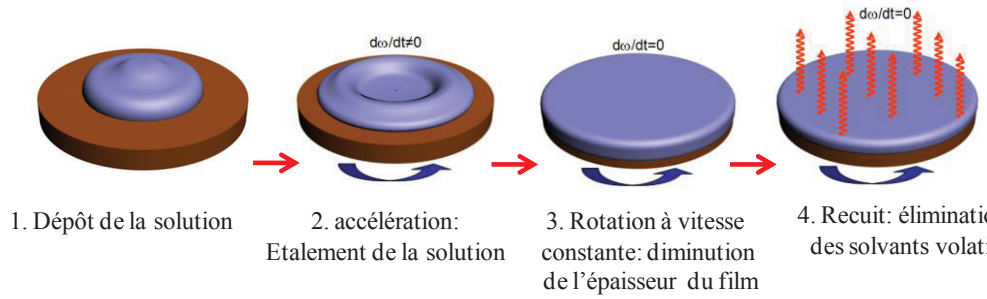


Figure 11. *Illustration du principe de spin coating, (ω représente la vitesse du rotation du substrat).*

2.4. Sérigraphie

L'élaboration de dépôts par sérigraphie comporte principalement trois étapes. En premier lieu, la fabrication, à partir d'un composé cible, d'une encre sérigraphiable présentant les propriétés attendues (optique, électrique, mécanique), puis l'impression de cette encre au travers d'un masque de fibres tissées ou d'aluminium, et enfin le traitement thermique des couches (étuvage et cuisson). Cette méthode a été utilisé depuis des décennies pour la réalisation d'électrodes que l'on retrouve dans la littérature sous l'appellation « SPE (*Screen Printed Electrode*) », deux revues récentes présentent un panel d'électrodes sérigraphiées et d'applications de ces dernières notamment dans le domaine des capteurs et biocapteurs [64; 65]. Par la suite, elle a été élargie à la réalisation de microstructures et systèmes plus complexes avec par exemple en 2011, des capteurs photo-électrochimiques pour pesticides intégrant des nanoparticules semi-conductrices d'oxyde de Titane [66] ou encore des cellules solaires intégrant des « quantum dots » de sulfure de cadmium au sein d'une électrode poreuse sérigraphiée d'oxyde de titane [67]. (Cette méthode sera détaillée dans le chapitre suivant et nous verrons son utilisation au cours de cette étude).

Nous venons ainsi de voir qu'il existe un certain nombre de méthodes grâce auxquelles il est possible d'obtenir des couches sub-micrométriques de nombreux matériaux. L'un des objectifs de cette thèse était de pouvoir obtenir des supports aux propriétés électriques

spécifiques (semi-conducteurs et conducteurs) pouvant être utilisés par la suite comme transducteurs électrochimiques pour la réalisation de biocapteurs par exemple. Privilégiant des méthodes peu onéreuses et afin de bénéficier de l'expérience du Laboratoire, les méthodes de sérigraphie et *spin coating* ont alors retenu notre attention. Ceci nous a conduit à nous tourner tout naturellement vers des procédés s'inspirant des méthodes sol-gel afin de réaliser des nanomatériaux et matériaux composites et les déposer par ces techniques. C'est ainsi que l'élaboration d'une encre polymére déposable et aux propriétés contrôlées, basée sur la modification d'encres et résines, est apparue comme une opportunité intéressante. Néanmoins le domaine des composites est vaste comportant une multitude d'études et surtout une variété importante de composites et d'encres. Nous allons donc essayer de présenter ce domaine d'étude, sans se focaliser exclusivement sur les nanocomposites conducteurs et semi-conducteurs afin de mieux rendre compte des applications qui en sont issues.

II. Matériaux composites et nanocomposites

S'agissant des composites l'homme n'a rien inventé, on en retrouve dans la nature jusqu'en nous. L'os et le coquillage, constitués de cristaux de phosphate de calcium dans une matrice de collagène en sont un exemple, ils sont des composites à la fois flexibles et solides. Quant à l'homme, il en réalise depuis l'antiquité, notamment par inclusions de nanoparticules métalliques pour obtenir certains pigments de colorations particulières, utilisés pour les vitraux et les céramiques. Par la suite le procédé est devenu plus courant. On retrouve ainsi des composites dans divers produits comme les pneumatiques, où le caoutchouc est renforcé depuis le début du 20ème siècle par des particules de noir de carbone (usure et vieillissement plus lents), le béton, assemblage de sable et gravier liés par un ciment ou encore le béton armé, renforcé par des armatures métalliques.
La science des composites utilise donc généralement des ajouts d'éléments fibreux avec des diamètres de l'ordre du micron ou plus, comme les fibres de verre et les fibres de carbone, dans diverses industries (BTP, automobile...)

Mais avec des charges d'une taille nanométrique, on pourrait obtenir des composites multifonctionnels alliant des propriétés mécaniques, optiques, électriques avec en plus la possibilité d'avoir des surfaces structurées. Un composite est appelé nanocomposite dès que l'un des éléments insérés a au moins une de ses trois dimensions géométriques de l'ordre de quelques nanomètres.

Lorsque l'on diminue la dimension d'un objet, son rapport surface/volume augmente. Ainsi à volume de dopants égal, il y a une plus grande surface de contact charge-matrice lorsque l'on diminue la taille des charges. Or, c'est précisément cette interface qui contrôle l'interaction entre la matrice et les charges. Par rapport aux composites conventionnels, les

nanocomposites sont caractérisés par de faibles quantités (moins de 5% en poids) de charges. Dans le cas des nanocomposites de type silicate (argile), des contenus en charge de 2 à 5% du poids se traduisent par des propriétés mécaniques semblables à celles de composites conventionnels ayant des taux de charges de 30 à 40%. Ceci explique une partie des avantages des nanocomposites face aux composites classiques à charges micrométriques. On y trouvera, l'augmentation de la résistance mécanique [68], le renforcement de la capacité du matériau à se déformer sans se rompre [69] et aussi l'évolution de propriétés optiques. En effet, les dimensions des nanoparticules étant inférieures aux longueurs d'onde de la lumière visible (380-780 nm), de nombreux nanocomposites conservent la transparence de la matrice mais sont alors capables de « luminescer » après excitation sous UV. Les propriétés de luminescence varient selon la taille des particules [70]. Un exemple d'application en optique porte sur l'optique dite guidée avec par exemple des recherches depuis une dizaine d'années sur les nanocomposites à base de iodate de lithium ($LiIO_3$) dans des matrices de silicates [71; 72]. Restant dans le même cadre de recherche, on évoquera l'élaboration de composites intégrés au sein de capteurs basés sur le phénomène de résonances de plasmons de surface [73; 74; 75]. Ces derniers sont basés sur l'intégration de nanoparticules métalliques dans une matrice diélectrique dont la résonance des électrons de conduction du métal est initiée par excitation sous une lumière incidente. En pratique, ce phénomène donne lieu à l'apparition d'une bande d'absorption. La position, la largeur et l'amplitude de cette bande d'absorption sont fonctions des caractéristiques nano-structurales, notamment : la nature et la concentration du métal, la taille des nano-objets, leur forme et l'indice de réfraction de la matrice.

D'une manière générale on peut considérer qu'un composite est la résultante de l'association de deux éléments fondamentaux que sont un additif et une matrice.

1. Renforts ou additifs

Ils peuvent se présenter sous plusieurs aspects, il est donc courant de les classer selon leur géométrie. On distingue ainsi :

- les **charges 1D** (feuillets) : Ce sont des structures constituées d'un ou plusieurs plans d'épaisseur nanométrique. Les deux autres dimensions devant être au minimum 25 fois plus grandes pour avoir l'appellation de feuillet. Dans ce cas, une seule des dimensions est de l'ordre du nanomètre et les autres dimensions peuvent aller de quelques dizaines à plusieurs centaines de nanomètres. Ces structures peuvent être pour les plus répandues des argiles naturelles (par exemple : montmorillonite) ou synthétiques (par exemple: laponite) mais aussi des phosphates de métaux de transition (phosphate de zirconium $Zr(HPO_4)$). Malgré tout, les feuillets d'argile restent les plus utilisés de par leur abondance et leur chimie bien caractérisée. Certains travaux par exemple ont mis en évidence que le dopage d'une matrice de polyamide avec des feuillets d'argiles permettait une amélioration du comportement

thermique du polymère ainsi qu'une meilleure résistance mécanique [76]. Dans un autre registre, les feuillets de graphène ont été utilisés dans l'élaboration d'une supercapacité en les incluant dans un polymère PEDOT (polyéthylène-dioxythiophène), ceci permettra à terme d'obtenir des supercapacités flexibles, facilitant leur intégration au sein de systèmes plus complexes de stockage d'énergie [73].

- les **charges 2D** (nanofils ou nanotubes) : Les deux dimensions sont de l'ordre du nanomètre et la troisième est largement supérieure, formant ainsi une structure fibrillaire. Ils ont un diamètre souvent inférieur à 100 nm, et présentent un rapport longueur/diamètre supérieur à 100. Les nanofibres, nanofils et plus récemment les nanotubes de carbone ont déjà fait l'objet de nombreuses études, mais c'est la mise au point de méthodes fiables de production qui a réellement ouvert de nouvelles perspectives d'application. Les nanotubes de carbone (ou CNTs) sont particulièrement utilisés comme dopants pour leurs exceptionnelles propriétés thermiques, mécaniques et électriques. Il existe désormais un nombre important de travaux publiés sur ce sujet que nous ne pouvons résumer ici. L'intégration de nanotube de carbone dans une matrice de PMMA a par exemple permis la réalisation de nouvelles structures pour fibres optiques [77]. Ces charges conduisent aussi à développer des matériaux polymères de rigidité mécanique importante. Par exemple, l'équipe de Cheng, a pu obtenir en alignant des nanotubes de carbone au sein d'un polymère époxy, une structure possédant une résistance à la tension supérieure à celle de composés d'alliages en acier ou aluminium [78]. D'autres équipes ont réussi à former des complexes supramoléculaires en enroulant des polymères autour des nanotubes [79] ou encore à fonctionnaliser de tubes monofeuillets avec le poly(métaphénylènevinylène) (PmPV) conduisant à une amélioration par huit de la conductivité du composite par rapport au polymère seul, tout en maintenant les propriétés de luminescence du celui-ci [80].

- les **charges 3D** (nanoparticules) : Ce sont des charges dont les trois dimensions sont de l'ordre du nanomètre. Ils sont déjà largement utilisés dans différents domaines industriels tel que les cosmétiques. Souvent de forme sphérique et de quelques nanomètres de diamètre (ex : silice, oxydes métalliques, métaux, carbone). Les techniques récentes de dépôt et l'évolution des méthodes de synthèse ont permis d'obtenir et d'améliorer le contrôle de leurs propriétés physico-chimiques (dimensions, chimie de surface...). Ce sont principalement ces types de charge qui ont été utilisés dans notre étude comme nous le verrons au chapitre suivant.

2. Matrices

Les matériaux composites peuvent être aussi classés selon la nature de leur matrice et quelques fois aussi en fonction de leurs paramètres thermiques d'utilisation. On distingue ainsi :

♦ **Les composites à matrices réfractaires** (céramiques, verre, carbone) pouvant être utilisés jusqu'à des températures de 1000°C. Dans les secteurs aéronautique et spatial, les céramiques sont essentiellement des matériaux à très forte valeur ajoutée, dits thermo-structuraux. C'est-à-dire qu'on attend d'eux une grande solidité, et un comportement irréprochable vis-à-vis des hautes températures, mais le point faible de beaucoup de céramiques est leur relative fragilité : elles sont certes dures, inusables, mais susceptibles de se briser. En les renforçant par des fibres de carbure de silicium, ou de carbone, on obtient ainsi des composites à matrice céramique (CMC), matériaux réfractaires cette fois non fragiles, qui possèdent alors les propriétés thermiques et la fiabilité mécanique nécessaire pour être opérationnels dans des conditions extrêmes de température, de résistance. Ce type de matériaux est utilisé notamment en aéronautique pour les coques des réacteurs ou les panneaux des navettes spatiales de la NASA ou encore pour la coiffe de missile guidé dans l'armement.

♦ **Les composites à matrices métalliques** (MMCs) utilisables jusqu'à 600°C, ont été élaborés pour tenter de concilier les qualités des métaux (ductilité, bonne tenue face au vieillissement et au feu...) avec la légèreté et les caractéristiques mécaniques propres aux structures composites. Ce sont des matériaux performants, mais pénalisés par un coût de revient encore élevé et réservés à des applications relativement exigeantes. Un autre inconvénient est la grande réactivité chimique des métaux : ainsi lors de la mise au point du composite, il faut s'assurer que la matrice et la charge ne peuvent pas réagir entre eux de manière incontrôlée. Le plus souvent les matrices sont à base d'aluminium ou de titane.

♦ **Les composites à matrices polymère** (CMP) sont les plus utilisés car les mieux maitrisés grâce au développement de l'industrie des matières plastiques. Leur gamme d'utilisation ne dépasse pas les 300°C. (Nous détaillerons ce type de composite plus bas)

Nous venons ainsi d'introduire les notions de charge et de matrice et nous verrons que l'on pourra ainsi agir sur les propriétés thermiques, mécaniques, chimiques, électriques, optiques ou encore les propriétés dites de barrière en fonction du couple charge-matrice choisi :

♦ Les propriétés **mécaniques** (rigidité, résistance au cisaillement) : on peut arriver à réduire le poids d'un composite existant tout en conservant des propriétés mécaniques équivalentes, un exemple connu depuis longtemps, le renforcement du caoutchouc par l'adjonction de noir de carbone pour les pneus ou par l'adjonction de particules de silice ("pneu vert").

♦ Les propriétés **électriques** (conductivité) : Nombreuses sont aujourd'hui les encres sérigraphiables, imprimables, voir adhésives présentant des propriétés électriques par ajout de carbone (graphite, noir de carbone, nanotubes…). Les nanotubes de carbones ont l'avantage

par rapport aux feuillets micrométriques de graphite d'être efficaces à de très faibles taux de charge et de minimiser la détérioration des propriétés mécaniques du polymère.

♦ Les propriétés **de barrière**, ou sa capacité à contenir certaines molécules (liquide ou gaz). Pour cela la méthode la plus développée est l'incorporation de petites quantités d'argile dans le matériau de départ. En effet, les lamelles de silicate que l'on retrouve dans la structure des argiles sont imperméables à l'eau et aux gaz. Ainsi, elles augmentent la distance à parcourir pour les molécules qui diffusent. La quantité d'argile incorporée dans les polymères et le rapport de forme des objets contribuent à l'amélioration des propriétés de barrière. Cela permet par exemple de réduire la perméabilité aux odeurs des films pour emballage alimentaire, ou de réduire leur capacité à absorber l'humidité ou l'oxygène. On peut noter également les propriétés **thermiques** (conductivité thermique, résistance à la chaleur, ou résistance au feu (caractère ignifuge)) puisque l'introduction de nanofeuillets d'argile dans une matrice polymère permet de limiter les risques une fois que le feu est déclaré en diminuant la vitesse de dégagement de chaleur et réduisant la vitesse de propagation de l'incendie.

♦ Les propriétés **optiques** comme la capacité d'absorption de lumière, d'émission de fluorescence, ou de transparence ; ainsi l'ajout d'argile dans des films plastiques augmente leur transparence, ou encore le cas des nanopoudres luminescentes de certains types d'écran et des pigments métalliques inclus dans des peintures.

Les Composites à matrice organique ou polymère

Il s'agit des composites les plus répandus : ce sont en effet les seuls composites ayant, pour beaucoup d'entre eux, des coûts unitaires suffisamment réduits pour pouvoir être produits en grandes quantités. Pour rappel, les polymères sont de longues molécules assemblées par combinaison de motifs élémentaires appelées monomères. Il existe, les homopolymères qui contiennent un seul type de monomère, alors que les copolymères en contiennent deux ou plus. Le procédé de polymérisation est provoqué par modification des conditions physiques (température, pression) avec ou sans molécules initiatrices. Dans la plupart des cas la structure d'un polymère est amorphe mais peut parfois se trouver dans un arrangement partiellement cristallin. On distingue deux types de polymères, différenciés selon le type de liaisons existant entre les chaines :

- Les polymères thermoplastiques (Polychlorure de vinyle (PVC), *Cyclic Olefin Copolymer* (COC)) composés de chaines, très faiblement liées entre elles. Ils présentent des propriétés mécaniques et thermomécaniques faibles. La plupart des thermoplastiques sont solubles dans des solvants spécifiques.

- Les polymères thermodurcissables (résine époxyde, Polydimethylsiloxane (PDMS)) sont des polymères qui se présentent au départ sous forme liquide et qui sont réticulés par modification des conditions physico-chimique (température, initiateur de polymérisation, UV...). A l'inverse des thermoplastiques, des liaisons covalentes sont formées de manière irréversible entre les chaines. Ils présentent donc des propriétés mécaniques et thermiques plus élevées et ne peuvent être mis en forme qu'une seule fois. Ces polymères sont difficilement dissous.

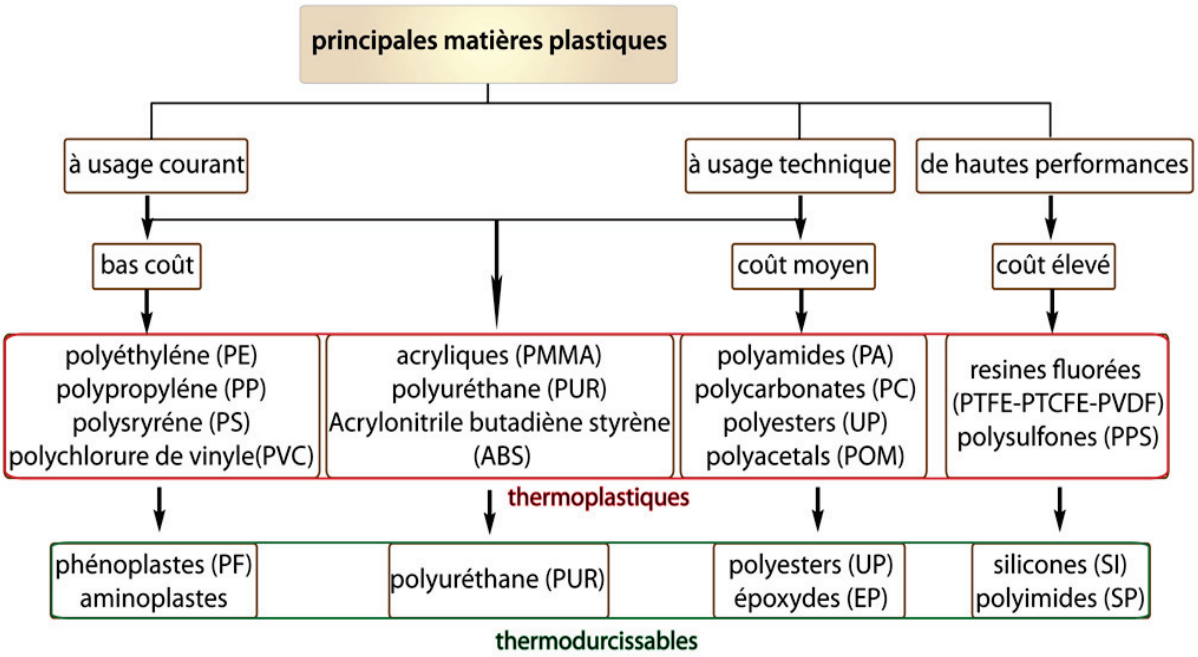


***Figure 12**. Classification des principales matières plastiques en fonction du coût et du type de polymérisation.*

Ainsi, la différence essentielle entre ces deux types de polymères est la nature des phénomènes physiques assurant leur cohésion. Les thermoplastiques sont constitués de longues molécules linéaires, maintenues entre elles par des liaisons physiques de faible énergie (liaisons hydrogène, de Van der Waals, **Figure 13 (a)**); ces liaisons se rompent lorsqu'on le chauffe et se reforment lorsqu'on le refroidit, et ceci de manière réversible. A l'inverse, les thermodurcissables apparaissent sous forme de réseaux tridimensionnels, maintenus par des liaisons chimiques de forte énergie (liaisons covalentes, **Figure 13 (b)**) établies de manière irréversible lors de la polymérisation.

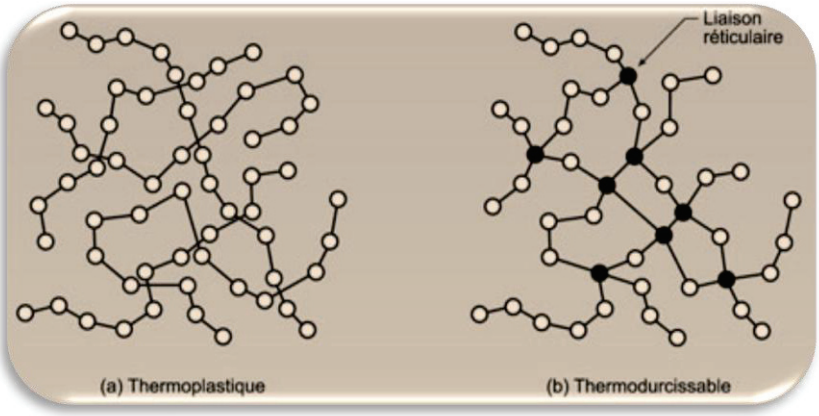


***Figure 13**. Représentation schématique (a) d'un polymère thermoplastique, et (b) d'un polymère thermodurcissable.*

En résumé, nous avons vu qu'un composite était le fruit de l'association de matériaux de natures différentes conférant au matériau résultant des propriétés qu'aucun des composants, pris séparément, ne possède. Ainsi un composite n'est autre que la dispersion plus ou moins organisée de charges au sein d'une matrice, devenant alors leurs liant. Si l'un des composants (le plus souvent la charge) est à l'échelle du nanomètre et reste à cette échelle une fois dispersé dans cette matrice, on parle alors de matériaux nanocomposites.

Quelques exemples de nanocomposites et de leur application :

Charges/dopant	Matrice	Propriété	références
MgO	polycarbonate	Barriere (flamme, chaleur)	[81]
Nanofeuillet carbone	Epoxy	Electrique	[82]
carbure de silicium	PMMA	Optique non linéaire	[83]
ZnO	PMMA	Luminescence	[84]
Graphène	PEDOT	supercapacité	[73]
Aluminum diéthylphosphinate et nanoparticules de Fe_2O_3	poly(butylene terephthalate) (PBT)	Barrière (retard de flamme)	[85]

3. Des applications tournées vers le biomédical

Avec les nanocomposites, on peut donc fabriquer des matériaux dont les propriétés fonctionnelles sont amplifiées voire nouvelles par rapport à celles du matériau de départ. Le résultat dépend de différents facteurs, telles que la nature des matériaux constituants (matrice et charge) mais également la taille, la géométrie et la distribution des nano-objets et la nature de l'interface matrice-nano-objets, ces derniers paramètres étant souvent établis dans la phase d'élaboration du composite. Un des domaines qui a en outre bénéficié de ces avancées est le secteur biomédical. Côtoyant de plus en plus celui de la micro-électronique et de la micro-

fabrication, il a ainsi vu émerger une multitude de projets innovants et d'applications, au niveau académique et industriel. Nous avons essayé dans ce paragraphe de présenter quelques applications, allant de la culture cellulaire aux microsystèmes électromécaniques MEMS (*Micro-Electro-Mechanical System*).

Dans le domaine de la **culture cellulaire**, en 2009 des chercheurs de Princeton ont utilisé un nanocomposite à matrice polymère vinylique dans laquelle des feuillets d'argile naturelle ont été ajoutés. Ce composite a dans un premier temps été testé comme support de croissance pour des cellules fibroblastiques humaines. Par la suite, se basant sur des études qui tendent à montrer, que l'application d'un champ magnétique influence de manière positive la croissance osseuse, ils ont ainsi ajouté des nanoparticules d'oxyde de fer au sein du composite. Ils ont alors observé deux phénomènes ; d'une part une prolifération d'ostéoblastes en culture favorisée et d'autre part une orientation des cellules dans la même direction que le champ magnétique appliqué , phénomène qui selon eux serait dû à l'implication des ions calcium présent au niveau du cytosquelette [86].

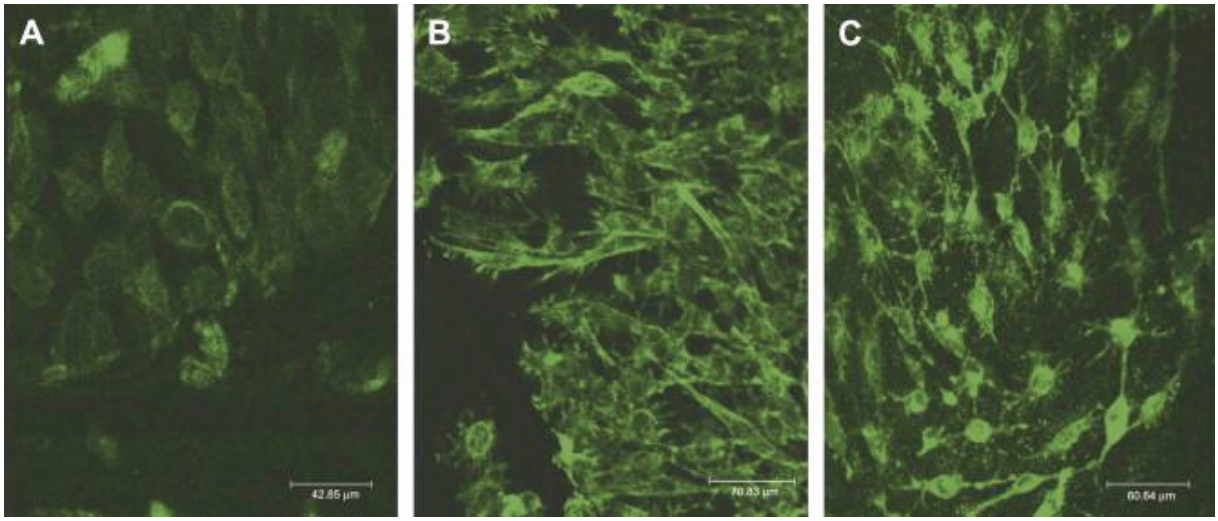


Figure 14. *Images en microscopie à fluorescence de cellules MC3T3 en surface d'un nanocomposite après 4 jours d'incubation: (A) cellule sur le nanocomposite EVA 260 avec 10% d'argile sans champ magnétique (B) cellule sur le nanocomposite EVA 260 avec 10% d'argile sous champ magnétique statique (C) cellule sur le nanocomposite EVA 260 avec 10% d'un mélange argile : $Fe(CO)_5$ (1:2) sous champ magnétique statique. Les cellules s'orientent alors en fonction du champ magnétique (issu de [86])*

Dans le domaine des **dispositifs implantables** tels que les pacemakers et les valves cardiaques, un aspect important est la protection de l'électronique et des systèmes fournissant l'énergie contre leur environnement biologique immédiat. Un des polymères largement utilisés pour recouvrir ces éléments est le polyuréthane, du fait de sa biocompatibilité et de ses propriétés mécaniques. Néanmoins ce dernier reste assez perméable à l'eau et à l'air, ce qui à

moyen terme, finit par endommager les systèmes. Pour tenter de pallier ce problème, l'équipe du Dr. Runt, a voulu utiliser la propriété de barrière qu'offre l'ajout de composés peu ou pas perméable. Ils ont donc ajouté au polyuréthane des nanoparticules de silice modifiées chimiquement permettant de maintenir le caractère biocompatible du composite et sa propriété mécanique. Il s'en est suivi la réalisation d'un nanocomposite 5 fois moins perméable à l'eau et à l'air que le matériau d'origine [87]. Certains équipements biomédicaux implantables font également intervenir des nanocomposites mais cette fois sous la forme de ce qu'on nomme les polymères électro-actifs (EAPs) de plus en plus utilisés dans les MEMS en tant que pompes ou valves artificielles [88].

Dans le domaine des biocapteurs on retrouve une fois encore les systèmes d'électrodes sérigraphiées. En effet, les encres carbones sérigraphiées ont été le support de nombreux dispositifs de détection d'éléments biologiques, on citera par exemple la détection de bactéries par spectroscopie d'impédance [89] ou encore celle plus classique de détection de réactions antigènes/anticorps [5].

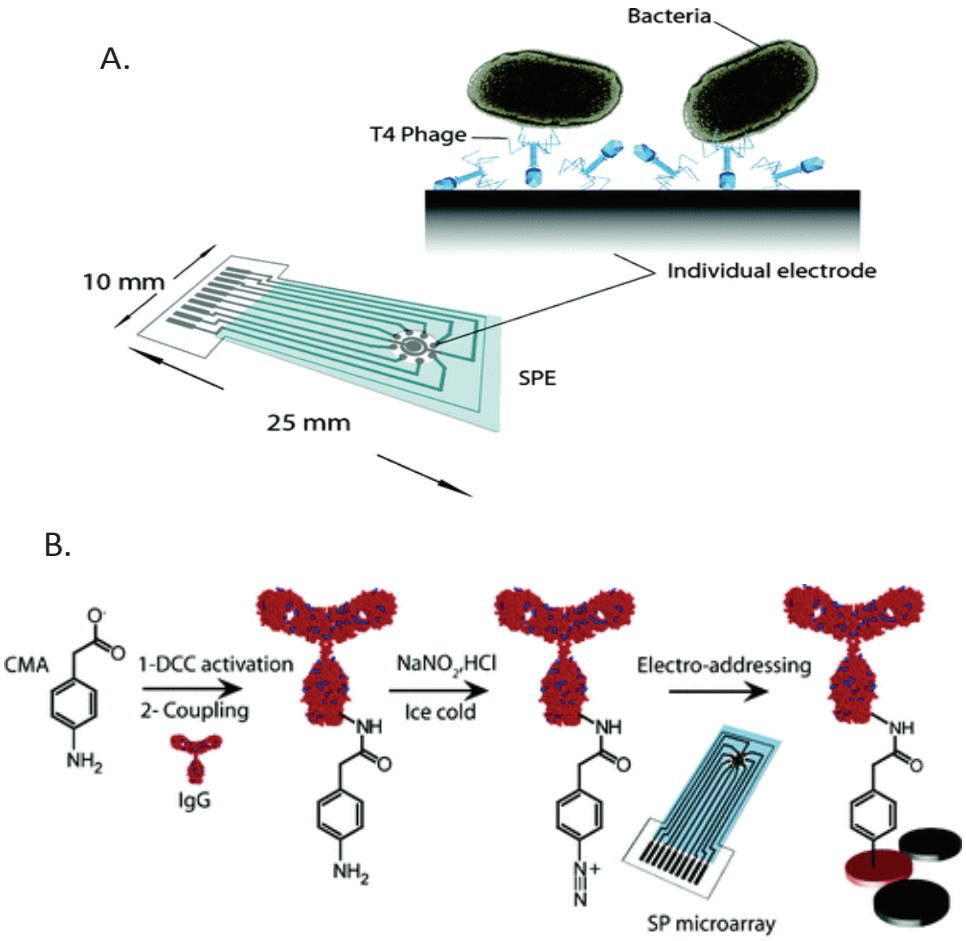


***Figure 15**. Schéma d'électrodes sérigraphiées utilisées pour la détection de bactéries (issu de [89]) et la détection antigène/anticorps (issu de [5]).*

Toutes ces propriétés permettent ainsi de concevoir des dispositifs de plus en plus sophistiqués avec une volonté de miniaturisation de plus en plus poussée.

Dans cette optique d'une application biomédicale, un autre facteur qui intervient dès lors que l'on veut créer des dispositifs tels que les capteurs et biocapteurs, c'est la fonctionnalisation des matériaux. Dans le cas des composites et encore plus pour les nanocomposites, une des grandes problématiques est liée à la présence d'une quantité élevée d'interface et de phases entre les nano-objets et la matrice polymère. Ainsi souvent les nano-objets sont modifiés pour obtenir une morphologie particulière, ou une bonne « dispersibilité » au sein de cette matrice. Néanmoins une modification des particules pour une meilleure compatibilité avec la matrice se fait au détriment de la possibilité de future fonctionnalisation de ces objets. C'est pour cela que dans notre cas les nano-objets sont placés au sein des matrices sans modification préalable de leur surface afin de permettre par la suite des essais de fonctionnalisation par des groupements chimiques fonctionnels ; avec l'objectif affiché d'obtenir des nanocomposites semi-conducteurs et conducteurs pouvant servir de transducteur dans des biocapteurs. La méthode visée ici étant de pouvoir modifier ces éléments au sein même du composite. On notera cependant que la fonctionnalisation des polymères est également possible, c'est notamment le cas de la fonctionnalisation du PDMS [90] ou du PMMA [91] par des biomolécules.

III. Modification de surface et fonctionnalisation des matériaux formés

Parmi la grande variété de méthodes permettant de modifier la surface d'un matériau, nous nous focaliserons dans ce paragraphe sur la fonctionnalisation des charges conductrices et semi-conductrices.

1. Modifications sur les semi-conducteurs

1.1. Silicium :

Outre les méthodes de modification par silanisation visant à modifier l'oxyde présent en surface du silicium, la formation d'une monocouche organique liée par une liaison directe silicium-carbone a été une grande avancée. Celle-ci fut l'objet d'un grand nombre de travaux. Néanmoins la majorité des voies se basent principalement sur la chimie du silicium hydrogéné c'est-à-dire débarrassé de sa couche d'oxyde et suivent donc le principe des réactions d'hydrosilylation.

- **<u>Voie chimique impliquant des initiateurs de radicaux</u> :**

En 1993, Linford et Chidsey formèrent une couche organique à la surface d'un cristal de silicium en le plongeant dans un mélange de diacylperoxyde possédant une chaine alkyle et un alcène [92]. Le mécanisme proposé est un mécanisme radicalaire où la décomposition du peroxyde en deux radicaux alkyles accompagnée du départ d'une molécule de CO_2 permet la formation de radicaux silyles à la surface du silicium. Ce dernier réagit rapidement avec la liaison insaturée de l'alcène, formant la liaison silicium – carbone. (**Figure 15**)

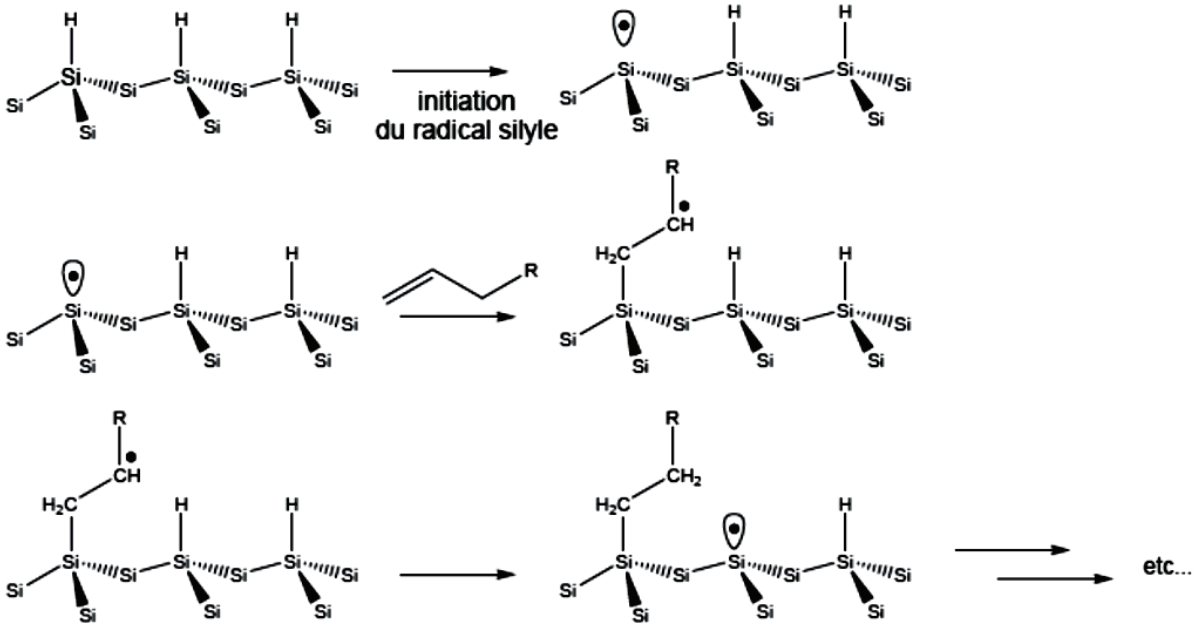


Figure 16. *Mécanisme du greffage d'alcènes en présence d'un initiateur radicalaire (issu [92])*

Une autre voie en deux étapes consistant d'abord à halogéner la surface hydrogène avec des agents de types PCl5 ou N-bromosuccinimide puis à apporter des organomagnésiens de type R-Mg-X (réactifs de Grignard) ou des alkyllithium [93].

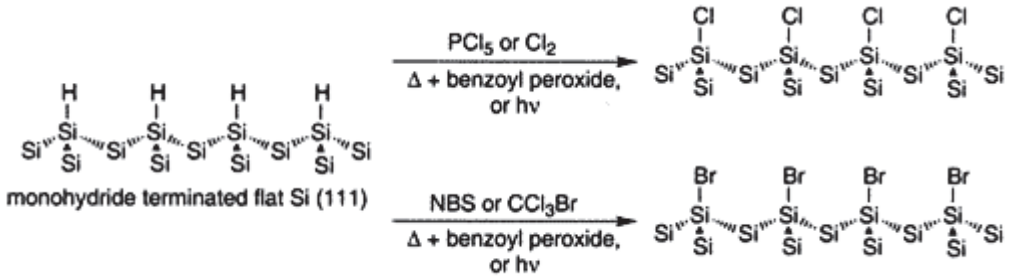


Figure 17*. Greffage via halogénation sur support silicium hydrogéné en surface [93]*

- **Voie thermique** :

Poursuivant leurs travaux Linford, Chidsey *et al.* ont découvert que le diacylperoxyde qui initie l'hydrosilylation n'était pas nécessaire si la réaction a lieu à de hautes températures (> 150 °C). En effet à ces températures, il semble que la rupture homolytique de la liaison silicium-hydrogène est possible, et que la formation de radicaux silyles à la surface du cristal est alors quasi-spontanée [94]. Cette méthode utilisait au départ des composés purs. C'est seulement par la suite qu'une hydrosilylation en milieu dilué a été réalisée [95], cela élargit donc la gamme de composés potentiellement utilisables notamment les composés coûteux à produire.

- **Voie photochimique** :

De la même manière que l'énergie apportée thermiquement permet de se passer de l'utilisation d'un initiateur, l'approche photochimique a permis elle aussi le greffage d'alcènes et d'alcanes sur des surfaces hydrogénées de silicium cristallin ou poreux. L'avantage principal d'une initiation photochimique du greffage est l'absence de chauffage. En effet, l'apport thermique doit être limité afin de ne pas endommager d'éventuels motifs fragiles présents sur les molécules à greffer ou au voisinage de la surface à modifier. De plus, l'utilisation d'une radiation lumineuse a rapidement orienté les chercheurs vers un greffage localisé via l'utilisation de masques. Ainsi, utilisant un masque physique, il est alors possible de reproduire des motifs et de modifier de manière contrôlée la surface. En utilisant des masques de circuits imprimés des chercheurs ont ainsi pu former des monocouches organiques à la surface du silicium [96]. Cette formation de monocouches auto-assemblées suivant des motifs prédéfinis a ouvert ainsi la voie à ce que nommera plus tard la lithographie.

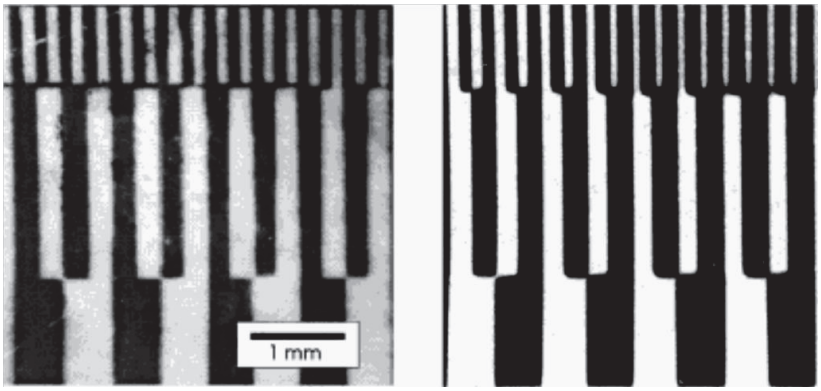


***Figure 18**. Image en Microscopie optique d'un motif de monocouche auto-assemblée sur une surface de silicium (à gauche) via l'utilisation d'un masque (à droite) [96].*

Un autre groupe a par la suite [97]utilisé des grilles d'or plaquées sur un cristal de silicium comme masque durant l'illumination, afin de réaliser un pavage de zones hydrophiles séparées par des lignes hydrophobes comme l'illustre la **figure 18.**

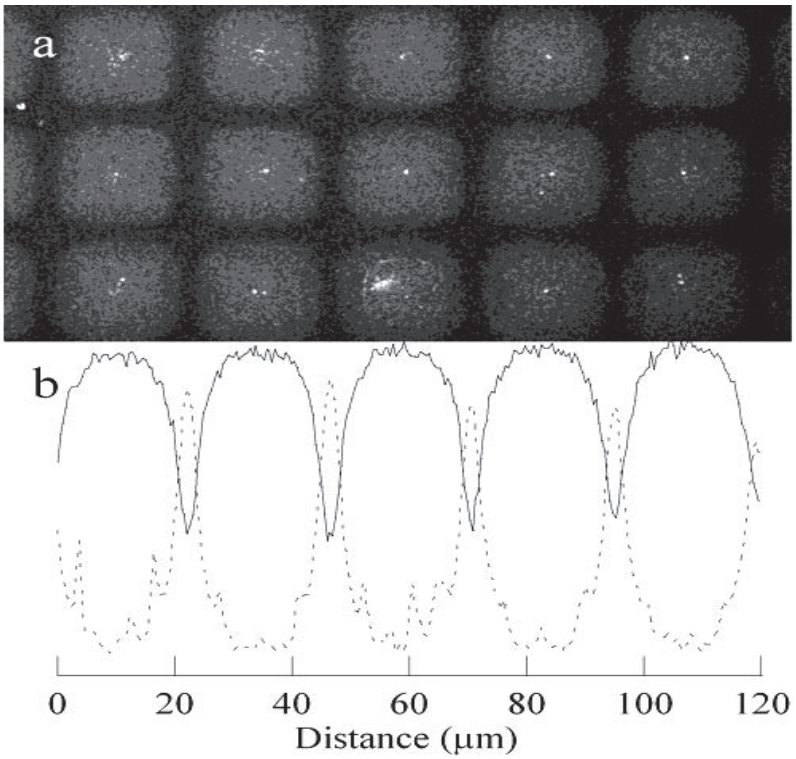


Figure 19. *(a) Image en microscopie électronique à balayage de la surface de silicium modifiée. (b) Profile obtenu par spectroscopie Auger de la surface modifiée, en pointillé sont représentés les atomes de carbone et en trait plein les atomes d'oxygène (issue de [97])*

- **<u>Voie électrochimique</u>**

L'oxydation électrochimique d'organomagnésien ou d'organolithium via la formation de carbanions en régime anodique et la réduction de sels de phényldiazonium sur du silicium cristallin ou poreux constituent une autre grande voie de fonctionnalisation et modification de surface. En effet si l'on se penche plus particulièrement sur les diazoniums, l'équipe du Pr Allongue, avait dès 1998 montré la possibilité d'obtenir des couches homogènes de composé de formule $^{+}N_2$–Ar–X ou X pouvait être Br, NO_2, COOH, CN, CnH2n+1 (n=1, 4, 12), ce qui offre de nombreuses possibilités de modification de surface et ceux en milieu aqueux [98].

1.2. Oxydes métalliques

Comme nous l'avons cité plus haut la silanisation est une des principales méthodes de modification du silicium oxydé en surface mais elle s'applique également à beaucoup d'autres

composés présentant des groupements hydroxyles en surface. Notamment les semi-conducteurs binaires que sont les oxydes métalliques tels que TiO_2, ZrO_2 ou le ZnO. Ces composés peuvent réagir chimiquement avec d'autre groupement de part les fonctions hydroxyle qu'ils présentent en surface. Il apparait que l'un des groupements chimiques les plus réactifs vis à vis des oxydes métalliques est l'acide phosphonique ($P(O)(OH)_2$) suivi par l'acide carboxylique (COOH) et ses dérivés (ester…) [99]. De nombreux essais de couplage impliquant les groupements cités précédemment mais aussi des thiols, des silanes (chloro ou éthoxy-silane), ont été tentés sur ces matériaux comme le présente le **tableau 1**. On retrouve ainsi de nombreuses études sur la modification des oxydes métalliques par des organosilanes [100; 101]. Ceci a conduit à la possibilité de modifier la surface de particules d'oxyde de zinc par des molécules de méthacrylate de méthyle par la présence de groupements carboxyliques formant ainsi des liaisons zinc-méthacrylate permettant d'augmenter la solubilité de ce composé en milieux aqueux [102].

***Tableau 1**. Exemple de modifications de surface d'oxydes métalliques par certains groupements chimiques.*

	Groupements chimiques impliqués dans le greffage				
Oxydes métalliques	$-SiCl_3$	$-SiOEt_3$	$-P(O)(OH)_2$	-COOH	-SH
ZnO	[103]	[103] [100; 101]	[103]	[102; 104]	[105]
TiO_2			[106]	[107]	
SnO_2	[108]		[109]		
SiO_2			[110]		
ZrO_2				[110]	

2. Modifications sur les conducteurs

2.1. Or

- **<u>modification par des monocouches auto-assemblées (thiols, sulfures, disulfures)</u>**

L'or est l'un des matériaux conducteurs les plus utilisés de par sa résistance à l'oxydation [111] et de par ses capacités à réagir avec un grand nombre de molécules. C'est notamment le cas des thiols (ou mercaptans), des composés à base de soufre (formule générale R-SH), pour lesquels il présente une grande affinité [112]. Ces interactions sont à la base des méthodes de

fonctionnalisation et modification de surface sur le principe de monocouches auto-assemblées (ou SAMs pour « *self assembly monolayers* »). On notera que les SAMs ne sont pas spécifiques aux surfaces d'or puisqu'elles peuvent se former sur d'autres surfaces métalliques tels que l'argent [113], le cuivre [114], le palladium [115] ou encore le platine [116]. L'autre avantage des surfaces d'or, c'est qu'elles se caractérisent aisément par des méthodes optiques notamment (ellipsométrie, spectroscopie infrarouge, mesure d'angle de contact…) et la résonnance des plasmons de surface, ce qui permet de suivre les modifications apportées en surface de manière précise. C'est pour cela que le couple support d'or et SAMs est souvent à la base de l'élaboration de biocapteurs. En effet les SAMs peuvent être conçus et modifiés pour lier de l'ADN, des protéines, ou encore des cellules [117].

D'un point de vue chimique, les premières structures étudiées ont été les n-alcanethiols : HS-$(CH_2)n\text{-}_1CH_3$ [118]. Par la suite, ce composé est resté la structure d'étude de référence même si des terminaisons très variées ont été introduites (dithiol, alcool, acide carboxylique, noyau benzénique), du fait de leurs nombreuses propriétés et applications potentielles. En effet, les alcanethiols sont facilement adsorbés à partir d'une solution ou en phase vapeur afin de réaliser la monocouche auto-assemblée. La formation de SAMs par immersion de la surface d'or dans une solution d'alcanethiol est la méthode la plus utilisée car très facile à mettre en œuvre. Le thiol est alors généralement mis en solution dans de l'éthanol ou un mélange eau-éthanol à des concentrations comprises entre 1 et 10 mM pendant 12 heures à 48 heures, pour atteindre une bonne organisation moléculaire. Les temps longs d'assemblage tendent à donner des structures cristallines compactes. Cette couche, lorsqu'elle est saturée, est composée de quelques nanomètres à quelques dizaines de nanomètres de longueur, séparées d'environ 5 Å et inclinées d'un angle de 30 degrés par rapport à la normale à la surface (**figure 19**) .

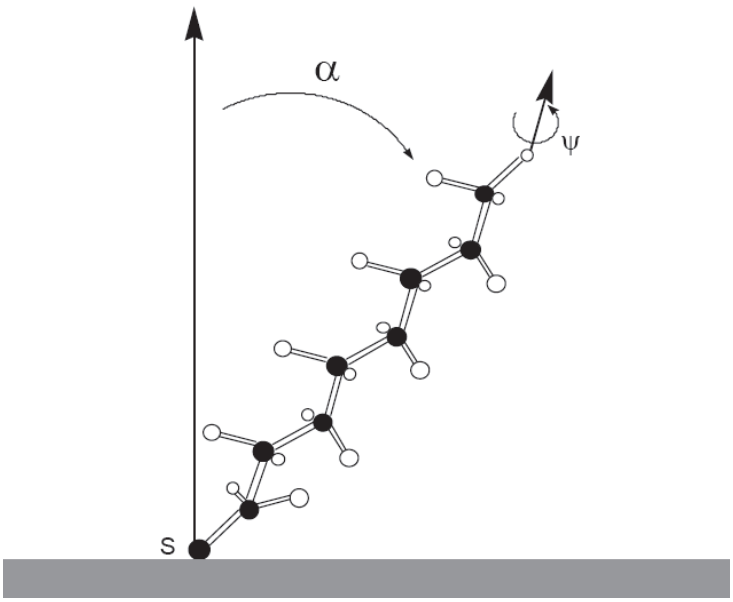


Figure 20. *Représentation schématique d'une molécule d'alcanethiol auto-assemblée Montrant l'angle d'inclinaison de la chaîne alcane par rapport à la surface d'or (D'après [119]).*

Il est aussi important de minimiser l'exposition du substrat à l'oxygène, durant le processus d'assemblage, afin de limiter l'oxydation des thiols en sulfures ou en autres espèces oxygénées. Les SAMs sont réputées pour être stables au contact de l'air, et de l'éthanol durant de longues durées, mais elles désorbent à des températures supérieures à 60°C ou quand elles sont irradiées par une source de lumière en présence d'oxygène. D'une manière générale, les réactions chimiques effectuées une fois la monocouche construite sont possibles tant qu'elles ne détruisent pas celle-ci et qu'il n'y a pas de gêne stérique au niveau de ses groupements fonctionnels. La gêne stérique peut-être réduite en utilisant une monocouche mixte : les groupes chimiques seront portés par une chaîne thiolée plus longue ce qui la placera au-dessus de la couche sous-jacente. Les monocouches mixtes peuvent être avantageuses puisqu'elles permettent d'espacer les groupes réactifs et ainsi facilitent les nouvelles réactions et l'immobilisation de molécules. Pour comprendre les phénomènes à l'origine de la formation de ces structures constituant les SAMs, une description détaillée peut être trouvée dans l'ouvrage de référence d'Ulman [119] .

- **<u>Greffage covalent par les sels de diazonium</u>**

Comme pour le silicium, la chimie du diazonium est applicable sur quasi tous les métaux. Cette technique a ainsi permis à l'équipe du Dr Marquette, de fonctionnaliser des prismes d'or par des biomolécules et de suivre les modifications par la méthode de résonnance des plasmons de surface [3; 120; 121].

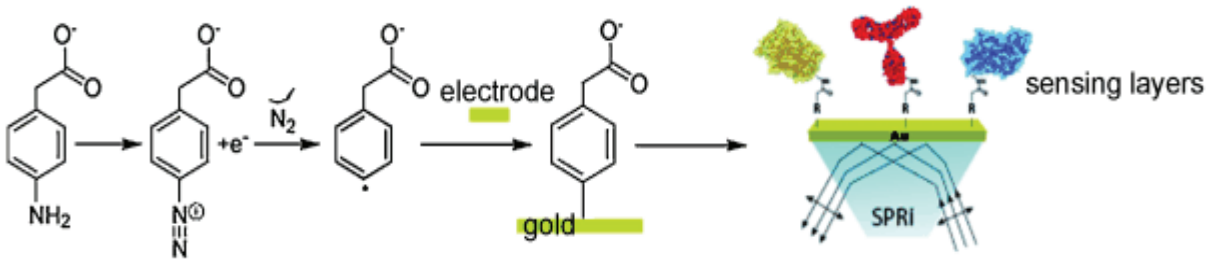


***Figure 21**. Illustration d'un greffage de biomolécules sur un prisme SPR via les sels de diazonium (d'après 118).*

2.2. Carbone

Depuis ces dernières années, de nombreux travaux de recherche sont effectués sur le carbone et sa fonctionnalisation. En effet le carbone se présente sous diverses formes allotropiques : graphite, vitreux, graphène, diamant et nanotube. Aujourd'hui il s'est certes développé un intérêt particulier pour les nanotubes de carbone (simple ou multicouche). En effet, au delà des avantages qu'ils présentent dans divers champs d'applications, leur réactivité chimique de surface au niveau des parois, des extrémités et surtout des défauts semble importante. Ceci

s'explique par la présence de fonctions carboxyliques (-COOH) sur certains atomes de carbone notamment autour des zones de défauts. Celles-ci sont en effet susceptibles d'être impliquées dans des réactions d'estérification. Chen *et al.* ont décrit en 1998, le premier greffage chimique de groupes fonctionnels organiques sur des nanotubes de carbone à paroi unique dit (SWCN) via la formation de liaisons amides entre les groupements acides carboxyliques de nanotubes oxydés et les amines. Cette réaction a permis d'obtenir des dérivés de nanotubes solubles dans des solvants organiques [122]. La modification de ces nano-objets est valable pour les autres formes du carbone citées plus haut incluant celle utilisée au cours de nos travaux, mais elle permet ainsi d'avoir une vision plus large des possibilités de modification du carbone au sens large.
On dénombre ainsi plusieurs méthodes de fonctionnalisation du carbone habituellement classifiées de la manière suivante:

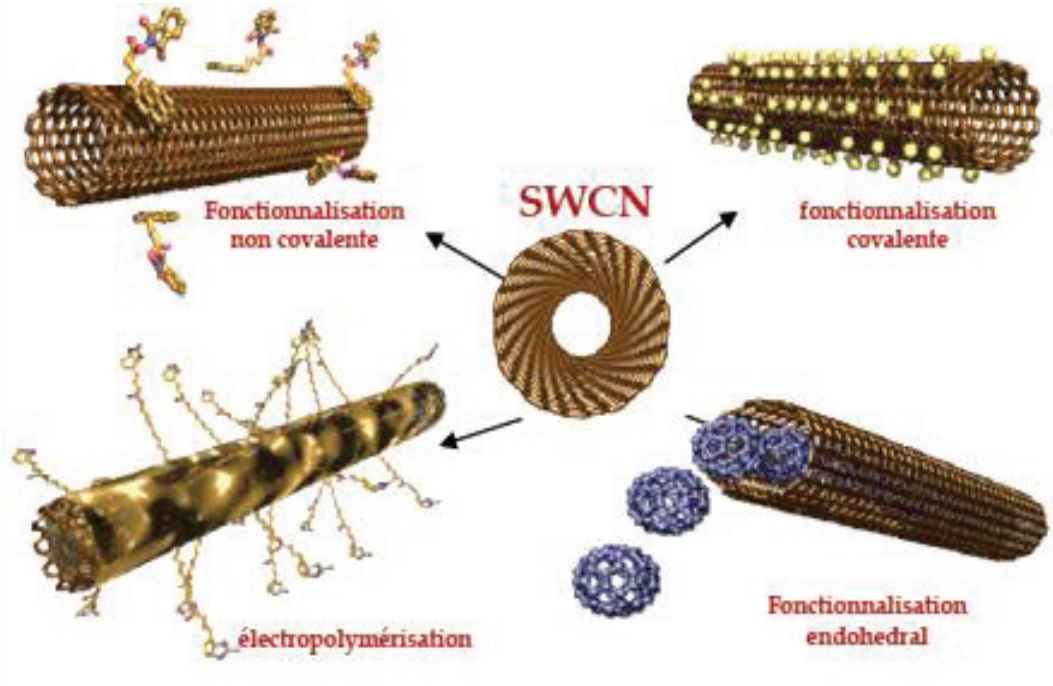


***Figure 22**. Schéma présentant les différents modes de fonctionnalisation des nanotubes de carbone.*

- **<u>Fonctionnalisation covalente</u>**

On y retrouve des greffages par des espèces chimiques dites réactives telles que les radicaux, les carbènes, nitrènes [123; 124] ou encore des sels de diazonium [125]. On retrouve également les fonctionnalisations par l'utilisation de la méthode classique utilisant un carbodiimide et un ester N-succinimide. Cette dernière a permis la modification d'électrode en graphite par des biomolécules (protéine, anticorps). En effet, les surfaces de carbone telle que le carbone vitreux, peuvent être oxydées électrochimiquement, afin de faire apparaitre en surface des fonctions oxygénées réactives qui peuvent alors être impliquées dans des réactions

de couplage de type carbonyl/amine primaire, avec notamment des agents pontants : éthylènediamine seul ou éthylènediamine puis glutaraldéhyde. Ces procédés ont par exemple été utilisés pour l'immobilisation des sondes oligonucléotidiques [126] et d'enzymes [127].

- **Fonctionnalisation non-covalente**

Cette fonctionnalisation douce des nanotubes de carbone par formation de liaisons non-covalentes permet d'adsorber diverses entités chimiques à la surface des nanotubes sans pour autant changer leurs propriétés intrinsèques. Ainsi des interactions non covalentes très fortes existent entre les nanotubes et les anilines [128], les amines [129], et les pyrènes [130], augmentant ainsi la solubilité des nanotubes dans les solvants organiques. De même, des molécules amphiphiles telles que des tensioactifs, comme le sodium dodécylsulfate (SDS) ou le Triton-X 100, peuvent se lier aux nanotubes via interactions de faible énergie type Van der Waals [131]. Il en résulte la formation de micelles à l'intérieur desquelles on retrouve les nanotubes de carbone, ce qui permet de les disperser dans une phase aqueuse.

- **Electropolymérisation**

Plusieurs travaux de recherche se sont focalisés sur la fonctionnalisation du carbone par des polymères conducteurs et sur l'étude des caractéristiques physiques et chimiques de ce nouveau composite. On citera pour exemple, les travaux de Baibarac *et al*. sur la fonctionnalisation des nanotubes de carbone mono-feuillets (SWCNTs) par électro-polymérisation de l'aniline dans une solution acide [73]. De plus, l'électropolymérisation est aussi largement utilisée pour l'immobilisation de biomolécules telles que les enzymes.

Concernant les nanotubes, ces méthodes de modification de surface sont valables pour les autres formes du carbone, les chercheurs ont utilisé le carbone sous la forme de carbone vitreux, de graphite, de diamant dopé au bore ou encore d'encre à sérigraphier ou notamment pour le développement d'électrodes en vue d'applications par exemple dans le domaine des capteurs et biocapteurs.
Certains travaux font même état d'inclusion d'éléments biologiques directement au sein de ces encres carbones. Cette technique permet un contact étroit entre l'enzyme, le médiateur et l'encre, ce qui permet un meilleur transfert d'électrons. Un biocapteur ampérométrique permettant la détection de l'éthanol [132] et un biocapteur électrochimique sensible au glucose [133] ont été développés selon ce principe.

Chapitre 2 : Matériels et Méthodes

Avant d'aborder les résultats et conclusions pour cette étude, une présentation du matériel et des techniques utilisées permettra de mieux appréhender les attentes et difficultés rencontrées. Nous présenterons les méthodes d'élaboration de composite semi-conducteur époxy - silicium et de composite époxy-oxyde métallique déposés en couche mince par sérigraphie, puis celle d'un composite conducteur à base de résine photosensible négative SU-8 et de particules de carbone.

I. Matériels

1. Instrumentations

Appareillage de sérigraphie, DEK 248 ..... DEK
Caméra CCD Intelligent Dark Box II ..... FUJIFILM
Centrifugeuse ..... EPPENDORF
Générateur de courant ..... MICRONICS SYSTEMS
Lampe UV Black-Ray ..... UVP
Multi-Potentiostat équipé de 4 voix bas-courant, VMP3 ..... BIOLOGIC
Microscope optique (classique et fluorescence) ..... ZEISS
Spectrophotomètre infrarouge Nicolet is10 ..... THERMO SCIENTIFIC
Profilomètre, « NJ-Optimal » ..... NANOJURA
Sonicateur ..... ULTRASONS
Tournette automatisée (Spin coater) WS-400-6NPP-Lite ..... LAURELL
Tournette mécanique (Eurostar) ..... IKA

2. Logiciels

DEK Align 4 (sérigraphie) ..... DEK
Ec-Lab 9.24 (mesure électrochimique) ..... BIOLOGIC
Image Gauge 4.0 (analyse du signal lumineux) ..... FUJIFILM
Las-1000 Plus (mesure du signal lumineux) ..... FUJIFILM
Mountains Map(analyse métrologique) ..... DigitalSurf
Omnic (infra-rouge) ..... THERMO-FISCHER

3. Réactifs

Tètrafluoroborate de 4-bromobenzènediazonium ..... SIGMA
Tètrafluoroborate de 4-nitrobenzènediazonium ..... SIGMA
Acide fluorhydrique (HF) .....
Acide fluorhydrique tamponné (NH_4F) .....
Diéthylmalonylurée sodée (Véronal) ..... PROLABO
Electrode de platine ..... (L.E.O.P.R, URA CNRS 1210, , Grenoble, France)
Encre de carbone, Electrodag 423 SS ..... ACHESON
Encre isolante, Minico M 7000 ..... ACHESON
Ethylène Glycol monométhyl éther ..... ….MERCK
Film transparent (100 µm) ..... STAEDLER
Lumidag ..... ACHESON

Luminol (5-amino-2,3-dihydro-1,4-phthalazinedione) ..... SIGMA
NaCl ..... PROLABO
Nanoparticules d'oxyde de zinc ..... Nano-H
Nanoparticules d'oxyde de Nickel ..... SIGMA
Nanoparticules d'oxyde d'étain ..... SIGMA
Nitrite de sodium ($NaNO_2$) ..... PROLABO
Para-iodophénol ..... SIGMA
Peroxyde d'hydrogène H_2O_2 30% ..... PROLABO
Plaque de silicium de 4 pouces ..... SILTRONIX
Polyoxyéthylenesorbitan monolaureate (tween 20) ..... SIGMA
Hexacyanoferrate (II) de Potassium ..... PROLABO
Hexacyanoferrate (III) de Potassium ..... PROLABO
Résine époxy ..... GWENT MICROELECTRONICS
Résine photorésistante négative SU-8 ..... MICROCHEM INDUSTRIES

4. Enzymes, Protéines et Acides Nucléiques

Albumine de sérum bovin ..... SIGMA
Peroxydase de Raifort couplée à la streptavidine ..... SIGMA
Séquence sonde d'oligonucléotide (TTG AGG TGC ATG TTT GTG CC), modifiée en son extrémité 5' par le 4-aminobenzylamine ..... EUROGENTEC
Séquence cible d'oligonucléotide (GG CAC AAA CAT GCA CCT CAA), biotinylée en son extrémité 5' ..... EUROGENTEC

5. Tampons

-VBS (*Veronal Buffer Saline*) : tampon veronal 30 mM, NaCl 0,2 M, pH 8,5.
-VBST (*Veronal Buffer Saline Tween*) : tampon veronal 30 mM, NaCl 0,2 M, Tween 0,1 % (v/v), pH 8,5.
-VBSTA (*Veronal Buffer Saline Tween Albumin*) : tampon veronal 30 mM, NaCl 0,2 M, Tween 0,1 % (v/v), BSA 1 g/L, pH 8,5.
-Solution de mesure de la chimiluminescence catalysée par la peroxydase de Raifort: VBS contenant 220 µM de luminol, 20 µM de para-iodophénol et 500 µM d'H_2O_2.

II. Méthodes

1. Préparation des encres

Une encre de sérigraphie, doit répondre à deux impératifs : assurer une fonction d'impression avant cuisson, et une fonction (électrique, mécanique) après cuisson en fonction des attentes de l'expérimentateur. A ce jour on distingue deux grandes familles d'encres, les encres polymères qui s'utilisent à basse température (< 200°C) et les encres dites minérales dont les températures de cuisson sont comprises entre 500 et 1000°C. Nous avons choisi de travailler exclusivement avec des encres polymères Celles-ci font intervenir trois éléments principaux à savoir une matrice ou liant organique, une charge ou matériau actif et un solvant permettant de fluidifier le liant et de contrôler la rhéologie de l'encre pour une meilleure qualité de mouillage et donc d'écoulement. Une des données les plus importantes à prendre en compte est le comportement de l'encre lorsqu'elle sera soumise aux contraintes au cours de la sérigraphie. Au repos elle doit avoir une viscosité élevée dans le but de maintenir les particules en suspension. Ensuite, lors de la sérigraphie, l'encre est soumise à des contraintes de cisaillement dues à la pression appliquée par les racloirs. Ainsi pour que l'encre traverse les mailles, la viscosité doit diminuer avec les contraintes appliquées. C'est un comportement pseudo-plastique. Une fois le dépôt réalisé, l'encre doit se "napper" pour éliminer la trace des mailles de l'écran, mais ne doit pas "couler" pour respecter le motif imposé. La viscosité doit donc revenir lentement à sa valeur initiale afin de laisser à l'encre le temps de se lisser : c'est un comportement thixotropique. C'est pour cela que le choix du liant est primordial.

1.1. Le liant organique :

C'est un mélange de matériaux polymères de haut poids moléculaire dissous dans un solvant de basse pression comportant des composés organiques surfactants et thixotropes. Les solvants sont ensuite éliminés par évaporation lors de la phase de cuisson. Ces polymères sont en général composés d'éthyle cellulose, de résines acryliques ou époxy et servent de liant et matrice après étuvage. Au cours de cette étude deux types de liants ont été utilisés, le premier étant une résine époxyde servant de base de travail à l'élaboration d'encres sérigraphiées commercialisées par Gwent microelectronics et un second, le Lumidag (**Tableau 6, p.60**) encre commerciale très faiblement conductrice. Le premier type étant au départ celui qui avait été privilégié dans cette étude, puisque la résine intermédiaire de chez Gwent ne comporte aucune charge et une quantité de solvant initiale très faible. De ce fait son caractère inerte permet de mieux étudier l'influence des charges incorporées. Sa viscosité pouvant être modulée par avec l'ajout d'un solvant type éthylène glycol.

1.2. Le matériau actif :

Il se présente plus généralement sous forme solide (poudre de taille micro- voir nanométrique). Il confère à la couche la propriété électrique désirée (conducteur, isolant, magnétique,...). Pour les conducteurs, il s'agit principalement de poudre de métal (Au, Pt, Ag, Ni, ...) ou d'alliage métallique (Ag-Pd, Ni-Cr, Ni-Al, ...). Dans le cas des diélectriques, ce sont des poudres à base de frittés de verre, borosilicates ou aluminosilicates, qui sont utilisées. Dans notre cas ce sont des charges semi-conductrices type oxydes métalliques (ZnO, NiO, SnO_2) et silicium (dopé p et n).

Les composites ont été réalisés par incorporation direct des nanoparticules au sein de la résine choisie dans un processus en plusieurs étapes, les valeurs sont données ici pour la préparation d'un millilitre d'encre. Dans un premier temps, la résine époxyde fut mélangée avec de l'éthylène glycol mono-méthyle éther jusqu'à obtention de la viscosité souhaitée, qui dans notre cas s'opère après mélange de 300 mg de résine et 1ml de solvant (éthylène glycol) (poids total du mélange = 1,29 g). Ensuite une quantité de particules est pesée (**tableau 2**) avant d'être ajoutée directement à la résine préalablement diluée. S'ensuit trois étapes :

1. vortex pendant 10 minutes
2. sonication pendant 5 minutes
3. vortex pendant 5 minutes.

L'encre est ensuite utilisée ou stockée sous vide, à température ambiante.

Tableau 2. *Quantité de particules incluses au sein de la résine et sa proportion finale en poids au sein du composite.*

Particules	ZnO	NiO	SnO_2	Si (n) Si (p)
Quantité Pesée (mg)	20	80	50	72 102
% m : m	1,5	6,1	3,8	5,6 7,5

Lorsque l'on utilise la résine Lumidag, l'étape préalable de dilution de l'encre ne se fait pas avec 1 ml de solution mais seulement 300 µl, puisque cette résine présente déjà une rhéologie optimisée pour la sérigraphie. Le solvant sert alors seulement à contre balancer l'augmentation de viscosité entrainée par l'ajout de particules.

1.3. Obtention des nanoparticules de silicium (approche dite top-down)

S'inspirant des travaux de T. Nychyporuk [134; 135] nous avons élaboré des nanoparticules de silicium à partir de plaques de silicium de 4 pouces que nous avons traitées au préalable

pour les rendre poreuses avant d'extraire par broyage mécanique et filtration une poudre constituée d'éléments sub-micrométriques qui serviront par la suite de charge et dopant pour la réalisation de nos composites.

1.3.1. Anodisation électrochimique

Le silicium poreux est formé par la dissolution partielle du silicium lors de son anodisation électrochimique dans un bain électrolytique. Un montage décrit en **figure 23** peut être utilisé pour son élaboration : une cuve appelée « cellule d'anodisation » est remplie d'un bain d'électrolyte très souvent constitué d'un mélange d'acide fluorhydrique (HF) et d'éthanol, ce dernier servant d'agent mouillant favorisant l'infiltration de l'électrolyte dans les structures du silicium avec une meilleure élimination du dihydrogène produit lors de l'anodisation [136] et une plus grande homogénéité dans la gravure en profondeur. La formation des pores se fait par passage d'un courant au sein d'une solution de HF, entre deux électrodes : une anode (plaque de cuivre le plus souvent) sur laquelle est placée la plaque de silicium, et une cathode en or, platine ou n'importe quel autre matériau conducteur résistant à l'HF.

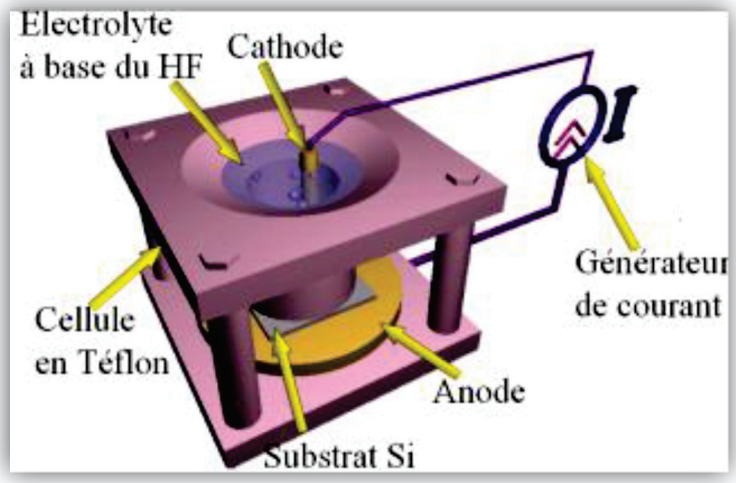


***Figure 23**. Schéma de la cellule d'anodisation*

Dans cette architecture, la plaque de silicium est donc posée horizontalement sur l'anode, avec une face en contact avec l'électrolyte. Un joint torique en Viton assure l'étanchéité. Cette configuration favorise des lignes de courant perpendiculaires à la surface de la plaque et de densité égale sur la majeure partie de la surface. Cette architecture peut également permettre, de manière simple, de coupler la cellule à un système thermostaté pour réguler la température du bain.

Tableau 3. *Données du montage électrochimique utilisé lors de l'anodisation*

Caractéristiques de la de cellule d'anodisation	
Matériau	Teflon
Anode	Cu
Cathode	Au/Pt
Electrolyte support	HF/éthanol (1:2 en v:v)
Surface de travail (cm^2)	70 cm^2

La dissolution partielle et localisée du silicium par anodisation peut être réalisée soit à courant constant soit à tension constante. Dans ce travail, nous avons utilisé l'anodisation électrochimique à courant constant en utilisant un générateur de courant classique.

- Mécanisme de formation du silicium poreux.

La dissolution localisée du Si se produit dans des conditions bien précises. La **figure 24** présente une courbe I=f (V) typique de l'anodisation électrochimique du Si dans une solution aqueuse de HF diluée. Il existe trois zones qui caractérisent le processus d'anodisation : la zone de porosification, la zone d'électropolissage et la zone de transition. Le régime de porosification se produit pour des concentrations en HF suffisamment élevées (solution à 24% en moyenne) et des densités de courant suffisamment faibles (< à 3mA.cm^2).

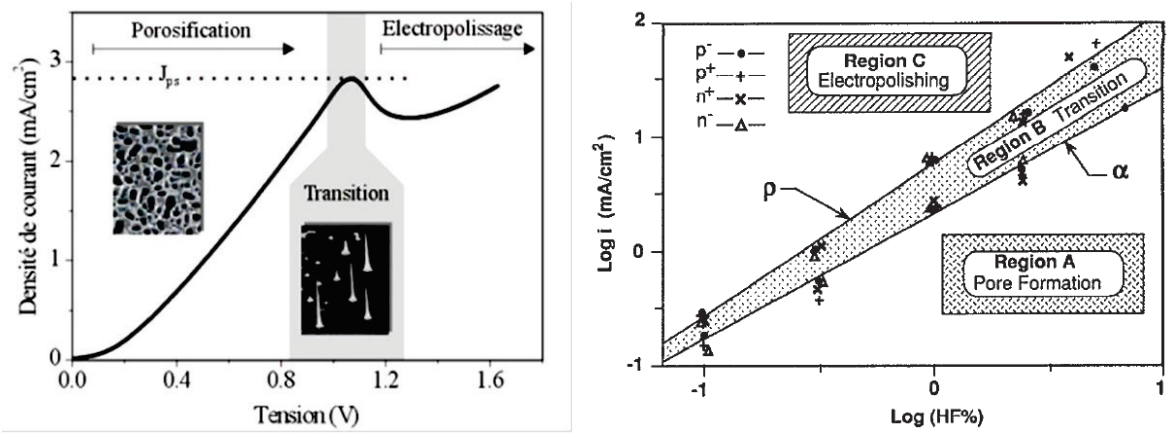


Figure 24. *Caractéristique courant-tension typique pour un substrat de Si de type p+ (à gauche), et diagramme décrivant le processus d'anodisation complet (à droite), d'après [137]*

- *Aspects physico-chimiques*

A ce jour, le mécanisme de dissolution du silicium dans l'acide fluorhydrique le plus communément accepté est celui proposé par Lehman et Gösele en 1991[138] (**figure 25**).
La surface de Si immergée dans l'acide fluorhydrique est hydrogénée. Les liaisons Si-H sont faiblement polarisées et donc peu sensible à l'attaque des ions fluor F^- en l'absence de courant. Lorsque des charges électriques positives (trous), injectées par le générateur de courant vers l'anode, atteignent la surface, la polarisation de la liaison Si-H s'accentue en modifiant la charge d'espace à l'interface électrolyte-silicium ce qui rend alors possible la substitution de cette liaison fragilisée par un ion fluor (F^-) pour former une liaison Si–F. Cette liaison polarise à son tour la liaison Si-H adjacente et permet la création d'une seconde liaison Si-F avec libération de dihydrogène H_2 et d'un électron. Dans le même temps, il s'ensuit une attaque des liaisons Si-Si par l'action combinée d'un complexe SiF_2 et de HF avec libération d'une molécule SiF_4 suivie de la ré-hydrogénation de la surface résultante.

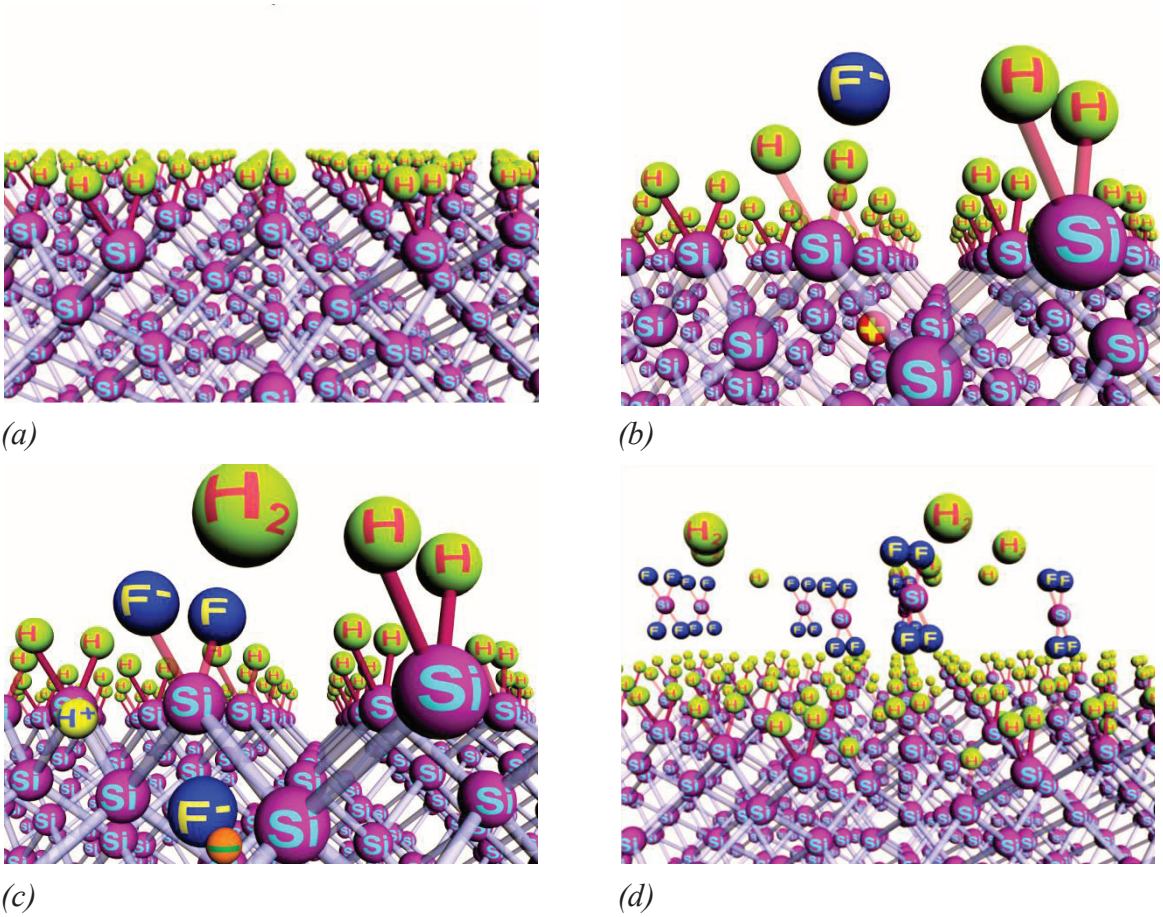


Figure 25. *Illustration du mécanisme de dissolution de p-type Si dans l'acide fluorhydrique (a) surface de Si passivée avec de l'hydrogène après immersion dans l'acide fluorhydrique, (b) en l'absence de courant La surface de Si reste inerte à l'attaque des ions fluor F^- (c) Si un courant est imposé, il polarise la liaison Si-H rendant possible la substitution de cette liaison fragilisée par une liaison Si – F. Cette liaison polarise à son tour la liaison Si-H adjacente et permet la création d'une seconde liaison Si-F avec libération de dihydrogène H_2 et d'un électron, et (d) les liaisons Si*

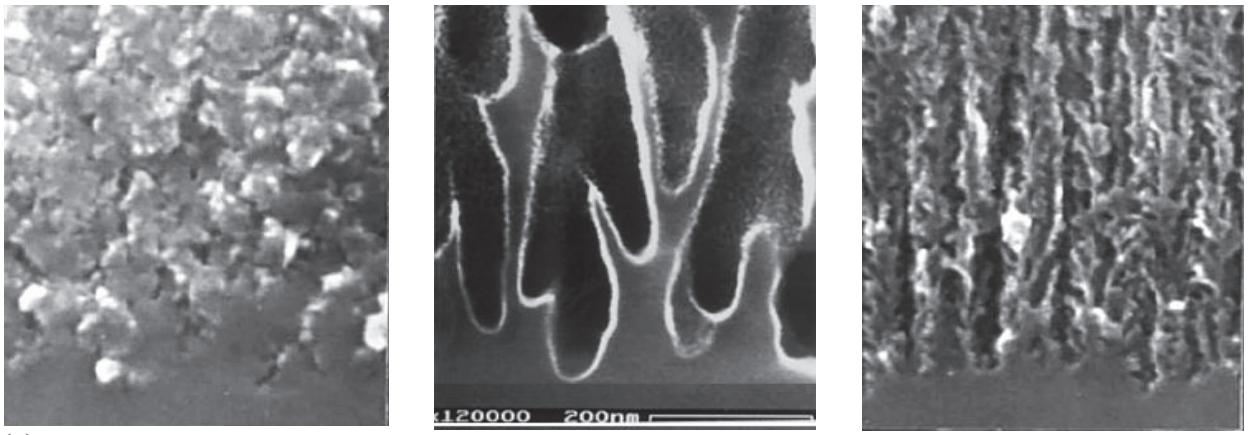
–F sont plus fortement polarisées que les liaisons Si – Si une molécule SiF_4 se libère sous l'attaque du complexe par HF ou H_2O.

Le processus peut alors se renouveler à partir du point de départ. Le SiF_4 quand à lui se transforme aussitôt en SiF_6^{-2} et s'accumule dans le bain.

- *Influence du type de substrat de silicium*

Le type et le niveau de dopage du substrat est le paramètre qui définit la morphologie du Si poreux. Trois grandes familles de morphologie de silicium poreux [139] peuvent être distinguées (**figure 26)** :

- silicium nano-poreux présenté sur la **figure 26-(a)**: il est constitué de cristallites de taille nanométrique comprises entre 1 et 5 nm, ces nanocristallites sont séparées entre elles par des pores eux même de taille nanométrique et d'orientation aléatoire. Il est obtenu par anodisation de substrats de type p faiblement dopés de résistivité $\rho > 1\ \Omega \cdot cm^{-1}$.



(a) (b) (c)

Figure 26. *Différentes morphologies de Si poreux : (a) Nano-poreux, (b) Macro-poreux, (c) Méso-poreux. (les images sont à la même échelle) d'après [140].*

- silicium macroporeux présenté sur la **figure 26-(b):** la taille des pores est supérieure à 50 nm et peut aller jusqu'à 1µm, il est obtenu par anodisation de substrats de type n faiblement dopé $\rho \sim 1\ \Omega \cdot cm^{-1}$. Sous excitation optique [141] ou sous un fort potentiel (> 5V) [142], il est alors possible d'obtenir à partir du macroporeux du silicium nanoporeux.

- silicium mésoporeux présenté sur la **figure 26-(c)**: la taille des pores est comprise entre 3 et 50 nm, l'orientation des pores est quasi colonnaire avec de multiples ramifications. Il est obtenu par anodisation de substrat de type p+ ou de type n+ fortement dopé, la concentration des dopants doit être supérieure à 10^{18} at.cm^{-3} avec une résistivité ρ entre 0,001 et 0,1 $\Omega \cdot cm^{-1}$.

La dernière morphologie est celle qui a été retenue dans notre étude, puisque nous avons utilisé quatre types de substrats silicium comme résumé dans le tableau suivant.

Tableau 4 *caractéristiques des plaques de silicium utilisées*

Type de silicium	Résistivité Ohm/cm	Dopant	Orientation cristalline	Epaisseur (µm)
p	1-10	Bore	1.0.0	200
p+	0,01-0,05	Bore	1.0.0	200
n	1-10	Phosphore		525
n+	0,007-0,013	Phosphore	1.0.0	525

1.3.2. Récupération des nanoparticules de silicium

La **figure 27** présente les images, prises par microscopie optique, de la surface du silicium poreux durant son séchage post anodisation. Au départ, la surface de Si poreux (partie rouge-brune) est encore couverte par un film d'éthanol utilisé pour le rinçage des plaques. L'évaporation de l'éthanol commence à provoquer une déstructuration partielle de la couche poreuse se produisant depuis le centre vers l'extérieur de l'échantillon (images 3 à 5*)* provoquant un craquage de la couche.

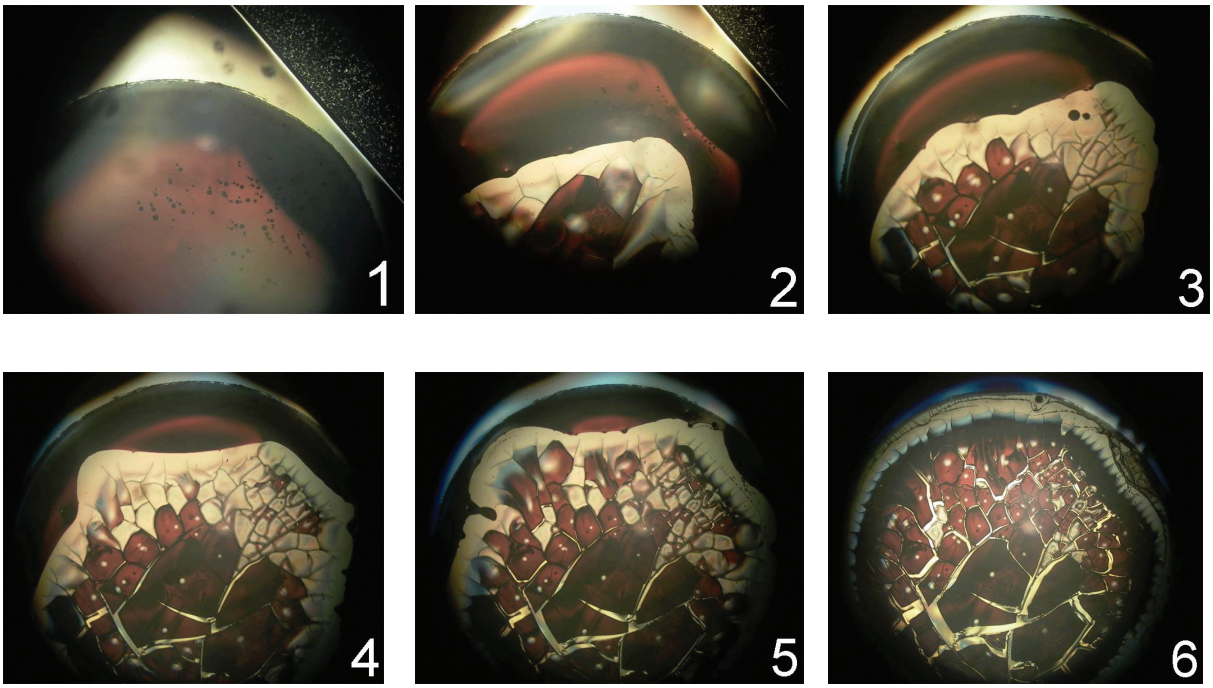


Figure 27. *La dynamique de destruction d'une couche de Si poreux de haute porosité pendant le séchage.*

Ce phénomène de craquage dû à l'instabilité mécanique de couches poreuses a concenté les efforts des chercheurs [143]. Néanmoins, dans notre cas, cette instabilité est à la base de l'élaboration de nanoparticules de silicium. Selon Nychyporuk *et al*., l'évaporation entraîne un stress mécanique dû à la tension de surface. La différence de pression entre les zones pleines et les pores vides cause le détachement de la couche du substrat.

Après la déstructuration de la couche poreuse et sa fragilisation, une poudre peut être récoltée par grattage de la surface de la plaque (**figure 28-b)**. Cette dernière est passée au mortier pour un broyage mécanique en fines particules (**figure 28-c)**. Durant le broyage, la poudre change de coloration, ce qui dénote un changement des propriétés structurales. A ce stade une étape de séparation des particules en fonction de leur taille est réalisée.

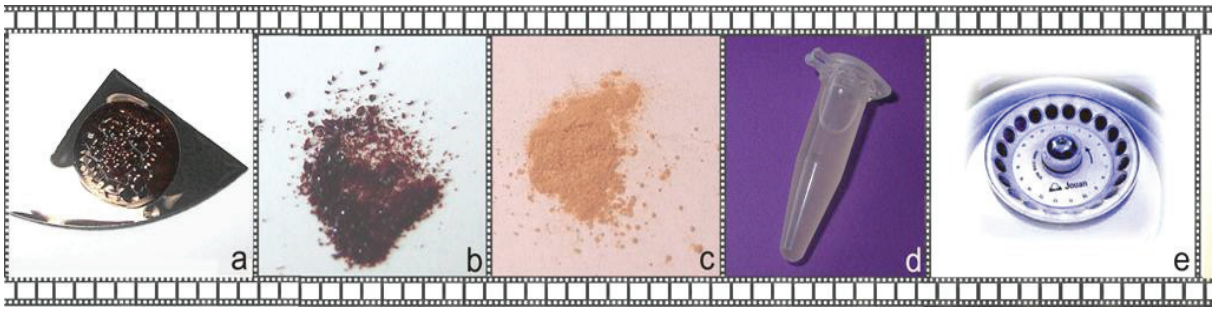


Figure 28. *Elaboration des nanoparticules de Si par broyage des couches poreuses*.

L'une des étapes les plus importantes est la sélection en taille des nanoparticules. Dans cette étude, deux types de filtration ont été étudiées : la filtration par l'intermédiaire de filtres à membranes poreuses (450 nm) et la filtration par centrifugation de solutions contenant la poudre broyée (**figure 28-d**) en récupérant soit le surnageant soit le culot en fonction des besoins. Dans notre cas cette centrifugation est réalisée soit dans une solution d'éthanol soit directement au sein du solvant organique utilisé pour l'ajustement de la viscosité de l'encre (l'éthylène glycol). En effet les particules récupérées présentent une surface hydrogénée leur conférant une certaine hydrophobicité, utile pour la dispersion au sein de solvant organique et de liant. L'ensemble de ces solutions sont alors dégazées par flux d'argon en vue de leur stockage.
En fonction des tailles finales souhaitées cette étape peut être modulée. Le grand avantage de cette technique est que les nanoparticules diluées dans une solution peuvent être intégrées directement dans l'encre, à température ambiante et pression atmosphérique.

➢ Méthodes de filtration de nanoparticules

Les caractérisations qui suivent sont issues des tests qui avaient été effectués pour valider la méthode au Laboratoire de l'INSA Lyon/CNRS, Institut des Nanotechnologies (Equipe Spectroscopie et Nanomatériaux) dans lequel l'anodisation a été effectuée, néanmoins ces données restent tout à fait valable pour montrer la faisabilité du procédé.

Les nanoparticules ont été déposées sur un support silicium monocristallin par « spin-coating » après la filtration sur une membrane ayant un seuil de coupure de 450 nm, puis observées par microscopie électronique à balayage (**figure 29**).

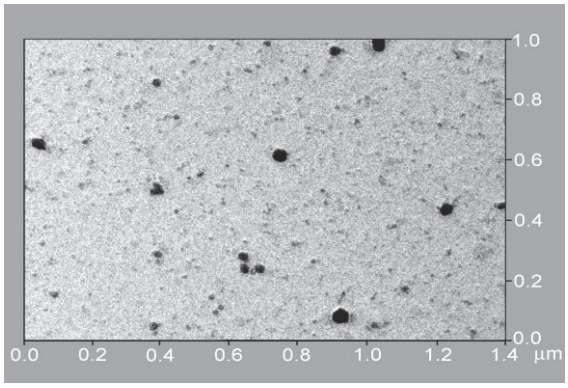
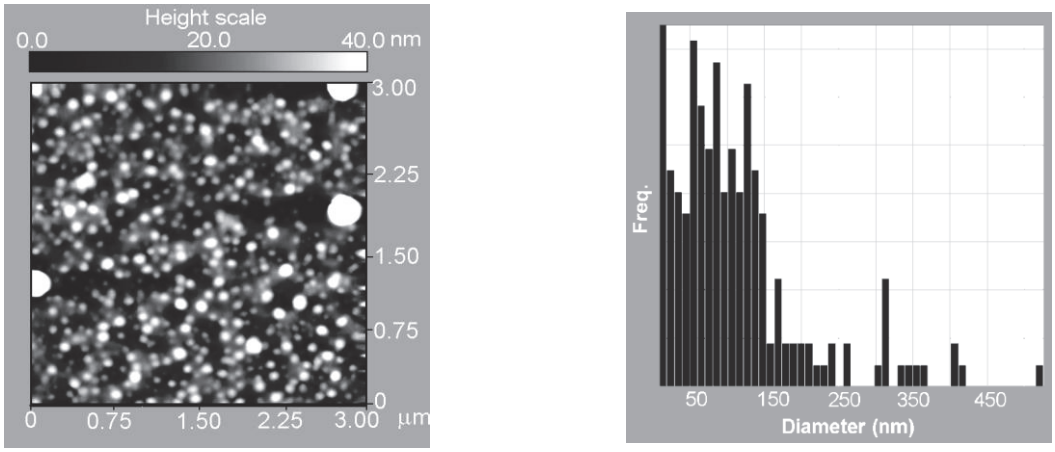


Figure 29. Image MEB de la nanopoudre de Si filtrée à 450 nm.

La distribution en taille des nanoparticules est visiblement large (**Figure 30-a**.). L'analyse quantitative présentée sur la **figure 30-b** indique que la taille dominante est autour de 100 nm.



(a) (b)

Figure 30. (a) Images AFM de la nanopoudre de Si filtrée par une membrane ayant un seuil de coupure de 450 nm et déposée sur un substrat en Si monocristallin et **(b)** distribution de tailles obtenue par granulométrie.

2. Méthodes de dépôt

2.1. Dépôt sur support par « *spin coating* »

Afin de réaliser les premiers tests les composites ont été déposés par *spin coating* sur des supports en carbone vitreux afin de pouvoir effectuer des mesures électrochimiques. Des supports en silicium ont également été utilisés pour la caractérisation en microscopie électronique à balayage.
Avant le dépôt les supports ont été nettoyés suivant des protocoles suivant :

- Le silicium utilisé est un silicium monocristallin (1.0.0) dopé p de 1x1cm, ayant subi successivement :
    1. Rinçage à l'eau ultra-pure, puis acétone, puis éthanol
    2. « Etching » 5 min dans du NH_4F
    3. Rinçage rapide à l'eau ultra-pure
- L'électrode de carbone vitreux présente une surface active de 7 mm², elle a été nettoyée en utilisant une encre de polissage à base de poudre de diamant (1 micron, Metadi, Buehler, USA), suivi d'un rinçage par l'acétone puis l'éthanol et enfin l'eau ultra-pure.

Le procédé de dépôt est décrit sur la **figure 31**, le dépôt est effectué via une tournette (IKA Eurostar) permettant de faire varier la vitesse de rotation de 10 à 2000 rpm. Après l'étape de dépôt, les supports sont placés à l'étuve à 100°C pendant 5 à 10 minutes suivant l'échantillon, afin de permettre l'évaporation du solvant et la consolidation du composite.

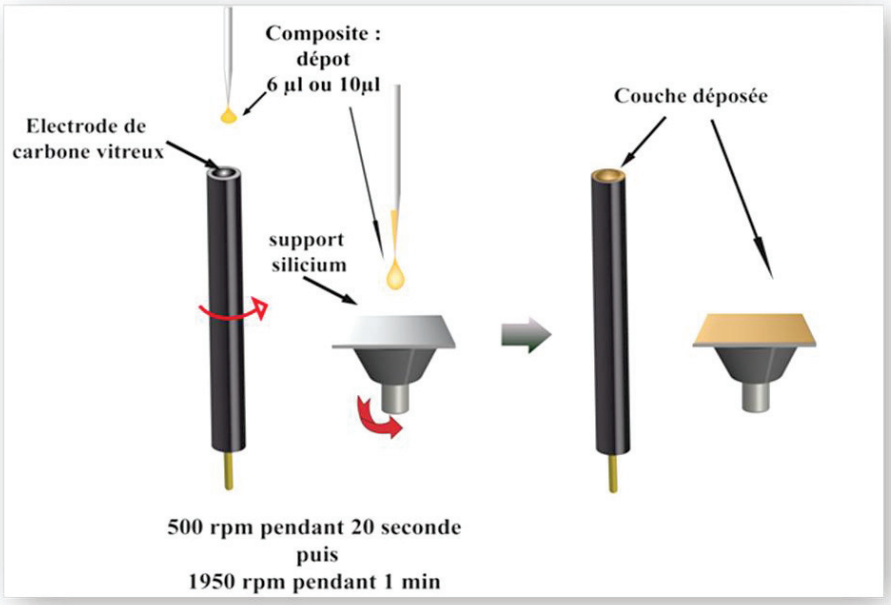


***Figure 31**. Protocole de dépôt de composite par spin-coating sur une électrode de carbone ou un support en silicium.*

2.2. Sérigraphie

L'un des avantages majeur de cette méthode est son universalité en ce sens que le processus est réalisable sur de nombreuses matières : papiers, tissus, plastiques, métaux, verres, céramiques et qu'un grand nombre de matériaux peut y être déposés (métal, isolant, semi-conducteur …). D'ailleurs, l'industrie de la sérigraphie englobe un grand nombre de branches: l'impression de motifs sur les vêtements, les affiches, les CD ou dans le domaine de capteurs électrochimiques. La sérigraphie correspond à l'impression de motifs par le passage d'une encre au travers d'un maillage. Néanmoins chaque étape est cruciale puisque de nombreux paramètres influent sur la qualité du dépôt.

- Masque et impression

Les masques se composent d'une toile tissée de fibres de polyester mono-filament, d'une taille de maille de 0,1 mm (260 *counts per inch*), et d'une épaisseur de 13 µm. La toile est étirée à la tension voulue puis collée à un support métallique. Chaque masque est caractérisé par un motif particulier aux dimensions contrôlées. Dans notre cas, la sérigraphie est réalisée au laboratoire à l'aide de l'appareillage DEK 248 (**figure 32**) possédant un système d'alignement optique. Le principe est simple, une pression appliquée sur le racloir en polyuréthane lors de son passage sur le masque, pousse l'encre au travers des motifs (**figure 33**).
L'image de ces motifs est alors reproduite sur un support disposé sous le masque. La pression sur le masque, la vitesse du racloir ainsi que la distance entre le support et le masque sont autant de paramètres à considérer qui influencent la qualité finale des couches déposées (épaisseur, définition, reproductibilité) et doivent être ajustées en fonction de la rhéologie de l'encre et du support utilisé.



***Figure 32**. Machine à sérigraphie DEK 248 avec moniteur de contrôle.*

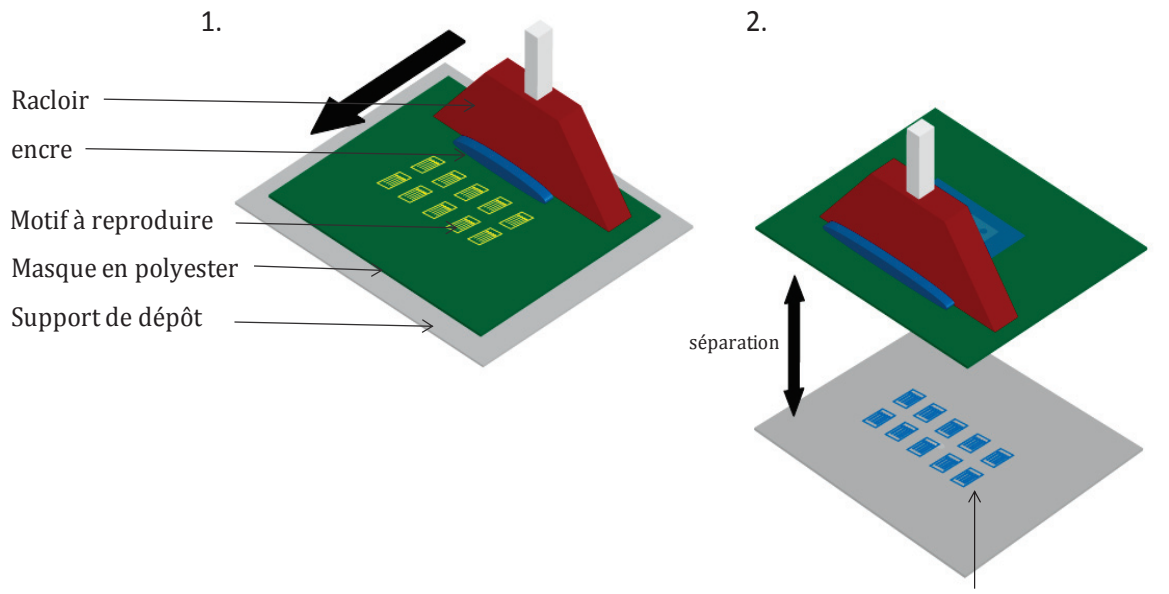


***Figure 33**. Principe d'impression par sérigraphie. 1) Le racloir en polyuréthane passe sur le masque et chasse l'encre au travers des motifs. 2) Support après impression, comportant les matrices d'électrodes.*

D'après certains travaux de Chable [144], l'augmentation de la vitesse de raclette entraîne une augmentation de l'épaisseur du dépôt alors que l'augmentation du nombre de mesh et de la dureté de la raclette entraînent une diminution de la définition du dépôt.

***Tableau 5.** Influence des paramètres d'impression (d'après [144])*

	Epaisseur déposée	Définition	Rétention sur le masque	Défauts dans le dépôt
Nombre de mesh	↘	↗	↗	↗
Tension du masque	↗	↗	↘	—
Dureté du racloir	↘	↗	—	-
Pression du racloir	↘		-	
Distance masque/support	-	-	↘	↗
Vitesse du racloir	↗	↘	↗	↗
Viscosité de l'encre	↗		↗	↗

➢ Impression de réseaux d'électrodes

En prenant en compte toutes les données acquises, l'impression des électrodes a été réalisée sur des films transparents souples 3M ou Staedler. Les électrodes sont réalisées en 3 grandes étapes (**figure 34**) avec à chaque fois l'utilisation d'un masque au motif défini :

- sérigraphie d'une couche conductrice : encre de carbone, (Electrodag 423 SS) composée de particules de graphite d'environ 1 µm de diamètre, dispersées dans un polymère conducteur thermosensible. Elle servira de contact ohmique pour le dépôt du composite et permettra de générer des connexions pour le branchement au potentiostat.
- sérigraphie de la couche semi-conductrice d'intérêt : encre élaborée par nos soins comme décrit précédemment composée de particules semi-conductrices sub- micrométriques au sein d'un polymère liant Gwent ou Lumidag.
- sérigraphie d'une couche isolante : un polymère hydrophobe isolant (Minico M7000) est sérigraphié par-dessus les zones conductrices, afin de permettre la délimitation d'une zone de travail.

Pour chaque couche le volume d'encre utilisé est de l'ordre de 1 ml mais peut aller en fonction du masque, jusqu'à 5 ml.

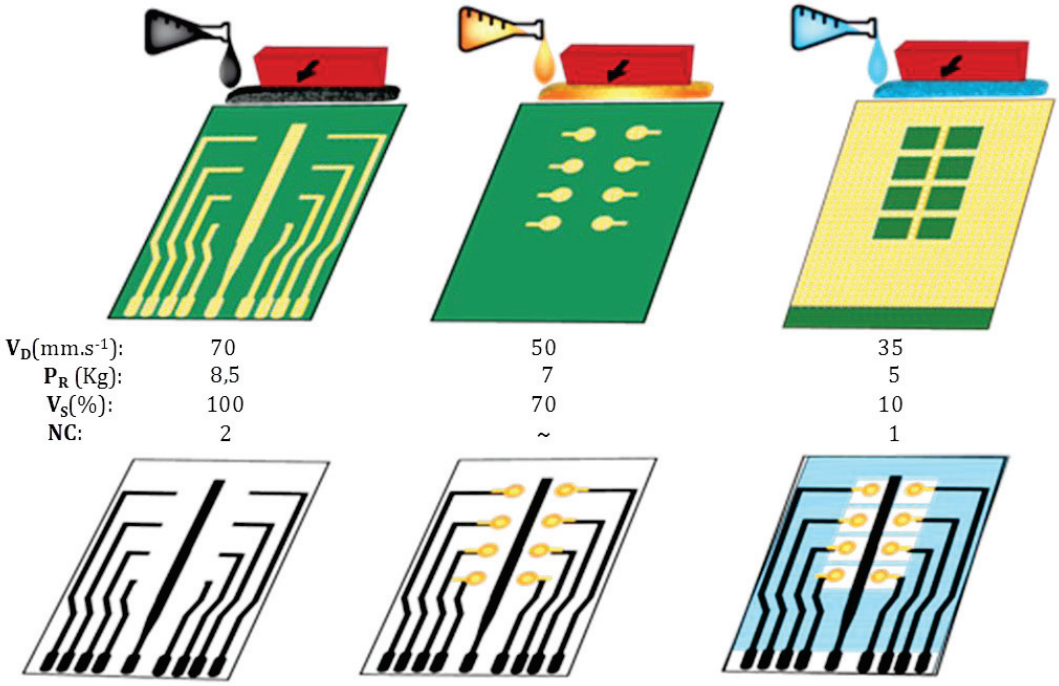


***Figure 34**. Illustration de la réalisation d'un réseau d'électrodes sérigraphiées. V_D : vitesse de dépôt, P_R : la pression appliquée par le racloir sur le masque lors de son passage, Vs : la vitesse de séparation entre le support à imprimer et le masque et NC : le nombre de couches déposées.*

Après chaque dépôt, le support est placé dans une étuve ventilée (100°C à 115°C) pendant 10 minutes, afin de permettre la polymérisation et le séchage de l'encre. Ceci permet également d'éliminer le solvant plus volatil.

Tableau 6. *Données constructeurs des différentes résines utilisées*

Références produits	Dopant	Résistance Ohm/cm²	Epaisseur typique de dépôt (µm)	Cuisson (°C)
Lumidag™ EL- 016 (Henkel Acheson)	Traces d'ITO (indium tin oxide)	< 10000 très faible conductivité	5 à 8	90 à 120
Electrodag® 423SS (Henkel Acheson)	Graphite	< 35	6 à 10	90 à 120
Minico® M 7000 (Henkel Acheson)	Non communiqué	$> 10^{12}$	10 à 30	125 à 200
Résine époxy (Gwent group, Ltd)	Aucun	$> 10^{12}$	/	110

De plus, afin d'obtenir une bonne reproductibilité entre plusieurs séries, un système d'alignement optique automatique par caméra permet de comparer l'emplacement de mires disposés sur le support à celles disposées sur le masque. Ceci permet alors de mémoriser et contrôler la position des supports après la première série et ainsi de la conserver pour les suivantes (Logiciel Dek Align 4). Si un décalage apparaît par la suite, il suffit alors de le corriger manuellement à l'aide de molettes à réglage micrométrique. Les caméras servent également à contrôler la qualité de l'impression afin de vérifier que ce dernier ne présente pas de zone d'absence de dépôt nécessitant alors dans ce cas le dépôt de deux couches successives.

Nous avons ainsi pu réaliser des électrodes sur des supports souples et rigides présentant des motifs et des surfaces de travail variables, comme le montre la figure ci-dessous.

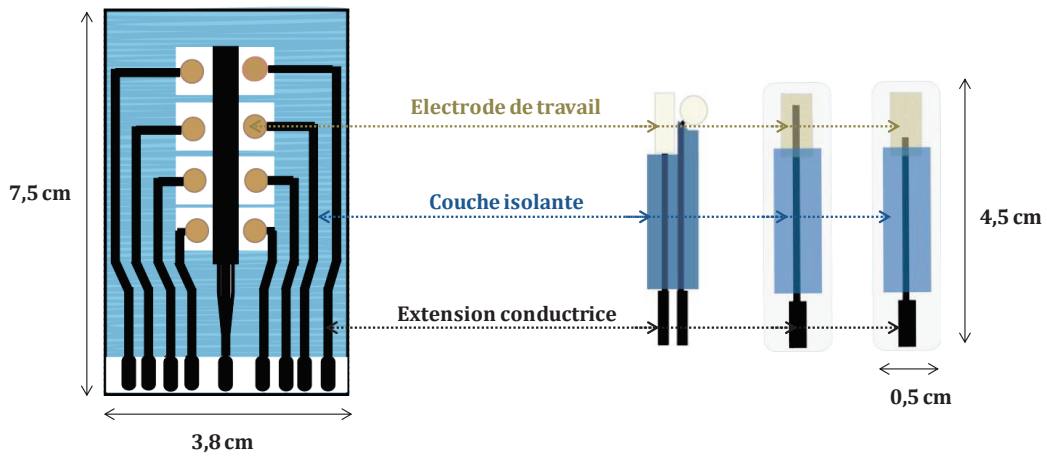


Figure 35*. (à gauche) électrode de type 1, comportant 8 électrodes de travail (surface 11 mm²), (à droite) électrode de type 2 et 3 présentant une électrode de travail de 21 mm² avec en plus une électrode pouvant servir de contre-électrode ou de référence.*

3. « Photopatterning »

La photolithographie est la technique de base de fabrication des microstructures en utilisant des résines photosensibles. Cette technique permet de transférer des motifs de taille micrométrique d'un masque vers un substrat. La technique de la photolithographie s'apparente à la photographie, puisqu'elle comporte une étape d'insolation, de révélation puis de développement. Ayant utilisé une photo-résine dite négative, l'interaction des rayonnements UV avec la résine à travers le masque induit donc une polymérisation des zones exposées, conférant ainsi à ces zones une tenue particulière au solvant de révélation. Par contre, les parties non insolées disparaissent sélectivement dans ce solvant. Une image inversée du masque est alors formée sur le support. Ces résines étant plus sensibles que les résines positives, elles nécessitent des temps d'exposition plus courts mais présentent aussi à l'inverse deux inconvénients :
-une sensibilité aux gaz (oxygène et d'ozone) produits lors de l'exposition aux UV
-un problème de fluage de la résine, ce qui entraîne une limitation de la résolution.

3.1. Composite SU-8 / carbone :

- la résine photosensible SU-8 :

Le SU-8 (ou formulation sensible à base de SU-8 fournie par Microchem™) est composé de trois principaux ingrédients :

- la résine EPON® SU-8 disponible sous forme de granulés et fabriquée par Shell Chemical, constituée d'un prépolymère époxyde comprenant 8 cycles oxyranes CH_2-O-CH par molécule (cf. **Figure 35**)
- le solvant cyclopentanone qui permet de dissoudre la résine et d'ajuster la viscosité des formulations
- le photoamorceur, un sel de triaryl sulfonium/hexafluoroantimonate (Bis etThio), qui permet d'amorcer la réaction de polymérisation de la résine et sa transformation en réseau 3D.

La polymérisation sous UV se déroule par cycle avec pour finalité la réticulation de la résine époxyde. A l'état final, on obtient un réseau époxy dense du fait de la présence des huit fonctions époxydes.

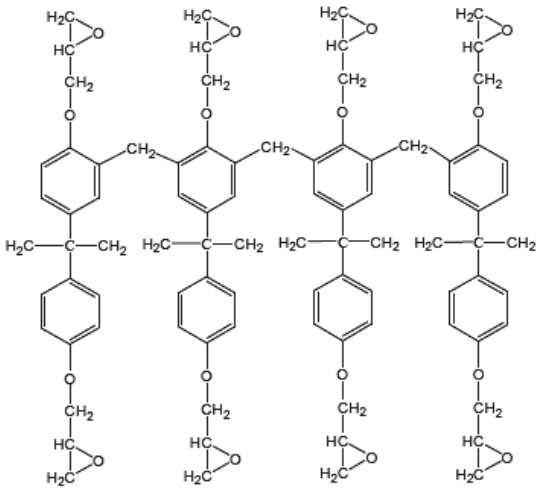


Figure 35. *Représentation schématique planaire de la structure chimique de la résine SU-8.*

- Carbone :

Le carbone est un matériau non métallique existant sous différentes formes allotropiques : les formes cristallines (graphite, diamant) ou amorphes (charbon, noir de carbone). Les propriétés physiques du carbone varient considérablement avec sa forme allotropique. Par exemple, le diamant, l'un des matériaux les plus durs, est transparent et caractérisé par une très forte conductivité thermique et une très faible conductivité électrique. A l'inverse, le graphite est opaque et est très bon conducteur électrique [145]. Chimiquement, le carbone peut se trouver sous forme inorganique, comme dans les calcaires, mais il est surtout l'élément de base de composés organiques. En effet, étant tétravalent, il peut se lier à d'autres atomes via trois types de liaisons différentes selon l'hybridation des orbitales atomiques [145]. Le type de liaison entre les atomes permet d'expliquer un certain nombre de propriétés physico-chimiques des matériaux. Ainsi la double liaison (hybridation sp^2), par la délocalisation des électrons π, est responsable de la couleur noire et surtout de la conductivité électrique du carbone, une propriété particulièrement recherchée dans les matériaux composites.

Graphite :

Le graphite est caractérisé par une structure cristalline formée d'atomes de carbone alignés en plans réguliers. Les plans sont parallèles les uns aux autres et ont une orientation relative bien définie. Au sein d'un plan, les atomes de carbone sont solidement liés entre eux. Les forces entre les plans sont quant à elles beaucoup plus faibles. Pour cette étude nous avons utilisé des particules de graphites TIMREX® de la société TIMCAL, elles se présentent sous la forme de cristallites de taille principalement micrométrique (**figure 37**).

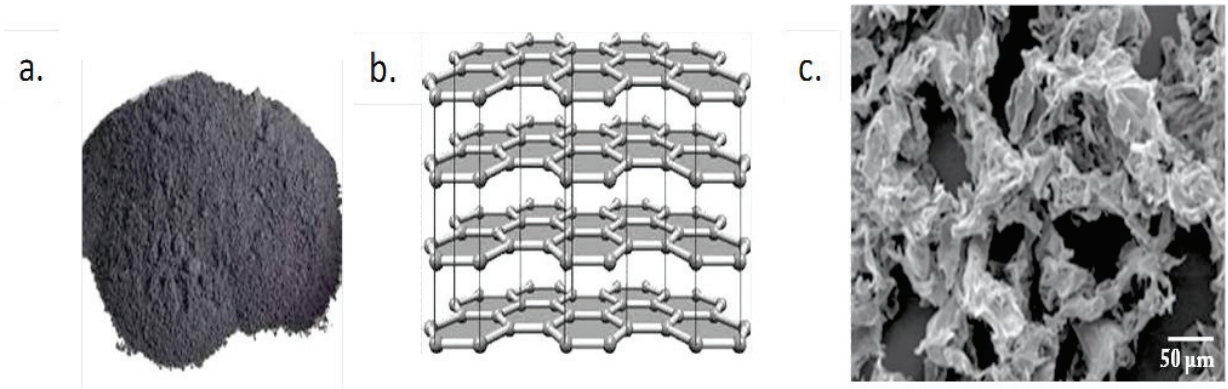


Figure 37*. (a) image de la poudre, (b) représentation schématique de la structure cristalline du graphite et (c) images en MEB du graphite (TIMREX)*

L'ensemble des étapes qui vont suivre a été réalisé dans une chambre noire.

3.2. Elaboration du composite : Protocole de photolithographie

Les composites ont été réalisés par incorporation directe des particules au sein de la résine dans un processus en plusieurs étapes. Dans un premier temps, 230 mg de graphite sont ajouté à 1ml de résine. Le tout est mélangé énergiquement puis 200 µL de toluène sont enfin ajoutés afin de réajuster la viscosité, 3 étapes sont ensuite nécessaires :

1. vortex pendant 10 minutes
2. sonication pendant 5 minutes
3. vortex pendant 5 minutes

Les composites sont ensuite utilisés immédiatement, à température ambiante et dans l'obscurité.

La mise au point du protocole d'utilisation de la résine SU-8 est très délicate. D'une part, à cause de la dépendance des facteurs qui entrent en jeu lors des différentes étapes du procédé et, d'autre part, du fait de la très grande sensibilité de la structure de la résine à toute variation thermique ou photonique. En effet le moindre écart par rapport au procédé optimal provoque généralement des dégâts du type décollement de la couche lors du développement. Comme le montre à titre d'exemple la **Figure 38** pour la série des résines SU-8 2000, l'expérimentateur a le choix entre diverses formulations pour obtenir des couches minces d'épaisseur contrôlée. En faisant varier la vitesse de rotation, il est possible d'influer sur l'épaisseur finale de la couche. Les diverses formulations diffèrent principalement entre elles par la concentration en résine EPON® SU-8 et par conséquent par leur viscosité.

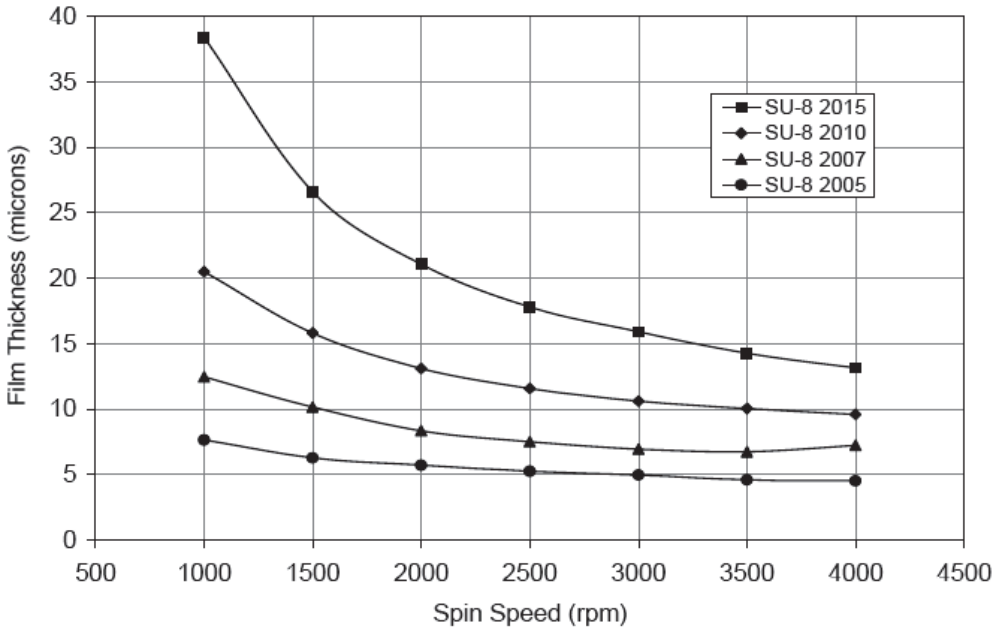


***Figure 38**. Epaisseur du film en fonction de la vitesse de tournette pour la SU-8-2000 d'après Michrochem.*

- Etape 1 : NETTOYAGE DES SUPPORTS A MODIFIER

Etant donné que les contaminants de surface ont un effet néfaste sur l'adhésion de la résine sur le substrat, le dépôt des résines est toujours précédé du nettoyage des supports. Dans notre cas cette étape n'a été effectuée que pour les dépôts sur verre car les supports souples en film transparent se dégradent en présence de solvant organique. Le nettoyage est réalisé tout d'abord par de l'acétone puis par trempage dans un mélange piranha composé d'acide sulfurique H_2SO_4 et de peroxyde d'hydrogène H_2O_2 dans les proportions (3:1 en volume) afin d'enlever toute trace de contaminant, avant d'être rincé dans un mélange eau/éthanol (1:1 en volume).

- Etape 2 : SPIN COATING

L'opération de dépôt de la résine photosensible s'effectue par centrifugation ou « spin coating » au moyen d'une tournette composée d'un système permettant de moduler par palier la mise en rotation à grande vitesse de la plaque à modifier. Cette dernière est maintenue par aspiration sous vide sur un support solidaire du plateau en rotation.

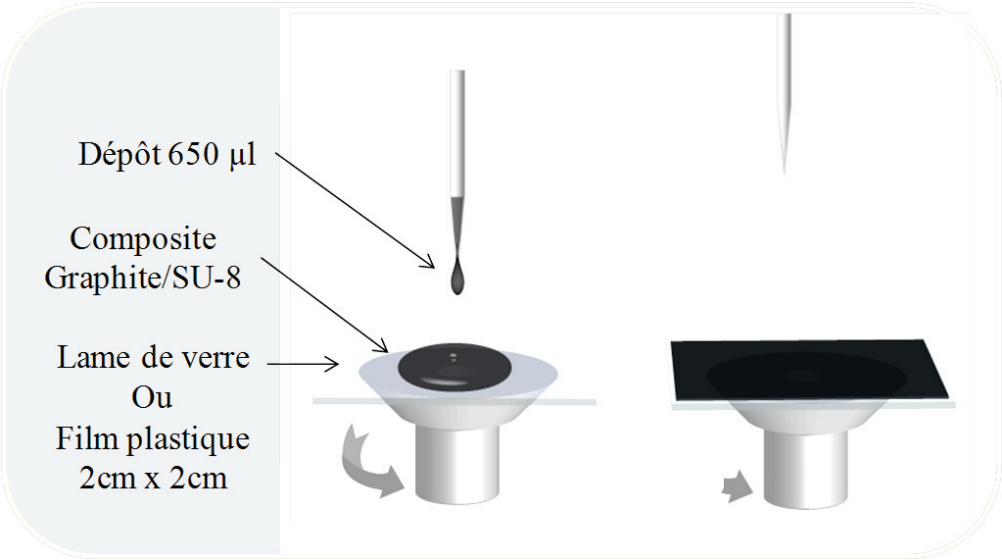


***Figure 39**. Dépôt du composite sur support par spin coating*

Nous avons effectué dans notre cas des dépôts de 650 µL de solution mixte SU-8 / particule suivant un protocole en trois étapes :

- 600 rpm pendant 10 secondes avec une accélération de 100 rpm/s
- 280 rpm pendant 28 secondes avec une accélération de 300 rpm/s
- 300 rpm pendant 10 secondes avec une accélération de 100 rpm/s

➢ Etape 3: PRÉ RECUIT SB ("SOFT BAKE") (figure 40)

Ce premier traitement thermique permet une évaporation partielle des solvants contenus dans les formulations de SU-8 photosensible. Cette étape doit être effectuée en chauffant le dépôt à une température supérieure à la température de transition vitreuse (*Tg= 50 °C*) de la résine SU-8, afin d'assurer le départ homogène des solvants par diffusion au travers de la résine. La température utilisée pour le SU-8 est comprise entre de 87°C et 93 °C et le temps du recuit pour cette étape a été fixé à 1 minute.

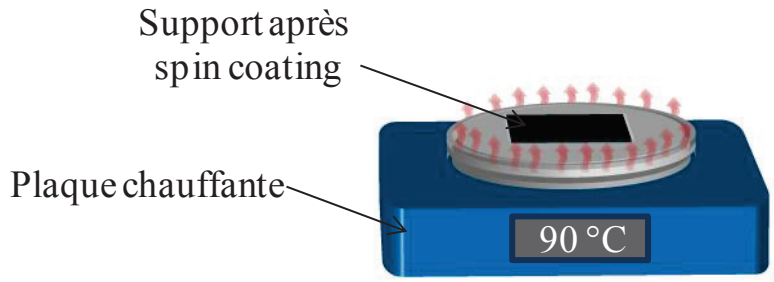


***Figure 40.** Pré-recuit de la couche mince déposée*

➢ Etape 4. INSOLATION (figure 41)

Ne possédant pas d'aligneur de masque, nous avons dû réaliser l'étape d'alignement par contact. Cette technique par contact donne théoriquement la meilleure définition des motifs, mais est très sensible à la planéité des masques et des substrats. Afin d'amorcer la réaction de durcissement de la résine SU-8 photosensible, le support a été exposé à une irradiation UV (à la longueur d'onde de 365 nm) avec une puissance de 13 mW/cm² (pour une distance de 10 cm entre la lampe et le support) pendant 1 min ± 5sec.

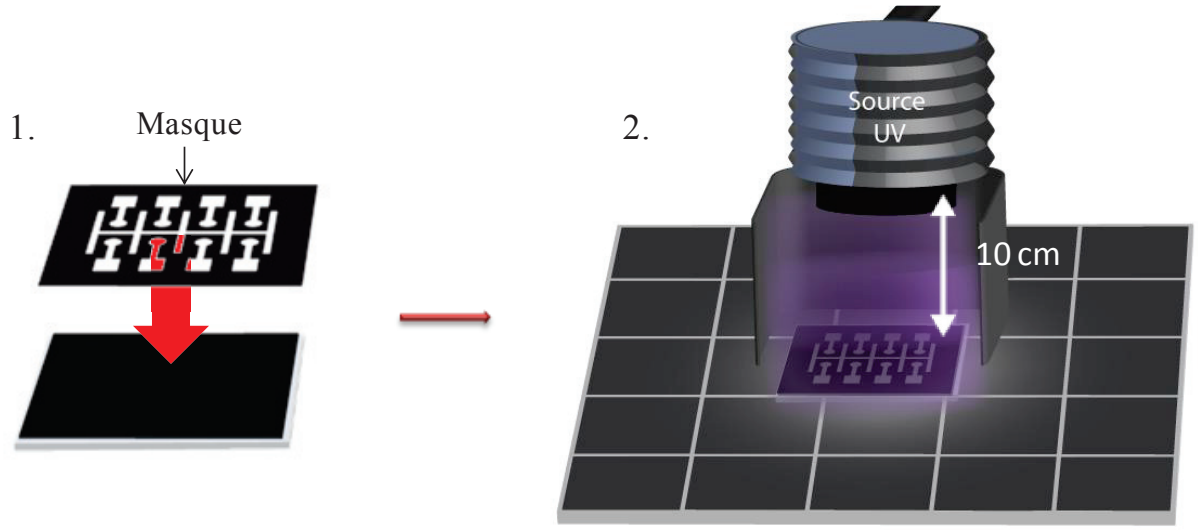


Figure 41. *Mise en contact du masque avec sur le support (2) insolation sous UV à 13 mW/cm² pendant 1 min ± 5sec.*

➢ Etape 5. RECUIT DE DURCISSEMENT ("*POST EXPOSURE BAKE*") (figure 42)

Ce deuxième traitement thermique permet d'activer le durcissement du SU-8, elle induit une densification du réseau (augmentation du degré de réticulation) mais aussi une meilleure adhésion du film sur le substrat. La température de ce recuit est fixée en général à 95 °C.

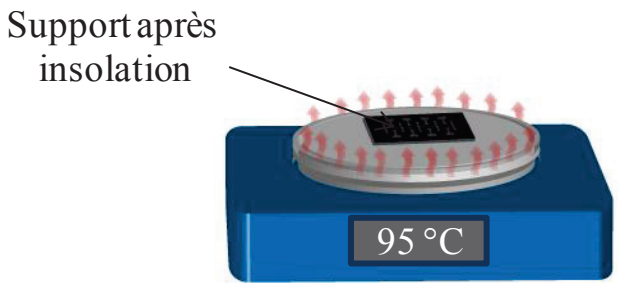


Figure 42. *Recuit de durcissement de la couche*

➢ Etape 6. DEVELOPPEMENT (figure 43)

Le film déposé, insolé et recuit est ensuite développé de manière à révéler les structures. Cette phase repose sur la dissolution sélective de la résine SU-8 non durcie dans un solvant, tel que le Propylène Glycol Méthyl Ether Acétate (PGMEA). Afin de diminuer le temps de développement, une légère agitation peut être appliquée. Cette étape s'effectue généralement à températures ambiante. Après le bain dans le PGMEA, les structures subissent un rinçage à l'alcool (isopropanol) qui permet de stopper la réaction initiée par le PGMEA en éliminant ce dernier.

Afin d'obtenir des structures bien définies et d'éliminer toute résine non polymérisée pouvant être attachée au support lors des étapes de recuit, des cycles successifs de développement / rinçage d'environ 30 secondes ont été effectués.

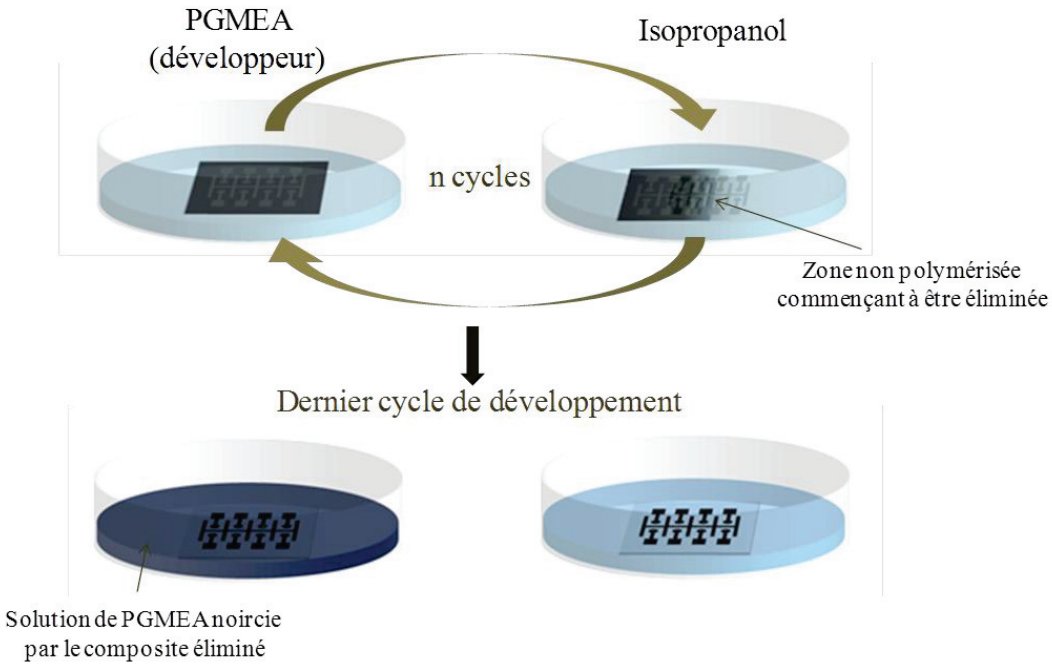


***Figure 43**. Développement de la couche*

- Etape 7. POST RECUIT DE FIN DE DURCISSEMENT ("*HARD BAKE*")

Ce dernier traitement thermique n'est pas obligatoire car une fois initiée, la réticulation se poursuit dans le temps. Cependant ce dernier recuit permet d'activer thermiquement la cinétique de réticulation du film et par conséquent améliore généralement l'adhésion dépôt/substrat. Par ailleurs, si des contraintes et des fissures apparaissent après le développement ou après le recuit de durcissement, ce dernier recuit de densification les diminue voire les supprime par relaxation du réseau (**figure 44**).

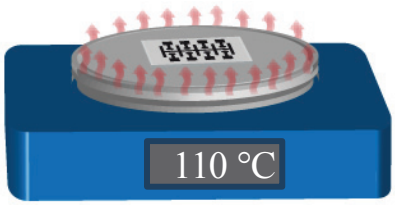


Figure 44. *Post-recuit de la couche et support obtenues*

Pour la réalisation par la suite des mesures électrochimiques et test par marquage chimiluminescent, la délimitation des zones de travail a été réalisée grâce à un film plastique autocollant prédécoupè aux motifs désirés (**figure 45**).

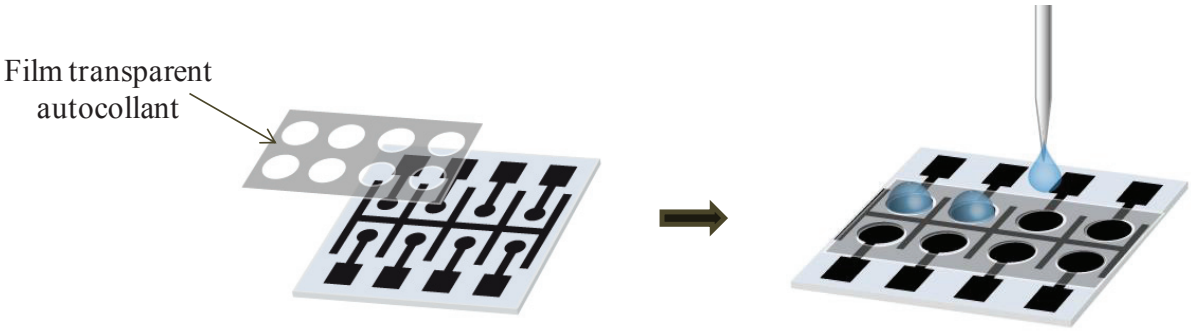


Figure 45*. (à gauche) délimitation de la zone de travail via un film autocollant prédécoupé aux motifs désirés (à droite) support utilisable pour les expériences en électrochimie et chimiluminescence.*

4. Mesures électrochimiques



Une fois les supports réalisés, ces derniers ont été utilisés directement sans modification ou traitement supplémentaire. Pour cette caractérisation, un Multipotentiostat de la société Biologic type VMP3 a été utilisé. Il possède quatre voies indépendantes possédant chacune un module bas courant, utilisé notamment pour les mesures d'impédance.
En effet, deux principaux types de mesures ont été effectués afin de caracteriser electrochimiquement les supports, d'une part des mesures de voltammétrie cyclique et d'autre part des mesures en spectroscopie d'impedance soit classique selon Nyquist, soit des mesures de capacitance selon Mott-Schottky.

Les mesures d'impédance ont été effectuées la majeure partie du temps avec un système électrochimique à deux électrodes, comprenant une électrode de travail, une contre-électrode en platine servant également de pseudo-référence (**figure 46**). Lorsque le montage le permettait un système classique à trois électrodes était alors utilisé avec une électrode de référence externe Ag/AgCl. Nous avions essayé d'intégrer une référence sérigraphiée au sein

du réseau d'électrode, néanmoins cette référence a été abandonnée car elle entrainait trop de variations du signal mesuré.

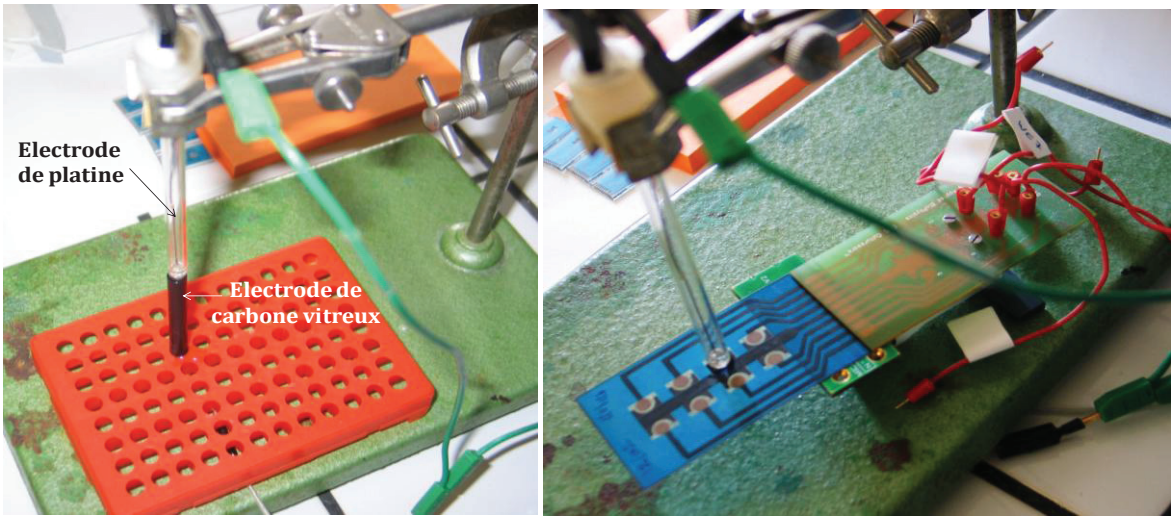


***Figure 46**. Image du montage électrochimique à deux électrodes dans le cas d'une électrode en carbone vitreux et dans le cas d'un réseau d'électrodes sérigraphiées.*

Les potentiels de polarisation sont choisis de façon à obtenir un courant très faible dans la cellule électrochimique. Techniquement, la contre-électrode a souvent une surface très importante par rapport à celle de l'électrode de travail (au minimum deux fois plus grande [146]), son impédance peut donc être négligée dans le calcul de l'impédance totale de la cellule.

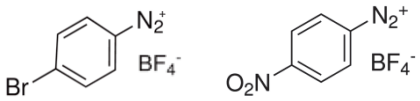
L'élément le plus important en vue de mesurer une impédance en sortie du système est l'application d'une perturbation sous la forme d'une tension alternative sinusoïdale que nous avons choisi de fixer à 20 mV après plusieurs essais.

Concernant les mesures d'impédance selon Nyquist, elles sont réalisées soit dans des solutions électrolytiques de $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ comme pour certaines mesures de voltammétrie cyclique soit comme les mesures de Mott-Schottky dans une solution de NaCl 0,1 M tamponné à pH 7,5. Les potentiels de mesure et les fréquences sont fixés en fonction des supports à étudier et leurs valeurs seront présentées au chapitre suivant.

5. Fonctionnalisation du support et Mesures de Luminescence

5.1. Électro-adressage des sels de diazonium et dérivés

Nous avons au cours de cette étude utilisé soit des sels de diazonium tels que le tétrafluoroborate de 4-bromobenzénediazonium et le tétrafluoroborate 4-de nitrobenzénediazonium, pouvant être directement électro-greffés,



soit des molécules couplées à un groupement pouvant être dérivé en groupement réactif diazonium afin d'être greffé. C'est le cas des oligonucléotides-ABA (séquence sonde d'oligonucléotides (TTG AGG TGC ATG TTT GTG CC), modifiée en son extrémité 5' par le 4-AminoBenzylAmine. Les ions aryldiazonium peuvent être formés à partir de dérivés aniline, dans une solution acide de $NaNO_2$, ce sel de diazonium peut alors être électro-réduit pour conduire à la formation d'un aryl-radical de forte réactivité, ce dernier se greffant à la surface de l'électrode qui a fourni l'électron nécessaire à son électro-réduction [5] (**Figure 47**). Une étape de diazotation est donc réalisée dans H_2O pendant 20 minutes à 4°C (dans la glace) en milieu acide. Pendant ce temps de diazotation, la surface des électrodes est saturée par une solution de VBSTA, durant 10 minutes, à + 37°C. La saturation permet d'éviter une interaction non adressée, c'est-à-dire non due à l'application d'un potentiel, entre l'aryl diazonium et d'éventuels groupements réactifs à la surface de l'électrode. La BSA interagit avec les zones hydrophiles et le Tween interagit lui avec les zones hydrophobes du support.

Les solutions fraichement diazotées doivent être immédiatement utilisées pour l'électro-adressage car le groupement diazonium n'est pas stable.

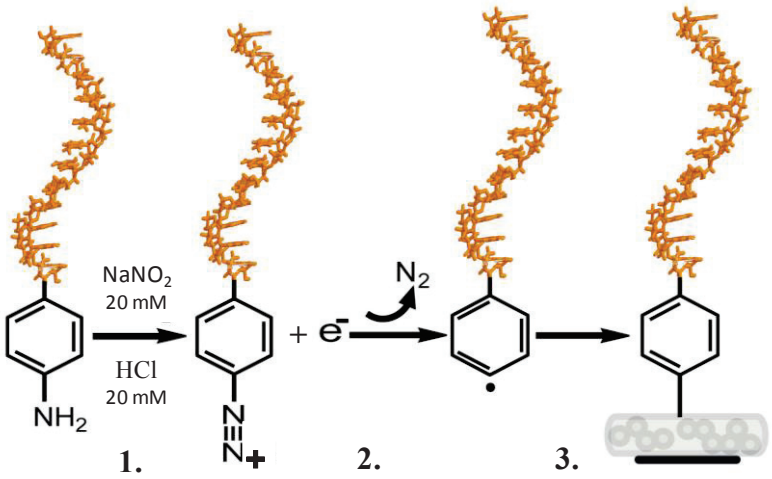


Figure 47. *(1) Diazotation de l'aniline (4-ABA) avec formation d'un ion diazonium ; (2) Electro-réduction du sel de diazonium, apparition d'un radical servant à former la liaison covalente au support ayant fourni l'électron nécessaire à la réduction de l'ion diazonium (3).*

5.2. Electro-adressage sur réseau d'électrodes

Afin d'effectuer l'électro-adressage, un système à deux électrodes est mis en place de la manière suivante : une contre-électrode en platine, servant également de pseudo-référence, est

mise en contact avec la solution déposée sur l'électrode de travail. Un connecteur multivoies est utilisé afin de permettre la connexion individuelle de chacune des électrodes à une voie du potentiostat (**Figure 48**).

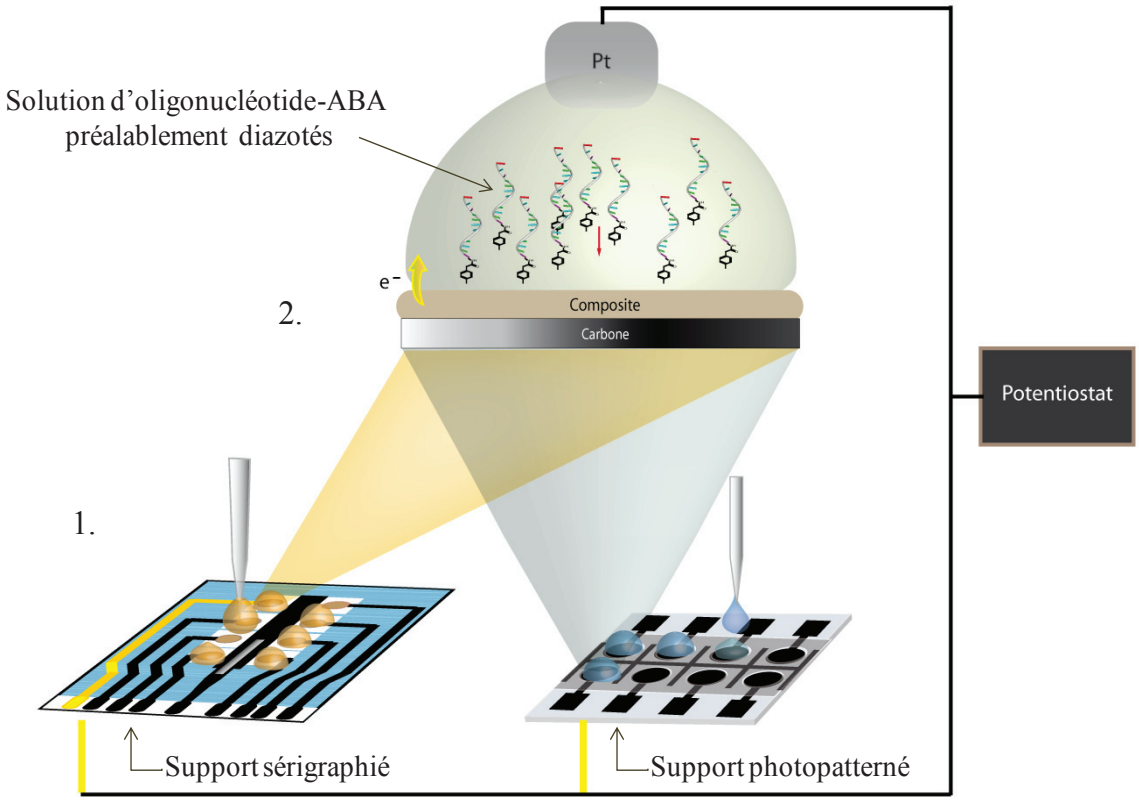


Figure 48. *Schéma représentant l'électro-adressage, avec (1) le dépôt de la solution d'adressage sur chaque électrode et (2) l'application d'un potentiel de -1,3 V sur une électrode, permettant la réduction du groupement aryl diazonium avec greffage à la surface de l'électrode.*

Un volume de 10 à 50 µl des solutions fraichement diazotées est placé sur la surface des électrodes. La réduction des groupements diazoniums et leur greffage nécessitent l'application d'un potentiel réducteur. Sachant que le potentiel de réduction du 4-ABA est de - 0,4 V (*vs* Ag/AgCl), nous avons donc choisi de nous placer à -1,3 V (*vs* Pt).

6. Hybridation et Chimiluminescence (CL)

Après diazotation et électro-adressage des sondes oligonucléotides-ABA, la surface des électrodes est rincée et saturée avec du tampon VBSTA.
Une mesure d'impédance ou de voltammétrie est réalisée après cette immobilisation puis la surface est de nouveau saturée avec du VBSTA.

L'hybridation est ensuite réalisée par dépôt d'une solution de séquence cible complémentaire [Séquence d'oligonucléotides cible (GG CAC AAA CAT GCA CCT CAA), biotinylée en son extrémité 5'] pendant 1 heure à 37°C dans du tampon VBSTA. L'électrode est ensuite rincée dans du VBS afin d'éliminer les brins complémentaires non hybridés. Dès lors une mesure d'impédance est réalisée, suivie d'une autre étape de saturation.

La surface est ensuite incubée avec une solution de streptavidine marquée par la peroxydase à une concentration de 1 µg/ml pendant 30 min à 37°C. Les electrodes sont finalement rincées 20 minutes dans du tampon VBS afin d'éliminer les molécules en excès, avant d'être placée dans la chambre de mesure de la caméra CCD pour la mesure de luminescence.

Les mesures de chimiluminescence ont été réalisées en respectant un protocole standard. Une solution contenant les substrats nécessaires à la peroxydase est préparée quelques minutes seulement avant la mesure. Cette solution contient 220 µM de luminol, 500 µM d'H_2O_2, et 20 µM d'un amplificateur, le para-iodophénol, le tout dans un tampon VBS pH 8,5. En fonction du type d'électrode utilisé, 5 à 35 µL de la solution sont alors déposés à la surface des zones d'intérêt du support. Ces derniers sont immédiatement placés dans l'enceinte de la caméra CCD. L'acquisition du signal débute alors, pour une durée pouvant aller de ¼ de seconde à 3 minutes.

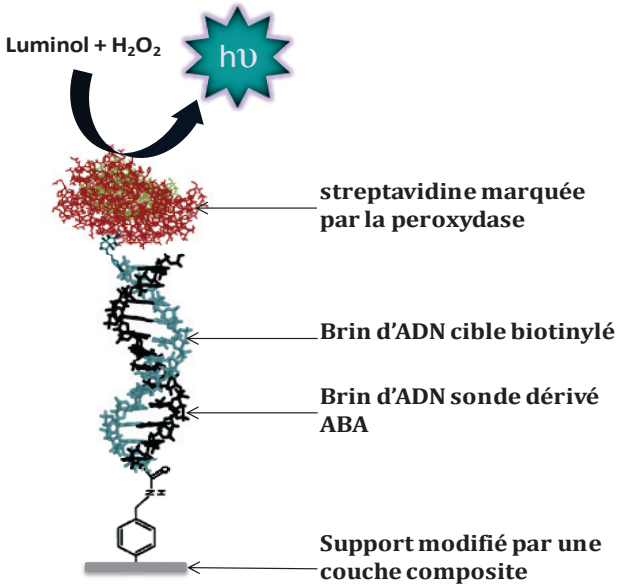


***Figure 49**. Illustration de l'architecture des biomolécules utilisées pour la détection en chimiluminescence de l'événement d'hybridation du brin complémentaire biotinylé.*

La caméra CCD FUJIFILM® LAS-1000, est équipée d'un thermo-module, appelé également élément Peltier (**figure 50**). Le capteur CCD étant apposé à la face froide de cet élément, il permet de le refroidir à une température de -30°C lors des mesures de luminescence. Ainsi, le bruit de fond électronique est considérablement réduit, et il est alors possible de mesurer des intensités lumineuses très faibles sur une durée pouvant aller jusqu'à 20 minutes.

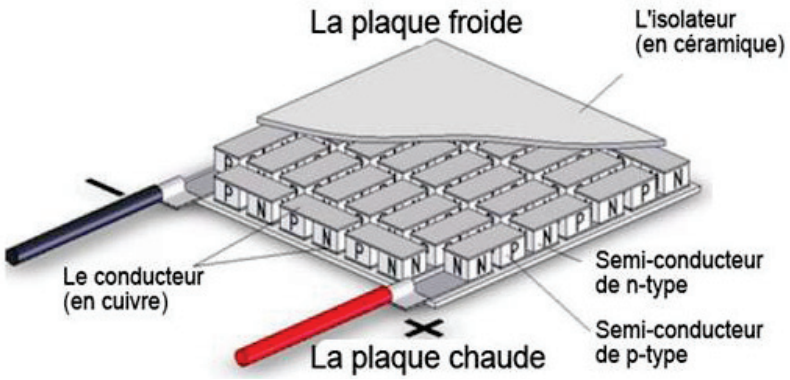


Figure 50. *Elément Peltier. La face supérieure absorbe la chaleur et rejette celle-ci par son autre face. (D'après http://www.kryotherm.ru/french.phtml?lalala=fr)*

L'acquisition de la lumière émise à la surface des différentes électrodes est réalisée à l'aide de la Caméra CCD refroidie placée au sein d'une enceinte isolée de la lumière extérieure (**figure 51-b**). Les images numériques obtenues sont utilisées pour quantifier l'intensité lumineuse provenant de chaque électrode à la surface des puces (Image Gauge 4.0).

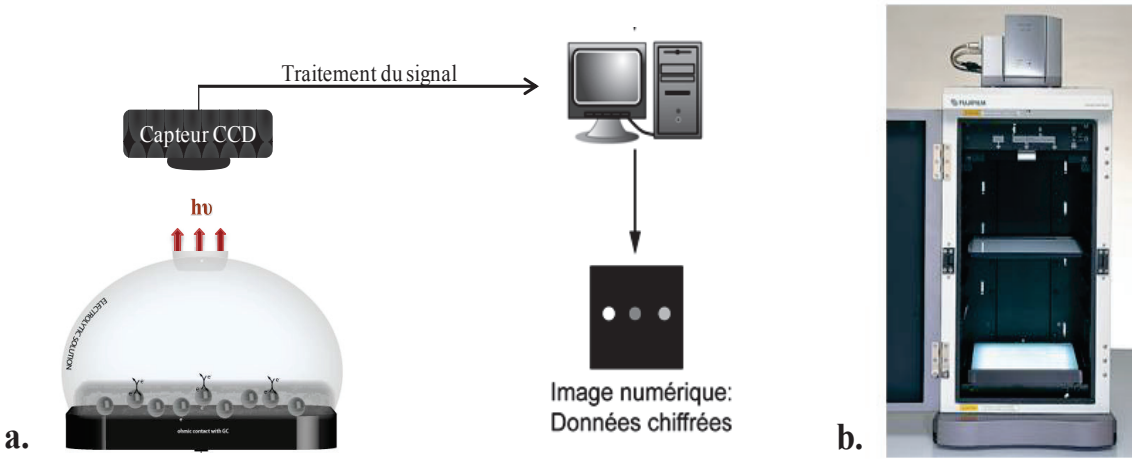


Figure 51*. (a.) Mesure de luminescence au sein d'une enceinte isolée de la lumière et intégration du signal à l'aide de la caméra CCD. (b.) Photographie de la caméra CCD FUJIFILM Las-1000 plus, et de l'enceinte (DarkBoxII).*

7. Méthodes de caractérisations

7.1. Profilomètre optique 3D

Le profilomètre utilisé est un appareil optique capable de numériser la surface d'un objet en assimilant celle ci à une matrice de pixel de valeurs (x;y;z). Le dispositif du laboratoire utilise l'aberration chromatique, c'est-à-dire la propriété d'une lentille dispersive à focaliser de

manière différente les longueurs d'ondes d'un spectre lumineux. L'enregistrement du spectre de réflexion de la surface de l'objet est converti en une hauteur z, sa valeur est alors attribuée au pixel de coordonnées (x;y) correspondant. Le dispositif se déplace ensuite en (x;y), grâce à un plateau motorisé (avec un incrément minimal de 2 µm), puis passe à la mesure de la hauteur du pixel suivant, jusqu'à compléter entièrement la matrice de pixel (**figure 52-a**).

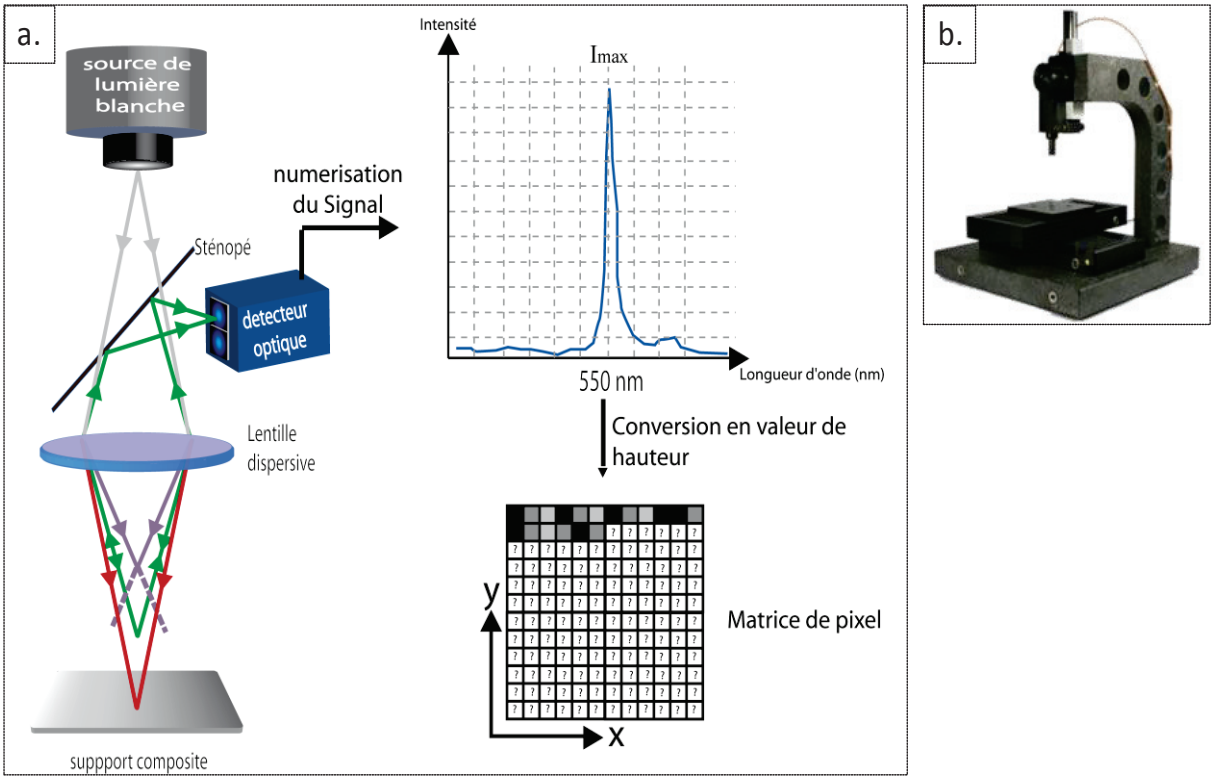


Figure 52 (a.) *Schéma de fonctionnement du profilomètre utilisant l'aberration chromatique et* ***(b.)*** *photographie de l'appareil.*

L'avantage de ce dispositif est de fournir rapidement des images de structures et de tailles très différentes en utilisant une résolution adaptée à l'échelle observée, avec une limite inférieure de 2 µm en x/y et de 15 nm en z. De plus, cet appareil ne présente pas le risque d'altérer les structures lors de son utilisation, puisqu'il n'y a pas de pièces mécaniques en contact avec la surface de l'objet.

7.2. Microscopie électronique à balayage (MEB) et à transmission (MET)

- MEB

Les images de microscopie électronique à balayage ont été réalisées sur un microscope Hitachi S800 FEG, fournissant une résolution de 2 nm à 30 kV pour une distance de travail de 5 mm et des tensions d'accélération possibles allant de 1 à 30 kV. Un faisceau d'électrons projeté sur l'échantillon à analyser génère des électrons secondaires de basse énergie qui sont accélérés vers un détecteur amplifiant le signal. À chaque point d'impact sur le détecteur correspond un signal électrique dont l'intensité dépend de la nature et de la topographie de l'échantillon au point d'impact. Il est ainsi possible, en balayant le faisceau sur l'échantillon, d'obtenir une cartographie de la zone balayée. Pour les échantillons non conducteurs, il est nécessaire d'effectuer au préalable une métallisation de la surface, réalisée dans notre cas en déposant une couche or-palladium généralement d'une épaisseur de 4 nm.

- MET

La microscopie électronique en transmission est bien adaptée à l'étude structurale et morphologique des nano-objets. Cette méthode d'analyse, bien que destructive, fournit une information locale et renseigne notamment sur la taille et la forme des nanocristallites constituant les films. Dans son principe, la microscopie électronique à transmission ressemble à la microscopie optique en lumière directe. Le faisceau d'électrons est émis par un canon à électrons, focalisé sur la préparation à l'aide de lentilles électromagnétiques. Les électrons sont plus ou moins absorbés (la préparation est dite plus ou moins dense aux électrons)

La préparation des échantillons dépend de la mise en forme initiale du matériau. Dans notre cas les couches étudiées sont déposées sur une grille inerte au faisceau d'électrons.
Les observations ont été réalisées grâce à un microscope PHILIPS CM120 en mode conventionnel de Résolution 0,34 nm en mode point et 0,20 nm en mode ligne, avec des Tensions d'accélération possibles de 60 à 120 kV.

Les caractérisations des films par microscopie électronique ont été menées au Centre Technologique des Microstructures faisant partie de **Plate-forme technologique de l'Université Claude Bernard Lyon 1.**

7.3. Spectroscopie infrarouge par réflexion totale atténuée (IR-ATR)

Nous avons principalement été amenés à travailler par spectroscopie IR-ATR, que ce soit pour l'analyse des surfaces, des poudres ou des liquides.
Le principe de l'ATR repose sur une propriété de réflexion totale, propre à certains matériaux

optiques. Cette technique suppose la propagation d'un rayonnement IR à travers un cristal d'indice de réfraction élevé n1 en contact direct avec l'échantillon, de façon à ce que celui-ci soit totalement réfléchi à l'interface cristal-échantillon.
Les deux conditions à réunir impérativement dans le cadre de la mise en œuvre de l'équipement de spectroscopie IR-ATR sont :

- Un indice de réfraction élevé pour le cristal ATR, celui-ci doit être choisi de façon à ce que son indice de réfraction soit significativement supérieur à celui de l'échantillon. Dans le cas contraire, il n'y a pas de réflexion interne et le rayon est transmis au lieu d'être réfléchi. On suppose que la majorité des solides et liquides étudiés ont des indices de réfraction inférieurs à celui du cristal.

- Un contact parfait entre la surface de l'échantillon et celle du cristal. Comme l'onde évanescente ne s'étend que sur quelques microns (0,5 μm – 5 μm), les échantillons doivent donc être en contact direct avec le cristal ATR. Pour cela, les échantillons solides sont fermement pressés contre le cristal ATR permettant à l'onde évanescente de passer directement du cristal à l'échantillon.

D'un point de vue pratique, les mesures sont réalisées sur un spectromètre Nicolet iS10 de la société Thermo Scientific équipé d'un cristal ATR en diamant synthétique. L'échantillon est placé sur le diamant ATR sous presse (**Figure 53**). L'acquisition des spectres se fait *via* le logiciel OMNIC version 6.5 entre 600 et 4000 cm^{-1} (256 scans, résolution de 2 cm^{-1}). Pour toutes nos mesures, le spectre d'un substrat vierge est pris comme référence (background). Les principaux traitements post-acquisition sont la correction automatique de ligne de base et des bandes d'absorption de l'eau gazeuse et liquide et du CO_2.



***Figure 53**. Photographie d'un spectromètre Nicolet iS10 équipé de l'accessoire d'échantillonnage ATR Thermo Scientific Smart iTR™*

Chapitre 3 : Résultats et Discussions

Ce chapitre s'articule autour de deux parties, le premier traitant de l'élaboration des composites semi-conducteurs et le second d'un composite conducteur photo-polymérisable. Ces divers composites seront utilisés ensuite pour la réalisation de couches sensibles dans le cadre du développement de support actif pour la détection électrochimique de modifications de surface.

Partie 1 : Composites semi-conducteurs

Dans un premier temps nous nous sommes attelés à l'élaboration d'une encre qui respecterait les caractéristiques rhéologiques décrites précédemment dans le chapitre matériels et méthodes et qui présenterait le caractère électrique attendu. Afin d'éliminer les risques liés à l'introduction d'un nombre d'étapes trop importantes dans l'élaboration de ce composite, et particulièrement les étapes de synthèse d'un liant, nous avons décidé d'utiliser comme liant organique une résine polymère commerciale. Il existe, en effet, aujourd'hui de nombreuses résines disponibles sur le marché possédant diverses propriétés (mécanique, électrique…). Néanmoins, afin d'éliminer toutes interférences possibles du liant quant à la caractéristique électrique du composite final, toutes résines possédant un dopant conducteur ou possédant des propriétés électriques ont été écartées. Après plusieurs essais notre choix s'est porté sur une résine intermédiaire de la société Gwent. Mise à part le fait que ce soit une résine époxy thermodurcissable isolante sans aucun dopant extérieur, les caractéristiques physico-chimiques de cette dernière n'ont pas été transmises par la société puisque il ne s'agit pas d'une encre commercialisé à proprement dit mais d'une résine intermédiaire.

1. Caractérisation morphologique

Une fois le liant choisi, l'élaboration proprement dite de l'encre a pu débuter. Souhaitant développer des nanocomposites nous avons de la même manière recherché un matériau dopant semi-conducteur que nous pourrions intégrer à ce liant. Dès lors, Il nous a paru judicieux de choisir un matériau se présentant sous la forme de poudre, qui ne soit pas trop coûteux et en quantité suffisante pour nos essais. Dans notre étude nous avions songé à une approche dite « *bottom-up* », par synthèse chimique, pour l'obtention de nanomatériaux semi-conducteurs, mais comme précédemment, la synthèse d'un composé semi-conducteur présentant une pureté et une taille nanométrique aurait été une difficulté supplémentaire et aurait nécessité d'importantes mises au point. C'est ainsi qu'une fois de plus, nous avons décidé de nous tourner vers des produits commerciaux. Ainsi un panel de matériaux semi-conducteurs binaires (oxyde métallique) tel que ZnO, le NiO, SnO_2 a été choisi, comportant à la fois des semi-conducteurs présentant une caractéristique électrique de type n et de type p. Nous voulions aussi pouvoir utiliser un matériau semi-conducteur intrinsèque tel que le silicium, néanmoins ne trouvant que très difficilement du silicium sous forme de poudre chez les fournisseurs commerciaux, nous avons décidé pour ce matériau de le synthétiser par nos propres moyens en collaboration avec le laboratoire de Spectroscopie et Nanomatériaux de l'Institut des Nanotechnologie de Lyon (INL).
Pour se faire nous avons, cette fois préféré une approche dite « *top-down* » en se basant sur une méthode décrite plus en détails dans le chapitre 2. En effet, à partir d'une plaque de

silicium monocristallin dopé, nous avons réalisé une première étape d'anodisation dans une solution mixte d'acide fluorhydrique et d'éthanol. Une surface poreuse est alors obtenue de laquelle sont ensuite extraites par voie mécanique les particules de silicium. Par la suite, une fraction est récupérée dans l'éthylène glycol, solvant servant aussi à l'ajustement de la viscosité du liant afin d'y être incluses.

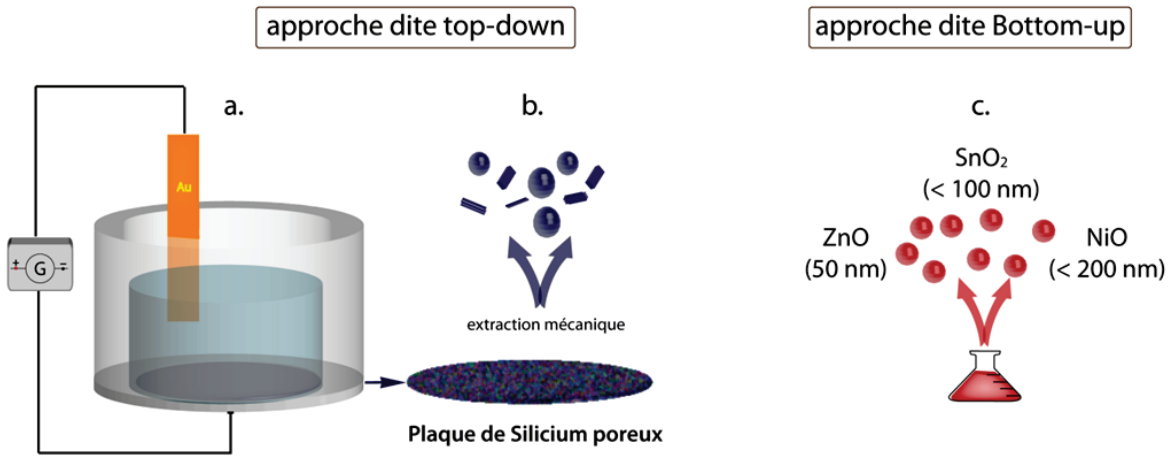
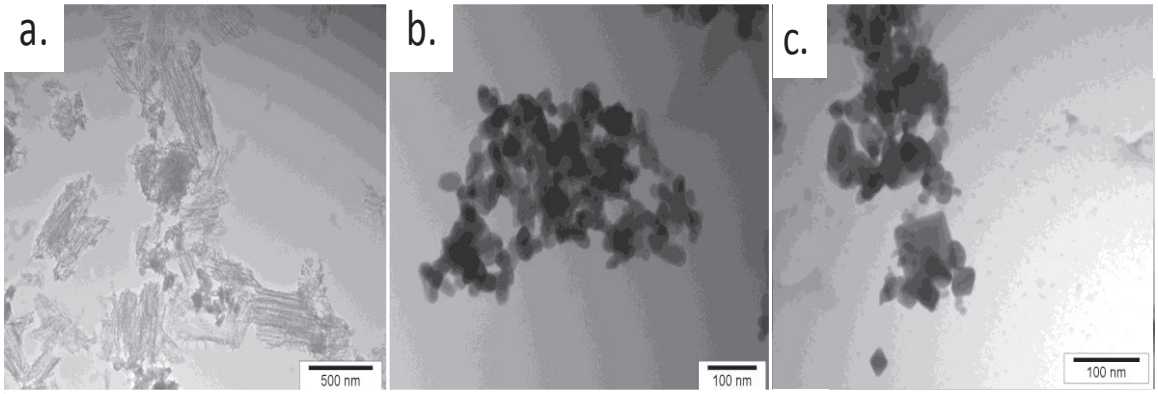
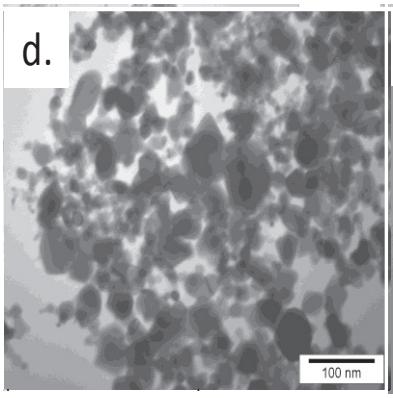
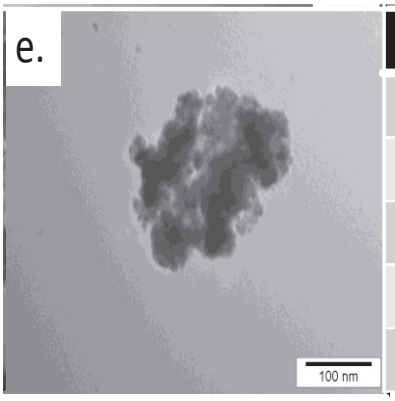


***Figure 54**. (a) anodisation électrochimique d'une plaque de silicium (dopé n ou p) dans une solution HF / éthanol en mode galvanostatique (b) récupération de particules sous forme de poudre à partir du réseau poreux (c) les poudres achetées sont toutes issues de synthèses chimiques.*

Avant l'intégration de ces nano-objets dans le liant organique les différentes poudres ont été caractérisées par microscopie électronique à transmission (MET). Les résultats sont présentés **figure 55**.







Nanomatériaux	taille
Silicium dopé p	< 500 nm
Silicium dopé n	< 100 nm
ZnO (type n)	< 50 nm
SnO_2 (type n)	< 100 nm
NiO (type p)	< 200 nm

Figure 55*. détermination par microscopie électronique à transmission de la taille moyenne des différents matériaux, (a) nanoparticules de silicium dopé p, (b) nanoparticules de ZnO, (c) nanoparticules de silicium dopé n, (d) nanoparticules de SnO_2 et (e) nanoparticules de NiO.*

Lors de la réalisation de ces essais, les grilles de MET utilisées étant sensible à un grand nombre de solvant organique, les particules ont été placées en suspension non colloïdale dans l'éthanol. Malheureusement que ce soit les oxydes métalliques ou le silicium leur resuspension fut compliquée, car pour la majorité des solvants utilisés une agrégation des particules était observée et ce malgré des cycles de sonication. C'est ainsi que l'on observe sur les images une hétérogénéité des formes avec notamment la formation par moment d'agrégat. Pour des diamètres inférieurs à 1 µm, dans des milieux relativement visqueux, les forces inter-particulaires (Van der Waals) et les processus de diffusion jouent un rôle dans l'agglomération des particules, ce qui va à l'encontre de leur bonne dispersion. Plus la dispersion est homogène, moins il y a d'agrégats. La formation des agglomérats est liée à l'existence de forces inter-particulaires très élevées entre particules, du fait de leur petite taille. Ce comportement compliquera également la formation des composites comme nous allons le voir juste après.

Par la suite, l'intégration de ces différentes poudres au sein du liant a été effectuée (cf. chapitre 2). Pour rappel le rapport en m/m ne dépasse pas 7,5 % et diffère en fonction du matériau considéré. Une caractérisation des différents composites ainsi formés fut mené à la fois par microscopie électronique à transmission (MET) et à balayage (MEB) après le dépôt. La **figure 56**, présente les images obtenues par MET sur les composites à base de silicium avec **(figure 56-a.)** Gwent-Si(n) et **(figure 56-b.)** Gwent-Si(p). On observe une dispersion hétérogène des particules au sein du polymère avec tout de même peu de zone de forte densité électronique donc peu de zone d'important agrégat. Il faut souligner que par cette technique il y a été difficile de réaliser des clichés puisque la partie polymère du composé était dégradée très rapidement par le faisceau d'électron, avec l'apparition progressive de déchirures dans le film polymère (symbolisées par un cercle violet sur l'image ci-dessous).

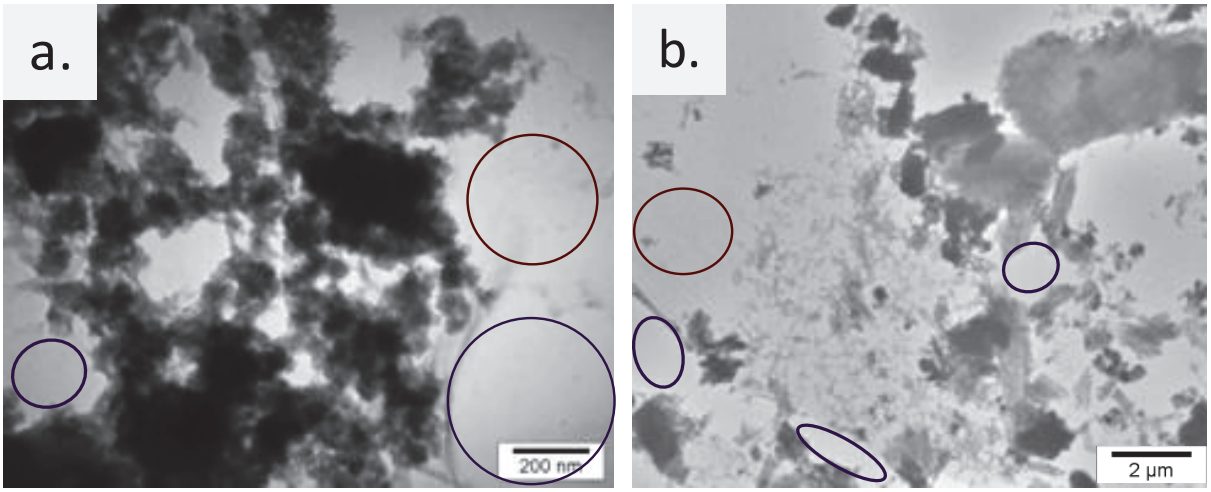


***Figure 56**. Images de microscopie électronique à transmission. (a) particule de silicium dopé n au sein d'une matrice de Gwent, la zone O correspond au liant seul et la zone O correspond au trou dans le film et (b) particule de silicium dopé p inclus dans une matrice de Gwent.*

Les observations précédentes nous ont poussés à évaluer dans un second temps, le comportement de l'encre en termes de qualité de couverture, de structuration de surface une fois déposée sur un support. Pour les besoins de l'expérience par MEB cette fois-ci, les dépôts on été réalisés sur des supports de silicium monocristallin afin de se défaire de l'influence des défauts de surface éventuels du support et ainsi mieux évaluer les caractéristiques de formes imputables uniquement au dépôt. Les études ont été menées principalement sur les composites à base d'oxydes métalliques. On remarque sur les images **figure 57,** que les composites présentent une homogénéité globale quant à la texturation avec des particules visiblement entourées de polymère apparaissant en transparence (particulièrement bien visible sur la **figure 57-c)**.

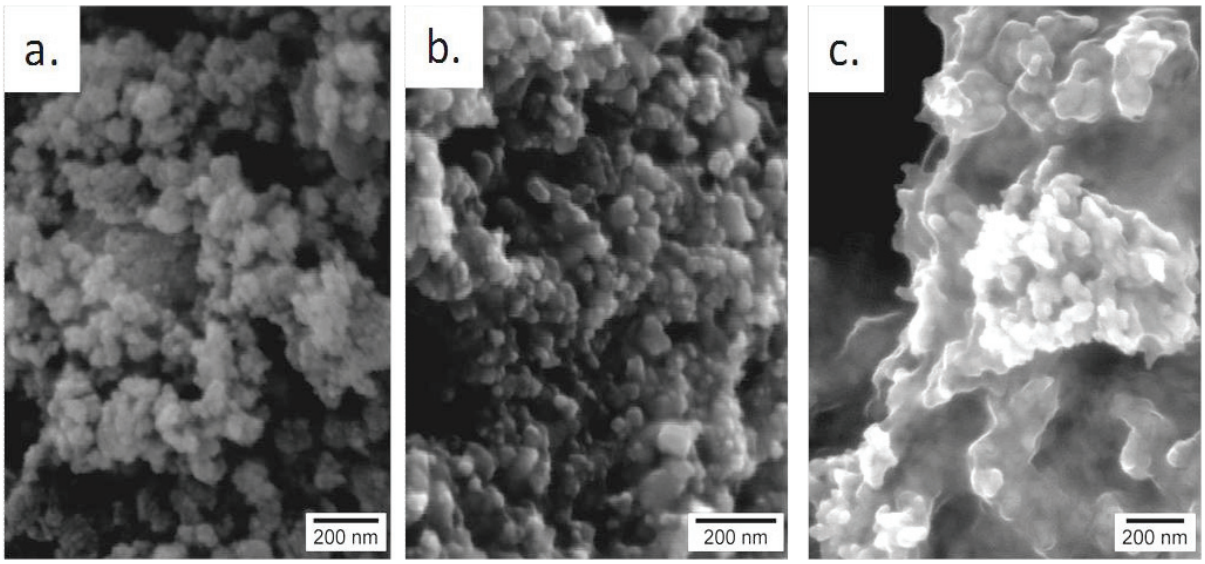


***Figure 57**. Images de MEB (a) du composite NiO-Gwent (b) SnO_2-Gwent et (c) ZnO-Gwent déposées sur support silicium. (grossissement x 80000)*

Reste tout de même que la dispersion des particules au sein du liant est variable selon l'oxyde utilisé, c'est ainsi que l'on observe des densités en apparence plus importante pour le SnO_2 et le NiO. Mais si l'on observe à plus faible grossissement, il apparaît alors des zones d'amas de taille relativement importante de l'ordre du micron (**figure 58**). Ce phénomène est probablement dû à la nature chimique du composé (état de surface, réseau cristallin, groupements présentés en surface). En effet lors de l'inclusion des particules dans la résine, les encres obtenues présentaient des caractéristiques de viscosité très différentes avec plus ou moins de facilité à y disperser les poudres. Cette variabilité se traduit donc par ces inhomogénéités que l'on retrouve ainsi sur une partie du dépôt.
Cette dernière observation, n'est pas forcément un désavantage, en effet la présence de défauts de structure et de cavités permettent ainsi d'augmenter la surface spécifique de la couche, ce qui pour les besoins du projet à savoir le greffage de molécules peut s'avérer être un avantage puisque la densité de molécules greffées peut ainsi être sensiblement accrue pour un même volume de solution utilisée par rapport à celle d'un support plan.

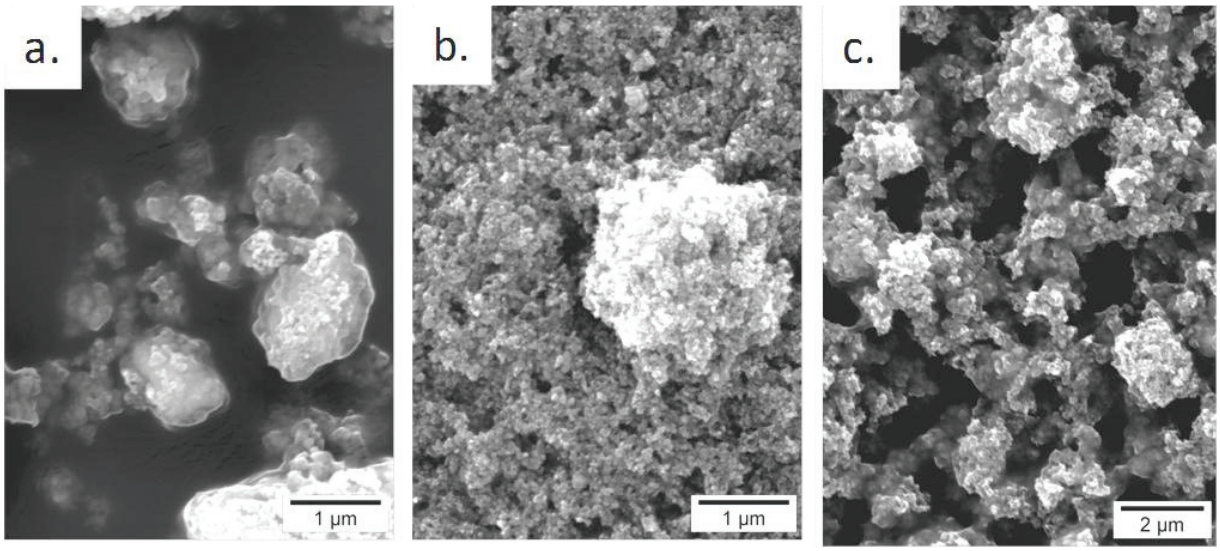


***Figure 58**. Images de MEB (a) du composite NiO-Gwent (b) SnO_2-Gwent et (c) ZnO-Gwent déposées sur support silicium. (grossissement x10000)*

Fort de ses observations nous avons essayé d'appréhender les phénomènes régissant les comportements lors de l'inclusion des particules dans l'encre. Une approche afin de caractériser les états de surface des particules a été envisagée. Il existe certes de nombreuses voies de synthèse chimique des oxydes métalliques, néanmoins il est connu que ces derniers, présentent des fonctions hydroxyles en surface [147]. A cette surface, il existe souvent une couche de solvatation du fait de la vapeur d'eau contenue dans l'air ambiant, puis lorsque la poudre est immergée dans une solution aqueuse, il se produit alors des phénomènes de protonation au contact de la solution. Les groupements hydroxyles sont amphotères et conduisent à des sites chargés positivement ou négativement suivant le pH de la solution.

Nous avons donc voulu caractériser cette couche hydroxylée. Pour ce faire, des mesures de potentiel Zeta ont été réalisés afin d'obtenir des informations sur la dispersibilté des particules qui est directement fonction des états de surface et notamment des forces électrostatiques et de la capacité de formation de liaisons hydrogènes. Pour être réalisable, la mesure nécessite une quantité suffisante (de l'ordre de 0,1mg.ml^{-1}) et que les nanoparticules soit en suspension dans un tampon électrolytique. Du fait des quantités insuffisantes des autres matériaux, les expériences n'ont donc été menées que sur les particules de ZnO. Des difficultés ont ensuite été rencontrées très rapidement au cours de l'expérience, puisque les particules avaient tendance à s'agréger et précipiter quasi instantanément. Nous avons néanmoins pu obtenir des résultats pour trois valeurs de pH comme le montre la **figure 59**. Il est admis que la charge de surface des nanoparticules résulte d'équilibres acido-basiques et dépend donc du pH et de la force ionique de la solution. La surface des particules est donc chargée positivement, négativement ou non chargée. Le pH du milieu pour lequel la charge de surface est nulle s'appelle le point de charge nulle (PCN). A pH < PCN, la charge de surface est positive et à pH > PCN, elle est négative.

Ainsi le comportement des particules en fonction du pH tend à démontrer qu'elles présentent un comportement particulier en fonction du pH. Si l'on observe plus en détails les résultats, on s'aperçoit que les potentiels mesurés à pH 4 sont proches de zéro ce qui signifierait que l'on se trouve dans la zone du point de charge nulle de ces particules et que les particules sont donc sur le reste de la gamme de pH testées chargées négativement, comportement qu'il est difficile d'appréhender.

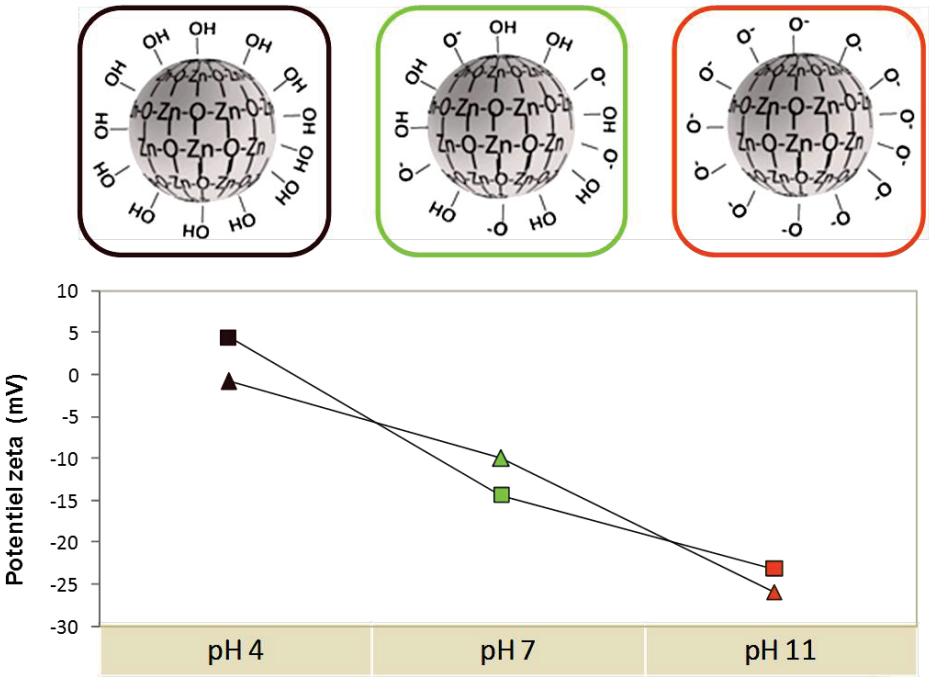


***Figure 59**. Évolution du potentiel zêta en fonction du pH pour les nanoparticules ZnO*

Si l'on se base sur l'ensemble des observations issues des différentes techniques utilisées, il est alors possible d'émettre l'hypothèse que l'inclusion des particules au sein de la résine époxy sous contrainte mécanique crée un composite avec une dispersion homogène satisfaisante à l'échelle macroscopique. À l'échelle microscopique nous avons vu que les particules présentent une charge globale négative sur une large gamme de pH. Ainsi les mesures en solution aqueuse tamponnée ou non, c'est-à-dire dans un intervalle de pH entre 5 et 8,5 ne devraient pas entrainer d'importantes variations au niveau des charges de surface et donc des potentiels à l'interface. Ainsi on serait en droit d'attendre une plus grande stabilité de ce matériau en vue des études en solutions qui seront menées.

De la même manière les essais de caractérisation de la taille des particules n'avaient au départ pas vocation à être réalisés par MET (résultats présentés précédemment) mais par granulométrie. Là encore des difficultés à trouver un solvant adéquat pour la mesure ont été rencontrées. Ainsi dans la majorité des solvants, les particules avaient tendance à précipiter rapidement voir à s'agréger, même l'utilisation d'un solvant de plus forte viscosité comme le DEG (diéthylène glycol) n'a pu enrailler le phénomène. Une autre approche a donc été tentée avec l'utilisation d'une procédure de transfert de particules en système diphasique. En effet l'ajout d'hexane entraîne l'apparition d'une phase avec le DEG. L'adjonction successive d'acide oléique devait permettre à ce dernier de venir interagir par sa fonction acide carboxylique (–COOH) aux groupements hydroxyle (-OH) présent en surface du ZnO, par la suite ceci aurait dû entrainer un déplacement des particules ainsi entouré d'acide oléique du DEG vers l'hexane grâce à l'affinité des chaines carbonées pour les solvants organiques. Malheureusement ceci a également été sans succès. Au final toutes les données obtenues sur ces diverses expériences n'ont pas été retenu dans notre étude par manque de fiabilité.
Suite à toutes ces difficultés, on pourrait envisager d'utiliser une autre approche qui consisterait à pré-fonctionnaliser les nanoparticules avec des groupements facilitant leurs dispersions dans le polymère et permettrait d'obtenir des couches minces très homogènes. Mais cette approche présente un désavantage dans notre cas, puisqu'elle aurait par la suite compromis la possibilité de fonctionnaliser la surface par d'autres molécules. Il faut garder en tête que l'objectif affiché de cette thèse est l'obtention d'une couche sensible pouvant servir de transducteur pour des capteurs et biocapteurs. Ainsi ce procédé étant préjudiciable, cette approche basée sur une pré-fonctionnalisation des particules avant inclusion n'a pas été mise en œuvre.
Avant d'entamer les études par mesures électrochimiques, un dernier test par spectrométrie infrarouge (ATR) a été mené sur le nanocomposite obtenu. Elle suggère une modification chimique du polymère après inclusion des particules puisque nous notons sur les spectres (**figure 60**) une quasi disparition des bandes à 1575 et 1540 cm^{-1}. Ne connaissant pas la nature exacte de la résine, nous avons tenté, partant du principe que cette dernière était une résine

époxy, une caractérisation de spectres dont les données sont présentées dans le tableau suivant :

Tableau 7. *Bandes issues des mesures infrarouge en ATR sur le composite et leurs attributions relatives.*

Bandes (cm^{-1})	Correspondances
3440	NH
2915-2850	C-H (C sp3)
1575-1540	?
1450-1375	C-H méthyle
1730	C O (aldéhyde)
1272	=C-O
1240-1190	C-O-C (phenyl-C-phenyl)
1145	C-N
1110	C-O-C
840-750	C-O-C (déformation et élongation d'époxyde)

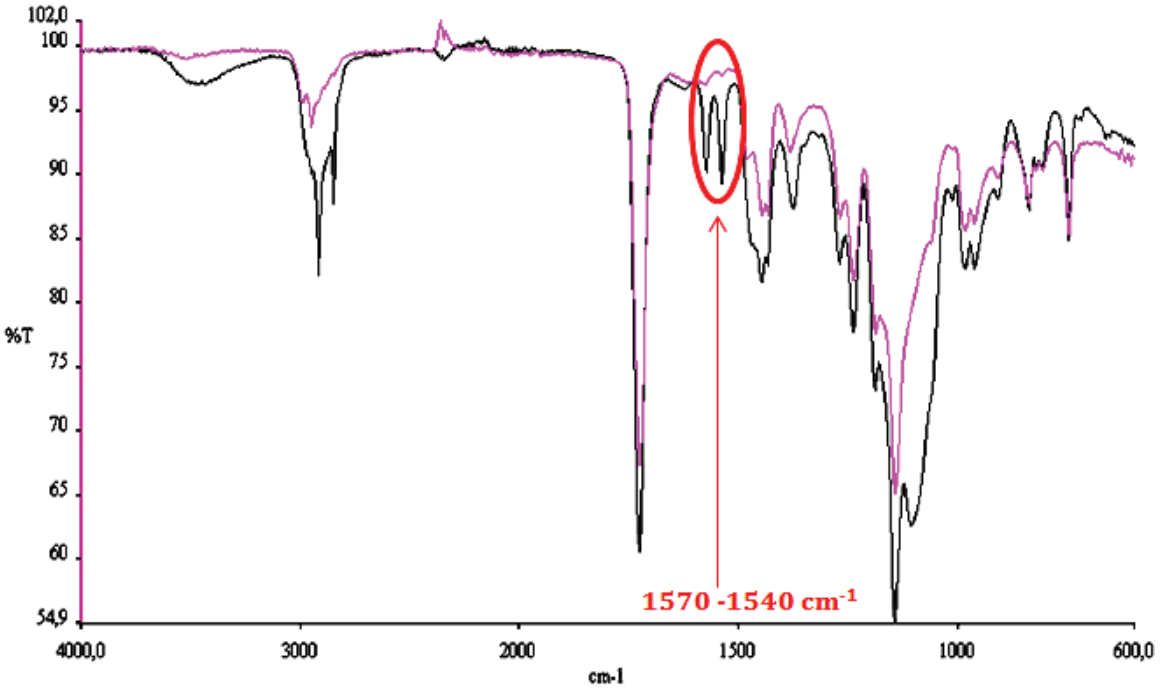


Figure 60*. Spectres infrarouge de la résine commerciale Gwent avant (noir) et après (rose) inclusion des nanoparticules de ZnO.*

Ces deux bandes sont généralement attribuées aux liaisons CH d'un méthyle ou d'un méthylène. Néanmoins suite au changement observé, nous avons émis l'hypothèse que ces signaux étaient dus à la présence de carboxylates liés par coordination à des atomes

métalliques (calcium, zinc) et ce en se basant sur les résultats du Dr Lu [148]. De plus, certains adjuvants des résines thermosensibles présentent des caractéristiques spectrales comparables [100]. On peut donc suggérer que la coordination entre des atomes métalliques et les carboxylates du polymère soit déstabilisée lorsqu'on apporte les nanoparticules d'oxyde de zinc. Il peut alors se produire un transfert de coordination vers les atomes de Zinc. Cette hypothèse présente toutefois une limite en l'état puisque qu'il est plus que probable que l'ensemble du polymère ne soit pas en contact avec les particules et il devrait donc subsister un signal. C'est pour cela que nous pensons que la rupture des interactions entre les carboxylates et leur environnement originel doit être favorisée par les contraintes mécaniques (agitation, sonication) appliquées lors de l'inclusion des particules. Nous pouvons simplement supposer qu'il se produit une réorganisation aux interfaces polymère/particules et au sein même du polymère.

2. Caractérisation de la réponse électrochimique.

2.1. Dépôt par spin coating sur carbone vitreux : détermination des paramètres électrochimiques

Ne possédant pas l'ensemble des poudres en quantité équivalente nous avons décidé de retarder la réalisation des dépôts par sérigraphie. Ces derniers étant fortement influencés par les paramètres de dépôt, nous voulions éviter d'ajouter des variables avant d'avoir testé et validé la réponse électrique de l'encre. Pour ce faire les premiers essais ont été réalisés en utilisant une électrode de carbone vitreux (présentant une surface de travail de 7 mm²) comme support de dépôt. Cette dernière servant également de contact ohmique pour la couche déposée. Le dépôt a été ainsi réalisé par *spin coating*.
Afin de mettre en évidence le caractère semi-conducteur des composites formés, la variation de la capacité d'interface peut être étudiée en fonction du potentiel à l'électrode. Cette variation, représentée sous la forme $1/C^2$ en fonction du potentiel, appliqué est connue sur le nom de représentation de Mott-Schottky. Il s'agit en réalité d'un cas particulier de la méthode électrochimique par spectroscopie d'impédance. La particularité est que les mesures d'impédance sont réalisées à fréquence fixe et potentiel variable. La difficulté majeure de ce type de mesures réside dans le choix des deux paramètres, fréquence et potentiel, à utiliser. Le choix peut être guidé par certaines conditions à respecter.

D'une part, dans la gamme de potentiel étudié, les réactions électrochimiques parasites (oxydo-réduction des espèces en solution, dissolution anodique ou oxydation du dépôt) doivent être évitées au maximum. La mesure devra donc être effectuée dans un intervalle de potentiel où les densités de courant n'entrainent pas ces phénomènes. C'est pour cela que nos

mesures sont réalisées en mode non faradique avec simplement l'utilisation de solutions d'électrolytes support classique (NaCl) en évitant l'utilisation de couple redox. Nous avons également veillé à rester dans une gamme où l'électrolyse du solvant reste négligeable. Nous avons choisi pour toutes ces raisons de travailler entre -1,5 et +1,5 V *vs* Ag/AgCl ou -1,7 et +1,3 *vs* Pt.

D'autre part, la fréquence doit être ajustée de manière à obtenir le signal le plus stable. En effet, la capacité étant dépendante de la fréquence, ce paramètre doit retranscrire au plus près les phénomènes à l'interface en veillant à ce que la fréquence soit assez élevée pour se défaire de l'influence des phénomènes thermodynamiques (cinétique de diffusion des espèces chargées à l'interface par exemple). Il a donc fallu au préalable déterminer la zone de fréquence dans laquelle la capacité est la plus stable.

Au final, la représentation graphique de ces mesures permet de déterminer le caractère semi-conducteur ou non du composé mais également le type de semi-conducteur, n ou p, en observant la pente de la courbe obtenue avec respectivement une pente positive et négative. Un autre paramètre spécifique au semi-conducteur devient alors accessible, il s'agit du potentiel dit de bande plate.

2.1.1. Essais sur composites Gwent-oxyde métalliques

En premier lieu les tests ont été menés sur les composites à base d'oxyde métalliques, puisque ce sont ceux dont les quantités de matériel étaient les plus importantes. Le **tableau 8**, présente les caractéristiques électroniques de chaque oxyde testé.

***Tableau 8**. Caractéristique électronique des semi-conducteurs binaires utilisés.*

Type n		Type p
SnO_2 [149; 150]	ZnO [151; 152; 153]	NiO [154]

Comme précédemment le composite Gwent-ZnO a été notre modèle d'étude afin de déterminer les paramètres expérimentaux pour la réalisation des mesures de Mott-Schottky. Comme dans de nombreux cas en électrochimie, la difficulté majeure réside dans la sensibilité de la méthode qui permet toujours l'obtention de signaux. Il a fallu donc utiliser une approche qui permette de s'affranchir au maximum des erreurs de mesures dans la détermination des paramètres de fréquence et potentiel qui seraient utilisés pour l'ensemble des études électrochimiques. Travaillant avec des semi-conducteurs, le choix du potentiel à fixer nécessite d'avoir accès à l'intervalle de potentiel correspondant à la zone d'accumulation du

semi-conducteur. Pour ce faire une mesure en voltammétrie cyclique a été effectuée (**figure 61**).

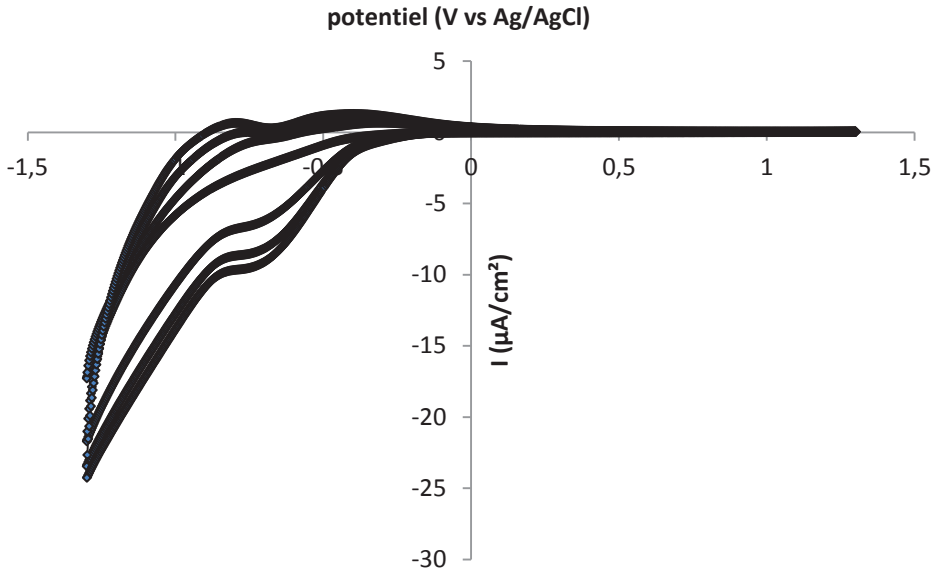


Figure 61. *Voltammogramme réalisé dans une solution de 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ (1:1) dans 0.1 M KCl sur le composite Gwent-ZnO déposé par spin coating sur une électrode de carbone vitreux.*

A la suite de cette mesure, la valeur de -0,7 V a été retenue pour la mesure d'impédance.
Une fois le potentiel déterminé nous avons réalisé une mesure d'impédance (**figure 62**) dans laquelle l'impédance imaginaire a été substituée par la capacité dans sa forme 1/C², forme qui sera utilisée par la suite dans les mesures de Mott-Schottky, puisque $C = -1/2\pi Z''$.

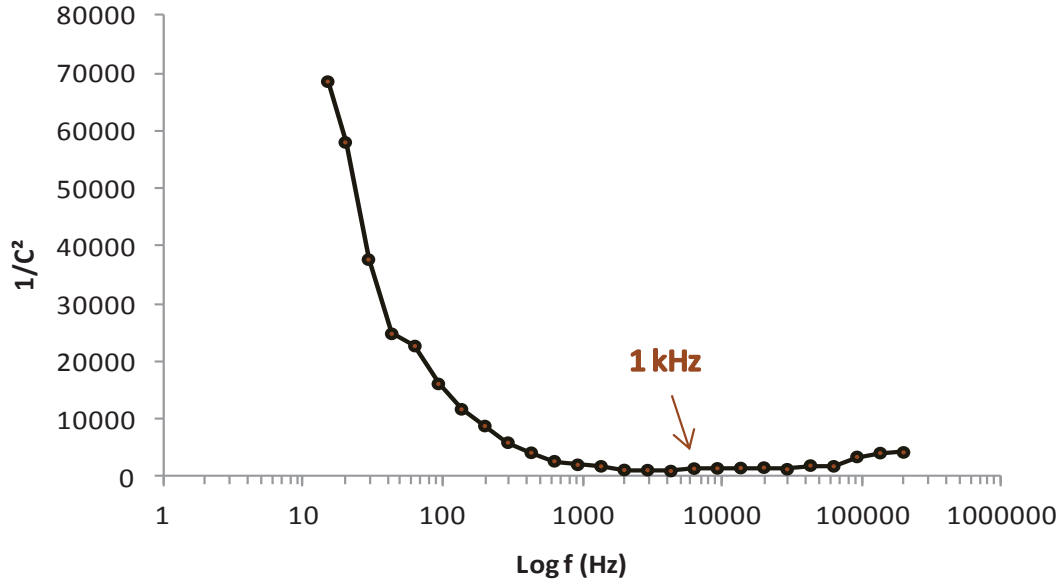


Figure 62*. Courbe de variation de la capacité (sous sa forme 1/C²) en fonction de la fréquence*

La diminution brutale de la valeur de capacité observée aux faibles fréquences peut être due au fait qu'à ces fréquences, les processus diffusionnels des ions en solution redeviennent non négligeables et vont donc modifier la capacité totale du système, puisque pour rappel la capacité totale est formée de la capacité de charge d'espace (C_{CE}) et de la capacité de double couche (C_{DC}) (**figure 63**).

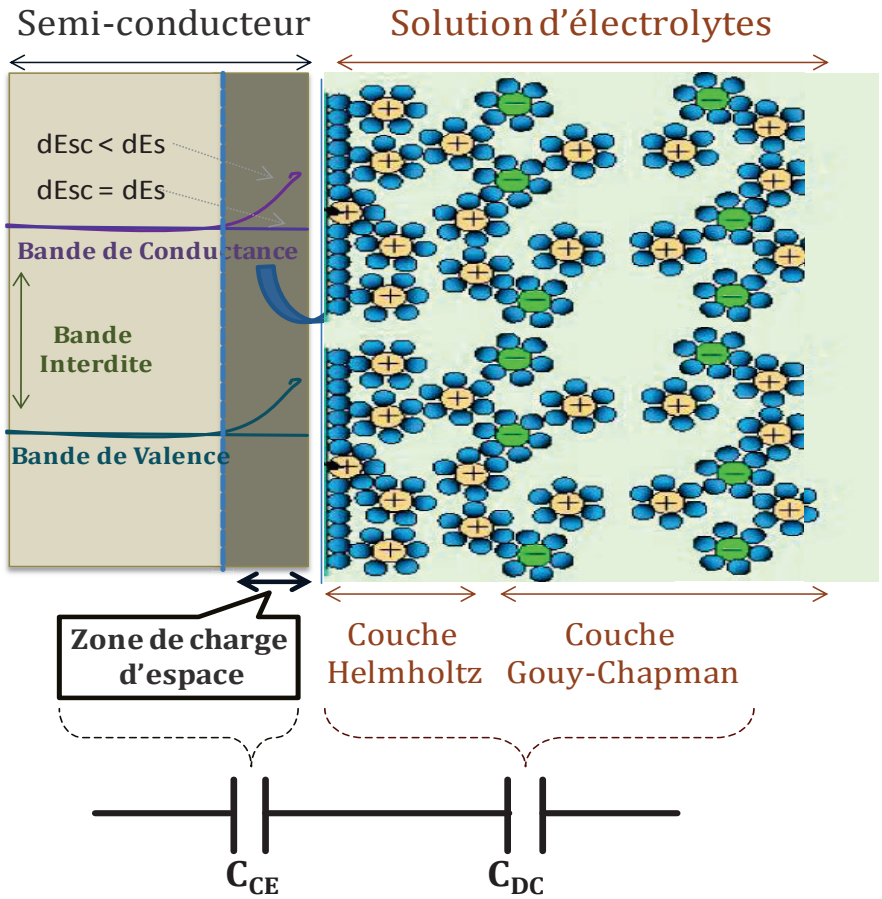


***Figure 63**. Représentation schématique de l'interface électrolytes/semi-conducteur et des capacités correspondantes.*

2.1.2. Essais sur la résine et le support

Afin de s'affranchir des éventuelles implications du support de dépôt et de la résine sur le comportement électrochimique du système, l'influence de ces éléments a été évaluée à la fois par des mesures de voltammétrie cyclique et de Mott-Schottky. Comme attendu, aucun des deux éléments ne présente un comportement capacitif particulier (**figure 64**) et la matrice polymère ne présente aucune conductivité électrique (**figure 65**). On remarque seulement que les valeurs de $1/C^2$ sont très élevées pour la résine non conductrice et très faible pour le support conducteur. C'est un peu ce que l'on retrouve avec les composés semi-conducteurs au niveau des zones de déplétion et d'accumulation.

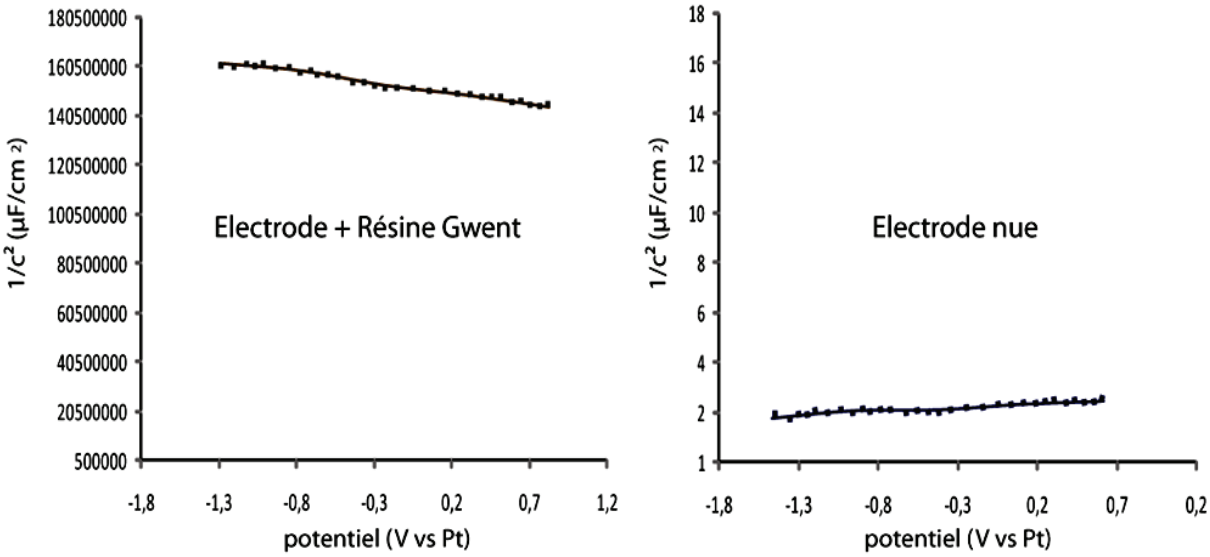


Figure 64. *Courbes de Mott-Schottky obtenues dans une solution de NaCl 0,1M à 1 kHz (vs Pt) pour (à gauche) du Gwent déposé sur carbone vitreux et (à droite) l'électrode de carbone vitreux.*

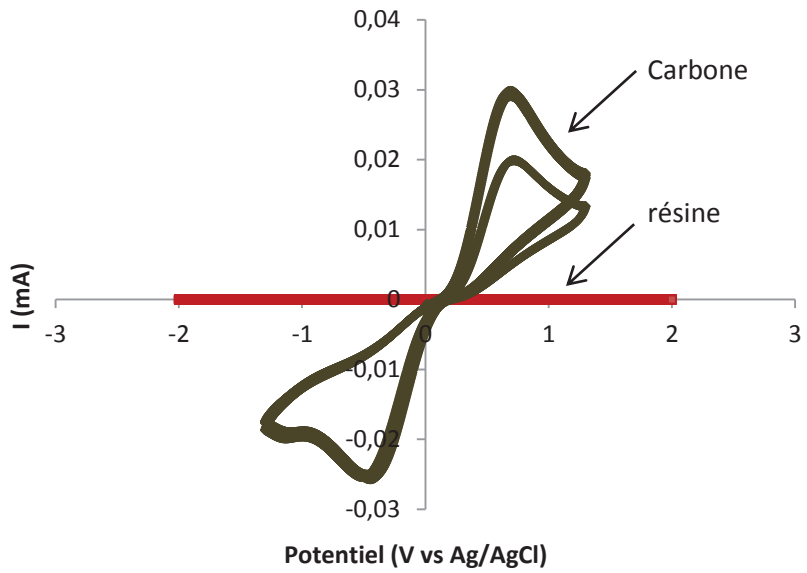
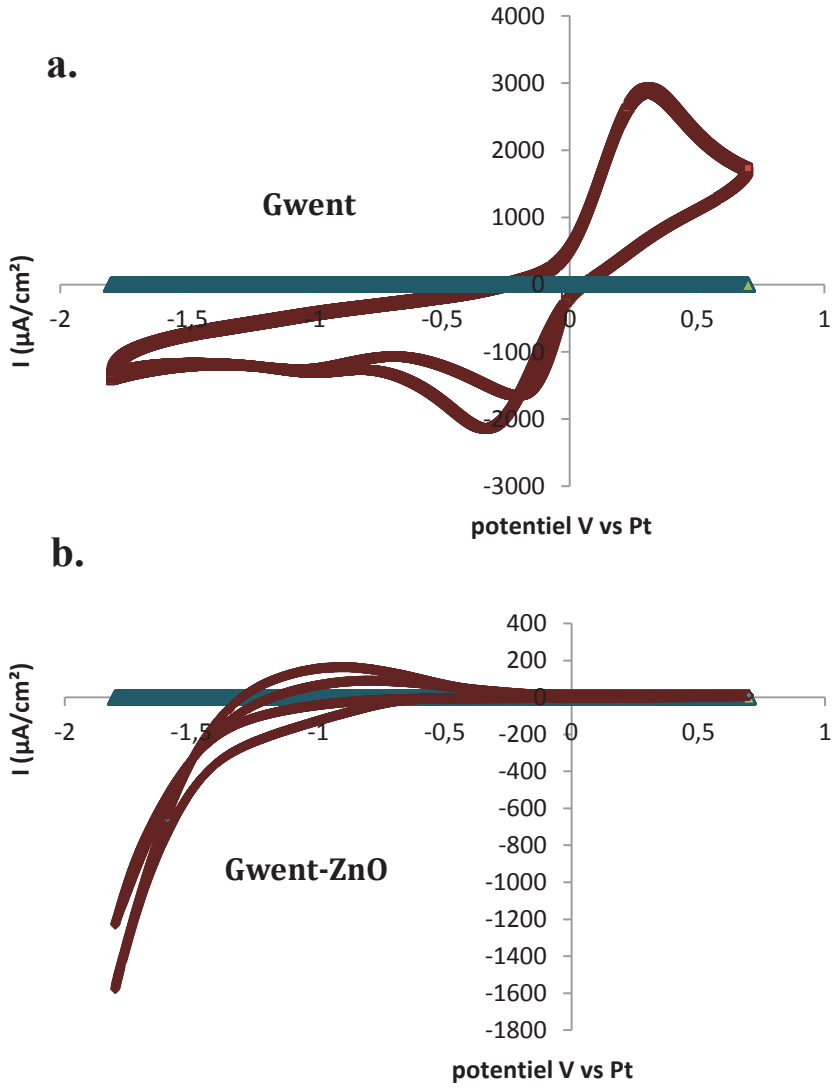


Figure 65*. Voltammogrammse réalisés dans une solution de 5 mM [Fe(CN)* $_6]^{3-/4-}$ *(1:1) dans 0.1 M KCl sur le polymère Gwent déposé seul sur une électrode de carbone vitreux (–) et sur une électrode de carbone vitreux nue (–).*

Les mesures de voltammétrie présentées ci-dessus ont été réalisées dans des conditions de montage particulier et avec une référence Ag/AgCl, afin de pouvoir confirmer que ce comportement serait maintenu dans les conditions de mesures qui seront utilisées par la suite (type de montage, pseudo-électrode de référence en Platine).

2.2. Evaluation du comportement électrique des composites

La **figure 66** présente les résultats obtenus dans ces conditions pour le composite Gwent-ZnO et Gwent-NiO. Cette mesure nous indique clairement un comportement électrochimique particulier caractéristique des semi-conducteurs puisque seul des courants cathodique et anodique sont observés respectivement pour Gwent-ZnO (**figure 66-b.**) et Gwent-NiO (**figure 66-c**). En effet ces matériaux étant des semi-conducteurs binaires de type n pour ZnO et p pour NiO, la zone d'accumulation de charge se situe dans le régime de polarisation opposés. C'est-à-dire que les porteurs de charges (électrons pour ZnO et trous pour NiO) sont majoritaires à la surface dans leur régime d'accumulation respectif et permettent ainsi l'échange électronique à l'interface semi-conducteur/électrolyte. Cette mesure en elle-même est une première preuve quant au caractère semi-conducteur du composite et donc à la validation d'un tel nanocomposite.



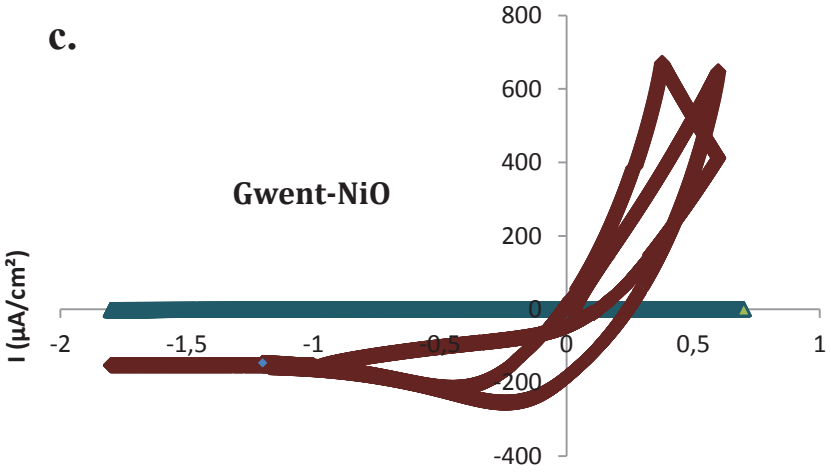


***Figure 66**. Voltammogrammes réalisés dans une solution de 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ (1:1) dans 0,1 M KCl sur l'électrode de carbone vitreux seule (a), sur le composite Gwent-ZnO (b) et Gwent NiO (c). le polymère Gwent déposé seul est indiqué en bleu (–) à chaque fois.*

2.2.1. Mesures de Mott-Schottky

Les mesures ont été réalisées majoritairement sur des dépôts à partir d'encres comportant un pourcentage de particules en poids ≤ 7 % ce qui implique que le seuil de percolation permettant la formation d'un réseau est atteinte générant alors un changement de la propriété électrique du composite. Sur la **figure 67**, présentant un dépôt de Gwent-ZnO, le dépôt à droite permet de distinguer par transparence la zone de travail de l'électrode sous jacente. La couche déposée est donc relativement fine.

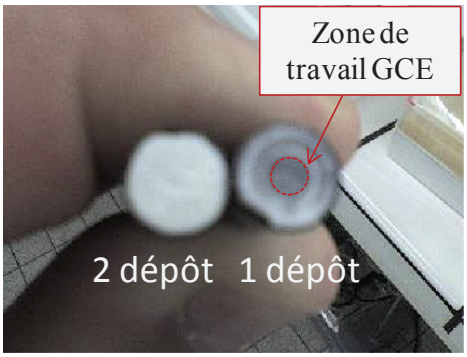


***Figure 67.** Image du dépôt obtenu par spin coating à 1500 rpm sur une électrode de carbone vitreux (GCE), (à gauche) 2 dépôts successifs de 6µl du composite Gwent-ZnO (9,4 % w:w), (à droite) 1 seul dépôt.*

Néanmoins n'ayant pas pu mesurer l'épaisseur de la couche directement sur le support (**figure 67**) utilisé pour les mesures électrochimiques, celle-ci a été évaluée sur un autre dépôt effectué dans les mêmes conditions sur un carré de carbone vitreux qui a permis d'estimer par profilométrie (**figure 68**) l'épaisseur du dépôt à 4,624 µm. Cette épaisseur n'est pas

directement due au composite mais à la nature même de la résine (viscosité importante de 86 Pa.s). En effet si l'on mesure l'épaisseur d'un dépôt de résine seule, on s'aperçoit alors que sa valeur est de 4,073 µm donc assez proche de celle du composite. L'autre remarque que l'on pourrait faire est que le composite n'est pas transparent. En effet l'inclusion de nanoparticules dans un polymère transparent ne conduit pas forcément à un composite lui-même transparent puisque cette caractéristique dépend des propriétés optiques des particules, elle-même fortement dépendante de la taille des particules et de leur concentration au sein du liant.

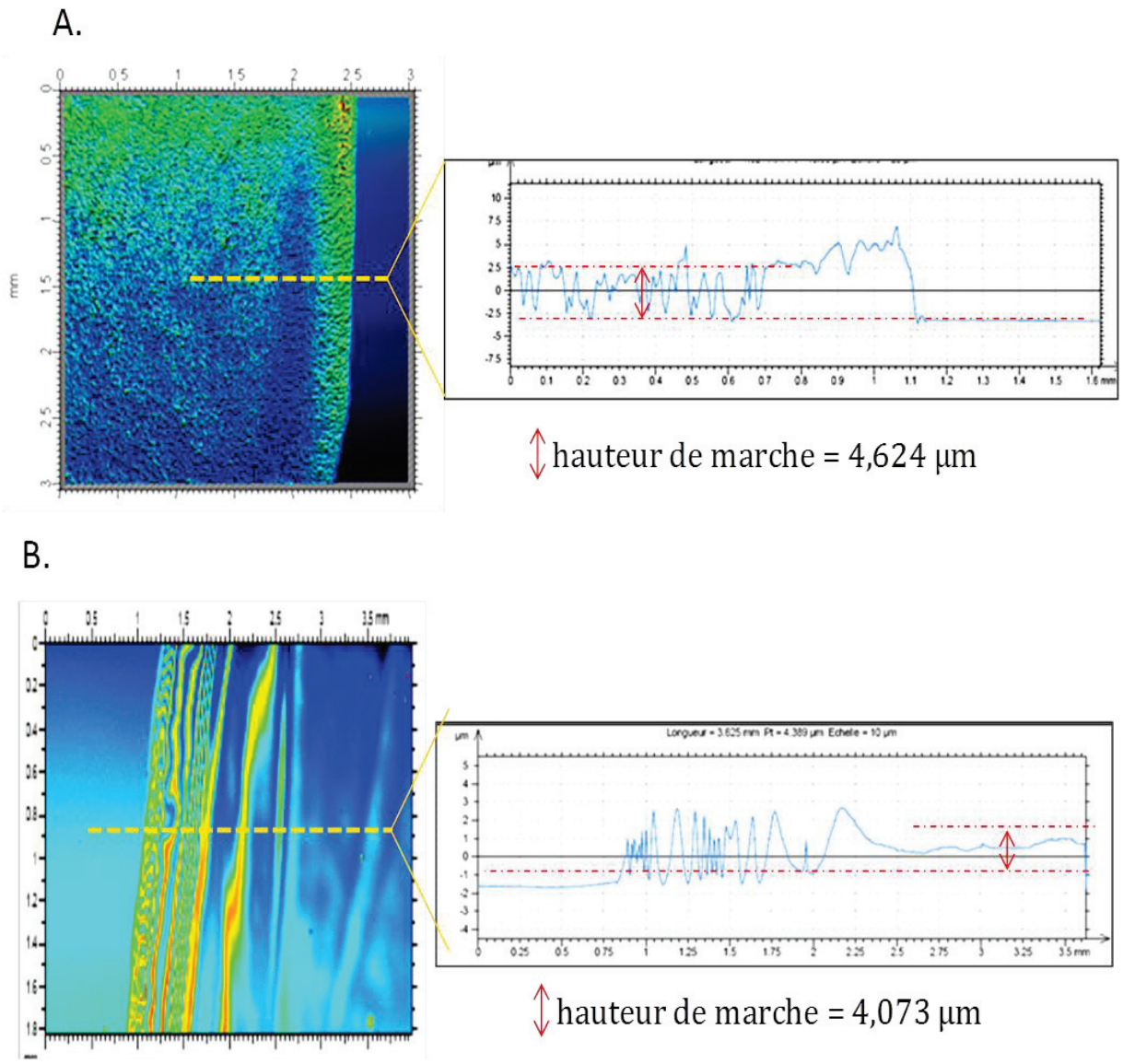


Figure 68. *Images au profilomètre et profil de hauteur de marche (à droite) extrait suivant la ligne en pointillé (orange) sur l'image, d'un dépôt de 6µl de (A.) Gwent-ZnO et (B.) Gwent seul, effectué sur un carré de carbone vitreux.*

C'est ainsi que l'inclusion de nanoparticules de ZnO (diamètre 3 à 5 nm) au sein d'une matrice de PMMA permet d'obtenir un composite transparent et ce jusqu'à des concentrations

de 15% de charges (w : w) [155], alors que pour des nanoparticules de ZnO (diamètre de 30 nm) incluses dans une matrice époxy cette propriété de transparence n'est observée que pour des concentrations inférieures à 0,07 % (w : w) [156]. Ceci permet de mieux comprendre pourquoi dans notre étude l'utilisation de nanoparticule de ZnO (diamètre 50 nm à 100 nm) au sein d'une matrice époxy (Gwent) à des concentrations inférieures à 7 % n'a donné naissance qu'à un composite présentant une certaine opacité et non une transparence. Cette observation est valable également pour tous les autres composites réalisés au cours de cette étude à savoir Gwent-ZnO, Gwent NiO, Gwent-SnO2, Gwent-Si (n et p).

De plus, les expériences de MEB présentées (figure 57) suggéraient l'idée d'une rugosité de surface due à la présence de cavités et de zones de plus forte densité. Cette observation a été confirmée par les mesures de profilométrie effectuées, puisqu'un aspect fortement rugueux apparaissait clairement sur le composite à oxyde métallique (**figure 68**) mais également sur le composite de silicium présenté sur l'image suivante :

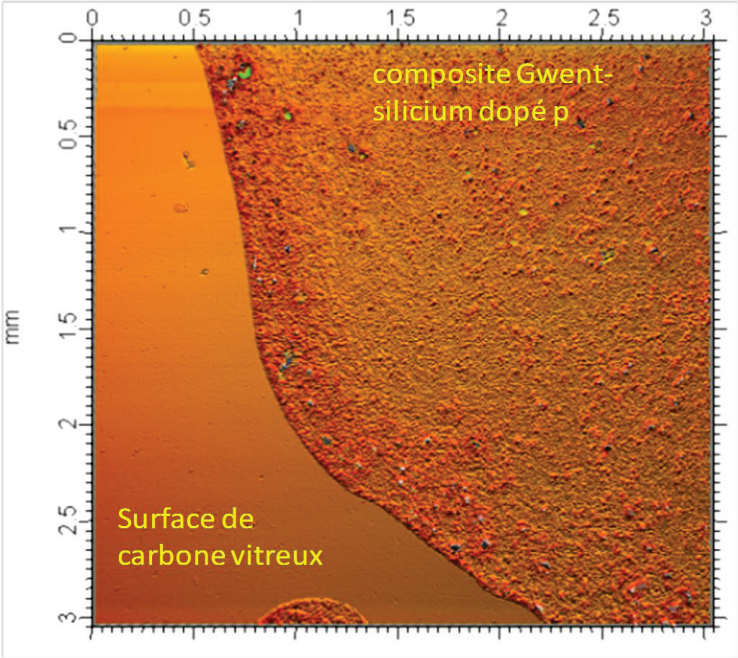


Figure 69. *Image en profilométrie d'un dépôt par « spin coating » du composite Gwent-Si(p) sur une surface de carbone vitreux.*

- **Composites à base d'oxydes métalliques**

Des mesures de Mott-Schottky ont été effectuées sur des dépôts de 6 µl du nanocomposite, en utilisant un montage électrochimique particulier à deux électrodes, composé d'une électrode de platine utilisée comme électrode de pseudo-référence. Les mesures ont été effectuées suivant la valeur de fréquence définie précédemment à savoir 1 kHz et sur une gamme de

potentiel réajusté, pour chaque nanocomposite utilisé, afin de mieux retranscrire leur comportement respectif. Ce réajustement n'est valable que pour les mesures réalisées sur carbone vitreux et avec une pseudo-électrode de référence et sera modulé si nécessaire pour les mesures sur électrodes sérigraphiées. Les mesures ont cette fois toutes été réalisées dans une solution de NaCl 0,1M dépourvue de couple redox.

Les résultats (**figure 70**) présentés sous la représentation de Mott-Schottky ainsi que les représentations plus classiques dites de C-V c.-à-d. capacité en fonction du potentiel. Il apparaît alors clairement un comportement totalement dépendant du type de matériau incorporé au sein de la résine. Ceci est appuyé également par la détermination des potentiels de bande plate (V_{BP}) (**tableau 9**) qui prouve donc bien la spécificité des nanocomposites.

.

Tableau 9. *Potentiels de bande plate mesurés dans NaCl 0,1 M pour les nanocomposites déposés sur carbone vitreux*

Nanocomposite	V_{BP} mesuré (*vs* Pt)
SnO_2	- 0,517 V
ZnO	- 0,682 V
NiO	- 0,405 V

Néanmoins on ne peut réellement comparer ces valeurs avec celles de la littérature, car de nombreuses études publiées font état de mesures photochimiques dans le domaine des cellules photosensibles. De plus, le plus souvent les nanoparticules sont dopées ou couplées à d'autres matériaux afin de moduler leur comportement. On peut malgré tout trouver les caractéristiques suivantes:

- pour ZnO des potentiels de bande plate entre -0,22 et -0,65 V (*vs* SCE) variant en fonction des solutions d'électrolyte support utilisées [151; 152; 153]

- pour NiO (déposé sur de l'ITO) un potentiel de +0,47 *vs* Ag/AgCl [154].

- pour SnO_2 (dopé à l'antimoine et déposé par PVD) -0,53 V dans 1M KCl pH 6 et -0,548 V dans 0,5 M Na_2SO_4 pH 5 *vs* SCE [149; 150]

Il y a tout de même quelques travaux plus proches de nos conditions d'étude, par exemple Wang *et al*. en 2010 [103] ont étudié un xérogel emprisonnant des particules de ZnO d'environ 50 nm et ont déterminé une valeur de potentiel de bande plate de -0,52 V (*vs* Ag/AgCl). Deux différences sont à noter : d'une part les mesures sont réalisées sous illumination (1 mW/cm^2) et d'autre part leurs nanoparticules sont calcinées à 500 °C et 700

°C afin de moduler leur taille, leur cristallinité et leur porosité et mesurer l'impact sur les capacités électriques des électrodes.

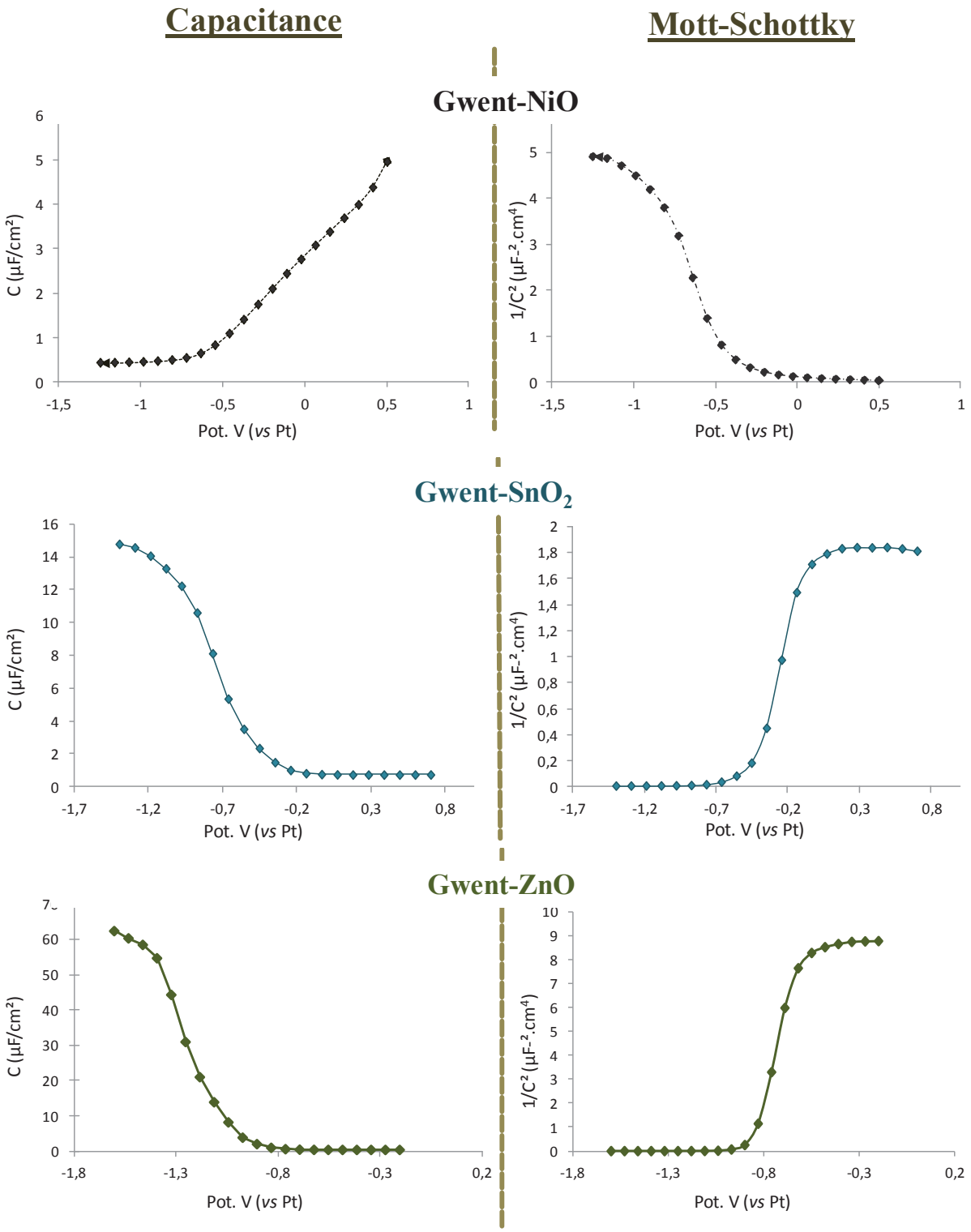


***Figure 70**. Courbes de Mott-Schottky et de capacité/potentiel mesurées sur les différents nanocomposites formés.*

Les représentations graphiques de la **figure 70** illustrent parfaitement le caractère semi-conducteur des nanocomposites obtenus. Les allures correspondent ainsi à celle attendues, avec des pentes caractéristiques en fonction du type n ou p du semi-conducteur. Nous pouvons dès lors affirmer que nous sommes en présence de deux nanocomposites de type n, correspondant aux Gwent-SnO_2 et Gwent-ZnO et un nanocomposite de type p correspondant au Gwent-NiO.

- **Composite à base de silicium**

Se basant sur les résultats que nous venions d'obtenir, nous avons voulu tester dans les mêmes conditions, si les composites incluant cette fois du silicium présenterait un caractère semi-conducteur. L'avantage avec le silicium, dans notre cas, est que nous pouvons comparer les mesures électrochimiques du matériau macroscopique et celles des nanoparticules issues de ce même matériau. Nous avions à notre disposition deux niveaux de dopage pour le silicium, p et p^+ et n et n^+. Afin d'augmenter la probabilité d'avoir un nombre de dopant significatif au sein des particules et ainsi de maintenir la caractéristique du dopant malgré la diminution de taille, nous avons donc opté pour un silicium dopé p^+ et n^+.

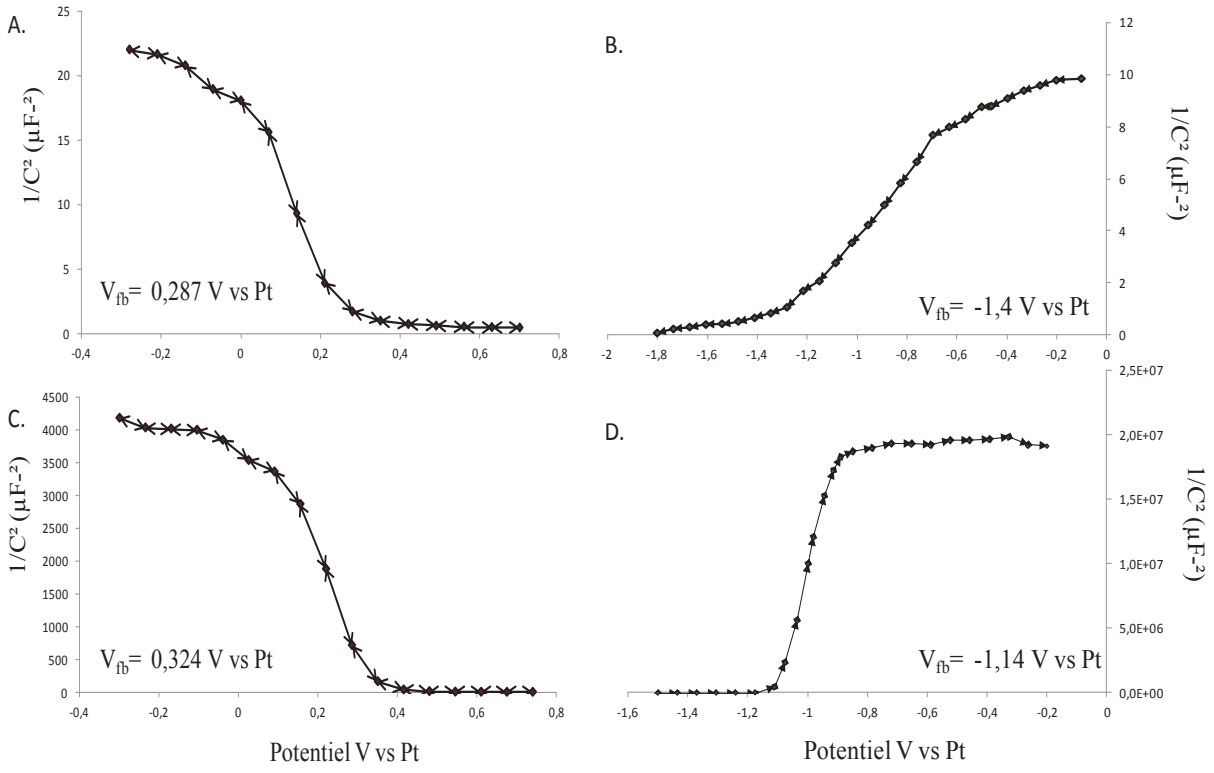


***Figure 71**. Courbes de Mott-Schottky obtenues à partir des plaques de silicium p+ (A.) et n+ (B.) et des composites intégrant la poudre issue de ces même plaques (C.) Gwent-Silicium de type p+ et (D.) Gwent-silicium de type n+. Pour chaque cas, la valeur de potentiel de bande plate a été indiquée.*

A partir des graphiques de la **figure 71,** il apparaît que le comportement électrochimique observé au niveau des plaques se retrouve dans celui des nanoparticules incluses dans le liant ; les valeurs de potentiel de bandes plates sont très proches entre le composite et la plaque source malgré un léger décalage anodique. Il est certainement dû à la modification structurale et de l'environnement immédiat des particules. Ce résultat conforte donc les précédentes observations et valide ainsi la capacité qu'ont démontré nos composites à présenter une caractéristique semi-conductrice. Il est à noter que dans ces derniers essais, la taille des nanoparticules de silicium ne devait pas être inférieure 100 nm, puisque l'inclusion de particules uniquement de taille inférieure conduisait à une encre perdant toute caractéristique semi-conductrice comme l'indique le graphique ci-dessous (**figure 72**).

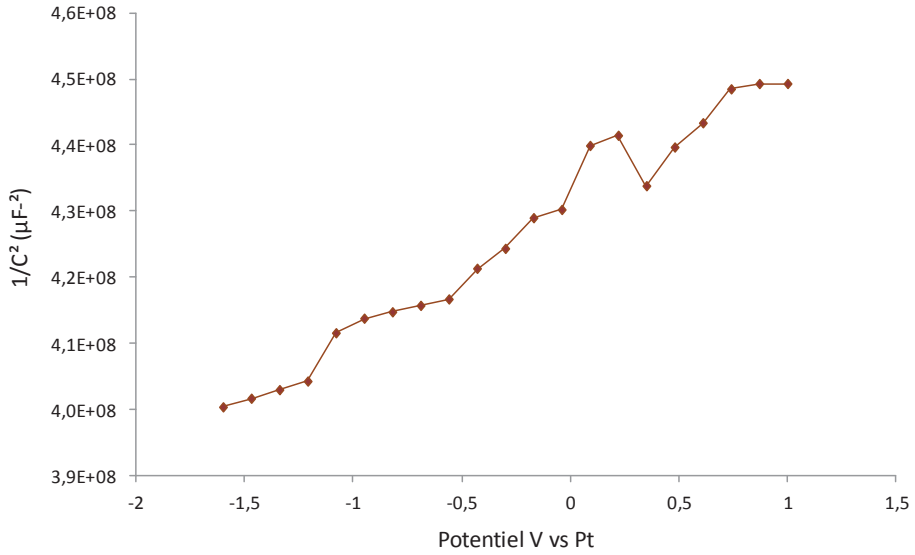


***Figure 72**. Courbes de Mott-Schottky réalisées sur un composite incluant des particules de silicium filtrées sur membrane ayant un seuil de coupure à 100 nm.*

2.2. Dépôt par sérigraphie

Dans un second temps un support « tout sérigraphie » fut réalisé en mettant en place un contact ohmique en carbone et une surface de travail formée de composite **(figure 73-a.)**. Les dépôts n'étant cette fois plus réalisés par « *spin coating* » sur carbone vitreux, l'épaisseur des couches déposées est alors modifiée. Les mesures de hauteur réalisées sur les images **(figure 73-b)** nous ont permis de déterminer une épaisseur totale de l'électrode de 19 µm ± 0,6 avec 10 µm ± 0,4 pour la couche de composite seule et 14 µm ± 0,2 pour la couche de carbone. Si les épaisseurs étaient simplement additives la résultante devait être de 24 µm, or ce n'est pas le cas ici. Ces résultats suggèrent alors que les couches conductrice et semi-conductrice sont intimement liées et qu'il n'y aurait alors aucune zone de « non contact » entre les deux. Le contact ohmique est donc réalisé sur l'ensemble de la zone de superposition.

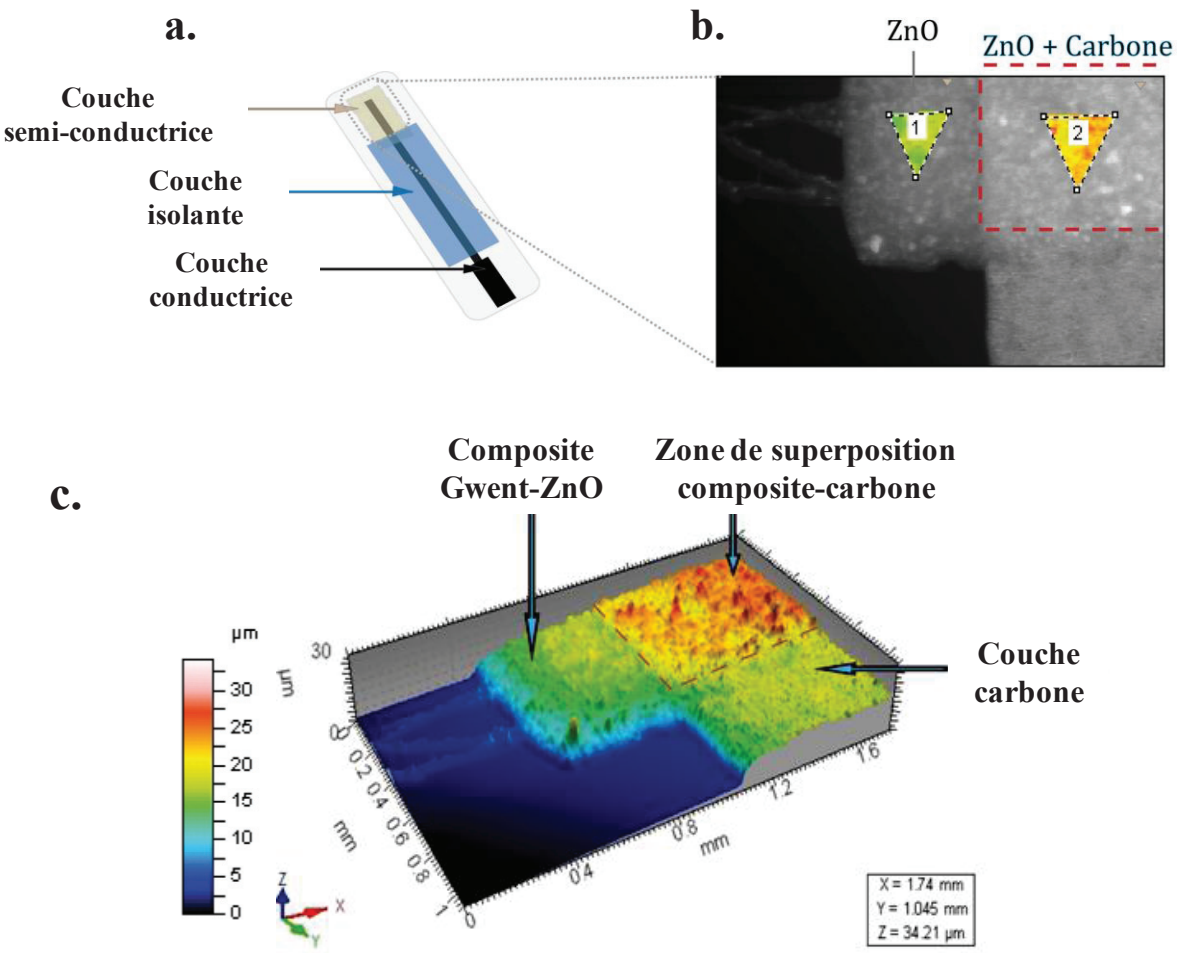


***Figure 73**. (a) schéma du motif d'électrode utilisée, (b) images au profilomètre de l'électrode sérigraphiée servant au calcul de hauteur par le logiciel Mountain Map à partir des deux zones indiquées par un triangle et (c) image 3D de la surface de l'électrode.*

Plusieurs étapes d'optimisation furent alors initiées avec parallèlement plusieurs paramètres testés. D'une part, l'influence du contact ohmique, grâce à deux motifs d'électrodes se distinguant seulement par la longueur de ce contact sous la zone de travail, d'autres part l'influence du nombre de couches déposées. Les courbes de Mott-Schottky pour ces deux paramètres sont présentées respectivement sur les **figures 74** et **75**. Il en résulte qu'un contact ohmique plus important est nécessaire à l'obtention d'un signal caractéristique exploitable, les courbes obtenues **(figure 74)** laissent donc supposer que le transfert électronique semble s'effectuer difficilement sur l'ensemble de l'électrode et qu'il nécessiterait ainsi une augmentation du nombre de point de contact entre la couche de composite et la sous-couche conductrice.

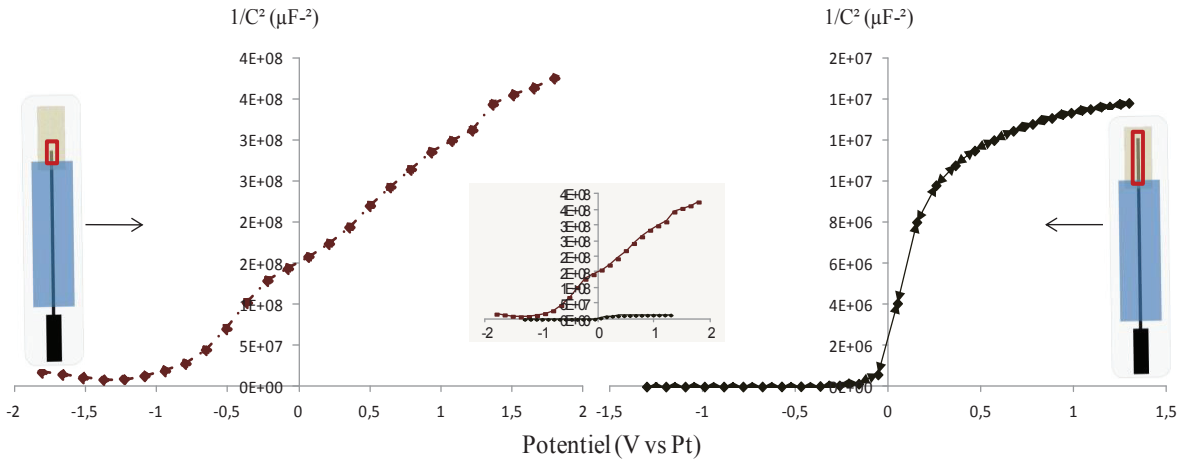
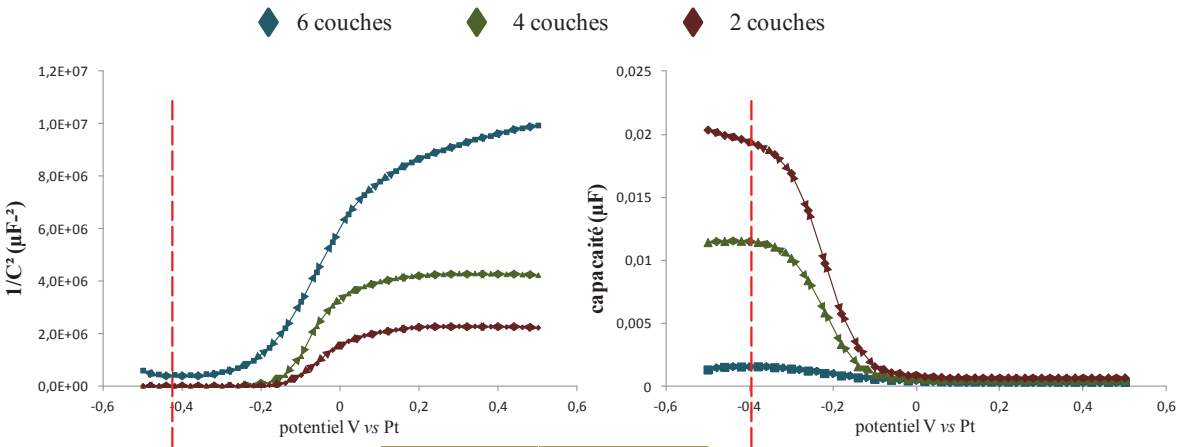


***Figure 74**. Courbes de Mott-Schottky obtenues à partir d'électrodes sérigraphiées Gwent-ZnO en fonction de la taille du contact ohmique, superposition de 11 % (à gauche) et de 35 % (à droite)*

Ces mesures ont été menées pour un dépôt de quatre couches successives de Gwent-ZnO. En effet comme nous l'avons signalé au chapitre précédent, afin de pallier tout risque de défauts dans la couche déposée qui entraînerait une fuite de courant au travers de la couche de carbone et donc une perte du comportement semi-conducteur, le nombre de couches de composite a été quadruplé pour plus de sécurité pour les première mesures. Par la suite, des essais pour deux et six couches furent réalisés comme l'indique la figure ci-dessous. Une variation significative des valeurs de capacité en fonction du nombre de couches déposées est observée avec une diminution de cette valeur avec l'augmentation du nombre de couche. Ce résultat est confirmé par les mesures de courant effectuées ou l'on observe bien une intensité de courant plus importante pour les électrodes comportant seulement deux couches de composite. Il en résulte qu'une réduction de l'épaisseur favorise le transfert électronique au sein de l'électrode puisque les distances entre la couche la plus superficielle et la couche de contact ohmique sont réduites ce qui permet sans doute aux électrons d'atteindre ces zones. Il en ressort aussi qu'un doublement de la couche déposée est suffisant à l'obtention d'une électrode semi-conductrice avec une épaisseur moyenne de couche de 10 µm comme indiqué plus haut sur la **figure 73**. De plus cela permet la réduction de la quantité de matériel à utiliser pour chaque dépôt, ce qui présente un avantage certain en terme de coût, paramètre qui dans notre cas est essentiel puisque par cette étude nous tentons de réaliser des dispositifs simples et peu onéreux.



Nombre de Couches	I (µA/cm²) à -0,43 V vs Pt
6	-0,8
4	-1,6
2	-2,4

***Figure 75**. Courbes de mesures de Mott-Schottky (gauche) et capacité-potentiel (droite) réalisées sur les électrodes sérigraphiées avec deux, quatre ou six couches de composite Gwent-ZnO déposées. Le tableau présente les intensités de courant traversant les différentes électrodes à -0,43 V vs Pt.*

Une fois toutes les étapes d'optimisation conduites, nous nous sommes alors intéressés au greffage de composés chimiques et biomolécules sur ces électrodes.

3. Modification et fonctionnalisation des composites

3.1. Composite à base de silicium

Suite à toutes ces caractérisations électrochimiques, nous avons entamé les essais de fonctionnalisation des matériaux composites. Voulant fonctionnaliser directement les particules au sein des composites, notamment par voie électrochimique, nous avons donc tout naturellement débuté les tests sur le composite à base de silicium puisque la capacité de greffage des sels de diazonium sur ce type de matériau est largement démontrée [157; 158; 159].
Les particules de silicium issues de la gravure électrochimique à l'HF sont recouvertes d'une couche de passivation Si-H. Cette couche protège dans un premier temps les particules de l'oxydation et de la dégradation à l'air libre et tend à rendre leur surface hydrophobe.

Néanmoins, après intégration des particules au sein du liant, les essais doivent être menés rapidement afin d'éviter toute oxydation parasite. Les premières mesures électrochimiques sur ces nouveaux supports avaient été réalisées en milieu aqueux (NaCl 0,1 M) puisque par la suite la fonctionnalisation par le matériel biologique devait se faire dans des solutions

aqueuses tamponnées. Suite à la mesure, un léger blanchiment était observé pouvant traduire une oxydation avancée de certaines particules, résultant probablement de la mise en contact prolongée entre la solution aqueuse et le support. Le but recherché à travers cette étude est de pouvoir greffer directement sur les particules en utilisant les sels de diazonium. C'est pour cette raison que les surfaces Si-H ont été préférées. Il faut donc éviter les phénomènes nuisibles au greffage comme l'oxydation des surfaces avant ou durant l'expérience. Ceci nous a conduit à mettre de côté les composites à base de silicium de type p+, puisque leur zone d'accumulation se situe dans le régime anodique alors que le greffage de composés diazonium est réalisé en régime cathodique. Il existe des cas dans la littérature ou des greffages peuvent être réalisés par oxydation électrochimique notamment des composés aminés. Par exemple le 4-nitrobenzylamine a été anodiquement greffé sur des supports très fortement dopé (dopé p^{2+}) présentant des valeurs de résistivité très basse, 0,01 – 0,035 ohm /cm [160]. Mais tous ces types de greffage sont quasi systématiquement réalisés dans des solutions d'acétonitrile préalablement dégazées sous flux d'azote afin de réduire au maximum les risques d'oxydation.
Ces précautions sont valables également pour les greffages de diazonium par réduction sur du silicium de type n. En effet les solutions utilisées sont souvent soit à base d'acétonitrile soit à base de solution aqueuse mixte contenant de l'acide fluorhydrique et un autre acide tel que l'acide sulfurique (2% HF and 0,1 M H_2SO_4) [161]. De plus ces expériences sont souvent réalisées sous flux d'azote et atmosphère contrôlée.

Dans notre cas nous n'avons pas pu utiliser de telle solution puisque les encres sérigraphiées se sont avérées particulièrement sensibles à ces solutions et solvants, et qu'une dégradation de l'encre a été observée. En effet, nous avions tenté le greffage de 4-bromobenzène et 4-nitrobenzène diazonium par réduction sur nos composite à base de silicium de type n, en essayant des solutions aqueuses à base de HF ou encore dans l'acétonitrile. Dans le premier cas nous observions une perte du signal électrochimique comme si les particules se dégradaient au contact de l'HF et dans le second cas, c'est le liant lui-même qui pâtissait du contact avec l'acétonitrile. De plus, cette étude vise au final à utiliser des oligonucléotides couplés à un amino-benzyl-amine nécessitant une étape de diazotation en milieu aqueux préalablement au greffage. L'utilisation de solvants organiques et de solutions trop agressives est proscrite, et de ce fait les risques d'oxydation deviennent alors très importants.

Suite à ces observations nous avions tenté de modifier le silicium poreux avant de récupérer les particules en utilisant les voies de modification thermique, photochimique et électrochimique du silicium [93; 98] via l'essai de divers groupements réactifs (**tableau 10**).

***Tableau 10**. Type de fonctionnalisation menée sur le silicium poreux en fonction du composé et du type de méthode de greffage employée.*

Composé	Méthode	condition
4-nitrobenzène diazonium	Electrochimique	à 5mM dans une solution d'acétonitrile contenant 0,05 M de $NBuBF_4$
α-Vinyl acétate	Photochimique	solution (pureté 96%) déposé directement sur le silicium poreux placé ensuite sous UV à 254 nm pendant 1h30
6-Chloro-1- hexanol	Thermique	à 75% dans du toluène sous argon à 100°C pendant 1h
Acide 1-déc-10-énoïque	Thermique	Dilution à 50% dans toluène 20 h à 130°C

Dans tous les cas, une première étape de « *etching* » de la surface du poreux est nécessaire. Le protocole classique de « *etching* » au HF 30% puis piranha et enfin NH_4F conduisait à la destruction immédiate du poreux. Nous avons alors utilisé une solution à 5%HF-20% éthanol dégazée au préalable à l'argon et réalisé cette étape dans une boite à gant sous atmosphère contrôlée. Ces conditions ont ainsi permis de prévenir la formation d'une couche d'oxyde et de faire apparaître des liaisons Si-H en surface comme l'indique le spectre de la **figure 76**. On y observe clairement une disparition de la bande 1030 cm^{-1} caractéristique des liaisons Si-O-R et l'apparition d'une bande à environ 2000 cm^{-1} représentative des liaisons Si-Hx.

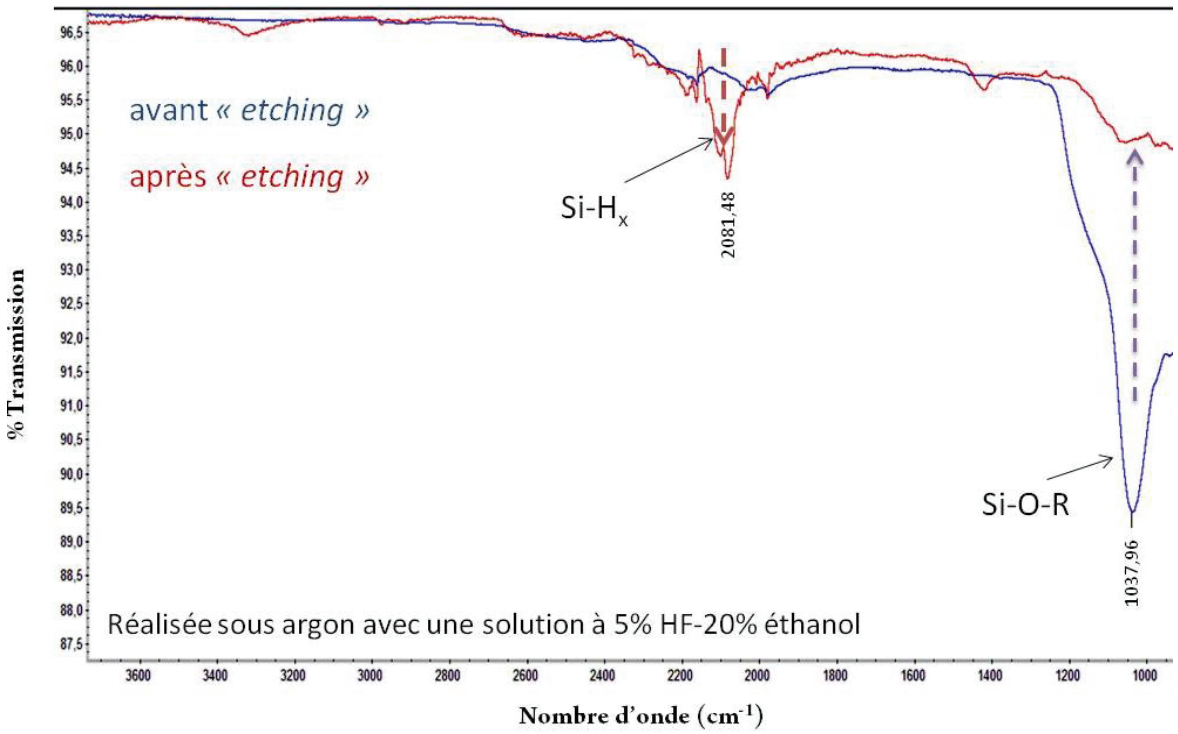


***Figure 76**.Spectres infrarouge d'un support de silicium poreux avant et après « etching »*

De la même manière, les divers essais de modification de surface réalisés sur les supports ont été étudiés par spectroscopie infrarouge ATR.

En premier lieu ce furent les modifications par le 6-chlorohexan-1-ol et l'acide 1-déc-10-énoïque, via hydrosilylation thermique qui ont été tentées, mais seul le premier composé a permis d'observer une modification du poreux après traitement (**figure 77**). On y observe l'apparition de nouvelles bandes concomitantes à la diminution de l'intensité de la bande Si-H pouvant ainsi traduire l'implication de ces liaisons dans l'interaction avec les groupements hydroxyles du composé utilisé. La substitution du chlore n'a cependant pas pu être réalisée au laboratoire puisque les réactions de substitution font intervenir des composés toxiques (azides et palladium par exemple) mais surtout que les étapes de substitution nécessitent des étapes intermédiaires de rinçage avec le plus souvent des méthodes de sonication, qui auraient conduit à une perte de la surface du silicium poreux modifié, ce dernier étant très fragile. Nous avons alors voulu greffer un vinyl acétate par voie photochimique, afin de générer en surface des groupements carboxyles facilement activables. Cependant le greffage ne semblait pas avoir eu lieu puisque après quelques rinçages les bandes observées sur le spectre de départ avaient quasiment disparues.

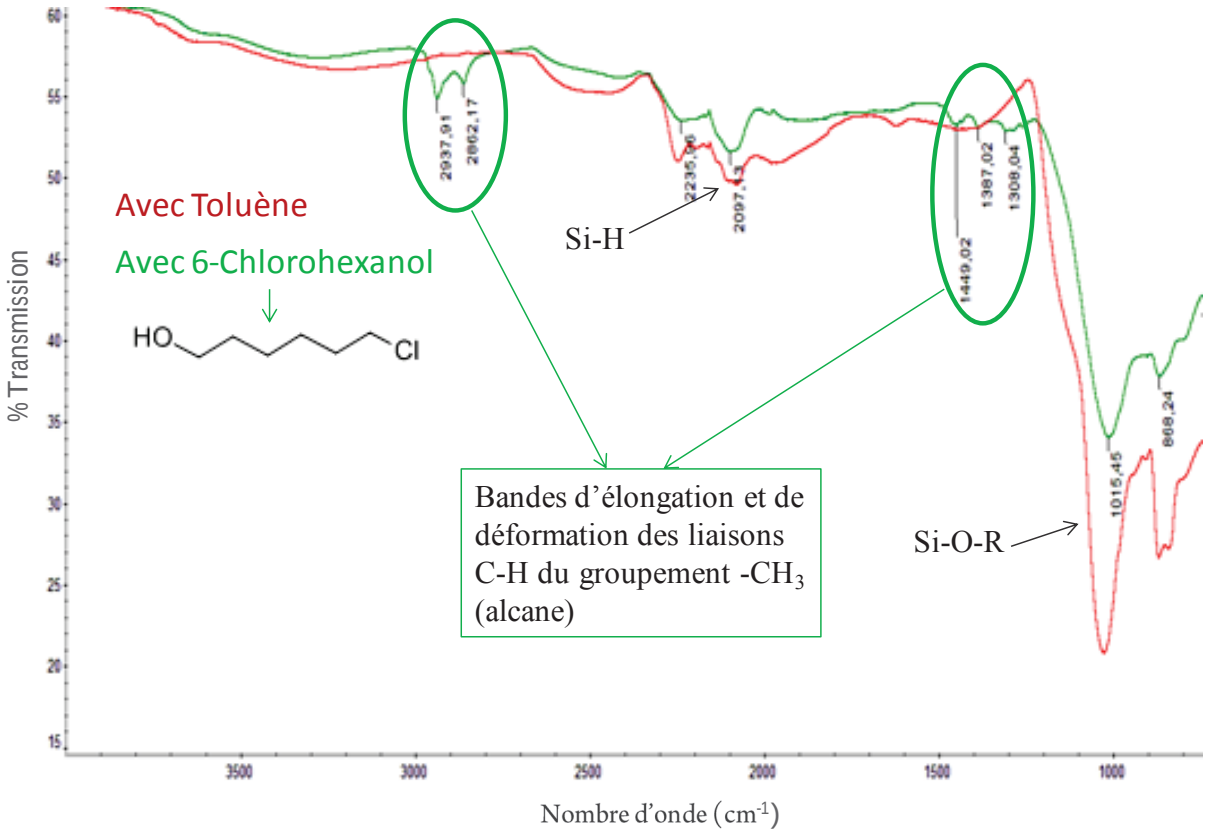


***Figure 77**. Spectres infrarouge après modification par le 6-Chlorohexanol, les zones entourées en vert indiquent les zones du spectre présentant de nouvelles bandes après modification.*

Resta alors la méthode de greffage électrochimique en utilisant du 4-nitrobenzène diazonium (4-NBD), le greffage fut réalisé par voltammétrie cyclique à partir de solutions dégazées à l'argon et sur des supports fraichement hydrogénés. Les courbes sont présentées ci-dessous.

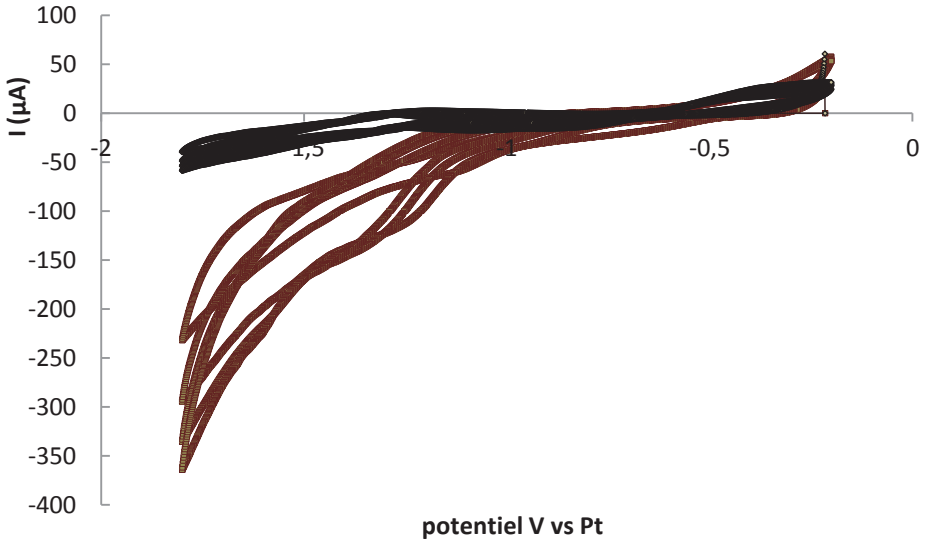


***Figure 78**. Courbes obtenues par voltammétrie cyclique réalisée sur un support de silicium poreux (type n) avec une solution d'acétonitrile (en noir) et contenant 5 mM de 4-NBD (en rouge).*

Après cette étape, le support a été analysé par spectroscopie infrarouge. On observe notamment **(Figure 79)** que le support s'est oxydé entre les deux étapes mais aussi que la bande attribuée aux Si-H, s'est très nettement réduite, pouvant conforter l'hypothèse de greffage du 4-NBD à la surface du poreux. La **figure 79** présente également le spectre après greffage en mettant l'accent sur la zone d'intérêt avec la présence de bandes caractéristiques du groupement Ar-NO_2, notamment les bandes à 2247 et 1327 et 1523 cm^{-1}.

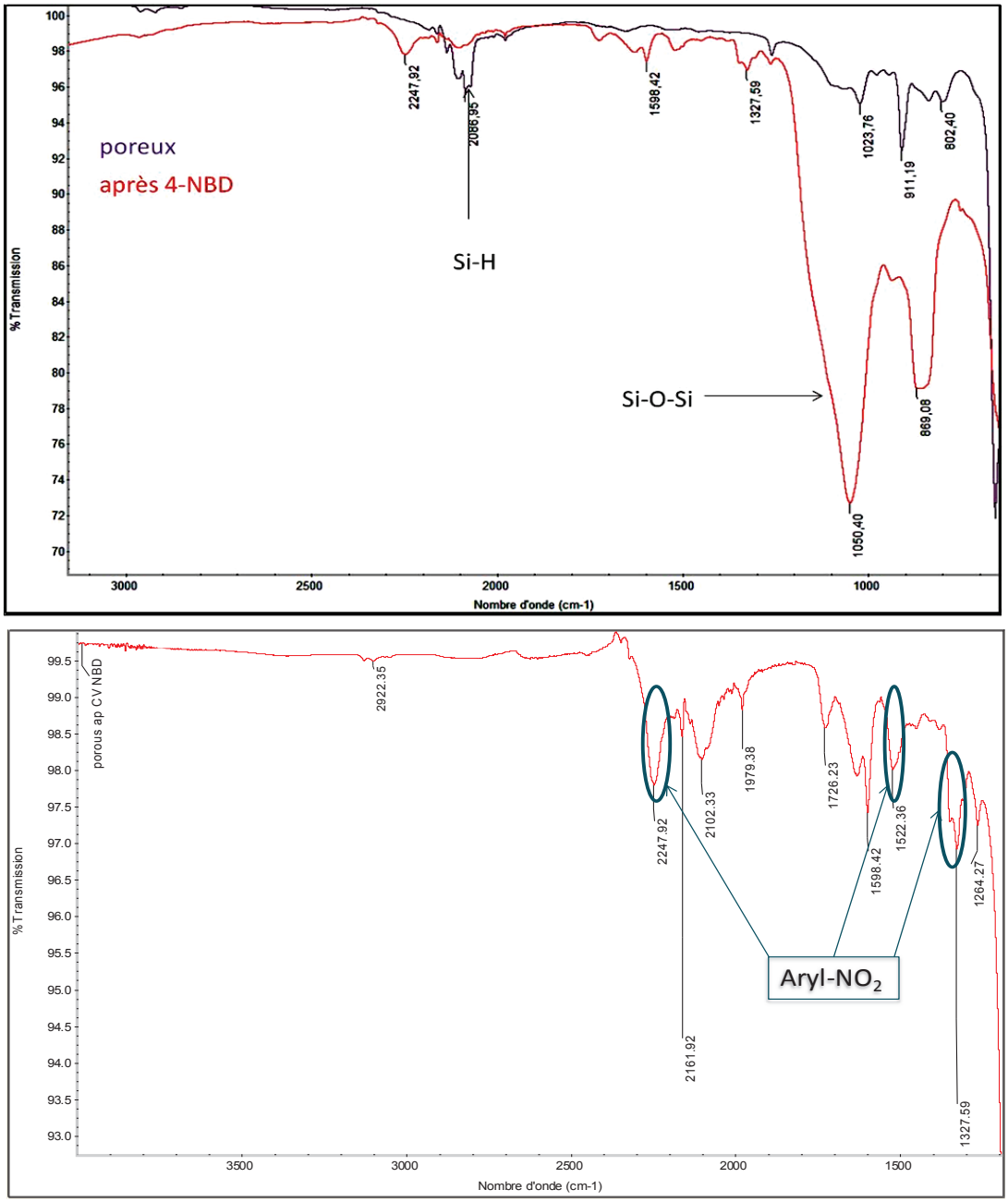


***Figure 79**. Spectres infrarouge réalisés sur support silicium poreux (type n) après greffage 4-NBD. Le spectre du bas correspond à un zoom sur la zone d'intérêt.*

On remarque néanmoins que malgré les nombreuses précautions prises pour entraver l'oxydation du support, celle-ci a tout de même eu lieu. Ceci indique que le support est très sensible à l'oxydation et que le greffage n'est donc pas homogène sur l'ensemble de la surface.

Malgré tout, nous avons alors tenté de récupérer des nanoparticules à partir des supports poreux modifiés par le chlorohexanol et le nitrobenzène diazonium. Seule la partie la plus superficielle du poreux est récupérée pour augmenter la probabilité d'avoir des particules

modifiées. Etant conscient qu'une partie des particules est perdue durant les lavages après le greffage, d'autres étapes de greffage-récupération ont alors été réalisées afin d'obtenir des quantités de poudres suffisantes, puis la poudre a été introduite directement dans le liant. Suite à cette intégration des mesures de Mott-Schottky ont été réalisées et au final le composite s'est vu perdre sa caractéristique électrochimique semi-conductrice et devenir même trop résistif pour qu'on y mesure un signal.

3.2. Composite à base d'oxyde de Zinc

Aux vues des difficultés rencontrées et pour ne plus avoir à se soucier des phénomènes d'oxydation de surface du silicium, nous avons tenté de greffer directement sur les autres composites à base d'oxyde métallique en optant pour une méthode électrochimique et d'observer les effets de ces modifications sur le comportement électrochimique des supports.

3.2.1. Fonctionnalisation par le 4-BBD

Dans un premier temps, nous avons testé le greffage du 4-Bromobenzène diazonium (4-BBD) sur le composite Gwent-ZnO. Le greffage a été réalisé par voltammetrie cyclique dans une solution aqueuse de 4-BBD à une concentration de 5mM et l'analyse du voltammogramme démontre la présence d'un pic de réduction à environ -0,9 V *vs* Pt (**figure 80**) qui disparaît au second cycle, tendant à prouver que la majorité de la surface est passivée par le 4-BBD.

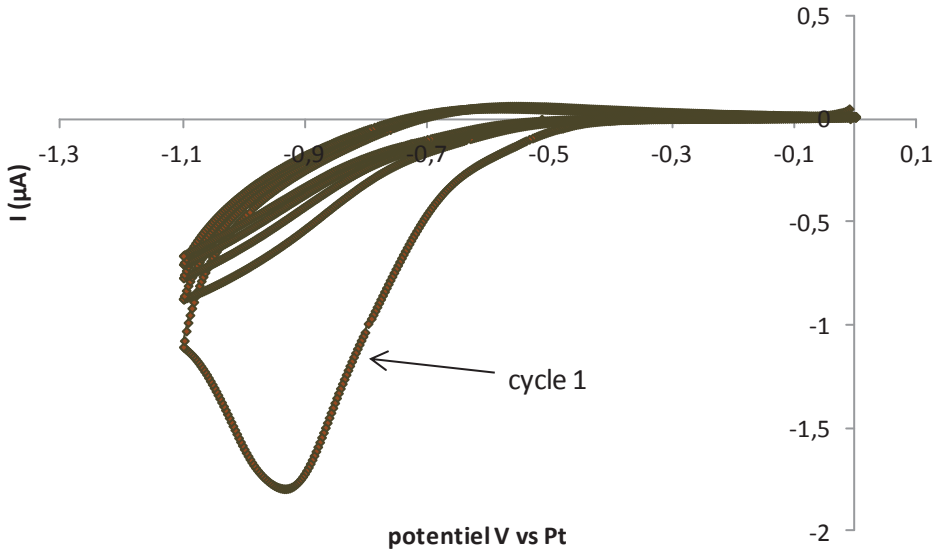


***Figure 80**. Voltammogramme obtenu lors du greffage du 4-BBD sur le composite Gwent-ZnO*

Nous avons alors voulu voir si cette réduction c'était suivie d'un greffage et le cas échéant si celui-ci avait entrainé des variations dans l'allure des courbes de Mott-Schottky. Pour ce faire une mesure avant et après modification est présentée ci-dessous.

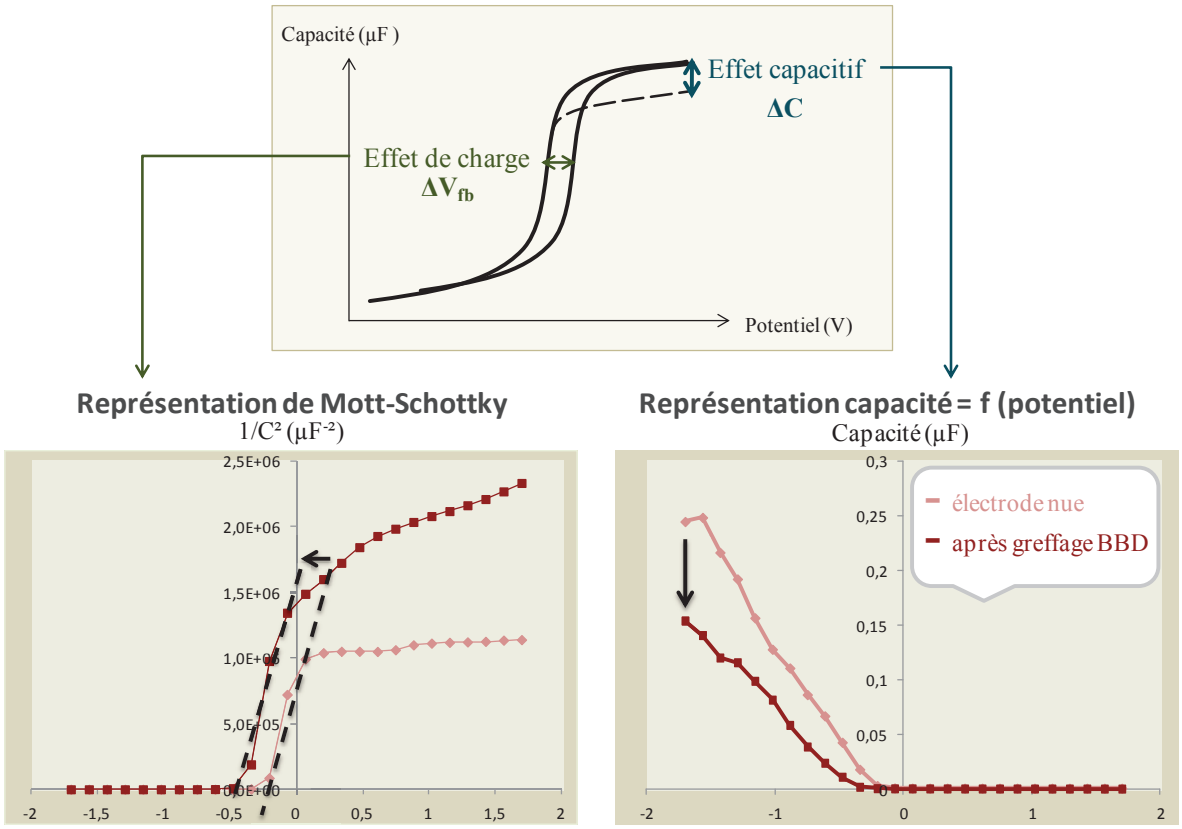


***Figure 81**. (en haut), schéma représentant les deux effets observables après modification de surface à l'interface électrolyte/semi-conducteur.(en bas), courbes selon Mott-Schottky (à gauche) et en fonction de la capacité (à droite) obtenues avant et après greffage du 4-BBD.*

D'une manière générale deux phénomènes peuvent être observés comme schématisés sur la figure ci-dessus, chacun répondant à une logique particulière, un dit capacitif et l'autre résultant des effets de charges. Si l'on analyse les courbes de la **figure 81** en suivant cette logique, le léger décalage de la courbe vers les potentiels plus négatifs après greffage peut alors résulter d'une variation du potentiel de bande plate dû à un effet de champ, puisque une variation de charges à la surface des particules influence la courbure de bande du semi-conducteur. Cette variation est observable dans le régime dit de désertion (faible inversion).
Le second phénomène s'observe-lui dans le régime d'accumulation, c'est le régime dans lequel on estime la valeur de la capacité. En effet, si une couche vient s'adsorber ou se fixer en surface, la capacité totale du système est modifiée. Le modèle de la double couche qui a été traité précédemment, nous permet de penser que cette capacité est additive aux autres puisque la capacité est fortement augmentée. Cela peut être modélisé comme une structure EIS (Electrolyte –Isolant-Semi-conducteur) où la couche greffée jouerait le rôle de l'isolant.

3.2.2. Fonctionnalisation par des oligonucléotides

Ne pouvant recouper ces résultats avec d'autres méthodes de caractérisations type spectroscopie infrarouge, puisque sur le composite il est très difficile d'observer ce genre de modification, nous avons décidé d'utiliser directement des oligonucléotides couplés à une aniline pouvant être électro-greffés. L'avantage de cette approche est que les caractérisations électrochimiques peuvent être recoupées avec celles effectuées par marquage chimiluminescent.

- Détection par marquage chimiluminescent

Des études préalables menées au laboratoire en utilisant des nanoparticules d'oxyde de cuivre comme dopant d'une matrice époxyde avaient indiqué une capacité catalytique du composite vis-à-vis des substrats de l'enzyme ce qui entrainait l'apparition d'un signal de chimiluminescence. Aussi, afin d'éliminer tout doute sur les futurs mesures de chimiluminescence, un essai a été réalisé sur le composite Gwent-ZnO comme l'indique la figure ci-dessous (**figure 82**). Ce dernier a permis de clairement démontrer que le support seul ne présente aucune capacité à catalyser la chimiluminescence.

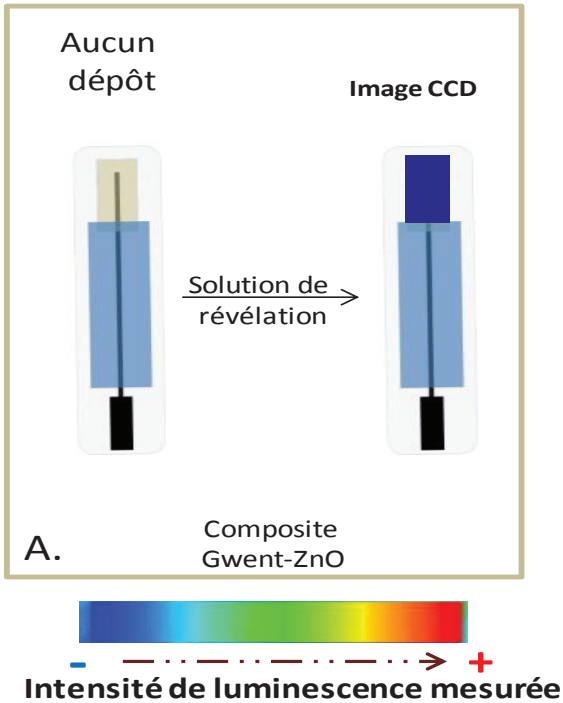


***Figure 82**. Image obtenue grâce à une camera CCD sur des électrodes sérigraphiées Gwent-ZnO, après dépôt d'une goutte de solution de révélation*

Nous avons ensuite mené les expériences de greffage d'ADN en utilisant à chaque fois deux séries d'électrodes, une pour les tests électrochimiques et une seconde pour les tests par

chimiluminescence, puisque les protocoles ne sont pas compatibles, notamment à cause des étapes de saturation nécessaires aux mesures de luminescence qui influenceraient trop fortement les mesures capacitives.

Les images suivantes présentent une expérience en chimiluminescence réalisée avec et sans saturation en utilisant une concentration d'ADN sonde de 500 nM et en faisant varier la concentration d'ADN cible. Les valeurs de concentrations en ADN sonde et ADN cible avaient été déterminées préalablement sur des électrodes de carbone sérigraphiées, c'est ainsi que nous avons choisi une concentration à 500 nM pour l'oligonucléotide-ABA à greffer.

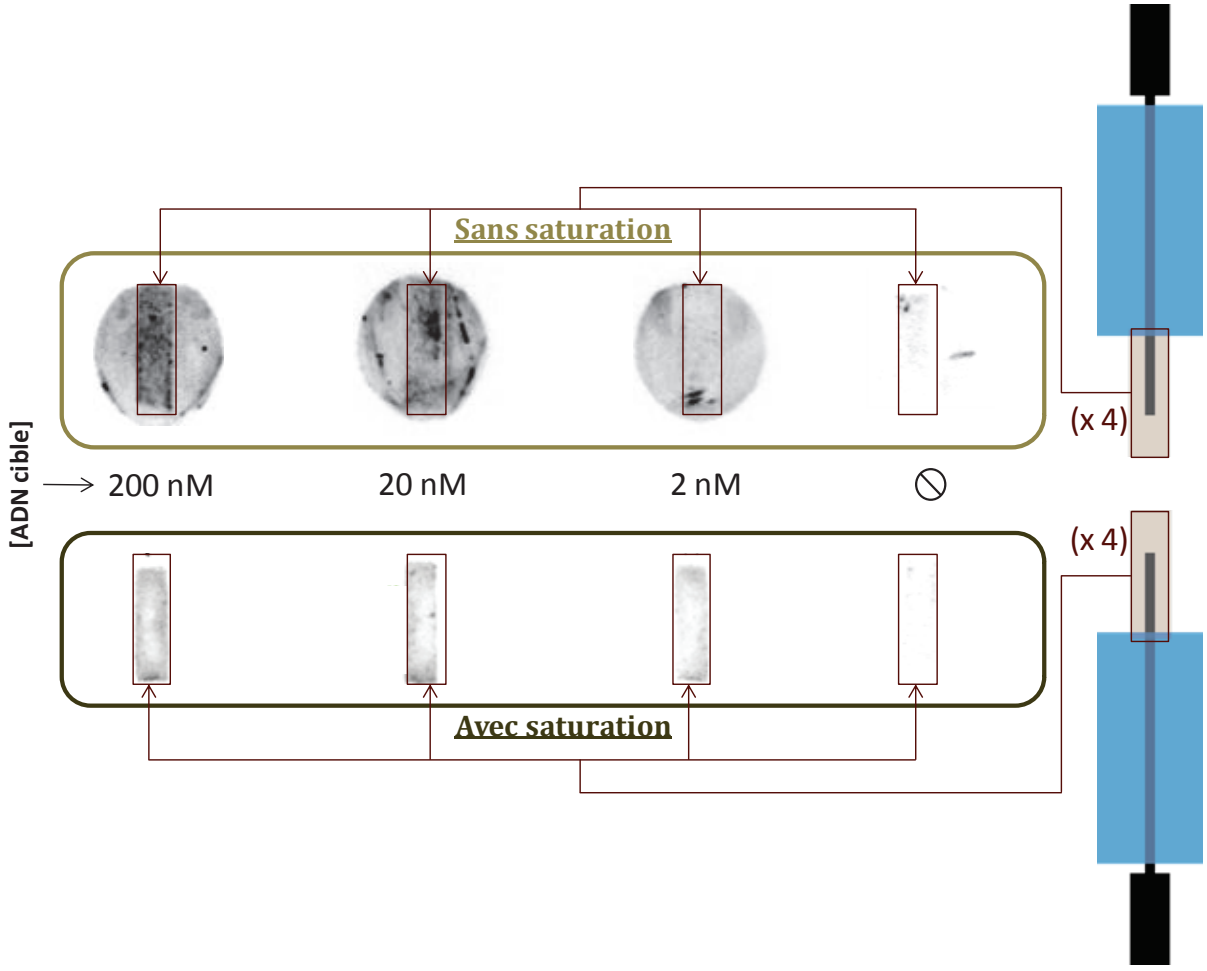


***Figure 83**. Images réalisées grâce à une camera CCD sur 8 électrodes Gwent-ZnO sérigraphiées après une expérience par marquage chimiluminescent suivant le protocole décrit au chapitre 2.*

Ces résultats suggèrent que le greffage d'ADN ne semble pas très efficace puisque l'intensité lumineuse au vue des concentrations utilisées ne semble pas très importante si l'on compare cette dernière avec les greffages réalisés sur des électrodes sérigraphiées conductrices **tableau 11.**

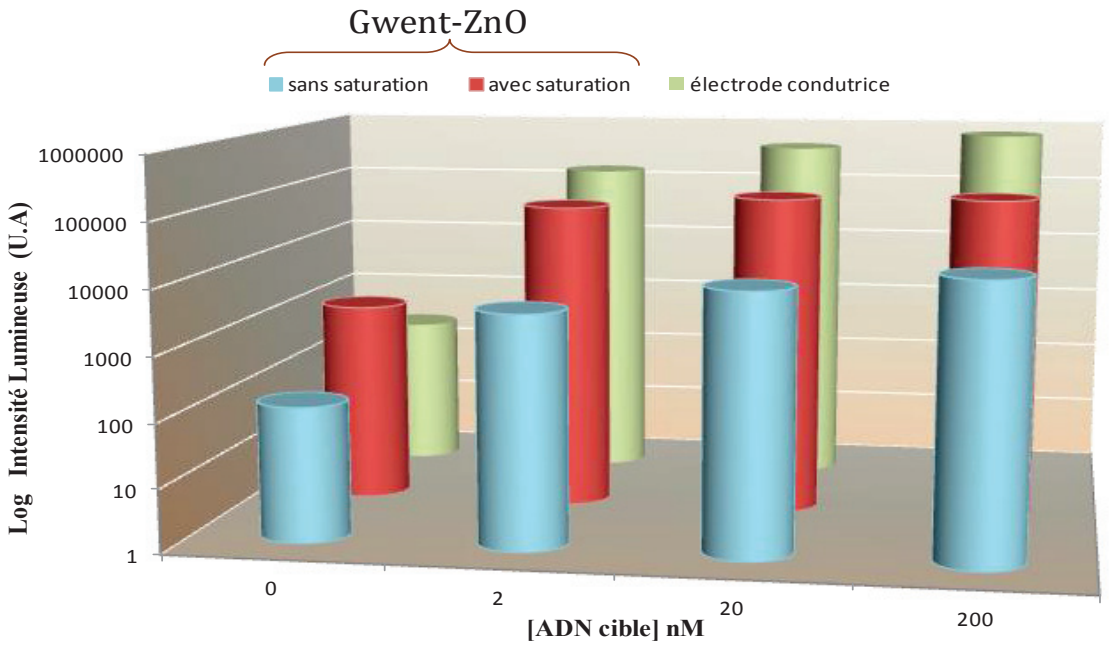


***Tableau 11**. Intensités lumineuses mesurées sur les électrodes sérigraphiées Gwent-ZnO et les électrodes sérigraphiées conductrices pour les mêmes concentrations d'ADN sonde et cible.*

➢ Détection électrochimique

Ayant mené en parallèle l'expérience par électrochimie grâce à des mesures de Mott-Schottky, nous nous sommes aperçus qu'il n'était pas possible de discriminer entre les effets dus au greffage (**figure 84**) et les effets non spécifiques (**figure 85**).

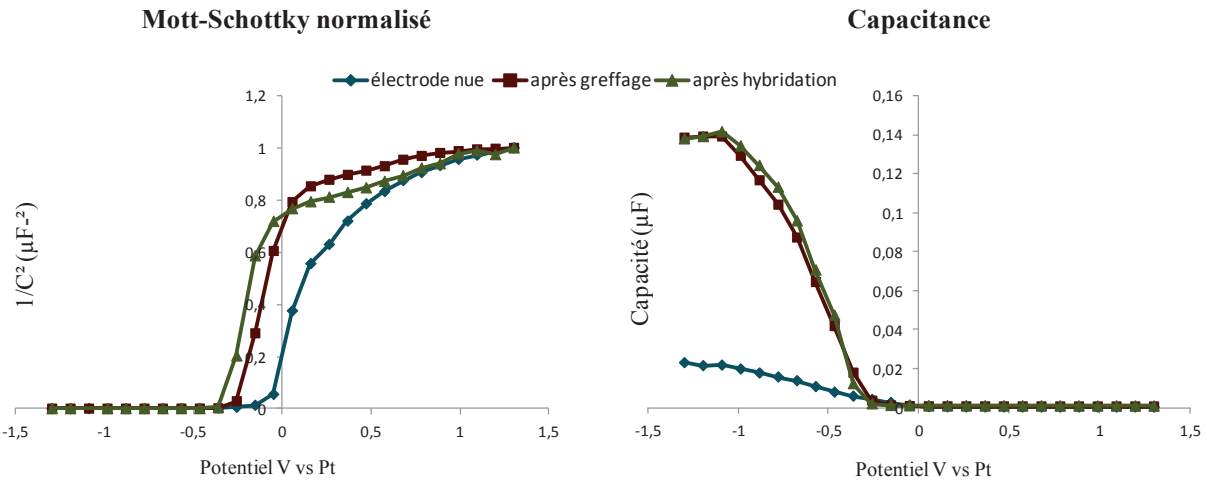


***Figure 84**. Courbes de Mott-Schottky normalisée (à gauche) et de capacitance (à droite) après greffage et hybridation d'un brin d'ADN et de son complémentaire sur une électrode sérigraphiée comportant une couche de composite Gwent-ZnO.*

En effet, les rinçages et les incubations semblent influencer de manière significative la stabilité de la mesure et ne permettent pas de discriminer les signaux spécifiques de manière efficace. Si l'on observe la figure ci-dessous, il apparaît clairement qu'un contact prolongé entre la solution de mesure et l'électrode entraîne de forte variation du signal. Cette série de mesures a été réalisée sur une durée de 1 heure (**Figure 85-A**),

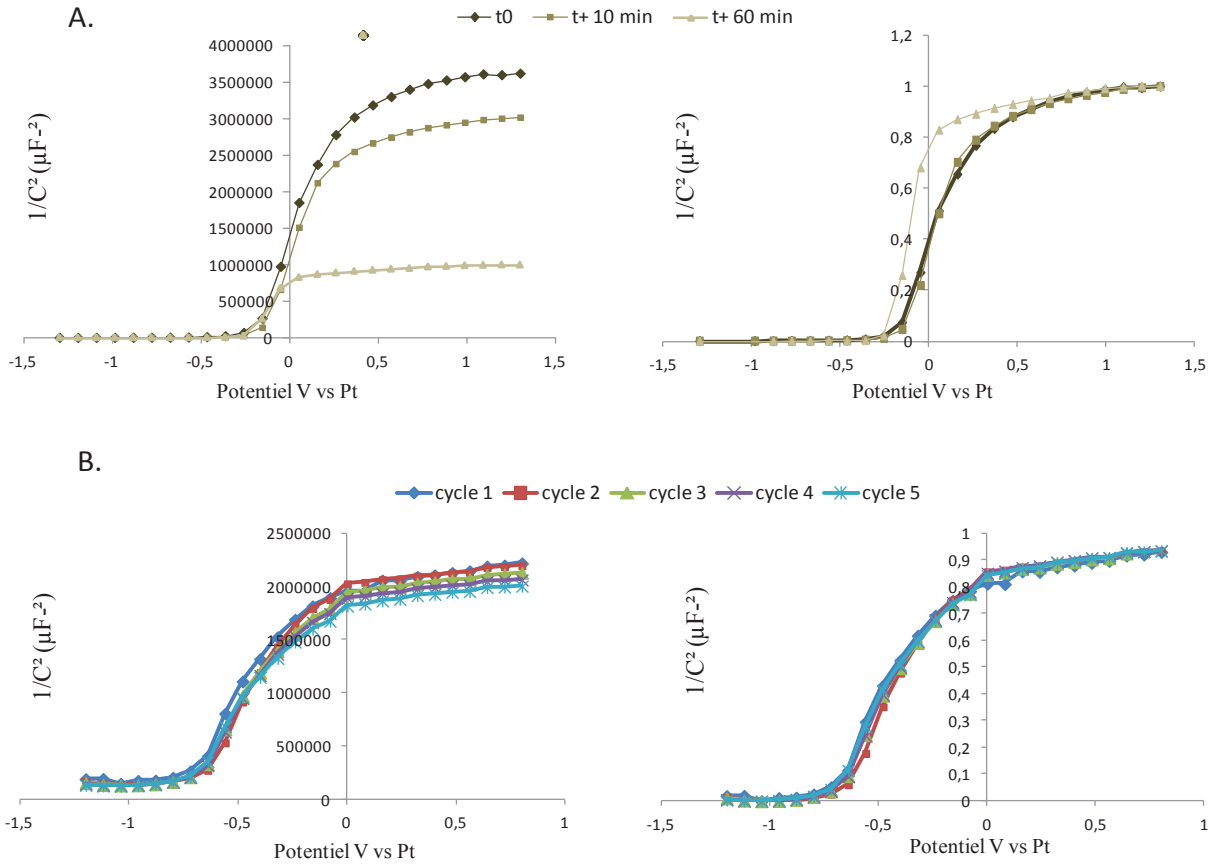


***Figure 85**. Courbes de Mott-Schottky brutes (à gauche) et normalisées (à droite) présentant des mesures réalisées (A.) sur une période de 60 minutes d'incubation dans une solution tampon de VBS et (B.) après des cycles de rinçages successifs dans de l'eau distillée.*

Un effet capacitif et un effet de charge sont ainsi observés, avec une augmentation à chaque cycle de la valeur de $1/C^2$ et un décalage de la valeur de potentiel de bande plate. Ceci tend à indiquer que le composite réagit aux mesures électrochimiques en solution avec une modification de l'état de surface des particules, soit par modification de l'interaction particule / polymère avec des effet de charges localisés qui apparaissent et qui modifient donc la zone de charge d'espace de la particule de ZnO, soit par la modification directe des états de surface suite à l'application du potentiel. Les mesures en infrarouge après inclusion des particules **(figure 60)** avaient indiqué que le liant et les particules pouvaient interagir par des liaisons de faibles énergies entre les carboxylates du liant et les particules. Partant de cette observation, nous avons supposé que lors des cycles de Mott-Schottky, le transfert des charges pouvaient rompre les liaisons à l'interface particule polymère, ce qui tendrait à libérer de nouvelles

zones en surface et donc modifier l'état de charge surfacique et donc l'équilibre des potentiels à l'interface. Cette hypothèse ne permet pourtant pas d'expliquer, en totalité, pourquoi à chaque cycle l'allure est modifiée puisque l'on pourrait penser qu'au bout de n cycle le système se stabiliserait. C'est pour cela qu'un second a été introduit, c'est la vitesse de solvatation au sein du composite qui conduirait, si l'on considère sa porosité, à l'apparition au cours du temps de nouvelles zones de contact entre particules et solution électrolytique. Cette idée est soutenue par les mesures effectuées **figure 85.B** où les intervalles entre deux cycles ont été réduites à moins de 3 minutes, on y observe alors une plus grande reproductibilité.

$$\frac{1}{C^2} = \frac{2}{A\varepsilon\varepsilon_0 e_0 ND}\left(V - V_{bp} - \frac{kT}{e_0}\right) \quad (1) \qquad C = \frac{\varepsilon\varepsilon_0 A}{e} \quad (2)$$

avec C, capacité de double couche,
A, aire de la surface de travail,
Ɛ, constante diélectrique du milieu,
$Ɛ_0$, la permittivité du vide,
N_D, le taux de dopage,
e_0, la charge élémentaire,
k, la constante de Boltzmann,
T, la température,
Vbp, le potentiel de bande plate
V, le potentiel appliqué

Enfin, si l'on considère les chutes de capacité et les variations de potentiels sous l'angle de l'équation de Mott-Schottky et de l'expression de la capacité, une autre approche peut être envisagée. Selon l'équation (1) la valeur de $1/C^2$ est influencée en majorité par « A » et « N_D », le reste étant principalement des constantes ou des paramètres du système comme le potentiel appliqué à l'électrode. En général, que ce soit sur des nanostructures ou les surfaces planes d'un matériau, la surface reste identique et c'est principalement « N_D » qui tend à varier en fonction des conditions de mesures. Si on se base sur les travaux du Dr Liu en 2009 et ceux du Dr Mora-Sero en 2006, qui se sont tous deux intéressés à l'étude du comportement électrique de nanotubes de ZnO sous l'effet de traitements thermiques, plusieurs causes pouvant être avancées pour expliquer une réduction du nombre de donneur notamment. Une modification morphologique et de la structure cristalline des particules ou/et une modification des défauts d'interstices au sein de la structure cristalline (atomes de zinc surnuméraires et atome d'oxygène en défaut, impureté type proton H+ [152]). De plus, selon Schaub *et al.* [162], la présence des défauts d'oxygène dans le réseau cristallin peut entraîner l'apparition de zones de plus forte densité électronique présentant un champ électrostatique qui favoriserait la dissociation de l'eau à proximité, cette dissociation faisant apparaitre des accepteurs d'électrons tel que l'oxygène qui récupérerait ainsi en se ionisant une partie des électrons échangés à l'interface particule / solution ce qui modifierait l'équilibre électrochimique à l'interface et entraînerait un réajustement des potentiels à l'interface. Néanmoins, cette variation du nombre de donneur serait limitée puisque les courbes gardent toujours la même allure et certaines études tendent à montrer que si le niveau de « N_D » augmente ($> 10.^{19}$ cm^{-3}) l'allure tendrait vers une linéarité, ce qui n'est pas notre cas.

Nous avons également décidé d'émettre l'hypothèse que les variations ne seraient pas toutes dues aux variations du nombre de donneurs mais également à une variation du paramètre de surface active « A ». Nous avions émis l'idée d'une solvatation progressive, ce qui impliquerait que la surface active varierait et influencerait donc la valeur de capacité au cours du temps. Nous pensons à la vue des observations et des hypothèses avancées, que ce paramètre influencerait grandement la stabilité du système dans notre cas.

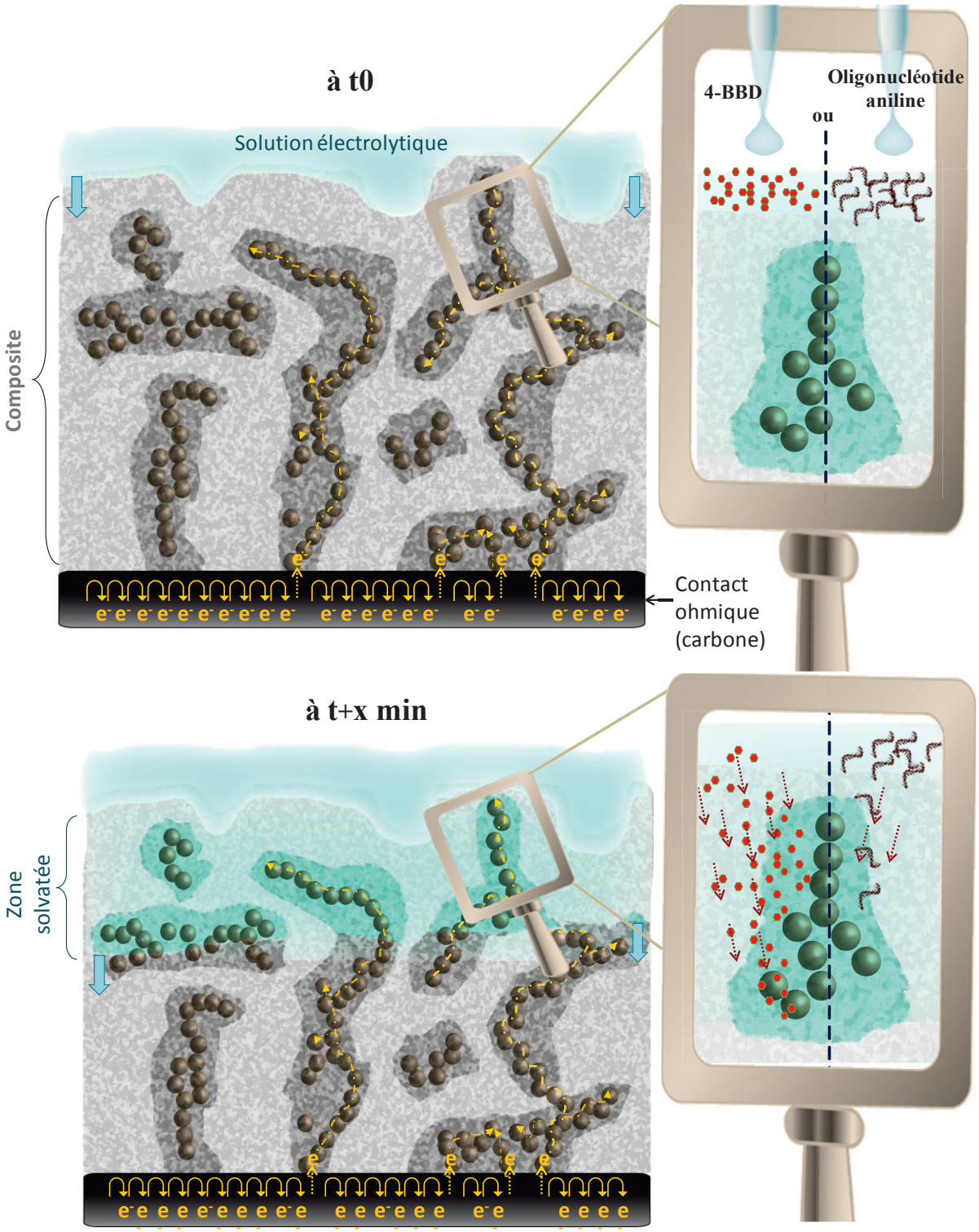


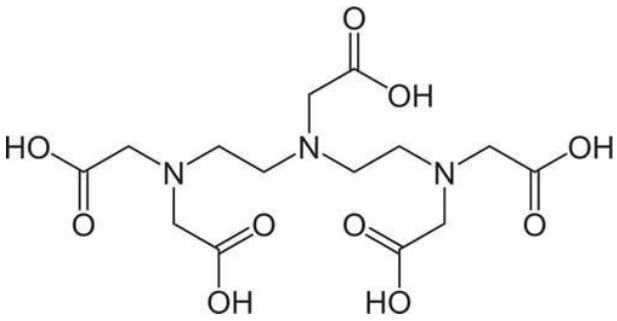
***Figure 86**. Illustration (à gauche) du phénomène de solvatation au cours du temps, ainsi que du transfert électronique au niveau de nanoparticules interconnectées lorsque celles-ci forment un réseau connecté au support servant de contact ohmique. (à droite) zoom au niveau d'une cavité contenant des nanoparticles après dépôt de solution de 4-BBD ou d'oligonucléotide, la diffusion des oligonucléotides est freinée à travers le liant comparativement au 4-BBD sans doute au charge - du brin d'ADN.*

Enfin, si l'on compare les résultats obtenus pour le greffage du 4-BBD et de l'oligonucléotide-ABA, on s'aperçoit que le sens des variations de la capacité est différent. Une augmentation de la valeur de $1/C^2$ est observée pour le premier alors que c'est une diminution qui apparaît pour le second. Dans le premier cas, il n'y a pas d'incubation et l'expérience ne dure que le temps du greffage puis une mesure est effectuée de suite. Aussi les phénomènes de solvatation évoqués ne doivent pas avoir le temps de s'établir de manière à influencer les mesures puisque la réalisation de plusieurs cycles de mesures successifs ne semble pas modifier l'allure des courbes **(figure 85-B)**. De plus si l'on regarde l'équation (2) le greffage du 4-BBD semble effectif puisque il conduit bien à une diminution de la valeur de la capacité **(figure 81)** pouvant être le résultat d'une augmentation de l'épaisseur « e » suite à l'apparition d'une couche de molécules greffées en surface des particules.

3.2.3. Essais d'optimisation du greffage

- Actions sur les particules

A la suite de ces observations, nous avions tenté d'utiliser des particules pré-fonctionnalisées avant inclusion comme pour le cas du silicium précédemment. Pour ce faire nous avons fait appel à une société (Nano-H) spécialisée dans la synthèse et le traitement de surface de nanoparticules. Elle nous a ainsi fourni des nanoparticules d'oxyde de zinc de 50 nm de diamètre en moyenne possédant un motif DTPA (acide diéthylènetriaminepentacétique) greffé en surface avec différentes densités de greffage **(Figure 87)**. Ce groupement dispose de plusieurs carboxyles pouvant être facilement fonctionnalisés par des biomolécules notamment par la formation de liaison amide en présence d'une amine (activation par le couple N-hydrosuccinimide et carbodiimide).



acide diéthylènetriaminepentacétique

Nombre de molécules de DTPA greffées par nm² de surface
10
2,5
0,5

Figure 87. *Représentation schématique de la molécule de DTPA (à gauche) et tableau présentant la densité de molécules de DTPA en surface des particules d'oxyde de Zinc.*

Aux densités 10 et 2,5 molécules par nm², l'inclusion des particules dans l'encre de sérigraphie fut difficile conduisant à une perte du caractère thixotropique de l'encre par un quasi durcissement à l'inclusion, malgré cela, la dispersion des particules semblait meilleure que pour les particules de ZnO utilisées jusque-là. Ce phénomène a été moins marqué pour la dernière densité à savoir 0,5 molécule/nm² et a ainsi permis d'obtenir une encre déposable. Néanmoins la présence de ce groupement en surface semble avoir inhibé le transfert électronique puisque nous avons observé une perte du signal de Mott-Schottky. Ce groupement ne présente, il est vrai pas de double liaison, mais nous avions pensé qu'il aurait été possible de mesurer un signal puisque la surface n'est pas saturée. L'autre hypothèse aux vues du phénomène observé pour les fortes densités de greffage à l'inclusion de liant permet d'émettre l'hypothèse que cette fonctionnalisation a créé une affinité du liant pour les particules Zn0@DTPA et qu'il est donc possible que le liant ait formé une cage autour des particules générant un éloignement inter-particulaire et une perte de contact entre elles. Ceci conduirait donc à la disparition du transfert des électrons entre particules.

- Action sur la matrice

La seconde approche a été cette fois d'agir non plus sur les particules mais sur le liant en tentant d'utiliser une matrice commerciale (Lumidag) moins visqueuse et qui ne serait plus isolante mais très légèrement conductrice. Cette approche nous a permis d'obtenir des résultats meilleurs pour ce qui est du greffage des oligonucléotides que précédemment puisque nous observons une intensité du signal de chimiluminescence multipliée par 5 en moyenne (**figure 88**).

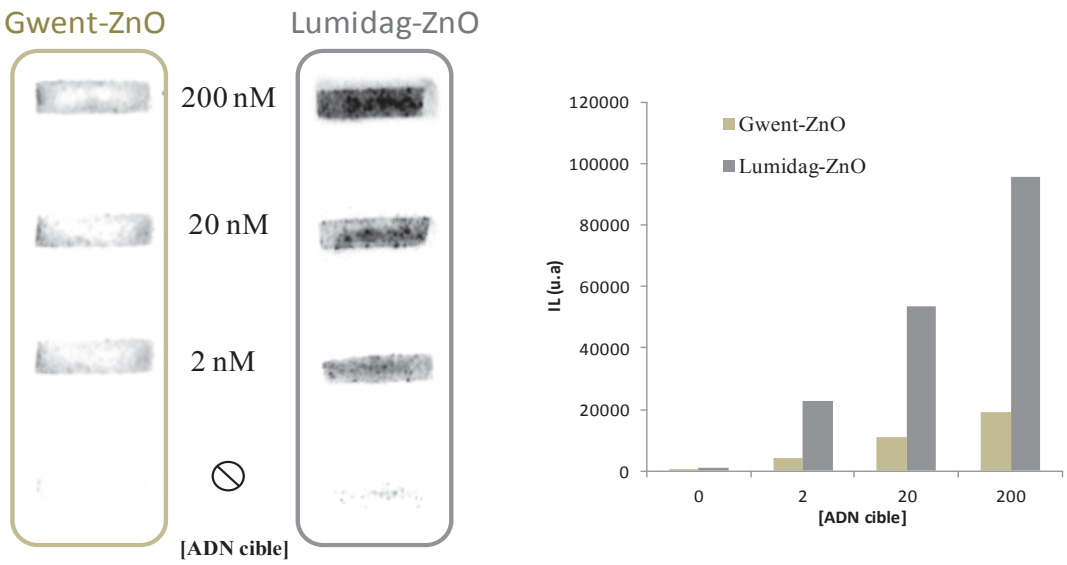


Figure 88. *Images réalisées grâce à une camera CCD sur 4 électrodes sérigraphiées de Gwent-ZnO et de Lumidag-ZnO. (à droite) Graphique présentant les intensités de luminescence mesurées pour chaque support.*

Néanmoins cette amélioration du greffage s'est accompagné d'une perte de la capacité à observer la caractéristique semi-conductrice par mesure de Mott-Schottky, ceci est dû au caractère conducteur du liant. Le support permettait désormais de réaliser des détections par mesure d'impédance classique sans, il est vrai, permettre d'obtenir une gamme de détection puisque des variations ne sont notables qu'à des concentrations de 500 nM en sonde et de 1 µM en cible (**figure 89**) et la variabilité des résultats entre les électrodes ne permet que de dégager une tendance en terme qualitatif et non quantitatif.

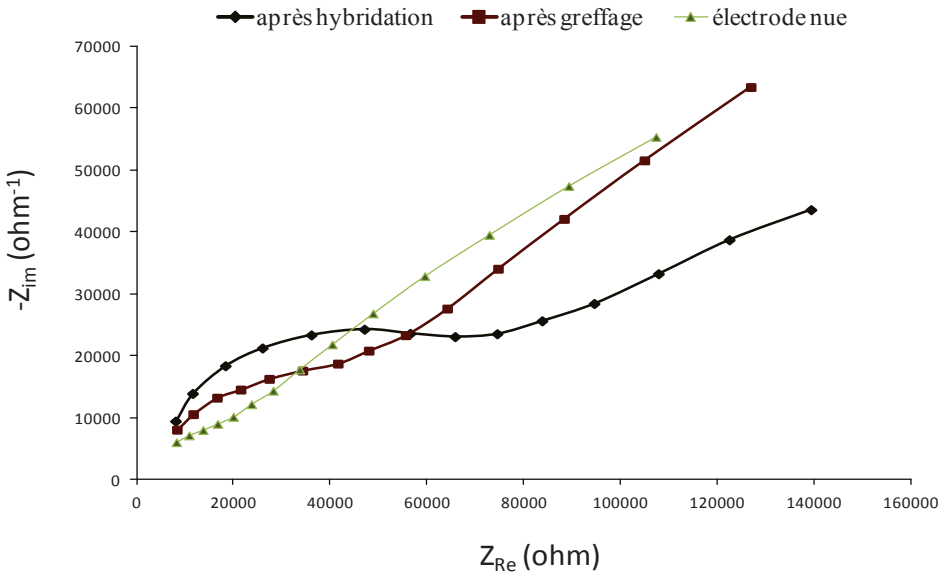


Figure 89*. Courbes d'impédance selon Nyquist réalisées sur une électrode Gwent-ZnO suite au greffage d'oligonucléotide-ABA et de l'hybridation avec son complémentaire.*

Toutefois, le but de ce travail étant d'élaborer des supports semi-conducteurs comme transducteurs, la détection par spectroscopie d'impédance classique étant réalisable de manière plus simple et efficace sur des supports conducteurs classiques, cette approche n'a pas été poursuivie.

- Vérification de la capacité d'électrogreffage sur des électrodépôts de ZnO

Enfin, la dernière approche fut initiée afin de mieux appréhender les difficultés rencontrées jusqu'à présent notamment au niveau du greffage. Pour ce faire nous avons décidé de se défaire du liant en électro-déposant directement du ZnO, nanostructuré ou non, à la surface d'électrodes de carbone sérigraphiées ou de supports ITO. Les électrodépôts sur électrodes de carbone ont été réalisés sur le même design d'électrode que précédemment ne comportant cette fois plus que le dépôt de la couche carbone et de l'isolant. Le protocole est adapté des travaux de Elias *et al*. [163] dont voici un rapide rappel. L'électrode est plongée dans une solution de $ZnCl_2$ à 20 mM dans 0,1M KCl et le dépôt est alors réalisé sous agitation à température ambiante par méthode galvanostatique. L'oxygène (O_2) nécessaire à la réaction est introduit dans la solution par flux continu. En mode galvanostatique, nous opérons à courant constant, ici -0,15 µA/cm² pendant 45 minutes soit environ 13,8 $mA.h^{-1}$. Comme le coefficient de diffusion des ions Zn^{2+} dans une solution aqueuse de $ZnCl_2$ est inférieur à celui de l'oxygène moléculaire, ce dernier arrive plus rapidement à la surface de la cathode et se réduit donc en OH^-. Les ions Zn^{2+} réagissent avec les ions OH^- déjà adsorbés à la surface de la cathode pour former ZnO. Selon les auteurs, le ZnO est particulièrement sensible en milieu acide et cela peut conduire à une dissolution parfois sélective parfois totale de l'oxyde métallique formé. C'est pour cette raison qu'après le dépôt nous avons choisi de suivre le choix des auteurs, en utilisant une solution de carbonate propylène avec 0,1 M $LiClO_4$ comme électrolyte support [164] pour les mesures électrochimiques. Les premières mesures ont confirmé le dépôt d'une couche semi-conductrice à la surface du carbone (**figure 90**) puisque nous retrouvons bien l'allure caractéristique d'un semi-conducteur de type n sur la courbe de Mott-Schottky obtenue.

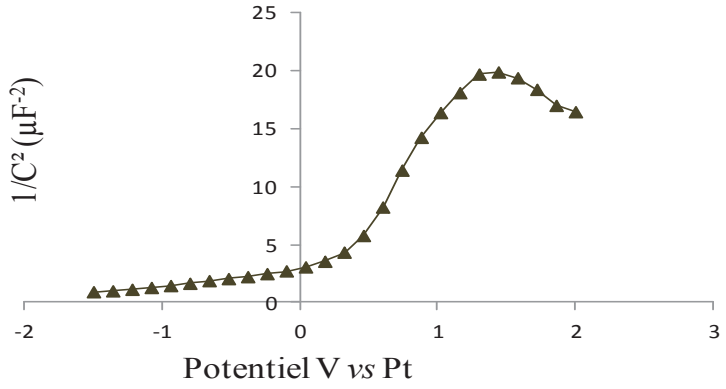


Figure 90. *Courbes de Mott-Schottky réalisée sur un électrodépôt d'oxyde de zinc sur une surface de carbone sérigraphiée.*

Malgré le risque de dissolution du dépôt en milieu acide nous avions tenté un greffage d'oligonucléotides en surface du dépôt de ZnO. Pour ce faire nous avons modulé les conditions de diazotation en modifiant la concentration d'HCl dans le milieu passant ainsi de 15 mM (pH < 3) à 200 µM soit à un 3,5 < pH < 3,8. Ceci n'a pas été suffisant pour empêcher la formation de trou et la dissolution partielle du dépôt comme le suggère les photographies réalisées par MEB (**figure 91**). Sur l'image une large zone semble altérée avec des zones laissant apparaitre la couche de carbone sous-jacente. De plus, de petits défauts type alvéole laissent supposer une dissolution progressive, facteur qui semblerait donc limiter les possibilités d'utiliser des protocoles faisant intervenir de longues incubations comme pour le cas des étapes d'hybridation ou de saturation.

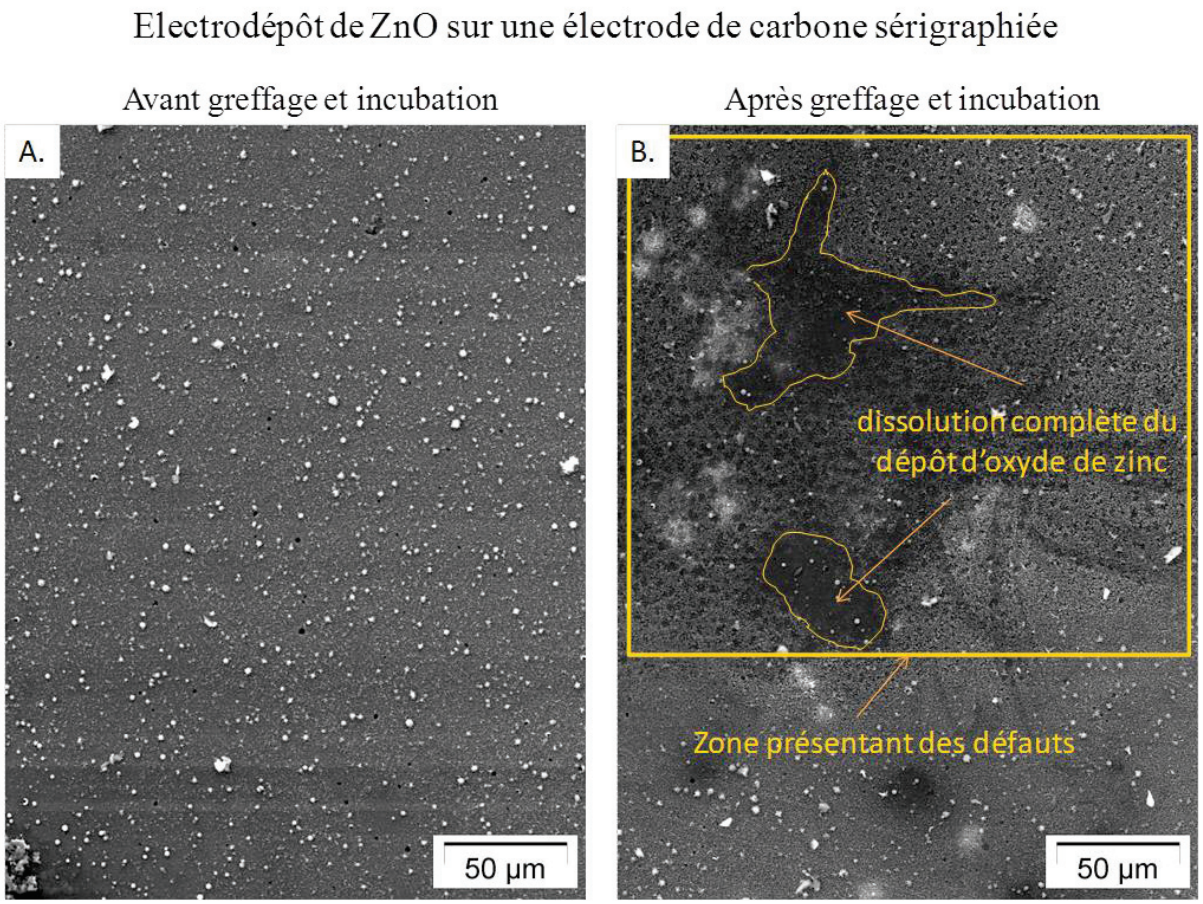


***Figure 91**. Images en MEB d'un électrodépôt d'oxyde de zinc réalisé sur une électrode de carbone sérigraphiée. (à gauche) la surface avant greffage et incubation, (à droite) après incubation et greffage.*

Aux vues du manque de stabilité de notre dépôt nous avons alors contacté le Dr. Elias du laboratoire fédéral d'essai des matériaux et de recherche (Suisse), EMPA, qui s'est proposé de nous préparer des supports plus stables avec une meilleure protection des dépôts. Il s'agit toujours d'électrodépôt mais cette fois-ci réalisé sur support d'ITO avec une première couche de ZnO déposée sur laquelle est formée une couche dense de nanofils de ZnO.

Nous avons donc tenté directement de réaliser un greffage d'oligonucléotides et d'observer les effets de ce greffage sur la morphologie du dépôt. La **figure 92** présente ainsi comme précédemment les images avant et après greffage d'un même support.

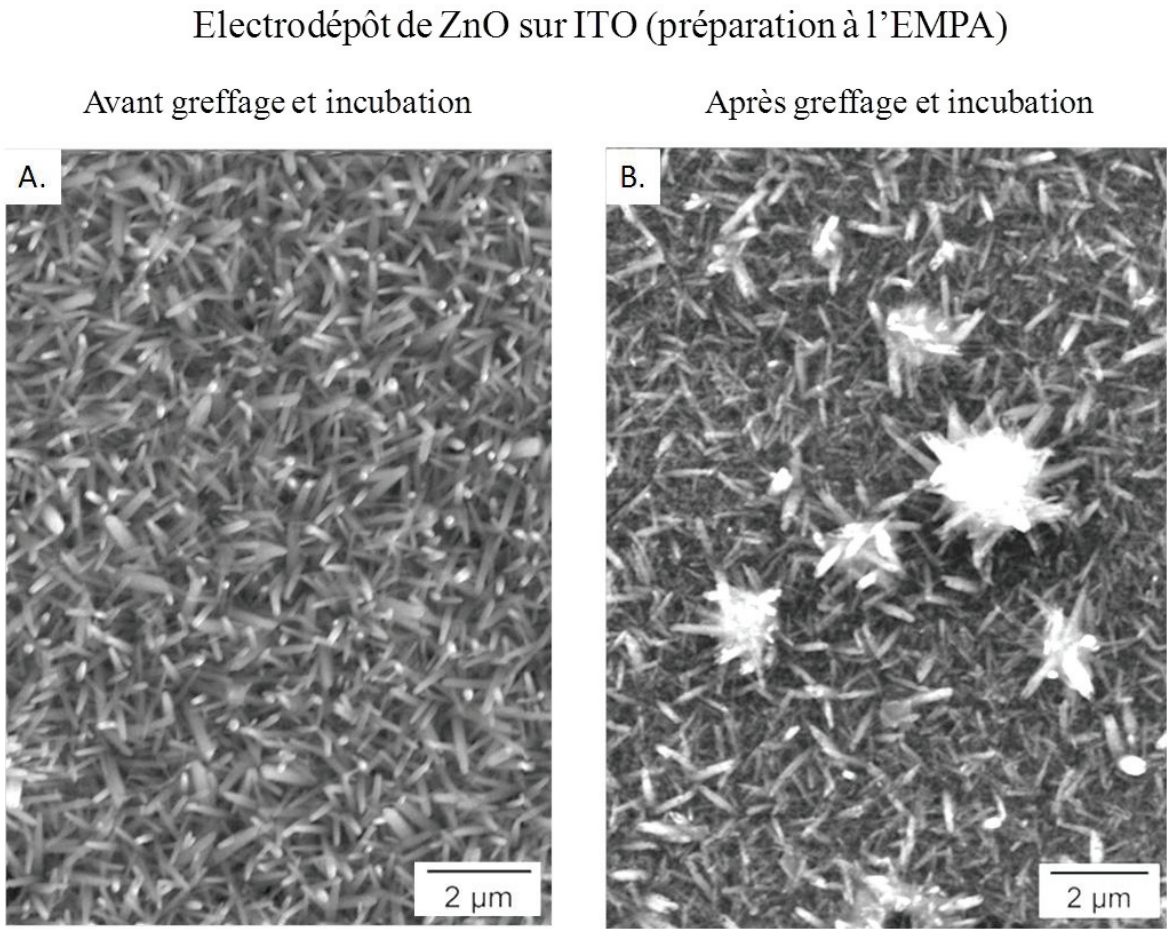
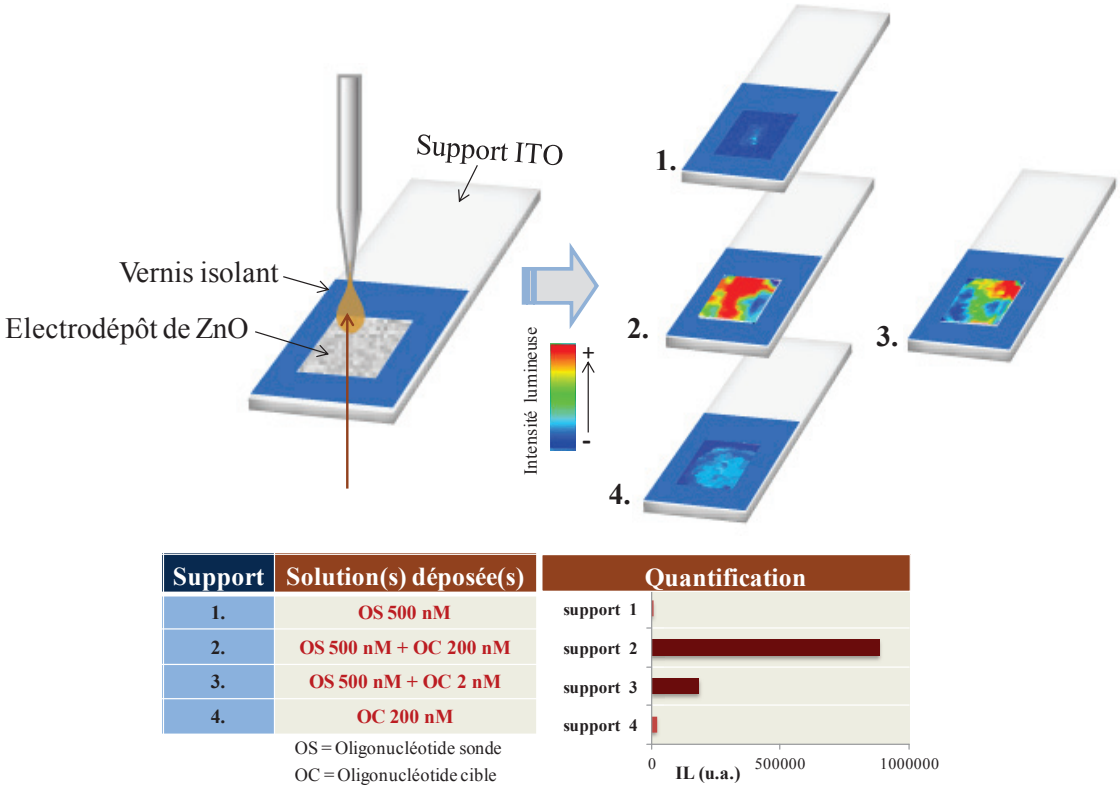


***Figure 92**. Images en MEB d'un électrodépôt d'oxyde de zinc réalisé à l'EMPA sur une électrode d'ITO. (à gauche) la surface avant greffage et incubation, (à droite) après incubation et greffage.*

Le support est en effet plus stable, néanmoins la densité de nanostructures présente en surface apparaît réduite après traitement, ce qui suggère qu'une dissolution partielle est survenue durant les traitements successifs à savoir greffage, rinçage et hybridation. De plus on note l'apparition de petits amas, qui pourrait être le résultat des modifications de surface apportées ou encore de résidus de sels d'électrolytes.

Suite à ces observations nous avons mené une expérience en chimiluminescence afin de pouvoir confirmer la possibilité de greffer de manière directe des biomolécules sur de l'oxyde de zinc. Les résultats présentés **figure 93** indiquerait que le greffage a lieu de manière spécifique. Seules deux concentrations ont pu être testées pour réaliser l'ensemble des tests, dû à la disponibilité limitée de ces supports (seulement 5 au total).



Support	Solution(s) déposée(s)
1.	OS 500 nM
2.	OS 500 nM + OC 200 nM
3.	OS 500 nM + OC 2 nM
4.	OC 200 nM

OS = Oligonucléotide sonde
OC = Oligonucléotide cible

***Figure 93**. Images réalisées grâce à une camera CCD suite à une expérience de chimiluminescence, ces images sont superposées à une représentation schématique du support utilisé et quantifié (histogrammes) grâce au logiciel Image Gauge. Le tableau présente le contenu des dépôts effectués en fonction des supports.*

Ce support malgré le gain de stabilité suite au traitement effectué par le Dr Elias n'a pu répondre à nos attentes puisqu'une perte de la caractéristique semi-conductrice a été observée. Le support se comportait alors comme un conducteur. Ce comportement a été confirmé par une mesure de voltammétrie cyclique avec le couple redox $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. En effet, contrairement aux réponses obtenues sur nos supports composites Gwent-ZnO sérigraphiés, le système répondait sur la gamme de potentiel avec des pics caractéristiques apparaissant à la fois aux potentiels d'oxydation, et aux potentiels de réduction. (**Figure 94**.)

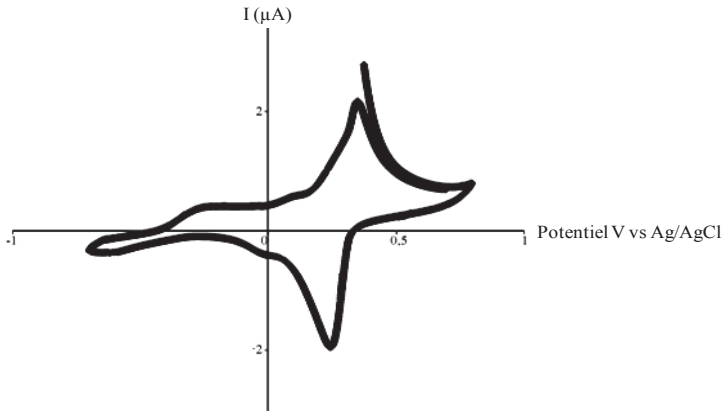


***Figure 94**. Voltammogramme réalisé sur l'électrodépôt de ZnO sur ITO à 200 $mV.s^{-1}$ dans du tampon VBS en présence de 5 mM de $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$*

Toutes les expériences présentées jusqu'à maintenant nous ont permis de mettre en évidence la possibilité d'obtenir des composites semi-conducteurs pouvant être déposés à la fois par *spin coating* ou sérigraphie, cette dernière permettant le design d'électrodes en fonction des besoins de l'utilisateur (référence ou contre-référence intégrée, dimension de la zone de travail…). Nous avons montré qu'il était possible de modifier chimiquement les supports développés avec plus ou moins de réussite en fonction des molécules utilisées. Néanmoins il ne nous a pas été possible d'utiliser de manière efficace ces supports comme transducteur électrochimique dans le cadre de développement de biocapteurs du fait d'une trop importante instabilité du système.

Partie 2 : composite conducteur photopolymérisable

Le travail que nous allons présenter ici avait été mené parallèlement au précédent avec pour objectif de montrer la possibilité de développer des transducteurs électrochimiques à base de composites cette fois-ci conducteurs, utilisant toujours une matrice organique époxy ayant la particularité d'être non plus thermodurcissable mais photosensible et plus encore, « photo-structurable ». Cette propriété permet ainsi d'éviter les dépôts par sérigraphie puisque les motifs peuvent être réalisés directement à partir du composite. Le composite formé, couple à la fois les propriétés particulières des résines photosensibles telle que le SU-8 et les propriétés électriques de particules de graphite.

Comme nous l'avons évoqué dans les chapitres précédents, les résines époxydes présentent des propriétés physico-chimiques (isolant électrique et thermique) et mécaniques intéressantes avec en plus une excellente adhésion sur la plupart des supports. Elles ont ainsi vu leur domaine d'application s'élargir peu à peu aux vernis ou couches de protection, puis à l'électronique et à la micro-fabrication par le biais de la photo-structuration [165; 166; 167]. Pour rappel, les formulations photosensibles à base de résine SU-8 apparaissent à la fin des années 1980 chez IBM et elles ne cessent d'être améliorées pour leurs applications à la micro-fabrication [168; 169]. Le SU-8 prend alors son essor dans le domaine des MEMS en tant que matériau bon marché [170], avec des propriétés chimiques de photo-structurations inégalées (facteur de forme supérieur à 8 [171] allant même jusqu'à 18 [172]). Dans la plupart des cas, il est utilisé presque exclusivement comme couche passive pour la microfluidique ou encore comme masque de gravure en lithographie, mais quelques travaux ont fait état de l'inclusion de dopant (nanoparticules d'argent [173], de nickel [174] ou nanotube de carbone [175]) au sein de SU-8 et ont permis de développer des composites avec des propriétés électriques. Seulement, certains comme l'équipe de Dr Jiguet, [173; 176] ont développé des composites certes conducteurs par incorporation de particules d'argent (de 200 nm à 1µm) à 6% en volume au sein de SU-8 mais ont ensuite réalisé des réseaux d'électrodes par dépôts mécaniques au travers de masque et non plus par la méthode de photolithographie, ce qui réduit l'intérêt d'utiliser la résine SU-8 à notre sens.

Dans notre cas l'incorporation de particules de graphite nous a permis d'obtenir un composite gardant toutes ses propriétés photosensibles mais incrémenté d'une nouvelle propriété électrique, ce qui permet donc au final de réaliser le dépôt, les recuits, insolation et le développement de la résine de manière classique et d'obtenir au final des couches conductrices.

1. Caractérisations morphologiques

Lors de nos essais, nous avons tout d'abord essayé de déterminer la quantité optimale de graphite au sein du composite permettant de maintenir la possibilité d'obtenir des structures avec une assez bonne résolution après développement. Comme l'indique la **figure 95**, lorsque la quantité de particules dépasse le seuil de 18% en masse du composite, une perte significative de la résolution du motif est observée avec une perte quasi complète de résolution autour de 24 % de charge.

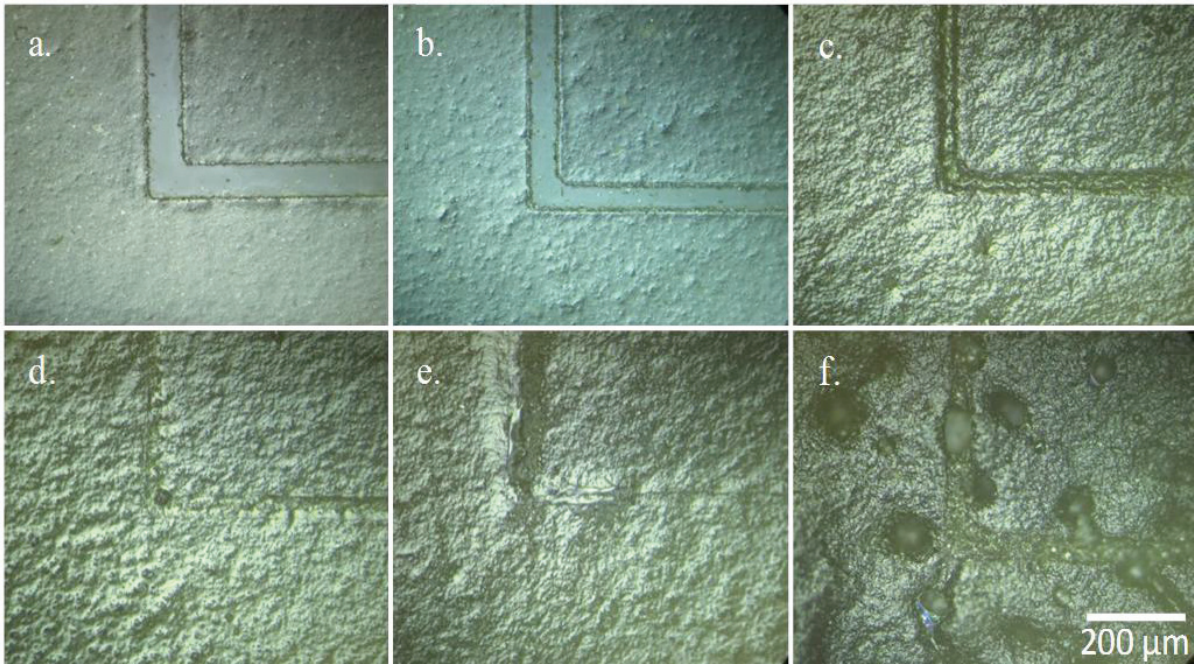


***Figure 95**. Images en microscopie optique (x20) d'un support après dépôt et développement de composite graphite SU-8 présentant une quantité de charge de graphite en poids de (a) 14% (b) 18% (c) 21% (d) 24% (e) 27% et (f) 30%.*

Afin de déterminer l'influence de l'ajout de matériel sur la qualité du dépôt, nous avons comparé la dimension des motifs reproduits sur le support à celle résultant de l'utilisation de résine seule, le tout comparé à celle du masque utilisé pour les réaliser. Les images obtenues suite à l'étude par profilomètrie optique sont présentées ci-dessous (**figure 96**),

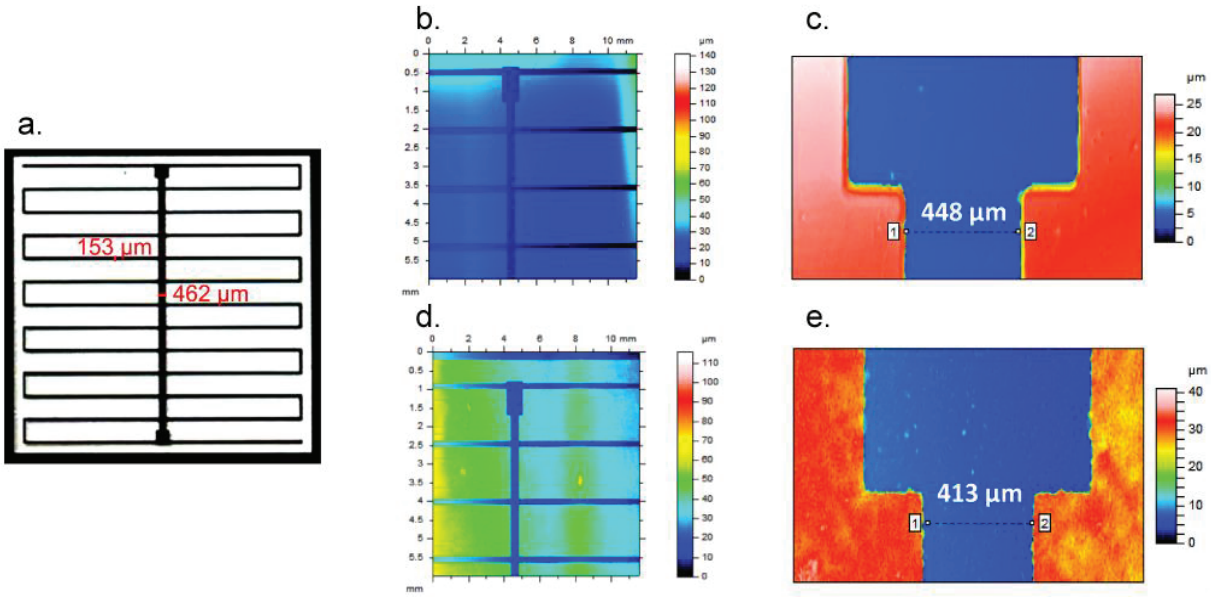


***Figure 96**. Images en profilomètrie optique sur des supports après dépôt de SU-8 (b. et c.) et après dépôt de graphite-SU-8 à 18% de charge (d. et e.) et masque utilisé (a.)*

Ces images montrent que dans les deux cas il a été possible de reproduire le motif original assez fidèlement avec des résolutions proches de 5 µm et 10 µm respectivement entre le motif réalisé avec SU-8 seul ou le composite. Travaillant en mode contact et utilisant un masque souple, le plaquage n'est pas total sur l'ensemble de la surface ce qui crée des variations de résolution en fonction des zones puisque les angles d'incidences de la lumière ne sont pas les mêmes. Ce désavantage est lié à nos conditions expérimentales, puisque nous ne possédions pas d'aligneur de masques et que nous ne pouvions donc pas contrôler de manière rigoureuse la distance masque / support. De plus, après inclusion du graphite, la viscosité est modifiée et il est alors tout à fait logique que la sensibilité du composite pour le développeur (PGMEA) soit également modifiée. Tout ceci peut expliquer alors les variations de taille d'ouverture du canal observé entre le support SU-8 seule et le support avec composite.

Les supports réalisés à partir des composites ont également présenté une régularité dans la répétition de motifs sur de larges zones de plusieurs mm² à plusieurs cm² (**figure 96 et 97**) mais du fait d'une viscosité accrue par rapport à la résine commerciale il nous a été difficile de reproduire des dépôts de même épaisseur dans nos conditions. Nous avons au final obtenu une augmentation de l'épaisseur passant ainsi de 17 µm à 22 µm. De plus, du fait de la présence de particules, nous avons également noté grâce aux les mesures de rugosité de surface (mesure rms), une augmentation plus importante de ce paramètre passant de 1,3µm à 2,8µm.

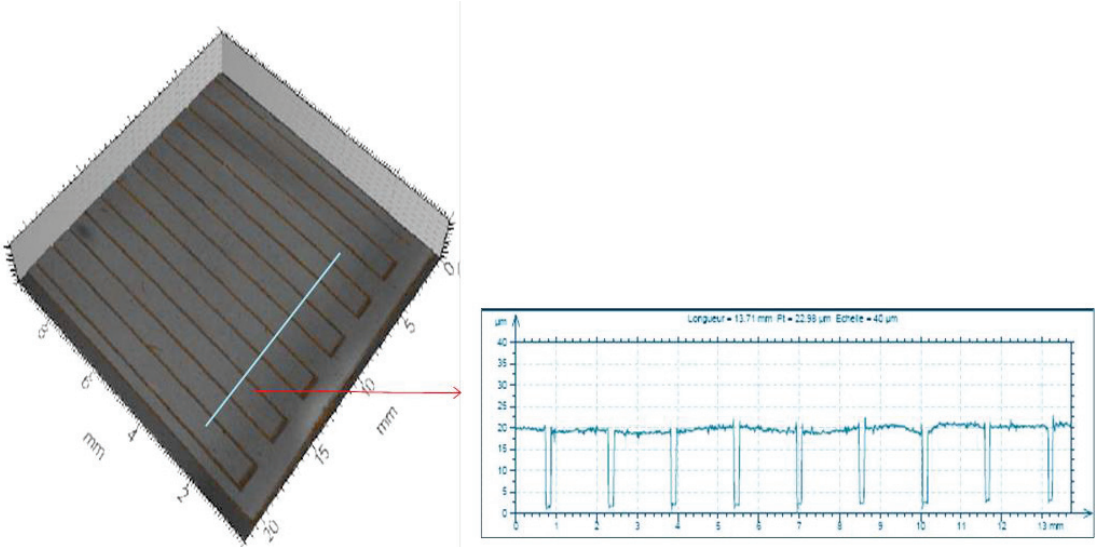


Figure 97*. Image en profilomètrie optique 3D et profil de hauteur correspondant réalisés sur un composite graphite-SU-8 à 18%.*

2. Caractérisations électrochimiques

2.1. Etudes préliminaires

A la suite de cette première expérience nous avons voulu déterminer quel était le comportement électrochimique de ces réalisations. Nous avons alors entamé des mesures par voltammétrie cyclique en utilisant le couple redox classique $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$. La première expérience (**figure 98)** a été réalisée sur trois supports présentant un même motif « photostructuré », un premier support modifié par la résine SU-8 seule, les deux autres étant modifiés par des composites chargés en graphite respectivement à 15% et 18 %. Ces valeurs de charge ont été choisies puisque sur l'étude morphologique, un taux de charge supplémentaire, conduisait à la perte de résolution des motifs.

Les composites utilisés se sont avérés tous deux être conducteurs avec la capacité dès lors de mesurer des courants d'oxydation et de réduction. L'augmentation de la conductivité électrique avec le dopage en particules conductrices suit la théorie de percolation [177]. Celle-ci est basée sur le fait que les dopants, ajoutés à une matrice diélectrique, se lient (aléatoirement) pour former des régions plus conductrices que la moyenne. En augmentant la quantité de dopants, ces régions s'agrandissent et le matériau composite devient alors conducteur lorsqu'un chemin conducteur continu est formé. Cette conduction électrique s'effectue à partir d'une concentration critique de particules chargées appelée seuil de percolation, qui ne nécessite pas forcément de contact entre particules.

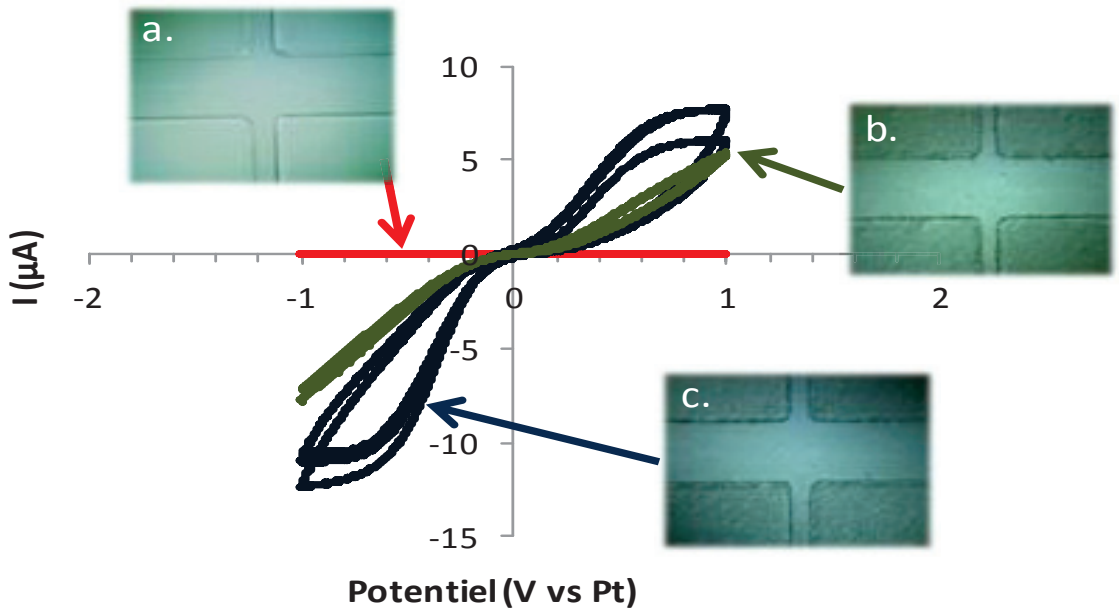


***Figure 98**. Images réalisées en Microscopie optique de supports modifiés par (a) la résine seule, (b) un composite chargé à 15% et (c) un composite chargé à 18%. Le graphique présente le comportement électrochimique de ces trois supports suite à une mesure par voltammétrie cyclique (150 mV.s^{-1}) dans du tampon VBS en présence de 5 mM de $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$*

En effet, la conduction peut se faire par effet tunnel entre particules séparées par une distance de l'ordre de l'Angström. En revanche, cette limite de conduction est extrêmement dépendante de la forme du dopant [178; 179]. Dans notre cas ce seuil se situe aux alentours de 15% puisque c'est à cette valeur qu'une conduction fut observée pour la première fois. L'apparition de pics d'oxydation et de réduction caractéristiques de la présence d'un couple redox est observée pour le composite à 18%, néanmoins la résistivité du composite reste importante, puisque la différence de potentiel, ΔEp (distance inter-pic) est tout de même de 1,2 V.

2.2. Essais de prétraitement des supports

Cette dernière observation nous a conduit à procéder à des prétraitements électrochimiques. L'effet de ces prétraitements sur les propriétés électrochimiques des électrodes sérigraphiées avait déjà été démontré au Laboratoire GEMBAS de l'ICBMS [180]. Il est suggéré que leur mode d'action s'apparente à un décapage des couches organiques superficielles rendant ainsi les particules conductrices plus disponibles et accessibles. Des voltammétries cycliques ont été réalisées en présence du couple redox ferri/ferrocyanure en utilisant une électrode non-traitée ou pré-traitée par du $NaHCO_3$ 1M (**figure 99**). Le prétraitement est réalisé par chrono-ampèrométrie, par application d'un potentiel d'oxydation de +1,2 V sur une durée allant de 5 à 15 minutes devant permettre le passage d'une quantité de courant de 1 mC. Ce traitement a permis une amélioration du transfert électronique puisque la valeur de ΔEp est alors

descendue à 0,7 V mais surtout les intensités de courant sont passées d'après la figure 99 de 10 µA.cm^{-2} à prés de 800 µA.cm^{-2}. Le prétraitement a aussi été étudié par spectroscopie d'impédance (**figure 100**), on a alors observé une modification importante de l'allure du signal mesuré. Si l'on se réfère aux circuits équivalents pouvant être établis à partir de ces courbes, on observe que le système est au départ caractéristique d'une couche plutôt bloquante ou les processus diffusionnels n'interviennent pas, puis suite au traitement, on note une réduction du diamètre de la Rct et l'apparition d'une impédance de Warburg aux plus faibles fréquences.

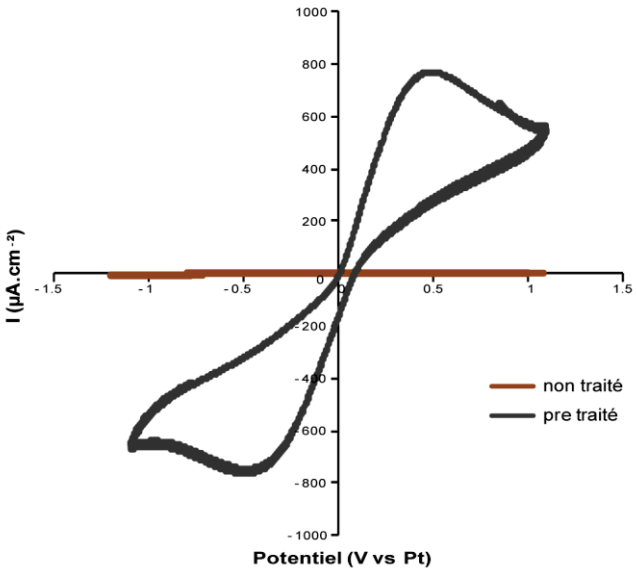


***Figure 99**. Voltammogrammes à 200 mV.s^{-1} dans VBS à 1,5 mM de $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ sur un « photopattern » de composite prétraité ou non.*

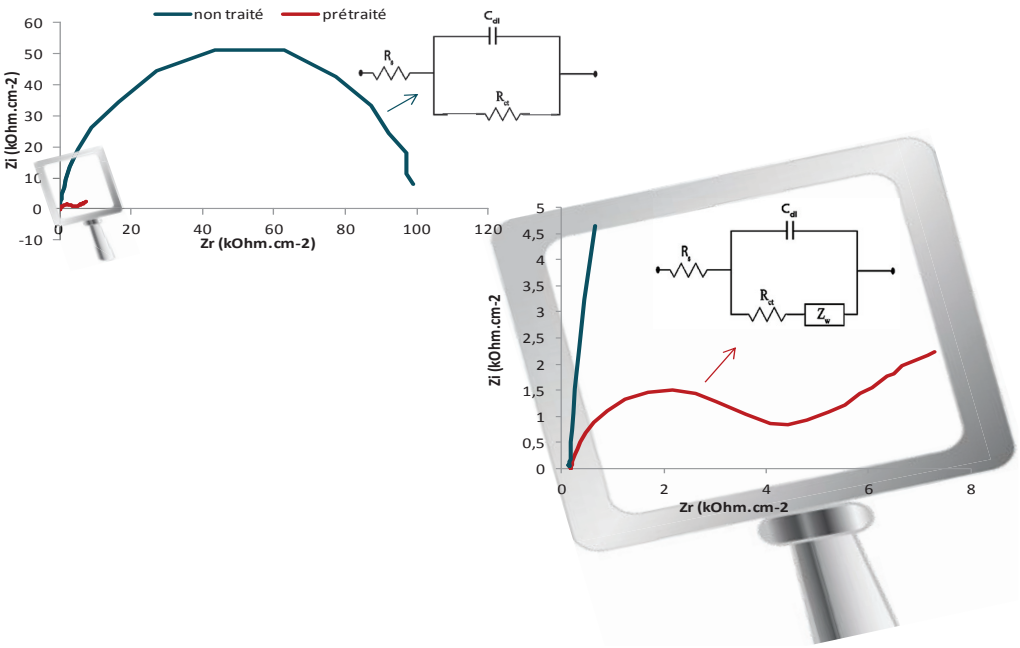
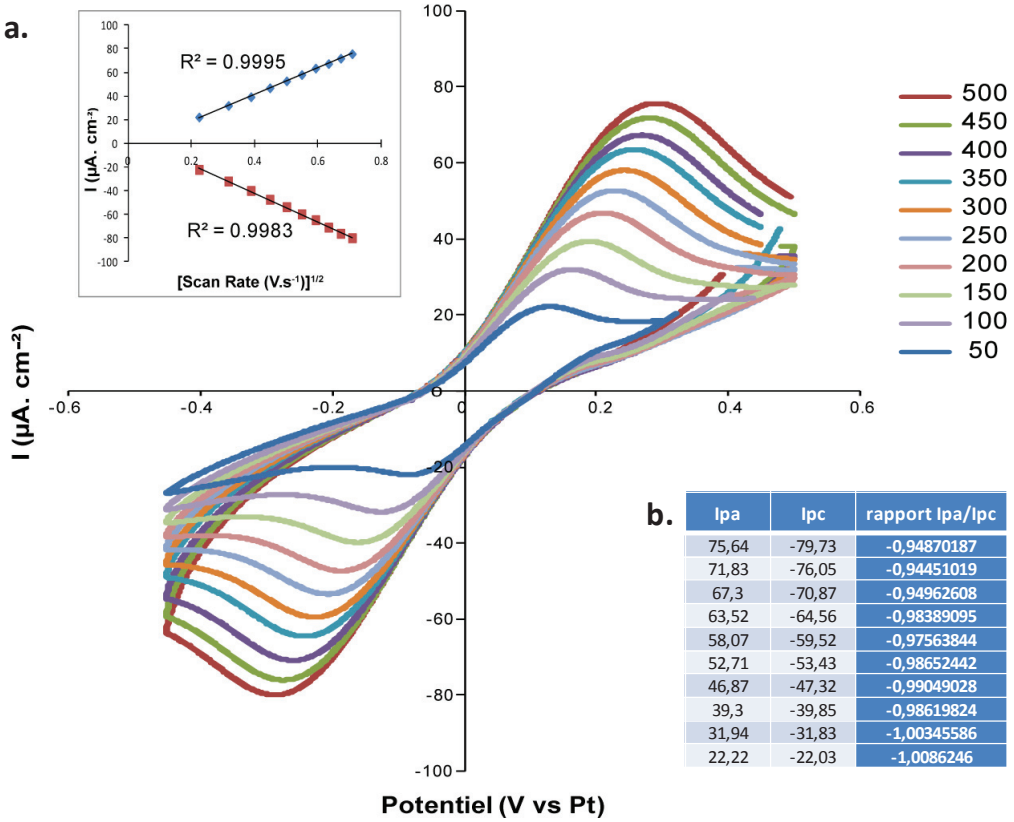


***Figure 100**. Diagrammes d'impédance établis à partir d es supports avant et après prétraitement avec les circuits équivalents correspondants.*

Ces observations démontrent donc que la couche est devenue plus conductrice et que les espèces électro-actives peuvent désormais diffuser au travers de la double couche vers l'interface électrode/solution. Ceci peut être corrélé à l'action du prétraitement qui libère une partie des particules de leur revêtement polymère et crée ainsi des zones plus favorables aux échanges électroniques.

2.3. Caractérisations électrochimiques après prétraitement

Nous avons alors, toujours en utilisant le couple ferri/ferrocyanide, caractérisé électrochimiquement les processus diffusionnels s'opérant à la surface du composite. Selon l'équation de Randles-Sevcik, si le processus d'échange électronique entre les espèces redox diffusant à l'interface et la surface conductrice n'est pas entravé, il est possible d'observer une variation quasi linéaire entre la racine carré de la vitesse de balayage du potentiel et la valeur des intensités des pics de réduction et d'oxydation (**figure 101-a**), ainsi qu'un rapport entre les valeurs des pic d'oxydation et de réduction proche de l'unité (**figure 101-b**). Au regard de ces résultats avec un $r^2 > 0{,}999$, nous pouvons conclure que notre surface est parfaitement conductrice et que les processus diffusionnels à l'interface sont libres.



b.

Ipa	Ipc	rapport Ipa/Ipc
75,64	-79,73	-0,94870187
71,83	-76,05	-0,94451019
67,3	-70,87	-0,94962608
63,52	-64,56	-0,98389095
58,07	-59,52	-0,97563844
52,71	-53,43	-0,98652442
46,87	-47,32	-0,99049028
39,3	-39,85	-0,98619824
31,94	-31,83	-1,00345586
22,22	-22,03	-1,0086246

***Figure 101**. (a) Voltammogrammes dans VBS en présence de 1,5 mM de $Fe(CN)_6]^{3-/4-}$ sur un « photopattern » de composite prétraité à différentes vitesses de balayages (50 à 500 $mV.s^{-1}$. Insert : racine carré de la vitesse de balayage en fonction de l'intensité des pics. (b) Tableau présentant les valeurs des pics de réduction et d'oxydation ainsi que leurs rapport pour chaque valeur de vitesse de balayage.*

3. Fonctionnalisation des supports : greffage de dérivé diazonium

3.1. Détection par marquage chimiluminescent

Une fois établie que le composite présente un caractère conducteur, nous avons tenté d'effectuer comme précédemment un électrogreffage d'oligonucléotides. Cependant, avant cela nous avons évalué la possibilité de greffer des dérivés diazonium en utilisant le 4-BBD. Nous avons alors bien observé (**figure 102**) un pic de réduction au premier cycle à -0,7 V, caractéristique de la réduction de l'ion diazonium et qui disparaît aux cycles suivant indiquant une passivation de la surface conductrice.

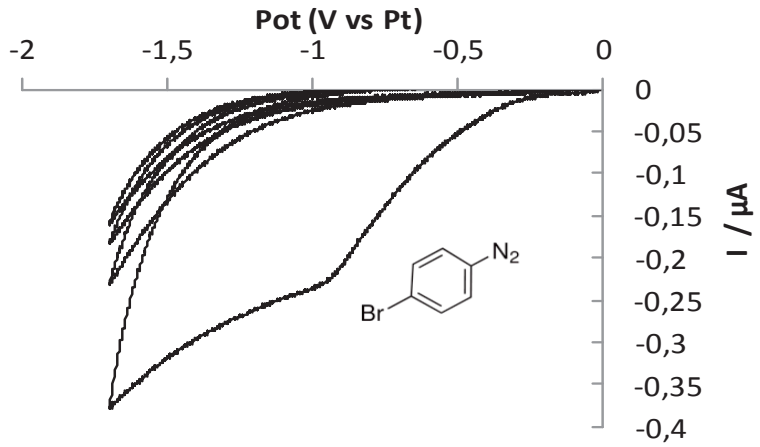


***Figure 102**. Réduction et greffage du 4-bromobenzènediazonium à une concentration de 5mM en solution aqueuse par voltammétrie cyclique à une vitesse de balayage de 200 mV.s^{-1} sur une surface de graphite-SU-8 photopatternée sur un support en verre.*

Afin de réaliser des expériences de greffage en parallèle d'oligonucléotide-ABA, un masque a été élaboré (**figure 103**) permettant de réaliser des supports comportant 8 électrodes de travail.

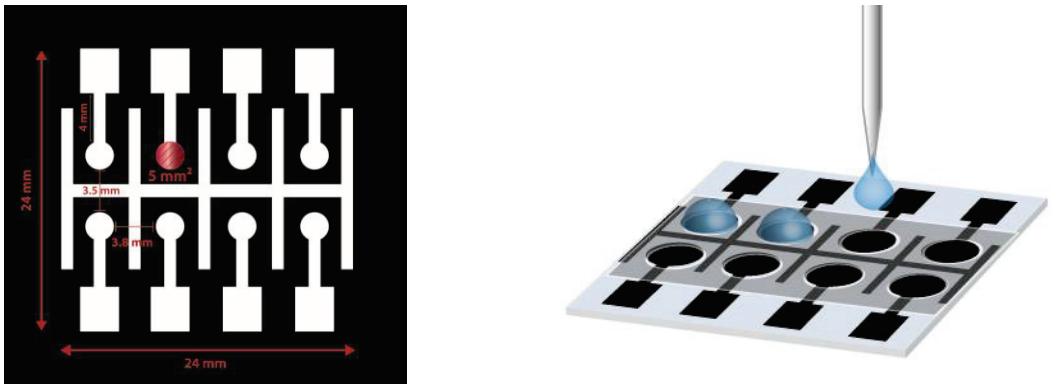


***Figure 103**. (à gauche) masque de 8 électrodes, (à droite) schéma d'un support en verre sur lequel le motif à 8 électrodes a été déposé par photolithographie et qui est prêt à être utilisé pour des mesures.*

Le réseau d'électrodes ainsi généré a permis de réaliser tout d'abord des essais par marquage chimiluminescent pour valider l'électrogreffage du brin sonde. Pour ce faire, une gamme d'hybridation avec un brin complémentaire biotinylé a été utilisée avec des concentrations de cible de 1 nM à 200 nM.

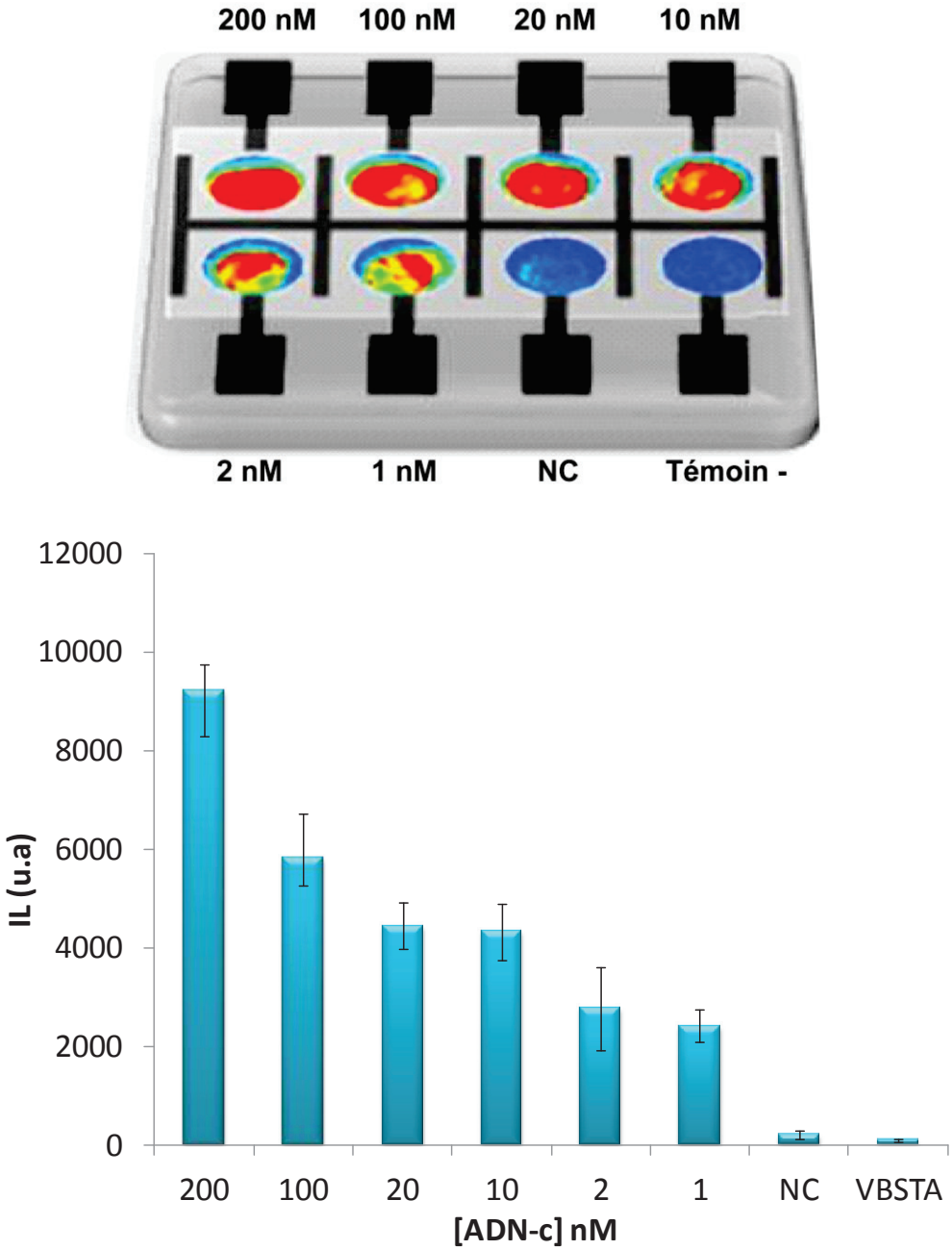


***Figure 104**. (en haut) Image issu des mesures de chimiluminescence grâce à camera CCD, présentant 6 électrodes incubées chacune avec une concentration d'ADN cible biotinylé et 2 électrodes servant de témoin. (l'image de la caméra est superposée à un schéma de l'électrode) ; (en bas) diagramme présentant les intensités de chimiluminescence obtenues à partir de l'image CCD.*

Les résultats présentés figure 104, indiquent clairement que le greffage est effectif et spécifique puisqu'en l'absence de brin complémentaire (témoin -) aucun signal n'est détecté et en présence d'un brin non complémentaire, aucun signal n'est là encore mesuré (NC). De plus, on observe clairement une relation entre l'intensité lumineuse et la concentration d'oligonucléotide cible. Ainsi, pour un dépôt de 35 µL de solution d'oligonucléotides cibles, la limite de détection a été estimée à 0,25 nM, ce qui correspond à environ 5.10^{10} molécules.

3.2. Détection électrochimique par spectroscopie d'impédance

Le comportement des supports lors de greffage d'oligonucléotides et après incubation avec une solution d'ADN cible. Le but était de montrer que le support réagit aux modifications de surface puisque les valeurs de résistance de transfert de charges sont nettement modifiées. La figure 105 présente les résultats obtenus.

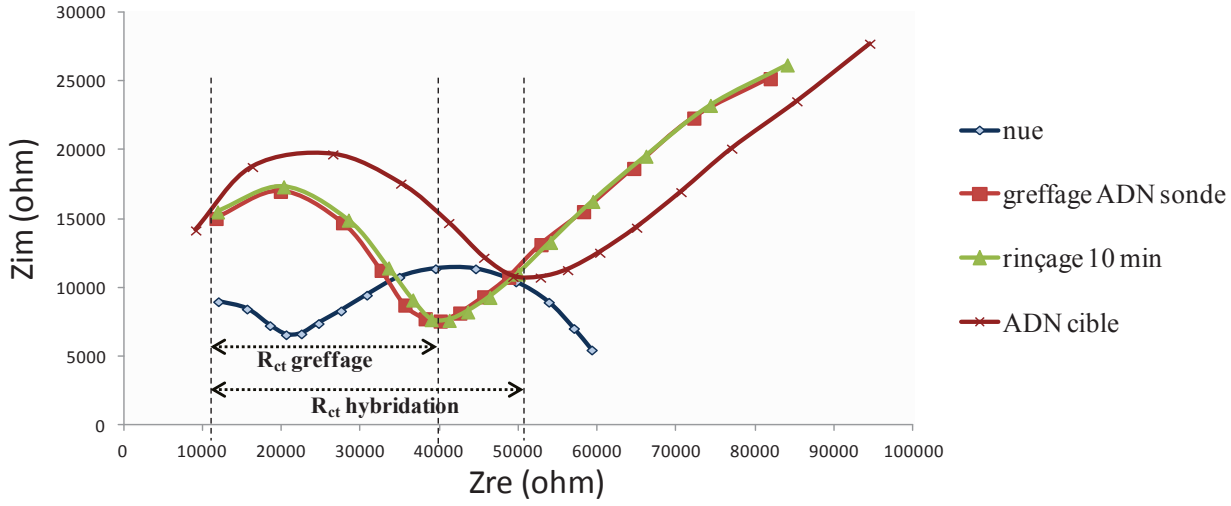
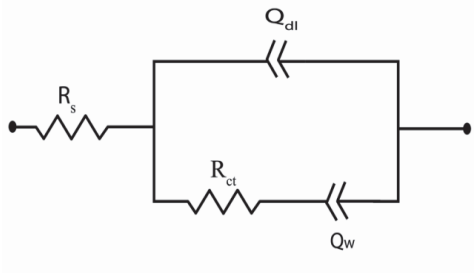


***Figure 105**. Diagrammes de Nyquist réalisé sur l'électrode après greffage d'un oligonucléotide-ABA. Et après une incubation pendant 1 heure à 37°C est réalisée avec une solution à une concentration de 500 nM d'ADN cible dans du tampon VBS. Les résistances de transfert de charges ont été représentées par des flèches.*

Dans la gamme de fréquence de 200 kHz à 20 Hz une modification de l'allure des courbes de Nyquist s'opère suite à l'étape d'électrogreffage. Au départ on observe la présence d'une courbe tendant à former deux demi-cercles puis, l'allure de la courbe est modifiée avec l'apparition d'une partie linéaire aux faibles fréquences, f < 18 kHz, pouvant correspondre à l'impédance dite de Warburg. Cette dernière étant imputée à l'influence des processus diffusionnels des espèces électro-actives c'est-à-dire des ions ou d'autres porteurs de charges à l'interface électrolyte/électrode. L'allure des courbes tend alors vers le modèle de Randles ayant pour circuit équivalent :



Rs : représente la résistance de la solution

Q_{dl} : représente l'élément de phase constant de la double couche

R_{ct} : représente la résistance au transfert de charges

Qw : représente le transfert de masse de l'électrode vers la solution

Les deux composantes R_s (résistance de la solution) et Q_w (impédance de Warburg) représentent respectivement les propriétés de la solution (résistance au passage du courant au sein de la solution) et la cinétique de diffusion des espèces électrolytiques de la solution vers l'électrode. Les autres éléments C_{dl} (capacité électrique de la double couche) et R_{ct} (résistance aux transferts de charges entre solution et support) dépendent eux directement des caractéristiques de l'interface électrode / solution. Ainsi l'arrivée de molécules d'ADN à la surface de l'électrode modifie la résistance de transfert de charges.

L'augmentation de la Rct, après greffage puis après hybridation permet de penser que l'hybridation est effective et que l'augmentation une seconde fois de la Rct est due à la formation d'un double brin. La formation d'une couche d'ADN double brin a ainsi été suivie par spectroscopie d'impédance. D'autres informations apportées par les valeurs de résistance et de capacitance permettent de nous conforter dans notre analyse (**tableau 12**).

Tableau 12. *Détermination des valeurs pour les différents paramètres du circuit équivalent*

	Rs (Ω)	Qdl ($F.s^{-1}$)	n_{dl}	Rct (Ω)	Qw ($F.s^{-1}$)	n_w
Electrode immobilisée	10001	$34,34.10^{-9}$	0,980	34977	$2,7.10^{-6}$	0,315
Electrode hybridée	9700	$91,26.10^{-9}$	0,919	51645	$2,9.10^{-6}$	0,291

En effet la résistance de la solution, Rs, entre les trois mesures reste relativement constante, les variations peuvent provenir de la présence d'impuretés dans la solution de mesure (traces de sels) qui modifie la résistivité de la solution. On remarque que contrairement au circuit équivalent obtenu pour un diagramme de Nyquist idéal, la capacité Cdl est dans ce cas remplacée par un élément de phase constant (Qdl). Ce dernier reflète l'hétérogénéité de la couche sensible [181]. Le circuit équivalent contient un élément de phase constant, ce qui se produit lorsque la surface n'est pas homogène (rugosité, présence d'impuretés, variations de

la composition du revêtement) [182]. C'est justement ce que nous avons évoqué plus haut lors des caractérisations morphologiques. En effet, dans ce cas une capacité n'est pas suffisante pour décrire la double couche. Lorsque le circuit équivalent s'éloigne du modèle classique, on introduit alors un facteur "n" suivant l'équation $Q= (1/j\omega)^n$. Lorsque n=1, alors "Q" est en réalité une capacité pure et quand n=0, "Q" correspond à une résistance. Ce facteur "n" permet d'introduire les couches sensibles formées par l'ADN. Dans notre cas, on remarque que "n" varie entre 0,919 et 0,980, ce qui signifie que la surface de l'électrode n'agit pas comme une capacité mais s'en rapproche. Aussi, il doit exister un courant résiduel circulant au sein de la double couche, probablement dû au fait que la couche formée présente des trous.

Par la suite, nous avons tenté de réaliser une gamme de détection des événements d'hybridation par impédance. Nous avons choisi de nous placer dans des conditions non faradiques afin de n'observer que les variations de capacité et résistance se produisant à l'interface électrode/solution, c'est-à-dire aux hautes fréquences. Pour la détermination des valeurs de résistance, le circuit équivalent a été déterminé en utilisant le logiciel (EcLab) du potentiostat. La **figure 106**, résume les variations de Rct pour chaque concentration utilisée sachant que chaque concentration correspond à une des électrodes du réseau puisque nous avons utilisé le même principe que la mesure de luminescence.

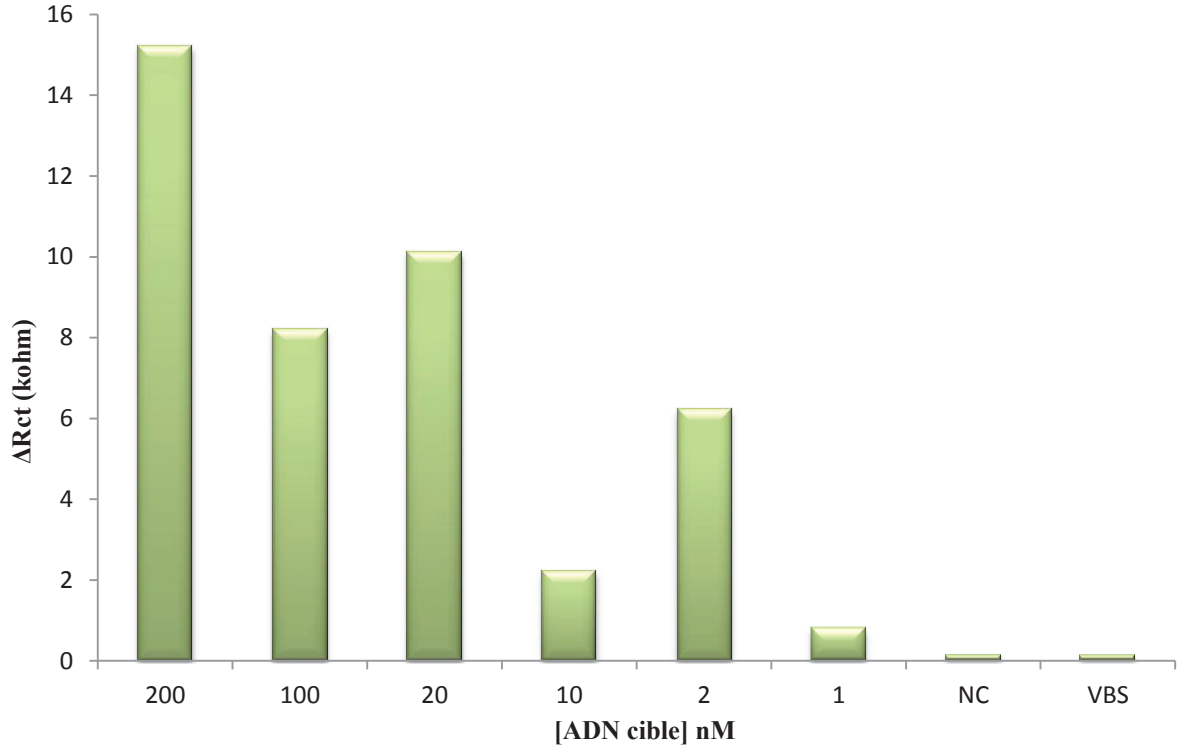


***Figure 106**. Histogramme présentant les variations mesurées entre la Rct après greffage et après hybridation pour chaque concentration utilisée.*

Une tendance semble de dégager puisque le NC et le témoin négatif n'entrainent tout deux aucune variation de la Rct et que malgré les points à 100 nM, 10 nM et 1 nM, une réponse en fonction de la concentration se dessine. Ces mesures reflètent uniquement l'impossibilité de discriminer les mesures faites sur un réseau d'électrodes, du fait de la trop importante variabilité entre elles. En effet, si l'on observe les valeurs d'intensité de courant (**figure 107**) enregistrées lors des greffages des oligonucléotides sondes, on observe nettement une variabilité de la conductivité de chaque électrode.

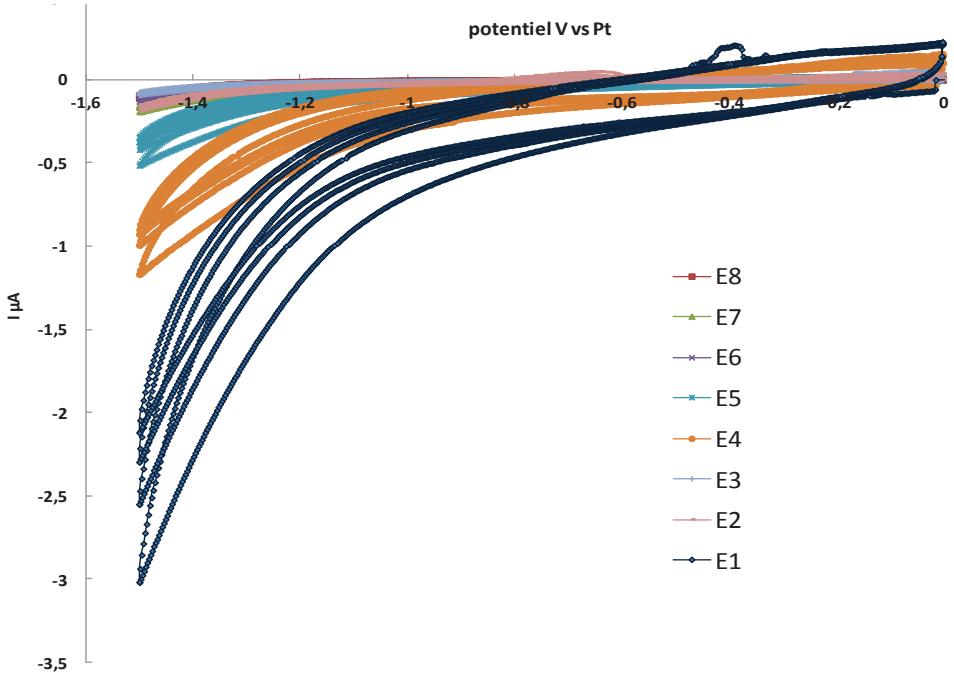


Figure 107. *Courbes de courant mesurées lors du greffage pour chacune des 8 électrodes (E1 à E8).*

Malheureusement nous n'avons pu pousser davantage notre étude sur ce matériau, mais nous pensons que ces problèmes peuvent être résolus par une optimisation des dépôts et un choix de motif de réseau d'électrodes circulaires qui permettrait de réduire le nombre d'étapes puisque le dépôt de la solution de mesure pourrait s'effectuer communément à toutes les électrodes, ces dernières se retrouveraient ainsi toute à équidistance des électrodes de référence et contre électrode.

Conclusion-Perspectives

Le travail qui a été présenté dans ce manuscrit a répondu en partie aux objectifs initiaux que nous nous étions fixés. Il a permis d'une part l'obtention de composites semi-conducteurs et conducteurs et d'autre part la réalisation d'électrodes à partir de ces composites par les méthodes de sérigraphie et *spin coating*.

Dans le cas des composites semi-conducteurs, il est apparu qu'il était possible de générer des matériaux hybrides originaux grâce à l'intégration de nano-objets semi-conducteurs (silicium ou oxydes métalliques) dans des proportions contrôlées au sein d'une matrice polymére époxyde, ce qui a abouti à une encre répondant aux critères d'utilisation pour la sérigraphie. Des réseaux d'électrodes d'épaisseur micrométrique ont ainsi pu être obtenus en moins d'une heure de temps et à température ambiante. Ces électrodes présentent des réponses électrochimiques spécifiques de semi-conducteurs, avec de plus la possibilité en fonction du type d'inclusion, de discriminer entre les deux grands types de semi-conducteurs à savoir n et p. Néanmoins, la fonctionnalisation de ces électrodes n'a pu être achevée efficacement, un travail d'optimisation des dépôts doit encore être mené afin d'améliorer la qualité des greffages et concernant le silicium, les étapes de fonctionnalisation du poreux devront être étudiées, tout particulièrement afin de permettre une densité de greffage accrue et une réduction des pertes de matériels lors des étapes de récupération. Suite à cela, une autre difficulté causée par une instabilité des paramètres électrochimiques que sont, le potentiel de bande plate et la capacité, a été rencontré lors des essais de détection électrochimique des

événements d'hybridation de brins d'oligonucléotides complémentaires. Il faudra donc développer un protocole permettant de discriminer des signaux de manière significative sur de faibles variations de concentrations d'ADN, ou alors, envisager non plus une détection électrochimique mais l'utilisation des propriétés optiques des semi-conducteurs, à savoir leur photoluminescence. Il serait alors envisageable d'utiliser cette propriété afin de suivre les modifications et traitements de surface apportés à ce type de composites.

Concernant les composites conducteurs photopolymérisables, la capacité à développer des électrodes au motif désiré, de manière rapide et simple, a été démontrée au travers de nos différentes réalisations. Il a également été montré que ces supports affichaient des réponses électrochimiques stables. Ils ont démontré la possibilité d'utiliser l'électrogreffage de biomolécules comme technique d'immobilisation, permettant ainsi de réduire le nombre d'étape, avec une réduction du temps de préparation total à une vingtaine de minutes. Par la suite des mesures par marquage chimiluminescent ont attesté de l'efficacité du greffage ainsi que la capacité à mesurer des événements d'hybridation de manière spécifique sur une gamme de concentration de molécules sondes allant de 1 nM à 200 nM. Par la suite, la détection électrochimique par spectroscopie d'impédance a été menée, elle a permis la détection du greffage d'oligonucléotides modifiés par une aniline et l'hybridation avec leur brin complémentaire en mesurant les augmentations de la résistance de transfert de charge à chaque étape. Néanmoins, la grande variabilité entre les électrodes n'a pas permis la réalisation d'une gamme de détection. Malgré tout, la méthode de détection électrochimique, en association avec des méthodes d'immobilisation basées sur l'adressage électrochimique de biomolécules, apparaît comme un formidable outil, d'une part, grâce à la possibilité de détecter des événements d'hybridation sans marquage et de manière rapide, et d'autre part de pouvoir adresser spécifiquement et individuellement chaque électrode d'un réseau, en contrôlant simplement l'application d'un potentiel aux bornes de chaque électrode. De plus, ces réseaux d'électrodes sont compatibles avec les techniques de productions industrielles actuelles et offrent alors un avantage certain. Cette méthode ouvre aussi la voie à l'utilisation d'autres types de biomolécules telles que les enzymes, les anticorps, les aptamères.

D'autre part, l'émergence des laboratoires sur puce ou microsystèmes d'analyse reposent sur la capacité à manipuler de très petits volumes de fluides. Cette capacité passe par le développement des systèmes microfluidiques permettant d'acheminer des solutions et de créer des compartiments afin d'effectuer différents types d'analyses sur une même puce. Dans ce domaine, le SU-8 est déjà utilisé. Il serait donc sérieusement envisageable d'adapter notre composite conducteur au développement de réseaux fluidiques. En effet, la propriété électrique de ce composite permettrait de répondre à plusieurs fonctions exprimées au sein des dispositifs types laboratoire sur puce, telles que les fonctions de détection et d'analyse pouvant être réalisées par électrochimie et surtout la manipulation des fluides (phénomène

électro-hydrodynamique) et des nano-objets (phénomène électrocinétique). De plus, l'application d'un champ électrique dans un canal microfluidique requiert l'intégration de microélectrodes, le plus souvent de type métalliques ou silicium. Cette intégration est souvent le facteur limitant et contraignant de la réalisation de tels dispositifs puisque les procédés de réalisation sont souvent coûteux et complexes avec également des risques concernant l'étanchéité du système.
Il est vrai que les systèmes microfluidiques sont classiquement réalisés en PDMS, un élastomère pouvant être collé sur du verre et du silicium mais pas sur des métaux ou du carbone. Il est alors nécessaire d'utiliser des moyens extérieurs de compression pouvant endommager le dispositif et rendre sa manipulation difficile. De plus, des fuites de liquide peuvent apparaître entre l'électrode et le polymère lorsque des pressions sont appliquées dans le microsystème. On notera que le PDMS peut être collé de manière étanche sur silicium, mais à condition que celui-ci soit oxydé, ce qui peut limiter sa fonction même d'électrode. Nous proposons alors d'utiliser les résines SU-8 comme matériau pour la réalisation d'un système fluidique complet puisque les épaisseurs peuvent être modulées en fonction du choix des résines, ainsi l'on pourrait réaliser des zones conductrices et non conductrices sans se soucier de la compatibilité entre les matériaux et surtout réaliser des systèmes présentant une meilleure étanchéité.

D'un point de vue des applications, ceci permettrait par exemple de réaliser des canaux aux parois conductrices pour les dispositifs d'électrophorèse, qui est l'une des principales méthodes de séparation de biomolécules.

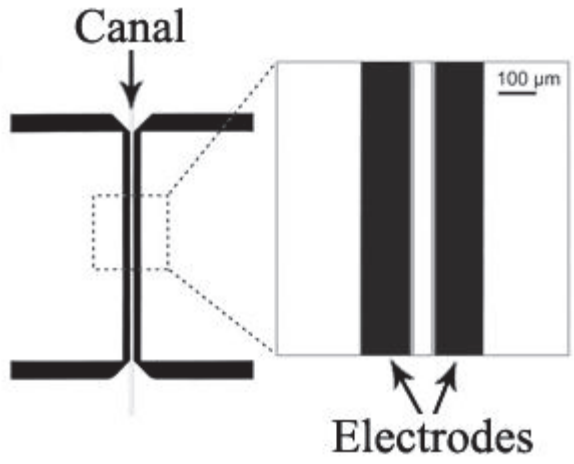


***Figure 108**. Schéma de principe de la réalisation d'un système microfluidique tout SU-8*

D'un point de vue économique également, la diminution des coûts de production de biocapteurs étant devenu un enjeu majeur, nos composites se placeraient ici comme une réponse possible.

- Références bibliographiques -

[1] E. Souteyrand, J.P. Cloarec, J.R. Martin, C. Wilson, I. Lawrence, S. Mikkelsen, and M.F. Lawrence, Direct Detection of the Hybridization of Synthetic Homo-Oligomer DNA Sequences by Field Effect. The Journal of Physical Chemistry B 101 (1997) 2980-2985.

[2] L.C.J. Clark, and Lyons, C., Electrode systems for continuous monitoring in cardiovascular surgery. Ann. NY Acad. Sci. 102 (1962) 29-45.

[3] B.P. Corgier, S. Bellon, M. Anger-Leroy, L.J. Blum, and C.A. Marquette, Protein-Diazonium Adduct Direct Electrografting onto SPRi-Biochip. Langmuir 25 (2009) 9619-9623.

[4] B.P. Corgier, C.A. Marquette, and L.J. Blum, Screen-printed electrode microarray for electrochemiluminescent measurements. Analytica Chimica Acta 538 (2005) 1-7.

[5] B.P. Corgier, C.A. Marquette, and L.c.J. Blum, Direct electrochemical addressing of immunoglobulins: Immuno-chip on screen-printed microarray. Biosensors and Bioelectronics 22 (2007) 1522-1526.

[6] T. Belmonte, Dépôts chimiques à partir d'une phase gazeuse Techniques de l'ingénieur M1660 (2010).

[7] L.I. Burova, S.V. Samoilenkov, M. Fonin, E. Biegger, Y. Dedkov, E.A. Ganshina, O.Y. Gorbenko, U. Rüdiger, and A.R. Kaul, Room temperature ferromagnetic (Zn,Co)O epitaxial films obtained by low-temperature MOCVD process. Thin Solid Films 515 (2007) 8490-8494.

[8] C. Satriano, M.E. Fragala , and Y. Aleeva, Ultrathin and nanostructured ZnO-based films for fluorescence biosensing applications. Journal of Colloid and Interface Science 365 (2011) 90-96.

[9] D. Liu, and H. Chen, Low-temperature preparation of perovskite Pb(Sc0.5Ta0.5)O3 thin films using MOCVD. Materials Letters 28 (1996) 17-20.

[10] Z. Li, Y. Jiang, T. Yu, Z. Yang, Y. Tao, C. Jia, Z. Chen, Z. Yang, and G. Zhang, Analyses of surface temperatures on patterned sapphire substrate for the growth of GaN with metal organic chemical vapor deposition. Applied Surface Science 257 (2011) 8062-8066.

[11] L. Kong, J. Ma, C. Luan, and Z. Zhu, Structural and optical properties of Ga(2)O(3):In films deposited on MgO (100) substrates by MOCVD. Journal of Solid State Chemistry 184 (2011) 1946-1950.

[12] A.M. Mahajan, L.S. Patil, J.P. Bange, and D.K. Gautam, Growth of SiO films by TEOS-PECVD system for microelectronics applications. Surface and Coatings Technology 183 (2004) 295-300.

[13] K.H. Baik, P.Y. Park, B. Luo, K.P. Lee, J.H. Shin, C.R. Abernathy, W.S. Hobson, S.J. Pearton, and F. Ren, Effect of PECVD of SiO2 passivation layers on GaN and InGaP. Solid-State Electronics 45 (2001) 2093-2096.

[14] G. Santana, and A. Morales-Acevedo, Optimization of PECVD SiN:H films for silicon solar cells. Solar Energy Materials and Solar Cells 60 (2000) 135-142.

[15] J. Schmidt, and M. Kerr, Highest-quality surface passivation of low-resistivity p-type silicon using stoichiometric PECVD silicon nitride. Solar Energy Materials and Solar Cells 65 (2001) 585-591.

[16] F.T. Wallenberger, P.C. Nordine, and M. Boman, Inorganic fibers and microstructures directly from the vapor phase. Composites Science and Technology 51 (1994) 193-212.

[17] H. Westberg, M. Boman, A.-S. Norekrans, and J.-O. Carlsson, Carbon growth by thermal laser-assisted chemical vapour deposition. Thin Solid Films 215 (1992) 126-133.

[18] S. Bakalova, A. Szekeres, A. Cziraki, C.P. Lungu, S. Grigorescu, G. Socol, E. Axente, and I.N. Mihailescu, Influence of in situ nitrogen pressure on crystallization of pulsed laser deposited AlN films. Applied Surface Science 253 (2007) 8215-8219.

[19] S.A. Chambers, Epitaxial growth and properties of thin film oxides. Surface Science Reports 39 (2000) 105-180.
[20] H.M. Ng, D. Doppalapudi, D. Korakakis, R. Singh, and T.D. Moustakas, MBE growth and doping of III-V nitrides. Journal of Crystal Growth 189-190 (1998) 349-353.
[21] S. Grachev, D.M. Borsa, S. Vongtragool, and D.O. Boerma, The growth of epitaxial iron nitrides by gas flow assisted MBE. Surface Science 482-485 (2001) 802-808.
[22] J.R. Arthur, Molecular beam epitaxy. Surface Science 500 (2002) 189-217.
[23] A. Simon, and Z. Kántor, Micro-RBS characterisation of the chemical composition and particulate deposition on pulsed laser deposited Si1-xGex thin films. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms 190 (2002) 351-356.
[24] K. Sturm, S. Fähler, and H.-U. Krebs, Pulsed laser deposition of metals in low pressure inert gas. Applied Surface Science 154-155 (2000) 462-466.
[25] M. Strikovski, and J.H. Miller, Pulsed laser deposition of oxides: Why the optimum rate is about 1 angstrom per pulse. Applied Physics Letters 73 (1998) 1733-1735.
[26] F. Schlenkrich, S. Seyffarth, B. Fuchs, and H.-U. Krebs, Pulsed laser deposition of polymer-metal nanocomposites. Applied Surface Science 257 (2011) 5362-5365.
[27] T.P. Niesen, and M.R. De Guire, Review: deposition of ceramic thin films at low temperatures from aqueous solutions. Solid State Ionics 151 (2002) 61-68.
[28] P. Peshev, I. Stambolova, S. Vassilev, P. Stefanov, V. Blaskov, K. Starbova, and N. Starbov, Spray pyrolysis deposition of nanostructured zirconia thin films. Materials Science and Engineering B-Solid State Materials for Advanced Technology 97 (2003) 106-110.
[29] C. Haiyong, and et al., A general method for fabricating nanorods. Nanotechnology 17 (2006) 3144.
[30] J.D. MacKenzie, Sol-gel research - Achievements since 1981 and prospects for the future. Journal of Sol-Gel Science and Technology 26 (2003) 23-27.
[31] L.F. Francis, Sol-Gel Methods for Oxide Coatings. Materials and Manufacturing Processes 12 (1997) 963-1015.
[32] M. Wang, S.H. Hahn, J.S. Kim, S.H. Hong, K.-K. Koo, and E.J. Kim, Chemical bath deposition of textured ZnO thin films in aqueous/ethanolic solution. Materials Letters 62 (2008) 4532-4534.
[33] H. Chen, W. Li, H. Liu, and L. Zhu, A suitable deposition method of CdS for high performance CdS-sensitized ZnO electrodes: Sequential chemical bath deposition. Solar Energy 84 (2010) 1201-1207.
[34] K. Jacobs, D. Balitsky, P. Armand, and P. Papet, Low-temperature chemical bath deposition of crystalline ZnO. Solid State Sciences 12 (2010) 333-338.
[35] Z.J. Yan, D.W. Zeng, C.S. Xie, H.H. Wang, and W.L. Song, Nanostructured ZnO network films deposited on Al2O3 substrates by chemical bath deposition. Thin Solid Films 517 (2009) 1541-1545.
[36] C. Sanchez, B. Lebeau, F. Chaput, and J.P. Boilot, Optical properties of functional hybrid organic-inorganic nanocomposites. Advanced Materials 15 (2003) 1969-1994.
[37] C.J. Brinker, Better ceramics through chemistry - an overview of sol-gel technology. Abstracts of Papers of the American Chemical Society 200 (1990) 217-COLL.
[38] C.J. Brinker, A.J. Hurd, G.C. Frye, K.J. Ward, and C.S. Ashley, sol-gel thin-film formation. Journal of Non-Crystalline Solids 121 (1990) 294-302.
[39] W.L. Warren, P.M. Lenahan, C.J. Brinker, C.S. Ashley, and S.T. Reed, deposition of high-quality sol-gel oxides on silicon. Journal of Electronic Materials 19 (1990) 425-428.
[40] M. Carpineti, and M. Giglio, transition from semiorder to disorder in the aggregation of dense colloidal solutions (vol 70, pg 3828, 1993). Physical Review Letters 71 (1993) 656-656.
[41] M. Carpineti, and M. Giglio, transition from semiorder to disorder in the aggregation of dense colloidal solutions. Physical Review Letters 70 (1993) 3828-3831.

[42] A. Gaudon, A. Dauger, A. Lecomte, B. Soulestin, and R. Guinebretiere, Phase separation in sol-gel derived ZrO2-SiO2 nanostructured materials. Journal of the European Ceramic Society 25 (2005) 283-286.
[43] G.D. Wilcox, Milan Paunovic and Mordechay Schlesinger, Fundamentals of Electrochemical Deposition. . Journal of Applied Electrochemistry 29 (1999) 1139-1140.
[44] L. Daniel, Electrodeposition of semiconductors. Thin Solid Films 487 (2005) 40-48.
[45] T. Pauporté, and D. Lincot, Electrodeposition of semiconductors for optoelectronic devices: results on zinc oxide. Electrochimica Acta 45 (2000) 3345-3353.
[46] Y. Leprince-Wang, A. Yacoubi-Ouslim, and G.Y. Wang, Structure study of electrodeposited ZnO nanowires. Microelectronics Journal 36 (2005) 625-628.
[47] S. Peulon, and D. Lincot, Mechanistic Study of Cathodic Electrodeposition of Zinc Oxide and Zinc Hydroxychloride Films from Oxygenated Aqueous Zinc Chloride Solutions. Journal of The Electrochemical Society 145 (1998) 864-874.
[48] D. Pradhan, and K.T. Leung, Controlled growth of two-dimensional and one-dimensional ZnO nanostructures on indium tin oxide coated glass by direct electrodeposition. Langmuir 24 (2008) 9707-9716.
[49] J. Elias, R. Tena-Zaera, and C. Levy-Clement, Electrochemical deposition of ZnO nanowire arrays with tailored dimensions. Journal of Electroanalytical Chemistry 621 (2008) 171-177.
[50] B. Postels, A. Bakin, H.H. Wehmann, M. Suleiman, T. Weimann, P. Hinze, and A. Waag, Electrodeposition of ZnO nanorods for device application. Applied Physics A: Materials Science & Processing 91 (2008) 595-599.
[51] M. Fahoume, O. Maghfoul, M. Aggour, B. Hartiti, F. ChraÃ¯bi, and A. Ennaoui, Growth and characterization of ZnO thin films prepared by electrodeposition technique. Solar Energy Materials and Solar Cells 90 (2006) 1437-1444.
[52] T. Mouet, T. Devers, A. Telia, Z. Messai, V. Harel, K. Konstantinov, I. Kante, and M.T. Ta, Growth and characterization of thin ZnO films deposited on glass substrates by electrodeposition technique. Applied Surface Science 256 (2010) 4114-4120.
[53] Y.-L. Loo, R.L. Willett, K.W. Baldwin, and J.A. Rogers, Interfacial Chemistries for Nanoscale Transfer Printing. Journal of the American Chemical Society 124 (2002) 7654-7655.
[54] L.N. Nagy, N. Abraham, O. Sepsi, E. Hild, D. Cot, A. Ayral, and Z. Horvoelgyi, Complex Langmuir-Blodgett Films of SiO2 and ZnO Nanoparticles with Advantageous Optical and Photocatalytical Properties. Langmuir 24 (2008) 12575-12580.
[55] A. Hayat, L. Barthelmebs, A. Sassolas, and J.-L. Marty, An electrochemical immunosensor based on covalent immobilization of okadaic acid onto screen printed carbon electrode via diazotization-coupling reaction. Talanta 85 513-518.
[56] B. Ismail, M. Abaab, and B. Rezig, Structural and electrical properties of ZnO films prepared by screen printing technique. Thin Solid Films 383 (2001) 92-94.
[57] B.D. Leca, A.M. Verdier, and L..J. Blum, Screen-printed electrodes as disposable or reusable optical devices for luminol electrochemiluminescence. Sensors and Actuators B: Chemical 74 (2001) 190-193.
[58] C.A. Marquette, E. Imbert-Laurenceau, F. Mallet, C. Chaix, B. Mandrand, and L.c.J. Blum, Electroaddressed immobilization of recombinant HIV-1 P24 capsid protein onto screen-printed arrays for serological testing. Analytical Biochemistry 340 (2005) 14-23.
[59] R. Ota, S. Seki, Y. Sawada, M. Ogawa, T. Nishide, A. Shida, and M. Ide, Indium-tin-oxide films prepared by dip coating using an ethanol solution of indium chloride and tin chloride. Surface and Coatings Technology 169-170 (2003) 521-524.
[60] T.D. Reynolds, S.K. Kalpathy, S. Kumar, and L.F. Francis, Dip coating of charged colloidal suspensions onto substrates with patterned wettability: Coating regime maps. Journal of Colloid and Interface Science 352 (2010) 202-210.
[61] B. Gautheron, M. Labeau, G. Delabouglise, and U. Schmatz, Undoped and Pd-doped SnO2 thin films for gas sensors. Sensors and Actuators B: Chemical 16 (1993) 357-362.

[62] J. Dutta, P. Roubeau, T. Emeraud, J.-M. Laurent, A.s. Smith, F.o. Leblanc, and J.r.m. Perrin, Application of pyrosol deposition process for large-area deposition of fluorine-doped tin dioxide thin films. Thin Solid Films 239 (1994) 150-155.

[63] P. Veluchamy, M. Tsuji, T. Nishio, T. Aramoto, H. Higuchi, S. Kumazawa, S. Shibutani, J. Nakajima, T. Arita, H. Ohyama, A. Hanafusa, T. Hibino, and K. Omura, A pyrosol process to deposit large-area SnO2:F thin films and its use as a transparent conducting substrate for CdTe solar cells. Solar Energy Materials and Solar Cells 67 (2001) 179-185.

[64] J.P. Metters, R.O. Kadara, and C.E. Banks, New directions in screen printed electroanalytical sensors: an overview of recent developments. Analyst 136 (2011) 1067-1076.

[65] O. Dominguez Renedo, M.A. Alonso-Lomillo, and M.J. Arcos Martinez, Recent developments in the field of screen-printed electrodes and their related applications. Talanta 73 (2007) 202-219.

[66] H. Li, J. Li, Z. Yang, Q. Xu, and X. Hu, A Novel Photoelectrochemical Sensor for the Organophosphorus Pesticide Dichlofenthion Based on Nanometer-Sized Titania Coupled with a Screen-Printed Electrode. Analytical Chemistry 83 (2011) 5290-5295.

[67] X.T. Sui, T. Zeng, G.C. Yin, H. Cheng, and X.J. Zhao, CdS-sensitized solar cell based on screen-printed TiO(2) nanoporous electrode. Optoelectronics and Advanced Materials-Rapid Communications 5 (2011) 220-223.

[68] S. Siengchin, J. Karger-Kocsis, and R. Thomann, Alumina-filled polystyrene micro- and nanocomposites prepared by melt mixing with and without latex precompounding: Structure and properties. Journal of Applied Polymer Science 105 (2007) 2963-2972.

[69] B.J. Ash, D.F. Rogers, C.J. Wiegand, L.S. Schadler, R.W. Siegel, B.C. Benicewicz, and T. Apple, Mechanical properties of Al2O3/polymethylmethacrylate nanocomposites. Polymer Composites 23 (2002) 1014-1025.

[70] P.P. Jeeju, A.M. Sajimol, V.G. Sreevalsa, S.J. Varma, and S. Jayalekshmi, Size-dependent optical properties of transparent, spin-coated polystyrene/ZnO nanocomposite films. Polymer International 60 (2011) 1263-1268.

[71] R. Le Dantec, J. Teyssier, C. Galez, Y. Mugnier, J. Bouillot, and J.C. Plenet, Orientation of LiIO3 nanocrystals in laponite matrix for periodically structured non-linear waveguides. Ferroelectrics 320 (2005) 493.

[72] J. Teyssier, R. Le Dantec, C. Galez, Y. Mugnier, J. Bouillot, and J.C. Plenet, LiIO3/SiO2 nanocomposite for quadratic non-linear optical applications. Journal of Non-Crystalline Solids 341 (2004) 152-156.

[73] F. Alvi, M.K. Ram, P.A. Basnayaka, E. Stefanakos, Y. Goswami, and A. Kumar, Graphene polyethylenedioxythiophene conducting polymer nanocomposite based supercapacitor. Electrochimica Acta 56 (2011) 9406–9412.

[74] A.N. Ananth, S.C.G.K. Daniel, T.A. Sironmani, and S. Umapathi, PVA and BSA stabilized silver nanoparticles based surface-enhanced plasmon resonance probes for protein detection. Colloids and Surfaces B-Biointerfaces 85 (2011) 138-144.

[75] A. Massaro, F. Spano, R. Cingolani, and A. Athanassiou, Experimental Optical Characterization and Polymeric Layouts of Gold PDMS Nanocomposite Sensor for Liquid Detection. Ieee Sensors Journal 11 (2011) 1780-1786.

[76] S. Sinha Ray, and M. Okamoto, Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. Progress in Polymer Science 28 (2003) 1539-1641.

[77] S. Uchida, A. Martinez, Y.-W. Song, T. Ishigure, and S. Yamashita, Carbon nanotube-doped polymer optical fiber. Opt. Lett. 34 (2009) 3077-3079.

[78] Q.F. Cheng, J.P. Wang, J.J. Wen, C.H. Liu, K.L. Jiang, Q.Q. Li, and S.S. Fan, Carbon nanotube/epoxy composites fabricated by resin transfer molding. Carbon 48 (2009) 260-266.

[79] Z. Spitalsky, D. Tasis, K. Papagelis, and C. Galiotis, Carbon nanotube - polymer composites: Chemistry, processing, mechanical and electrical properties. Progress in Polymer Science 35 (2010) 357-401.

[80] A. Star, J.F. Stoddart, D. Steuerman, M. Diehl, A. Boukai, E.W. Wong, X. Yang, S.-W. Chung, H. Choi, and J.R. Heath, Preparation and Properties of Polymer-Wrapped Single-Walled Carbon Nanotubes. Angewandte Chemie International Edition 40 (2001) 1721-1725.

[81] Q.X. Dong, C. Gao, Y.F. Ding, F. Wang, B. Wen, S.M. Zhang, T.X. Wang, and M.S. Yang, A Polycarbonate/Magnesium Oxide Nanocomposite with High Flame Retardancy. Journal of Applied Polymer Science 123 (2012) 1085-1093.

[82] S.-E. Lee, O. Choi, and H.T. Hahn, Microwave properties of graphite nanoplatelet/epoxy composites. Journal of Applied Physics 104 (2008) 033705-7.

[83] S.O. Konorov, D.A. Akimov, A.A. Ivanov, M.V. Alfimov, S.V. Zabotnov, D.A. Sidorov-Biryukov, A.B. Fedotov, A.A. Podshivalov, L. Fornarini, M. Carpanese, M. Avella, M.E. Errico, R. Fantoni, and A.M. Zheltikov, Anomalous behavior of the second and third harmonics generated by femtosecond Cr:forsterite laser pulses in SiC–polymer nanocomposite materials as functions of the SiC nanopowder content. Journal of Raman Spectroscopy 34 (2003) 999-1006.

[84] M. Sato, A. Kawata, S. Morito, Y. Sato, and I. Yamaguchi, Preparation and properties of polymer/zinc oxide nanocomposites using functionalized zinc oxide quantum dots. European Polymer Journal 44 (2008) 3430-3438.

[85] E. Gallo, B. Schartel, U. Braun, P. Russo, and D. Acierno, Fire retardant synergisms between nanometric Fe(2)O(3) and aluminum phosphinate in poly(butylene terephthalate). Polymers for Advanced Technologies 22 2382-2391.

[86] H.M. Lewkowitz-Shpuntoff, M.C. Wen, A. Singh, N. Brenner, R. Gambino, N. Pernodet, R. Isseroff, M. Rafailovich, and J. Sokolov, The effect of organo clay and adsorbed FeO3 nanoparticles on cells cultured on Ethylene Vinyl Acetate substrates and fibers. Biomaterials 30 (2009) 8-18.

[87] R. Xu, E. Manias, A.J. Snyder, and J. Runt, Low permeability biomedical polyurethane nanocomposites. Journal of Biomedical Materials Research Part A 64A (2003) 114-119.

[88] S. Takatani, and T. Sakamoto, Mechanical circulatory support devices for bridge to heart transplantation, bridge to recovery, or destination therapy. Journal of Artificial Organs 3 (2000) 75-84.

[89] A. Shabani, M. Zourob, B. Allain, C.A. Marquette, M.F. Lawrence, and R. Mandeville, Bacteriophage-Modified Microarrays for the Direct Impedimetric Detection of Bacteria. Analytical Chemistry 80 (2008) 9475-9482.

[90] K.A. Heyries, C.A. Mandon, L. Ceriotti, J. Ponti, P. Colpo, L.J. Blum, and C.A. Marquette, Macromolecules to PDMS transfer as a general route for PDMS biochips. Biosensors and Bioelectronics 24 (2009) 1146-1152.

[91] K.A. Heyries, L.J. Blum, and C.A. Marquette, Straightforward Protein Immobilization Using Redox-Initiated Poly(methyl methacrylate) Polymerization. Langmuir 25 (2009) 661-664.

[92] M.R. Linford, and C.E.D. Chidsey, Alkyl monolayers covalently bonded to silicon surfaces. Journal of the American Chemical Society 115 (1993) 12631-12632.

[93] J.M. Buriak, Organometallic Chemistry on Silicon and Germanium Surfaces. Chemical Reviews 102 (2002) 1271-1308.

[94] M.M. Sung, G.J. Kluth, O.W. Yauw, and R. Maboudian, Thermal Behavior of Alkyl Monolayers on Silicon Surfaces. Langmuir 13 (1997) 6164-6168.

[95] A.B. Sieval, V. Vleeming, H. Zuilhof, and E.J.R. SudhÃ¶lter, An Improved Method for the Preparation of Organic Monolayers of 1-Alkenes on Hydrogen-Terminated Silicon Surfaces. Langmuir 15 (1999) 8288-8291.

[96] F. Effenberger, G. Götz, B. Bidlingmaier, and M. Wezstein, Photoactivated Preparation and Patterning of Self-Assembled Monolayers with 1-Alkenes and Aldehydes on Silicon Hydride Surfaces. Angewandte Chemie International Edition 37 (1998) 2462-2464.

[97] J.T.C. Wojtyk, M. Tomietto, R. Boukherroub, and D.D.M. Wayner, "Reagentless" Micropatterning of Organics on Silicon Surfaces: Control of Hydrophobic/Hydrophilic Domains1. Journal of the American Chemical Society 123 (2001) 1535-1536.

[98] P. Allongue, C.H. de Villeneuve, J. Pinson, F. Ozanam, J.N. Chazalviel, and X. Wallart, Organic monolayers on Si(111) by electrochemical method. Electrochimica Acta 43 (1998) 2791-2798.

[99] G. Elena, Linkers for anchoring sensitizers to semiconductor nanoparticles. Coordination Chemistry Reviews 248 (2004) 1283-1297.
[100] F. Grasset, N. Saito, D. Li, D. Park, I. Sakaguchi, N. Ohashi, H. Haneda, T. Roisnel, S. Mornet, and E. Duguet, Surface modification of zinc oxide nanoparticles by aminopropyltriethoxysilane. Journal of Alloys and Compounds 360 (2003) 298-311.
[101] C.G. Allen, D.J. Baker, J.M. Albin, H.E. Oertli, D.T. Gillaspie, D.C. Olson, T.E. Furtak, and R.T. Collins, Surface Modification of ZnO Using Triethoxysilane-Based Molecules. Langmuir 24 (2008) 13393-13398.
[102] E. Tang, G. Cheng, X. Ma, X. Pang, and Q. Zhao, Surface modification of zinc oxide nanoparticle by PMAA and its dispersion in aqueous system. Applied Surface Science 252 (2006) 5227-5232.
[103] O. Taratula, E. Galoppini, D. Wang, D. Chu, Z. Zhang, H. Chen, G. Saraf, and Y. Lu, Binding Studies of Molecular Linkers to ZnO and MgZnO Nanotip Films. The Journal of Physical Chemistry B 110 (2006) 6506-6515.
[104] M. Law, L.E. Greene, J.C. Johnson, R. Saykally, and P. Yang, Nanowire dye-sensitized solar cells. Nat Mater 4 (2005) 455-459.
[105] P.W. Sadik, S.J. Pearton, D.P. Norton, E. Lambers, and F. Ren, Functionalizing Zn- and O-terminated ZnO with thiols. Journal of Applied Physics 101 (2007) 104514-5.
[106] B. Burfeindt, T. Hannappel, W. Storck, and F. Willig, Measurement of Temperature-Independent Femtosecond Interfacial Electron Transfer from an Anchored Molecular Electron Donor to a Semiconductor as Acceptor. The Journal of Physical Chemistry 100 (1996) 16463-16465.
[107] G.K. Boschloo, and A. Goossens, Electron Trapping in Porphyrin-Sensitized Porous Nanocrystalline TiO2 Electrodes. The Journal of Physical Chemistry 100 (1996) 19489-19494.
[108] I. Bedja, S. Hotchandani, R. Carpentier, R.W. Fessenden, and P.V. Kamat, Chlorophyll b-modified nanocrystalline SnO[sub 2] semiconductor thin film as a photosensitive electrode. Journal of Applied Physics 75 (1994) 5444-5446.
[109] G.P. Holland, R. Sharma, J.O. Agola, S. Amin, V.C. Solomon, P. Singh, D.A. Buttry, and J.L. Yarger, NMR Characterization of Phosphonic Acid Capped SnO2 Nanoparticles. Chemistry of Materials 19 (2007) 2519-2526.
[110] M.A. Fox, F.J. Nobs, and T.A. Voynick, Covalent attachment of arenes to tin oxide (SnO2)-semiconductor electrodes. Journal of the American Chemical Society 102 (1980) 4029-4036.
[111] M.A. Chesters, and G.A. Somorjai, The chemisorption of oxygen, water and selected hydrocarbons on the (111) and stepped gold surfaces. Surface Science 52 (1975) 21-28.
[112] R.G. Nuzzo, and D.L. Allara, Adsorption of bifunctional organic disulfides on gold surfaces. Journal of the American Chemical Society 105 (1983) 4481-4483.
[113] K. Bandyopadhyay, K.S. Mayya, K. Vijayamohanan, and M. Sastry, Spontaneously organized molecular assembly of an aromatic organic disulfide on silver/platinum alloy surfaces: an angle dependent X-ray photoemission investigation. Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena 87 (1997) 101-107.
[114] B.V. Appa Rao, M.Y. Iqbal, and B. Sreedhar, Electrochemical and surface analytical studies of the self-assembled monolayer of 5-methoxy-2-(octadecylthio)benzimidazole in corrosion protection of copper. Electrochimica Acta 55 (2010) 620-631.
[115] J.C. Love, D.B. Wolfe, R. Haasch, M.L. Chabinyc, K.E. Paul, G.M. Whitesides, and R.G. Nuzzo, Formation and Structure of Self-Assembled Monolayers of Alkanethiolates on Palladium. Journal of the American Chemical Society 125 (2003) 2597-2609.
[116] Z. Li, S.-C. Chang, and R.S. Williams, Self-Assembly of Alkanethiol Molecules onto Platinum and Platinum Oxide Surfaces. Langmuir 19 (2003) 6744-6749.
[117] J.C. Love, L.A. Estroff, J.K. Kriebel, R.G. Nuzzo, and G.M. Whitesides, Self-Assembled Monolayers of Thiolates on Metals as a Form of Nanotechnology. Chemical Reviews 105 (2005) 1103-1170.

[118] X. Cui, D. Jiang, P. Diao, J. Li, R. Tong, and X. Wang, Assessing the apparent effective thickness of alkanethiol self-assembled monolayers in different concentrations of Fe(CN)63-/Fe(CN)64- by ac impedance spectroscopy. Journal of Electroanalytical Chemistry 470 (1999) 9-13.
[119] G. Decher, An Introduction to Ultrathin Organic Films from Langmuir-Blodgett to Self-Assembly. Von A. Ulman. . Angewandte Chemie 104 (1992) 498-499.
[120] G. barbillon, M. Ou, A.-C. Faure, C. Marquette, J.-L. Bijeon, O. Tillement, S. Roux, and P. Perriat, Two examples of nanostructured gold surfaces as biosensors. Surface-enhanced chemiluminescence and double detection by surface plasmon resonance and luminescence. Gold Bulletin 41 (2008) 174-186.
[121] C.A. Mandon, L.J. Blum, and C.A. Marquette, Aryl Diazonium for Biomolecules Immobilization onto SPRi Chips. Chemphyschem 10 (2009) 3273-3277.
[122] J. Chen, M.A. Hamon, H. Hu, Y.S. Chen, A.M. Rao, P.C. Eklund, and R.C. Haddon, Solution properties of single-walled carbon nanotubes. Science 282 (1998) 95-98.
[123] M. Holzinger, O. Vostrowsky, A. Hirsch, F. Hennrich, M. Kappes, R. Weiss, and F. Jellen, Sidewall Functionalization of Carbon Nanotubes. Angewandte Chemie International Edition 40 (2001) 4002-4005.
[124] M. Holzinger, J. Abraham, P. Whelan, R. Graupner, L. Ley, F. Hennrich, M. Kappes, and A. Hirsch, Functionalization of Single-Walled Carbon Nanotubes with (R-)Oxycarbonyl Nitrenes. Journal of the American Chemical Society 125 (2003) 8566-8580.
[125] J.L. Bahr, and J.M. Tour, Highly Functionalized Carbon Nanotubes Using in Situ Generated Diazonium Compounds. Chemistry of Materials 13 (2001) 3823-3824.
[126] K.M. Millan, A.J. Spurmanis, and S.R. Mikkelsen, Covalent immobilization of DNA onto glassy carbon electrodes. Electroanalysis 4 (1992) 929-932.
[127] T. Kuwahara, H. Ohta, M. Kondo, and M. Shimomura, Immobilization of glucose oxidase on carbon paper electrodes modified with conducting polymer and its application to a glucose fuel cell. Bioelectrochemistry 74 (2008) 66-72.
[128] B.t. Peles-Lemli, G. Matisz, A.-M. Kelterer, W.M.F. Fabian, and S.n. Kunsalì□gi-Malì□telì□, Noncovalent Interaction between Aniline and Carbon Nanotubes: Effect of Nanotube Diameter and the Hydrogen-Bonded Solvent Methanol on the Adsorption Energy and the Photophysics. The Journal of Physical Chemistry C 114 (2010) 5898-5905.
[129] J. Kong, and H. Dai, Full and Modulated Chemical Gating of Individual Carbon Nanotubes by Organic Amine Compounds. The Journal of Physical Chemistry B 105 (2001) 2890-2893.
[130] M. Jönsson-Niedziolka, K. Szot, J. Rogalski, and M. Opallo, Pyrene sulfonate functionalised single-walled carbon nanotubes for mediatorless dioxygen bioelectrocatalysis. Electrochemistry Communications 11 (2009) 1042-1044.
[131] A.J. Blanch, C.E. Lenehan, and J.S. Quinton, Optimizing Surfactant Concentrations for Dispersion of Single-Walled Carbon Nanotubes in Aqueous Solution. The Journal of Physical Chemistry B 114 (2010) 9805-9811.
[132] M. Boujtita, M. Chapleau, and N. ElMurr, Biosensors for analysis of ethanol in food: Effect of the pasting liquid. Analytica Chimica Acta 319 (1996) 91-96.
[133] A. Rondeau, N. Larsson, M. Boujtita, L. Gorton, and N. El Murr, The synergetic effect of redox mediators and peroxidase in a bienzymatic biosensor for glucose assays in FIA. Analusis 27 (1999) 649-656.
[134] T. Nychyporuk, V. Lysenko, B. Gautier, and D. Barbier, Initial stages of silicon anodization in the transition regime: Nanoparticle formation. Applied Physics Letters 86 (2005).
[135] T. Nychyporuk, V. Lysenko, B. Gautier, and D. Barbier, Silicon nanoparticle formation by short pulse electrochemical etching in the transition regime. Journal of Applied Physics 100 (2006).
[136] A. Halimaoui, Porous silicon formation by anodisation. in: P.o.p. silicon, (Ed.), london, 1997, pp. 12-22.
[137] R.L. Smith, and S.D. Collins, Porous silicon formation mechanisms. Journal of Applied Physics 71 (1992) R1-R22.

[138] V. Lehmann, and U. Gosele, Porous silicon formation: A quantum wire effect. Applied Physics Letters 58 (1991) 856-858.
[139] R. Herino, G. Bomchil, K. Barla, C. Bertrand, and J.L. Ginoux, Porosity and Pore Size Distributions of Porous Silicon Layers. Journal of The Electrochemical Society 134 (1987) 1994-2000.
[140] V. Lehmann, R. Stengl, and A. Luigart, On the morphology and the electrochemical formation mechanism of mesoporous silicon. Materials Science and Engineering: B 69 (2000) 11-22.
[141] Y. Watanabe, Y. Arita, T. Yokoyama, and Y. Igarashi, Formation and Properties of Porous Silicon and Its Application. Journal of The Electrochemical Society 122 (1975) 1351-1355.
[142] M.J.J. Theunissen, Etch Channel Formation during Anodic Dissolution of N-Type Silicon in Aqueous Hydrofluoric Acid. Journal of The Electrochemical Society 119 (1972) 351-360.
[143] O. Belmont, D. Bellet, and Y. Brechet, Study of the cracking of highly porous p+ type silicon during drying. Journal of Applied Physics 79 (1996) 7586-7591.
[144] Y.Chable, Circuits hybrides à couches épaisses Monographies d'électronique, Masson, 1993.
[145] H. Pierson, Handbook of Carbon, Graphite, Diamonds and Fullerenes: Properties, Processing, and Applications, 1994.
[146] F. Wei, B. Sun, Y. Guo, and X.S. Zhao, Monitoring DNA hybridization on alkyl modified silicon surface through capacitance measurement. Biosensors and Bioelectronics 18 (2003) 1157-1163.
[147] J.-P. Jolivet, M. Henry, and J. Livage, De la solution à l'oxyde condensation des cations en solution aqueuse, chimie de surface des oxydes, InterEditions : CNRS Editions, Paris, 1998.
[148] Y. LU, and M. , J. D., Carboxyl stretching vibrations of spontaneously adsorbed and LB-transferred calcium carboxylates as determined by FTIR internal reflection spectroscopy, Elsevier, Amsterdam, PAYS-BAS, 2002.
[149] N.R. Armstrong, A.W.C. Lin, M. Fujihira, and T. Kuwana, Electrochemical and surface characteristics of tin oxide and indium oxide electrodes. Analytical Chemistry 48 (1976) 741-750.
[150] K. Fiammetta, S. Laura, and T. Irina, Potentiometric biosensor for urinary glucose level monitoring. Laboratory Robotics and Automation 12 (2000) 291-295.
[151] K. Gelderman, L. Lee, and S.W. Donne, Flat-Band Potential of a Semiconductor: Using the Mott-Schottky Equation. Journal of Chemical Education 84 (2007) 685.
[152] H. Liu, G. Piret, B. Sieber, J. Laureyns, P. Roussel, W. Xu, R. Boukherroub, and S. Szunerits, Electrochemical impedance spectroscopy of ZnO nanostructures. Electrochemistry Communications 11 (2009) 945-949.
[153] C. Stutz, Electrochemical schottky characteristics of ZnO for capacitance-voltage measurements. Journal of Electronic Materials 30 (2001) L40-L42.
[154] K. Nakaoka, J. Ueyama, and K. Ogura, Semiconductor and electrochromic properties of electrochemically deposited nickel oxide films. Journal of Electroanalytical Chemistry 571 (2004) 93-99.
[155] N. Lü, X. Lü, X. Jin, and C. Lü, Preparation and characterization of UV-curable ZnO/polymer nanocomposite films. Polymer International 56 (2007) 138-143.
[156] Y.-Q. Li, S.-Y. Fu, and Y.-W. Mai, Preparation and characterization of transparent ZnO/epoxy nanocomposites with high-UV shielding efficiency. Polymer 47 (2006) 2127-2132.
[157] A. Shabani, A.W.H. Mak, I. Gerges, L.A. Cuccia, and M.F. Lawrence, DNA immobilization onto electrochemically functionalized Si(1 0 0) surfaces. Talanta 70 (2006) 615-623.
[158] T. Murat, P. Oliver, A. Klaus, E. Martin, and T. Motomu, Electrochemical stabilization of crystalline silicon with aromatic self-assembled monolayers in aqueous electrolytes. physica status solidi (b) 242 (2005) 2838-2845.
[159] R. Joerg, Z. Xin, C. Sébastien, S. Guoguang, and H. Karsten, Passivation of Si surfaces by hydrogen and organic molecules investigated by in-situ photoluminescence techniques. physica status solidi (c) 7 (2009) 210-213.

[160] J. Charlier, E. Clolus, C. Bureau, and S. Palacin, Selectivity of organic grafting as a function of the nature of semiconducting substrates. Journal of Electroanalytical Chemistry 625 (2009) 97-100.
[161] A. Shabani, A.W.H. Mak, I. Gerges, L.A. Cuccia, and M.F. Lawrence, DNA immobilization onto electrochemically functionalized Si (1 0 0) surfaces. Talanta 70 (2006) 615-623.
[162] R. Schaub, P. Thostrup, N. Lopez, E. Laegsgaard, I. Stensgaard, J.K. Norskov, and F. Besenbacher, Oxygen vacancies as active sites for water dissociation on rutile TiO(2)(110). Physical Review Letters 87 (2001).
[163] J. Elias, R. Tena-Zaera, and C. Lévy-Clément, Electrodeposition of ZnO nanowires with controlled dimensions for photovoltaic applications: Role of buffer layer. Thin Solid Films 515 (2007) 8553-8557.
[164] R. Tena-Zaera, J. Elias, C. Lévy-Clément, I. Mora-Seró, Y. Luo, and J. Bisquert, Electrodeposition and impedance spectroscopy characterization of ZnO nanowire arrays. physica status solidi (a) 205 (2008) 2345-2350.
[165] W.S. DeForest, Photoresist : materials and processes, McGraw-Hill, NewYork, 1975.
[166] S.P. Pappas, UV Curing: Science and Technology, Technology Marketing Corporation, 1980.
[167] C.e.G. Gelorme, Photoresists composition and printed circuit boards and packages made therwith Brevet US-4882245, 1989.
[168] J.G. N. LaBianca, K. Lee, E. Sullivan and J. Shaw, High aspect ratio optical resist chemistry for MEMS applications. in: T.E. Soc, (Ed.), 4th Int. Symp. on Magnetic Materials,Processes, and Devices, The Electrochem. Soc, 1995, pp. 386-396.
[169] K.Y.L. Lee, N.; Rishton, S. A.; Zolgharnain, S.; Gelorme, J. D.; Shaw, J.; Chang, T. H.-P., Micromachining applications of a high resolution ultrathick photoresist. Journal of Vacuum Science & Technology B: Microelectronics and Nanometer Structures 13 (1995) 3012-3016.
[170] H. Lorenz, M. Despont, N. Fahrni, N. LaBianca, P. Renaud, and P. Vettiger, SU-8: a low-cost negative resist for MEMS. Journal of Micromechanics and Microengineering 7 (1997) 121.
[171] L. Dellmann, S. Roth, C. Beuret, G.A. Racine, H. Lorenz, M. Despont, P. Renaud, P. Vettiger, and N.F. de Rooij, Fabrication process of high aspect ratio elastic and SU-8 structures for piezoelectric motor applications. Sensors and Actuators A: Physical 70 (1998) 42-47.
[172] H. Lorenz, M. Despont, N. Fahrni, J. Brugger, P. Vettiger, and P. Renaud, High-aspect-ratio, ultrathick, negative-tone near-UV photoresist and its applications for MEMS. Sensors and Actuators A: Physical 64 (1998) 33-39.
[173] S. Jiguet, A. Bertsch, H. Hofmann, and P. Renaud, SU8-Silver Photosensitive Nanocomposite. Advanced Engineering Materials 6 (2004) 719-724.
[174] N. Damean, B.A. Parviz, J.N. Lee, T. Odom, and G.M. Whitesides, Composite ferromagnetic photoresist for the fabrication of microelectromechanical systems. Journal of Micromechanics and Microengineering 15 (2005) 29-34.
[175] M. Mionic, S. Jiguet, M. Judelewicz, L. Forro, and A. Magrez, Preparation and characterization of SU8-carbon nanotube composites. Physica Status Solidi B-Basic Solid State Physics 246 (2009) 2461-2464.
[176] S. Jiguet, A. Bertsch, H. Hofmann, and P. Renaud, Conductive SU8 photoresist for microfabrication. Advanced Functional Materials 15 (2005) 1511-1516.
[177] I. Balberg, D. Azulay, D. Toker, and O. Millo, Percolation and tunneling in composite materials. International Journal of Modern Physics B 18 (2004) 2091-2121.
[178] K. Elliot, Electrical Properties of Nanoparticle-Filled Polymers, Polymer Nanocomposites Handbook, CRC Press, 2009.
[179] A. Henry, The Incorporation of Nanomaterials into Polymer Media, Polymer Nanocomposites Handbook, CRC Press, 2009.
[180] A. Sassolas, L.c.J. Blum, and B.a.D. Leca-Bouvier, Polymeric luminol on pre-treated screen-printed electrodes for the design of performant reagentless (bio)sensors. Sensors and Actuators B: Chemical 139 (2009) 214-221.

[181] E. Katz, and I. Willner, Probing Biomolecular Interactions at Conductive and Semiconductive Surfaces by Impedance Spectroscopy: Routes to Impedimetric Immunosensors, DNA-Sensors, and Enzyme Biosensors. Electroanalysis 15 (2003) 913-947.

[182] J.-B. Jorcin, M.E. Orazem, N. Pébère, and B. Tribollet, CPE analysis by local electrochemical impedance spectroscopy. Electrochimica Acta 51 (2006) 1473-1479.

Publications :

ARTICLE 1

Semiconducting Properties of Nanoparticles Thin Films

Synthetic Metals 160 (2010) 2675–2680

Contents lists available at ScienceDirect

Synthetic Metals

journal homepage: www.elsevier.com/locate/synmet

Semiconducting properties of thin films with embedded nanoparticles

Mouhssine Benlarbi [a], Carole Farre [b], Carole Chaix [b], Marcus F. Lawrence [d], Loïc J. Blum [a], Volodymyr Lysenko [c], Christophe A. Marquette [a,*]

[a] Institut de Chimie et Biochimie Moléculaires et Supramoléculaires, Université Lyon 1 - CNRS 5246 ICBMS, Bâtiment CPE 43, bd du 11 novembre 1918 - 69622 Villeurbanne, Cedex, France
[b] UMR CNRS 5180, Université Claude Bernard Lyon 1, Bâtiment, CPE 43, bd du 11 novembre 1918 - 69622 Villeurbanne Cedex, France
[c] UMR CNRS-INSA-ECL-UCBL 5270, 7 av. Jean Capelle, Bât. Blaise Pascal - 69621 Villeurbanne Cedex, France
[d] Department of Chemistry and Biochemistry, Concordia University, 7141 Sherbrooke W., Montreal, Canada H4B 1R6

ARTICLE INFO

Article history:
Received 1 September 2010
Received in revised form 7 October 2010
Accepted 21 October 2010
Available online 18 November 2010

Keywords:
Impedance
Nanoparticles
Semiconductor
Spin-coating
Thin-film

ABSTRACT

We demonstrate here the possibility of designing semiconducting thin films with controlled electrochemical properties. The thin films are composed of (i) an insulating binder and (ii) a semiconductor nanopowder which enables the fine tuning of the semiconducting properties of the layers. Thus, p- and n-type silicon particles (obtained from a top-down technique), or metal-oxide ZnO, SnO2 and NiO nanoparticles (synthesized using a bottom-up protocol) are successfully integrated into spin-coated or screen-printed thin films and used as semiconducting materials. The flat band potential (Vfb) of the films is then easily tuned from 0 V to −1.138 V.

© 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Nanomaterials, and particularly nanoparticles, are the bridge between bulk materials and atomic structure and, because of their wide variety of potential applications in areas such as biomedical and optical biosensing and electronics in general, are currently the subject of intense scientific research [1–3].

Ideal bulk materials are considered to exhibit constant physical properties regardless of their size, but when they reach nanoscale dimensions important changes in these properties are observed. Indeed, as the surface area to volume ratio changes, some new properties appear such as quantum confinement in semiconductor particles (Q-dots) [4], localized surface plasmon resonance in some noble metal nanoparticles (gold, silver) [5], superparamagnetism in metal oxide materials (Fe_3O_4 and NiO) [6,7] and some nanocomposites (Co–Zn ferrite, Ni–Cu ferrite and all MFe_2O_4 with M: Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mg, Cd, Al) [8], and, catalytic and electrocatalytic properties [9]. All these new behaviors have already been successfully applied to optoelectronic devices [10], memory devices [11,12], biosensors and bio-imaging probes [13].

The fabrication of these nano-objects can be achieved either through a bottom-up (building up starting with the smaller molecular components) or top-down (by fractionation of a larger piece of bulk material, such as doped silicon, to form nanoscale building blocks [14–16]). Once the nanomaterial is produced, it can be either used in the form of a colloidal solution or deposited as a coating.

In this work we present a third alternative where semiconducting nanoparticles are embedded in a thin film material and used as semiconductor probes, just like their native bulk material. The advantage gained here however, is the ability to tune the electronic properties of the thin films obtained, by changing the composition or size of the nanoparticles (Fig. 1).

The classical deposition methods for conducting materials, especially for electronic or electrochemical purposes, are physical (sputtering, thermal evaporation and e-beam evaporation), chemical (chemical vapour deposition) or electrical (electrodeposition), and can be implemented by specific techniques such as Langmuir–Blodgett or dip-coating. The particles are set to be in direct ohmic contact with the support and can be used for example as electrochemical probes in biosensing applications. One of the main drawbacks in using these deposition techniques is that they are based on low energy interaction between the particles and the support, and are therefore often lacking in stability and proper surface coverage. Another alternative, presented in this report, is to include these nanoparticles into a polymeric insulating binder which can then be either spin-coated or screen-printed.

* Corresponding author.
E-mail address: christophe.marquette@univ-lyon1.fr (C.A. Marquette).

0379-6779/$ – see front matter © 2010 Elsevier B.V. All rights reserved.
doi:10.1016/j.synthmet.2010.10.025

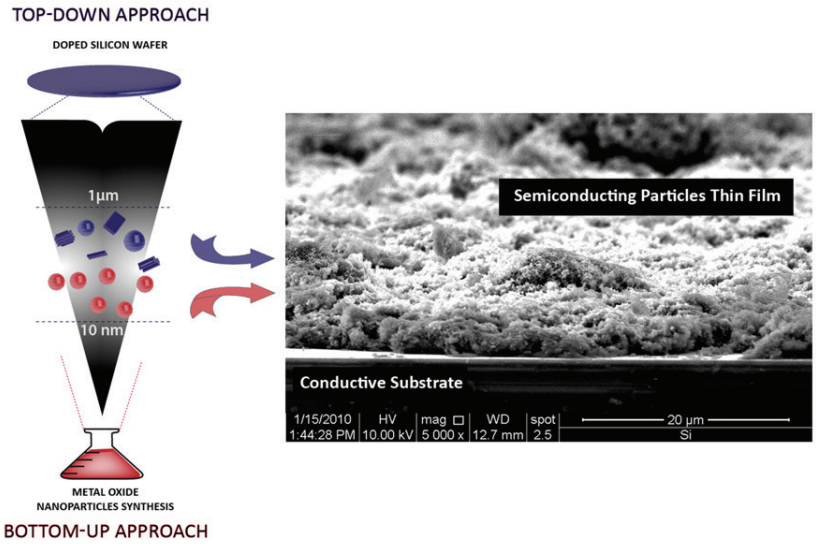


Fig. 1. The two approaches reported for the development of tunable semiconducting thin films.

The goal being here to maintain the semiconducting properties of the nanoobjects while increasing the mechanical resistance of the coating. Focusing on semiconducting nanomaterial thin-films fabricated in this manner is of great interest since 1 cm^2 of printed electronics is expected to be two to three orders of magnitude cheaper than semiconductors obtained using the conventional manufacturing processes.

Different polymer/nanoparticle combinations have been studied, prepared either from micron and submicron semiconducting p- and n-type silicon particles (obtained from a top-down technique), or metal-oxide ZnO, SnO_2 and NiO nanoparticles (synthesized using a bottom-up protocol). The properties of the thin-films were determined using scanning electron microscopy (SEM), profilometry, and electrochemical characterization studies.

2. Experimental

2.1. Top-down silicon nanoparticles synthesis

First, a silicon nanoporous layer was formed by means of electrochemical anodization of a low resistivity grade 4″ bulk silicon wafer. The anodization was performed in a Teflon cell with a copper electrode as a backside contact. The counter electrode was made of platinum. The etching process took place for 2–3 h at a current density of 18 mA cm^{-2} using a 1:1 HF 50%/ethanol electrolyte. After the etching, a highly porous network constituted by numerous interconnected Si nanocrystals was formed. The ultra-porous layer was washed with de-ionized water, naturally dried in ambient air, and then scratched from the wafer. Mechanical dry grinding of the formed free nanoporous layer transformed it into a nanopowder state.

2.2. Ink preparation

Ink printing intermediate resin (Gwent Microloelectronics Material, UK) was used as entrapment matrix for all nanoobjects. Three semiconductor metal-oxide nanoparticles have been tested: n-type semiconductors (ZnO, 50 nm in diameter from Nano-H, France and SnO_2, 100 nm in diameter from Sigma–Aldrich, France) and p-type semiconductor (NiO, 200 nm in diameter from Sigma–Aldrich, France). Two silicon nanopowders were also used: p-type and n-type prepared using the top-down technique described above. Resin and powder were mixed in a 1:5 ratio and spin coated or screen-printed.

2.3. Spin coating

For imaging studies, p-type Si (1 0 0) 1 cm^2 substrates with a doping density of 10^{15} cm^3 were thoroughly cleaned by sequential washing/sonication in ultra-pure water, acetone and ethanol before being etched for 5 min in NH_4F. After etching the substrate was thoroughly rinsed with ultra-pure water. Then 4 μL of the prepared semiconducting ink were deposited at the surface of the substrate and spun at 2000 rpm for 30 s.

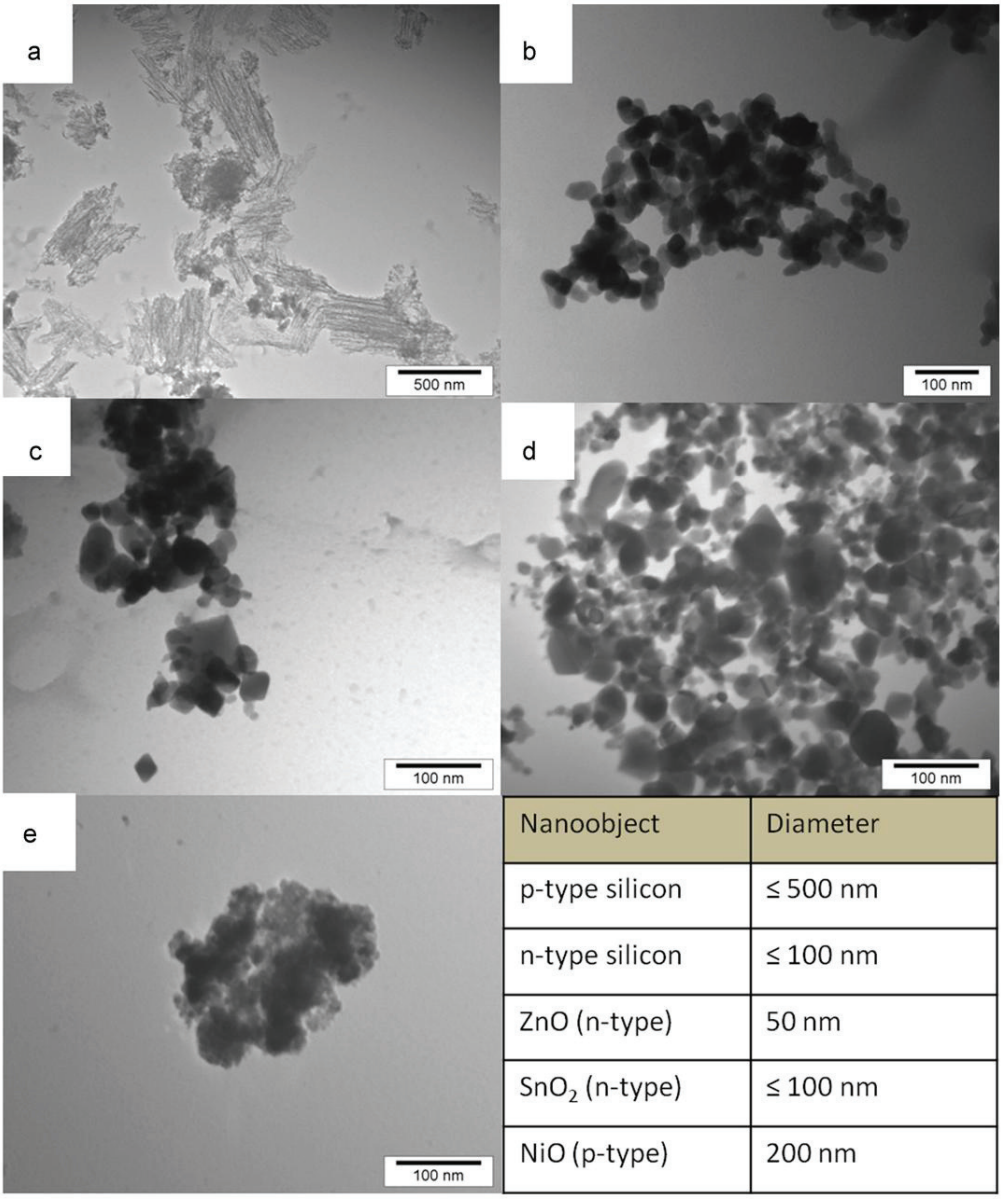
For electrochemical measurements, 7 mm^2 glassy carbon electrodes were used as spin coating substrates. After cleaning with acetone, ethanol and polishing with diamond polishing compound (1 μm, Metadi, Buehler, USA), 4 μL of prepared ink were deposited and spun at 2000 rpm for 30 s. After deposition, spin-coated samples were baked for 5 min at 100 °C.

2.4. Screen-printed electrode (SPE)

A DEK 248 printer (DEK, France) was used to produce the micro-electrodes. A polyester monofilament fiber screen characterized by a mesh size of 260 count/in. and a thickness of 13 μm was used to print a first layer of carbon ink (Electrodag 423 SS; Acheson, Port Huron, MI, USA) onto a LEXAN 80330 polyester film. After printing, the polyester films were baked 5 min at 100 °C to cure the thermoplastic carbon ink. A second layer, corresponding to our semiconducting paste, was then printed on top of the carbon layer and baked for 5 min at 100 °C.

2.5. Electrochemical Impedance measurements

A DC potential was applied to the thin film using a two-electrode potentiostatic setup (Platinum as pseudo-reference). An AC voltage of 1 kHz frequency and 20 mV amplitude was superimposed onto the DC potential. Impedance measurements were taken using a computer-controlled Multi-potentiostat electrochemical workstation (model VMP3 by Bio-Logic, France), and the accompanying Ec-Lab computer program was used to calculate the out-of-phase impedance (Z_i) and resolved the Mott–Schottky equation to generate the Mott–Schottky plots. The electrolyte was composed of an aqueous solution of NaCl 0.1 M for spin coated



Nanoobject	Diameter
p-type silicon	≤ 500 nm
n-type silicon	≤ 100 nm
ZnO (n-type)	50 nm
SnO_2 (n-type)	≤ 100 nm
NiO (p-type)	200 nm

Fig. 2. Transmission electron microscopy images of the different nanoparticles used for the preparation of the thin films. (a) p-type silicon nanoparticles, (b) ZnO nanoparticles, (c) n-type silicon nanoparticles, (d) SnO_2 nanoparticles and (e) NiO nanoparticles.

and screen-printed electrode. All measurements were done at room temperature.

3. Results and discussion

Semiconducting nanoparticles having different structures and sizes were used for the thin film preparation, in order to demonstrate the generic character of the technique. Figs. 2 and 3 present the different nanoobjects used throughout this study. Top-down silicon nanoparticles (Fig. 2a, c) were obtained by means of an electrochemical anodization of a 4″ low resistivity grade bulk silicon wafer, whereas metal oxide nanoparticles (Fig. 2b, d, e) were obtained through bottom-up synthesis leading to monodispersed colloid solutions. The top-down silicon nanoparticles were carefully purified by differential centrifugation steps in order to obtain size selected populations with heterogeneous shapes. The sizes of the different nanoobjects, measured using multiple transmission electronic microscopy images (at least 10), are summarized in table of Fig. 2. Silicon and SnO_2 nanoparticles were selected using a size cut-off of 500 nm, 100 nm and 100 nm for p-type, n-type silicon and SnO_2, respectively. ZnO and NiO were found to have mean diameters of around 50 nm and 200 nm, respectively.

From a semiconducting point of view, the NiO nanoparticles were found to show p-type semiconducting behavior, while the ZnO and SnO_2 nanoparticles showed n-type semiconducting behavior (see below). In the particular case of the silicon nanoparticles, the electronic properties were found to be in line with those of the bulk materials, implying that the doping density in the starting material was high enough to preserve the same semiconducting properties at the nanoscale. With a doping density for the bulk material of $10^{15}/cm^3$ (boron for p-type and phosphorous for n-type), the number of dopant atoms in the particles was therefore estimated to be 65/particle and

13/particle for p-type (500 nm) and n-type (100 nm) particles, respectively.

In order to be deposited as thin films, the nanoobjects were mixed with an epoxy resin (Gwent Microelectronics Materials, UK), acting as a binder. The resin was selected according to its viscosity value (84.83 Pa.s) and its high resistivity (insulating). In a first set of experiments, the nanoparticle-loaded resins were deposited as thin films, using the spin-coating technique, onto 1 cm^2 substrates of Si (1 0 0). These substrates, thoroughly cleaned by washing with ultrapure water, sonicated in acetone and ethanol, and etched 5 min in buffered NH_4F, were used for imaging studies in order to generate the flattest possible surfaces. Fig. 3 presents SEM images of the thin films thus obtained. As can be seen, the particles are integrated within the thin film and homogeneously spread all over the surface, but have two distinguishable film populations. Low particle densities are observed for films containing p-type silicon, n-type silicon and SnO_2, while high particle densities (leading to particle aggregates) are observed in the films containing NiO and ZnO.

Film thicknesses were evaluated using 3D profilometry. Fig. 4a depicts a typical image of a ZnO spin-coated thin film. The calculated mean thickness of the film was found to be 4.38 μm, a value well above the 50 nm diameter of the initial particles, suggesting a 3 dimensional agglomeration of the nanoobjects. This is consistent with thickness measurements made on the spin-coated the epoxy resin alone, yielding 250 nm thick films only (Fig. 4b), and also with the formation of the larger aggregates that are clearly visible in the SEM images (Fig. 3). The thickness for films containing p-type silicon, n-type silicon and SnO_2 particles (lower surface density) was found to be 3.2 μm.

Once the thin films fabricated, the electrical behavior of these new constructions was investigated to assess whether or not they maintained the semiconducting properties of their parent material. The fact that the nanoparticle films were much thicker than the colloids themselves, would tend to suggest that only a fraction of the spin coated nanoobjects are in direct contact with the underlying substrate and also that a significant fraction of the nanoparticles are insulated (far enough apart to not participate in the semiconducting processes). This does not preclude however the possibility that the aggregates (some that are relatively very large, as demonstrated in Fig. 3), do span from the underlying substrate to the surface of the film, thus providing electrical contact throughout.

Electrochemical impedance variation (Mott–Schottky plots) was used to determine the conductivity type of these thin films, using them as electrodes immersed in an electrolyte solution. Equilibration of charge at a semiconductor/electrolyte interface is known to result in band bending (the bands forming the semiconductor's bandgap), and that this band bending can be counteracted with an externally applied potential which is called the flat-band potential (E_{fb}).

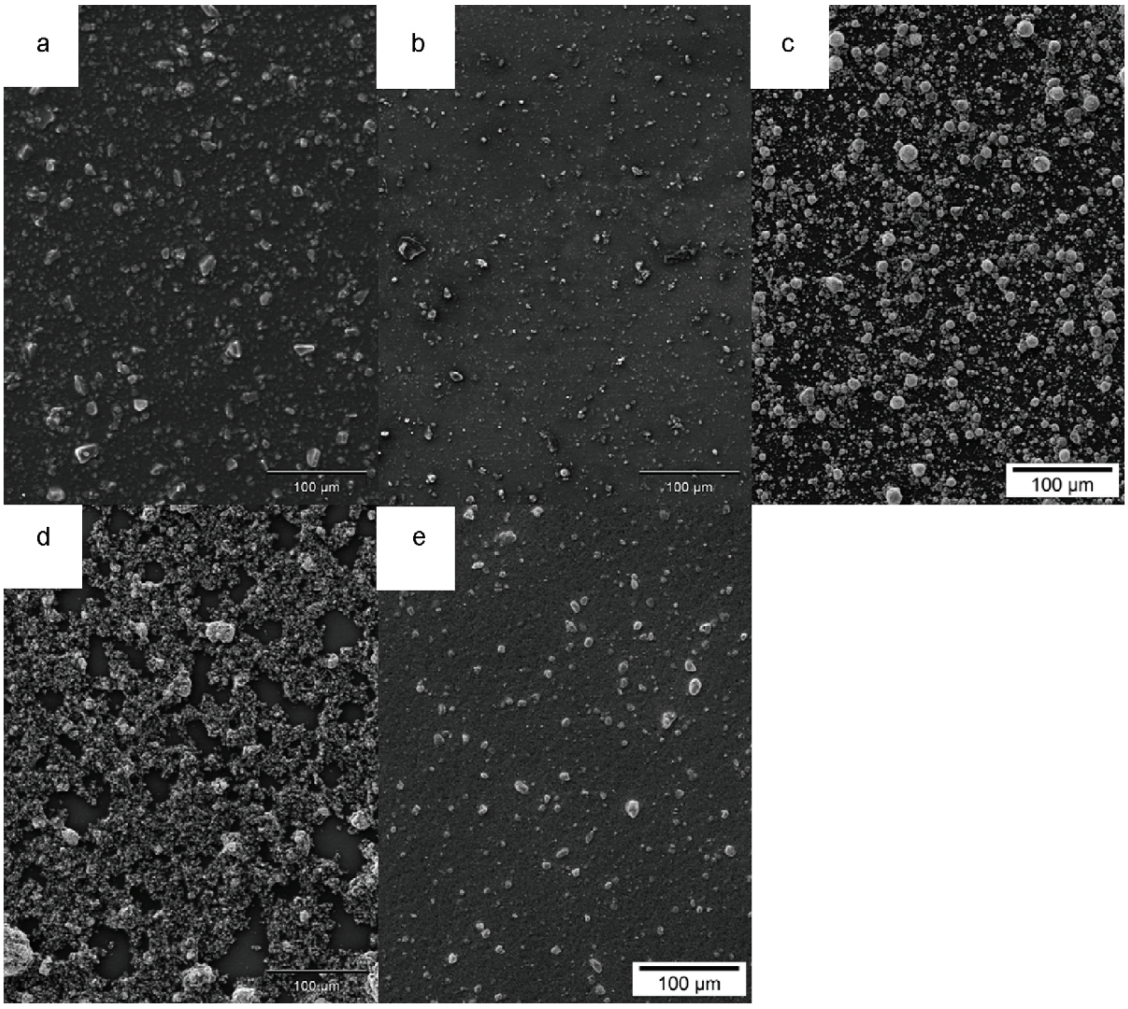


Fig. 3. Scanning electron microscopy images of the spin-coated thin films obtained using (a) n-type silicon nanoparticles, (b) p-type silicon nanoparticles, (c) NiO nanoparticles, (d) ZnO nanoparticles and (e) SnO_2 nanoparticles.

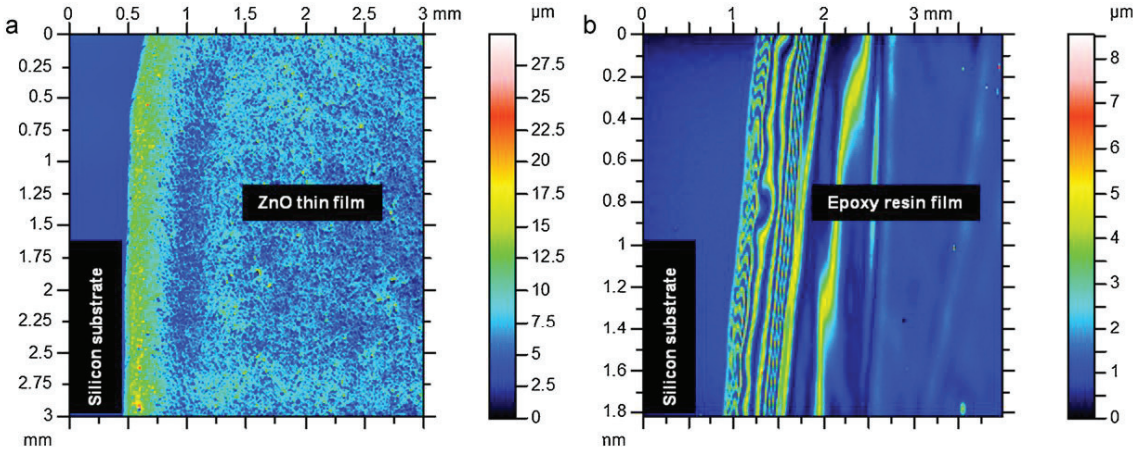
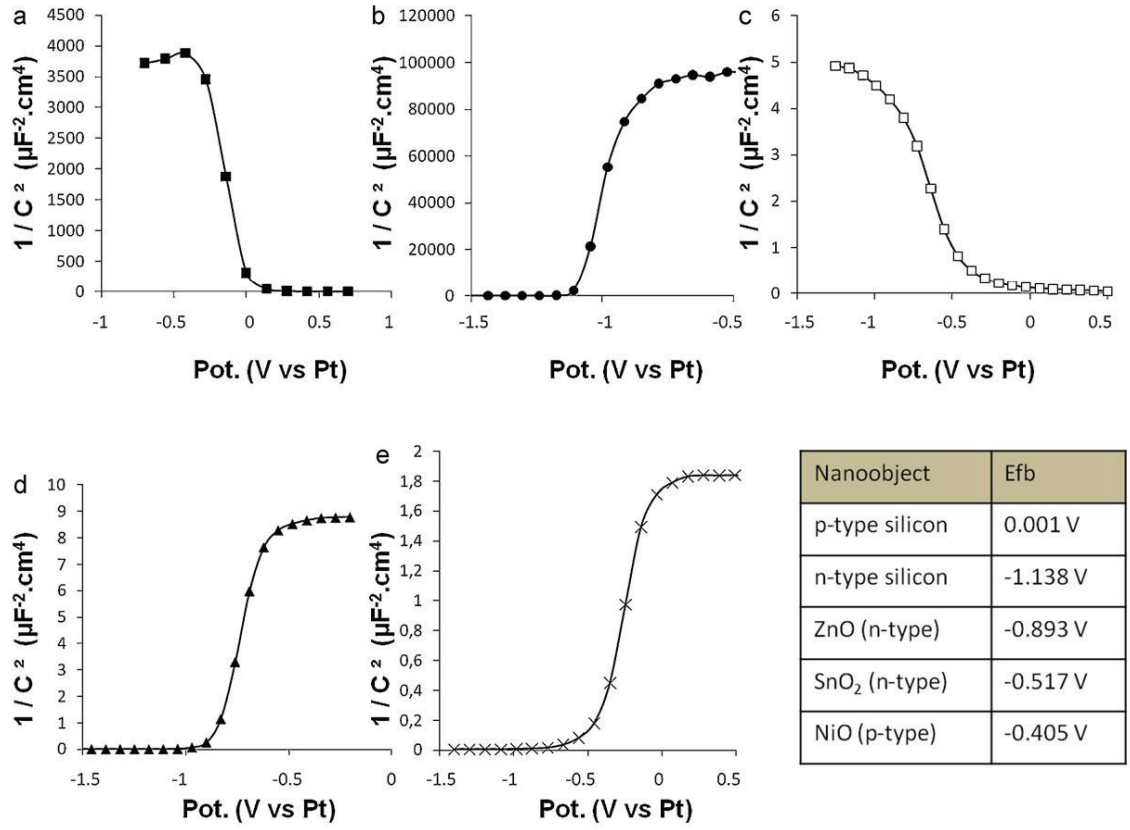


Fig. 4. 3D profilometry images of (a) a ZnO thin film deposited at the surface of a Si (1 0 0) substrate and (b) an epoxy resin thin film.

By measuring variations of the imaginary impedance (Z_i) of the electrochemical system as a function of applied DC potential, one can determine the conductivity type and the flat-band potential of the semiconducting material involved. These measurements are usually presented in the form of Mott–Schottky plots that are interpreted using the following equation:

$$(Csc)^{-2} = \frac{2}{\varepsilon\varepsilon_0 eNA^2}\left([E - E_{fb}] - \frac{kT}{e}\right)$$

where Csc is the capacitance at the semiconductor/electrolyte interface (Z_i is directly related to the inverse of the capacitance), A is the surface area of the electrode, E is the applied DC potential, ε is relative dielectric constant of the semiconductor, ε_o is the permittivity of free space, and N is the dopant density. These electrochemical investigations were performed using 7 mm^2 glassy carbon rod electrodes as spin coating substrates which enable an efficient ohmic contact with the produced thin film. According to Fig. 5, clear semiconducting behaviors were observed for both silicon and metal oxide nanoparticle thin films. Moreover, the expected doping type of each material was confirmed for p-type silicon and NiO, and for n-type ZnO and SnO_2 films. From each Mott–Schottky curve, E_{fb} was calculated and the values are summarized in table of Fig. 5. As can be seen, the semiconductor type of the spin coated thin films is directly controlled by the type of embed-



Nanoobject	Efb
p-type silicon	0.001 V
n-type silicon	-1.138 V
ZnO (n-type)	-0.893 V
SnO_2 (n-type)	-0.517 V
NiO (p-type)	-0.405 V

Fig. 5. Imaginary impedance as a function of the DC applied potential for the different spin-coated semiconducting thin films prepared using (a) p-doped silicon nanoparticles, (b) n-doped silicon nanoparticles, (c) NiO nanoparticles, (d) ZnO nanoparticles and (e) SnO_2 nanoparticles.

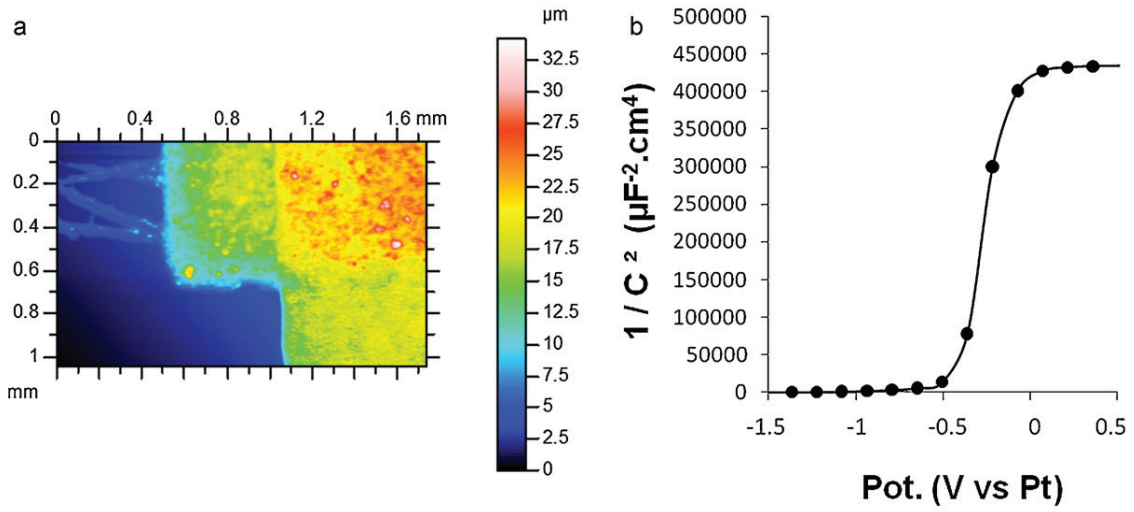


Fig. 6. (a) 3D profilometry images of a ZnO screen-printed film deposited on the top of a graphite contact pad and (b) the corresponding imaginary impedance curve as a function of the DC applied potential.

ded nanoparticles, allowing for tuning of the flat band potential from 0 V to −1.138 V.

Thus, although the semiconductor materials are in nanoparticle form, they remain large enough to retain their bulk semiconducting behavior, as evidenced by the clear semiconducting character of the Mott–Schottky plots. Hence, the band-gaps of these nanoparticle semiconducting materials are expected to be essentially the same as their bulk counterparts.

As a final step in exploring the effect of the embedded nanoparticles, thin films were prepared using a screen-printing technique. This method allows the fabrication of semiconducting films having controlled designs with a 20 μm-size resolution. The underlying substrate in this case was a conductive screen-printed graphite layer (to provide the electrical contact) that had initially been deposited on a LEXAN 80330 polyester film. Fig. 6a shows a 3-D profilometry image of the layers for a ZnO-containing thin film. The graphite layer was found to be 15.5 μm thick and the ZnO film 4 μm thick. The electrochemical behavior of this screen-printed ZnO electrode is presented in Fig. 6b. A typical n-type Mott–Schottky curve was obtained with a flat band potential of −0.650 V. The first aspect to point out is that the semiconducting behavior is still present in the screen-printed ZnO paste films. The second observation is that the impedance values are much higher than the values obtained using glassy carbon as the underlying electrical contact (200 times higher). This can be attributed to the low conductivity of the screen-printed graphite layers (resistivity: 1.1 kohm/cm). Finally, the E_{fb} was determined to be more positive (by 200 mV) than that observed for the spin coated ZnO film, which may reflect the differences in organization/direct environment of the nanoparticles embedded within these two-types of films.

4. Conclusions

In the work reported here, embedded nanoparticle films with tunable semiconducting properties were prepared by spin coating and screen-printing, at room temperature, using a simple and fast approach. The entire process from paste preparation to paste deposition takes only 20 min.

The developed semiconducting pastes consist of semiconducting nanoobjects held together in an insulating polymeric matrix. The spin coated electrodes exhibit typical semiconductor impedance signals with clear differentiation between the two fundamental types of semiconductor, n-type and p-type. Moreover, the use of screen-printing, which is well recognized as a cost-effective method for microelectrode preparation, was also used successfully to generate semiconducting screen-printed electrodes, opening the path to a totally new field of development for disposable electrochemical sensors.

References

[1] P.S. Weiss, P.A. Lewis, ACS Nano 3 (5) (2009) 1039–1040.
[2] R.W. Murray, Chem. Rev. 108 (7) (2008) 2688–2720.
[3] D.V. Talapin, et al., Chem. Rev. 110 (1) (2009) 389–458.
[4] A.L. Rogach, et al., Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 47 (35) (2008) 6538–6549.
[5] K.M. Mayer, et al., ACS Nano 2 (4) (2008) 687–692.
[6] S. Roux, et al., Langmuir 21 (6) (2005) 2526–2536.
[7] M.G Ou, et al., Adv. Funct. Mater. 17 (12) (2007) 1903–1909.
[8] X. Duan, Y. Huang, C.M. Lieber, Nano Lett. 2 (5) (2002) 487–490.
[9] M. Jitti, et al., Chem. Vapor Deposition 16 (1–3) (2010) 35–41.
[10] V. Aleksandrovic, et al., ACS Nano 2 (6) (2008) 1123–1130.
[11] A. Gruverman, A. Kholkin, Rep. Prog. Phys. 69 (8) (2006) 2443–2474.
[12] J.M. Luther, et al., ACS Nano 2 (2) (2008) 271–280.
[13] V. Subramanian, Towards printed low-cost RFID tags: device, materials and circuit technologies, in: 2nd Advanced Technology Workshop on Printing an Intelligent Future: Printed Organic and Molecular Electronic Technologies, Boston, MA, March 16–19, 2003.
[14] H. Liu, et al., Electrochem. Commun. 11 (5) (2009) 945–949.
[15] K. Gelderman, L. Lee, S.W. Donne, J. Chem. Educ. 84 (4) (2007), 685.
[16] C. Stutz, J. Electron. Mater. 30 (12) (2001) L40–L42.

ARTICLE 2

SU-8-Carbon composite as conductive photoresist for biochip applications

Biosensors and Bioelectronics 38 (2012) 220–225

Contents lists available at SciVerse ScienceDirect

Biosensors and Bioelectronics

journal homepage: www.elsevier.com/locate/bios

SU-8-carbon composite as conductive photoresist for biochip applications

Mouhssine Benlarbi, Loïc J. Blum, Christophe A. Marquette *

Laboratoire de Génie Enzymatique, Membranes Biomimétiques et Assemblages Supramoléculaires, Institut de Chimie et Biochimie Moléculaire et Supramoléculaire, Université Lyon1 CNRS 5246 ICBMS, Bât. CPE, 43 Bd du 11 Nov., 69622 Villeurbanne, France

ARTICLE INFO

Article history:
Received 20 March 2012
Received in revised form
4 May 2012
Accepted 24 May 2012
Available online 1 June 2012

Keywords:
Biochip
Composite photoresist
Electrografting
Photopatterning

ABSTRACT

A composite photoresist has been developed for the direct photopatterning of electrodes useful as biochip substrates. The material is composed of SU-8 polymer added with graphite carbon filler which enables patterning of conductive thin films (22 μm) on both glass substrate and transparency flexible film with a standard UV photolithography protocol. The resolution obtained using the conductive composite compared well with the bare resist, with lateral resolutions of 5 and 10 μm for bare and conductive resists, respectively. The obtained electrodes, after an electrochemical pre-treatment, exhibited very good electrochemical behaviors, opening the path to various electrochemical detections and grafting possibilities.

In order to demonstrate the potentialities of the developed material in the biosensors and biochips field, DNA probes were electrografted, using diazonium chemistry, directly at the composite photoresist surface. Target oligonucleotide interactions were detected using chemiluminescent labeling and a satisfactory detection limit of 0.25 nM target sequence was demonstrated with a detection ranging over three orders of magnitude.

© 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.

1. Introduction

Photoresists are, a part of their classical photolithography applications, very attractive materials for microstructures fabrication (microfluidic channels, soft lithography masters, etc.). Indeed, these materials constitute cost-efficient approaches for the production of precisely patterned and mechanically resistant micro- and nanostructures (Psoma et al., 2010; Lee et al., 2003). Amongst all the existing photoresists, SU-8 is actually the most popular, thanks to its excellent photopatterning abilities, its compatibility with different types of lithography techniques (X-ray and UV) (Barber et al., 2005; Cremers et al., 2001) and with straightforward coating processes (spin coating and microspray (MicroChem, 2006)). In most cases, it is only used as passive substrate for microfluidic or masking for lithography, but some pioneer works also described its modification by the addition of conductive particles. Indeed, several groups have successfully modified the magnetic and electrical properties of polymers through physical incorporation of nanoparticles. For example, Jiguet et al. (2004) fabricated electrically conductive composites by dispersing silver particles (> 6 vol%) in SU-8 photoresist. The silver powder (particle size from 200 nm to 1 μm) and SU-8 mixture resulted in a thick paste that was spread on a wafer (Jiguet et al., 2005). Gunde et al. (2008) and Mionic et al. (2009) were able to successfully suspend functionalized multi-walled carbon nanotubes in SU-8 and Damean et al. (2005) physically incorporated nickel nanospheres in SU-8 for the fabrication, by spin-casting and lithography, of magnetically responsive samples. These new materials were used for the development of flexible electronics but still no proof of concept was performed to functionalize them with biomolecules. Undeniably, this type of flexible photopatterned conductive materials, acting as electrochemical sensors, shall be of great interest in the field of biosensors and biochips. This is the goal of the present study: describing the preparation of a conductive carbon-SU-8 photoresist composite retaining its full photopatterning behavior and making the proof of concept of its modification by biomolecules for optical detection of targets. In the work reported here, the conducting properties of the substrate not only permitted electrochemical measurements but also the electrografting of the probe biomolecules thanks to the aryl diazonium technology previously developed by our group (Corgier et al., 2007, 2005. As a simple model of interaction on the photopatterned substrate, electrografted oligonucleotide probes and biotinylated oligonucleotide targets were used.

2. Experimental

2.1. Reagents

Horseradish peroxidase-labeled streptavidin, polyoxyethylenesorbitan monolaureate (Tween 20), bovine serum albumin (BSA), luminol (3-aminophthalhydrazide), p-iodophenol and propylene glycol monomethyl Ether Acetate (PGMEA) were purchased from

* Corresponding author. Tel.: +33 472 43 13 69; fax: +33 472 44 79 70.
E-mail address: christophe.marquette@univ-lyon1.fr (C.A. Marquette).

0956-5663/$ - see front matter © 2012 Elsevier B.V. All rights reserved.
http://dx.doi.org/10.1016/j.bios.2012.05.026

Sigma-Aldrich (France). Sodium nitrite ($NaNO_2$) and Veronal (diethylmalonylurea sodium), hydrogen peroxide, potassium hexacyanoferrate (grade II and III) were purchased from Prolabo (France). Isopropyl alcohol was purchased from Carlo Erba (France). Probe oligonucleotide sequences (TTG AGG TGC ATG TTT GTG CC) modified with 4-aminobenzylamine (4-ABA) at the 5′-end and target oligonucleotide sequences (GG CAC AAA CAC GCA CCT CAA) biotinylated at the 5′-end and the non-complementary oligonucléotide sequences (TAC TAA CAT TGA GAT TCC CGA GAT) biotinylated at the 5′-end were purchased from Eurogentec (France). Negative tone photoresist (SU-8 2010) was purchased from Michrochem industries. Graphitic carbon filler (TIMREX®) was obtained from Timcal Industries (France). All buffers and aqueous solutions were made with MiliQ ultrapure water.

2.2. Composite preparation and spin coating

250 mg of graphitic carbon powder were vigorously mixed with 1 ml of SU-8 2010. Adding the carbon powder into the liquid resin results in important for an increase in the formulation viscosity. Thus, it is necessary to add a certain quantity of solvent (here Toluene) to control the viscosity of the composite. The SU-8 processing consists of (i) spin coating, (ii) soft baking (SB), (iii) exposure, (iv) post exposure baking (PEB) and (v) a hard baking. Briefly, 600 μl of the freshly prepared composite solution were coated by static dispense followed by spread cycle for 10 s at 500 rpm and spin cycle for 30 s at 2700 rpm, on a Piranha cleaned glass slide substrate (25 mm × 25 mm × 1.1 mm) using a Laurell WS-400-6NPP-Lite spin coater. After the spin coating, a soft baking useful for solvent evaporation is performed on a hot plate at 95 °C. The substrate is then UV exposed, using a Black-Ray Lamp from UVP (USA) to induce polymerization and completed by a post baking at 100 °C. A final hard baking process was applied at 100 °C for 5 min.

2.3. Electrochemical measurements and electrografting

A two-electrode potentiostatic setup (1.5 cm^2 platinum as pseudo-reference and 0.5 cm^2 as working electrode) was used to perform all electrochemical measurements. Cyclic voltammetry experiments in the presence of $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ were achieved in the +1.1 to −1.1 V range using a computer-controlled Multi-potentiostat VMP3 workstation (Bio-Logic, France).

Prior to electro-grafting, the ABA-oligonucleotide probe adduct was diazotated at a concentration of 3 μM in an aqueous solution of 20 mM HCl and 20 mM $NaNO_2$ for 15 min under stirring at 0 °C. The diazonium solution thus formed was then immediately used to perform electro-addressing by directly depositing a 50 μL drop of the freshly diazotated biomolecule solution onto the composite electrode. Three cyclic voltammograms were then performed on the chosen electrode of the microarray, from 0 to −1600 mV vs. Pt, at a scan rate of 200 mV/s. After deposition, the electrodes were fully rinsed with ultrapure water to remove any unbound molecules.

An additional electrochemical pre-treatment in 1 M $NaHCO_3$ was applied (+1.6 V, 5 mC) to the conducting photoresist in order to enhance its electrochemical properties (Sassolas et al., 2009).

2.4. Chemiluminescence detection

Following electro-addressing and washing, the single strand DNA modified composite surface was saturated for 8 min in VBSTA (30 mM Veronal, 0.2 M NaCl, pH 8.5 with addition of 0.1% Tween 20 and 1% BSA). Then, 35 μL of a solution of biotinylated complementary strand, at a particular concentration in VBS (30 mM Veronal, 0.2 M NaCl, pH 8.5), were left to incubate for 1 h at +37 °C and then rinsed in VBS (30 mM Veronal, 0.2 M NaCl, pH 8.5) to remove all unbound oligonucleotides. The surface was then incubated for 20 min with peroxidase-labeled streptavidin at a concentration of 0.1 μg/mL in VBSTA. At that time, the composite surface was rinsed with VBS before being placed in the CCD camera's chamber for light integration during 1 s (Las-1000 Plus, Intelligent Dark Box II, FUJIFILM). Measuring solution was composed of VBS containing 220 μM of luminol, 200 μM of p-iodophenol and 500 μM of hydrogen peroxide. The numeric micrographs thus obtained were quantified with a FUJIFILM image analysis program (Image Gauge 3.4).

3. Results

3.1. Composite characterization

SU-8 is a negative tone photoresist composed of Epikote resin and a photo-initiator, dissolved together in an organic solvent. A typical cured layer of SU-8 forms a highly cross-linked matrix resulting in a hard glass-like coating (Dellmann et al., 1998). In the present approach, graphite conducting filler was added to this insulating epoxy matrix and a transition of the composite, from insulator to conductor, was observed. Indeed, adding increasing amounts of graphite fillers to the photoresist led to the decrease of the average inter-filler distances. At a certain critical concentration, corresponding to the percolation threshold, an infinitely connected network is formed and the conductivity increases with power law dependence (Balberg et al., 2004). This transition was characterized, using cyclic voltammetry of $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$, by the apparition of characteristic oxidation and reduction peaks. Fig. 1 presents the cyclic voltammograms of bare SU-8, SU-8 plus 15% w/w filler and SU-8 plus 18% w/w filler. As expected, bare SU-8 is completely insulating and does not produce any redox peaks. On the contrary, SU-8 plus 18% w/w filler exhibits the typical $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ peaks with nevertheless a high resistivity of the system, characterized by a 1.2 V peak distance. Finally, SU-8 plus 15% w/w filler displays an intermediate behavior where only the resistivity of the photoresist is observed. Such resistivity, even for the 18% filler composite, is not compatible with the classical electrochemical measurements (cyclic voltammetry or impedance spectroscopy) where high resistance values can completely blind the experiments.

An additional electrochemical pre-treatment in 1 M $NaHCO_3$ was applied to the conducting photoresist in order to enhance its electrochemical properties. This pre-treatment is generally used

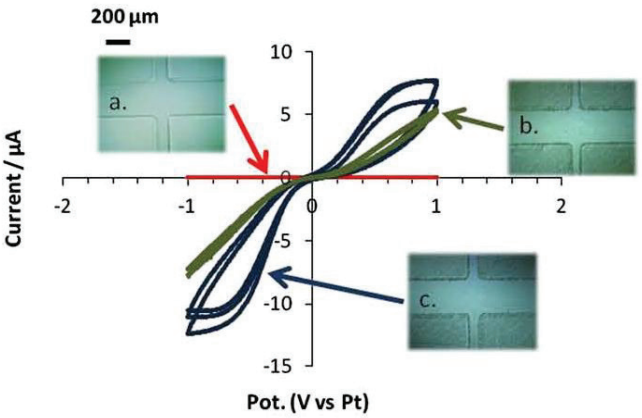


Fig. 1. Optical microscopy images of (a) photopatterned SU-8, (b) photopatterned SU-8 plus 15% w/w filler and (c) photopatterned SU-8 plus 18% w/w filler. Cyclic Voltammograms (150 mV s^{-1}) of the corresponding electrodes in 5 mM $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ in 0.1 M KCl.

for screen printed electrode (Sassolas et al., 2009), with particularly good improvement of the electron transfer between the surface and the species in solution. Fig. 2a depicts the conductivity improvement obtained following the pre-treatment. A drastic increasing of the $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ peak current was observed together with a lowering of the peak distance (0.8 V), probably due to a removal of the SU-8 from the surface of the outer graphitic particles. Moreover, such electrochemical surface treatment was already shown (Sassolas et al., 2009; Wang et al., 1996), using screen-printed electrodes, to increase surface roughness or functionalities and removes organic ink constituents or contaminants that are added in printing inks to improve their adhesion onto the substrate.

Fig. 2b presents the influence of the scan rate on the peak current density. As expected and according to the Randles–Sevcik equation, a linear relationship between this two parameters ($r^2 > 0.999$) was observed (Fig. 2b inset), with a ratio of cathodic to anodic peak current density close to one.

From a photopatterning point of view, the addition of graphite filler to the photoresist has an impact on the quality of the obtained patterns. Indeed, the higher the filler content in the photopatterned resist, the lower the resolution of the design (Fig. 3). Thus, we observed that for graphite filler contents higher than 18% w/w, the composite started losing its high resolution properties, evidenced by a complete loss of precise pattern above 24% w/w. An optimum ratio of 18% was then selected for the following studies in order to guaranty both good electrical and photopatterning properties.

3D optical profilometry was used to compare the obtained photopatterned features with the initial photomask dimension. Fig. 4 presents this mask and its typical dimensions, together with 3D profilometry images of bare and conductive SU-8. As a matter of fact, both photoresists were able to produce the original features (Fig. 4b and d. Moreover, when looking closer to the photopatterned features (Fig. 4c and e) the resolutions obtained using the bare and the conductive resists appear similar. In our

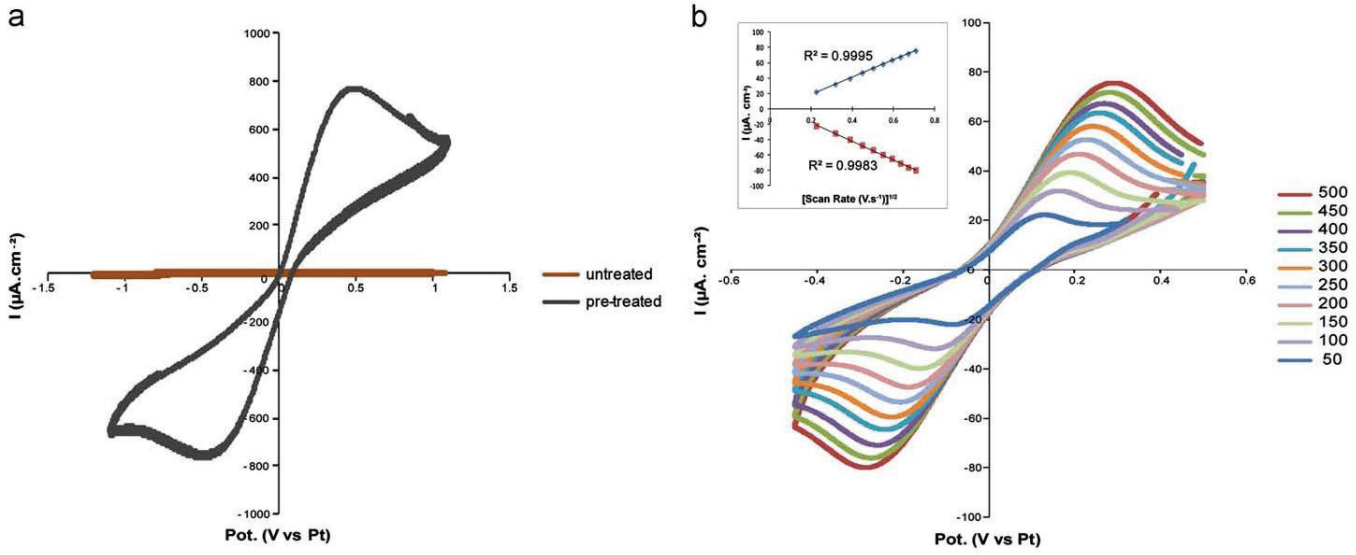


Fig. 2. (a) Voltammograms at a scan rate of 200 mV s^{-1} ($[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ 1.5 mM in VBS buffer) obtained before and after pretreatment. (b) $[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ voltammograms obtained on a pre-treated carbon SU-8 electrode for various scan rate (100–500 mV s^{-1}) in ($[Fe(CN)_6]^{3-4-}$ 150 µM in VBS buffer), inset: representation of peak intensity as a function of the scan rate.

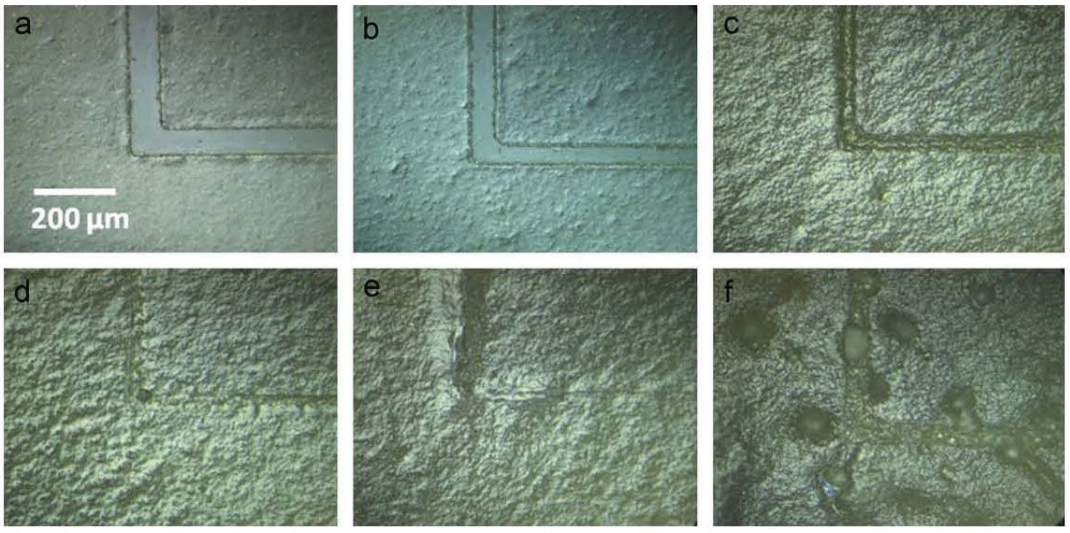


Fig. 3. Optical microscopy images (× 10) of the spin-coated SU-8-graphitic carbon films obtained at various concentrations (% w/w) of graphite filler (a) 14%, (b) 18%, (c) 21%, (d) 24%, (e) 27% and (f) 30%.

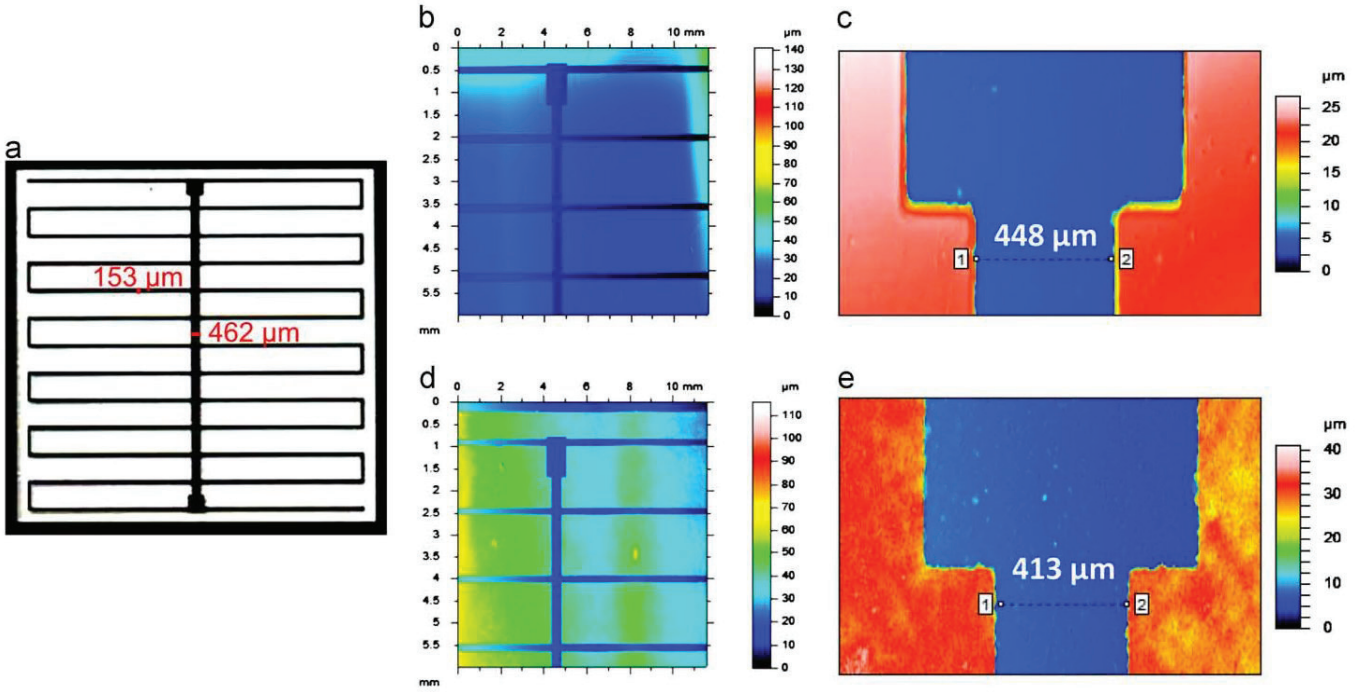


Fig. 4. 3D profilometry images of bare SU-8 (b and c) and SU-8 plus 18% w/w filler (d and e) photopatterned thin films.

experimental conditions, which are not the classical clean room facilities, the resolutions (standard deviation of a particular feature size) were 5 and 10 µm for bare and conductive resists, respectively. Such resolution is of course far from the standard sub-micron resolution of the SU-8 in clean room conditions but since comparable resolutions were obtained for both bare SU-8 and conducting SU-8, we believe that the sub-micron resolution of our conducting composite can be obtained in a clean room environment.

The thickness and roughness of the SU-8 plus 18% w/w filler polymer were also studied using optical 3D profilometry and compared to the bare SU-8 layer. The thickness of the film increased with the addition of filler, from 17 µm to 22 µm (lowest aspect ratio of 0.1), together with the roughness of the surface, from 1.3 µm to 2.8 µm (rms). Thickness increasing of the film was attributed to the raise of SU-8 viscosity when mixed with the graphite filler. Roughness change of the patterned layer was ascribed to the size of the graphite filler particles. Indeed, the graphite particles used here are of great size disparity, from 500 nm to 5 µm, leading to a relatively high film roughness.

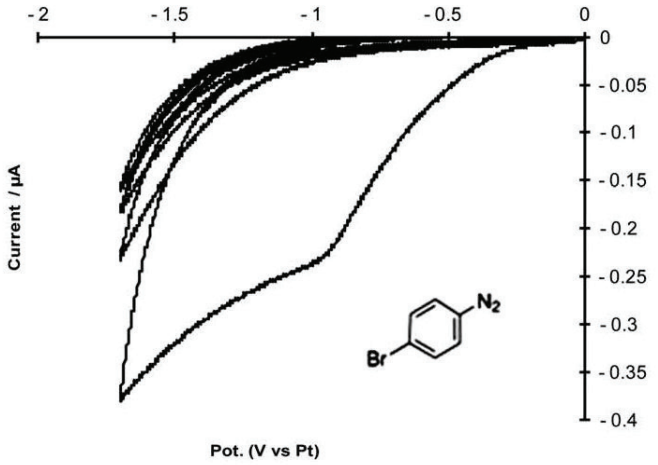


Fig. 5. Cyclic voltammograms of the cathodic reduction of 5 mM 4-bromobenzene diazonium in deionised water.

3.2. Biomolecule electro-grafting

Because the final goal of the present study is to show that conducting photoresists can be used for the immobilization and sensing of biomolecules, the ability of the new material to electro-graft aryl diazonium was evaluated. This unique electro-addressing procedure has been proven to be efficient for the immobilization of biomolecules as different as antibodies (Polsky et al., 2008), oligonucleotides and enzymes (Polsky et al., 2007). An adaptation of the technique was published in 2007 based on the modification of biomolecules with already diazotated derivatives.

In a first attempt to demonstrate the grafting possibilities of the developed composite, the well characterized 4-bromobenzene diazonium salt (Corgier et al., 2005) was used. Fig. 5 presents the cyclic voltammograms recorded during the grafting process. As a matter of fact, the classical reduction wave of aryl diazonium at −0.8 V was observed together with the typical fouling of the surface following the first deposition cycle, proof of the deposition of the molecule at the electrode surface (Laforgue et al., 2005; Lyskawa and Belanger, 2006).

In order to push further the demonstration and being able to perform biomolecule multiple interaction testing, a 8-electrode multiplex set-up was designed and photopatterned (Fig. 6a). On each of the 8 working electrodes, an aniline modified oligonucleotide probe was electrografted and incubated with its biotinylated complementary strand. The hybridization of the target was detected using chemiluminescent imaging following the labeling of the biotinylated target with a streptavidin-peroxidase conjugate (Fig. 6b).

As can be seen in Fig. 6c, specific interaction occurs between the immobilized single stranded DNA and its complementary

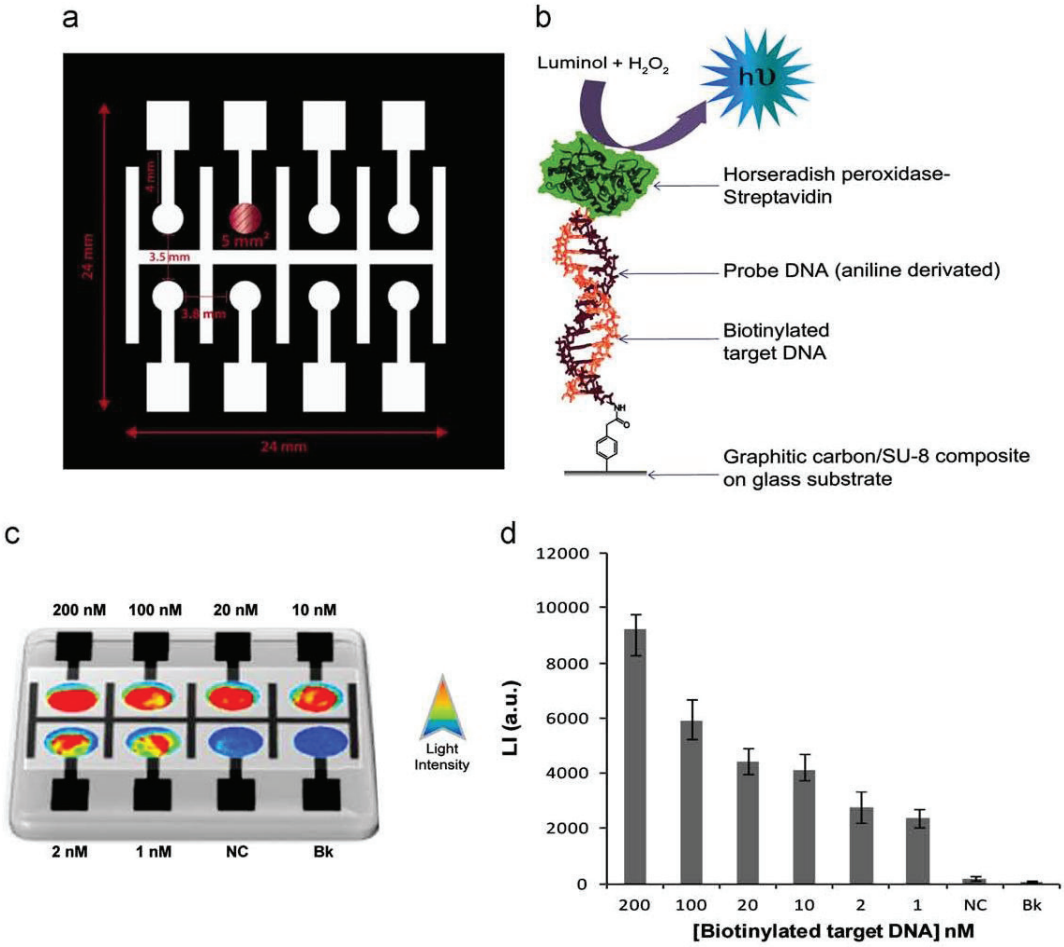


Fig. 6. (a) The 8-electrode multiplex set-up used for biomolecule grafting testing. (b) The biomolecular architecture used for the chemiluminescent detection of the target oligonucleotide sequence. (c) A typical CCD image of the 8-electrode multiplex set-up following incubation with 6 different target concentrations. The CCD image is merged with a visual image of the set-up. (d) Dose response curve obtained from the CCD images.

sequence in a 100–200 nM range. Interestingly, no signal was observed using a non-complementary target (NC 200 nM). Fig. 6d presents the chemiluminescent signal quantification obtained from the assay images. Clearly, the light intensity obtained in the presence of a non-complementary target was close to the value of the negative control (Bk) and a direct relationship between intensity and target concentration was found. The detection limit (using a signal to noise ratio of 3) of the system was found to be 0.25 nM of oligonucleotide target sequence in a 35 μL sample, corresponding to 5×10^{10} molecules. In addition, the system provides a specific detection ranging over three orders of magnitude, from 0.25 to 200 nM. These results could be compared to previous work by our group using the same p53 sequence immobilized directly onto SP carbon electrodes (Marquette et al., 2006).

4. Conclusion

In the work reported here, photopatternable conductive composite has been successfully developed using a simple and straightforward route. Substrates were prepared using a photo-negative epoxy resin matrix mixed with carbon filler. The obtained electrodes, after an electrochemical pre-treatment, exhibited very good electrochemical behaviors, opening the path to various electrochemical detections and grafting possibilities.

Finally, the electrografting of biomolecules was demonstrated using aniline modified oligonucleotide probe. The grafted probes were shown to be available for target hybridization and the material compatible with a chemiluminescent detection of the interactions.

Future developments using the present material will be focused on the grafting of different biomolecules (proteins, multiple DNA probes, enzymes) and using the electrochemical potentialities of the composite to enable electrochemical detection of targets. An interesting approach will be to replace the conductive graphite filler with semiconducting fillers, just as our group recently demonstrated using screen-printed inks (Benlarbi et al., 2010).

References

Balberg, I., Azulay, D., Toker, D., Millo, O., 2004. International Journal of Modern Physics B 18 (15), 2091–2121.
Barber, R.L., Ghantasala, M.K., Divan, R., Vora, K.D., Harvey, E.C., Mancini, D.C., 2005. Microsystem Technologies 11 (4), 303–310.
Benlarbi, M., Farre, C., Chaix, C., Lawrence, M.F., Blum, L.J., Lysenko, V., Marquette, C.A., 2010. Synthetic Metals 160 (23–24), 2675–2680.
Corgier, B.P., Laurent, A., Perriat, P., Blum, L.J., Marquette, C.A., 2007. Angewandte Chemie-International Edition 46 (22), 4108–4110.
Corgier, B.P., Marquette, C.A., Blum, L.J., 2005. Journal of the American Chemical Society 127 (51), 18328–18332.
Cremers, C., Bouamrane, F., Singleton, L., Schenk, R., 2001. Microsystem Technologies 7 (1), 11–16.

Damean, N., Parviz, B.A., Lee, J.N., Odom, T., Whitesides, G.M., 2005. Journal of Micromechanics and Microengineering 15 (1), 29–34.
Dellmann, L., Roth, S., Beuret, C., Paratte, L., Racine, G.A., Lorenz, H., Despont, M., Renaud, P., Vettiger, P., de Rooij, N.F., 1998. Microsystem Technologies 4 (3), 147–150.
Gunde, M.K., Hauptman, N., Macek, M., 2008. Micromachining and Microfabrication Process Technology XIII, M8820.
Jiguet, S., Bertsch, A., Hofmann, H., Renaud, P., 2004. Advanced Engineering Materials 6 (9), 719–724.
Jiguet, S., Bertsch, A., Hofmann, H., Renaud, P., 2005. Advanced Functional Materials 15 (9), 1511–1516.
Laforgue, A., Addou, T., Bélanger, D., 2005. Langmuir 21 (15), 6855–6865.
Lee, D.E., Chen, H.-P., Soper, S.A., Wang, W., 2003. Microfluidics, BioMEMS, and Medical Microsystems, 1st ed. SPIE, San Jose, CA, USA, pp. 264–271.
Lyskawa, J., Belanger, D., 2006. Chemistry of Materials 18 (20), 4755–4763.
Marquette, C.A., Lawrence, M.F., Blum, L.J., 2006. Analytical Chemistry 78 (3), 959–964.
MicroChem, 2006. MicroSpray SU-8 datasheet.
Mionic, M., Jiguet, S., Judelewicz, M., Forro, L., Magrez, A., 2009. Physica Status Solidi B: Basic Solid State Physics 246 (11–12), 2461–2464.
Polsky, R., Harper, J.C., Dirk, S.M., Arango, D.C., Wheeler, D.R., Brozik, S.M., 2007. Langmuir 23 (2), 364–366.
Polsky, R., Harper, J.C., Wheeler, D.R., Dirk, S.M., Arango, D.C., Brozik, S.M., 2008. Biosensors and Bioelectronics 23 (6), 757–764.
Psoma, S.D., van der Wal, P.D., Frey, O., de Rooij, N.F., Turner, A.P.F., 2010. Biosensors and Bioelectronics 26 (4), 1582–1587.
Sassolas, A., Blum, L.J., Leca-Bouvier, B.D., 2009. Sensors and Actuators B: Chemical 139 (1), 214–221.
Wang, J., Pedrero, M., Sakslund, H., Hammerich, O., Pingarron, J., 1996. Analyst 121 (3), 345–350.

Résumé

Ce travail a permis dans un premier temps, l'élaboration de composites semi-conducteurs à base de nano-objets possédant des caractéristiques électrochimiques spécifiques en fonction du type d'inclusion (silicium dopé N ou dopé P et oxydes métalliques, ZnO, SnO_2, NiO). Ces composites ont permis d'obtenir avec succès des encres de sérigraphie présentant un comportement électrique semi-conducteur qui ont servi à la réalisation d'électrodes par dépôt sur divers supports et notamment des films plastiques souples. La modification chimique des supports réalisés a été étudiée en vue de pouvoir utiliser ce type de matériau comme transducteurs électrochimiques en les intégrant dans des dispositifs de types capteurs et biocapteurs. Dans un second temps, un composite photostructurable conducteur a également été développé en se basant sur la technologie SU-8, et en y incluant des particules de graphite ou des nanoparticules de carbone noir. Ce photocomposite a été par la suite fonctionnalisé avec succès par des dérivés diazonium, tel que le bromobenzène diazonium ou le nitrobenzène diazonium dont les greffages ont été suivis par spectroscopie d'impédance. Enfin, le greffage d'oligonucléotides via la chimie des sels d'aryldiazonium a également été effectué avec succès et utilisé pour la détection de séquences cibles à des concentrations de 100 pM à 200 nM.

Title

Study of conducting and semiconducting composites: electrochemical transducers for biosensors

Abstract

The first part of this study report the development of semiconducting composites consisting of semiconducting nano-objects (N doped, P doped silicon or metals oxides, ZnO, SnO_2, NiO) held together in an insulating polymeric matrix and exhibiting typical semiconductor impedance signals according to the charge used and with clear differentiation between the two fundamental type of semiconductor, n-type and p-type. This new composites have been used as screen-printing ink. Electrodes on various substrates (PVC, glass) have been successfully prepared following this cost-effective method. Surface functionalization of these electrodes by chemicals compounds and biomolecules was studied using impedance spectroscopy and chemiluminescent detection in order to assess their integration as electrochemical transducers in sensors and biosensors microdevices.

The second part of this work consisted in photopatternable conductive composite elaboration using a simple and straightforward route based on SU-8 epoxy-based negative photoresist matrix mixed with carbon filler. The electrodes, obtained by the classical photolithography method, and after an electrochemical pre-treatment, exhibited very good electrochemical behaviors, opening the path to various electrochemical detections and grafting possibilities. Finally, the direct electrografting of biomolecules was demonstrated using aniline modified oligonucleotide probes. The grafted probes were shown to be available for target hybridization and the material compatible with a chemiluminescent detection of the interactions between the immobilized single stranded DNA and its complementary sequence in a 100 pM to 200 nM range.

Discipline ***Biochimie-Génie biologique***

Mots clés *: nanoparticules, semi-conducteurs, composite photostructurable, fonctionnalisation, spectroscopie d'impédance électrochimique, sérigraphie, photolithographie, biocapteurs.*

Keywords*: semiconducting nanoparticles, composite photoresist, electrochemical impedance spectroscopy, surface functionalization, screen printing, photolithography, biochip.*

Laboratoire d'accueil

Equipe Génie enzymatique membrane biomimétique et assemblage supramoléculaire
Institut de Chimie et Biochimie Moléculaire et supramoléculaire
UMR Université Claude Bernard Lyon 1- CNRS 5246 ICBMS
Bâtiment Curien, 43 bd du 11 Novembre 1918, 69622 Villeurbanne Cedex, France