POLYPUBLIE
Polytechnique Montréal

POLYTECHNIQUE MONTRÉAL
UNIVERSITÉ D'INGÉNIERIE

Titre: Title:	Biocapteur ampérométrique intégré pour une unité de détection dédiée aux neurotransmetteurs
Auteur: Author:	Geneviève Massicotte
Date:	2013
Type:	Mémoire ou thèse / Dissertation or Thesis
Référence: Citation:	Massicotte, G. (2013). Biocapteur ampérométrique intégré pour une unité de détection dédiée aux neurotransmetteurs [Mémoire de maîtrise, École Polytechnique de Montréal]. PolyPublie. https://publications.polymtl.ca/1319/

Document en libre accès dans PolyPublie
Open Access document in PolyPublie

URL de PolyPublie: PolyPublie URL:	https://publications.polymtl.ca/1319/
Directeurs de recherche: Advisors:	Mohamad Sawan
Programme: Program:	génie électrique

Ce fichier a été téléchargé à partir de PolyPublie, le dépôt institutionnel de Polytechnique Montréal
This file has been downloaded from PolyPublie, the institutional repository of Polytechnique Montréal

https://publications.polymtl.ca

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

BIOCAPTEUR AMPÉROMÉTRIQUE INTÉGRÉ POUR UNE UNITÉ DE DÉTECTION DÉDIÉE AUX NEUROTRANSMETTEURS

GENEVIÈVE MASSICOTTE
DÉPARTEMENT DE GÉNIE ÉLECTRIQUE
ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

MÉMOIRE PRÉSENTÉ EN VUE DE L'OBTENTION
DU DIPLÔME DE MAÎTRISE ÈS SCIENCES APPLIQUÉES
(GÉNIE ÉLECTRIQUE)
DÉCEMBRE 2013

© Geneviève Massicotte, 2013.

UNIVERSITÉ DE MONTRÉAL

ÉCOLE POLYTECHNIQUE DE MONTRÉAL

Ce mémoire intitulé :

BIOCAPTEUR AMPÉROMÉTRIQUE INTÉGRÉ POUR UNE UNITÉ DE DÉTECTION DÉDIÉE AUX NEUROTRANSMETTEURS

présenté par : MASSICOTTE Geneviève
en vue de l'obtention du diplôme de : Maîtrise ès sciences appliquées
a été dûment accepté par le jury d'examen constitué de :

M. ZHU Guchuan, Doct., président
M. SAWAN Mohamad, Ph.D., membre et directeur de recherche
M. MARTEL Sylvain, Ph.D., membre

À Romain, Jean
et à mes parents...

REMERCIEMENTS

Je tiens d'abord à remercier mon directeur de recherche, Pr. Mohamad Sawan, pour m'avoir donné l'opportunité de travailler sur un sujet de travail multidisciplinaire et rempli de défis, ainsi que d'avoir cru en mes capacités. Mes remerciements s'adressent ensuite au Pr. Guchuan Zhu et au Pr. Sylvain Martel pour avoir accepté de faire partie du jury d'examen de mon mémoire.

Plusieurs personnes ont contribué de près ou de loin à ce mémoire. Je remercie particulièrement le Dr. Sandro Carrara du laboratoire LSI de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne pour son partage de connaissances reliées au domaine des biocapteurs électrochimiques et aux nanotubes de carbone. Merci à Faycal Mounaim pour ses précieux conseils en matière de conception microélectronique, nos nombreux échanges constructifs sur des sujets en tous genres et son amitié. Merci à Amine Miled pour son initiation aux laboratoires sur puce. Je remercie également les techniciens du département de génie électrique, particulièrement Laurent Mouden pour ses doigts de fées et Jacques Desjardins pour sa disponibilité, ainsi que la secrétaire Marie-Yannick. Merci à Réjean Lepage pour le support informatique efficace et son divertissement quotidien.

J'adresse ensuite mes remerciements à mes collègues de l'équipe Polystim qui ont su créer une bonne ambiance au sein du laboratoire. Je pense à Bahareh, Ali, Marzieh, Jérôme, Nadia, Nicolas, Aref, Masood, Zied, Hassan, Mahya, Ghazal, Mohamed, Marjan, Yushan, Arash et spécialement à Sami pour tous nos moments de fous rires.

Merci à mes parents pour leur support tout au long de mes études. Enfin, un énorme merci à Romain pour son soutien continu à travers les hauts et les bas de cette expérience, sa rationalité et son amour.

RÉSUMÉ

La signalisation chimique intercellulaire façonnée par l'interaction des neurotransmetteurs joue un rôle capital dans le fonctionnement des processus cérébraux. L'analyse de l'activité neuronale chimique en temps réel dans toute sa complexité aiderait les neuroscientifiques à comprendre les mécanismes du cerveau humain et de ses pathologies neurodégénératives. Les systèmes actuellement employés dans les laboratoires de neuroscience sont limités dans leur capacité à fournir des mesures précises et adaptées aux évènements hétérogènes associées à l'activité de plusieurs neurotransmetteurs. Pour ce faire, le laboratoire de neurotechnologies Polystim envisage la conception d'un laboratoire sur puce (LSP) implantable, dédié au monitorage des substances neurochimiques circulant dans l'espace intercellulaire cérébral.

Ce mémoire propose une unité de détection électrochimique associée à un tel système et conçue pour la quantification des neurotransmetteurs du liquide intercérébral. Nous proposons une architecture composée de biocapteurs utilisant un potentiostat intégré avec la technologie CMOS comme transducteur et des électrodes de mesure fonctionnalisées avec des nanotubes de carbone pour une détection sensible et sélective.

Le potentiostat intégré proposé génère des mesures de temps facilement traitables numériquement qui sont proportionnelles aux courants d'oxydo-réduction produits à l'interface des électrodes de mesure. Sa configuration quantifie séparément les courants d'oxydation et de réduction à l'aide de deux canaux de mesures, selon une technique d'ampérometrie à tension constante. L'architecture est composée d'un amplificateur, d'un comparateur haute vitesse et d'un convertisseur numérique à analogique (*Digital to Analog Converter*—DAC). Ce dernier est partagé entre les deux canaux de sorte à réduire le temps de mesure total en fonction de l'amplitude des courants détectés. Cette topologie procure un compromis entre la plage dynamique d'entrée, la fréquence d'échantillonnage et la résolution de mesures, trois paramètres importants pour accommoder la détection et la quantification d'une grande variété de neurotransmetteurs en temps-réel. Afin de valider le prototype du potentiostat implémenté, une plateforme multi-électrodes de mesure est fabriquée et fonctionnalisée avec des films composites à base de nanotubes de carbone (*Carbon Nanotubes*—CNT), pour une détection sélective à la dopamine et au glutamate, deux neurotransmetteurs communs.

Le circuit intégré du potentiostat est implémenté avec la technologie 0,13 µm CMOS d'IBM. Un circuit imprimé (*Printed Circuit Board*—PCB) comprenant un FPGA pour la gestion des signaux de contrôle et l'acquisition des données a été fabriqué pour la caractérisation expérimentale du circuit. Malgré une non-linéarité du DAC intégré fabriqué, des courants d'oxydation et de réduction d'une plage de 600 nA à 20 pA à une fréquence d'échan-

tillonnage minimale de 1,25 kHz ont pu être mesurés expérimentalement en utilisant un DAC commercial externe. Également, le biocapteur formé du potentiostat fabriqué et de la plateforme d'électrodes fonctionnalisées est validé par des mesures biologiques en milieu *in vitro* concluantes pour différentes concentrations de dopamine et de glutamate en solution, en termes de sensibilité et de sélectivité des mesures ampérométriques obtenues. Ces résultats fondent la preuve de concept du biocapteur proposé comme composant de base de l'unité de détection.

ABSTRACT

Intercellular chemical signaling shaped by the interaction of neurotransmitters plays a crucial role in the functioning of brain processes. The analysis of chemical neural activity in real time in all its complexity would help neuroscientists understand the mechanisms of the human brain and its neurodegenerative diseases. Systems currently used in neuroscience laboratories are limited in their ability to provide accurate and appropriate measurements to the heterogeneous events associated with the activity of several neurotransmitters. Polystim Neurotechnologies Laboratory is therefore designing an implantable Lab on Chip (LOC) dedicated to the monitoring of neurochemicals circulating in the brain's intercellular space, that provides the needed features.

This thesis presents an electrochemical detection unit associated with such system, designed for the quantification of neurotransmitters in the intracerebral liquid. We propose an architecture composed of biosensors using a potentiostat integrated with CMOS technology as transducer, and measuring electrodes with functionalized carbon nanotubes for sensitive and selective measurements.

The proposed integrated potentiostat generates time measurements easily treatable digitally, which are proportional to *redox* currents produced at the interface of the measuring electrodes. Its configuration separately quantizes oxidation and reduction currents by using two measuring channels, according to a constant voltage amperometry technique. The architecture consists of an amplifier, a high-speed comparator and a digital-to-analog converter (DAC). The latter is shared between the two channels in order to reduce the total measurement time as a function of the detected currents amplitude. This topology provides a compromise between the input dynamic range, sampling frequency and resolution measurements, three important parameters to accommodate the detection and quantification of a wide variety of neurotransmitters in real time. To validate the prototype of the implemented potentiostat, a multi-electrode measuring platform is fabricated and functionalized with composite films based on carbon nanotubes (CNTs), for dopamine and glutamate, two common neurotransmitters, selective detection.

The potentiostat integrated circuit is implemented with IBM 0.13 µm CMOS technology. A printed circuit board (PCB) containing an FPGA managing control signals and data acquisition, was made to experimentally characterize the fabricated circuit. Despite the nonlinearity of the manufactured integrated DAC, oxidation and reduction currents ranging from 600 nA to 20 pA at a minimum sampling frequency of 1.25 kHz could be measured experimentally using an external commercial DAC. Also, the biosensor formed by the potentiostat

and the functionalized electrodes platform is validated by conclusive *in vitro* biological measurements of dopamine and glutamate in solutions, in terms of sensitivity and selectivity. These results forms the proof of concept of the proposed biosensor as the base component of the detection unit.

TABLE DES MATIÈRES

DÉDICACE iii

REMERCIEMENTS iv

RÉSUMÉ v

ABSTRACT vii

TABLE DES MATIÈRES ix

LISTE DES TABLEAUX xii

LISTE DES FIGURES xiii

LISTE DES ANNEXES xviii

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS xix

INTRODUCTION 1

CHAPITRE 1 ACTIVITÉ NEURONALE CHIMIQUE ET MÉTHODES DE DÉTECTION *in vivo* 4

1.1 Considérations biologiques 4

1.1.1 Neurone 4

1.1.2 Cortex cérébral 5

1.1.3 Communication neuronale 6

1.1.4 Propriétés des neurotransmetteurs 7

1.1.5 Composition du liquide intercellulaire cérébral 8

1.1.6 Résumé des principales caractéristiques de l'activité chimique neuronale 9

1.2 Méthodes de détection *in vivo* des neurotransmetteurs 9

1.2.1 Microdialyse 10

1.2.2 Voltammétrie 11

CHAPITRE 2 REVUE DE LA LITTÉRATURE 16

2.1 Revue des microsystèmes dédiés à la détection des neurotransmetteurs 16

2.1.1 Microsystèmes à microdialyse rapide 16

2.1.2 Biocapteurs électrochimiques CMOS 17
2.2 Justification du type de détection choisie 22
2.3 Élaboration du potentiostat 24
2.3.1 Spécifications du potentiostat 24
2.3.2 Choix de la configuration d'électrodes 25
2.3.3 Revue des potentiostats CMOS à deux électrodes 27

CHAPITRE 3 ARCHITECTURE DE L'UNITÉ DE DÉTECTION ET CONCEPTION DU POTENTIOSTAT PROPOSÉ 35
3.1 Vue d'ensemble du système laboratoire sur puce 35
3.1.1 Unité de manipulation et architecture microfluidique 38
3.1.2 Unité de détection proposée 39
3.2 Architecture globale et fonctionnement du potentiostat 41
3.2.1 Étage d'amplification *cascode* régulé 44
3.2.2 Comparateur 48
3.2.3 Convertisseur numérique à analogique 52
3.2.4 Module de contrôle numérique et variation de V_{ref} 57
3.3 Analyse des limitations du design et optimisation 58
3.3.1 Erreur sur la mesure 58
3.3.2 Variation de V_{ref}(t) 59
3.3.3 Bruit à l'entrée du système 61

CHAPITRE 4 PLATEFORME MULTI-WE 63
4.1 Architecture du capteur multi-analyte 63
4.2 Revêtement chimique 64
4.2.1 Traitement des microélectrodes avec nanotubes de carbone 64
4.2.2 Composition des revêtements 65
4.3 Caractérisation avec un potentiostat de laboratoire 67
4.3.1 Fonctionnalisation des électrodes 67
4.3.2 Résultats expérimentaux avec potentiostat de laboratoire 67

CHAPITRE 5 IMPLÉMENTATION ET RÉSULTATS 71
5.1 Implémentation du potentiostat 71
5.1.1 Simulations *post-layout* du potentiostat 72
5.1.2 Résultats expérimentaux et de simulation 73
5.1.3 Comparaison des designs 79
5.2 Résultats expérimentaux du système avec tests biologiques 80

5.2.1 Comparaison des réponses ampérométriques expérimentales 80

CHAPITRE 6 DISCUSSION GÉNÉRALE 84
6.1 Retour sur le potentiostat fabriqué 84
6.1.1 Conception des puces 84
6.1.2 Caractérisation expérimentale et erreurs de fabrication 85
6.1.3 Implémentation de la fonction V_{ref}(t) 85
6.2 Retour sur la caractérisation expérimentale de la plateforme multi-WE 86
6.3 Travaux futurs 87
6.3.1 Améliorations du potentiostat intégré 87
6.3.2 Intégration du biocapteur dans un LSP 87

CONCLUSION 89

RÉFÉRENCES 91

ANNEXES 97

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1.1 Caractérisation des neurotransmetteurs principaux, selon (Robert *et al.* (1998) et Robinson *et al.* (2008)) 8

Tableau 1.2 Composition ionique du liquide intercellulaire cérébral, selon (Robertson (2010)) 9

Tableau 3.1 Performances électriques simulées de l'amplificateur. 47

Tableau 3.2 Performances électriques simulées du comparateur. 52

Tableau 3.3 Traduction du code binaire en code thermomètre. 53

Tableau 3.4 Performances électriques simulées du DAC. 56

Tableau 5.1 Comparaison des performances. 80

LISTE DES FIGURES

Figure 1.1 Modèle du neurone. Modifié à partir de Long (2003) 4
Figure 1.2 (a) Canaux ioniques membranaires, tiré de Harvey-Girard (2005). (b) Variation temporelle et phases principales d'un potentiel d'action. . . . 5
Figure 1.3 (a) Cerveau humain. (b) Couches neuronales du cortex cérébral. 6
Figure 1.4 Synapse chimique. 7
Figure 1.5 Canule typique utilisée pour la microdialyse cérébrale et section élargie de la canule, constituée d'une membrane semi-perméable. Modifié de Robertson (2010). 10
Figure 1.6 Principe de la voltammétrie *in vivo* cérébrale. Une forme d'onde de tension triangulaire est appliquée à une microélectrode en fibre de carbone implantée dans le liquide cérébral extracellulaire d'une région ciblée, induisant l'oxydation et la réduction subséquente de la dopamine. Modifié de (Robinson *et al.* (2008)). 12
Figure 1.7 Étapes d'une réaction électrochimique générale à l'interface d'une électrode. Modifié de (Bard et Faulkner (2000)). 13
Figure 1.8 Forme d'onde de tension appliquée (bas) et la réponse du courant mesuré à l'électrode de mesure en fonction du temps (haut) pour la technique correspondante (a) d'ampérométrie à tension constante (b) de chronoampérometrie rapide et (c) FSCV. Tirée de (Michael et Wightman (1999)). 14
Figure 1.9 Principe général d'une réaction enzymatique. 15
Figure 2.1 (a) Dispositif à 2 puces microfluidiques proposé par (Wang *et al.* (2009)). (b) Approche proposé par (Song *et al.* (2012)). 17
Figure 2.2 Composants généraux d'un biocapteur électrochimique intégré typique. 18
Figure 2.3 Biocapteur intégré implantable, selon le groupe Thakor : (a) Concept envisagé (Murari *et al.* (2005a)). (b) Schéma des composants du biocapteur implantable proposé par (Mollazadeh *et al.* (2006)). 19
Figure 2.4 Microsystème voltammétrique proposé par Nazari *et al.* (2013). (a) Micrographe du potentiostat intégré de 96 canaux et des microélectrodes. (b) Chambre fluidique pour la détection de dopamine. 20
Figure 2.5 Capteur capacitif proposé par (Lu *et al.* (2010)).(a) Principe d'opération pour une détection de la dopamine. (b) Micrographe des électrodes de mesures CMOS. 21

Figure 2.6 (a) ISFET de type-p pour la détection de dopamine. (b) Micrographe du dispositif ISFET et son circuit de lecture CMOS intégré sur puce (Li *et al.* (2010)). 22
Figure 2.7 Potentiostat à configuration de (a) deux-électrodes (b) trois-électrodes. 25
Figure 2.8 Modèle électrique simplifié de la configuration à deux électrodes. 26
Figure 2.9 Potentiostat proposé par Turner *et al.* (1987) : (a) Schéma-bloc. (b) Circuit CMOS 27
Figure 2.10 Potentiostat proposé par Kakerow *et al.* (1995) : (a) Étage d'entrée avec intégrateur programmable. (b) Étage d'amplification avec amplificateur à capacités commutées. 28
Figure 2.11 Schéma-bloc du potentiostat proposé par Breten *et al.* (2000) 30
Figure 2.12 Schéma-bloc du potentiostat implémenté par Ayers *et al.* (2007). 30
Figure 2.13 Convoyeur de courant et miroir de courant à gain programmable proposé par (Bandyopadhyay *et al.* (2002)). 31
Figure 2.14 Potentiostat proposé par Narula et Harris (2006). (a) Schéma-bloc du circuit. (b) Tension aux bornes de la capacité de mesure versus le temps de décharge qui dépend de l'amplitude du courant d'entrée. 32
Figure 2.15 Potentiostat proposé par le groupe de Thankor. (a) Schéma-bloc simplifié du circuit (Stanacevic *et al.* (2007)). (b) Schéma-bloc de l'ADC sigma-delta (Murari *et al.* (2004)). 33
Figure 3.1 (a) Diagramme-bloc général des unités principales du système LSP actuel. (b) Schéma de la disposition simplifiée des composants du système LSP. 36
Figure 3.2 Concept général du système LSP proposé. 37
Figure 3.3 Graphique de la partie réelle du facteur Clausius-Mossotti déterminant la direction de la F_{DEP}. 38
Figure 3.4 Disposition proposée de l'unité de détection dans le LSP. 41
Figure 3.5 Architecture du potentiostat proposé (Massicotte et Sawan (2013)). . . 42
Figure 3.6 Différentes tensions aux bornes de la capacité de mesure $V_c(t)$ (traces colorées) en fonction du temps de mesure pour différentes amplitudes de courants *redox*, avec une variation de V_{ref} au cours du temps (µs) : (a) fixé à 1V, (b) selon une fonction quadratique. 43
Figure 3.7 Étage RCA associé (a) au circuit 1 (RCA 1) et (b) au circuit 2 (RCA 2). 45
Figure 3.8 (a) Amplificateur *folded cascode-Miller* et (b) son circuit de polarisation. 46
Figure 3.9 Masque de l'amplificateur. 47

Figure 3.10 (a) Comparateur de type Class-AB *latch* et (b) son principe de fonctionnement. 49
Figure 3.11 Comparateur class-AB et circuit de verrouillage (*latch*) modifié pour une réduction du bruit *kickback*. 50
Figure 3.12 (a) Circuit de test du bruit *kickback*. (b) Simulation avec et sans le circuit de réduction du bruit *kickback*, avec une horloge de 50 MHz. . . 51
Figure 3.13 Masque du comparateur. 52
Figure 3.14 Unité de 2-bits. (a) Sources de courant. (b) Décodeur thermomètre. . . 53
Figure 3.15 (a) Topologie du DAC 8-bit. (b) Circuit des S/H et du DAC. 54
Figure 3.16 Simulation de la courbe de transfert du DAC, avec et sans circuits S/H, versus la fonction idéale, à partir des masques extraits. 55
Figure 3.17 Simulation de la courbe de transfert du DAC, avec et sans circuits S/H, versus la fonction idéale, à partir des masques extraits. 56
Figure 3.18 Masque du DAC (gauche) et du circuit S/H (droite). 56
Figure 3.19 (a) Algorithme d'échantillonnage simplifié et (b) les signaux digitaux correspondants. 57
Figure 3.20 Fonctions V_{ref}(t) de second degré ou moins comparées. 60
Figure 3.21 Erreur relative sur la mesure de courant pour les quatre fonctions de V_{ref}(t) comparées (a) de 0 à 40 % et (b) de 0 à 7 %. 60
Figure 3.22 Simulation du bruit équivalent en entrée ($\overline{In_{eq}{}^2}$) en fonction de la fréquence. 61
Figure 4.1 (a) Architecture de la plateforme multi-WE. (b) Image optique de la plateforme fabriquée. 63
Figure 4.2 Principe d'une biodétection assistée par des CNT. Modifié de Carrara *et al.* (2012). 65
Figure 4.3 Composition des revêtements à base de CNT des capteurs dédiés à la détection de dopamine et ceux dédiés à la détection de glutamate, ainsi que les réactions *redox* respectives survenant à l'interface des WE (Massicotte *et al.* (2013)). 66
Figure 4.4 Plateforme fonctionnalisée avec les films à base de CNT : Nafion-MWCNT sur WE1, WE3 et WE5 et MDB-CHIT-MWCNT-GLDH sur WE2 et WE4 (Massicotte *et al.* (2013)). 67
Figure 4.5 Montage expérimental pour la caractérisation de la plateforme multi-WE (1), avec un bécher (2), une plaque d'agitation magnétique (3), un interrupteur manuel (4), un potentiostat de laboratoire (5) et un ordinateur (6). 68

Figure 4.6 (a) Courbe temps-courant typique d'un capteur dédié à la dopamine et (b) sa courbe de calibration (Massicotte *et al.* (2013)). 69
Figure 4.7 (a) Courbe temps-courant typique d'un capteur dédié au glutamate et (b) sa courbe de calibration (Massicotte *et al.* (2013)). 69
Figure 4.8 Détection sans interférence des capteurs dédiés à la dopamine (haut) et au glutamate (bas) (Massicotte *et al.* (2013)). 70
Figure 5.1 Dessin de masques du potentiostat proposé, d'une aire totale de 0.15 μm^2. 71
Figure 5.2 Simulations des signaux principaux du circuit après extraction des masques, pour quatre mesures de courant entrant (200 nA, 20 nA, 1 nA et 200 pA), se succédant à une fréquence de 1,25 kHz. (a) Courants d'oxydation. (b) Courants de réduction. 72
Figure 5.3 Schéma résumant le banc de test réalisé pour la caractérisation de la puce fabriquée. 73
Figure 5.4 Courbe de transfert du DAC intégré obtenue expérimentalement. . . . 74
Figure 5.5 Signaux principaux du circuit recueillis à l'oscilloscope pour des mesures de temps expérimentales. Mesure individuelle (a) d'un courant d'oxydation de 20 pA et (b) d'un courant de réduction de 20 pA. Plusieurs mesures successives à une fréquence de 1,25 kHz (c) de courants d'oxydation de 20 pA et (d) de courants de réduction de 20 pA. À partir du haut vers le bas, la tension V_{ref} générée par le DAC, la sortie du comparateur et le signal *Reset*. 75
Figure 5.6 Mesures de temps expérimentales en fonction d'un courant externe fixé à l'entrée du système. 76
Figure 5.7 Mesures de courant en fonction d'un courant externe fixé à l'entrée du système. 77
Figure 5.8 (a) Résolution et (b) erreur sur les mesures de courant *redox* recueillies expérimentalement. 77
Figure 5.9 Consommation de puissance pour différents courants d'oxydation (rouge) et de réduction (bleu) en fonction des mesures de temps (Massicotte et Sawan (2013)). 79
Figure 5.10 Montage expérimental des tests biologiques avec interface usager. . . . 81
Figure 5.11 Courbe courant-temps typique recueillie avec le potentiostat intégré conçu, pour un capteur (a) dédié à la dopamine et (b) dédié au glutamate. 81

Figure 5.12 Comparaison des courbes de calibration obtenues pour une détection avec le potentiostat intégré conçu (bleu) et avec le potentiostat de laboratoire (rouge) pour (a) la dopamine et (b) le glutamate. 82
Figure A.1 Courbe caractéristique d'un transistor NMOS à taille minimale. 97
Figure A.2 Courbe caractéristique d'un transistor PMOS à taille minimale. 97
Figure B.1 Courbe de calibration typique. 98
Figure C.1 Empreinte de la couche supérieure. 100
Figure C.2 Empreinte de la couche d'alimentation. 100
Figure C.3 Empreinte de la couche de masse. 101
Figure C.4 Empreinte de la couche inférieure. 101
Figure C.5 PCB fabriqué et assemblé pour les tests. 102

LISTE DES ANNEXES

Annexe A COURBES CARACTÉRISTIQUES DES TRANSISTORS DE LA TECHNOLOGIE IBM 0,13 µm 97
Annexe B DÉFINITIONS RELIÉES À LA CARACTÉRISATION DE LA RÉPONSE AMPÉROMÉTRIQUE 98
Annexe C EMPREINTES DU PCB DE TEST 100

LISTE DES SIGLES ET ABRÉVIATIONS

ADC	Analog to Digital Converter (Convertisseur analogique à numérique)
CE	Counter Electrode (Contre électrode)
CHIT	Chitosane
CMOS	Complementary metal-oxide semiconductor (Semi-conducteur à oxyde métallique complémentaire)
CNS	Central Nervous System (Système nerveux central)
CNT	Carbon Nanotubes (Nanotubes de carbone)
CV	Cyclic Voltammetry (Voltammétrie cyclique)
DAC	Digital to Analog Converter (Convertisseur numérique à analogique)
DM	Digital Module (Module de contrôle numérique)
DEP	Diélectrophorèse
DNL	Differential Nonlinearity (Nonlinéarité différentielle)
ENFET	Enzyme Field Effect Transistor (Transistor à effet de champ avec enzyme)
FET	Field Effect Transistor (Transistor à effet de champ)
FOM	Figure de mérite
FPGA	Field Programmable Gate Array (Circuits prédiffusés programmables)
FSCV	Fast Scan Cyclic Voltammetry (Voltamétrie cyclique à scan rapide)
GLDH	Glutamate déshydrogénase
INL	Integral Nonlinearity (Nonlinéarité intégrale)
ISFET	Ion Sensitive Field Effect Transistor (Transistor à effet de champ sensible aux ions)
LSP	Laboratoire sur puce
MDB	Meldola's blue (Bleu de meldola)
MUX	Multiplexeur
MWCNT	Multi-Walled Carbon Nanotubes (Nanotubes de carbone multi-feuillet)
NADH	Nicotinamide Adenine Dinucléotide
NMOS	N-channel Metal-Oxide Semiconductor (Semiconducteur métal-oxyde à canal N)
OTA	Operational Transconductance Amplifier (Amplificateur opérationnel à transconductance)
PBS	Phosphate Buffer Solution (Solution tampon de phosphate)
PCB	Printed Circuit Board (Circuit imprimé)

PMOS	P-channel Metal-Oxide Semiconductor (Semiconducteur métal-oxyde à canal P)
RCA	Regulated Cascode Amplifier (Amplificateur *cascode* régulé)
RE	Reference Electrode (Électrode de référence)
S/H	Sample and Hold (Circuit échantillonneur-bloqueur)
SWCNT	Single-Walled Carbon Nanotubes (Nanotubes de carbone simple-feuillet)
WE	Working Elecrode (Électrode de mesure)

INTRODUCTION

Le cerveau humain est constitué d'une centaine de milliards de cellules nerveuses, modulant les signaux électriques nécessaires à l'ensemble des activités complexes qu'il supporte. Des fonctions cognitives aux fonctions sensorielles, le traitement des données cérébrales permettant à l'humain d'interagir et de s'adapter au monde externe implique une communication neuronale des plus sophistiquées. La signalisation chimique intercellulaire façonnée par l'interaction des neurotransmetteurs joue un rôle capital dans le fonctionnement des réseaux neuronaux au cœur des processus cérébraux. Au cours des récentes décennies, les mesures de l'activité neurochimique ont amélioré considérablement notre compréhension des relations existantes entre la chimie et le système nerveux central (*Central Nervous System*—CNS) de l'humain. Ceci a entre autre permis d'établir qu'une neurotransmission anormale serait, selon plusieurs études neuroscientifiques, en lien avec des pathologies neurodégénératives ou psychiatriques, telles que l'Alzheimer, l'épilepsie, la Schizophrénie et la dépression. Le monitorage de la dynamique *in vivo* des neurotransmetteurs de l'espace extracellulaire du CNS via l'utilisation de microélectrodes ou de méthodes d'échantillonnage tel que la microdialyse a contribué significativement à ces études. Cependant, la performance de ces techniques demeure limitée dans leur capacité à fournir des mesures précises, sélectives, rapides et adaptées aux évènements hétérogènes associées à l'activité de plusieurs neurotransmetteurs, sans compter leur difficulté de miniaturisation. Les progrès constants en termes de techniques de microfabrication permettent le développement de microsystèmes de plus en plus complexes et de taille minime. L'équipe de recherche en neurotechnologies Polystim propose le développement d'un dispositif laboratoire sur puce (LSP) visant à être implanté dans le cortex cérébral et offrant une plateforme de monitorage flexible et adaptée à l'analyse de l'activité des substances neurochimiques en continu. Ce microsystème est composé d'une architecture microfluidique associée à deux unités, une de manipulation et une de détection.

L'objectif de ce mémoire est de proposer l'interface électronique de l'unité de détection dédiée à la détection de substances neurochimiques et s'intégrant au LSP en cours de conception. Pour ce faire, nous proposons une architecture formée de biocapteurs électrochimiques utilisant une technique d'ampérométrie à tension constante, pour une quantification multi-analyte. À cet effet, un potentiostat intégré par une technologie CMOS agissant en tant que transducteur et procurant les spécifications adéquates au monitorage *in vivo* de substances neurochimiques variées a été conçu. En effet, un potentiostat est un circuit électronique maintenant une tension constante entre une électrode de référence (*Reference Electrode*—RE) et

une électrode de mesure (*Working Electrode*—WE), produisant une réaction électrochimique entre une espèce électroactive d'intérêt et WE. Le transfert d'électrons résultant de cette réaction dont l'amplitude est proportionnelle à la concentration de l'analyte d'intérêt est mesuré par le potentiostat.

L'architecture électronique du potentiostat proposé dans ce travail relève le défi d'offrir un compromis efficace entre les différents critères de performances visées en termes de plage dynamique d'entrée, de fréquence d'échantillonnage, de précision et de consommation de puissance, se démarquant ainsi des topologies proposées dans la littérature quant à l'application visée. La mise en œuvre de ce projet étant récente et en constante évolution, la version miniaturisée de l'unité de manipulation et l'architecture microfluidique restent incomplètes à ce jour. De ce fait, une plateforme multi-WE permettant une détection multi-analyte est développée hors du LSP de sorte à valider expérimentalement l'unité de détection proposée avec des solutions biologiques de dopamine et de glutamate de concentrations diverses. Cette plateforme multi-WE est fonctionnalisée avec des films composites à base de nanotubes de carbone (*Carbon Nanotubes*—CNT) afin d'augmenter la sensibilité des mesures et d'assurer une sélectivité des multiples WE envers un seul neurotransmetteur.

Le premier chapitre de ce mémoire présente le contexte biologique de l'activité des neurotransmetteurs dans le cortex cérébral ainsi qu'un aperçu des travaux de pointe sur les méthodes de détection utilisées par les neuroscientifiques pour l'enregistrement de l'activité neurochimique *in vivo*.

Le second chapitre passe en revue les microsystèmes dédiés à la détection des neurotransmetteurs. Aussi, les spécifications du transducteur sont élaborées et les architectures de potentiostats à deux électrodes sont passées en revue.

Le troisième chapitre détaille la configuration générale de l'unité de détection développée pour une intégration dans le système LSP. Les composants de ce dernier sont présentés, ainsi que l'architecture électronique du potentiostat proposé, basé sur des mesures de temps. Le fonctionnement, la topologie des composants et les limites du transducteur sont présentés, appuyé par des simulations.

Le quatrième chapitre présente la plateforme multi-WE et la composition des revêtements chimiques à base de CNTs utilisés. La plateforme est également caractérisée à l'aide d'un potentiostat de laboratoire commercial, faisant office de référence, pour une détection si-

multanée d'un neurotransmetteur électroactif, la dopamine et d'un neurotransmetteur non électroactif, le glutamate.

Le cinquième chapitre expose les résultats de simulations et ceux expérimentaux liés à l'implémentation du potentiostat intégré réalisé, ainsi que la validation du prototype entier, avec une détection sélective des deux neurotransmetteurs.

Une discussion générale remettant en contexte divers points du travail, ainsi que la formulation des développements futurs suggérés suit. Finalement, une conclusion résume l'ensemble du travail réalisé dans ce mémoire.

CHAPITRE 1

ACTIVITÉ NEURONALE CHIMIQUE ET MÉTHODES DE DÉTECTION *in vivo*

Ce premier chapitre a pour objectif la présentation du contexte général dans lequel s'inscrit le développement d'un module de détection dédié aux neurotransmetteurs. Dans un premier temps, les notions biologiques de base concernant la nature et l'activité des neurotransmetteurs ainsi que le milieu dans lequel ces substances évoluent au sein du cortex cérébral humain sont succinctement décrites. Ensuite, un aperçu des méthodes de détection principales actuellement utilisées par les neuroscientifiques pour l'enregistrement de l'activité neurochimique *in vivo*, soit la microdialyse et la voltammétrie, est présenté. Les principes d'opérations et les limitations associées à chaque approche sont détaillés.

1.1 Considérations biologiques

Cette section présente sommairement l'ensemble des notions biologiques en lien avec la signalisation chimique modulée par les neurotransmetteurs, de la définition d'un neurone à l'explication des processus principaux en jeu dans la communication neuronale.

1.1.1 Neurone

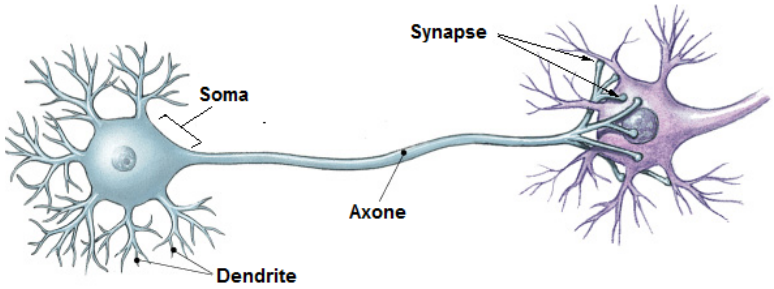
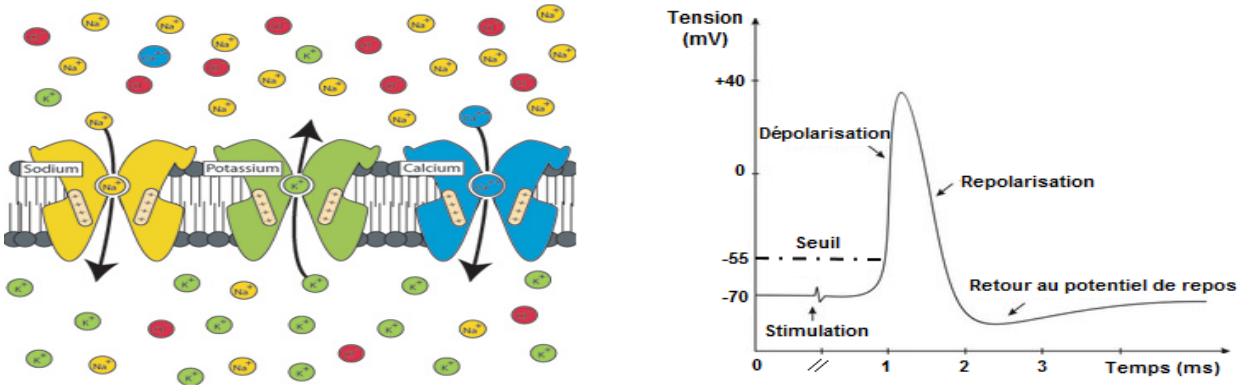


Figure 1.1 Modèle du neurone. Modifié à partir de Long (2003)

Le neurone est considéré comme l'unité fonctionnelle de base du cerveau, dont le modèle général est illustré à la Fig. 1.1. Le neurone est une cellule excitable, répondant aux stimulations et pouvant convertir celles-ci en impulsions nerveuses par la création de potentiel d'action généré à partir de son corps cellulaire, le soma. Les axones et dendrites de

neurones différents entrent en contact et transmettent l'information en relayant le potentiel d'action de cellule à cellule via des structures spécialisées appelées synapses. Brièvement, les potentiels d'action correspondent à une dépolarisation transitoire locale de la membrane des neurones, modulée par un flux d'ions traversant les canaux ioniques, de part et d'autre de cette membrane, tel qu'illustré à la Fig. 1.2(a). En effet, la concentration des différents ions dans le milieu intracellulaire et extracellulaire, soit principalement le Na^+, le Cl^-, le K^- et le Ca^{2+}, créée une différence de potentiel de chaque côté de la membrane. Au repos ou à l'équilibre, ce potentiel transmembranaire est de -70 mV. Une perturbation de l'équilibre électrochimique du neurone modifie ce potentiel et lorsque le seuil de -55 mV est franchi, une impulsion électrique, dit potentiel d'action, est générée le long de l'axone. Les trois phases de ce phénomène, soit la dépolarisation, la repolarisation, et l'hyperpolarisation du potentiel de la membrane du neurone sont illustrés à la Fig. 1.2(b). Le processus est réversible et ne durent que quelques millisecondes.

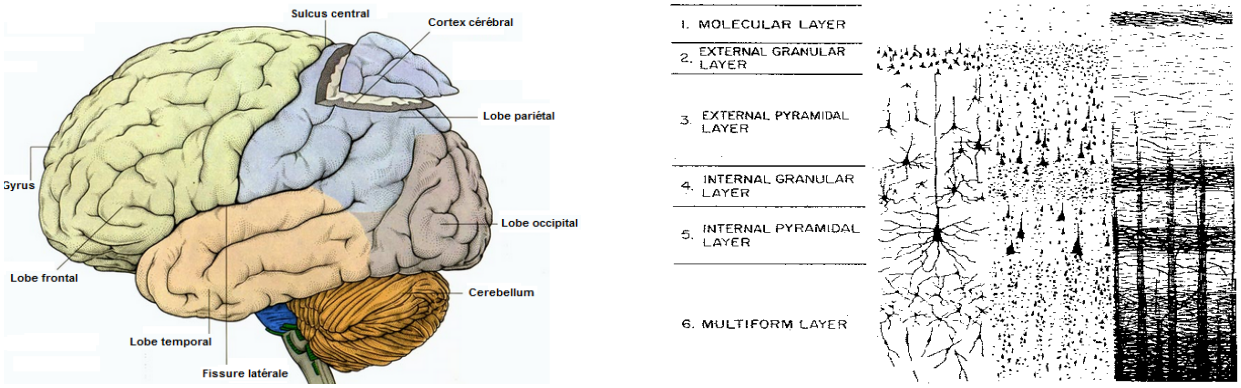


(a) (b)

Figure 1.2 (a) Canaux ioniques membranaires, tiré de Harvey-Girard (2005). (b) Variation temporelle et phases principales d'un potentiel d'action.

1.1.2 Cortex cérébral

Le cortex cérébral, illustré à la Fig. 1.3(a), compose la masse la plus étendue de matière grise relativement homogène du cerveau. Cette structure est située en surface du cerveau et est le siège des fonctions neurologiques élaborées, telles que la motricité, la sensorialité et le langage. Il comporte au total environ 10 milliards de neurones, avec une densité d'environ 10 millions de neurones par mm^3, disposés en réseaux et sous forme de différentes couches (Fig. 1.3(b)). L'implant LSP a pour ambition de se glisser entre les neurones d'une certaine région ciblée du cortex afin d'y enregistrer l'activité chimique découlant des communications neuronales produites par un ou plusieurs réseaux de neurones.



(a) (b)

Figure 1.3 (a) Cerveau humain. (b) Couches neuronales du cortex cérébral.

1.1.3 Communication neuronale

La communication entre les neurones est effectuée grâce aux contacts fonctionnels de ceux-ci, appelés synapses. Selon leur mode de transmission, il est possible d'identifier deux types de synapses, soient les synapses électriques et les synapses chimiques. Les synapses électriques laissent passer un courant électrique directement, c'est-à-dire de façon passive, à l'aide de canaux membranaires spécialisés, appelés jonctions communicantes, formant un contact entre deux neurones. Bien que présent dans tout le système nerveux, ce type de synapse est en nombre minoritaire par rapport à ceux de nature chimique (Purves et Coquery (2005)). Au contraire, les synapses chimiques (Fig. 1.4) opèrent selon une transmission indirecte en recourant à la sécrétion de neurotransmetteurs. Ces agents chimiques libérés des vésicules synaptiques présentes aux terminaisons des neurones dits présynaptiques s'associent aux récepteurs membranaires spécifiques des neurones dits postsynaptiques. Cette liaison engendre la production d'un courant secondaire dans ces derniers. L'espace séparant les neurones pré- et post-synaptiques est appelé fente synaptique et a une dimension d'environ 20 nm.

La sécrétion des neurotransmetteurs dans le milieu extracellulaire se produit selon un processus d'exocytose, soit un mécanisme par lequel les vésicules synaptiques fusionnent avec la membrane plasmique du neurone présynaptique. La sécrétion est déclenchée par une augmentation transitoire de la concentration de Ca^{2+} agissant sur les vésicules synaptiques et enclenchant le déversement des neurotransmetteurs dans la fente synaptique, tel qu'illustré à la Fig. 1.4. L'augmentation de Ca^{2+} dans les canaux calciques est causée par la modification de la tension membranaire d'un neurone présynaptique engendré par l'arrivée d'un potentiel d'action à sa terminaison. Les neurotransmetteurs diffusés dans la fente synaptique se lient

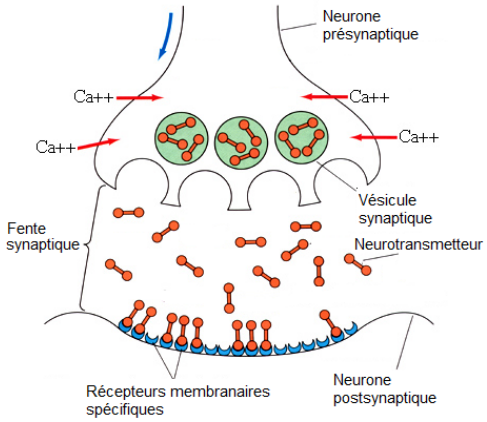


Figure 1.4 Synapse chimique.

aux récepteurs membranaires spécifiques des neurones postsynaptiques, en fonction de leur nature. En effet, comme un neurone peut relâcher plusieurs types de neurotransmetteurs à la fois, le nombre important de molécules et d'ions présents dans la fente synaptique ne peut être décrypté que par une affinité très spécifique des neurotransmetteurs envers leurs récepteurs. Cette liaison récepteur-neurotransmetteur déclenche à son tour la génération de signaux électriques en ouvrant ou fermant les canaux ioniques situés sur la membrane du neurone postsynaptique, transmettant ainsi l'information d'un neurone à l'autre. Par ailleurs, la nature excitatrice ou inhibitrice de la réponse électrique transmise dépend entre autres du type de neurotransmetteur en jeu.

La vitesse de réponse des synapses et donc la variation temporelle de la concentration des neurotransmetteurs dans la fente synaptique dépendent du type de récepteur membranaire auquel les neurotransmetteurs s'associent. Ce temps de réponse varie de quelques millisecondes à plusieurs secondes et voir minutes, selon les fonctions du système nerveux régulé par la communication (Kandel *et al.* (2013)). Ainsi, la concentration des neurotransmetteurs varie en fonction des événements neurologiques produits au cours du temps.

1.1.4 Propriétés des neurotransmetteurs

Plus d'une centaine de neurotransmetteurs ont été identifiés à ce jour (Kandel *et al.* (2013)), engendrant une diversification et une complexité considérable de la signalisation chimique entre les neurones. Les neurotransmetteurs sont généralement classés en deux catégories, dépendant de leur taille, soit les neuropeptides et les neurotransmetteurs à petites molécules. Les neuropeptides sont composés de 3 à 36 acides aminés formant des molécules de grande taille, telle que la substance P ou B-endorphine, agissant pour la plupart également en

tant qu'hormone. Les neurotransmetteurs à petites molécules concernent les substances neurochimiques composées d'un ou deux acides aminés et englobent les neurotransmetteurs les plus communs, tels que la dopamine, la sérotonine, le glutamate ou le GABA. Leur diamètre est de l'ordre de quelques nanomètres au plus. Le Tableau 1.1 détaille la plage de concentration physiologique des principaux neurotransmetteurs retrouvés dans le cortex cérébral, selon (Robert *et al.* (1998)). Également, l'électroactivité, c'est-à-dire la propriété d'induire un transfert d'électrons en réponse à des stimuli électrique, ainsi que le potentiel d'oxydoréduction (potentiel *redox*) approximatif associé. La méthode de détection par voltammétrie, décrite à la section 1.2.2, fait référence à ces propriétés électrochimiques.

Tableau 1.1 Caractérisation des neurotransmetteurs principaux, selon (Robert *et al.* (1998) et Robinson *et al.* (2008))

Neuro-transmetteur	**Charge***	**Concentration dans le cortex cérébral humain**	**Électroactif**	**Potentiel *redox*****
Sérotonine	+	1–10 nM	Oui	+350 mV
Dopamine	+	1–100 nM	Oui	+200 mV
Noradrénaline	+	1–100 nM	Oui	+100 à +250 mV
Epinephrine	+	1–100 nM	Oui	-100 à +450 mV
L-Glutamate	–	5–100 µM	Non	Variable
Acéthylcholine	+	0,1–10 nM	Non	Variable
GABA	0	50–500 nM	Non	Variable

* Au pH physiologique de 7,4.

** Valeurs approximatives, dépend du matériel de l'électrode.

1.1.5 Composition du liquide intercellulaire cérébral

Le liquide intercellulaire cérébral, c'est-à-dire le fluide dans lequel baigne l'ensemble des composants du cerveau et du système nerveux, incluant les neurotransmetteurs, est constitué d'eau et de plusieurs ions (cations et anions) dont la concentration et la charge ionique est présentée au Tableau 1.2. La force ionique totale du fluide intercellulaire est de 0,2085, où 0,1 est attribué aux cations et 0,1085 aux anions (Robertson (2010)). La force ionique mesurant la densité de charge est fonction de la concentration de tous les ions présents dans la solution et est donnée par la relation de Lewis et Randall (Robertson (2010)), où c est la concentration molaire et z le nombre de charges des ions impliqués :

$$\frac{1}{2}\sum cz^2 \tag{1.1}$$

Ainsi, le liquide échantillonné par le système LSP, contenant les neurotransmetteurs, possède une conductivité élevé. Également, ce liquide contient plusieurs molécules électroactives en grande concentration, dont les principales sont l'acide ascorbique ($C_6H_8O_6$, 100–500 µM) et l'acide urique ($C_5H_4N_4O_3$, 1–50 µM).

Tableau 1.2 Composition ionique du liquide intercellulaire cérébral, selon (Robertson (2010))

Ions	**Concentration molaire (mol/L)**	**Charge ionique**
Na^+	0,14	0,14
K^+	0,004	0,004
Mg^{2+}	0,004	0,016
Ca^{2+}	0,01	0,04
Cl^-	0,105	0,105
HCO_{3-}	0,05	0,05
PO_4^{3-}	0,006	0,054
SO_4^{2-}	0,002	0,008

1.1.6 Résumé des principales caractéristiques de l'activité chimique neuronale

En fonction des données physiologiques concernant la nature et l'activité des neurotransmetteurs décrites aux sections précédentes, il est possible d'en tirer les spécifications suivantes, en lien avec l'unité de détection :

- Les concentrations physiologiques des neurotransmetteurs varient en fonction de leur type et des évènements neurologiques, selon une plage allant du nanomolaire (nM) au millimolaire (mM).
- La variation temporelle de la concentration des neurotransmetteurs est de l'ordre des millisecondes à la minute.
- Les neurotransmetteurs sont des nanoparticules et sont composés d'un ensemble de substances chimiques pouvant être électroactives ou non-électroactives.
- Les neurotransmetteurs évoluent dans un fluide hautement conducteur.

1.2 Méthodes de détection *in vivo* des neurotransmetteurs

L'étude détaillée de la dynamique des neurotransmetteurs dans des conditions physiologiques nécessite l'élaboration de méthodes permettant de détecter leurs niveaux de concentration extracellulaires de façon précise. Cette section traite des méthodes principales utilisées à

ce jour, soit la microdialyse et la voltammétrie, et fait état des travaux de pointe concernant les microsystèmes miniaturisant celles-ci.

1.2.1 Microdialyse

La microdialyse est l'une des techniques les plus employées pour la caractérisation in vivo des neurotransmetteurs et autres molécules du fluide extracellulaire cérébral et a été appliquée à l'étude de nombreuses régions du cerveau (Plock et Kloft (2005)). Cette méthode implique l'introduction chirurgicale d'une canule munie d'une membrane de dialyse (Fig. 1.5) dans la région cérébrale d'intérêt. Un liquide céphalorachidien artificiel (aCSF) est perfusé en continu à travers la sonde, assurant les échanges entre ce dernier et le liquide cérébral contenant les neurotransmetteurs. Ainsi, les molécules de faible taille traversent la membrane semi-perméable et le dialysat qu'ils forment avec le liquide cérébral artificiel est récupérée pour une analyse externe de son contenu (Fig. 1.5). La composition chimique du dialysat peut alors être analysée par une détection sélective (i.e. anticorps) ou par des techniques de séparation complexes, telles que la chromatographie liquide à haute performance, l'électrophorèse capillaire et la fluorescence induite par laser, en fonction des substances neurochimiques ciblées.

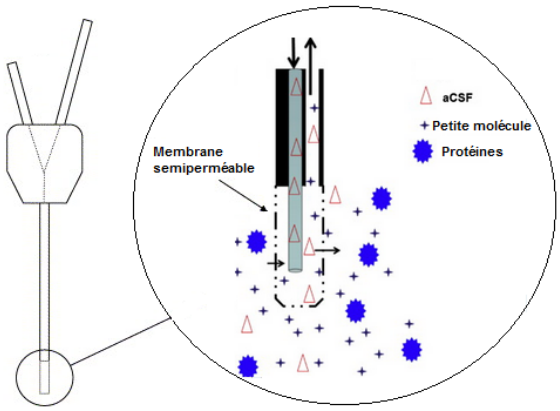


Figure 1.5 Canule typique utilisée pour la microdialyse cérébrale et section élargie de la canule, constituée d'une membrane semi-perméable. Modifié de Robertson (2010).

La principale limitation associée à cette méthode est liée à son temps d'analyse dépassant les quelques minutes, empêchant une analyse en temps réel de l'activité des neurotransmetteurs. En effet, la plupart des analyses par microdialyse utilisent un débit d'échantillonnage de 1 µL/min, imposant un échantillonnage par intervalle de 10 minutes afin d'obtenir un volume de dialysat suffisant pour une analyse (Robinson *et al.* (2008)). Également, des lésions

tissulaires liées à l'insertion de la sonde peuvent survenir en raison de sa largeur élevée (env. 200 µm) par rapport à la largeur des terminaux neuronaux (environ 1 µm), pouvant donc gravement perturber l'environnement cellulaire cérébral. Toutefois, l'analyse microdialytique *in vivo* permet d'analyser une grande plage de substances neurochimiques avec une haute résolution chimique. En effet, cette résolution n'est limitée que par la membrane semi-perméable employée et l'utilisation d'une technique analytique appropriée.

1.2.2 Voltammétrie

Les premiers travaux employant la voltammétrie, une technique électrochimique commune, pour une détection *in vivo* des neurotransmetteurs ont été réalisés par Adams et ses collègues en 1970 (Adams (1976)). Depuis, cette méthode a été largement développée et utilisée dans de nombreuses études neuroscientifiques afin de caractériser la communication neuronale chimique. La voltammétrie exploite le fait que plusieurs neurotransmetteurs sont électro-actifs (voir Tableau 1.1), c'est-à-dire qu'ils peuvent prendre part à une réaction d'électrode ou qui peuvent être adsorbées sur l'électrode. Ainsi, en provoquant des réactions électrochimiques ou à transfert de charges par l'application d'excitations électriques prédéfinies, une caractérisation de leur activité est possible. La force ionique élevée du liquide biologique extracellulaire dans lequel baignent les neurotransmetteurs constitue un milieu parfait pour cette méthode nécessitant un milieu hautement conducteur (Robertson (2010)).

La méthode voltammétrique implique typiquement l'utilisation d'une électrode de mesure, d'une électrode auxiliaire et d'une électrode de référence. Ces électrodes sont positionnées de sorte à garantir une continuité électrique les unes par rapport aux autres et l'électrode de mesure est implantée dans la région d'intérêt du cerveau. L'application d'une différence de potentiel entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence, appelé potentiel redox , provoque une réaction électrochimique non spontanée produisant un courant faradique circulant dans l'électrode de mesure, engendré par l'oxydation ou la réduction des composants électroactifs présents dans la région cérébrale étudiée. L'amplitude de ce courant faradique est proportionnelle à la concentration de ces substances. Le potentiostat (dispositif électronique) assure le contrôle précis de la différence de tension entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence selon des schémas d'excitations électriques définis et procure une interface pour mesurer le courant généré. Le principe d'opération général de la voltammétrie appliquée à la détection cérébrale *in vivo* des neurotransmetteurs est illustré à la Fig. 1.6.

Cette méthode de détection offre un temps de réponse plus rapide que la microdialyse, de l'ordre des millisecondes, dépendant des excitations électriques employées et des perfor-

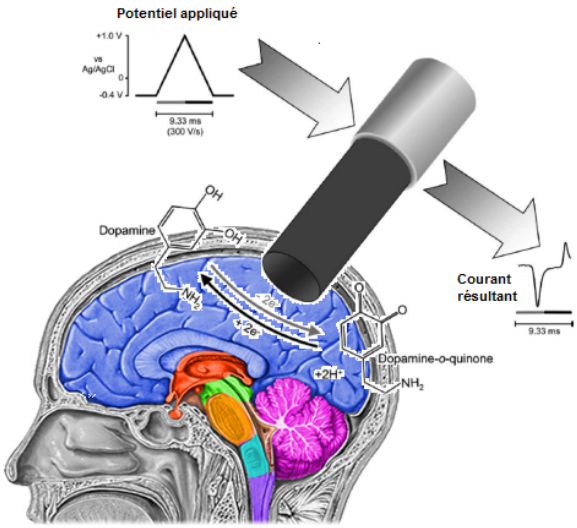


Figure 1.6 Principe de la voltammétrie *in vivo* cérébrale. Une forme d'onde de tension triangulaire est appliquée à une microélectrode en fibre de carbone implantée dans le liquide cérébral extracellulaire d'une région ciblée, induisant l'oxydation et la réduction subséquente de la dopamine. Modifié de (Robinson *et al.* (2008)).

mances électroniques du potentiostat utilisé. Il est ainsi possible de détecter l'activité des neurotransmetteurs en temps réel. Également, la dimension des électrodes utilisées est faible. Les microélectrodes de fibre de carbone d'un diamètre de 5 µm sont les plus communes. Elles sont encastrées dans un capillaire de verre (Fig. 1.6). Cette faible taille réduit les dommages induits aux tissus cérébraux, même après une période aiguë d'implantation (Peters *et al.* (2004)) et augmente la résolution spatiale des mesures. Cependant, cette technique est dédiée à la détection des neurotransmetteurs oxydables. Néanmoins, une détection indirecte grâce à l'utilisation d'enzymes permet de pallier à cette limitation majeure. Enfin, la méthode voltammétrique offre une résolution chimique qui dépend du traitement de surface appliqué à l'électrode de mesure et de la technique électrochimique utilisée.

Principes électrochimiques

Tel que mentionné précédemment, les substances électroactives peuvent échanger des électrons avec une électrode à travers la production d'une réaction d'oxydoréduction, selon des conditions analytiques définies, en particulier par le potentiel auquel cet échange a lieu. Ce processus d'oxydoréduction est exprimé par l'équation 1.2 :

$$O + ne^- \leftrightarrow R \tag{1.2}$$

où O représente l'espèce oxydée, R l'espèce réduite et n le nombre d'électrons transférés lors de la réaction. La Fig. 1.7 illustre de façon détaillée les étapes survenant lors d'une réaction électrochimique à l'interface d'une électrode. Les espèces électroactives se trouvent dans une solution sous un état d'oxydation ou de réduction. Ces espèces diffusent près de la surface de l'électrode (O_{surf} ou R_{surf}). À la surface, une réaction chimique se produit et l'espèce est adsorbée (O_{ads} ou R_{ads}). L'échange d'électrons se produit à l'état adsorbé. Enfin, les produits se désorbent de la surface et diffusent vers la solution *bulk*. Thermodynamiquement, les réactions *redox* sont soit spontanées ou soit provoquées. Le transfert d'électrons dans une réaction spontanée engendre un potentiel caractéristique entre les deux électrodes (potentiel *redox*).

Le taux de transfert d'électron est gouverné par plusieurs processus, dont les principaux sont liés au transfert de masse, au transfert d'électrons à la surface des électrodes, aux réactions chimiques précédentes ou suivant le transfert d'électrons et aux autres réactions de surface telles que l'adsorption (l'adhésion d'atomes) ou la désorption (processus inverse de l'adsorption) (Bard et Faulkner (2000)).

Techniques électrochimiques pour la détection de neurotransmetteurs

Plusieurs types d'excitations électriques prédéfinies, aussi appelés technique électrochimique, découlant de la voltammétrie, telle que la chronoampérométrie, la voltamétrie cyclique (*Cyclic Voltammatry*—CV), à pulses différentiels et à ondes carrées, permettent d'étudier la

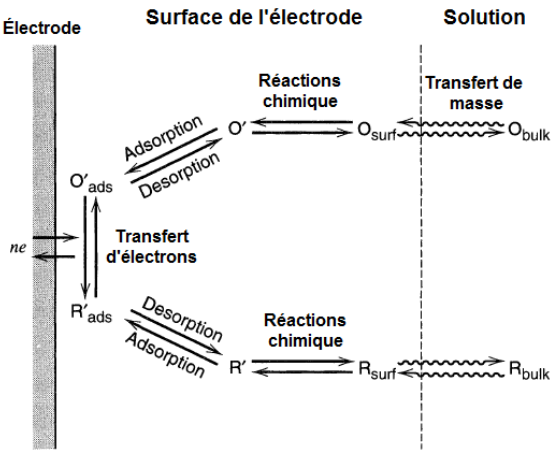
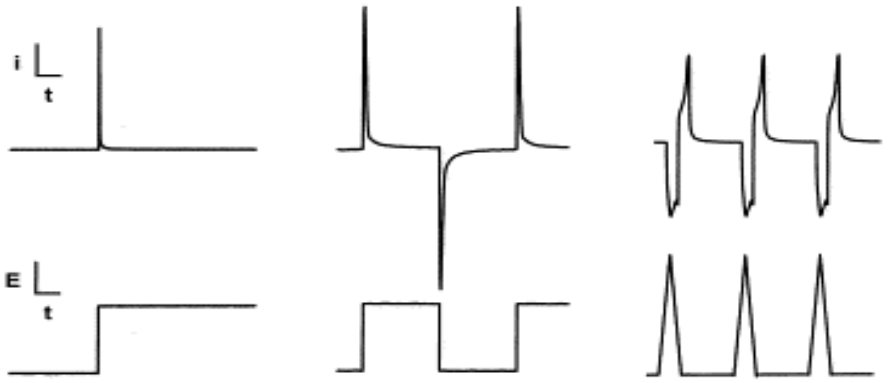


Figure 1.7 Étapes d'une réaction électrochimique générale à l'interface d'une électrode. Modifié de (Bard et Faulkner (2000)).

cinétique et les constituants d'une réaction électrochimique. Cependant, trois techniques spécifiques ont été utilisées extensivement pour le monitorage *in vivo* et *in vitro* des évènements rapides survenant, soient l'ampérométrie à tension constante, la chronoampérometrie rapide et la voltammétrie cyclique à scan rapide (*Fast-Scan Cyclic Voltammetry*—FSCV). La forme d'onde de tension appliquée et la réponse du courant mesuré à l'électrode de mesure en fonction du temps pour chacune de ces méthodes sont illustrées à la Fig. 1.8. Chacune de ces techniques offre des avantages et des inconvénients (Michael et Wightman (1999)). L'ampérométrie à tension constante offre la meilleure résolution temporelle, limitée seulement par les performances en termes du rapport signal-sur-bruit et de fréquence d'échantillonnage du potentiostat utilisé. Une résolution chimique faible est obtenue par cette technique puisqu'il est impossible de distinguer les composants du courant généré lorsque plusieurs substances électroactives sont présentes dans la même solution et réagissent à un potentiel *redox* semblable. La chronoampérometrie rapide offre une bonne résolution temporelle, avec une fréquence temporelle allant de 5 à 25 Hz et une résolution chimique moyenne via la caractérisation du ratio entre le courant de réduction au temps du pic de courant d'oxydation et le courant d'oxydation. Ce ratio étant spécifique au type de neurotransmetteurs. Enfin, la FSCV procure une résolution temporelle moyenne, déterminée par le taux de balayage (V/s) et les limites de potentiel utilisés pour chacune des ondes triangulaires, ainsi que le nombre de balayages utilisé par analyse. Cependant, cette méthode offre une résolution chimique élevée puisque les pics d'oxydation ou de réduction déterminés correspondent aux signatures chimiques de chaque substance.



(a) (b) (c)

Figure 1.8 Forme d'onde de tension appliquée (bas) et la réponse du courant mesuré à l'électrode de mesure en fonction du temps (haut) pour la technique correspondante (a) d'ampérométrie à tension constante (b) de chronoampérometrie rapide et (c) FSCV. Tirée de (Michael et Wightman (1999)).

Détection de neurotransmetteurs non électroactifs

Afin de détecter les neurotransmetteurs non électroactifs par une méthode voltammétrique, une détection indirecte via l'utilisation d'une enzyme est généralement employée (Perry *et al.* (2009)). Brièvement, les enzymes forment un groupe de protéines agissant en tant qu'agent catalytique afin de convertir une substance, dit substrat, en produit, le tout sans être consommé lors du processus. Ainsi, en enduisant l'électrode de mesure avec un enzyme spécifique, la substance neurochimique (substrat) interagit spécifiquement avec ce dernier et produit un composant électroactif qui génère un transfert d'électron détectable, tel qu'illustré à la Fig. 1.9. Conséquemment, la concentration du substrat est obtenue via celle du produit électroactif généré et détecté, les deux étant proportionnels. Les enzymes agissent également en tant qu'élément de bioreconnaissance puisque ce sont des agents hautement spécifiques dans leur action, ajoutant une sélectivité élevée à la mesure.

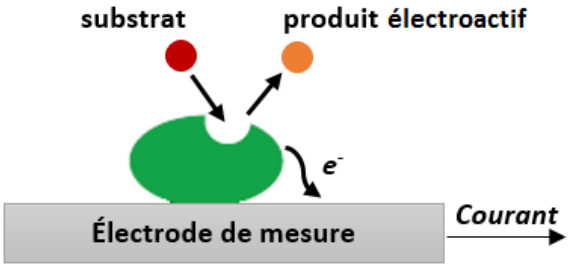


Figure 1.9 Principe général d'une réaction enzymatique.

CHAPITRE 2

REVUE DE LA LITTÉRATURE

Ce deuxième chapitre passe d'abord brièvement en revue les divers microsystèmes développés pour une détection de l'activité neurochimique. Ceci permet de présenter les travaux de pointe existants en la matière et d'évaluer la faisabilité de l'application des différentes techniques à l'unité de détection intégrée du projet LSP. Suite à cette revue, une brève discussion permet de justifier le choix du développement dans les prochains chapitres d'un biocapteur basé sur la méthode voltammétrique/ampérométrique et ayant un potentiostat intégré comme transducteur. En fonction des considérations biologiques énoncées au chapitre précédent, les spécifications du potentiostat sont précisées et sa configuration d'électrodes est justifiée. Une revue des architectures de potentiostat à deux électrodes répertoriées dans la littérature scientifique est présentée, suivie d'une comparaison générale de celles-ci.

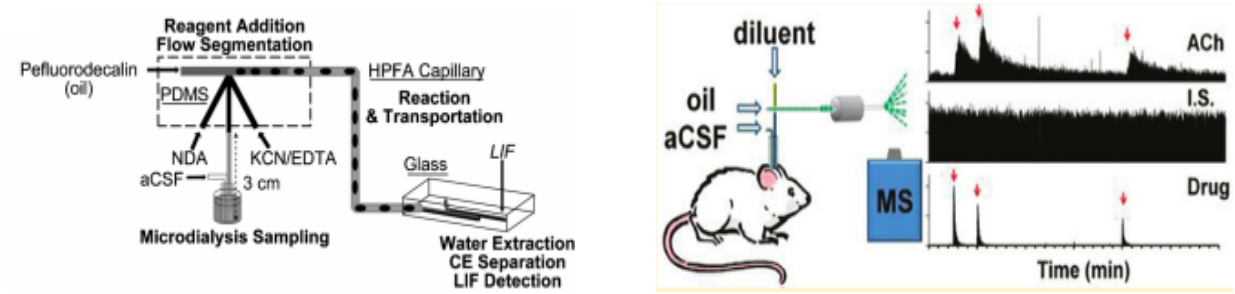
2.1 Revue des microsystèmes dédiés à la détection des neurotransmetteurs

Nous présentons dans cette section les deux types principaux de microsystèmes qui ont été rapportés dans la littérature scientifique pour la détection des neurotransmetteurs, soient les microsystèmes à microdyalise rapide et les biocapteurs électrochimiques intégrés.

2.1.1 Microsystèmes à microdialyse rapide

Grâce aux progrès récents des techniques de microfabrication, plusieurs groupes de recherche ont proposé des plateformes microfluidiques sur puces intégrant une sonde de microdialyse et une technique de détection analytique, destinées à des mesures *in vivo*. Cette intégration à l'avantage de réduire considérablement le temps d'analyse, passant de l'ordre des dizaines de minutes à quelques secondes, tout en conservant la sensibilité de la méthode. En effet, ces systèmes permettent l'utilisation d'un débit d'échantillonnage beaucoup plus faible, engendrant un plus haut taux de récupération de l'échantillon et contribuant à une résolution temporelle plus élevée (Croushore et Sweedler (2013)). Cependant, l'unité d'analyse de ces microsystèmes reste externe due à leur grande complexité.

Par exemple, Nandi *et al.* (2010) et le groupe de Kenedy (Wang *et al.* (2009)) ont tous deux proposé un microsystème formé d'un microcanal en PDMS dans lequel est séparé le dialysat récupéré par une sonde de microdialyse, via la méthode d'électrophorèse capillaire



(a) (b)

Figure 2.1 (a) Dispositif à 2 puces microfluidiques proposé par (Wang *et al.* (2009)). (b) Approche proposé par (Song *et al.* (2012)).

(EC). Dans les deux cas, une unité externe de fluorescence induite par laser permet d'analyser les solutions cérébrales. Par l'utilisation d'un système à flux segmenté ingénieux permettant de réduire la dispersion des analytes dans le microcanal, illustré à la Fig. 2.1(a), le groupe de Kennedy (Wang *et al.* (2009)) réalise une détection de neurotransmetteurs de faible taille, tels que le glutamate et l'aspartate, en moins de 35 secondes. La première puce créer des bouchons contenant le dialysat et des agents fluorogéniques. Ces bouchons circulent dans la strucure EC pour une séparation et détection par fluorescence. Le groupe de Kennedy propose également un système semblable à (Wang *et al.* (2009)), illustré à la Fig. 2.1(b) dans une autre publication (Song *et al.* (2012)). Cette fois, une unité externe de spectroscopie de masse à ionisation secondaire (MS) procurant des mesures *in vivo* d'acétylcholine avec une résolution de 5 secondes est présentée.

2.1.2 Biocapteurs électrochimiques CMOS

Les biocapteurs électrochimiques constituent le groupe le plus vaste et ancien des capteurs chimiques, dont plusieurs types ont été commercialisés (Hierlemann et Baltes (2003)). C'est également la méthode qui est la plus compatible avec les procédés CMOS (Ronkainen *et al.* (2010), Wang (2011)). Ainsi, plusieurs microsystèmes basés sur ceux-ci ont été proposés dans la littérature pour la détection des neurotransmetteurs.

Les capteurs sont des dispositifs qui enregistrent un changement physique, chimique ou biologique et le convertissent en signal mesurable (Wang et Liu (2011)). Les capteurs chimiques ou biocapteurs sont généralement composés d'une couche bioréceptrice (i.e. enzyme, anticorps, cellules, etc.) se liant spécifiquement à l'analyte d'un échantillon et qui est connectée à un transducteur. Dans le cas d'un biocapteur électrochimique, le transducteur détecte les changements causés par une réaction électrochimique entre l'espèce chimique et le cap-

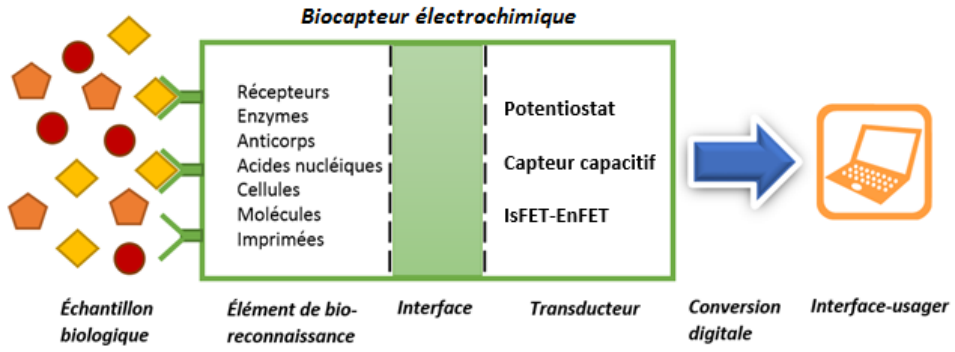


Figure 2.2 Composants généraux d'un biocapteur électrochimique intégré typique.

teur pour mesurer un paramètre physique et le transformer en signal électrique (i.e. courant, tension, fréquence, etc.).

La réaction électrochimique déclenchée génère typiquement un courant (ampérométrie/voltammétrie), une tension ou une charge accumulée mesurable (potentiométrie) ou altère les propriétés de conduction d'un medium entre les électrodes (conductométrie). Les mesures ampérométriques/voltammétriques sont généralement effectuées avec un potentiostat intégré, tel que stipulé précédemment. Les capteurs potentiométriques intégrés les plus utilisés sont basés sur les transistors à effet de champ (*Field Effect Transistor*—FET), soient les transistors à effet de champ sensibles aux ions (*Ion-Sensitive Field Effect Transistor*—ISFET) et les transistors à effet de champ avec enzyme (*Enzyme Field Effect Transistor*—ENFET). Enfin, les transducteurs conductométriques principaux sont les capteurs capacitifs. Le signal électrique produit par ces transducteurs est envoyé à une unité de traitement afin de le reconvertir en paramètre physique. Une interface usager permet par la suite de visualiser le paramètre physique capté. La Fig. 2.2 illustre ces différentes étapes.

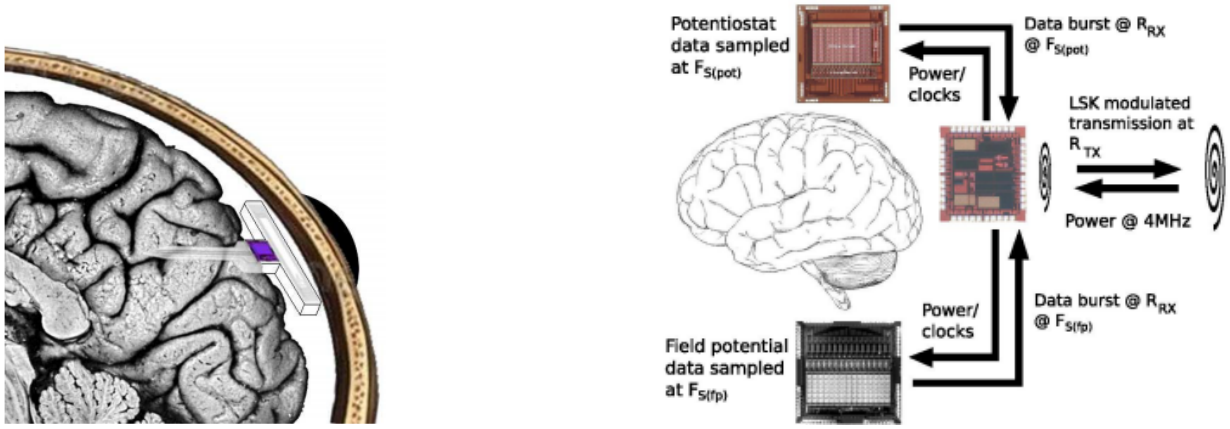
Les microsystèmes principaux répertoriés dans la littérature pour une détection des neurotransmetteurs sont présentés aux sections suivantes.

Biocapteur voltammétrique/ampérométrique

Quelques groupes de recherche ont proposé au cours des dix dernières années des biocapteurs électrochimiques intégrés, basés sur une détection voltammétrique des neurotransmetteurs. Ces derniers comportent généralement une matrice de microélectrodes directement couplée à un potentiostat dont le circuit complet est intégré. Ainsi, cette plateforme miniaturisée peut être entièrement implantée dans le cerveau et transmettre ses résultats d'analyse

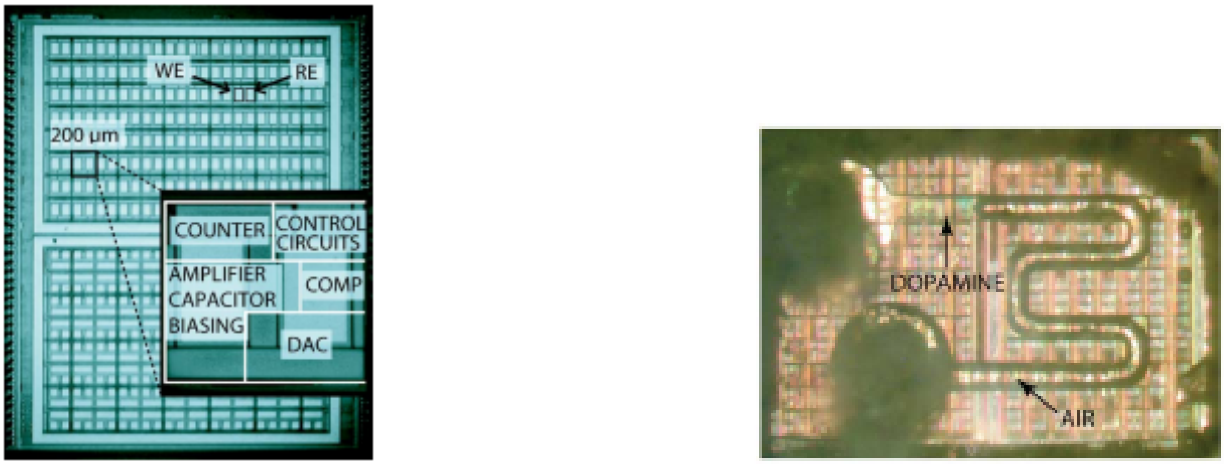
via une communication par radiofréquences. Cette miniaturisation permet une acquisition des données cérébrales *in vivo* sur le long terme.

Le groupe Thakor de l'Université Johns Hopkins, actif depuis une dizaine d'années, a développé plusieurs composants d'un biocapteur CMOS dédié à l'enregistrement de l'activité *in vivo* des neurotransmetteurs et des potentiels de champ électrophysiologiques des neurones (Murari *et al.* (2005a), Mollazadeh *et al.* (2006), Mollazadeh *et al.* (2009), Stanacevic *et al.* (2007), Murari *et al.* (2005b) et Naware *et al.* (2003)). La plateforme proposée à la Fig. 2.3 comprend une puce dédiée à un potentiostat intégré de 16 canaux, une deuxième à la transmission de données et d'énergie selon une modulation LSK et une autre aux traitements des champs de potentiels (Fig. 2.3(b)). Également, l'équipe a introduit des matrices d'électrodes dédiées principalement à la détection d'oxyde nitrique, un neurotransmetteur gazeux (Naware *et al.* (2003)). Malgré plusieurs publications sur le sujet, aucune ne fait encore état de mesures expérimentales provenant d'un prototype complet.



(a) (b)

Figure 2.3 Biocapteur intégré implantable, selon le groupe Thakor : (a) Concept envisagé (Murari *et al.* (2005a)). (b) Schéma des composants du biocapteur implantable proposé par (Mollazadeh *et al.* (2006)).



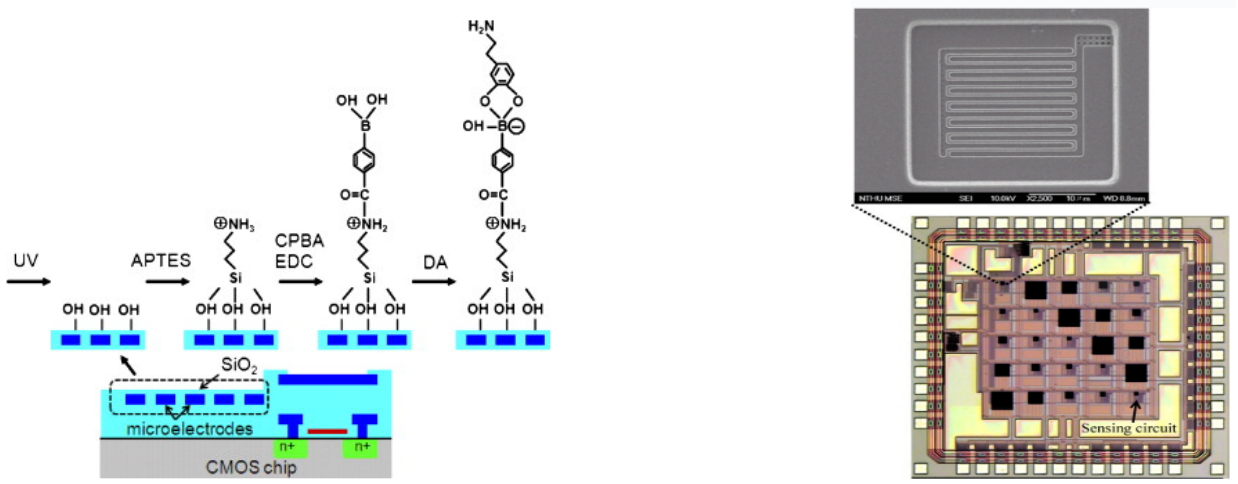
(a) (b)

Figure 2.4 Microsystème voltammétrique proposé par Nazari *et al.* (2013). (a) Micrographe du potentiostat intégré de 96 canaux et des microélectrodes. (b) Chambre fluidique pour la détection de dopamine.

Également, d'autres groupes travaillent sur l'analyse de l'activité neurochimique selon une approche *in vitro*, appliquée à des cultures cellulaires. Le groupe Lindau a développé des biocapteurs ampérométriques CMOS composés d'une matrice de potentiostats (Ayers *et al.* (2007)) couplée à une matrice de 100 microélectrodes de platine, pour l'identification *in vitro* des effets de drogues sur le processus d'exocytose des cellules neuronales (Kim *et al.* (2013)). Le prototype est validé avec l'enregistrement de l'activité non sélective des neurotransmetteurs libérés d'une vésicule de cellules chromaffines, cultivées directement sur le biocapteur. Le groupe Genov, anciennement lié au groupe de Thakor, a récemment proposé un biocapteur sous la technologie 0.35 µm CMOS, composé d'une matrice de 8×12 potentiostats, couplée à une matrice de microélectrodes d'or et d'un réseau de multicanaux sur la même puce (Fig. 2.4), vouée à l'enregistrement neurochimique *in vitro* des cultures cellulaires ou des tranches de tissus cérébraux (Nazari *et al.* (2013)). Les méthodes électrochimiques d'ampérométrie à potentiel constant, de voltammétrie cyclique et la spectroscopie d'impédance peuvent être réalisées. Le biocapteur intégré est actuellement conçu pour la détection d'un seul neurotransmetteur, la dopamine, par l'utilisation d'une chambre fluidique de compression étanche contenant la matrice d'électrodes de mesure. Bien que l'application directe de ces microsystèmes ne soit destinée qu'à des mesures *in vitro*, ceux-ci démontrent l'intégration complète d'un biocapteur électrochimique dédié aux neurotransmetteurs.

Biocapteur capacitif

Les capteurs capacitifs ont démontré une grande sensibilité et efficacité dans des applications permettant la détection de bioparticules de grande taille, telle que des fragments d'ADN (C. Berggren et Johansson (1999), Stagni *et al.* (2006)), ou des cellules (Teeparuksapun *et al.* (2012), Prakash et Abshire (2007)). Cependant, outre pour la détection d'ions métalliques, très peu de travaux concernant les capteurs capacitifs se penchent sur la détection de molécules de faible taille, tel que les neurotransmetteurs.



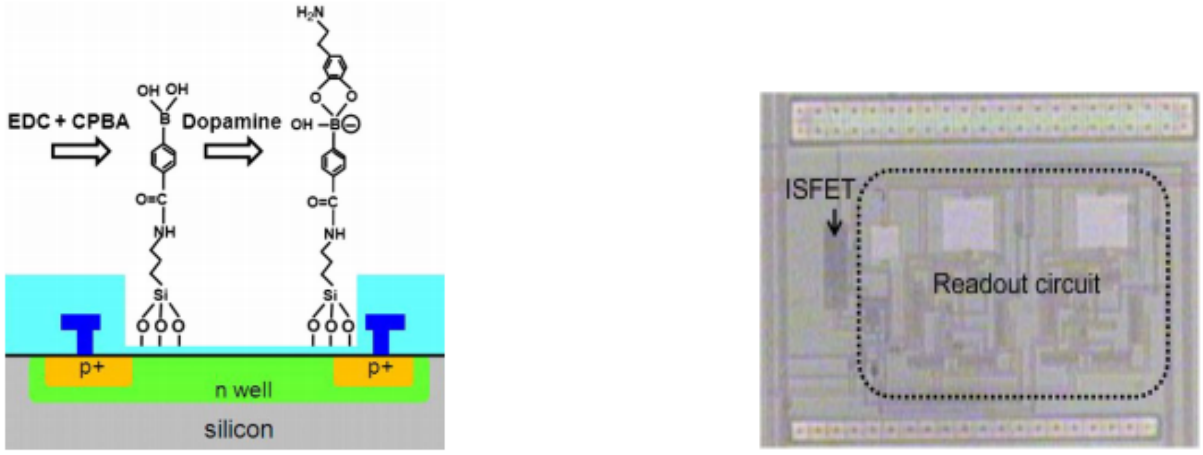
(a) (b)

Figure 2.5 Capteur capacitif proposé par (Lu *et al.* (2010)).(a) Principe d'opération pour une détection de la dopamine. (b) Micrographe des électrodes de mesures CMOS.

Le groupe Lu de l'Université National Tsing Hua à Taiwan est le seul répertorié dans la littérature ayant proposé un capteur capacitif intégré avec des microélectrodes de taille sous-µm, couvertes d'une couche de bioreconnaissance à base d'acide carboxy-phenylboronic (CPBA) pour la détection de la dopamine (Lu *et al.* (2010), Wang et Lu (2010), Lu *et al.* (2010)). L'architecture principale de ce prototype est illustrée à la (Fig. 2.5). Les quelques publications qui y sont associées présentent des résultats où le temps de réponse est de l'ordre des minutes, empêchant donc une détection en temps réel, ainsi qu'une faible sélectivité avec les analytes qui partage une structure moléculaire semblable avec la dopamine, telle que l'adrénaline. Une grande part de la recherche liée aux capteurs capacitifs est dédiée au développement de cette couche de reconnaissance, étant un élément critique majeur. Très peu de travaux présentent cependant une couche d'immobilisation dédiée à un neurotransmetteur.

Biocapteur ISFET et ENFET

Les ISFET sont dédiés à la détection d'ions alors que les ENFET sont des ISFET enduits d'une couche d'enzyme afin de détecter les analytes non-électroactifs. Concernant notre application, les avantages principaux de ces biocapteurs incluent leur sensibilité très élevée, une opération à faible consommation de puissance ainsi que la taille toujours plus réduite des FET. Cependant, le temps de réponse et de récupération entre les mesures demeure trop élevé pour effectuer des mesures en temps réel. Par ailleurs, les ENFET sont aussi limités par la dépendance de la réponse au degré d'immobilisation des enzymes sur la grille affectant la performance et la sensibilité du dispositif (D.Grieshaber *et al.* (2008)). La Fig. 2.6 présente un exemple de biocapteurs ISFET sélectifs à la détection de la dopamine, ainsi que son circuit de lecture (*readout circuit*) implémenté sur une puce CMOS (Li *et al.* (2010)), également développé par le groupe Lu. Une membrane de CBPA déposée sur l'oxyde de la grille réagit avec la dopamine de sorte à produire une augmentation de courant dans l'ISFET ensuite détecté par le circuit de lecture.



(a) (b)

Figure 2.6 (a) ISFET de type-p pour la détection de dopamine. (b) Micrographe du dispositif ISFET et son circuit de lecture CMOS intégré sur puce (Li *et al.* (2010)).

2.2 Justification du type de détection choisie

Selon la revue de la littérature établie précédemment, une détection par méthode voltammétrique/ampérométrique semble être la plus prometteuse en termes de développement d'une unité de détection intégrée pour notre application. Dans le cas des microsystèmes à

microdialyse rapide, la complexité de l'unité d'analyse de l'échantillon liquide cérébral reste une limitation non négligeable à l'intégration entière du système. Pour ce qui est de la méthode voltammétrique/ampérométrique, les technologies d'intégration actuelle permettent une intégration complète du système, également démontrée par les divers travaux de pointe concernant les biocapteurs avec potentiostat qui ont été présentés. Enfin, cette méthode est celle qui a été la plus explorée pour la détection et la quantification des neurotransmetteurs, de manière *in vitro* et *in vivo*. Également, la littérature abonde de travaux concernant le développement de traitement de surface pour les électrodes de mesure dédiée à augmenter la sélectivité et la sensibilité de la réponse aux neurotransmetteurs électroactifs ou non-électroactifs les plus communs (Wang (2005)). Une approche utilisant des capteurs capacitifs ou des ISFET/ENFET est jugée plus risquée selon les résultats parus dans la littérature à ce sujet, ces derniers n'atteignant pas la résolution temporelle nécessaire pour une détection en milieu *in vivo*.

Cependant, il est important de souligner que dans l'ensemble des microsystèmes à base de biocapteurs voltammétriques/ampérométriques répertoriés, aucun n'est totalement optimisé pour une détection des neurotransmetteurs en milieu *in vivo*. En effet, aucun ne fait réellement état des problématiques liées à la sensibilité et à la sélectivité des mesures, pourtant critique dans le cadre d'une détection simultanée de plusieurs neurotransmetteurs évoluant dans un milieu complexe et où l'utilisation de microélectrodes peut limiter la plage de concentration détectée en diminuant le ratio signal sur bruit. Nous proposons dans les prochains chapitres un module de détection basé sur des biocapteurs voltammétriques/ampérométriques utilisant un potentiostat intégré répondant au comportement *in vivo* des neurotransmetteurs rapporté dans la littérature et des électrodes de mesure fonctionnalisées qui permettent d'offrir une sensibilité et une sélectivité élevée.

Par ailleurs, noter que les biocapteurs à transduction optique et conductométrique n'ont pas été retenus pour notre application puisqu'ils ne répondent pas aux spécifications souhaitées. En effet, dans le cas des biocapteurs optiques, l'intégration avec une technologie CMOS reste difficile du à la complexité des composants requis. Pour leur part, les biocapteurs conductométriques sont incompatibles avec le milieu hautement conducteur et complexe du liquide intercellulaire cérébral, tel que détaillé à la section 1.1.5, limitant considérablement la sensibilité des mesures possibles (Xing *et al.* (2013)).

2.3 Élaboration du potentiostat

La section suivante aborde les éléments préliminaires à la conception de l'architecture électronique du potentiostat dédié à la détection *in vivo* des neurotransmetteurs, soit la définition des spécifications et le choix d'une configuration d'électrodes. Également, une description et une comparaison des architectures principales proposées dans la littérature sont effectuées afin de situer l'architecture du potentiostat élaborée, présentée au chapitre suivant.

2.3.1 Spécifications du potentiostat

En fonction des considérations biologiques énoncées à la section 1.1.6 et des caractéristiques du système LSP développé, les spécifications détaillées de l'unité de détection sont énoncées :

Spécification 1 : Grande plage dynamique d'entrée et résolution élevée
Les concentrations physiologiques des neurotransmetteurs du cortex cérébral varient sur la plage des nM au mM, dépendant du type de neurotransmetteur et de l'activité neurologique des neurones associée. Ces concentrations génèrent des courants *redox* variant de l'ordre des picoampères aux microampères, en prenant en compte que l'aire effective des électrodes de mesure est de l'ordre des μm^2 (voir 3.2 et 3.3). Ainsi, afin de couvrir un enregistrement de l'ensemble des valeurs de courants possibles et d'offrir l'outil d'exploration le plus flexible, le potentiostat doit procurer une large plage dynamique d'entrée de plus de 100 dB. Par ailleurs, une résolution de l'ordre du picoampère est recherchée. Pour ce faire, le potentiostat doit être conçu de sorte à générer un faible bruit d'entré.

Spécification 2 : Fréquence d'échantillonnage de l'ordre des kHz
Selon les données temporelles de l'activité neurochimique, variant de quelques millisecondes aux secondes, un système de détection possédant une fréquence d'échantillonnage de l'ordre des kHz est recherché afin d'effectuer des mesures se rapprochant le plus du temps réel. La capacité d'effectuer des mesures de quantification en temps réel est importante puisqu'elle permettrait de suivre l'évolution continue de la libération des neurotransmetteurs.

Spécification 3 : Consommation de puissance faible
Un potentiostat à faible consommation de puissance est également recherché, puisque le dispositif LSP à la finalité d'un implant biomédical destiné au cerveau humain. En effet, la température maximale admissible dans le cortex humain ne peut augmenter de plus de 1°C avant d'endommager les tissus cérébraux, ce qui limite la densité de puissance totale du

système à 80 mW/cm^2 (Kim *et al.* (2006)). Afin de réduire la consommation totale, chaque composant doit limiter sa production d'énergie au minimum pour atteindre une biocompatibilité viable. Par ailleurs, une faible consommation de puissance implique une faible dissipation de chaleur, recherchée afin d'éviter une dénaturation thermique des molécules sous analyse. Une puissance analogique de moins de 100 µW est allouée pour chaque canal de mesure.

Spécification 4 : Intégration avec une technologie CMOS
Les circuits électroniques du système LSP déjà en place sont intégrés avec une technologie CMOS. Par souci de compatibilité, le potentiostat développé sera également conçu à partir de cette technologie d'intégration. Ceci n'induit pas de problème au niveau de la conception puisque la technologie CMOS est la plus compatible avec la fabrication de biocapteur électrochimique (Hierlemann et Baltes (2003)).

2.3.2 Choix de la configuration d'électrodes

Deux configurations d'électrodes sont généralement associées à un potentiostat, dites à deux ou à trois électrodes, tel qu'illustré à la Fig. 2.7. La configuration à deux électrodes est composée d'une WE et d'une RE. La tension *redox* est maintenue entre RE et WE et le courant circulant dans WE est mesuré par le potentiostat. Cette configuration a pour désavantage qu'un courant peut éventuellement circuler dans RE et polariser cette électrode, modifiant la tension appliquée entre RE et WE et dégradant sa stabilité au cours du temps, diminuant ainsi la précision de la mesure. L'ajout d'une troisième électrode (Fig. 2.7(b)), nommé contre-électrode (*Counter Electrode*—CE), permet de maintenir RE à une tension constante. En effet, le potentiostat contrôle la tension entre WE et RE en envoyant du cou-

(a) (b)

Figure 2.7 Potentiostat à configuration de (a) deux-électrodes (b) trois-électrodes.

rant entre WE et CE via un système de rétroaction basé sur un amplificateur.

Dans le cadre de notre application, une configuration à deux électrodes est choisie. En effet, puisque de très faibles courants sont mesurés, de l'ordre du picoampère au microampère, et que la densité du courant est considérée comme assez faible (< 100 $\mu A/cm^2$), seul un courant négligeable est estimé circuler dans RE (Bard et Faulkner (2000)). Par ailleurs, l'utilisation d'une méthode électrochimique d'ampérométrie à tension constante ne nécessite pas l'application d'une tension *redox* précise et un ajustement au cours du temps de la tension WE est possible. Ce type de système implique également une implémentation plus simple, généralement moins coûteuse en espace et en consommation de puissance. Enfin, il serait toujours possible de corriger la tension à la WE en caractérisant préalablement l'impact du vieillissement de la RE sur les performances du système.

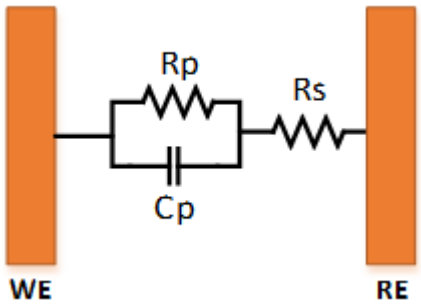
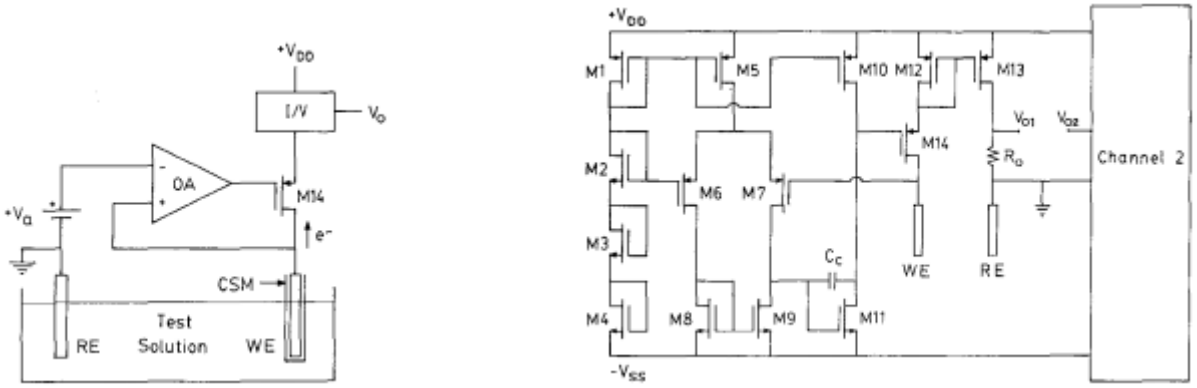


Figure 2.8 Modèle électrique simplifié de la configuration à deux électrodes.

La Fig. 2.8 illustre le modèle électrique simplifié d'une configuration à deux électrodes de mesure. *Cp* représente la capacité de la double couche capacitive, se formant à l'interface électrode-électrolyte et varie en fonction de la tension appliquée aux électrodes. Ce paramètre représente l'habilité de l'électrode à engendrer un flux de charges selon un procédé non faradique (Merrill *et al.* (2005)). *Rp* représente la résistance faradique créée par le transfert d'électrons entre l'électrode et l'électrolyte, dépendant de la concentration des analytes électroactifs présents à la surface de l'électrode. Enfin, *Rs* représente la résistance ohmique de la solution électrolytique dans laquelle baignent les électrodes. Il est nécessaire de prendre en compte ce modèle lors de la conception du potentiostat.

2.3.3 Revue des potentiostats CMOS à deux électrodes

Plusieurs architectures de potentiostats intégrés ont été décrites dans la littérature depuis l'avènement des circuits intégrés. De la plus élémentaire des formes, impliquant un amplificateur différentiel simple et ne possédant qu'un seul canal de mesure, allant jusqu'à une configuration multicanal contrôlée numériquement. Ces architectures utilisent toutes une conversion de l'amplitude du courant entrant à l'électrode de mesure en une unité de mesure électrique d'amplitude proportionnelle, suivie généralement d'un étage de conversion digitale.



(a) (b)

Figure 2.9 Potentiostat proposé par Turner *et al.* (1987) : (a) Schéma-bloc. (b) Circuit CMOS

.

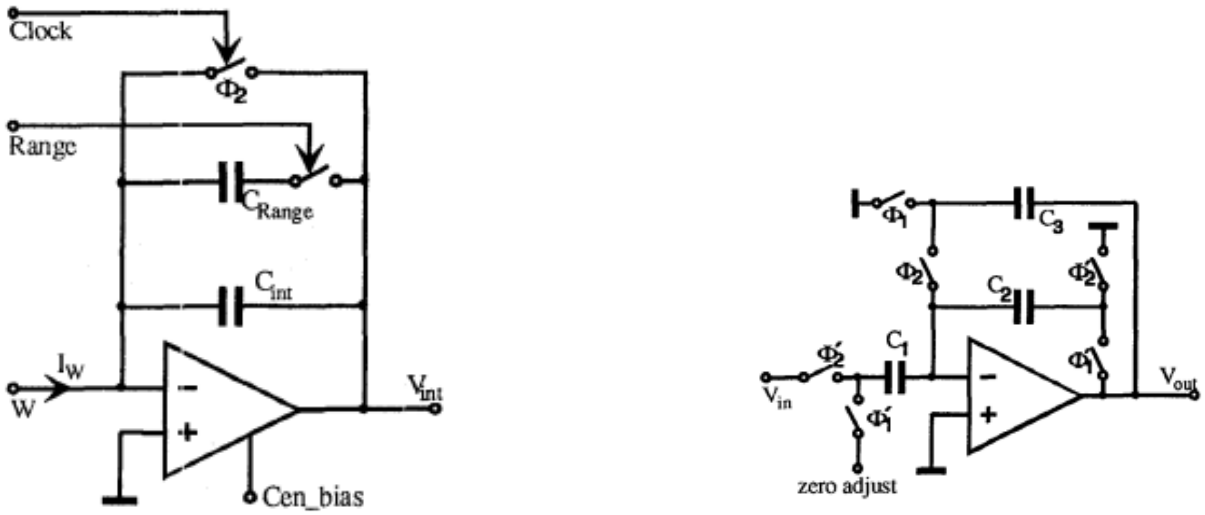
Le premier potentiostat CMOS à deux électrodes a été proposé par Turner *et al.* en 1987. Son architecture, illustrée à la Fig. 2.9(a), est composée d'un amplificateur opérationnel simple couplé d'un transistor *cascode* (M14). Cet étage d'entrée appelée convoyeur de courant assure le contrôle de la tension de polarisation constante V_a entre l'électrode WE et RE, ainsi que la récupération du courant entrant à l'électrode WE. Ce courant est ensuite converti proportionnellement en tension grâce à un étage de sortie muni d'un miroir de courant couplé d'une résistance. La Fig. 2.9(b) illustre le circuit complet du potentiostat proposé. Malgré l'avantage de la simplicité de cette topologie, celle-ci est limitée en termes de performances dues à l'étage de sortie employé qui engendre des erreurs de non-linéarité et de mésappariement. En effet, la plage des courants *redox* mesurée est limitée à l'ordre du nanoampère, allant de 0,1 nA à 3,5 µA, avec une faible résolution en plus de consommer un niveau élevé de puissance, soit 2 mW.

Ainsi, suite à cette première publication, de multiples autres architectures ont été propo-

sées dans la littérature incluant généralement un étage de numérisation des données tout en permettant des mesures de courant d'amplitude plus faible avec une résolution des mesures améliorée et une diminution de la consommation de puissance du système. Ces topologies ont été regroupées selon quatre catégories, soit les potentiostats avec capacités commutées, les potentiostats basés sur les miroirs de courant, les potentiostats basés sur les mesures de temps et les potentiostats basés sur les modulateurs sigma-delta. Les principes d'opération, les avantages et les limitations de ces topologies associées aux spécifications du potentiostat énoncés à la section 2.3.1 sont présentés aux sections suivantes.

Potentiostat avec capacités commutées

L'utilisation d'une capacité commutée, agissant comme élément d'impédance au lieu de résistance, a été exploitée dans plusieurs designs de potentiostat afin de détecter de faibles courants. Kakerow *et al.* (1995) ont proposé l'utilisation d'un intégrateur analogique programmable, tel qu'illustré à la Fig. 2.10(a). Ce circuit amplifie le courant d'entrée avec une technique de capacité commutée. Lors de la période active T_s du signal d'horloge de contrôle, l'intégrateur charge une capacité (C_{int}) avec le courant entrant à WE (I_W). La tension de sortie de l'intégrateur V_W à la fin de cette phase active est linéairement proportionnelle à I_W :



(a) (b)

Figure 2.10 Potentiostat proposé par Kakerow *et al.* (1995) : (a) Étage d'entrée avec intégrateur programmable. (b) Étage d'amplification avec amplificateur à capacités commutées.

$$V_W = \frac{T_s}{C_{int}} \times I_W \tag{2.1}$$

Cette tension est par la suite échantillonnée par un autre amplificateur à capacité commutée qui l'amplifie selon un facteur fixe C_1/C_2 (Fig. 2.10(b)). En ajustant la valeur de C_{int} via une deuxième capacité programmable C_{Range}, le facteur d'amplification du circuit est modifié permettant une adaptation à une plus grande plage de courant. Des courants *redox* allant jusqu'à 100 nA à une fréquence de 2 kHz peuvent être détectés à partir de ce circuit originalement fabriqué à partir d'une technologie 1µm CMOS. Le désavantage principal de cette architecture est lié aux quatre signaux de contrôle nécessaires à son fonctionnement ainsi qu'au réglage manuel de C_{Range}. Également, une faible résolution des mesures est obtenue, due principalement à l'injection de charge générée par la commutation de plusieurs interrupteurs.

Également, Breten *et al.* (2000) ont proposé un potentiostat basé sur l'utilisation d'un DAC à pente double constitué d'un amplificateur avec une capacité d'intégration, tel qu'illustré à la Fig. 2.11. L'étage d'entrée est composé de deux convoyeurs de courant, traitant les courants d'oxydation ou de réduction. Ces convoyeurs sont composés d'un transistor *cascode* et d'un amplificateur à rétroaction permettant de maintenir une tension stable à WE et de récupérer le courant WE (I_{mes}) avec une impédance faible. Le courant I_{mes} charge la capacité d'intégration du convertisseur à double pente pendant un temps d'intégration fixe. Après cette période, le courant de référence I_{ref} est connecté à l'entrée du convertisseur et la capacité est déchargée. La commutation entre le courant I_{mes} et I_{ref} est effectuée par un pont de quatre commutateurs. Le temps de déchargement est directement proportionnel à I_{mes} et est mesuré par un circuit de temporisation numérique. Le circuit est implémenté avec une technologie 0,7 µm CMOS et permet une détection d'un courant *redox* maximum de 5 nA avec une résolution de 1 pA et un temps de conversion de 200 ms. Malgré une grande résolution, ce circuit de complexité moyenne a une fréquence d'échantillonnage plus faible que 1 kHz.

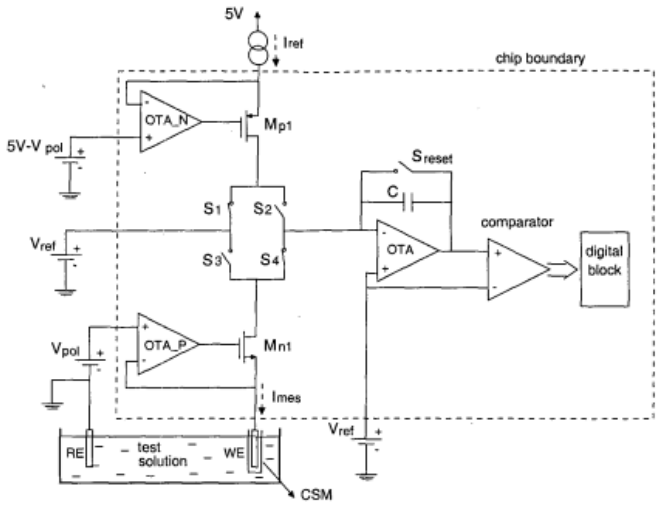


Figure 2.11 Schéma-bloc du potentiostat proposé par Breten *et al.* (2000)

Plus récemment, un autre circuit incluant une capacité comme élément d'intégration a été proposé par Ayers *et al.* (2007), illustré à la Fig. 2.12. Cette configuration est composée d'un étage d'entrée de type convoyeur de courant. Le courant *redox* produit par WE (I_{in}) charge la capacité qui le convertit en valeur de tension en sortie. Avant chaque mesure la capacité est rechargée à la tension d'alimentation par un transistor interrupteur placé en parallèle et activé par un signal d'horloge de contrôle. En utilisant une capacité d'intégration de 50 pF, des courants de 100 fA à 500 pA sont détectés avec une fréquence d'échantillonnage de 2 kHz. Ce circuit a comme désavantage principal d'avoir une plage dynamique de courant très limitée.

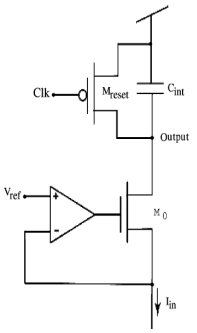


Figure 2.12 Schéma-bloc du potentiostat implémenté par Ayers *et al.* (2007).

Potentiostat basé sur des miroirs de courant

Bandyopadhyay *et al.* (2002) ont proposé un potentiostat dont l'étage d'entrée est composé

d'un convoyeur de courant couplé de miroirs de courant à gain programmable, tel qu'illustré à la Fig. 2.13. Le courant acquis à WE (I_{in}) est amplifié à travers une série de 6 miroirs de courant PMOS et NMOS offrant 16 gains programmables et est envoyé à un DAC sigma-delta de mode courant pour une conversion en valeur numérique. L'amplification en mode courant permet d'élargir la plage dynamique. Également, l'utilisation de transistors PMOS et NMOS permet une détection bidirectionnelle des courants d'oxydation et de réduction. Le circuit a été implémenté avec une technologie 0,5 µm CMOS et consomme 0,5 mW. Des courants allant du pA au µA sont détectables à une fréquence d'échantillonnage de 250 Hz. L'avantage de cette configuration est la détection d'une large plage de courant, aux dépens d'une complexité et d'une consommation de puissance élevée, ainsi que d'une faible précision.

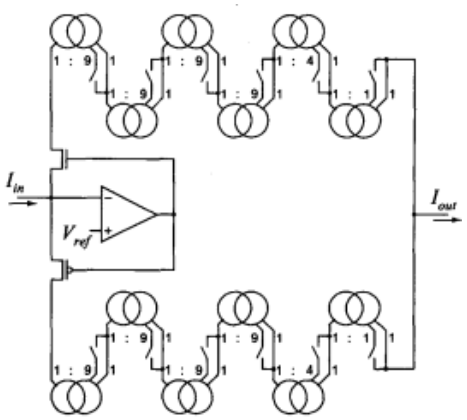


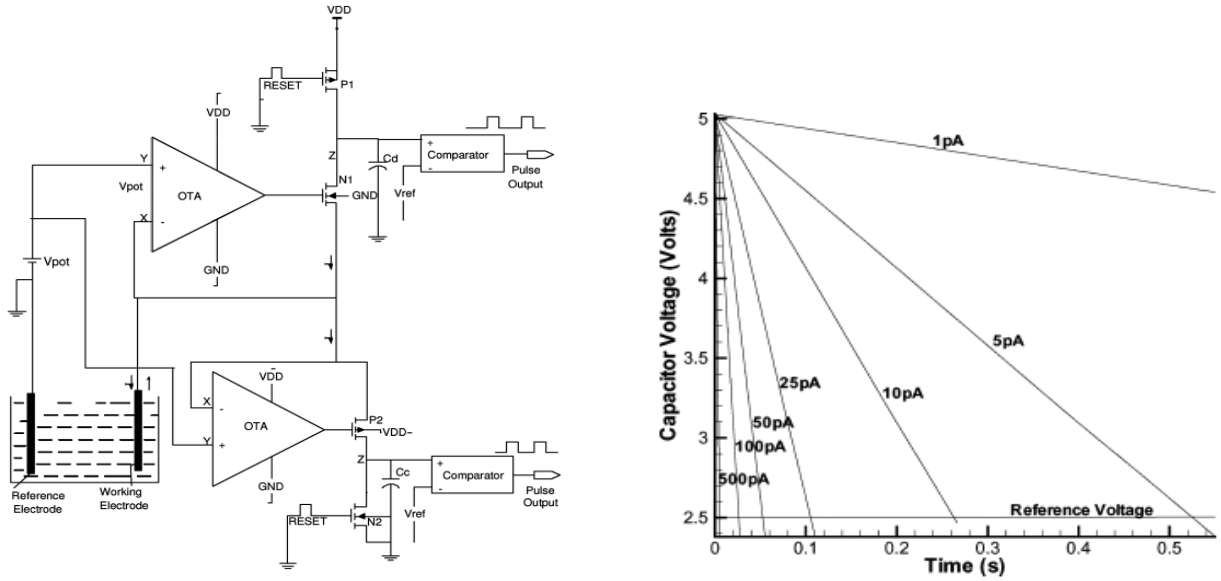
Figure 2.13 Convoyeur de courant et miroir de courant à gain programmable proposé par (Bandyopadhyay *et al.* (2002)).

Potentiostat basé sur des mesures de temps

Narula et Harris (2006) ont proposé en 2006 un potentiostat conçu avec une technologie 0,5 µm CMOS, convertissant l'amplitude du courant *redox* directement en mesure de temps. Un tel potentiostat dépend du temps de charge ou de décharge d'une capacité (C) à une certaine tension V_c, qui est linéairement proportionnelle à l'amplitude du courant *redox* d'entrée (i) récupéré à la WE, tel qu'exprimé par l'équation suivante :

$$\frac{\Delta V_c}{\Delta t} = \frac{V_c(t_f) - V_c(t_0)}{t_f - t_0} = \pm \frac{i}{C} \tag{2.2}$$

L'architecture présentée à la Fig. 2.14(a) est constituée d'un étage d'entrée avec amplificateur opérationnel et transistor *cascode* tel que retrouvé dans l'architecture de Turner *et al.* (1987), suivi d'un étage de sortie composé d'une capacité de mesure et d'un comparateur. L'étage d'entrée de type convoyeur de courant permet d'isoler l'entrée du système de la capacité, agissant tel un tampon, de sorte que l'entrée connectée à l'électrode de mesure soit de faible impédance et qu'une haute impédance soit appliquée à l'entrée de la capacité de mesure. Avant chaque mesure, la capacité est d'abord chargée à VDD via un transistor reset ($P1/N2$), et est ensuite déchargée par le courant traversant le transistor *cascode* ($N1/P2$) produit par la réaction électrochimique à WE. La tension aux bornes de la capacité est continuellement comparée à une tension de référence via un comparateur. Lorsque ces deux tensions se croisent, la sortie du comparateur est modifiée, générant une impulsion logique détectable. Le temps nécessaire pour décharger la capacité de mesure à la tension de référence correspond à l'amplitude de i (Fig. 2.14(b)). Avec une capacité de mesure de 1 pF, ce potentiostat mesure des courants *redox* de 1 pA à 200 nA, avec une résolution de 100 fA et une consommation de puissance de 130 µW.



(a) (b)

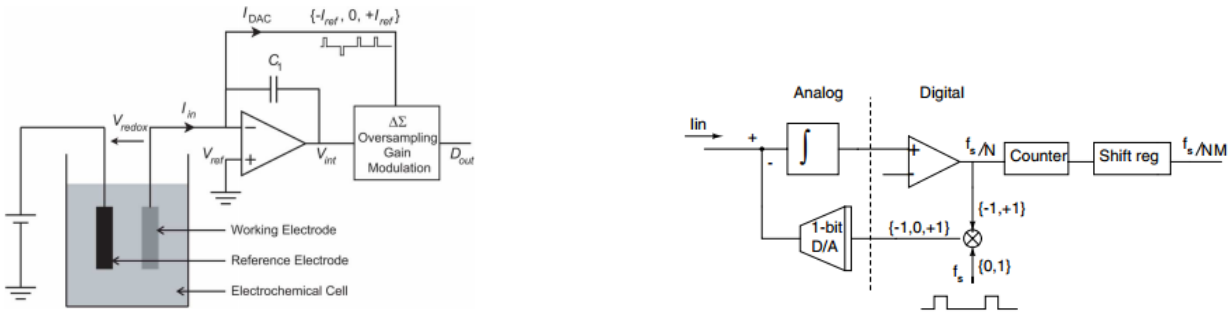
Figure 2.14 Potentiostat proposé par Narula et Harris (2006). (a) Schéma-bloc du circuit. (b) Tension aux bornes de la capacité de mesure versus le temps de décharge qui dépend de l'amplitude du courant d'entrée.

L'avantage principal de cette topologie est sa simplicité. En effet, le comparateur agit à la fois en tant que convertisseur de l'amplitude du courant en une mesure de sortie pro-

portionnelle facilement détectable et en tant que convertisseur numérique de cette donnée. Ainsi, aucun convertisseur analogique à numérique (*Analog to Digital Converter*—ADC) complexe ajoutant une erreur de quantification à la mesure n'est nécessaire à la numérisation de ces dernières. Cependant, cette configuration nécessite deux étages d'entrée symétriques pour détecter les courants d'oxydation et de réduction, doublant le nombre d'amplificateurs. Également, la détection de courants faibles de l'ordre des picoampères impose la période d'échantillonnage de plusieurs secondes et donc une fréquence d'échantillonnage faible.

Potentiostat avec modulateur sigma-delta

Le groupe de Thakor a proposé dans quelques publications (Stanacevic *et al.* (2007), Murari *et al.* (2005b), Genov *et al.* (2006) et Murari *et al.* (2004)) plusieurs variantes d'un potentiostat dit à conversion directe, c'est-à-dire convertissant directement l'amplitude du courant d'entrée en valeur numérique, sans amplification préalable telle qu'employé par les premières topologies (Turner *et al.* (1987) et Kakerow *et al.* (1995)), en utilisant un ADC sigma-delta en mode courant de premier ordre. En intégrant le courant à travers une boucle de rétroaction sigma-delta modulatrice, l'imprécision introduite par l'étage d'amplification est évitée (Stanacevic *et al.* (2007)). Le modulateur sigma-delta de premier ordre comprend un intégrateur analogique de courant, un comparateur et un DAC 1-bit avec un gain digital variable à modulation cyclique (Fig. 2.15). Le courant d'entrée est d'abord intégré avec un courant de référence (I_{DAC}) par un intégrateur analogique contrôlé par le DAC 1-bit, et converti en signal de tension. L'amplification est déterminée par le temps d'intégration et la taille de la capacité d'intégration utilisée. L'ajustement du cycle actif du courant de référence et le ratio de suréchantillonnage variable du modulateur permettent de couvrir une large plage dynamique de courant (six décades). Ce potentiostat fabriqué avec une technologie 0,5



(a) (b)

Figure 2.15 Potentiostat proposé par le groupe de Thankor. (a) Schéma-bloc simplifié du circuit (Stanacevic *et al.* (2007)). (b) Schéma-bloc de l'ADC sigma-delta (Murari *et al.* (2004)).

µm CMOS détecte des courants allant de 100 fA à 500 nA avec une résolution de 100 fA. La consommation de puissance et le temps de conversion dépendent de l'amplitude du courant mesuré. La consommation varie de 0,54 à 1,27 mW et le temps de conversion de 32 ms à 8,4 secondes.

De façon générale, cette configuration a l'avantage de convertir directement le courant en valeur digitale, sans aucune opération post-traitement et avec une résolution élevée. Cependant, encore une fois, le temps de conversion dépasse l'ordre de la milliseconde, allant jusqu'à plus de 8 secondes pour couvrir la plage dynamique mentionnée.

Comparaison générale des architectures existantes

Les topologies de potentiostat répertoriées dans la littérature et détaillées aux sections précédentes ne procurent pas l'ensemble des performances recherchées pour une détection *in vivo* des neurotransmetteurs, décrites à la section 2.3.1. En effet, ces configurations optimisent généralement un seul des critères de performances nous intéressant, au détriment des autres. Ainsi, une architecture dédiée à la détection des neurotransmetteurs offrant un compromis entre une grande plage dynamique d'entrée, une résolution élevée, une fréquence d'échantillonnage d'au moins 1 kHz et une consommation de puissance faible est recherchée. Une comparaison plus approfondie des différentes topologies selon la définition d'un facteur de forme est réalisée à la section 5.1.3.

CHAPITRE 3

ARCHITECTURE DE L'UNITÉ DE DÉTECTION ET CONCEPTION DU POTENTIOSTAT PROPOSÉ

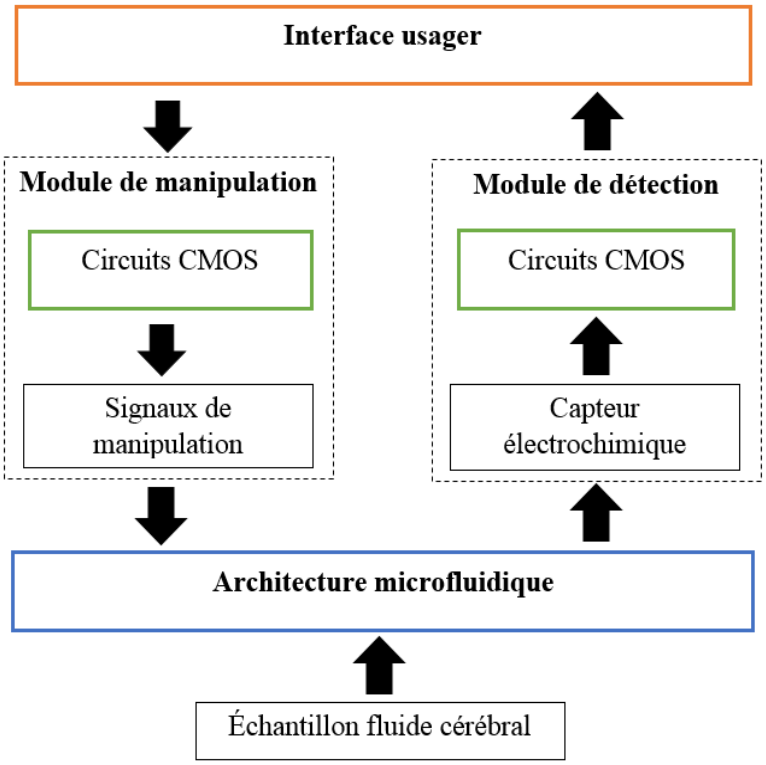
Nous présentons dans ce troisième chapitre l'élaboration de l'unité de détection électrochimique proposée, dédiée à l'identification des neurotransmetteurs variés en milieu *in vivo* et s'intégrant au système LSP envisagé. D'abord le contexte dans lequel s'inscrit le développement de l'unité de détection, soit l'architecture globale du système LSP développé à ce jour est décrite succinctement. L'objectif est de fournir une description générale du système LSP en mettant l'emphase sur l'élaboration de l'unité de détection. Celle-ci est basée sur le développement d'un potentiostat intégré performant une technique ampérométrique à tension constante, découlant de la méthode voltammétrique présentée au premier chapitre. Ensuite, l'architecture du potentiostat proposé, ainsi que la démarche de conception suivie, appuyée par des simulations sont présentés. L'architecture globale et le fonctionnement du potentiostat, répondant aux spécifications de mesure *in vivo* des neurotransmetteurs, sont détaillés. Chacun des composants du système est ensuite décrit et le choix de leur topologie est justifié. Enfin, une analyse théorique des limitations du design est effectuée.

3.1 Vue d'ensemble du système laboratoire sur puce

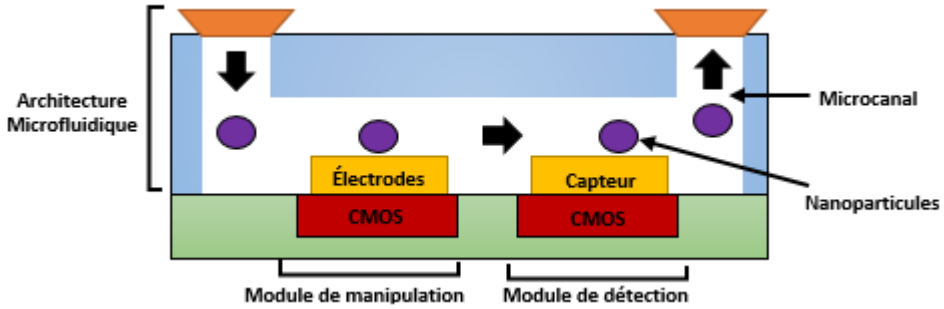
Un LSP est un système intégrant une ou plusieurs fonctions de laboratoires sur une puce d'une taille allant de quelques millimètres à quelques centimètres, capables de manipuler des volumes de fluides de l'ordre du picolitre. De façon générale, ce microsystème est composé d'une partie microfluidique et d'une partie microélectronique. La composante microfluidique implique la fabrication de microcanaux permettant le contrôle précis du fluide analysé. La composante microélectronique englobe les circuits générant et récupérant l'ensemble des signaux électroniques du système, liés par exemple à l'application de forces externes, au contrôle de capteurs ou encore à l'acquisition de données de mesure.

Le principe de fonctionnement du LSP proposé pour la détection et la quantification des neurotransmetteurs implique l'élaboration d'un module de manipulation et d'un module de détection en lien avec une architecture microfluidique et une interface usager, tel que résumé par le diagramme-bloc de la Fig. 3.1(a). Des circuits intégrés conçus avec la technologie CMOS régissent le fonctionnement des deux modules principaux ainsi que l'acquisition des

données bilatérales transmises à une interface usager. La Fig. 3.1(b) illustre la disposition simplifiée des composants du système LSP, en considérant la circulation de nanoparticules dans un seul micro-canal.



(a)



(b)

Figure 3.1 (a) Diagramme-bloc général des unités principales du système LSP actuel. (b) Schéma de la disposition simplifiée des composants du système LSP.

D'abord, un faible volume du fluide cérébral est échantillonné par une valve d'entrée et circule dans une architecture microfluidique constituée de microcanaux. Celle-ci a pour fonction de diriger le fluide cérébral échantillonné contenant divers types de neurotransmetteurs,

à travers les différents compartiments du système LSP. Séquentiellement, les nanoparticules du fluide sont séparées en fonction de leur nature par l'unité de manipulation via l'application d'un effet diélectrophorétique contrôlé. Pour ce faire, des signaux sinusoïdaux appliqués sur une matrice d'électrodes contenue dans le microcanal sont générés. Ces signaux créent une force diélectrophorétique spécifique permettant la séparation des particules. Ensuite, les particules sont dirigées vers l'unité de détection constituée de chambres microfluidiques contenant des biocapteurs ampérométriques. Ces biocapteurs ampérométriques sont formés d'un potentiostat CMOS et de microélectrodes de mesure afin de quantifier le niveau de concentration des diverses particules identifiées. Tel qu'illustré à la Fig. 3.2, chaque type de nanoparticules est associée à une chambre microfluidique contenant une unité de détection optimisée pour sa quantification. Le nombre de canaux de détection dépend du nombre de nanoparticules à identifier. Une fois la quantification et autre opération de manipulation terminée, les nanoparticules sont dirigées vers la sortie du système et réintègre le fluide cérébral.

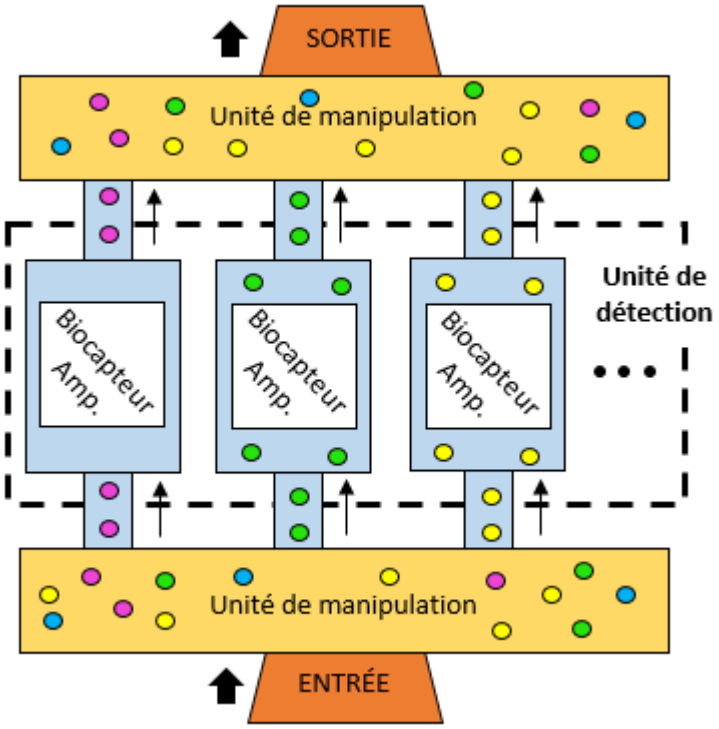


Figure 3.2 Concept général du système LSP proposé.

Le développement de l'unité de manipulation et l'architecture microfluidique n'étant pas abordé dans le cadre de cette maîtrise, ces deux composantes ne seront que brièvement présentées à la prochaine section afin d'apporter une vue d'ensemble du système dans lequel s'inscrit l'unité de détection développée. Également, la mise en œuvre de ce projet étant récente et en constante évolution, l'unité de manipulation et l'architecture microfluidique

n'ont pas été utilisées pour tester le module de détection proposé dans ce mémoire.

3.1.1 Unité de manipulation et architecture microfluidique

L'unité de manipulation a pour fonction la génération d'un champ AC de distribution spatiale non uniforme, en utilisant une matrice de microélectrodes. La configuration géométrique de cette matrice contenue dans le canal microfluidique, détermine les schémas de forces diélectrophorétiques particuliers générés et par conséquent, le type de manipulation (i.e. rotation, translation, séparation, etc...) produite sur les particules présentes dans le canal.

Principes de la diélectrophorèse

Selon la théorie de la diélectrophorèse (DEP) énoncée par Pohl (1978), la force DEP (F_{DEP}) agissant sur une particule sphérique est exprimée par l'équation simplifiée suivante :

$$F_{DEP} = 2\Pi r^3 \epsilon_m Re\left[K(w)\right] \times \left|\nabla E^2\right| \tag{3.1}$$

où r est le rayon de la particule, ϵ_m la partie réelle de la permittivité, $Re\left[K(w)\right]$ la partie réelle du facteur Clausius-Mossotti et E l'intensité du champ électrique. Le facteur $Re\left[K(w)\right]$ dépend de la géométrie des électrodes et détermine principalement l'impact de l'amplitude (V) du signal énergisant les électrodes sur la F_{DEP}. Le facteur Clausius-Mossotti, dont la courbe typique en fonction de la fréquence est tracée à la Fig. 3.3, détermine la direction de

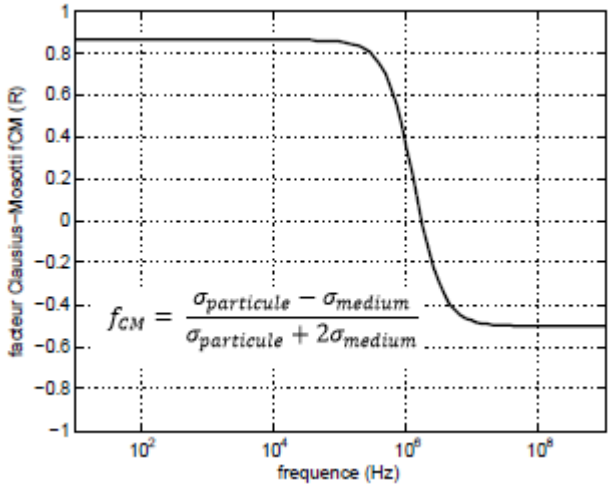


Figure 3.3 Graphique de la partie réelle du facteur Clausius-Mossotti déterminant la direction de la F_{DEP}.

la F_{DEP}. Ce facteur dépend de la permittivité (σ) de la particule et du milieu. Lorsque la particule est plus polarisable que le médium l'environnant, son mouvement est dirigé vers la région du champ électrique élevé ($Re\left[K(w)\right] > 0$), appelé diélectrophorèse positive (PDEP). Dans la situation inverse, le mouvement de la particule est en direction de la région du champ électrique bas ($Re\left[K(w)\right] < 0$), appelé la diélectrophorèse négative (NDEP) (Pethig (2010)). Également, la F_{DEP} agissant sur les particules est nulle à une certaine fréquence ($Re\left[K(w)\right] = 0$), appelée la fréquence de croisement. Puisque la polarisabilité de la particule dépend de la fréquence du champ, la direction de la force nette (PDEP ou NDEP) en dépend également.

Ainsi, en déterminant la fréquence de croisement spécifique associée à chaque neurotransmetteur et en utilisant une architecture d'électrodes appropriée, il est jugé possible d'utiliser la différence entre les forces DEP exercées sur les particules pour créer leur séparation. Outre la séparation des neurotransmetteurs, les forces DEP générées par l'unité de manipulation permettraient également l'élaboration d'un ensemble de manipulation contrôlée des particules dans le système, tel que leur déplacement.

Hypothèses liées à l'unité de manipulation et à l'architecture microfluidique

La conception de l'unité de détection prend en compte les hypothèses suivantes, en lien avec l'unité de manipulation :

Hypothèse 1 Différents types de neurotransmetteurs peuvent être séparés par un effet DEP dans plusieurs microcanaux. Une fois la séparation terminée, chaque microcanal lié à l'unité de détection, contient un type domininant de neurotransmetteurs.

Hypothèse 2 Les manipulations DEP ne modifient pas la structure chimique des neurotransmetteurs.

3.1.2 Unité de détection proposée

L'unité de détection permet de quantifier la concentration des neurotransmetteurs grâce à un capteur électrochimique ampérométrique formé d'un potentiostat CMOS à 2 électrodes de mesure. Ce potentiostat applique une technique électrochimique d'ampérométrie à tension constante, afin de mesurer la concentration des neurotransmetteurs présents dans l'échantillon du fluide cérébral de façon continue.

Principes de détection par ampérométrie à tension constante

L'ampérométrie est une technique électrochimique qui implique la mesure d'un courant généré par une réaction chimique à l'interface d'une électrode. Tel que décrit à la section 1.2.2, en appliquant une différence de tension, appelée tension *redox*, entre une WE et une RE, une réaction électrochimique d'oxydation ou de réduction se produit entre une molécule électroactive d'intérêt et la surface de l'électrode de mesure, générant un transfert d'électrons mesurable. Ce courant *redox* est proportionnel à la concentration de l'espèce chimique. Le courant généré par une réaction d'oxydation, soit un processus cathodique où le courant quitte WE, est exprimé par la relation suivante (Bard et Faulkner (2000)) :

$$I_{oxy} = -\frac{zFAD_{oxy}C_{oxy}}{w} \tag{3.2}$$

$$I_{red} = +\frac{zFAD_{red}C_{red}}{w} \tag{3.3}$$

où z est le nombre d'électrons transféré par mole de réactant, F est la constante de Faraday de 9,648753$\times 10^4$ C/mol, A l'aire de l'électrode effective en m^2, D_{oxy} (D_{red}) le coefficient de diffusion en m^2/s de l'espèce oxydé (réduite), C_{oxy} (C_{red}) la concentration de l'espèce oxydée (réduite) en mol/m^3 et w l'épaisseur de la couche de diffusion.

L'ampérométrie à tension constante est la plus simple des techniques électrochimiques. Elle implique l'administration d'une tension *redox* constante dans le temps entre l'électrode de mesure et l'électrode de référence, dont la valeur correspond au pic d'oxydation ou de réduction de la molécule que l'on veut quantifier. Cette technique offre la meilleure résolution temporelle et permet l'utilisation d'une fréquence d'échantillonnage élevée, au détriment d'une faible sélectivité. En effet, tel que mentionné à la section 1.2.2, la discrimination entre deux espèces chimiques ayant une tension *redox* semblable n'est pas possible avec cette technique. Cependant, dans le cadre de la plateforme LSP proposée, l'unité de manipulation a pour objectif de séparer les neurotransmetteurs selon leur nature, procurant un premier degré de sélectivité, nécessaire à la quantification précise de plusieurs substances.

Disposition proposée des biocapteurs ampérométriques dans l'unité de détection

La quantification de plusieurs neurotransmetteurs implique une structure multicanal à plusieurs WE. La Fig. 3.4 illustre la disposition générale d'un biocapteur ampérométrique dans l'unité de détection. La WE associée à un canal de mesure est connectée de façon

séquentielle à l'entrée d'un potentiostat par le contrôle d'un multiplexeur/démultiplexeur (MUX/DEMUX). Ainsi, plus d'un potentiostat peut être implémenté, dépendant du nombre de canaux qu'un seul potentiostat peut supporter. Par ailleurs, l'architecture électronique du potentiostat doit être apte à mesurer des courants d'oxydation (I_{oxy}) et de réduction (I_{red}), c'est-à-dire de polarité différente, selon le type de la réaction électrochimique provoquée à chaque WE. La tension *redox* est également modifiée au cours du temps de sorte qu'elle corresponde à la valeur associée au neurotransmetteur à détecter dans le canal de mesure sélectionné. Le courant *redox* mesuré est alors converti en valeur de sortie numérique ($I_{redox_digital}$), transmise à l'interface usager. Les RE de chaque canal sont connectées au même potentiel fixe, simplifiant la circuiterie demandée.

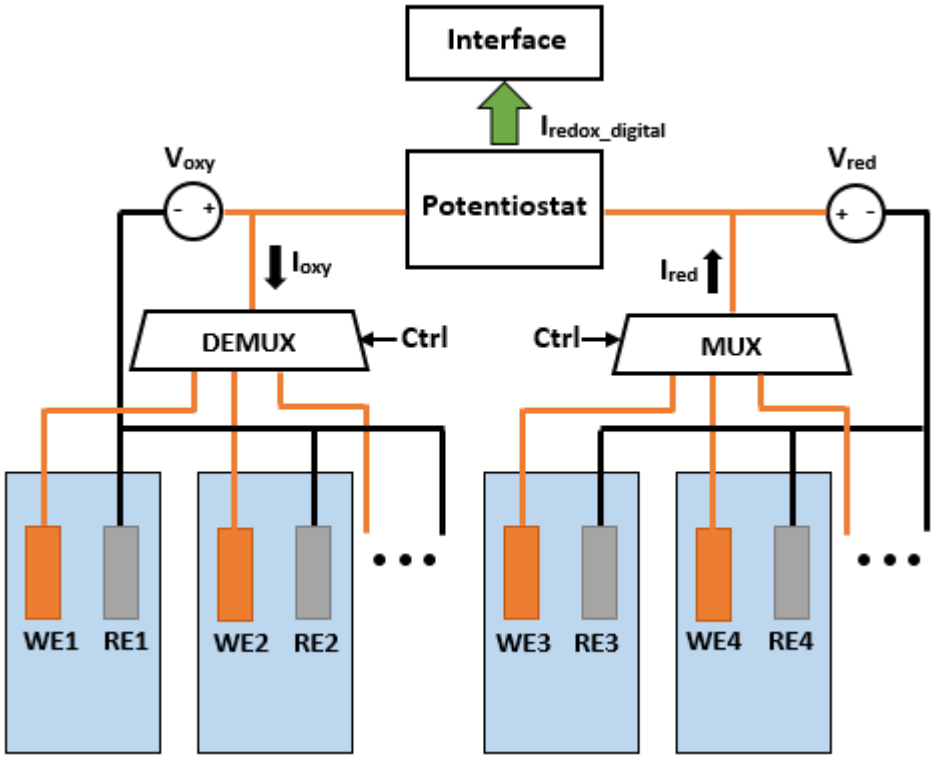


Figure 3.4 Disposition proposée de l'unité de détection dans le LSP.

3.2 Architecture globale et fonctionnement du potentiostat

La Fig. 3.5 illustre l'architecture du potentiostat basé sur des mesures de temps proposée. La configuration à base de mesures de temps est choisie puisqu'elle offre la possibilité d'atteindre le compromis recherché entre les différents paramètres utiles à la détection des neurotransmetteurs avec les modifications que nous proposons.

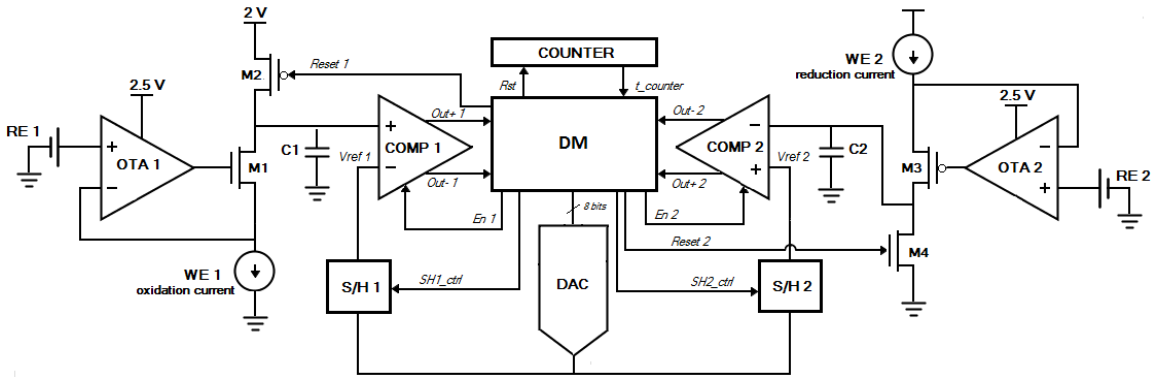


Figure 3.5 Architecture du potentiostat proposé (Massicotte et Sawan (2013)).

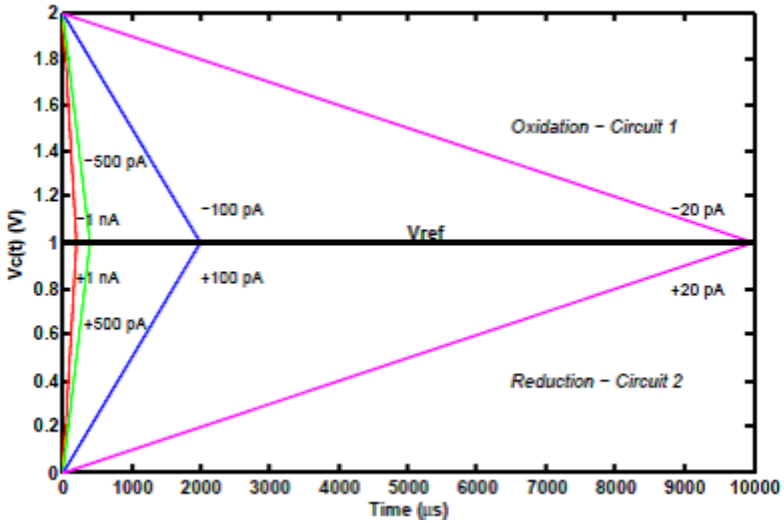
L'architecture du potentiostat proposé détecte les courants d'oxydation et de réduction séparément avec deux circuits symétriques en utilisant la technique électrochimique d'ampérométrie à tension constante. Le circuit 1 mesure des courants d'oxydation en déchargeant la capacité de mesure C1, tandis que le circuit 2 mesure des courants de réduction en chargeant la capacité de mesure C2. Chaque circuit est constitué d'un étage d'amplification *cascode* régulé (*Regulated Cascode Amplifier*—RCA) et d'un comparateur. Un DAC de 8 bits est partagé entre les deux canaux grâce à l'ajout de circuit échantillonneur bloqueur (*Sample and Hold*—S/H), de sorte à diminuer la consommation de puissance. Ce dernier est contrôlé par un algorithme d'acquisition de données implémenté par un module de contrôle numérique (*Digital Module*—DM).

Ainsi, le courant d'entrée produit par un évènement d'oxydation à l'interface de WE1 décharge la capacité C1 à un taux déterminé par l'équation 3.4 :

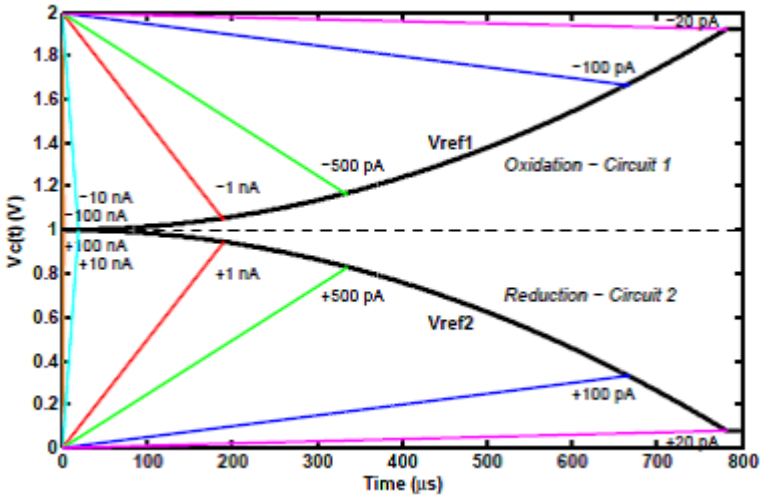
$$\frac{\Delta V_c}{\Delta t} = \frac{V_{ref}(t_f) - V_c(t_0)}{t_f - t_0} = \pm \frac{i}{C} \tag{3.4}$$

WE1 est déchargée à travers M1 qui agit en tant que tampon. C1 est préchargé à une tension de 2 V par un signal *Reset* appliqué à un transistor PMOS (M2). Le comparateur compare continuellement la tension aux bornes de la capacité à une tension de référence (V_{ref}). V_{ref} est générée par le DAC, contrôlé par le DM, et varie au cours du temps. Dès que la tension aux bornes de C1 croise V_{ref1}, la sortie du comparateur passe du niveau logique 1 au niveau 0. Ce changement de niveau logique est facilement détectable par un détecteur de front descendant, contenu dans le circuit DM. Le temps pris par COMP1 pour changer de niveau est équivalent au délai de temps pris par la capacité pour se décharger de 2 V à V_{ref1}, directement

proportionnel à l'amplitude du courant d'oxydation à WE1 (éq. 3.4). Ensuite, cette mesure de temps est traduite en mesure de concentration par la courbe de calibration associée à la substance détectée. Le même principe de fonctionnement s'applique à la mesure des courants de réduction à WE2 réalisée par le circuit 2, excepté que l'opération est inversée puisque C2 est chargé à travers M3 au cours du temps. Un transistor NMOS de *Reset* (M4) est mis à la masse avant chaque nouvelle mesure. Pour les capacités de mesure C, une valeur de 200 fF est choisie comme compromis entre les limites de temps de mesure établies et un rapport



(a)



(b)

Figure 3.6 Différentes tensions aux bornes de la capacité de mesure $V_c(t)$ (traces colorées) en fonction du temps de mesure pour différentes amplitudes de courants *redox*, avec une variation de V_{ref} au cours du temps (µs) : (a) fixé à 1V, (b) selon une fonction quadratique.

signal-sur-bruit élevé.

La tension de référence V_{ref} appliquée au comparateur est modifiée au cours du temps, donc dynamiquement, afin de réduire le temps de mesure nécessaire pour charger ou décharger la capacité et ainsi augmenter la fréquence d'échantillonnage du système. En effet, cette variation continue de V_{ref} limite le temps de mesure maximal du système associé au plus faible courant *redox* détecté et augmente la fréquence d'échantillonnage pour une plage de courant fixée. La Fig. 3.6 illustre ce concept, en comparant l'utilisation d'un V_{ref} dynamique et d'un V_{ref} statique au cours du temps. Différentes tensions aux bornes de la capacité sont tracées en fonction du temps de mesure, pour différents courants d'oxydation et de réduction avec un V_{ref} fixe (a) ou dynamique (b). Un V_{ref} fixe demande un temps de mesure au-delà des 10 000 µs, alors que la variation de V_{ref} selon une fonction quadratique prend moins de 800 µs. La détection avec un V_{ref} variable est donc au-delà de 10 fois plus rapide qu'avec un V_{ref} fixe. Le choix d'une variation de V_{ref} selon une fonction quadratique est justifié à la section 3.3.2.

3.2.1 Étage d'amplification *cascode* régulé

L'étage RCA est constitué d'un amplificateur (*Operational Transconductance Amplifier*— OTA), d'un transistor monté en *cascode* (M1 ou M3) et d'un transistor de *Reset* (M2 ou M4), tel qu'illustré à la Fig. 3.7. Ce convoyeur de courant permet de maintenir constante la tension de l'entrée inverseuse de l'OTA qui polarise WE, ainsi que d'isoler le signal à l'entrée (électrode WE) de celui en sortie (vers la capacité de mesure C). En effet, ce circuit permet d'obtenir une faible impédance à l'entrée afin d'obtenir le plus grand taux d'injection de courant généré par WE à l'entrée du circuit, ainsi qu'une haute impédance en sortie. Une haute impédance en sortie est recherchée afin que le déchargement/chargement de la capacité n'affecte pas la tension de l'entrée inverseuse de l'amplificateur.

L'impédance d'entrée R_{in} du circuit RCA 1 est exprimée par l'équation suivante :

$$R_{in,RCA1} = \frac{1}{g_{s,M1}(1 + kA_0)} \tag{3.5}$$

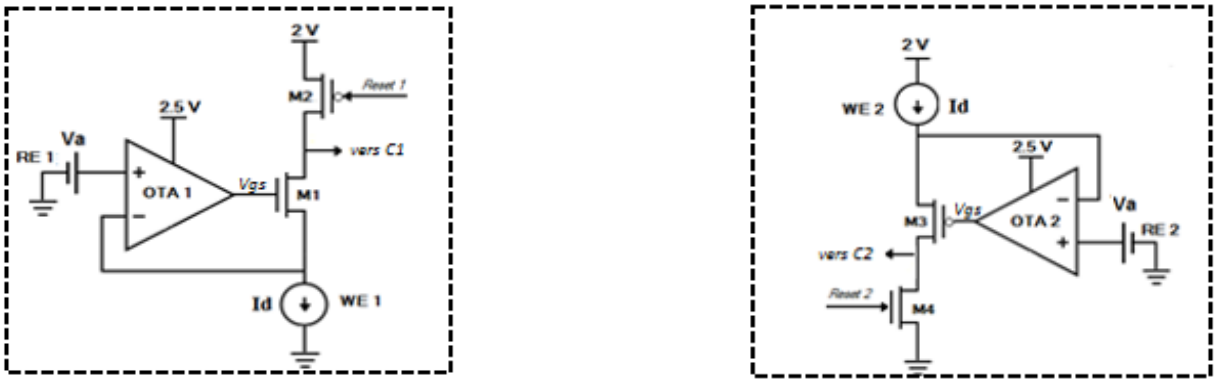
où $g_{s,M1}$ est la conductance de la source de M1, k est le facteur de la pente en régime faible inversion et A_0 est le gain de l'amplificateur. L'impédance de sortie du circuit RCA 1 est exprimée par :

$$R_{out,RCA1} = gm_{M1} \times r_{0,M1} \times r_{0,M2} \times (1 + A_0) \tag{3.6}$$

avec

$$gm_{M1} = \frac{1}{I_D}\sqrt{2I_D\mu_N C_{ox}\left(\frac{W}{L}\right)_{M1}} \tag{3.7}$$

où gm est la transconductance du transistor, r_0 est la résistance de sortie du transistor, L la largeur du transistor, W la largeur du transistor et λ est la modulation de la longueur de canal directement proportionnelle à $1/L$. Similairement, pour le circuit RCA 2, on retrouve les mêmes équations en substituant M1 par M3 et M2 par M4. Tel qu'indiqué par les équations 3.5 à 3.7, il est impératif que le gain de l'amplificateur soit très élevé pour que le système maintienne les conditions d'impédance spécifiées pour une large plage de courants I_d, tout en obtenant un bruit à l'entrée du système plus faible que 1 pA, afin de mesurer des courants de l'ordre du picoampère. La rétroaction de l'amplificateur permet de contrôler la valeur d'équilibre de tension grille-source (V_{gs}) du transistor *cascode* M1/M3 en fonction de l'amplitude du courant entrant afin de maintenir une tension à la source constante, dont la valeur est imposée à l'entrée positive de l'amplificateur (V_a). Enfin, de sorte à réduire la consommation de puissance de l'ensemble du système, la tension de recharge de la capacité est diminuée à 2 V, au lieu de l'alimentation 2,5 V utilisée par l'OTA.

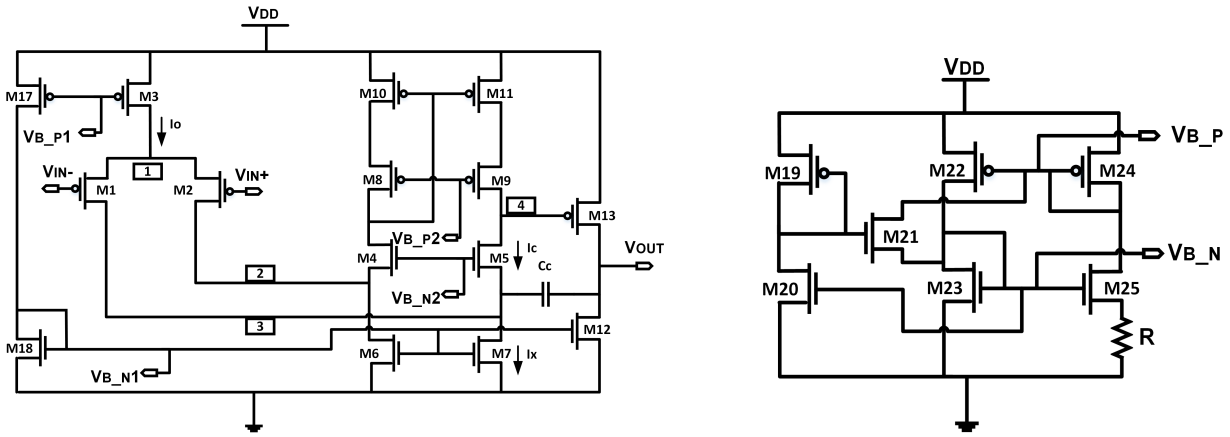


(a) (b)

Figure 3.7 Étage RCA associé (a) au circuit 1 (RCA 1) et (b) au circuit 2 (RCA 2).

Amplificateur

L'amplificateur utilisé dans ce circuit a pour fonction principale d'agir comme une masse virtuelle en maintenant sa borne d'entrée à un potentiel constant (V_a) sans affecter le courant de WE. Puisque le signal d'entrée est le courant généré par WE, fonctionnant dans la plage contenue entre le niveau DC et une fréquence de 1 kHz, le système est enclin aux effets parasitiques de faibles fréquences, particulièrement au bruit *flicker* 1/f. Également, la mesure d'une large plage de courant nécessite entre autres un amplificateur ayant une large plage de sortie linéaire. Une topologie de type *folded cascode* avec un deuxième étage de type *Miller*, illustré à la Fig. 3.8, est choisie pour son compromis raisonnable entre l'obtention d'un gain élevé, d'une large plage de sortie, d'une faible consommation de puissance et d'un faible bruit d'entrée.



(a) (b)

Figure 3.8 (a) Amplificateur *folded cascode-Miller* et (b) son circuit de polarisation.

L'étage d'entrée *folded cascode* est constitué d'une paire différentielle de transistors PMOS afin de diminuer le bruit 1/f. Cette paire différentielle est alimentée au nœud 1 d'une source de courant active I_o par le transistor M3. Au nœud 3, le transistor M7 tire un courant I_x. La différence entre I_x et le courant circulant dans M1, soit le courant I_c, est tirée du transistor *cascode* M5, provenant de la source de courant créée par le miroir de courant de type *Wide-Swing*, formé par les transistors M8 à M11. Le gain de ce premier étage est déterminé par l'impédance de sortie au nœud 4 et par la transconductance de la paire différentielle. Le deuxième étage est constitué d'un transistor PMOS (M13) et de sa charge active (M12), en configuration source-commune. Une compensation fréquentielle est réalisée par une capacité de Miller (C_c). L'ajout de cet étage permet d'obtenir une plage de sortie de type *full*

output swing, d'augmenter le gain et la bande passante. Deux circuits de polarisation de type Beta-multiplier, illustré à la Fig. 3.8(b), produisent chacun deux tensions de référence V_b complémentaires (V_{bp} et V_{bn}), dont les valeurs sont ajustées en modifiant la valeur de la résistance R. Le circuit est conçu de sorte à générer une consommation statique faible, soit de moins de 2 µW.

La taille des transistors de l'étage différentiel d'entrée (M1, M2) est choisie de façon à obtenir une transconductance élevée pour un gain élevé. Ces transistors sont polarisés en régime faible inversion afin d'obtenir un rapport I_d/gm augmenté et une consommation de puissance réduite. Ainsi, les transistors M1 et M2 sont dimensionnés avec un W et un L élevé, produisant un rapport W élevé dans le but de diminuer également le bruit d'entrée (voir section 3.3.3). Les transistors du miroir de courants M8 à M11 et les transistors de polarisation M6/M7, M17/M18 et M8 sont dimensionnés et polarisés de sorte à opérer en régime de saturation, afin de générer une source de courant stable.

Le Tableau 3.1 résume les caractéristiques électriques de l'amplificateur obtenues à partir de simulations (en variations standard), suite à l'extraction du dessin des masques illustré à la Fig. 3.9.

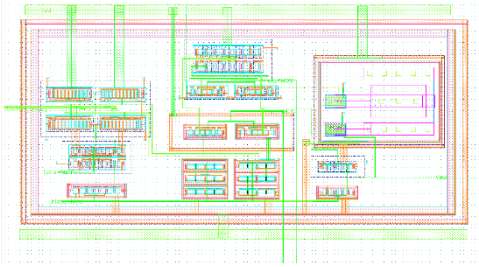


Figure 3.9 Masque de l'amplificateur.

Tableau 3.1 Performances électriques simulées de l'amplificateur.

Gain DC	85 dB
Plage dynamique de sortie	0,03–2,43 V
Fréquence de gain unitaire	3,85 MHz
Bande passante	4 kHz
Taux de réjection en mode commun (CMRR)	100 Mhz
Tension d'alimentation	2,5 V
Puissance (avec circuits de polarisation)	15 µW

Transistor cascode

Le transistor *cascode* agit comme tampon entre l'entrée du circuit (électrode WE) et sa sortie (capacité de mesure C). Une polarisation en région d'opération linéaire doit être évitée,

puisque le courant I_D devient également fonction de la tension drain-source (V_{DS}) du transistor *cascode*. Dans ce cas, la régulation de l'amplificateur n'est plus apte à imposer l'égalité entre la tension à la source du transistor V_S et la tension V_a imposée, simplement par la modification de la tension grille-source (V_{GS}). Selon la courbe de transfert des transistors de la technologie CMOS 0.13 µm (voir Annexe A), à mesure que le courant WE diminue, le transistor *cascode* entre en régime d'opération faible inversion (*subthreshold*). Le bruit d'entrée référé total, incluant les composantes *flicker* et thermique, généré par le transistor *cascode* M1 en régime de faible inversion est exprimé par l'équation suivante (Enz *et al.* (1995)) :

$$\overline{Vn_{M1}{}^2} = \left(\frac{4kT_\rho}{W_{M1}L_{M1}f}\right)_{1/f} + \left(\frac{2qI_{WE}}{gm^2}\right)_{th} \tag{3.8}$$

où, q, $\mathrm{I_{WE}}$ et ρ, sont respectivement, la charge d'un électron, le courant à WE et le coefficient de bruit *flicker* dépendant de la technologie. Similairement, le bruit d'entrée référé total du transistor M3 associé au circuit RCA 2 peut être calculé en substituant M1 par M3 dans l'équation 3.8. Un compromis entre l'obtention d'un faible bruit dans la plage des faibles courants mesurés et d'une haute impédance de sortie R_{out} (éq. 3.6) est réalisé en dimensionnant ce transistor avec une longueur élevée et une largeur faible.

Transistor du *Reset*

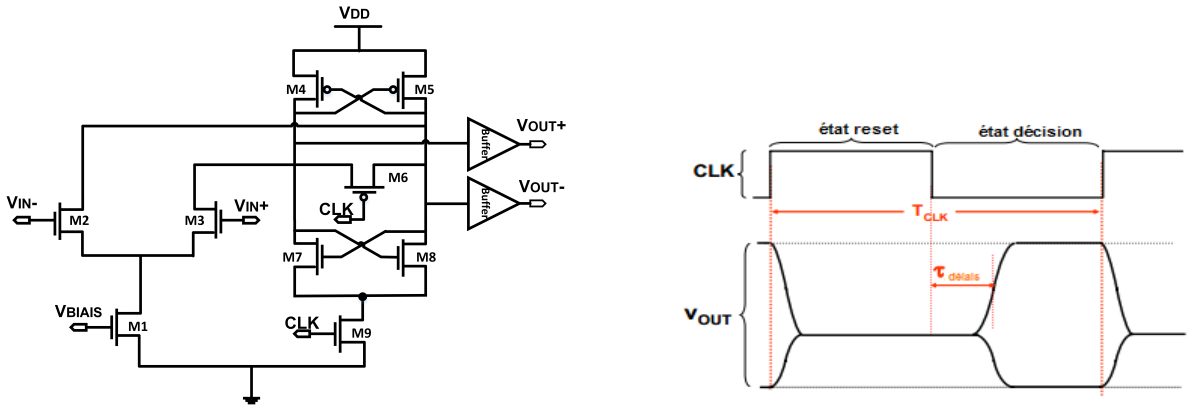
Le transistor de *Reset* (M2 ou M4) agit comme interrupteur et est activé avant chaque nouvelle mesure, à la fréquence d'échantillonnage, par le DM. Il a pour fonction de recharger la capacité de mesure à l'alimentation ou la décharger à la masse, respectivement pour le circuit 1 et 2. Les courants de fuite sont une source d'erreur importante pour la détection de courant de faibles amplitudes. La largeur (W) et la longueur (L) de ce transistor sont donc de taille minimale, de sorte à diminuer au minimum l'injection de charges dans la capacité de mesure C, modifiant la tension aux bornes de celle-ci (ΔVc) et affectant la précision des mesures de courants. La relation entre l'injection de charge et ΔVc est exprimée par la relation suivante (Baker (2011)) :

$$\Delta V_c = \frac{C_{ox}WL(V_{gs} - V_{th})}{2C} \tag{3.9}$$

3.2.2 Comparateur

Le comparateur a pour fonction de comparer en continu la tension aux bornes de la capacité de mesure C avec la tension V_{ref}, de sorte à générer une impulsion digitale lorsque celles-ci se croisent, mettant fin à la mesure. Une fréquence de comparaison de l'ordre des

MHz est nécessaire afin de mesurer des courants de l'ordre des centaines de nanoampères, se traduisant en des temps de mesure de l'ordre des nanosecondes. Également, l'amplitude de la tension d'offset, du délai de comparaison et du bruit *kickback* sont trois autres caractéristiques liées au comparateur qui affectent la précision des mesures de courant du potentiostat proposé et doivent être minimisé (voir section 3.3.1). Un comparateur class-AB avec circuit de verrouillage, soit une configuration de type *latch* avec un étage de préamplification est adoptée (Fig. 3.10(a)). En effet, ce type de configuration a l'avantage d'être rapide, de consommer peu de puissance ainsi que de générer une tension d'offset et un bruit *kickback* faible, l'étage d'amplification en entrée étant séparé du circuit de verrouillage.



(a) (b)

Figure 3.10 (a) Comparateur de type Class-AB *latch* et (b) son principe de fonctionnement.

Le comparateur utilisé fonctionne selon deux états, soit l'état *Reset* et l'état décision, se succédant selon la période d'une horloge de contrôle (*Clk*), tel qu'illustré à la Fig. 3.10(b). L'étage d'entrée est composé d'une paire différentielle (M2–M3), alimentée par une source de courant active (M1) et agit comme préamplificateur. Pendant la phase de *Reset* ($Clk = 0$ V), le transistor NMOS de *Reset* M6 est actif, ce qui impose aux deux sorties *Vout+* et *Vout-* un niveau logique identique de 1. Également, le transistor PMOS M9 est fermé, empêchant toute circulation de courant dans M7 et M8. Lors de la phase de régénération ou de décision ($Clk = V_{DD}$), le transistor de *Reset* M6 est inactif et le transistor M9 est actif. Les transistors M4–M5 et M7–M8 forment deux inverseurs à couplage croisé créant une rétroaction positive, convertissant les signaux analogiques d'entrée de faibles amplitudes en signaux digitaux standard. La dimension de ces derniers a d'abord été optimisée de sorte à assurer un point de commutation à $V_{DD}/2$, en utilisant une longueur minimale pour augmenter la vitesse de réponse. La tension de polarisation V_{BIAS} est générée avec le circuit beta-multiplier présenté

précédemment (Fig. 3.8(b)). Enfin, des tampons (*buffer*) sont ajoutés en sortie et agissent comme amplificateur, de sorte à obtenir un niveau logique 1 ou 0 bien défini.

Puisque les drains de la paire différentielle d'entrée sont directement connectés aux nœuds de régénération de l'étage *latch* , le circuit du comparateur class-AB réagit rapidement aux variations de tension d'entrée, car un seul pôle est présent (Figueiredo et Vital (2004)). Cependant, ceci a aussi pour effet d'augmenter le bruit *kickback*, puisque des signaux de 0 V à V_{DD} sont présents aux nœuds couplés capacitivement aux entrées. Le bruit *kickback* est un effet parasite qui induit une erreur non négligeable sur les mesures de temps effectué. Ce bruit est causé par les larges variations de tension produites sur les nœuds de régénération, se couplant, par l'entremise des capacités parasitiques des transistors, aux entrées du comparateur. Puisque les circuits précédents ces entrées non pas une impédance de sortie nulle, la tension aux entrées du comparateur est perturbée ainsi que le flux de charges entrant ou quittant la capacité de mesure C, affectant sa vitesse de charge ou de décharge. Conséquemment, la paire différentielle est dimensionnée avec une faible largeur et longueur afin de diminuer l'amplitude de leurs capacités parasites intrinsèques. Cependant, de façon à réduire au minimum le bruit *kickback*, une technique proposée par Figueiredo et Vital (2004) visant à annuler cet effet parasitique est ajouté au circuit du comparateur class-AB, tel qu'illustré à la Fig. 3.11. Elle permet d'éliminer le bruit *kickback* lors de la phase de décision du comparateur grâce à l'utilisation d'interrupteurs à l'entrée du comparateur, bloquant l'arrivée de nouveaux signaux analogiques d'entrée lors de cette phase. Dans un second temps, lorsque la

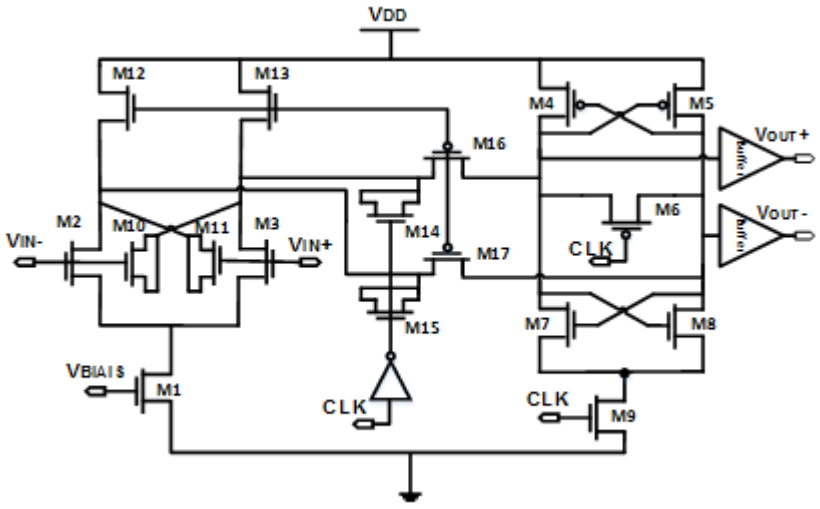
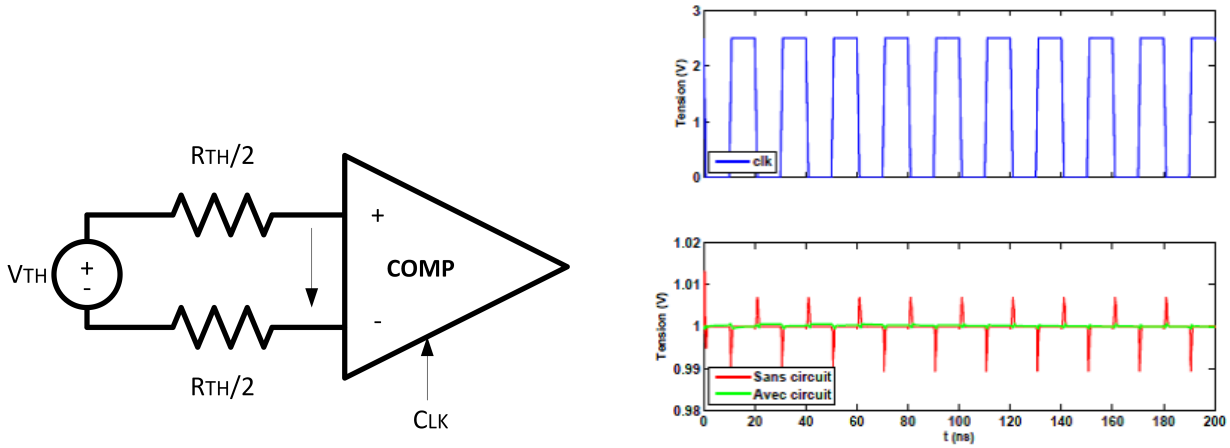


Figure 3.11 Comparateur class-AB et circuit de verrouillage (*latch*) modifié pour une réduction du bruit *kickback*.

discrétisation des deux signaux a été réalisée, de nouveaux signaux analogiques sont envoyés au comparateur, permettant de diminuer l'effet des charges induites par la comparaison précédente sur la nouvelle.



(a) (b)

Figure 3.12 (a) Circuit de test du bruit *kickback*. (b) Simulation avec et sans le circuit de réduction du bruit *kickback*, avec une horloge de 50 MHz.

Brièvement, cette technique consiste à minimiser les variations de tensions sur les drains de la paire différentielle et à neutraliser les capacités parasitiques de cette même paire. Les transistors M14 à M17, actionnés par le signal d'horloge, agissent comme interrupteurs. Lors de la phase de *Reset*, les transistors M16 et M17 connectent les drains des transistors de la paire différentielle M2/M3 aux nœuds de régénération et les transistors M12/M13 sont fermés. Lors de la phase de régénération, les transistors M16/M17 s'ouvrent, isolant les drains de M2/M3 du nœud de régénération. Les transistors M16/M17 agissent ainsi en tant que charge à la paire différentielle et sont dimensionnés de sorte à maintenir les tensions de drain de M2/M3 égales aux valeurs obtenues lors de la phase de *Reset*. Les transistors M10/M11, d'une longueur minimale et d'une largeur de moitié à celle des transistors M2/M3 et formant deux capacités d'une valeur équivalente aux capacités parasitiques grille-drain de la paire différentielle, ont pour effet de réduire le bruit *kickback* puisque le courant de charge provient désormais de ces capacités au lieu du circuit précédant le comparateur (Figueiredo et Vital (2004)). Également, les transistors M14/M15 sont ajoutés de sorte à supprimer le *feedthrough* de l'horloge, tel que proposé par Qi *et al.* (2008). Le bruit *kickback* a été mesuré avec le circuit de test illustré à la Fig. 3.12(a) suivante. L'étage précédant l'entrée du comparateur est modélisé avec un circuit de thévenin équivalent, avec $R_{th} = 8$ kΩ et $V_{th} = 1$ V. L'utilisa-

tion de la technique discutée réduit le bruit *kickback* de plus de vingt fois, passant de 14 mV à 0,7 mV, tel qu'illustré par la simulation des tensions différentielles d'entrée à la Fig. 3.12(b).

Le Tableau 3.2 résume les performances électriques simulées principales rattachées à la caractérisation du comparateur, suite à l'extraction du dessin des masques illustré à la Fig. 3.13. Le délai est défini par le temps entre le front descendant de l'horloge et l'instant où le signal *Out+* croise 50 % de V_{DD}. Enfin, la tension d'offset a été caractérisée en tenant compte des variations de procédé, en utilisant la technique détaillée par Graupner (2006).

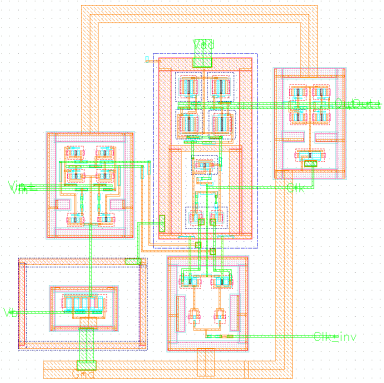


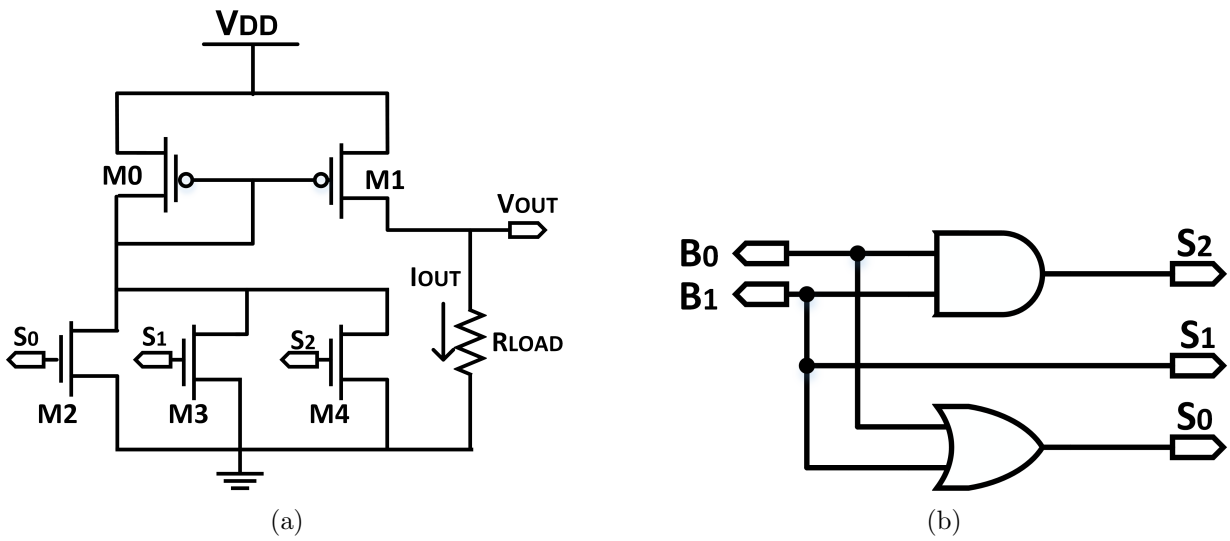
Figure 3.13 Masque du comparateur.

Tableau 3.2 Performances électriques simulées du comparateur.

Délais de comparaison @ 50MHz	1,74 ns
Délais de comparaison @ 100MHz	1,99 ns
Bruit *Kickback*	0,7 mV
Tension d'offset	1,2 mV
Fréquence de l'horloge	100 MHz
Tension d'alimentation	2 V
Puissance dynamique	15 µW
Puissance statique (avec circuits de polarisation)	3,2 µW

3.2.3 Convertisseur numérique à analogique

Le DAC a pour fonction de modifier la tension V_{ref} au cours de la mesure, selon une fonction prédéfinie et programmée via le DM. Une topologie procurant un temps de latence de moins de 1 µs, c'est-à-dire le temps de conversion nécessaire à partir du moment où le mot d'entrée digital change au temps où la tension de sortie analogique s'est stabilisée, ainsi qu'une consommation de puissance de mois de 50 µW est recherchée. Une topologie proposée par Yi (2012), reposant sur une configuration *current-steering* à sources de courant multi pondérées, soit basée sur une sommation de sources de courant est adaptée aux spécifications de notre application est utilisée. L'ajout d'une résistance permet de convertir le courant de sortie en valeur de tension. Cette topologie est choisie principalement due à son temps de latence très faible, à sa monocité élevée et sa faible consommation de puissance. Une précision de 8 bits est adoptée comme compromis entre la consommation de puissance, la complexité du circuit digital de contrôle et la résolution du V_{ref} généré.



(a) (b)

Figure 3.14 Unité de 2-bits. (a) Sources de courant. (b) Décodeur thermomètre.

L'architecture du DAC repose sur le transfert d'un code binaire vers un code thermomètre à 3 chiffres, pour chaque segment de 2 bits, contrôlant respectivement 3 sources de courant identiques (Fig. 3.14(a)). Les sources sont conçues avec un transistor NMOS opérant en mode interrupteur via l'action des signaux digitaux S_0, S_1 et S_2. Ces transistors NMOS sont polarisés en mode saturation de sorte à agir en sources de courant stable. Le module du décodeur transfert le code binaire de 2-bits (B_0B_1) en code thermomètre ($S_0S_1S_2$) avec un circuit logique conçu de portes ET et OU, illustré à la Fig. 3.14(b) et développé au Tableau 3.3 suivant. L'utilisation d'un code binaire modifié en mode thermomètre, présenté au Tableau. 3.3, à l'avantage d'augmenter la monocité et réduire l'effet des glitchs sans toute la complexité et l'espace requise par l'implémentation d'un code thermomètre de base.

Ainsi, pour obtenir un DAC à 8 bits, il suffit d'ajouter en parallèle 4 unités, convertissant chacune 2 bits et joignant un nœud de sortie de courant commun tel qu'illustré à la Fig. 3.15(a). Chacune des unités 2-bits possède un miroir de courant dont la branche de sor-

Tableau 3.3 Traduction du code binaire en code thermomètre.

B_1B_0	$S_2S_1S_0$	I_1
11	111	$3I_{unit}$
10	011	$2I_{unit}$
01	001	$1I_{unit}$
00	000	$0I_{unit}$

tie possède un facteur de multiplication incrémental dépendant des dimensions du transistor de la branche de sortie, tel que :

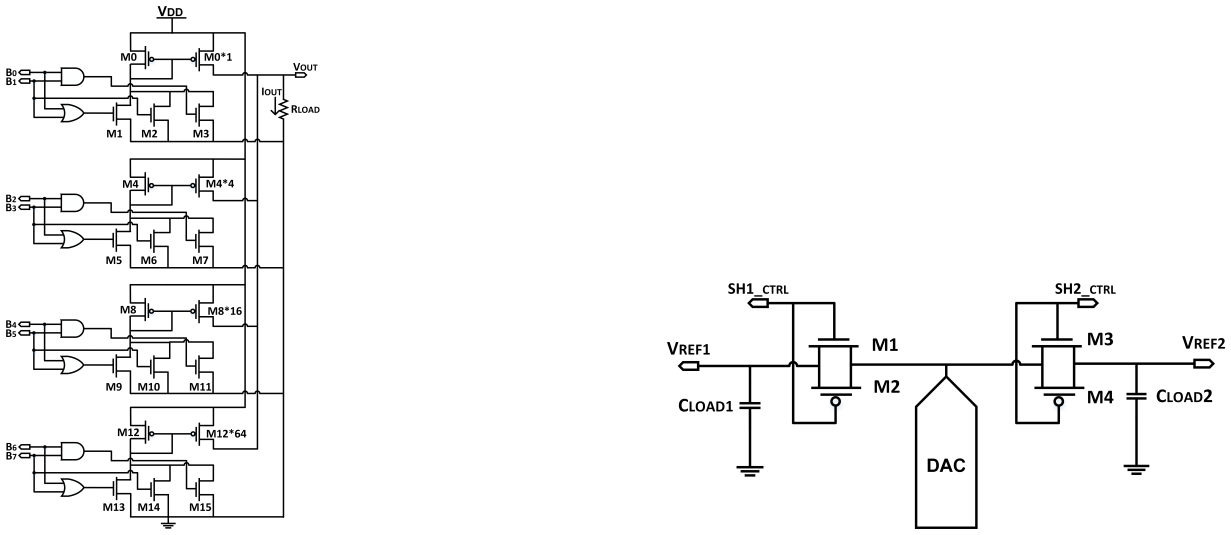
$$I_{out} = I_1 \frac{(W/L)_{M1}}{(W/L)_{M0}} \tag{3.10}$$

L'unité couvrant les bits B_0B_1 a un facteur de multiplication de 1, celle pour les bits B_2B_3 a un facteur de multiplication de 4, celle pour les bits B_4B_5 a un facteur de multiplication de 16 et celle pour les bits B_6B_7 un facteur de multiplication de 64. Le courant de sortie total est déterminé par l'équation suivante :

$$\begin{aligned} I_{out} = &\left((B_0B_1)\, I_{unit} + B_1 I_{unit} + (B_0 + B_1)\, I_{unit}\right) \\ &+4\left((B_2B_3)\, I_{unit} + B_3 I_{unit} + (B_2 + B_3)\, I_{unit}\right) \\ &+16\left((B_4B_5)\, I_{unit} + B_5 I_{unit} + (B_4 + B_5)\, I_{unit}\right) \\ &+64\left((B_6B_7)\, I_{unit} + B_6 I_{unit} + (B_6 + B_7)\, I_{unit}\right) \end{aligned} \tag{3.11}$$

L'ajout d'une résistance externe permet d'obtenir une sortie en tension ajustable et d'augmenter la testabilité du circuit.

Au niveau de la conception, le compromis se situe entre le temps de latence, la consommation de puissance et l'aire du dessin de masques. Les transistors $M1 - M3$, $M5 - M7$,



(a) (b)

Figure 3.15 (a) Topologie du DAC 8-bit. (b) Circuit des S/H et du DAC.

$M9 - M11$ et $M13 - M15$ formant les sources de courant, sont dimensionnées avec une longueur élevée et une largeur faible, afin d'obtenir un courant I_{unit} faible, diminuant la consommation de puissance et augmentant la linéarité aux dépens d'un temps de latence accrue (demeurant en dessous de 200 ns), d'un dessin de masques de grande superficie et d'une aire d'impulsion de glitch élevée, le couplage capacitif augmentant proportionnellement avec le facteur W des sources de courant (Baker (2011)).

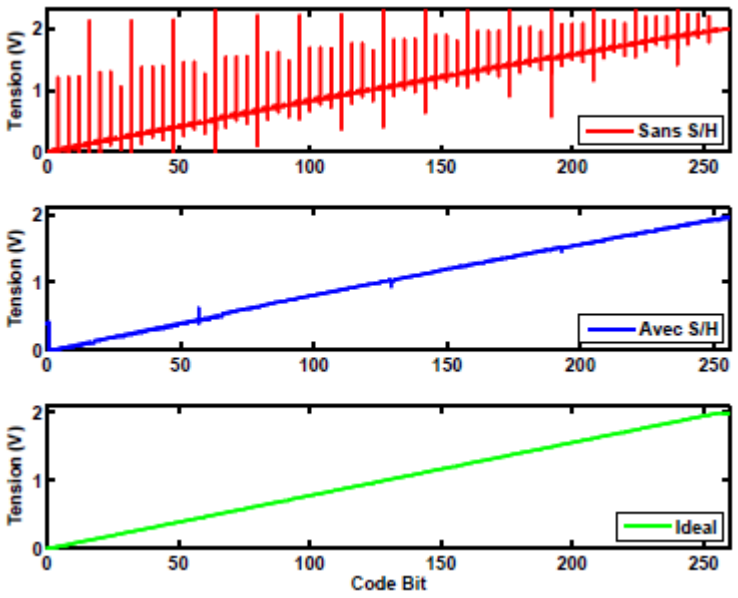


Figure 3.16 Simulation de la courbe de transfert du DAC, avec et sans circuits S/H, versus la fonction idéale, à partir des masques extraits.

La sortie du DAC est partagée par deux circuits échantillonneur-bloqueur simples, composés d'une porte de transmission et d'une capacité (Fig. 3.15(b)). Le DM contrôle ces circuits S/H via les signaux *ctrl1* et *ctrl2* de sorte que la sortie du DAC soit associée à l'un ou l'autre des deux canaux de mesure. Une capacité de 2 pF est choisie afin de maintenir la tension de sortie pendant une période de 150 µs. L'utilisation de circuits S/H permet d'éliminer l'amplitude des glitchs générés qui s'additionnent à la tension de sortie. Cette action est illustrée par les simulations *post-layout* de la courbe de transfert du DAC à la Fig. 3.16, avec et sans l'ajout de circuit S/H.

Cette configuration permet de réduire la consommation de puissance, car le DAC peut être désactivé une fois la tension de sortie V_{ref} générée, sa valeur étant conservée dans la capacité du S/H. La Fig. 3.17 illustre la génération de V_{ref}(t) sous forme quadratique crois-

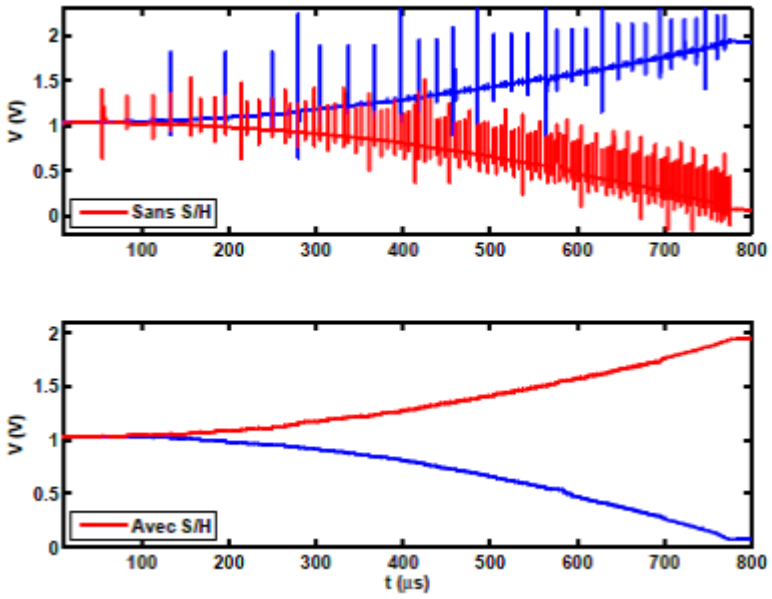


Figure 3.17 Simulation de la courbe de transfert du DAC, avec et sans circuits S/H, versus la fonction idéale, à partir des masques extraits.

sante et décroissante pour les deux canaux, sans et avec l'échantillonnage du circuit S/H. La consommation de puissance totale du DAC passe de 184 µW à 39 µW, soit une réduction de plus de quatre fois. Enfin, le Tableau. 3.4 résume les caractéristiques électriques du DAC, sans les circuits S/H, obtenues à partir de simulations (en variations standard), suite à l'extraction du dessin des masques illustré à la Fig. 3.18. La puissance totale a été caractérisée par l'application de la courbe de transfert de 8 bits.

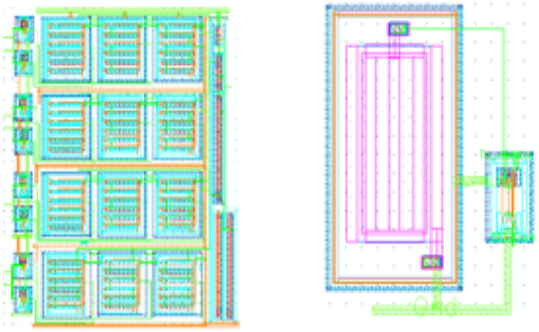


Figure 3.18 Masque du DAC (gauche) et du circuit S/H (droite).

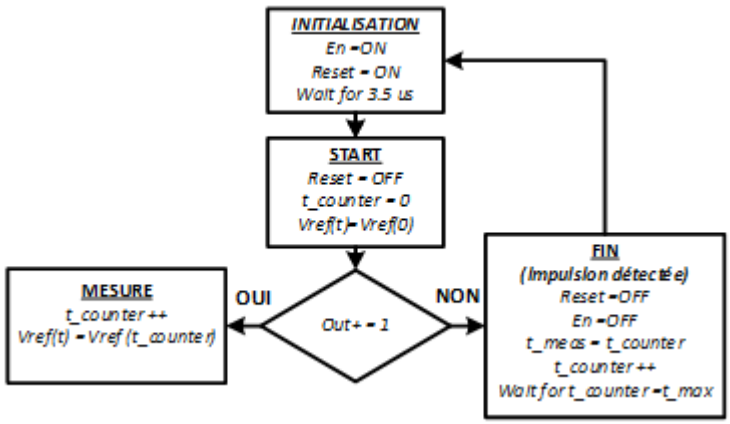
Tableau 3.4 Performances électriques simulées du DAC.

DNL	± 0,75 LSB
INL	± 1.02 LSB
Erreur de gain	-4,19 LSB
Erreur d'offset	80 mV
Temps de latence	230 ns
Puissance totale (sans S/H)	99,7 µW

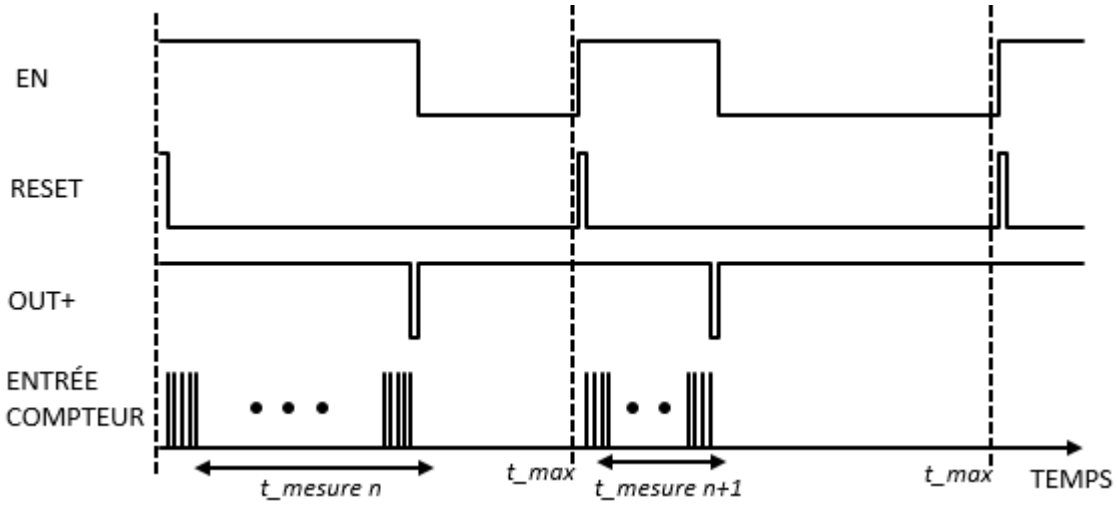
3.2.4 Module de contrôle numérique et variation de V_{ref}

Un DM implémente un algorithme simple, modulant les signaux de contrôle *Reset*, V_{ref}, SH_{ctrl} et *En* et échantillonnant les signaux de sortie *Out+*. La Fig. 3.19 décrit les principales étapes de l'algorithme pour l'enregistrement d'un canal de mesure.

Un délai de 3,5 µs est nécessaire pour activer les circuits du comparateur et du DAC à l'aide du signal *En*. Chaque mesure débute lorsque le signal *Reset* est désactivé et le signal compteur $t_{counter}$, interne au module, est remis à 0. Également, V_{ref} est fixée à sa première valeur. La forme digitale de V_{ref} est préprogrammée et variée de façon itérative en fonction



(a)



(b)

Figure 3.19 (a) Algorithme d'échantillonnage simplifié et (b) les signaux digitaux correspondants.

de $t_{counter}$ jusqu'à ce que la tension aux bornes de la capacité de mesure C croise la valeur de V_{ref} engendrant une impulsion sur le signal *Out+*. À ce moment précis, le temps de mesure (t_{mesure}) équivaut à la valeur de $t_{counter}$ et *En* est alors désactivé. Lorsque $t_{counter}$ a atteint le temps de mesure maximal alloué pour chaque mesure (t_{max}) fixé par la fréquence d'échantillonnage, le processus est répété à nouveau.

3.3 Analyse des limitations du design et optimisation

Plusieurs facteurs peuvent miner les performances du potentiostat proposé, affectant la résolution des mesures. Cette section propose une évaluation théorique des sources d'erreurs sur la mesure et l'optimisation subséquente des composants du système, notamment la forme de la fonction V_{ref}(t) appliquée à l'entrée du comparateur et le bruit généré à l'entrée du système.

3.3.1 Erreur sur la mesure

L'erreur relative sur la mesure de courant dépend des délais de propagation du comparateur et de la précision du DAC utilisé. À partir de l'équation 3.4, ce facteur est exprimé par les équations suivantes :

$$\frac{\Delta i}{i} = \frac{\left(\left|\frac{\partial i}{\partial t}\right| \Delta t + \left|\frac{\partial i}{\partial V_{ref}}\right| \Delta V_{ref}\right)}{i} \tag{3.12}$$

$$\frac{\Delta i}{i} = \frac{\left(\frac{C\left(V_c t_0 - V_{ref}\right)}{t^2} \Delta t + \frac{C}{t} \Delta V_{ref}\right)}{i} \tag{3.13}$$

où ΔV_{ref} est la précision du DAC et Δt est la précision sur la mesure de temps qui dépend de la performance du comparateur dynamique, décrit par le terme suivant :

$$\Delta t = \frac{C V_{off}}{i} + t_{del} + t_{pclk/2} \tag{3.14}$$

où V_{off} est la tension d'offset du comparateur, t_{del} le délai de réponse et $t_{pclk/2}$ la demi-période de l'horloge, comptabilisant le temps de *Reset*, soit le temps de non évaluation du comparateur. Puisqu'un DAC est utilisé pour générer la tension analogique V_{ref}, la précision de la mesure est également affectée par la variation non continue des échelons de tension produites. Ainsi, lorsqu'un changement de bit se produit, le terme suivant est ajouté à l'erreur relative sur la mesure de courant exprimé à l'équation 3.12 :

$$\Delta t = \left(\frac{C \Delta V_{ref_step}}{t} \right) / i \tag{3.15}$$

où ΔV_{ref_step} est la variation de tension d'un échelon V_{ref} qui équivaut à une valeur ± 0.5 LSB du DAC, puisque V_{ref} augmente par échelon de tension de 1 LSB. Toutefois, ce terme est jugé négligeable puisque le phénomène décrit se produit à faible fréquence.

3.3.2 Variation de V_{ref}(t)

Afin de couvrir l'ensemble de la plage de courant allant de 800 nA à 20 pA en moins d'une milliseconde, $V_{ref}(t)$ est varié en fonction du temps selon une équation quadratique croissante (+), associé à la mesure des courants d'oxydation ou décroissante (–), associé à la mesure des courants de réduction :

$$V_{ref}(t)_{quadratique} = 1 \pm 1.6455 \times 10^6 \left(t - 10^{-6}\right)^2 \tag{3.16}$$

soumise aux conditions initiales suivantes (cas croissant) :

$$V_{ref}(t_{init}) = 1\ V,\ t_{init} = 1\ \mu s$$
$$V_{ref}(t_{final}) = 1,925\ V,\ t_{final} = 750\ \mu s$$

Noter que pour la simplification des explications suivantes, le cas où $V_{ref}(t)$ est une fonction croissante est employée. L'analyse pour le cas où $V_{ref}(t)$ est une fonction décroissante est similaire. Cette forme quadratique de V_{ref}(t) minimise l'erreur relative sur la mesure décrite aux équations 3.13 à 3.14. En effet, pour une amplitude de courant donnée, l'erreur relative décroît lorsque le temps de mesure est élevé. Ainsi, la fonction quadratique permet d'optimiser cet effet, tout en considérant les contraintes de tension initiale et finale données. Afin de démontrer notre constat, la fonction quadratique est comparée à trois autres fonctions de base de second degré ou moins ayant les mêmes conditions initiales, soient :

$$V_{ref}(t)_{racinecarree} = 33,78\sqrt{t - 10^{-6}} + 1 \tag{3.17}$$

$$V_{ref}(t)_{lineaire} = 1.234 \times 10^3 t + 0.9997 \tag{3.18}$$

$$V_{ref}(t)_{constante} = 1.925 \tag{3.19}$$

Une fonction V_{ref}(t) constante d'une valeur de 1.925 V est choisie de sorte à maintenir fixée la fréquence d'échantillonnage au-dessus de 1,25 kHz pour l'ensemble de la plage de courant couverte. La Fig. 3.20 illustre les quatre fonctions V_{ref}(t) comparées.

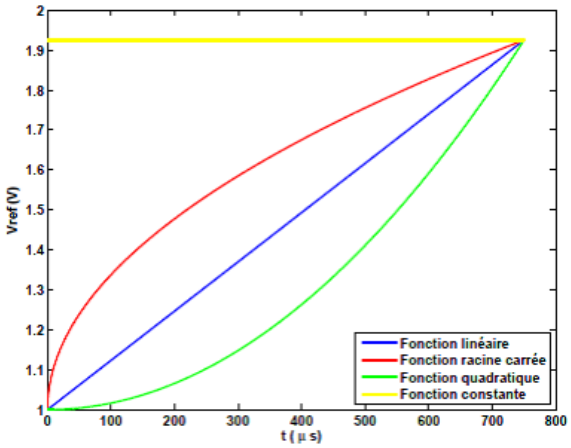
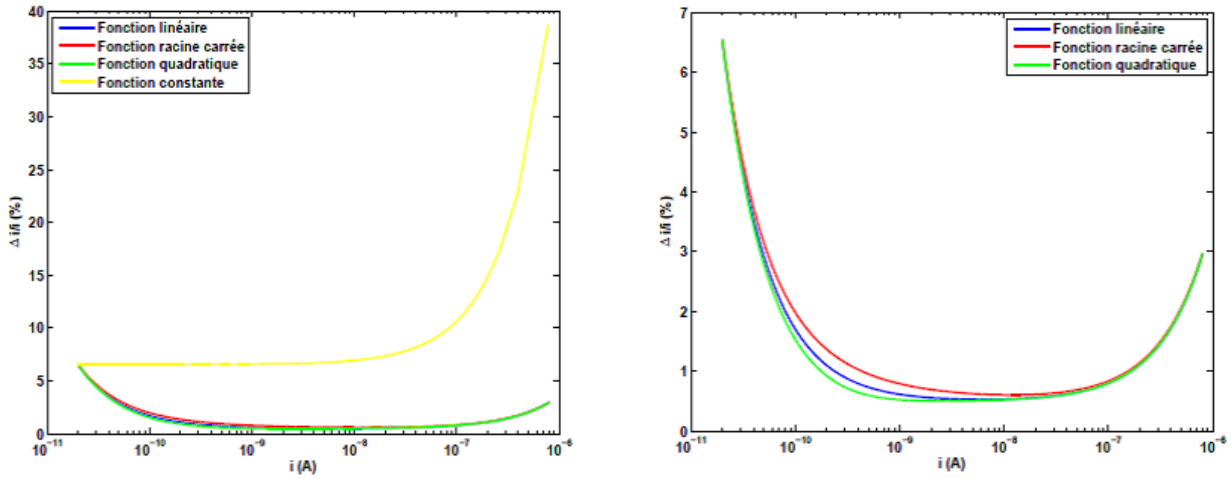


Figure 3.20 Fonctions V_{ref}(t) de second degré ou moins comparées.

La Fig. 3.21 représente l'erreur relative $\frac{\Delta i}{i}$ sur la mesure de courant en fonction de l'amplitude du courant d'oxydation entrant, associé à chacune des fonctions comparées. En considérant la Fig. 3.21, l'erreur relative sur le courant mesuré atteint une valeur maximale de 38% pour la fonction constante et de 6,65% pour les trois autres. La fonction quadratique démontre bel et bien le taux d'erreur sur la mesure cumulé le plus faible sur l'ensemble de la plage de courant d'entrée concerné.



(a) (b)

Figure 3.21 Erreur relative sur la mesure de courant pour les quatre fonctions de V_{ref}(t) comparées (a) de 0 à 40 % et (b) de 0 à 7 %.

3.3.3 Bruit à l'entrée du système

Le bruit d'entrée référé à une WE individuelle ($\overline{In_{eq}{}^2}$) et provenant du transducteur limite la valeur minimale du courant mesurable. Celui-ci dépend des sources de bruit de l'étage d'entrée du circuit, soit de l'OTA ($\overline{In_{OTA}{}^2}$) et du transistor *cascode* M1 ($\overline{In_{M1}{}^2}$), exprimé à l'équation 3.8. $\overline{In_{eq}{}^2}$, incluant les composants de bruit thermique (th) et *flicker* (1/f), est exprimé par l'équation suivante pour le circuit 1 :

$$\overline{In_{eq1}{}^2} = \overline{In_{M1}{}^2} + \overline{gm_{M1}{}^2 Vn_{OTA}{}^2} \tag{3.20}$$

avec

$$\overline{Vn_{OTA}{}^2} = \left(\frac{2K_n}{C_{ox}W_{M6}L_{M6}f}\left(\frac{gm_{M6}}{gm_{M1}}\right) + \frac{2K_p}{C_{ox}W_{M10}L_{M10}f}\left(\frac{gm_{M10}}{gm_{M1}}\right) + \frac{2K_p}{C_{ox}W_{M1}L_{M1}f}\right)_{1/f} + \left(\frac{4kT}{gm_{M1}}\left(\frac{4}{3}\right)\left(1 + \frac{gm_{M6}}{gm_{M1}} + \frac{gm_{M10}}{gm_{M1}}\right)\right)_{th} \tag{3.21}$$

où M, f, k, T, C_{ox}, K, γ, W et L, sont respectivement, la transconductance du transistor M (voir Fig. 3.8), la fréquence, la constante de Boltzmann, la température, la capacitance d'oxyde de la grille, la constante de bruit *flicker* dépendant du type de transistor, le facteur de transistor, la largeur et la longueur du transistor. Similairement, l'équantion 3.20 peut être obtenue pour le circuit 2 en substituant M1 par M3. Dans le cas de l'OTA, le bruit généré par le deuxième étage est considéré comme négligeable. Une optimisation des dimensions de transistors est réalisée de sorte que $gm_{M6,7}$ et $gm_{M10,11} \ll gm_{M1,2}$, réduisant le bruit induit

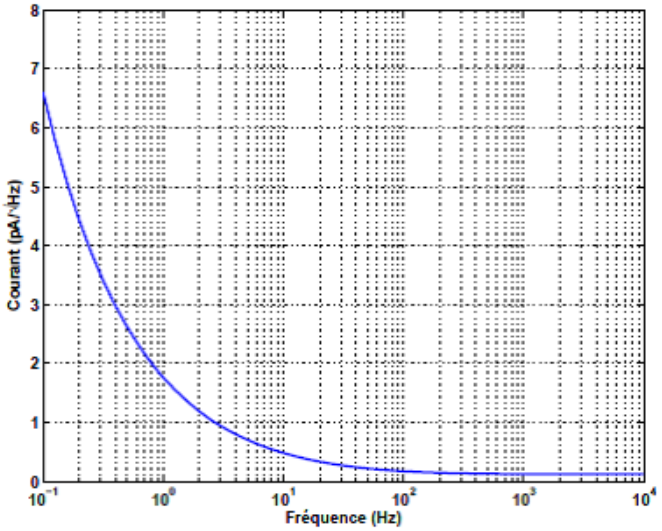


Figure 3.22 Simulation du bruit équivalent en entrée ($\overline{In_{eq}{}^2}$) en fonction de la fréquence.

par ce composant. Le bruit d'entrée $\overline{In_{eq}{}^2}$ simulé de l'étage d'entrée du circuit est illustré à la Fig. 3.22 et est de 0.13 pA/$\sqrt{\text{Hz}}$ à la fréquence d'échantillonnage de 1.25 kHz.

Ainsi, les estimations présentées confirment qu'une résolution de mesure de courant *redox* sous le niveau des picoampères peut être obtenue avec le design du potentiostat proposé.

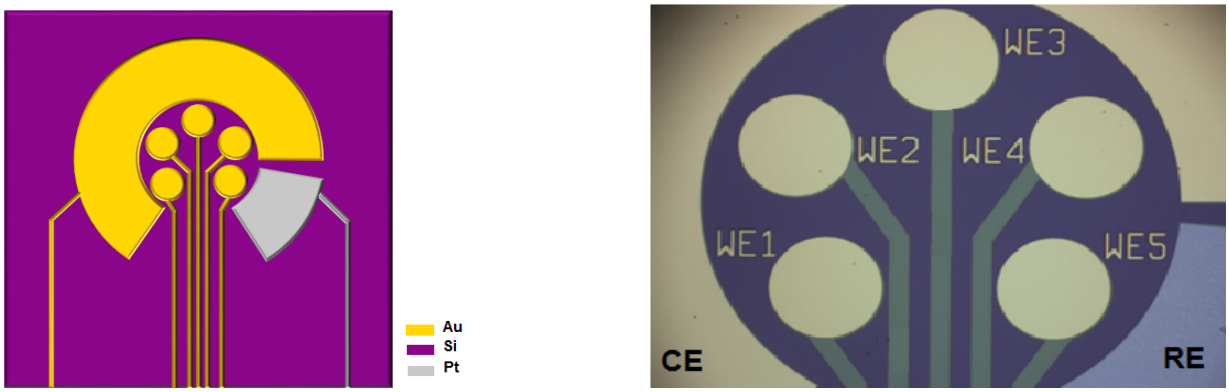
CHAPITRE 4

PLATEFORME MULTI-WE

Ce quatrième chapitre présente la plateforme multi-WE développée et caractérisée afin de tester expérimentalement le potentiostat proposé au chapitre précédent. Chaque WE est fonctionnalisée avec un revêtement chimique spécifique afin d'assurer la sélectivité des mesures électrochimiques, produites par le potentiostat, à un seul neurotransmetteur. Dans un premier temps, l'architecture de la plateforme multi-WE développée en partenariat avec l'équipe du Dr. Carrara du laboratoire LSI à l'EPFL est présentée. Ensuite, la composition des revêtements chimiques, conçus à partir de CNT pour augmenter la sensibilité des mesures est détaillée. Enfin, les résultats expérimentaux faisant état d'une caractérisation de la plateforme avec un potentiostat de laboratoire sont présentés, et ce, pour une détection simultanée d'un neurotransmetteur électroactif, la dopamine, et d'un neurotransmetteur non électroactif, le glutamate.

4.1 Architecture du capteur multi-analyte

La plateforme multi-WE consiste en un substrat microfabriqué, illustré à la Fig. 4.1, avec 5 WE identiques en or (Au), chacune ayant une surface de 0,25 mm^2, une RE commune en platine (Pt) et une CE d'or. Le processus de microfabrication implique 4 grandes étapes : l'évaporation de l'or, l'évaporation de la platine, la passivation SiO_2 et l'ouverture des élec-



(a) (b)

Figure 4.1 (a) Architecture de la plateforme multi-WE. (b) Image optique de la plateforme fabriquée.

trodes et de ses plots. Les étapes d'évaporation sont réalisées par dépôt physique en phase vapeur. Des procédés de photolithographie et de *lift off* sont utilisés pour façonner sous forme d'électrodes les couches minces de métaux déposés sur le substrat de silicium (Si) d'une épaisseur totale de 200 nm. Également, 20 nm de Cr sont déposés sur le dessus et sous les couches de Au et de Pt afin de favoriser leur adhésion et l'étape de passivation.

4.2 Revêtement chimique

De sorte à assurer une sélectivité électrochimique spécifique à la dopamine ou au glutamate, des revêtements à base de CNT sont déposés sur les WE de la plateforme multi-WE. La section suivante justifie l'utilisation des CNT et détaille la composition des revêtements utilisés.

4.2.1 Traitement des microélectrodes avec nanotubes de carbone

Puisque plusieurs neurotransmetteurs ont des concentrations physiologiques faibles (voir tableau 1.1), de l'ordre des nanomoles, il est tout à fait indiqué d'appliquer un traitement chimique sur les électrodes de sorte à augmenter la sensibilité des mesures, c'est-à-dire le ratio entre la variation du signal de sortie (S) et la variation de concentration (C) de l'analyte exprimé par l'équation suivante (Thévenot *et al.* (2001)) :

$$S_{moy} = \frac{\Delta S}{\Delta C} = \frac{\Delta I}{\Delta C} \tag{4.1}$$

Dans un microsystème, la sensibilité de la mesure est diminuée puisque l'aire des électrodes de mesure est réduite, produisant un signal de courant (I) affaibli (voir éq. 3.2 et 3.3). La sensibilité de la mesure est également déterminée par le taux de transfert d'électrons généré par une réaction électrochimique qui est fonction de la molécule et du matériel de l'électrode. Ainsi, il est possible d'augmenter le taux de transfert en modifiant la surface de l'électrode. Les revêtements à base de CNT sont reconnus pour augmenter le transfert d'électrons des biocapteurs grâce à leurs propriétés favorables et leur grande aire de surface, procurant une conductivité électrique et une sensibilité élevée (Jacobs *et al.* (2010)). Également, les CNT possèdent une grande stabilité chimique et une forte résistance mécanique (Wang (2005)). Ce nanomatériau se présente principalement sous une forme dite simple-feuillet (*Single-Walled Carbon Nanotubes*—SWCNT) ou multi-feuillet (*Multi-Walled Carbon Nanotubes*—MWCNT) et possède typiquement un diamètre externe allant de quelques nanomètres à 100 nm. Une adsorption physique simple des CNT sur les électrodes est réalisée par une simple déposition du nanomatériau dispersé dans un liquide aqueux. La Fig. 4.2 illustre le principe d'une bio-

détection avec des électrodes enduites d'un revêtement à base de CNT et de molécules de reconnaissance telle que des enzymes.

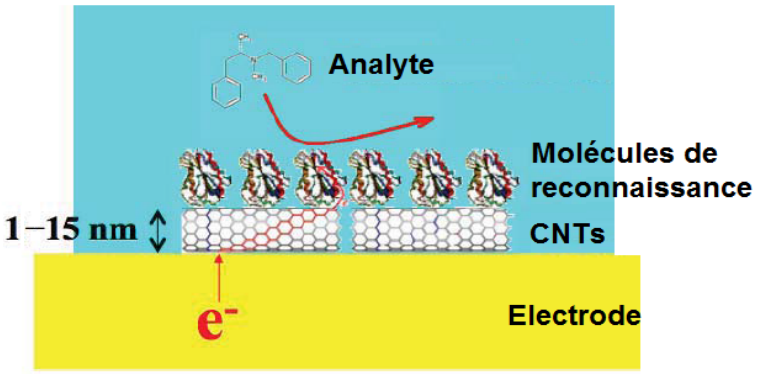


Figure 4.2 Principe d'une biodétection assistée par des CNT. Modifié de Carrara *et al.* (2012).

Par ailleurs, les CNT augmentent la réactivité électrochimique des enzymes sans perte significative de leur forme ou de leur fonction biocatalytique (Feng et Ji (2011)). Enfin, de nombreux travaux ont démontré l'efficacité des revêtements de CNT concernant la détection d'une variété de neurotransmetteurs électroactifs ou non électroactifs avec une méthode voltammétrique (Jacobs *et al.* (2010), Agüí *et al.* (2008)), justifiant leur utilisation dans le cadre de ce projet.

4.2.2 Composition des revêtements

Puisque le glutamate est une espèce chimique non électroactive, son capteur dédié est basé sur la détection de nicotinamide adenine dinucleotide (NADH) généré enzymatiquement, via l'utilisation de l'enzyme glutamate déshydrogénase (GLDH). La dopamine est une substance électroactive, et donc une détection directe est possible. La Fig. 4.3 résume la composition des deux revêtements employés, décrite aux prochains paragraphes, ainsi que les réactions d'oxydation se produisant à la surface des WE fonctionnalisées lors de l'interaction avec les deux molécules respectives. Les deux revêtements sont faits de MWCNT (diamètre de 10 nm, longueur de 1–2 µm) d'une pureté de 95 %, provenant de DropSens. L'ensemble des produits chimiques a été acheté chez Sigma-Aldrich et utilisé tel que reçu. Également, l'ensemble des solutions a été préparé avec de l'eau distillée.

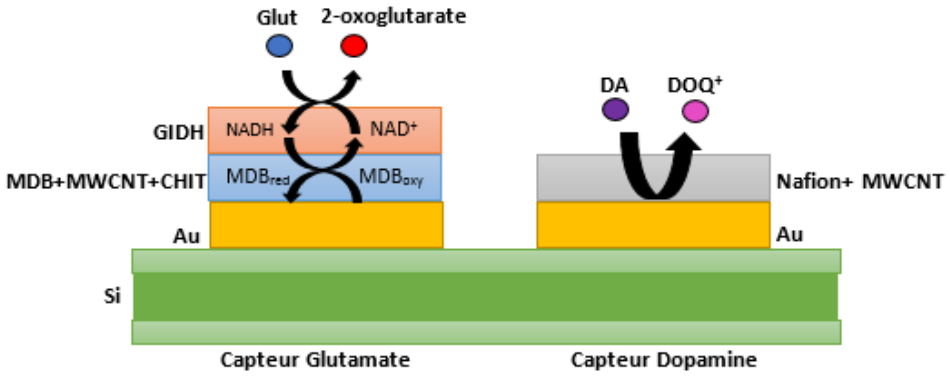


Figure 4.3 Composition des revêtements à base de CNT des capteurs dédiés à la détection de dopamine et ceux dédiés à la détection de glutamate, ainsi que les réactions *redox* respectives survenant à l'interface des WE (Massicotte *et al.* (2013)).

1) Capteur dédié à la dopamine

Un film MWCNT à base de Nafion, proposé par (Wang *et al.* (2003)) est choisi pour sa sensibilité élevée à la dopamine et sa haute solubilité, facilitant la déposition de la solution avec la méthode employée (voir section 4.3.1). Les MWCNT sont dispersés dans une solution d'eau distillée à 50 % volume/volume (vv%) et d'éthanol 50 vv%, avec 0,5 % massique (wt%) de Nafion, pour une concentration de 1 mg/ml. Le pic d'oxydation associé à la dopamine avec ce revêtement est de 400 mV.

2) Capteur dédié au glutamate

Un film compose de chitosane (CHIT), de bleu de meldola (*Meldola's Blue*—MDB), de MWCNT et d'enzyme GLDH est choisi pour détecter sélectivement le glutamate, grâce à sa haute sensibilité (Chakraborty et Raj (2007)). Le médiateur *redox* MDB inclus dans le film permet également d'utiliser un pic d'oxydation de valeur négative, soit -200 mV, discriminant le glutamate de la dopamine associé à un pic d'oxydation plus élevé. Les MWCNT sont dispersés dans une solution de CHIT (0,05 % dans 0,05M HCL) à 98,4 vv% et de MDB (solution éthanoïque 5 mM) à 1,6 vv%, pour une concentration de 2 mg/ml. Le GLDH est dissous à une concentration de 100 mg/ml dans une solution tampon de phosphate (*Phosphate Buffer Solution*—PBS), d'une concentration de 10 mM et d'un pH 7,4.

4.3 Caractérisation avec un potentiostat de laboratoire

La section suivante décrit la méthode expérimentale employée quant à la déposition des films composites sur les WE et à leur caractérisation subséquente avec un potentiostat de laboratoire. Les résultats expérimentaux réalisés validant la plateforme sont présentés. Ceux-ci démontrent que la plateforme permet une détection électrochimique multi-analyte sélective et donc viable. Une définition des paramètres théoriques reliés à la caractérisation des électrodes et à l'établissement des courbes de calibration est présentée au lecteur à l'annexe B.

4.3.1 Fonctionnalisation des électrodes

Les revêtements à base de CNT sont déposés respectivement sur les WE de la plateforme en utilisant un dispositif commercial de déposition automatique (Sci-Flexarrayer DW de Scienion, Allemagne). 800 nL de solution Nafion-MWCNT est déposé sur les électrodes WE1, WE3 et WE5. 200 nL de solution MDB-CHIT-MWCNT est déposé sur les électrodes WE2 et WE4, suivie de la déposition de 400 nL d'enzyme GLDH, s'adsorbant sur les parois des CNT. La Fig. 4.4 illustre la plateforme multi-WE fonctionnalisée avec les films respectifs immobilisés.

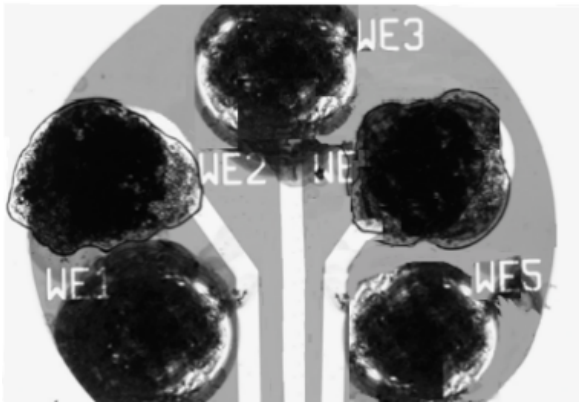


Figure 4.4 Plateforme fonctionnalisée avec les films à base de CNT : Nafion-MWCNT sur WE1, WE3 et WE5 et MDB-CHIT-MWCNT-GLDH sur WE2 et WE4 (Massicotte *et al.* (2013)).

4.3.2 Résultats expérimentaux avec potentiostat de laboratoire

Afin de caractériser les électrodes fonctionnalisées, une technique de chronoampérométrie est réalisée avec un potentiostat de laboratoire commercial à trois électrodes (AutoLab

PGSTAT128N de Methrohm), à la température de la pièce. L'interface entre la plateforme et le potentiostat est réalisée grâce à un connecteur commercial (MECT par Samtec). La plateforme est immergée dans 10 ml de tampon PBS (10 mM, pH 7,4), contenant 4 mM de NAD+ et agité vigoureusement à 90 tours par minute (rpm) avec un agitateur magnétique. Les WE sont sélectionnées individuellement avec un interrupteur manuel. Un potentiel de +400 mV, correspondant au pic d'oxydation est appliqué pour détecter la dopamine et -200 mV pour le glutamate. La Fig. 4.5 illustre le montage expérimental employé. Les résultats suivants sont associés à la caractérisation d'une seule plateforme.

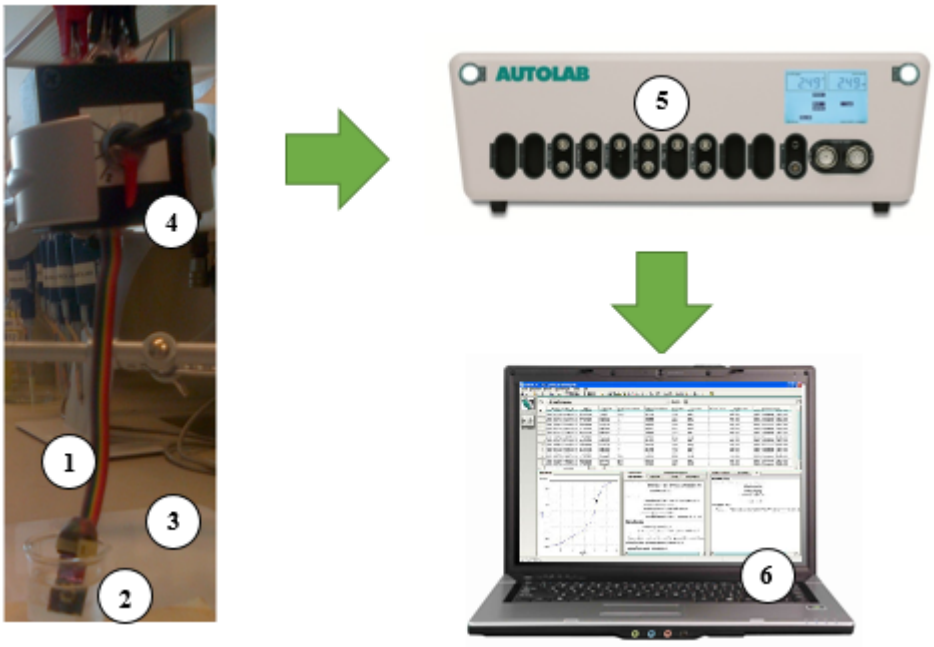
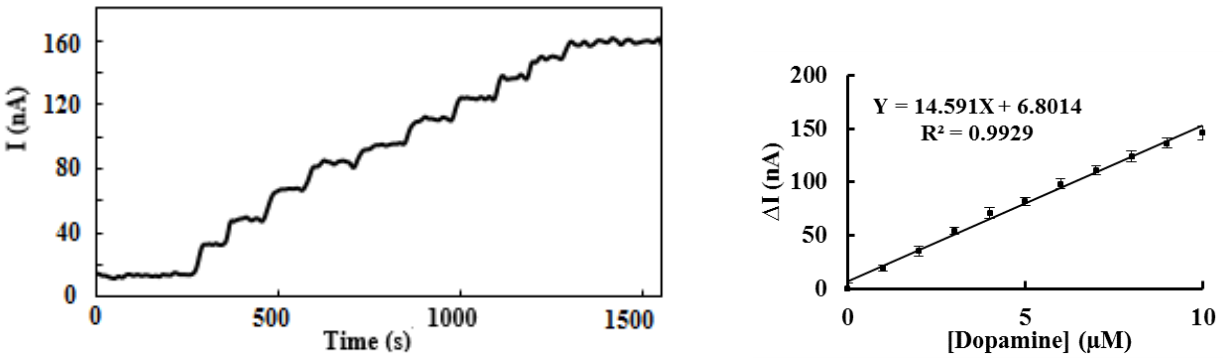


Figure 4.5 Montage expérimental pour la caractérisation de la plateforme multi-WE (1), avec un bécher (2), une plaque d'agitation magnétique (3), un interrupteur manuel (4), un potentiostat de laboratoire (5) et un ordinateur (6).

1) Caractérisation de la réponse ampérométrique

La réponse ampérométrique individuelle des électrodes WE1, WE3 et WE5 aux différents niveaux de concentrations de dopamine est caractérisée par la CA, tel qu'illustrée à la Fig. 4.6(a). La concentration de dopamine est variée de 0 à 10 µM, avec des pas de 1 µM et un pas de temps dépendant de la stabilisation du courant. La sensibilité moyenne de ces trois électrodes envers la dopamine est de 16.26 ± 1.41 nA/µM. Une linéarité élevée est observée pour la plage de concentrations mesurées. La Fig. 4.6(b) illustre la courbe de calibration

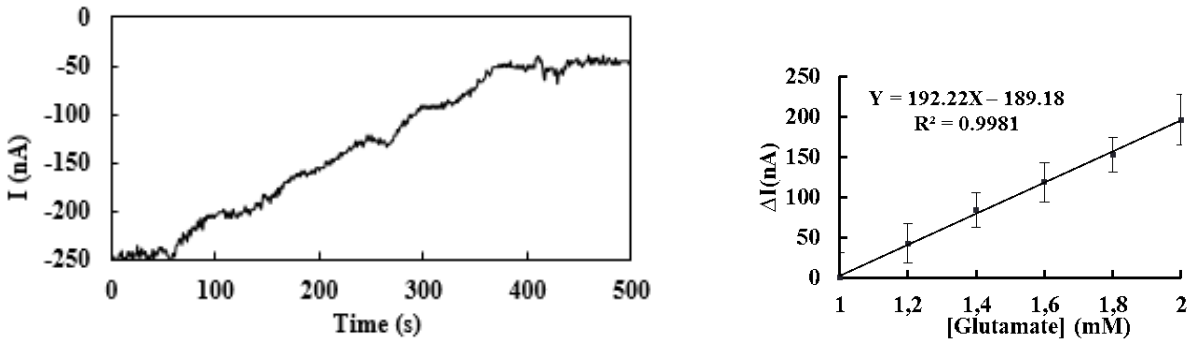


(a) (b)

Figure 4.6 (a) Courbe temps-courant typique d'un capteur dédié à la dopamine et (b) sa courbe de calibration (Massicotte *et al.* (2013)).

associée à la courbe courant-temps de la Fig. 4.6(a) .

Le même processus est appliqué aux électrodes WE2 et WE4 d'une même plateforme pour la détection de glutamate d'une concentration allant de 0 à 1 mM, avec des pas de 200 µM, tel qu'illustré à la Fig. 4.7(a) . La sensibilité moyenne obtenue est de 192 ± 8.6 nA/mM.



(a) (b)

Figure 4.7 (a) Courbe temps-courant typique d'un capteur dédié au glutamate et (b) sa courbe de calibration (Massicotte *et al.* (2013)).

Dans les deux cas, la plage de concentrations la plus faible possible a été choisie, limitée par le niveau de bruit de l'installation expérimentale. Celui-ci découle en grande partie des effets liés à la rotation de la barre magnétique dans le bécher contenant la solution.

2) Caractérisation de la sélectivité

Enfin, la réponse des deux capteurs (dopamine et glutamate) en présence de la substance interférente a été caractérisée. La Fig. 4.8 illustre la réponse d'un capteur de dopamine lors de l'injection successive de 10 µM de dopamine, suivie d'une injection de 0,1 mM et de 1 mM de glutamate. La même expérience a été menée avec un capteur dédié au glutamate (Fig. 4.8), en injectant 1 mM de glutamate, suivi d'une injection de 0,1 mM et de 1 mM de dopamine. Dans les deux cas, aucun changement dans le signal ampérométrique obtenu en raison de la présence de l'interférent n'est observé. Ainsi, ces expériences démontrent que le capteur développé est sélectif.

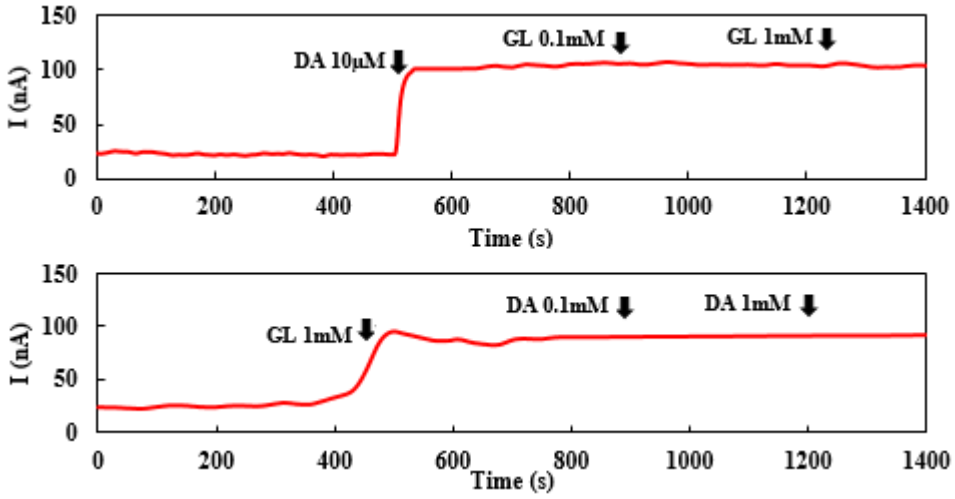


Figure 4.8 Détection sans interférence des capteurs dédiés à la dopamine (haut) et au glutamate (bas) (Massicotte *et al.* (2013)).

CHAPITRE 5

IMPLÉMENTATION ET RÉSULTATS

Ce chapitre porte sur les résultats de l'implémentation du potentiostat réalisé ainsi que les tests biologiques effectués avec le prototype complet. Dans un premier temps, les simulations des principaux signaux du système sont présentées ainsi que les performances associées au potentiostat, obtenues par simulation et expérimentalement. Ensuite, le potentiostat intégré est couplé avec la plateforme multi-WE fonctionnalisée et testée avec diverses concentrations de dopamine et de glutamate afin de valider le système de détection électrochimique conçu.

5.1 Implémentation du potentiostat

Le circuit du potentiostat est implémenté avec la technologie CMOS 0,13 µm d'IBM, sous une tension d'alimentation de 2,5 V. Le dessin des masques du circuit réalisé est illustré à la Fig. 5.1 et à une aire de 0,15 μm^2, incluant les tampons de test ajoutés en sortie des comparateurs. Le DM est implémenté avec un FPGA afin de permettre une plus grande flexibilité lors des tests expérimentaux. Pour les simulations, une description Verilog-A a été employée.

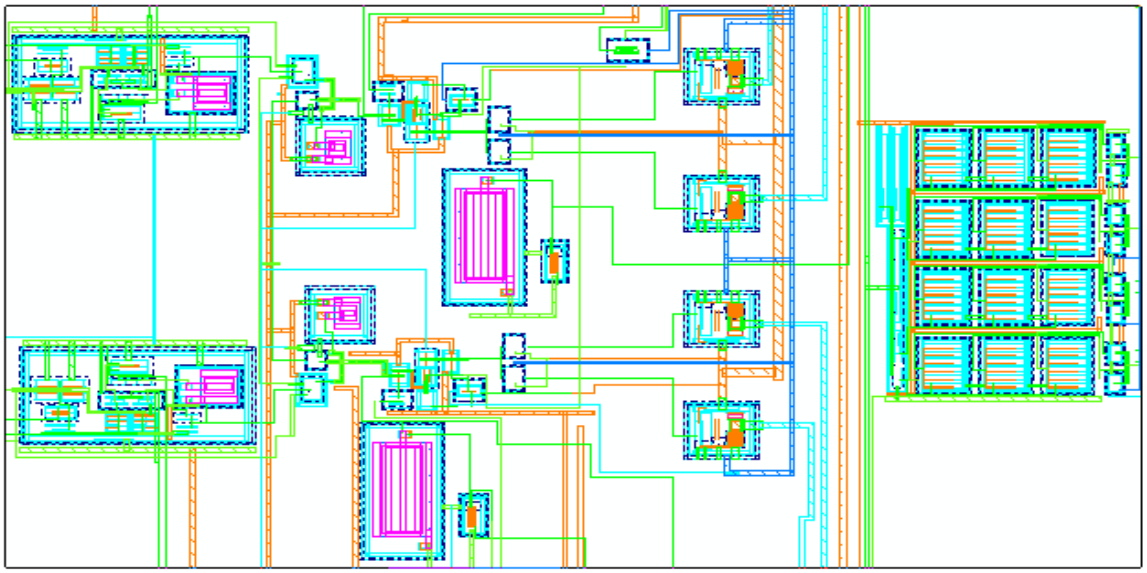
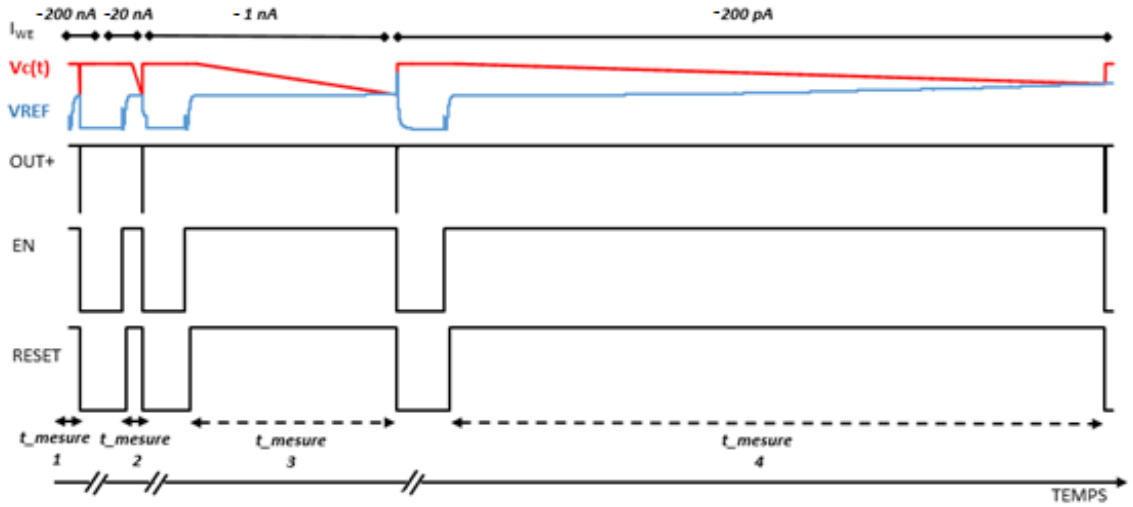


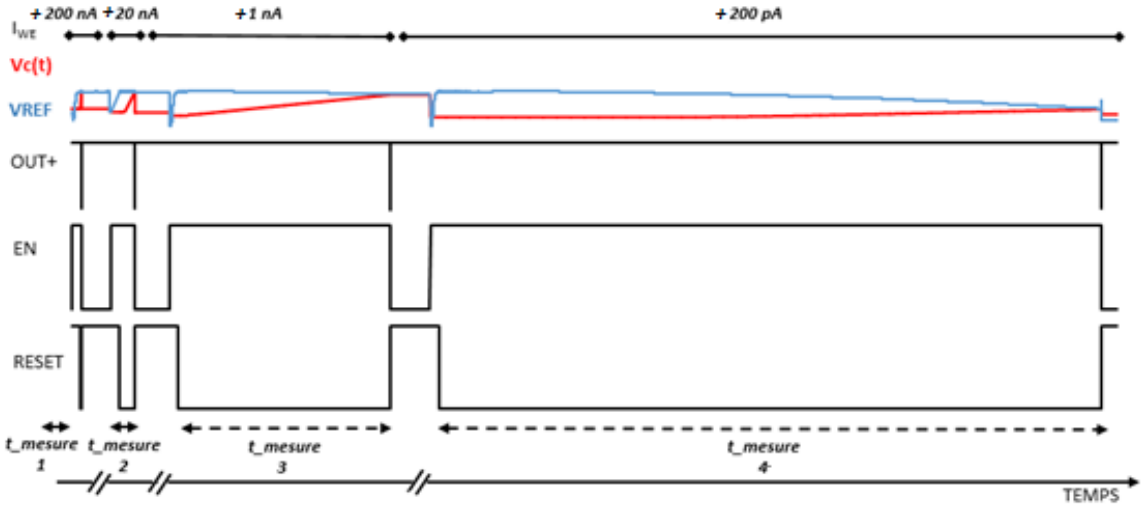
Figure 5.1 Dessin de masques du potentiostat proposé, d'une aire totale de 0.15 μm^2.

5.1.1 Simulations *post-layout* du potentiostat

Une variété de simulations post-layout ont permis de valider l'implémentation du potentiostat proposé avant sa fabrication. La Fig. 5.2 illustre un exemple de simulation réalisée pour la mesure de quatre courants d'oxydation (a) et de réduction (b) d'amplitudes différentes et appliquées successivement à une fréquence de 1,25 kHz. Les signaux principaux du système permettant une mesure de temps (*t_mesure*) proportionnelle au courant d'entrées et impliquant soit le déchargement de la capacité de mesure C dans le cas de courant d'oxydation



(a)



(b)

Figure 5.2 Simulations des signaux principaux du circuit après extraction des masques, pour quatre mesures de courant entrant (200 nA, 20 nA, 1 nA et 200 pA), se succédant à une fréquence de 1,25 kHz. (a) Courants d'oxydation. (b) Courants de réduction.

ou le chargement de C dans le cas de courant de réduction.

5.1.2 Résultats expérimentaux et de simulation

Afin de récupérer de façon optimale les mesures de caractérisation expérimentale reliées aux puces fabriquées, un PCB de test a été conçu, dont les empreintes sont présentées à l'annexe C. Un protocole RS-232 est implémenté dans le FPGA de sorte à recueillir sur un ordinateur les données de mesures de temps produites par le potentiostat intégré. Ceci est réalisé grâce à un logiciel d'interception des données entrantes au port RS-232 de l'ordinateur qui les imprime ensuite en temps réel dans un fichier texte. Une source de courant externe est employée en entrée du potentiostat, reproduisant électriquement les niveaux d'amplitude de courant *redox* du picoampère au microampère, normalement générés par les réactions électrochimiques produites par les neurotransmetteurs. La Fig. 5.3 résume le banc de test général réalisé pour la récupération des données expérimentales et la caractérisation de la puce fabriquée.

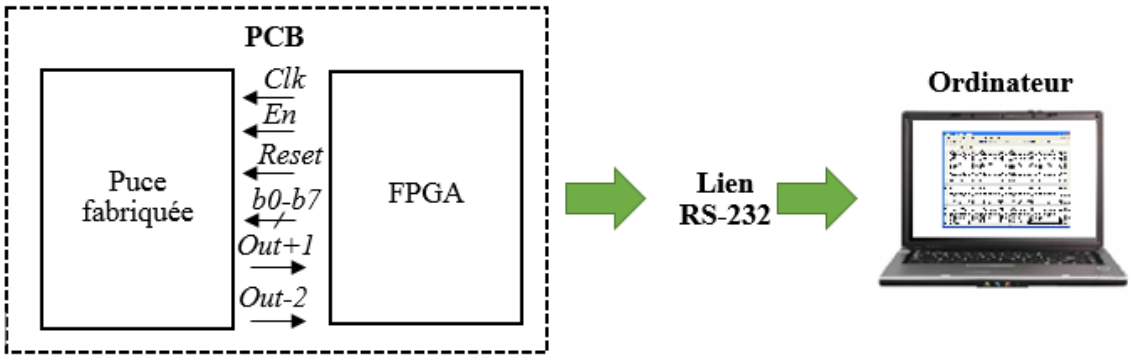


Figure 5.3 Schéma résumant le banc de test réalisé pour la caractérisation de la puce fabriquée.

Les appareils suivants sont utilisés pour les tests :

- Source de courant Keithley, modèle 236.
- Oscilloscope Tektronix, modèle MD04104-6.
- Alimentation DC régulée Agilent, modèle E3631A.

Caractérisation expérimentale du DAC intégré

Le DAC de 8-bit implémenté sur puce se révèle non linéaire, tel qu'illustré par la courbe de transfert présentée à la Fig. 5.4. Cette courbe de transfert a été générée par le FPGA avec une période de 200 ns et récupérée à l'oscilloscope. Une résistance externe de 25,2 Ω permet de convertir le courant de sortie du DAC intégré en tensions de sortie allant de 0 à 2 V.

Le DAC intégré s'avère non linéaire et produit des performances trop faibles pour générer une fonction carrée précise et démontrer le fonctionnement du potentiostat proposé. Cette différence de performance entre le DAC simulé présenté à la section 3.2.3 et celui intégré sur puce semblent vraisemblablement être causée par un mésappariement entre la proportion des transistors formant les miroirs de courant de chacune des 4 unités de 2-bits ou encore, entre celle des transistors constituant les sources de courant de chaque unité. Ce mésappariement étant causé par les variations liées au procédé de fabrication. Le soin apporté au dessin des masques du DAC par l'utilisation de la technique d'interdigitation avec présence d'unité excédentaire («*dummies*») aux extrémités ne s'est pas avéré suffisant.

Un DAC commercial de 8 bits haute-vitesse (modèle HI3338KIBZ d'Intersil), ayant un DNL de ±0.5 LSB, un INL de ±0.5 LSB et un temps de latence de 20 ns est ajouté au PCB de test, remplaçant celui intégré sur la puce. En effet, la puce a été conçue de sorte qu'un branchement externe à la borne *Vin-* du comparateur intégré soit possible. L'ensemble des résultats expérimentaux suivants implique donc l'utilisation de ce composant DAC externe.

Caractérisation expérimentale du potentiostat

La fréquence maximale expérimentale de l'horloge interne *clk* connectée aux comparateurs du circuit est de 100 MHz. Également, l'amplificateur est fonctionnel expérimentalement à une fréquence d'échantillonnage maximale de 4 kHz tel qu'obtenue par simulation, indiquant que le potentiostat peut également fonctionner à une fréquence d'échantillonnage maximale

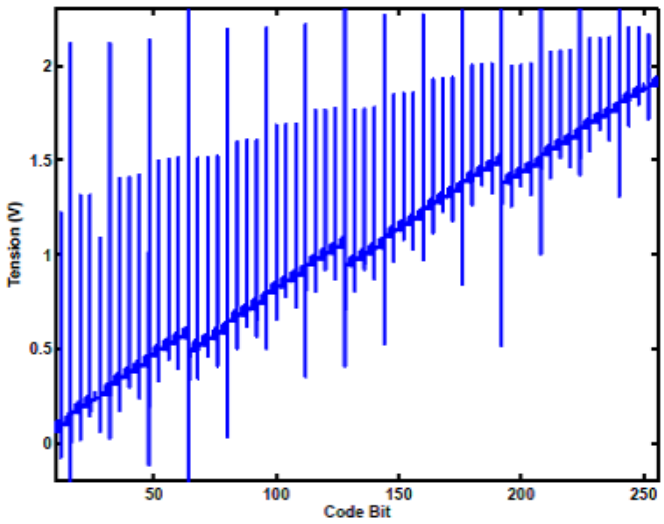
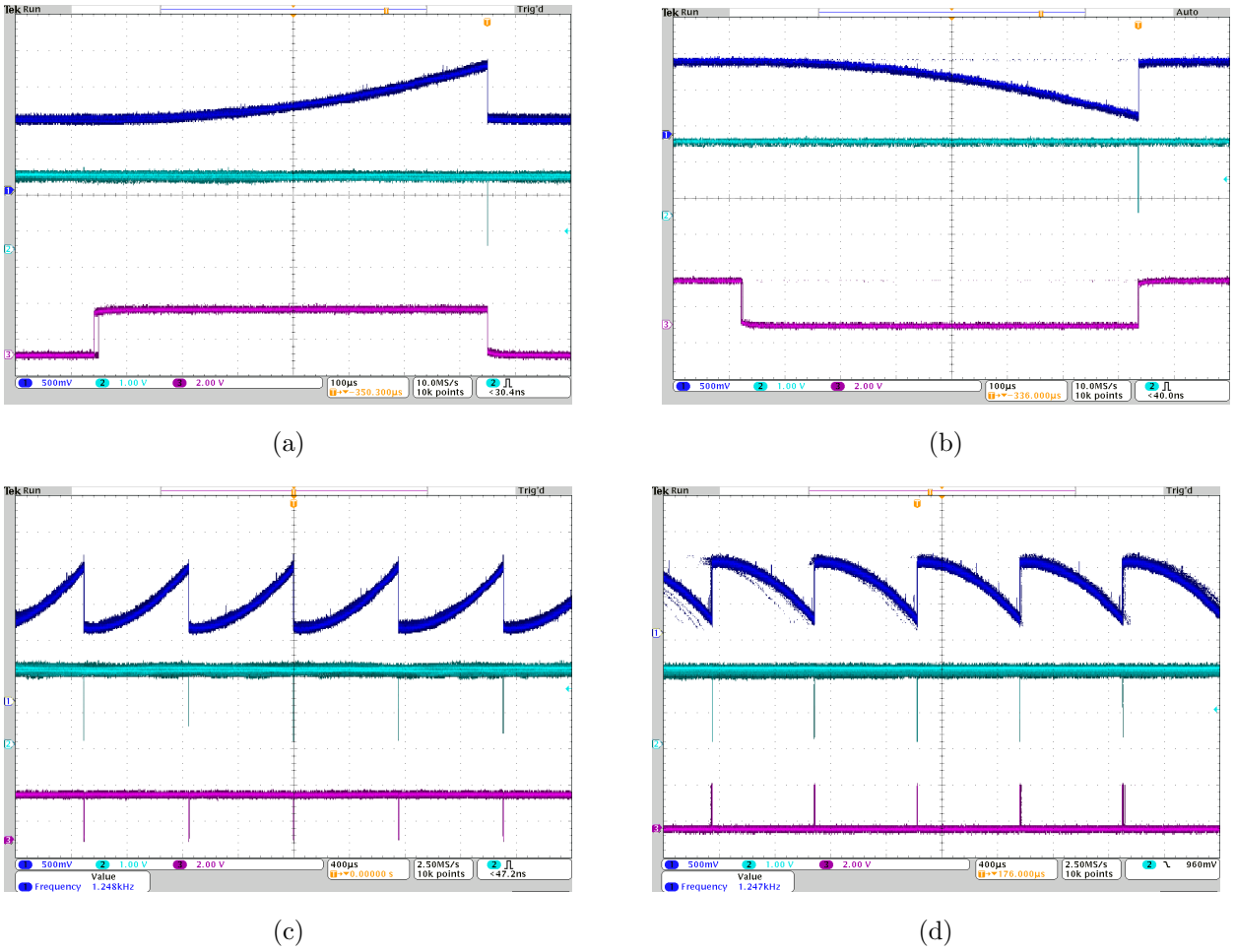


Figure 5.4 Courbe de transfert du DAC intégré obtenue expérimentalement.

de 4 kHz. La Fig. 5.5 illustre les signaux principaux du potentiostat intégré recueillis à l'oscilloscope pour la mesure de courant *redox* de 20 pA. La tension V_{ref} générée par le DAC, la sortie du comparateur et le signal *Reset* sont illustrés. Noter que la tension aux bornes de C n'a pas pu être mesurée, la valeur de C étant de 200 fF. En effet, la mesure de ce signal impliquerait l'addition de capacités parasites associées aux sondes de mesure et aux plots I/O ajoutés, de l'ordre de quelques picofarads (pF), ayant pour effet son altération.



(a) (b)

(c) (d)

Figure 5.5 Signaux principaux du circuit recueillis à l'oscilloscope pour des mesures de temps expérimentales. Mesure individuelle (a) d'un courant d'oxydation de 20 pA et (b) d'un courant de réduction de 20 pA. Plusieurs mesures successives à une fréquence de 1,25 kHz (c) de courants d'oxydation de 20 pA et (d) de courants de réduction de 20 pA. À partir du haut vers le bas, la tension V_{ref} générée par le DAC, la sortie du comparateur et le signal *Reset*.

Des mesures de courant *redox* allant de 20 pA à 700 nA sont réalisées expérimentalement avec la puce fabriquée. Les mesures de temps expérimentales, pour cette plage de courant

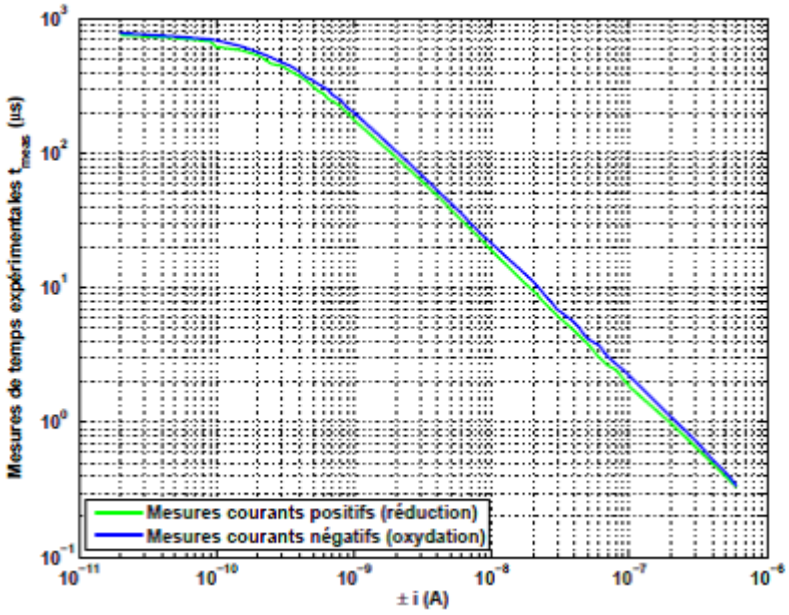


Figure 5.6 Mesures de temps expérimentales en fonction d'un courant externe fixé à l'entrée du système.

d'oxydation et de courant de réduction, imposés à l'entrée du circuit par une source de courant externe sont détaillées à la Fig. 5.6.

Les mesures de courant sont par la suite calculées à l'aide des mesures de temps (t_{meas}), via l'équation suivante, en considérant la variation de V_{ref} en fonction du temps selon une équation quadratique :

$$\pm\ i_{meas} = \frac{\pm 200fF \times \left(V_c(t_0) - \left[1.6455 \times 10^6 \left(t_{meas} - \left(1 \times 10^{-6}\right)\right)^2\right]\right)}{t_{meas}} \tag{5.1}$$

La Fig. 5.7 illustre les valeurs de courant expérimentales calculées en fonction des valeurs de courant appliqué à l'entrée du circuit. Une correspondance élevée entre les valeurs théoriques et expérimentales est observée, permettant de valider l'architecture du potentiostat proposée. La différence entre les mesures de courant théoriques et expérimentales est expliquée en partie par les charges injectées dans la capacité de mesure C. Ces charges proviennent du bruit *kickback* généré par le comparateur et discuté à la section 3.2.2, ainsi que par la commutation du transistor *reset* (M1/M3). Celles-ci ont pour effet de charger en surplus la capacité *C1* ssociée à la mesure de courant d'oxydation et *C2* associée à la mesure de cou-

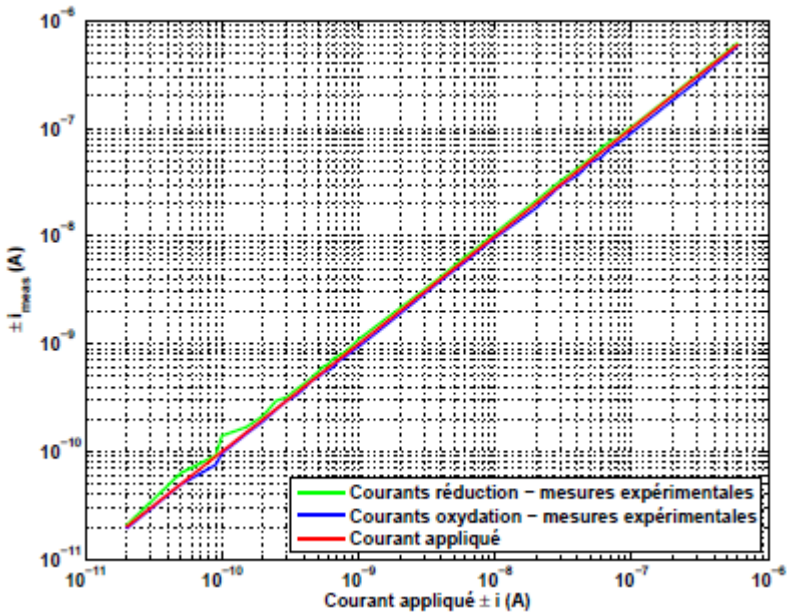
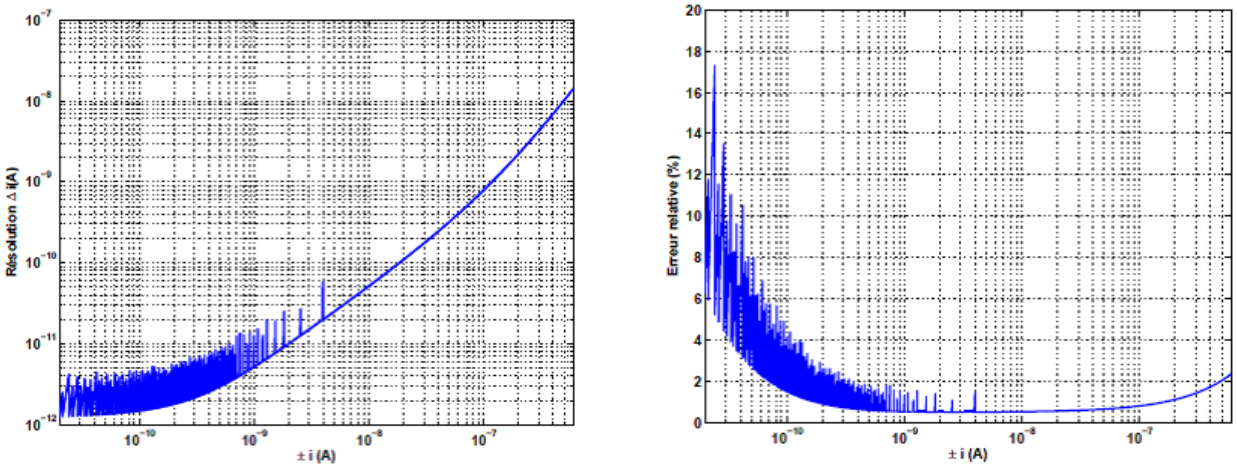


Figure 5.7 Mesures de courant en fonction d'un courant externe fixé à l'entrée du système.

rant de réduction, produisant respectivement des temps de mesure plus élevés et plus faibles que ceux théoriques. Puisque ce phénomène se produit de façon constante sur toute la plage de courant, une simple calibration en ajustant la valeur de la capacité C à la hausse ou à la baisse dans l'éq. 5.1 peut être effectuée lors de l'étape de transformation des mesures de



(a) (b)

Figure 5.8 (a) Résolution et (b) erreur sur les mesures de courant *redox* recueillies expérimentalement.

temps en mesures de courant. Des courants allant de 20 pA à 600 nA sont détectés avec une résolution dépendant du courant mesuré, tel qu'illustré à la Fig. 5.8.

Il est possible d'observer que les courants de faible amplitude mesurés à l'entrée du système génèrent une plus grande erreur sur la mesure. Ceci est dû au fait que le nombre de changements de V_{ref} augmente sur la plage de détection des courants de 1 nA à 20 pA (voir Fig. 3.17), formant les pics sur les courbes de la Fig. 5.8. L'erreur relative sur la mesure s'étend sur une plage allant de ±0,54 % à un maximum de ±17,3 %. L'erreur relative maximale de 17,3 % associée à la détection d'un courant de 30 pA est expliquée par un échelon V_{ref} de plus de 100 mV au temps 765 µs (Fig. 3.17). La différence entre les mesures de résolutions théoriques et expérimentales est expliquée par les erreurs liées à l'instrumentation telles que le courant généré par la source de courant externe, par les glitchs associés à V_{ref} produit par le DAC commercial et aux échelons de V_{ref} plus élevés que 78 mV, soit la résolution théorique d'un DAC à 8 bits.

Noter que les valeurs de résolution et d'erreur sur la mesure simulées ne sont pas présentées, car la discrétisation de la fonction quadratique implémentée dans le simulateur (Fig. 3.17) n'est pas identique à celle du DAC utilisé lors des mesures expérimentales, leur courbe de transfert étant différentes, rendant la comparaison de ces données impertinente.

Consommation de puissance du système

La puissance maximale simulée de l'OTA, du comparateur et du DAC avec le contrôle S/H sont respectivement de 13,2 µW, 18,2 µW et 25 µW pour un total maximal de 56,4 µW par canal, en incluant les circuits de polarisation. Cette valeur n'inclut pas le traitement effectué par le DM. Avec l'algorithme décrit à la section 3.2.4, ces valeurs décroissent en fonction de l'amplitude du courant d'entrée mesuré. En effet, l'utilisation du signal d'activation *En* permet d'éteindre le comparateur et le DAC à la fin de chaque mesure de temps produisant une économie d'énergie. La Fig. 5.9 illustre la consommation de puissance du système requis selon la plage de courant d'oxydation et de réduction couverte pour une fréquence d'échantillonnage de 1,25 kHz. La détection des courants de réduction nécessite moins de puissance puisque le DAC est utilisé pour générer une plage de tension V_{ref} d'amplitude plus faible et génère donc une puissance de seulement 14 µW.

Les valeurs expérimentales de puissance pour l'OTA et le comparateur sont respectivement de 12,4 µW et 15 µW. Cependant, puisque le DAC intégré n'est pas fonctionnel, la consommation de puissance avec l'action de *En* n'a pas pu être caractérisé, ainsi que la

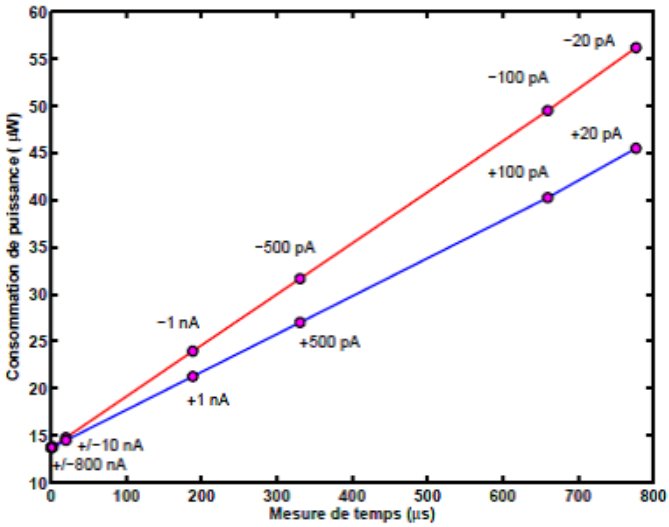


Figure 5.9 Consommation de puissance pour différents courants d'oxydation (rouge) et de réduction (bleu) en fonction des mesures de temps (Massicotte et Sawan (2013)).

consommation totale par canal.

5.1.3 Comparaison des designs

Les résultats de simulation et de mesures expérimentales principaux du potentiostat proposé sont récapitulés au Tableau 5.1. Ces derniers incluent les caractéristiques principales recherchées quant à la détection *in vivo* des neurotransmetteurs, présentées au chapitre 2. Également, ces résultats sont comparés à trois architectures de potentiostat dédiées à la détection de neurotransmetteurs *in vivo* répertoriées dans la littérature et présentées au chapitre à la section 2.3.1. Cette comparaison est effectuée par l'expression d'une figure de mérite (FOM) définie en fonction de trois critères, soient la largeur de la plage dynamique (I_{min}–I_{max}), la fréquence d'échantillonnage minimale (FS) et la précision maximale sur la mesure. La consommation de puissance n'est pas considérée dans le FOM puisqu'aucun des potentiostat comparés, incluant le nôtre, n'a de mesures expérimentales complètes concernant la consommation totale du système, c'est-à-dire incluant la consommation digitale liée à l'acquisition et au traitement des mesures.

L'expression de la FOM employée pour comparer les performances des architectures entre-elle est définie par l'expression suivante :

$$FOM = \frac{\sqrt{FS[kHz] \times \frac{I_{max}}{I_{min}}}}{Precision[pA]} \tag{5.2}$$

Tableau 5.1 Comparaison des performances.

	Ce travail		**Narula et Harris (2006)**	**Stacevic et al.**	**Ayers et al.**
	S*	E*	E*	E*	E*
Technologie CMOS (µm)	0,13	0,13	0,35	0,5	0,5
Fréquence d'échantillonnage minimale *FS* (Hz)	1250	1250	0,06	0,25	2500
Plage dynamique d'entrée I_{min}–I_{max}	20 pA–800 nA	20 pA–600 nA	1 pA–200 nA	1 pA–500 nA	20 pA–400 pA
Consommation de puissance par canal (µW)	56	-	130	20	1
Précision minimale (pA)	1,4	1,8	0,1	1	0,1
FOM	159,8	107,6	34,7	11,2	70,7

* S : Simulé, E : Expérimental.

Le design proposé offre donc le meilleur compromis quant à la fréquence d'échantillonnage du système versus l'étendue de la plage de courant d'entrée couverte et la précision maximale sur la mesure. Également, le critère de consommation de puissance défini à la section 2.3.1 de moins de 100 µW par canal a été atteint.

5.2 Résultats expérimentaux du système avec tests biologiques

La plateforme multi-WE est connectée au potentiostat intégré tel qu'illustré à la Fig. 5.10, afin de valider expérimentalement le prototype du système conçu avec des solutions de dopamine et de glutamate. Afin de faciliter la prise de donnée, une interface usager a été développée à partir du logiciel *Qt*, en langage de programmation C++, permettant de visualiser les données de courant générées par le potentiostat en fonction du temps d'acquisition. Celle-ci traite les mesures de temps acquises en sortie du potentiostat et les traduit en mesure de courant.

5.2.1 Comparaison des réponses ampérométriques expérimentales

Une technique de chronoampérométrie est réalisée selon des conditions semblables à celles détaillées à la section 4.3.2 afin de quantifier la réponse ampérométrique de la plateforme multi-WE envers la dopamine et le glutamate avec le potentiostat intégré comme transducteur. La Fig. 5.11(a) illustre la réponse ampérométrique obtenue avec le système conçu pour une variation de la concentration de dopamine de 0 à 10 µM, avec des pas de 1 µM, alors que la Fig. 5.11(b) illustre celle obtenue pour une variation de la concentration de glutamate de 1 mM à 2 mM, avec des pas de 200 µM. Les courbes de calibration associées aux courbes courant-temps sont comparées à la courbe de calibration recueillie avec le potentiostat de

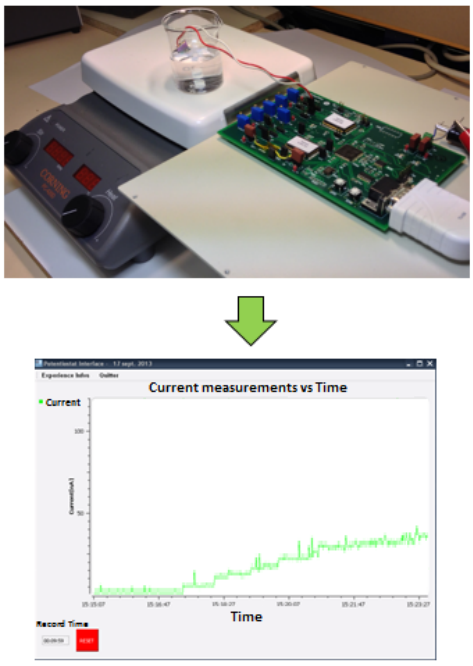
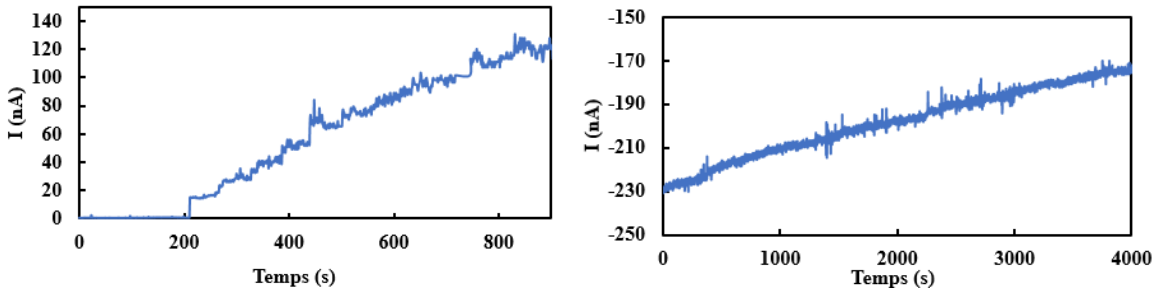


Figure 5.10 Montage expérimental des tests biologiques avec interface usager.

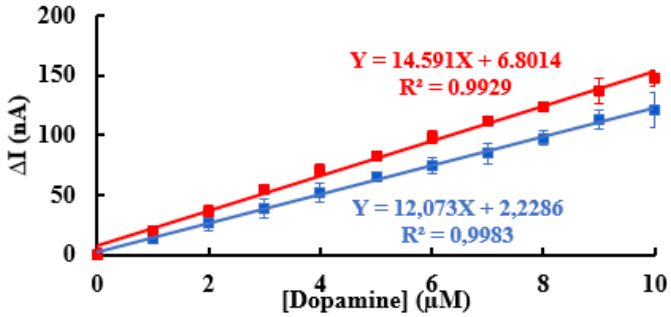
laboratoire (Fig. 5.12).

La courbe courant-temps du capteur dédié à la dopamine, obtenue avec le potentiosat fabriqué, a une forme semblable à celle mesurée avec le potentiostat de laboratoire, présentée à la Fig. 4.6. Des résultats semblables au niveau de la linéarité de la réponse sont obtenus lors de la comparaison de leurs courbes de calibration. La divergence des pentes, paramètre associée la sensibilité du capteur, entre les courbes de calibration obtenues pour la dopamine, est expliquée par une différence au niveau de la quantité de CNT recouvrant l'électrode WE et

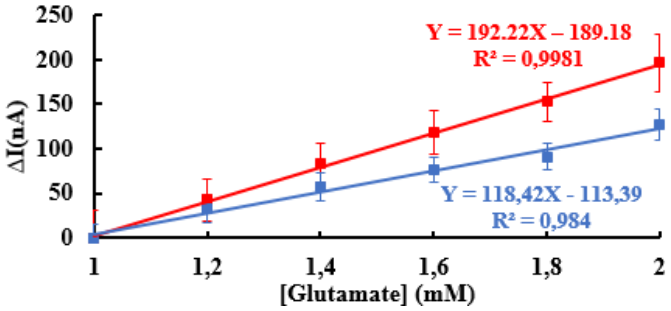


(a) (b)

Figure 5.11 Courbe courant-temps typique recueillie avec le potentiostat intégré conçu, pour un capteur (a) dédié à la dopamine et (b) dédié au glutamate.



(a)



(b)

Figure 5.12 Comparaison des courbes de calibration obtenues pour une détection avec le potentiostat intégré conçu (bleu) et avec le potentiostat de laboratoire (rouge) pour (a) la dopamine et (b) le glutamate.

n'est pas liée au fonctionnement du potentiostat intégré. En effet, des plateformes multi-WE ont dues être testées dans les deux cas, en raison de bris involontaires lors des manipulations. La réponse ampérométrique obtenue pour un capteur dédié au glutamate illustre un temps de stabilisation entre les injections environ huit fois plus élevé que la réponse obtenue avec le potentiostat commercial, illustrée à la Fig. 4.7. Également, une divergence entre les deux pentes des courbes de calibration obtenues pour le glutamate à la Fig. 5.12(b) est remarquée. Ces résultats sont expliqués par une perte de l'activité enzymatique du GLDH dû à un grand délai de temps séparant les mesures prises avec le potentiostat commercial et celui fabriqué. En effet, les capteurs ont été fonctionnalisés et testés avec le potentiostat de laboratoire à l'EPFL en Suisse et les tests avec le potentiostat intégré au laboratoire Polystim ont eu cours environ six mois après. Également les conditions d'entreposage non adéquates du capteur pendant le voyage Suisse-Canada ont pu affecter l'activité enzymatique du GLDH. En effet, le maintient des capteurs à une température de 4°C et dans une solution PBS à un pH de 7 est recommandé pour assurer la stabilité des enzymes GLDH (Bailey et Bell (1982)) et ces conditions n'ont pu être respectées pendant le trajet. Cette perte d'activité de l'enzyme a pour effet d'augmenter le temps de réponse du capteur et de diminuer sa sensibilité.

En bref, les résultats des tests biologiques effectés avec des solutions de dopamine et de glutamate de différente concentration sont concluants et confirment la validité de la fonctionnalité du potentiostat fabriqué avec la plateforme multi-WE fonctionnalisée.

CHAPITRE 6

DISCUSSION GÉNÉRALE

Cette section approfondit plusieurs sujets qui ont été abordés dans les chapitres précédents. Un retour sur quelques aspects reliés à la conception, la fabrication et la caractérisation expérimentale du potentiostat intégré est fait, ainsi que sur les résultats de caractérisation de la plateforme multi-WE. Également, les étapes de développement futures suggérées dans le LSP sont brièvement discutées.

6.1 Retour sur le potentiostat fabriqué

6.1.1 Conception des puces

Deux puces de 1,5 par 1,5 mm ont été fabriquées afin de valider expérimentalement le fonctionnement du design proposé, simplement afin de maximiser le nombre de plots d'entrée et de sortie et ainsi augmenter la testabilité par une connexion externe des composants critiques. Ces deux puces ont été conçues similairement afin de faciliter la conception du PCB de test utilisé pour leur caractérisation. Des étages tampons de taille croissante ont été ajoutés en sortie des comparateurs afin d'augmenter le courant et de permettre une capacité de charge allant jusqu'à 20 pF pour la lecture des sorties digitales avec les sondes d'oscilloscope. La consommation de puissance expérimentale associée au comparateur ne tient pas compte de cette addition, considérée seulement comme un élément de testabilité.

L'environnement mixte de la puce impose une attention particulière à la propagation des bruits de substrat et des bruits associés au couplage des alimentations pouvant avoir un impact négatif considérable sur la performance des circuits analogiques présents. Les dessins de masques sont disposés de façon à séparer les circuits analogiques des circuits numériques. Les circuits analogiques sensibles composant l'étage RCA sont maintenus éloignés des tampons de sortie des comparateurs, considérés comme des circuits digitaux à haute fréquence. Plusieurs autres astuces ont été utilisées afin de diminuer la propagation du bruit numérique dans la zone analogique de la puce. Par exemple, les signaux numériques à haute vitesse, tel que le signal d'horloge, sont entourés d'un blindage constitué de traces de métaux de couche inférieure et supérieure au métal de la trace les propageant, les isolant ainsi des circuits sensibles environnants. Des anneaux de garde sont placés autour de la section analogique et de celle numérique afin d'éviter une propagation du bruit de substrat d'une section à l'autre

et d'assurer un isolement entrent-elles. Les alimentations et les masses associées à la section analogique sont séparées de celles numériques, par l'utilisation de plots distincts. Cette action permet d'éviter la propagation des injections transitoires causées par la commutation des circuits numériques, au sein des circuits analogiques. Mentionnons également que les plots ont été conçus avec une protection électrostatique.

6.1.2 Caractérisation expérimentale et erreurs de fabrication

Dû au temps restreint, trois échantillons de chaque puce ont été testés expérimentalement sur le PCB fabriqué. Un échantillon de chacune s'est avéré non fonctionnel dû à la mauvaise performance des comparateurs intégrés. Des résultats pratiquement identiques ont été enregistrés pour les deux autres échantillons associés à chacune des puces. Le DAC intégré s'est avéré non fonctionnel pour les trois échantillons testés. Ceci est expliqué en grande partie par un dessin de masques non adéquat quant au mésappariement entre les différents miroirs de courant associés à chaque unité de 2 bits. En effet, le mésappariement des masques est un phénomène produit lors de la fabrication et qui est difficilement simulable. Suite à cette expérience, nous suggérerions l'utilisation d'une configuration centroide commun entre les transistors M0, M4, M8 et M12 pour une nouvelle implémentation. Enfin, malgré la validité des valeurs de tension obtenues en sortie des circuits de polarisation associés à l'amplificateur, la polarisation des amplificateurs a été effectuée à l'aide de générateurs de tensions externes. En effet, l'anneau de garde nwell entourant l'amplificateur a omis d'être connecté à l'alimentation, permettant l'entrée de bruit dans le substrat et perturbant la masse du circuit. Cette omission ne pouvait être détectée via des simulations. Un nouveau point de polarisation a dû être trouvé afin d'assurer la fonctionnalité des amplificateurs.

6.1.3 Implémentation de la fonction V_{ref}(t)

Tel que démontré précédemment, la précision des mesures de courant *redox* dépend principalement de la linéarité du DAC utilisé et de la forme de la fonction $V_{ref}(t)$. Une fonction $V_{ref}(t)$ quadratique, soit de second ordre, a été utilisée dans le design proposé, de sorte à maximiser la fréquence d'échantillonnage et à démontrer le concept du système. Une fonction d'ordre plus élevée, passant par les conditions initiales et finales définies, pourrait également être générée en sortie du DAC, réduisant théoriquement l'erreur relative sur la mesure proportionnellement au degré croissant de l'ordre choisi. Cependant, plus l'ordre de la fonction augmente, plus son implémentation est limitée par la résolution du DAC employée. Ainsi, la réduction de l'erreur sur la mesure implique nécessairement l'implémentation d'un DAC à haute résolution et linéarité. Le DAC employé dans ce design tenait compte d'un compromis

avec la dissipation de puissance qui était à minimiser, portant notre choix sur un DAC d'une résolution de 8 bits et d'architecture simple, augmentant toutefois inévitablement l'erreur sur la mesure.

Le potentiostat présenté a démontré pouvoir mesurer expérimentalement des courants allant de 20 pA à 600 nA avec une fréquence d'échantillonnage minimale de 1,25 kHz par une variation de $V_{ref}(t)$ en fonction du temps de la mesure, procurant une flexibilité élevée au niveau de la plage des mesures ampérométriques. Toutefois, les conditions finales de la fonction $V_{ref}(t)$ générée pourraient être modulées en fonction de la courbe de calibration associée à chaque neurotransmetteur détecté, de sorte à minimiser la consommation de puissance et à augmenter la fréquence d'échantillonnage jusqu'à son maximum de 4 kHz. En effet, la réponse ampérométrique est déterminée par la concentration physiologique de la substance neurochimique à détecter (Tableau 1.1) ainsi que de la fonctionnalisation appliquée à son électrode de mesure correspondante. Ainsi, la détection de certains neurotransmetteurs ne nécessiterait qu'une détection de courant sur la plage des nanoampères pour les concentrations physiologiques à couvrir, la tranche de détection des picoampères devenant impertinente et permettant ainsi d'augmenter la fréquence d'échantillonnage.

6.2 Retour sur la caractérisation expérimentale de la plateforme multi-WE

La caractérisation expérimentale de la plateforme multi-WE avec le potentiostat de laboratoire commercial et le potentiostat intégré fabriqué a été validée pour des plages de concentration de dopamine et de glutamate plus élevées que celles physiologiques répertoriées au Tableau 1.1. La plage de concentration physiologique estimée par les études neuroscientifiques pour la dopamine est estimée de 1 à 100 nM et pour le glutamate de 5 à 100 µM. Cependant, notre caractérisation s'est faite avec des plages de concentration de 1 à 10 µM et de 1 à 2 mM respectivement, selon la limite de détection minimale détectée lors des tests. Dans les deux cas, il est estimé que la borne de concentration inférieure de ces plages a été limitée par le bruit engendré par le montage expérimental, particulièrement causé par la rotation de l'aimant magnétique dans le bécher. En effet, avant toutes injections de neurotransmetteurs dans la solution tampon, un délai de deux heures a été respecté afin d'atteindre le point de stabilisation des WE. Le niveau de courant enregistré à cet état de stabilité reflète le bruit blanc de nature thermique et mécanique environnant et celui-ci est estimé à environ 1 nanoampère selon les mesures récoltées, restreignant les courbes de calibration obtenues. Ainsi, une nouvelle caractérisation des limites de détection réelles de la plateforme multi-WE dans des conditions moins génératrices de bruit est conseillée afin d'obtenir une mesure réelle des

limites de détection envers la dopamine et le glutamate. Une cage de Faraday pourrait être ajouté au montage.

Par ailleurs, le temps de réponse des capteurs pourrait être amélioré en optimisant les proportions des composants constituant les films composites à base de CNT, et ce, particulièrement pour les capteurs de glutamate. Le temps alloué à cette étape ayant été limitée.

6.3 Travaux futurs

6.3.1 Améliorations du potentiostat intégré

Le potentiostat intégré conçu nécessiterait idéalement une deuxième implémentation sur puce avec l'ajout des fonctionnalités suivantes. D'abord, la conception d'un DAC fonctionnel expérimentalement, conciliant des performances élevées en termes de linéarité et de faible consommation de puissance est impérative. La multiplication de la topologie proposée dans ce travail sous forme d'architecture multicanal est souhaitée afin de pouvoir analyser plus de deux substances à la fois. L'utilisation d'un multiplexeur analogique associé à la borne négative de l'OTA de chaque potentiostat permettrait la réalisation d'un multiplexage temporel de plusieurs WE. Ceci réduirait le nombre de potentiostats nécessaires et indirectement la consommation de puissance totale du système. Cette fonctionnalité pourrait être adoptée pour l'analyse des neurotransmetteurs ayant une réponse temporelle physiologique faible puisque la fréquence d'échantillonnage du potentiostat serait alors divisée par le nombre de WE en entrée du multiplexeur. Enfin, dans l'optique d'une unité de détection entièrement intégrée, l'addition d'un générateur de tension programmable imposant les tensions *redox* correspondant à chaque WE est suggérée.

6.3.2 Intégration du biocapteur dans un LSP

Le prototype constituant la base de l'unité de détection proposée, formé du potentiostat intégré et de la plateforme multi-WE fonctionnalisée, a été conçu hors du système LSP. Cependant, son intégration ne semble pas à première vue poser de contraintes spécifiques. En effet, l'interface microfluidique/microélectronique peut être réalisée avec le « wire-bonding », une méthode classique d'assemblage compatible avec la puce fabriquée. Les électrodes de mesures devront être fabriquées dans les canaux d'une architecture microfluidique via un procédé de microfabrication adapté sur mesure en salle blanche ou avec le procédé Sensonit. En ce qui a trait à l'unité de contrôle numérique du transducteur, son ajout à la logique des autres blocs du LSP, tel que l'unité de manipulation est prévue par la conception d'une puce

dédiée.

Outre son implémentation dans un LSP, le biocapteur élaboré pourrait également assister l'étude de l'activité chimique générée par des cellules neuronales *in vitro*. En effet, cet outil peut être employé pour quantifier les neurotransmetteurs en jeu dans des phénomènes cellulaires provoqués. Il pourrait être employé pour répondre à plusieurs questions concernant les étapes de libération et d'absorption des neurotransmetteurs discutées à la section 1.1.3. Par exemple, comment se produisent les mécanismes biophysiques gérant les cellules neuronales, tel que l'exocytose, exerçant la fusion des membranes cellulaires modulant le relâchement des neurotransmetteurs (Kim *et al.* (2013)).

CONCLUSION

L'objectif principal de ce mémoire était de mettre en oeuvre une unité de détection allant dans un LSP, dédiée à l'analyse et à la quantification de différents neurotransmetteurs. Une architecture basée sur l'implémentation de biocapteurs ampérométriques détectant des courants d'oxydation et de réduction séparément, avec une technique d'ampérométrie à tension constante a été énoncée. Un biocapteur est composé d'un potentiostat couplé à une matrice de plusieurs électrodes de mesures. Le choix d'une détection électrochimique de type ampérométrique s'avère la plus performante en termes de résolution temporelle et sensibilité des mesures, ainsi qu'au niveau de la compatibilité d'intégration avec la technologie CMOS.

Dans un premier temps, un potentiostat à deux canaux répondant aux exigences de la quantification *in vivo* des neurotransmetteurs décrites dans la littérature scientifique a été conçu et intégré sur puce avec la technologie CMOS. Ce potentiostat formé d'un étage d'entrée de type RCA, d'un comparateur et d'un DAC génère des mesures de temps proportionnelles à la concentration des neurotransmetteurs analysés. Malgré la révélation du dysfonctionnement du DAC lors de la caractérisation expérimentale du transducteur intégré, des résultats expérimentaux ont été obtenus en associant le potentiostat fabriqué à un DAC commercial. Ces résultats ont permis d'établir la preuve de concept de la topologie proposée qui offre un compromis hors pair entre la fréquence d'échantillonnage, la plage dynamique d'entrée et la résolution des mesures de courant *redox* pour la quantification d'une grande variété de neurotransmetteurs.

Dans un deuxième temps, une plateforme à plusieurs électrodes de mesure pour une détection multi-analyte a été développée en vue d'être connectée au transducteur intégré pour la quantification expérimentale des concentrations de deux neurotransmetteurs. Celle-ci a été fabriquée en salle blanche en partenariat avec le laboratoire LSI de l'École Polytechnique Fédérale de Lausanne (EPFL). Les WE de la plateforme ont été fonctionnalisées avec des CNT couplés d'une couche bioréceptrice dédiée à la détection de la dopamine, un neurotransmetteur électroactif, ou du glutamate, un neurotransmetteur non électroactif. Les CNT ont été utilisés principalement pour augmenter le ratio signal sur bruit de la mesure ampérométrique et la stabilité du capteur. La fonctionnalité et la caractérisation de la plateforme a d'abord été validée avec un potentiostat de laboratoire commercial, démontrant une haute sensibilité et sélectivité, avant d'être reliée au potentiostat intégré.

Ce mémoire contribue de manière significative à l'élaboration d'une unité de détection électrochimique CMOS. D'abord, il apporte une étude synthétisée du comportement connu des neurotransmetteurs et des méthodes employées à ce jour pour leur analyse dans un milieu *in vivo*. Ensuite, il propose un potentiostat intégré optimisé pour l'analyse des neurotransmetteurs et procurant des performances supérieures aux topologies présentes dans la littérature scientifique à cet égard. Enfin, ce mémoire valide expérimentalement le potentiostat proposé pour une détection multi-analyte de la dopamine et du glutamate avec une plateforme d'électrodes. En fonctionnalisant la plateforme multi-WE avec des films composites à base de CNT, le biocapteur conçu assure des mesures ampérométriques sélectives et à sensibilité augmentée. Ces caractéristiques apportent une valeur ajoutée pour une détection efficace dans un milieu multi-analyte complexe, ce qui n'est pas le cas de la majorité des publications proposant des biocapteurs ampérométriques. En conclusion, la configuration du biocapteur proposé peut être perfectionnée et étendue à l'étude de neurotransmetteurs variés, dans un environnement *in vivo* ou *in vitro*.

RÉFÉRENCES

ADAMS, R. (1976). Probing Brain Chemistry with Electroanalytical Techniques. *Analytical Chemistry*, 48, 1128A–1138A.

AGÜÍ, L., YÁÑEZSEDEÑO, P. et PINGARRÓN, J. M. (2008). Role of Carbon Nanotubes in Electroanalytical Chemistry : A Review. *Analytica Chimica Acta*, 622, 11–47.

AYERS, S., GILLIS, K., LINDAU, M. et MINCH, B. (2007). Design of a CMOS Potentiostat Circuit for Electrochemical Detector Arrays. *Circuits and Systems I : Regular Papers, IEEE Transactions on*, 54, 736–744.

BAILEY, J. et BELL, J. (1982). Regulation of Bovine Glutamate Dehydrogenase. The Effects of pH and ADP. *Journal of Biological Chemistry*, 5, 5579–5583.

BAKER, R. (2011). *CMOS : Circuit Design, Layout, and Simulation*. IEEE Press Series on Microelectronic Systems. Wiley.

BANDYOPADHYAY, A., MULLIKEN, G., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2002). VLSI Potentiostat Array for Distributed Electrochemical Neural Recording. *Circuits and Systems, 2002. ISCAS 2002. IEEE International Symposium on*. vol. 2, II–740–II–743.

BARD, A. J. et FAULKNER, L. R. (2000). *Electrochemical Methods : Fundamentals and Applications (second edition)*. Wiley, New York.

BRETEN, M., LEHMANN, T. et BRAUN, E. (2000). Integrating Data Converters for Picoampere Currents from Electrochemical Transducers. *Circuits and Systems, 2000. Proceedings. ISCAS 2000 Geneva. The 2000 IEEE International Symposium on*. vol. 5, 709–712.

C. BERGGREN, P. STÅLHANDSKE, J. B. et JOHANSSON, G. (1999). A Feasibility Study of a Capacitive Biosensor for Direct Detection of DNA Hybridization. *Electroanalysis*, 11, 156–160.

CARRARA, S., GHOREISHIZADEH, S., OLIVO, J., TAURINO, I., BAJ-ROSSI, C., CAVALLINI, A., DE BEECK, M. O., DEHOLLAIN, C., BURLESON, W., MOUSSY, F., GUISEPPI-ELIE, A. et MICHELI, G. D. (2012). Fully Integrated Biochip Platforms for Advanced Healthcare. *Sensors*, 12, 11013–11060.

CHAKRABORTY, S. et RAJ, C. (2007). Amperometric Biosensing of Glutamate using Carbon Nanotube Based Electrode. *Electrochemistry Communications*, 9, 1323–1330.

CROUSHORE, C. et SWEEDLER, J. (2013). Microfluidic Systems for Studying Neurotransmitters and Neurotransmission. *Lab Chip*, 13, 1666–1676.

D.GRIESHABER, R.MACKENZIE, J.VÖRÖS et REIMHULT, E. (2008). Electrochemical Biosensors - Sensor Principles and Architectures. *Sensors*, 8, 1400–1458.

ENZ, C., KRUMMENACHER, F. et VITTOZ, E. (1995). An analytical MOS Transistor Model Valid in All Regions of Operation and Dedicated to Low-Voltage and Low-Current Applications. *Analog Integrated Circuits and Signal Processing*, 8, 83–114.

FENG, W. et JI, P. (2011). Enzymes Immobilized on Carbon Nanotubes. *Biotechnology Advances*, 29, 889–895.

FIGUEIREDO, P. et VITAL, J. (2004). Low kickback Noise Techniques for CMOS Latched Comparators. *Circuits and Systems, 2004. ISCAS '04. Proceedings of the 2004 International Symposium on*. vol. 1, I–537–40.

GENOV, R., STANACEVIC, M., NAWARE, M., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2006). 16-Channel Integrated Potentiostat for Distributed Neurochemical Sensing. *Circuits and Systems I : Regular Papers, IEEE Transactions on*, 53, 2371–2376.

GRAUPNER, A. (2006). A Methodology for the Onset-Simulation of Comparators. *in The Designer's guide Community, http:// www.designers-guide.org*.

HARVEY-GIRARD, E. (2005). Le génie électrique des neurones (En ligne). *http:// www.apteronote.com/ revue/ neurone/ article_79.shtml*.

HIERLEMANN, A. et BALTES, H. (2003). CMOS-Based Chemical Microsensors. *Analyst*, 128, 15–28.

JACOBS, C., PEAIRS, M. et VENTON, B. (2010). Review : Carbon Nanotube Based Electrochemical Sensors for Biomolecules. *Analytica Chimica Acta*, 662, 105–127.

KAKEROW, R., KAPPERT, H., SPIEGEL, E. et MANOLI, Y. (1995). Low Power Single chip CMOS Potentiostat. *SolidState Sensors and Actuators, 1995 and Eurosensors IX Transducers '95. The 8th International Conference on*. vol. 1, 142–145.

KANDEL, E., SCHWARTZ, J. et JESSELL, T. (2013). *Principles of Neural Science, Fifth Edition*. Principles of Neural Science. McGrawHill Education.

KIM, B., HERBST, A., KIM, S., MINCH, B. et LINDAU, M. (2013). Parallel Recording of Neurotransmitters Release From Chromaffin Cells Using a 10×10 CMOS IC Potentiostat Array with On-chip Working electrodes. *Biosensors and Bioelectronics*, 41, 736–744.

KIM, S., R.A., HARRISON, R. N. et SOLZBACHER, F. (2006). Preliminary Study of the Thermal Impact of a Microelectrode Array Implanted in the Brain. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2006. EMBS '06. 28th Annual International Conference of the IEEE*. 2986–2989.

LI, D.-C., YANG, P.-H. et LU, M.-C. (2010). CMOS Open-Gate Ion-Sensitive Field Effect Transistors for Ultrasensitive Dopamine Detection. *Electron Devices, IEEE Transactions on*, 57, 2761–2767.

LONG, C. (2003). Introductory and physiological physiological psychology (En ligne). *The University of Memphis, http://neuro.psyc.memphis.edu/ugp/vm/neuron%20synapse.htm*.

LU, M.-C., CHEN, Y.-C. et HUANG, P.-C. (2010). 5×5 CMOS Capacitive Sensor Array for Detection of the Neurotransmitter Dopamine. *Biosensors and Bioelectronics*, 26, 1093–1097.

MACDOUGALL, D. et CRUMMETT, W. (1980). Guidelines for Data Acquisition and Data Quality Evaluation in Environmental Chemistry. *Analytical Chemistry*, 52, 2242–2249.

MASSICOTTE, G. et SAWAN, M. (2013). An Efficient Time-Based CMOS Potentiostat for Neurotransmitters Sensing. *Medical Measurements and Applications Proceedings (MeMeA), 2013 IEEE International Symposium on*, 274–277.

MASSICOTTE, G., SAWAN, M., MICHELI, G. D. et CARRARA, S. (2013). Multi-Electrodes Amperometric Biosensor for Neurotransmitters Detection. *Accepted to Biomedical Circuits and Systems Conference (BioCAS)*.

MERRILL, D., BIKSON, M. et JEFFERYS, J. (2005). Electrical Stimulation of Excitable Tissue : Design of Efficacious and Safe Protocols. *Journal of Neuroscience Methods*, 141, 171–198.

MICHAEL, D. et WIGHTMAN, R. (1999). Electrochemical Monitoring of Biogenic Amine Neurotransmission in Real Time. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 19, 33–46.

MOLLAZADEH, M., MURARI, K., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2009). Wireless Micropower Instrumentation for Multimodal Acquisition of Electrical and Chemical Neural Activity. *Biomedical Circuits and Systems, IEEE Transactions on*, 3, 388–397.

MOLLAZADEH, M., MURARI, K., SAUER, C., STANACEVIC, M., THAKOR, N. et CAUWENBERGHS, G. (2006). Wireless integrated voltametric and amperometric biosensing. *Life Science Systems and Applications Workshop, 2006. IEEE/NLM*. 1–2.

MURARI, K., SAUER, C., STANACEVIC, M., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2005a). Wireless Multichannel Integrated Potentiostat for Distributed Neurotransmitter Sensing. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2005. IEEE-EMBS 2005. 27th Annual International Conference of the*. 7329–7332.

MURARI, K., STANACEVIC, M., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2005b). Integrated Potentiostat for Neurotransmitter Sensing. *Engineering in Medicine and Biology Magazine, IEEE*, 24, 23–29.

MURARI, K., THAKOR, N., STANACEVIC, M. et CAUWENBERGHS, G. (2004). Wide-range, Picoampere-sensitivity Multichannel VLSI Potentiostat for Neurotransmitter Sensing. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2004. IEMBS '04. 26th Annual International Conference of the IEEE*. vol. 2, 4063–4066.

NANDI, P., DESAI, D. et LUNTE, S. (2010). Development of a PDMS-Based Microchip Electrophoresis Device for Continuous Online in Vivo Monitoring of Microdialysis Samples. *Electrophoresis*, 31, 1414–1422.

NARULA, H. et HARRIS, J. (2006). A Time-Based VLSI Potentiostat for Ion Current Measurements. *Sensors Journal, IEEE*, 6, 239–247.

NAWARE, M., THAKOR, N., ORTH, R. N., MURARI, K. et PASSERAUB, P. (2003). Design and Microfabrication of a Polymer-Modified Carbon Sensor Array for the Measurement of Neurotransmitter Signals. *Engineering in Medicine and Biology Society, 2003. Proceedings of the 25th Annual International Conference of the IEEE*. vol. 2, 1952–1955.

NAZARI, M., MAZHABJAFARI, H., LENG, L., GUENTHER, A. et GENOV, R. (2013). CMOS Neurotransmitter Microarray : 96-Channel Integrated Potentiostat With On-Die Microsensors. *Biomedical Circuits and Systems, IEEE Transactions on*, 7, 338–348.

PERRY, M., LI, Q. et KENNEDY, R. (2009). Review of Recent Advances in Analytical techniques for the Determination of Neurotransmitters. *Analytica Chimica Acta*, 653, 1–22.

PETERS, J., MINER, L., MICHAEL, A. et SESACK, S. (2004). Ultrastructure at Carbon Fiber Microelectrode Implantation Sites After Acute Voltammetric Measurements in the Striatum of Anesthetized Rats. *Journal of Neuroscience Methods*, 137, 9–23.

PETHIG, R. (2010). Review Article—Dielectrophoresis : Status of the theory, technology, and applications. *Biomicrofluidics*, 4, –.

PLOCK, N. et KLOFT, C. (2005). Microdialysis—Theoretical Background and Recent Implementation in Applied Life-Sciences. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 25, 1–24.

POHL, H. (1978). *Dielectrophoresis*. Cambridge University Press, New York.

PRAKASH, S. et ABSHIRE, P. (2007). On-Chip Capacitance Sensing for Cell Monitoring Applications. *Sensors Journal, IEEE*, 7, 440–447.

PURVES, D. et COQUERY, J. (2005). *Neurosciences*. Neurosciences & cognition. De Boeck Supérieur.

QI, Y., ZHANG, G., ZHIBIAO, S. et WANG, B. (2008). A Low Kickback Noise Latched Comparator for High Speed Folding and Interpolating ADC. *Circuits and Systems, 2008. APCCAS 2008. IEEE Asia Pacific Conference on*. 272–275.

ROBERT, D., LOWRY, R. O. P. et MANUEL, M. (1998). Monitoring Brain Chemistry In Vivo : Voltammetric Techniques, Sensors, and Behavioral Applications. *Critical Reviewstrade ; in Neurobiology*, 12, 69–127.

ROBERTSON, D. (2010). The Physical Chemistry of Brain and Neural Cell Membranes : An Overview. *Neurochemical Research*, 35, 681–687.

ROBINSON, D. L., HERMANS, A., SEIPEL, A. et WIGHTMAN, R. (2008). Monitoring Rapid Chemical Communication in the Brain. *Chemical Reviews*, 108, 2554–2584.

RONKAINEN, N., HALSALL, H. et HEINEMAN, W. (2010). Electrochemical Biosensors. *Chem. Soc. Rev.*, 39, 1747–1763.

SONG, P., HERSHEY, N., MABROUK, O., SLANEY, T. et KENNEDY, R. (2012). Mass Spectrometry "Sensor" for in Vivo Acetylcholine Monitoring. *Analytical Chemistry*, 84, 4659–4664.

STAGNI, C., GUIDUCCI, C., BENINI, L., RICCO, B., CARRARA, S., SAMORI, B., PAULUS, C., SCHIENLE, M., AUGUSTYNIAK, M. et THEWES, R. (2006). CMOS DNA Sensor Array With Integrated A/D Conversion Based on Label-Free Capacitance Measurement. *SolidState Circuits, IEEE Journal of*, 41, 2956–2964.

STANACEVIC, M., MURARI, K., REGE, A., CAUWENBERGHS, G. et THAKOR, N. (2007). VLSI Potentiostat Array With Oversampling Gain Modulation for Wide-Range Neurotransmitter Sensing. *Biomedical Circuits and Systems, IEEE Transactions on*, 1, 63–72.

TEEPARUKSAPUN, K., HEDSTRÖM, M., KANATHARANA, P., THAVARUNGKUL, P. et MATTIASSON, B. (2012). Capacitive Immunosensor for the Detection of Host Cell Proteins. *Journal of Biotechnology*, 157, 207–213.

THÉVENOT, D., TOTH, K., DURST, R. et WILSON, G. (2001). Electrochemical Biosensors : Recommended Definitions and Classification . *Biosensors and Bioelectronics*, 16, 121–131.

TURNER, R., HARRISON, D. et BALTES, H. (1987). A CMOS Potentiostat for Amperometric Chemical Sensors. *SolidState Circuits, IEEE Journal of*, 22, 473–478.

WANG, H. (2011). Integrated biosensors in CMOS. *Circuits and Systems (MWSCAS), 2011 IEEE 54th International Midwest Symposium on*. 1–4.

WANG, J. (2005). Carbon Nanotube Based Electrochemical Biosensors : A Review. *Electroanalysis*, 17, 7–14.

WANG, J., MUSAMEH, M. et LIN, Y. (2003). Solubilization of Carbon Nanotubes by Nafion toward the Preparation of Amperometric Biosensors. *Journal of the American Chemical Society*, 125, 2408–2409.

WANG, M., ROMAN, G., PERRY, M. et KENNEDY, R. (2009). Microfluidic Chip for High Efficiency Electrophoretic Analysis of Segmented Flow from a Microdialysis Probe and in Vivo Chemical Monitoring. *Analytical Chemistry*, 81, 9072–9078.

WANG, P. et LIU, Q. (2011). *Biomedical Sensors and Measurement*. Advanced topics in science and technology in China. Springer.

WANG, S.-W. et LU, M.-C. (2010). CMOS Capacitive Sensors With Sub-µm Microelectrodes for Biosensing Applications. *Sensors Journal, IEEE*, 10, 991–996.

XING, P., MILED, M. et SAWAN, M. (2013). Glutamate, GABA and Dopamine Hydrochloride Concentration Effects on the Conductivity and Impedance of Cerebrospinal Fluid. *6th International IEEE EMBS Conference on Neural Engineering*, –.

YI, S.-C. (2012). A 6-bit Digital to Analogue Converter Based on Current Mirrors. *International Journal of Electronics*, 99, 1291–1298.

ANNEXE A

COURBES CARACTÉRISTIQUES DES TRANSISTORS DE LA TECHNOLOGIE IBM 0,13 µm

Les Fig. A.1 et Fig. A.2 illustrent respectivement la courbe caractéristique I_D-V_{DS} simulée d'un transistor NMOS et PMOS de procédé à oxyde épais (alimentation de 2,5 V) de la technologie 0,13 µm d'IBM, employé pour l'implémentation du potentiostat proposé. Les deux types de transistors simulés ont une taille minimale, soit d'une largeur de 0,36 µm et d'une longueur de 0,24 µm.

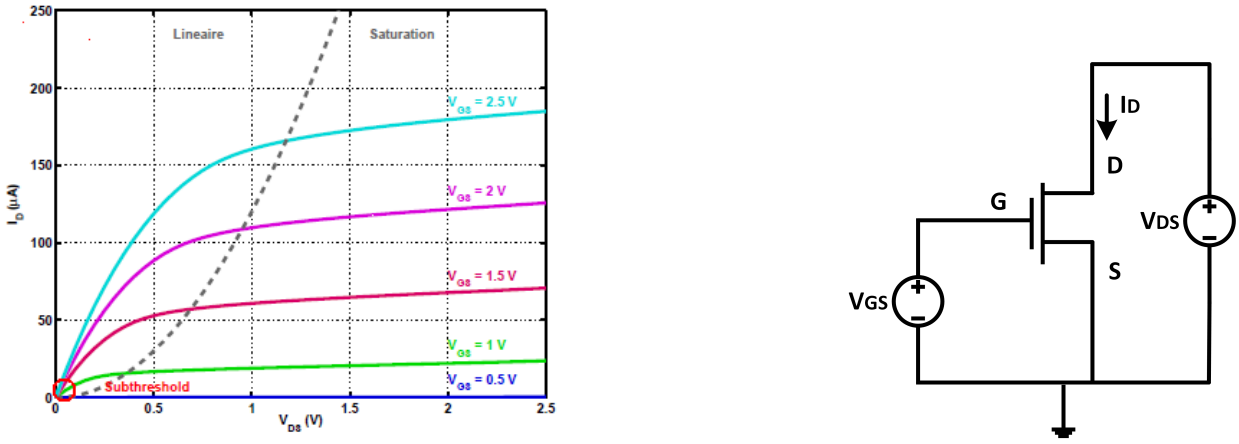


Figure A.1 Courbe caractéristique d'un transistor NMOS à taille minimale.

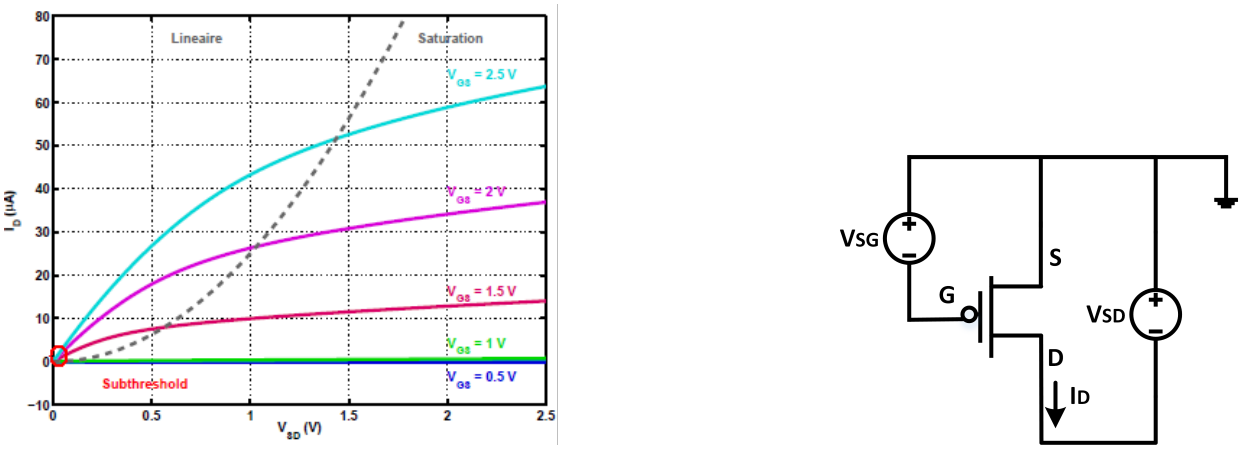


Figure A.2 Courbe caractéristique d'un transistor PMOS à taille minimale.

ANNEXE B

DÉFINITIONS RELIÉES À LA CARACTÉRISATION DE LA RÉPONSE AMPÉROMÉTRIQUE

Courbe de calibration : Étalonnage de la réponse ampérométrique du capteur en fonction de plusieurs valeurs de concentrations de l'analyte. La Fig. B.1 illustre une courbe de calibration typique et les paramètres relatifs aux définitions suivantes .

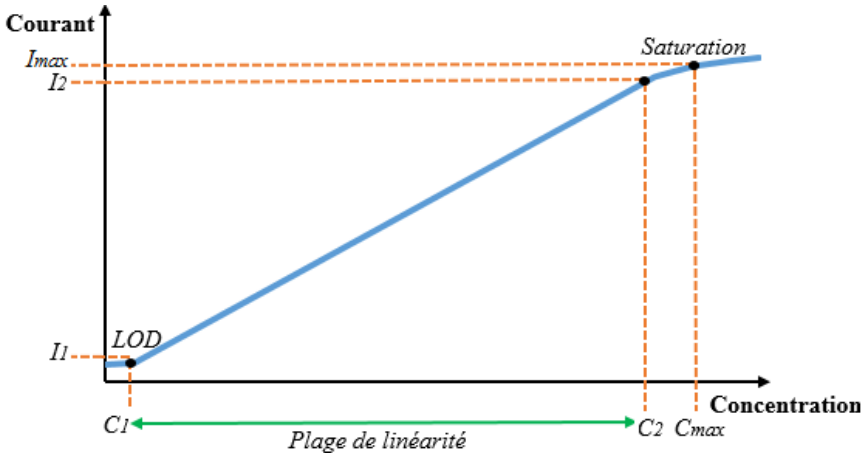


Figure B.1 Courbe de calibration typique.

Sensibilité : Paramètre qui exprime le ratio entre la variation du signal de sortie courant (I) et la variation de concentration (C) de l'analyte, exprimé par l'équation suivante (Thévenot *et al.* (2001)) :

$$S_{moy} = \frac{\Delta I}{\Delta C} = \frac{I_2 - I_1}{C_2 - C_1} \tag{B.1}$$

Ce paramètre représente la pente de la portion linéaire de la courbe de calibration.

Sélectivité : Paramètre qui exprime l'habilité de discriminer différentes substances, c'est-à-dire que la mesure est associée à une seule substance. Cette caractéristique est associée principalement à l'élément de reconnaissance présent à la surface de l'électrode de me1sure.

Limite de détection (LOD) : Paramètre qui indique la plus faible quantité de substance pouvant être distingué d'une absence de substance (b), selon une plage de confiance définie.

Le comité sur l'environnement ACS suggère la définition suivante, qui dépend de la valeur moyenne de $_{\text{b}}$ et de la déviation standard de b (MacDougall et Crummett (1980)) :

$$LOD = I_b + 3\sigma_b \tag{B.2}$$

Plage de concentration linéaire : La plage linéaire représente la plage de mesure de concentration valide du capteur, c'est-à-dire où la concentration de l'analyte est directement proportionnel au courant mesuré. Ce paramètre dépends des propriétés du récepteur biologique (Thévenot *et al.* (2001)).

ANNEXE C

EMPREINTES DU PCB DE TEST

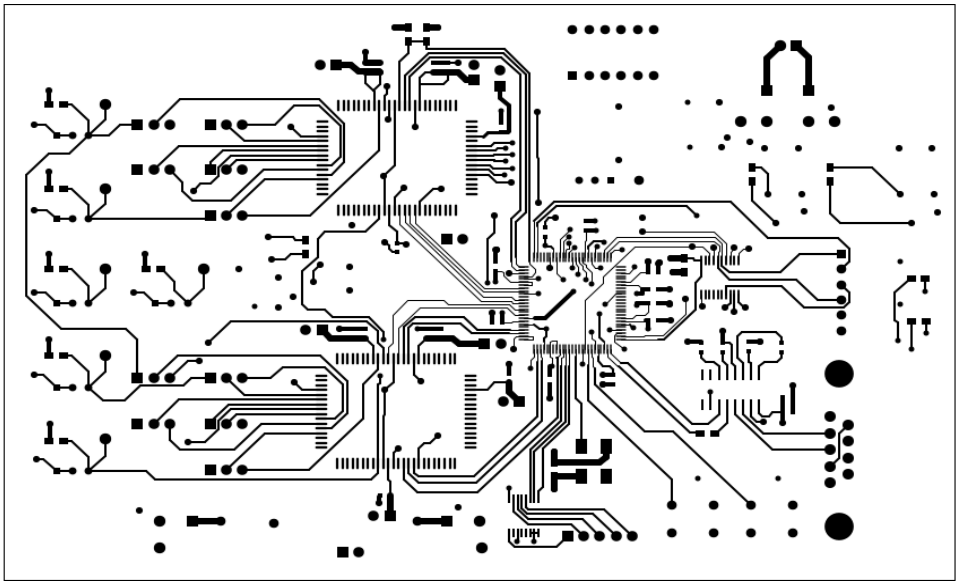


Figure C.1 Empreinte de la couche supérieure.

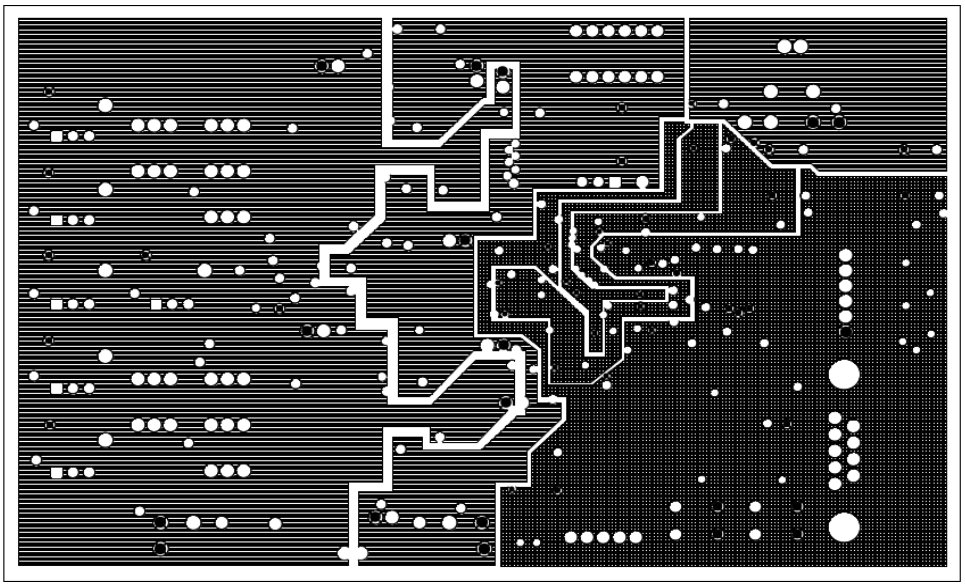


Figure C.2 Empreinte de la couche d'alimentation.

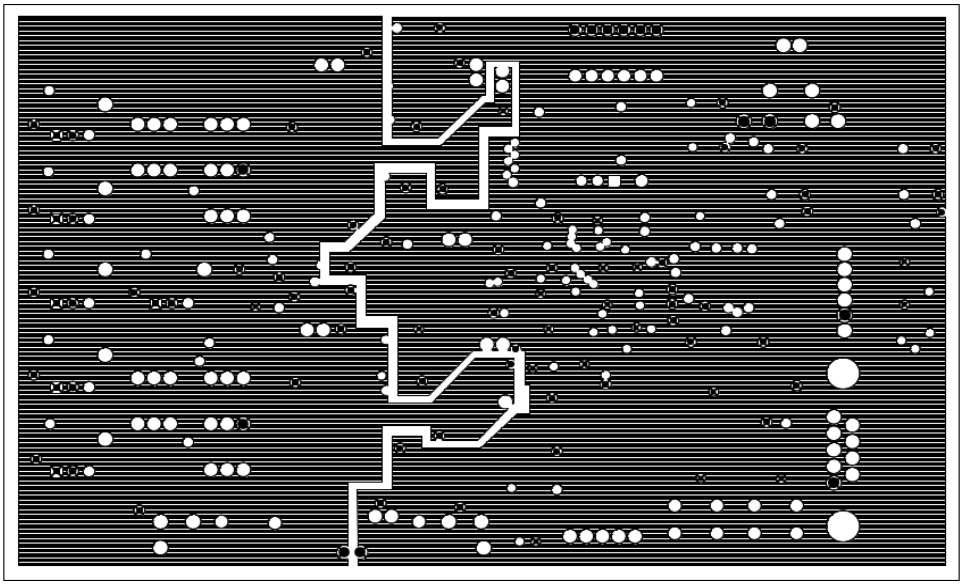


Figure C.3 Empreinte de la couche de masse.

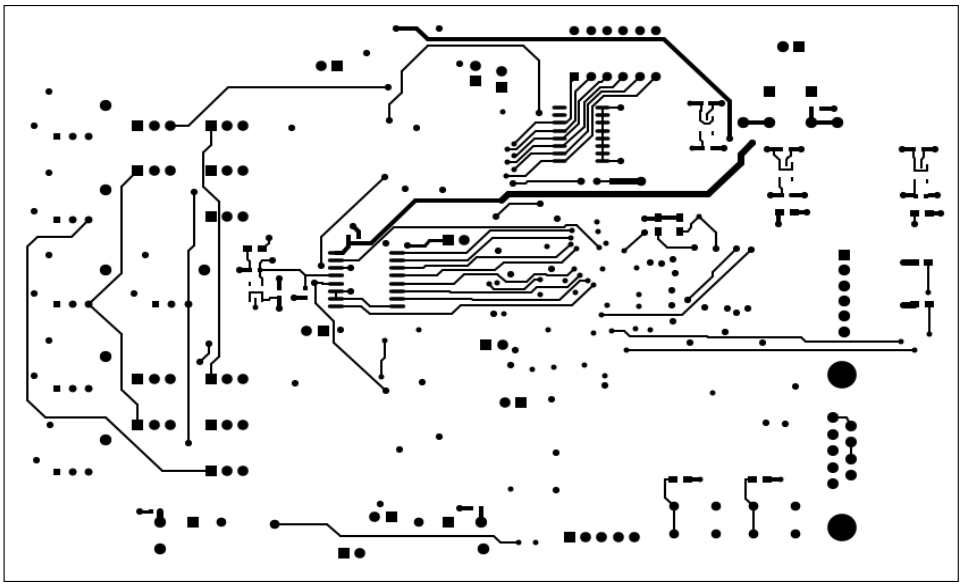


Figure C.4 Empreinte de la couche inférieure.

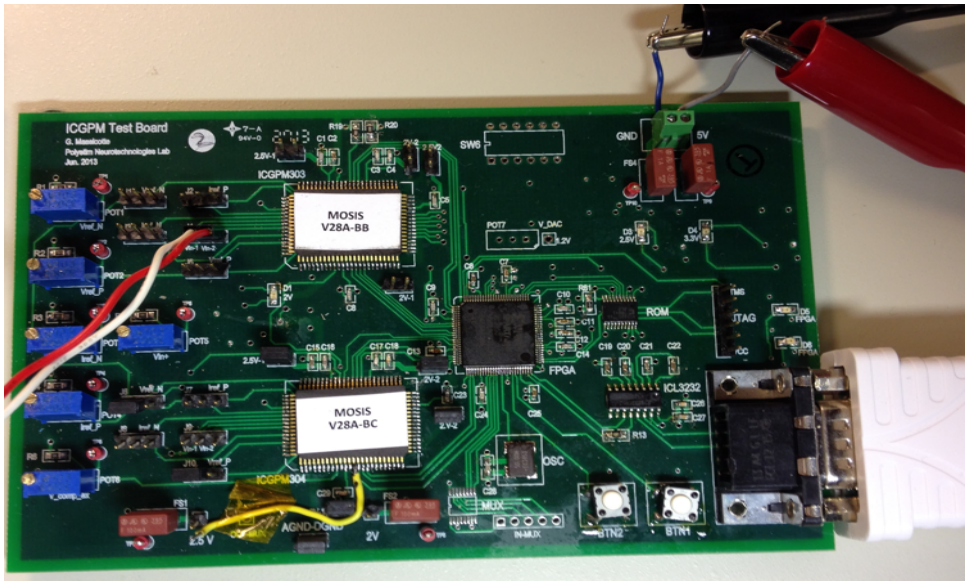


Figure C.5 PCB fabriqué et assemblé pour les tests.