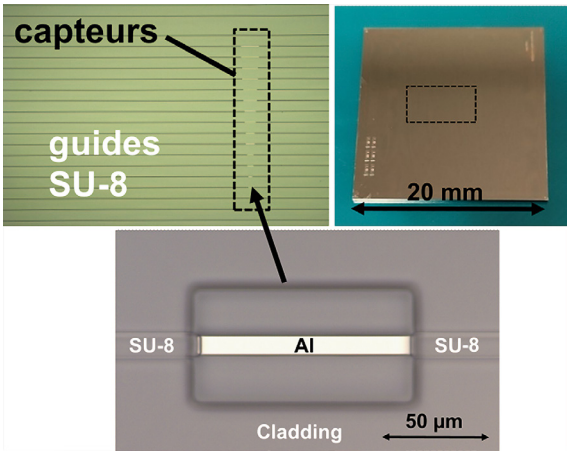
DES CAPTEURS PLASMO-PHOTONIQUES POUR LA SÉCURITÉ SANITAIRE DES PRODUITS AGRICOLES

Laurent MARKEY[1,*], Omkar BHALERAO[2], Stephan SUCKOW[2], Damien BERNIER[3], Fabian DORTU[3], Evangelia CHATZIANAGNOSTOU[4], Dimosthenis SPASOPOULOS[4], Christia ELEFTHERIOU[5], Athanasios MANOLIS[5], Dimitris TSIOKOS[5], Marios SERGIDES[6], Panayiota DEMOSTHENOUS[6], Jean-Claude WEEBER[1], Aymeric LERAY[1], Alessandro GIUSTI[6]

[1] Université Bourgogne Europe, CNRS, Laboratoire Interdisciplinaire Carnot de Bourgogne ICB UMR 6303, 21000 Dijon, France
[2] AMO GmbH, Aachen, Allemagne
[3] MULTITEL asbl, Mons, Belgique
[4] CIRI-AUTH, Thessaloniki, Grèce
[5] Bialoom Ltd., Nicosia, Chypre
[6] CyRIC | Cyprus Research & Innovation Center Ltd, Nicosia, Chypre
*Laurent.Markey@ube.fr



La co-intégration de guides d'onde plasmonique et photonique sur une puce silicium suivant une configuration interférométrique à branche unique, dite bimodale permet d'atteindre une sensibilité inégalée lors de la détection de traces de molécules. Des puces fabriquées à bas coût et un prototype d'instrument complet démontrent leur capacité à détecter des contaminants d'intérêt pour le secteur agricole.

https://doi.org/10.1051/photon/202513537

Article publié en accès libre sous les conditions définies par la licence Creative Commons Attribution License CC-BY (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0), qui autorise sans restrictions l'utilisation, la diffusion, et la reproduction sur quelque support que ce soit, sous réserve de citation correcte de la publication originale.

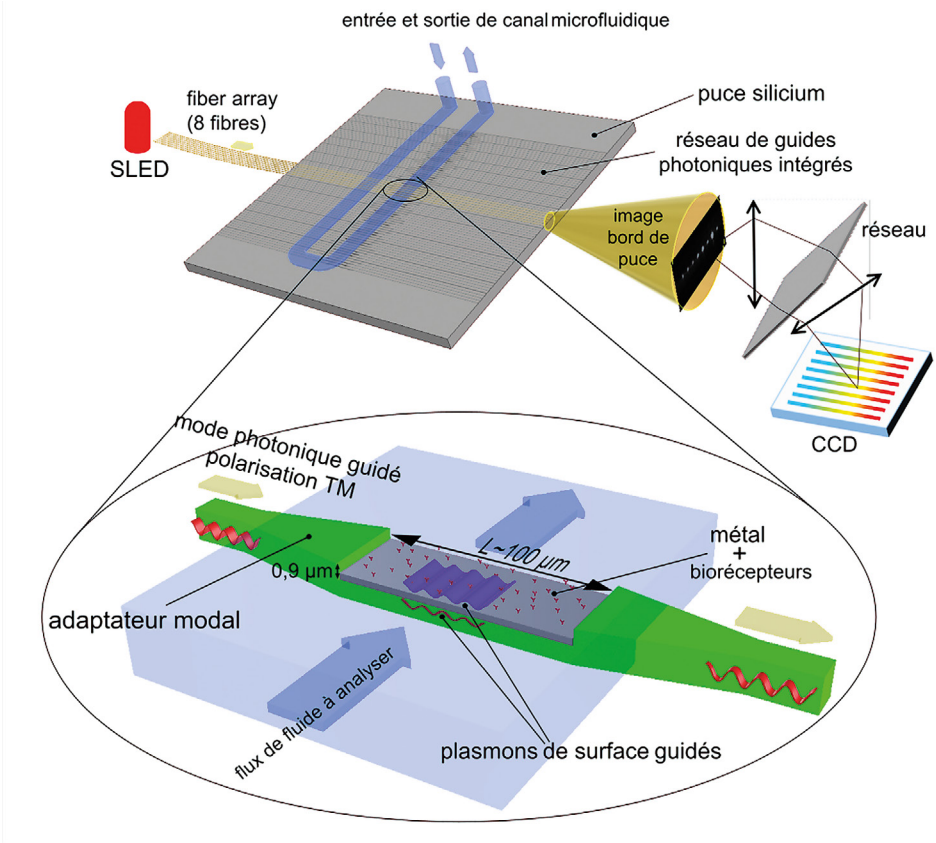
Diverses innovations technologiques se proposent d'assister directement les agriculteurs dans les décisions qu'ils doivent prendre au jour le jour en fonction de nombreux paramètres environnementaux (météo, état des sols, qualité de l'eau) ou biologiques (santé des cultures). La photonique intégrée est en mesure de proposer des capteurs compacts ultra-sensibles particulièrement pertinents pour la détection de très faibles concentrations de molécules. Ils peuvent notamment permettre aux agriculteurs d'obtenir directement des réponses relatives à la sécurité alimentaire de leurs produits sur le lieu même de leur production, rapidement et pour un coût relativement modeste. Le long parcours du transfert technologique depuis la preuve de principe en laboratoire jusqu'à un instrument autonome, fiable et utilisable sur le lieu de production en toute ●●●

autonomie représente cependant un des freins à leur adoption à plus grande échelle.

Les biocapteurs photoniques sont utilisés pour l'analyse chimique ou biologique dans de nombreux domaines tels que la santé comme aide au diagnostic médical ou dans la surveillance des milieux environnementaux. Nous nous intéressons ici à des capteurs sensibles à la variation de l'indice de réfraction du milieu considéré. La performance de ces capteurs est caractérisée par la sensibilité optique brute qui correspond au décalage en longueur d'onde de la réponse spectrale rapporté à une variation unitaire de l'indice du milieu, en nm/RIU [Refractive Index Unit]. Un autre critère de performance est la limite de détection qui, pour un système complet donné, représente la plus petite variation d'indice détectable (en RIU). Du point de vue de l'utilisateur, cela peut se traduire par une valeur de concentration seuil, dont l'estimation n'est toutefois valable que pour un système biologique donné (elle dépend du choix du bio-récepteur et de son taux de couverture) et pour des conditions de flux donnée (géométrie de canal fluidique, débit).

Les capteurs optiques à base de fibres optiques exploitent l'interaction d'une onde incidente avec le milieu à analyser. Ils sont fiables mais généralement peu sensibles, ils nécessitent ainsi une distance d'interaction relativement élevée, ce qui limite leur compacité. A contrario, les guides plasmo-photoniques intégrés sur puces sont très miniaturisables et permettent d'atteindre des sensibilités records. Le terme « plasmo- » fait référence aux plasmons de surface, une onde optique de surface capable de se propager à l'interface entre certains métaux (or, aluminium…) et le milieu (diélectrique) à analyser. Nous présentons ici un prototype d'instrument de mesure exploitant ces guides intégrés plasmo-photoniques aux performances uniques.

Figure 1. Principe de la puce biocapteur plasmo-photonique interférométrique bimodal et de la mesure. La puce peut contenir plusieurs centaines de capteurs individuels, chacun étant constitué d'une zone plasmonique sur laquelle les bio-récepteurs ont été déposés. Plusieurs capteurs sont excités, donnant une image qui encode les spectres d'interférence de ces différents canaux.



LE CAPTEUR PLASMONIQUE BIMODAL

L'architecture des capteurs que nous développons est présentée sur la Figure 1. Nos travaux antérieurs avaient démontré ce concept avec des guides photoniques en TiO_2 ou SiN [1,2,3]. Ici, des guides photoniques en polymère (résine SU-8) sont couplés à des rubans en aluminium, un choix de matériaux nous permettant de proposer une puce à bas coût et compatible CMOS [4,5]. La résine SU-8 est une résine de lithographie éprouvée qui a démontré sa capacité à faire des guides photoniques à faibles pertes (quelques dB/cm). La zone active du capteur est intégrée dans une configuration d'interféromètre de type Mach-Zehnder (MZI) qui peut être à double chemin ou à chemin unique [6] comme c'est le cas ici. Les deux branches du MZI sont ainsi superposées verticalement, ce qui simplifie la fabrication et permet d'améliorer encore la compacité.

Le guide photonique monomode est excité par une source extérieure de polarisation transverse (TM) permettant l'excitation des plasmons de surface. Deux modes plasmon d'interface se propagent, un sur chaque face du métal. Dans la configuration dite « bimodale », le plasmon de référence se propageant sur la face inférieure est insensible au milieu d'analyse tandis que le mode supérieur est en contact avec lui. Une épaisseur de 80 nm d'aluminium suffit à éviter que les deux modes plasmon n'interagissent, préservant ainsi l'intégrité du signal de référence. Les biomolécules captées induisent une variation d'indice et donc un déphasage du plasmon de la branche de détection. Les deux plasmons guidés se recombinant en sortie de structure métallique, ils produisent un spectre interférentiel

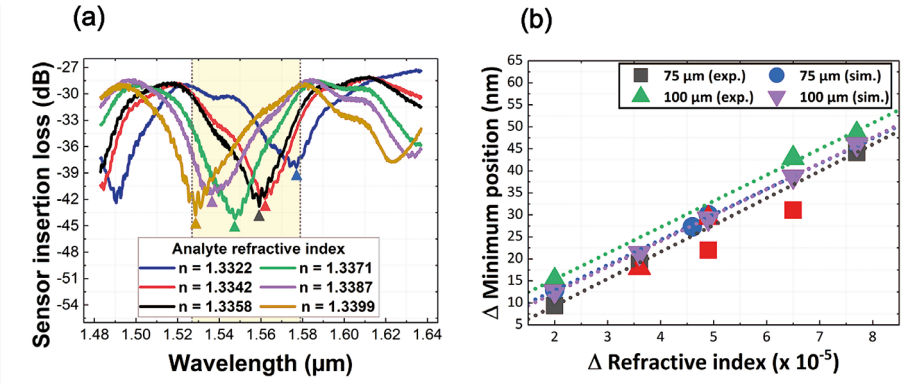


Figure 2. (a) Exemples de spectres d'interférence obtenus avec une puce plasmo-photonique bimodale. (b) Tracés de la courbe de corrélation entre le décalage spectral et l'indice de réfraction du milieu. La pente de la droite représente la sensibilité brute. Extrait de [5].

comportant des franges de période FSR [Free Spectral Range]. Plusieurs guides sont excités simultanément et donnent une image de la face perpendiculaire aux guides qui encode leurs spectres respectifs. Cette image est transformée en image spectrale multi-canaux grâce à un réseau de diffraction. Un système de détection optique permet de capturer en temps réel les spectres issus de plusieurs guides.

Les adaptateurs modaux (zones de transition trapézoïdales) assurent un couplage optimal entre le mode photonique incident et les deux modes plasmoniques précités. Afin de maximiser le recouvrement spatial de ces modes, il faut un décalage vertical entre la surface supérieure du guide photonique et la surface du métal dont la valeur doit être optimisée. Cela nécessite de creuser une cavité rectangulaire dans la partie de guide SU8 servant de support au métal. Lors de la fabrication, il est pratique de superposer simplement deux couches SU-8 de même épaisseur, chacune recevant une lithographie complémentaire. Il s'avère également important de couvrir la puce (sauf au-dessus de la zone active) d'une couche supplémentaire ou « cladding » d'indice nettement plus faible que le guide SU-8 (n=1,57) afin d'éviter que la présence du module microfluidique ne diffuse la lumière et perturbe la détection (cladding non-représenté sur la figure 1). Une couche de polymère d'indice de 1,43 a été trouvée pour remplir ce rôle [5]. Les dimensions optimales de ces guides SU-8/Al ont été déterminées après simulations et essais expérimentaux : ~125 × 7 µm² pour l'aluminium et z = 0.9 µm d'épaisseur pour chacune des couches SU-8. Les critères de cette optimisation incluent non seulement le niveau de sensibilité brute mais aussi l'amplitude des franges spectrales (ou ratio d'extinction) afin d'obtenir un spectre exploitable, tel que ceux présentés dans la figure 2-(a). Le niveau de transmission doit aussi être suffisant pour la caméra située en bout de chaine de détection.

L'association des différentes briques technologiques décrites ci-dessus permet de viser des sensibilités records pour le domaine des capteurs d'indice de réfraction, de plus de 6000 nm/RIU [5], voire beaucoup plus suivant les configurations.

FABRICATION

Pour fabriquer les puces plasmo-photoniques SU-8/Al le substrat utilisé est une plaque de silicium oxydé couvert de 3 µm de SiO_2. Le remplacement du matériau inorganique ●●●

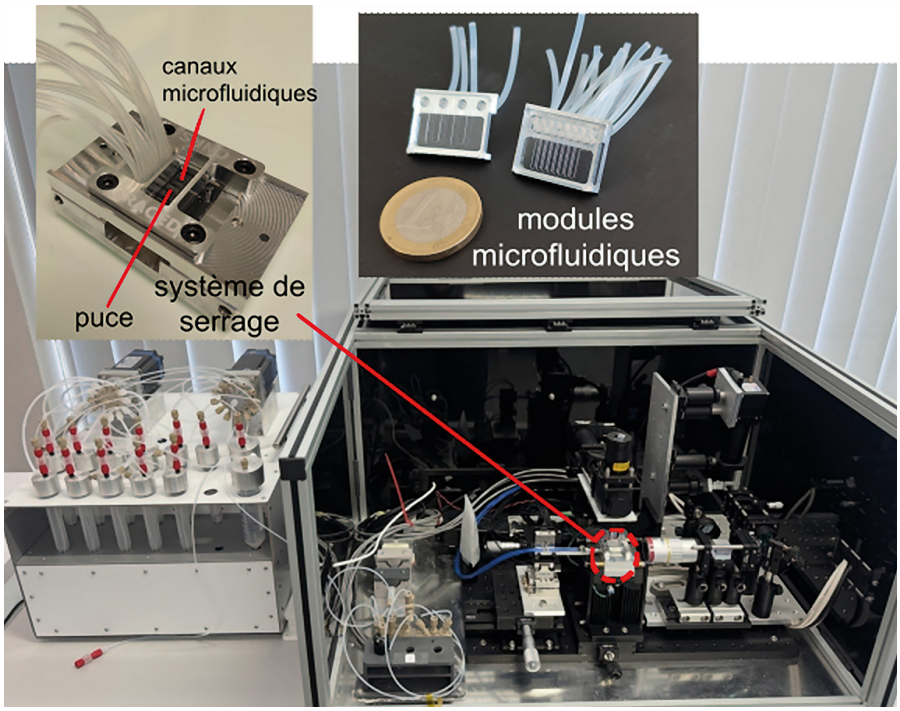


Figure 3. Prototype d'instrument de mesure exploitant les puces plasmo-photoniques, réalisé dans le cadre du projet GRACED [7]. Le système de serrage puce/microfluidique se trouve au centre (cercle pointillé rouge), les fibres d'entrée et leurs positionneurs à sa gauche, le système de détection optique équipé de sa caméra infrarouge à sa droite. Le système est complété par une caméra de contrôle dans le visible situé au-dessus et un module de contrôle de température au-dessous.

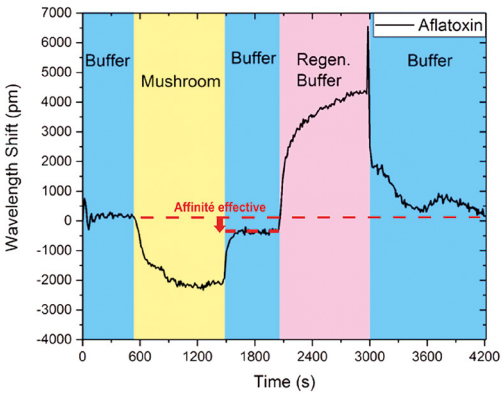
habituellement utilisé pour les guides photoniques tel que Si_3N_4 par la SU-8 supprime le coût associé au dépôt inorganique sous vide. Il permet également d'éviter une étape de gravure plasma (RIE) qui est basée sur l'utilisation de gaz fluorés. Les guides sont réalisés par lithographie UV à partir de deux couches SU-8 déposées successivement. Les rubans minces d'aluminium (80 nm d'épaisseur) sont ensuite réalisés par lithographie, évaporation sous vide et lift-off. La couche de cladding en polymère est ajoutée et une ouverture au niveau des capteurs plasmoniques y est réalisée par lithographie. Finalement, le substrat est découpé laissant les guides polymères affleurer en bords de puce.

Les capteurs doivent recevoir une fonctionnalisation chimique de surface qui permet de maitriser la réaction de reconnaissance biologique entre molécules bioréceptrices (par ex. des anticorps) et molécules cibles, assurant ainsi la sélectivité requise. Cette affinité se produit sans les perturbations dues aux marqueurs fluorescents utilisés dans d'autres technologies. Afin d'obtenir un ancrage solide, le protocole exploite la présence d'une fine couche d'oxyde d'aluminium native à la surface du métal sur laquelle une couche moléculaire de silane bi-fonctionnelle peut être accrochée. Cette couche permet ensuite d'ancrer la molécule réceptrice de façon covalente. La technique de microspotting (dépôt robotisé de microgouttes) est utilisée, ce qui permet de localiser plusieurs types de biorécepteurs sur une même puce. Un autre protocole chimique permet la régénération de la surface du capteur par le canal microfluidique après une expérience de détection, ce qui permet d'enchainer plusieurs analyses. La fonctionnalisation permet de cibler tous types de contaminants : des pathogènes tels que E. Coli ou salmonelle, des pesticides (ex. l'Imidacloprid) ou des toxines comme l'Aflatoxine.

PROTOTYPE D'INSTRUMENT

Un prototype d'instrument de mesure complet, autonome et transportable a été assemblé et testé, et ce jusqu'en conditions réelles chez des producteurs de fruits et légumes partenaires de notre projet [7]. Ce prototype associe la puce, le module microfluidique (MFM), la partie excitation avec le contrôle de positionnement du réseau de fibres d'entrée, la partie détection, le contrôle de température, la partie informatique, ainsi que l'actuation hydraulique semi-automatisée des fluides. La puce est couplée au MFM par l'intermédiaire d'un système de positionnement et de serrage avec une précision d'alignement inférieure à 50 µm (canal vs capteur). Ce système permet le remplacement rapide de la puce ou du MFM. Le MFM, constitué d'un support métallique, d'une fenêtre en verre et des canaux moulés en élastomère silicone (PDMS) permet la visualisation de l'écoulement et de la qualité du contact (photo fig. 3). Pour analyser le signal en sortie de guide d'onde, un système de détection optique en champ lointain transforme le signal optique en une image spectrale

Figure 4. Sensorgramme obtenu avec le prototype réalisé dans le cadre du projet GRACED [7] et une puce biocapteur plasmo-photonique bimodale détectant ici la cible Aflatoxine dans un extrait de production de champignons de consommation.



multicanaux dans la gamme spectrale correspondant à la source choisie : une LED super-luminescente de spectre d'émission centré autour de λ=1550 nm et de largeur 90 nm. Le système est constitué d'un objectif, de lentilles, d'un réseau de diffraction et d'une caméra CCD infrarouge. Un logiciel de traitement du signal a été développé pour récupérer l'information désirée in fine, c'est à dire le « sensorgramme » qui représente la cinétique d'affinité de la molécule cible avec le biocapteur. Le sensorgramme est généré en temps réel à partir des images spectrales se succédant au fur et à mesure de l'accumulation des molécules sur la puce.

Le prototype réalisé est transportable, même s'il demeure une marge importante pour la miniaturisation de l'instrument. Nous avons ainsi pu montrer sa capacité à détecter des traces de contaminants dans des produits récoltés.

EXPÉRIENCE

Un exemple de sensorgramme est présenté sur la figure 4. L'expérience débute toujours avec la circulation du milieu pur (le tampon). Ensuite, lors du passage de l'analyte, le signal varie jusqu'à saturation. Le tampon est de nouveau injecté pour décrocher les molécules qui n'ont pas d'affinité suffisante avec les récepteurs. La différence de niveau correspond à l'affinité effective entre la cible et le récepteur, indiquant que le test est positif. Ensuite, un tampon de régénération circule afin de décrocher les molécules cibles ancrées à la surface et ainsi retrouver la fonctionnalisation de surface initiale. Finalement, le tampon de base est réinjecté, permettant de revenir au niveau initial avant de relancer un nouveau test. La différence de niveau de décalage spectral entre l'échantillon et le tampon est proportionnelle à la quantité de molécules d'aflatoxine correctement immobilisées. En calibrant la réponse avec des solutions de la molécule cible de concentrations prédéfinies, il est possible de déterminer la concentration dans l'échantillon.

CONCLUSION

Les biocapteurs sur puce hybride plasmo-photonique sont très compacts et montrent des performances exceptionnelles en termes de sensibilité brute de plus de 6000 nm/RIU. De nouvelles configurations récemment étudiées permettent même d'atteindre près de 13000 nm/RIU et un rapport d'extinction jusqu'à 35 dB dans l'eau (publication à venir). Le prototype développé atteint une limite de détection estimée à 1,6 × 10^{-7} RIU, ce qui permet d'envisager la détection de traces de contaminants à des concentrations extrêmement faibles. Le coût de fabrication d'une puce est estimé à quelques euros ce qui la rend économiquement attractive. Le concept démontré ici pour une utilisation en agriculture peut être transposé à d'autres domaines, dès lors qu'il est possible de fonctionnaliser biologiquement le capteur plasmonique.

REMERCIEMENTS

L. Markey remercie les membres du centre de ressources mécaniques du laboratoire ICB, pour leur contribution à la fabrication des prototypes.

RÉFÉRENCES

[1] G. Dabos *et al.*, Sci. Rep. **8**, 13380 (2018)
[2] A. Manolis *et al.*, Opt. Express **28**, 20992 (2020)
[3] M. A. Elrabiaay *et al.*, Opt. Express **33**, 23110 (2025)
[4] K. Fotiadis *et al.*, ACS Photonics **10**, 2580 (2023)
[5] O. Bhalerao *et al.*, Opt. Express **33**, 9813 (2025)
[6] S. Dante *et al.*, Laser Photonics Rev. **9**, 248 (2015)
[7] European Horizon 2020 Project GRACED, available at https://graced.tech/wp-graced/