Écoulements élongationnels de solutions diluées de polymères

Christophe Chevallier

▶ **To cite this version:**

Christophe Chevallier. Écoulements élongationnels de solutions diluées de polymères. Dynamique des Fluides [physics.flu-dyn]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2009. Français. NNT : . tel-00529305

HAL Id: tel-00529305
https://theses.hal.science/tel-00529305

Submitted on 25 Oct 2010

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

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

Département de Physique
de l'École Normale Supérieure
Laboratoire de Physique Statistique

Thèse de doctorat
de l'Université Paris 6 - Pierre et Marie Curie
UFR de Physique

Spécialité
Physique des liquides

Écoulements élongationnels de solutions diluées de polymères

par **Christophe CHEVALLIER**

Soutenue le 25 septembre 2009 devant le jury composé de :

C. MISBAH,	rapporteur
H. KELLAY,	rapporteur
J. BICO,	examinateur
A-M. CAZABAT,	examinatrice
D. BONN,	directeur de thèse

Résumé

La présence de polymères flexibles de grande masse molaire modifie de manière spectaculaire les écoulements de solution même en régime dilué. Il y a un couplage fortement non linéaire entre le champ de vitesse de la solution et la conformation microscopique des chaînes de polymères. Ce couplage est le plus efficace en écoulement élongationnel. Cette thèse porte sur l'étude de ce couplage, et sur les moyens de corréler les contraintes élongationnelles macroscopiques avec l'observation de la microstructure.

Le détachement d'une goutte de solutions d'ADN (un biopolymère pouvant être visualisé) en solvant visqueux est ralenti par la formation d'un filament. La dynamique d'amincissement du filament, observée avec une caméra rapide, se déroule à taux d'élongation constant. Cela permet la mesure de la viscosité élongationnelle très élevée de ces solutions. Cette mesure a lieu dans l'air et dans un fluide d'immersion suffisamment peu visqueux.

Il est possible de visualiser l'ADN par microscopie de fluorescence, mais pas au sein d'un filament cylindrique entouré d'air. On immerge l'échantillon pour adapter l'indice et faire disparaitre l'interface courbe. Plusieurs méthodes de correction (notamment la réalisation d'un objectif de microscope spécifique) sont étudiées pour pallier aux très fortes aberrations optiques qui empêchent l'observation de l'ADN.

De plus, les effets de la transition de déroulement et de la viscosité élongationnelle sont aussi étudiés au sein d'écoulements microfluidiques à dominante élongationnelle.

Mots-clefs : rhéologie des polymères, viscosité élongationnelle, ADN lambda, instabilité interfaciale, microfluidique, aberrations en microscopie optique.

Abstract

The presence of large molecular weight polymers can profoundly modify hydrodynamics flows, even for very dilute polymer solutions. There is a strong non-linear coupling between the velocity field and the microscopic conformation of the polymer chains. This coupling is most efficient in elongational flows. This thesis investigates the coupling, and the possible methods to correlate macroscopic elongational stresses with the observation of the polymer microstructure.

Drop formation in solutions of DNA (a biopolymer that can be visualized) is slowed down by the formation of a filament. The dynamics of thinning of the filament, followed with a rapid camera, happens at a constant rate. This allows to measure the very high elongational viscosity of these solutions. This measurement is made in air, but also in a low-viscosity immersion fluid.

The latter is done since it is possible to visualize DNA by fluorescence microscopy, but not in the filament in air. One has to immerse the filament in an index-matching liquid to get rid of the curved interface. Several methods of optical correction (notably the design of a dedicated microscope objective) have been studied in order to solve the problem of the very large optical abberations that make a direct visualization difficult.

In addition, the coil-stretch transition of the polymers and the elongational viscosity are studied in microfluidic flows with a dominantly elongational velocity field.

Keywords : polymer rheology, extensionnal viscosity, lambda DNA, interfacial instability, microfluidics, optical aberrations, microscopy, refractive index.

Table des matières

I Introduction aux polymères dilués en écoulement 9

1 Polymères dilués en solution : statique et écoulement 11
1.1 Chaîne isolée au repos 12
1.1.1 Pelote à l'équilibre 12
1.1.2 Dynamique 16
1.2 Propriétés en écoulement 21
1.2.1 Description, Équations générales 21
1.2.2 Exemples d'écoulements 25
1.2.3 Mesures rhéologiques et modèles 32
1.2.4 Limitations des modèles 38

2 Un polymère doublement intéressant : l'ADN de bactériophage Lambda 41
2.1 Propriétés physico-chimiques à l'équilibre 41
2.1.1 Carte d'identité et mise en solution tampon 41
2.1.2 Comportement de la pelote 42
2.2 Aspects dynamiques de la pelote en écoulement 45
2.2.1 Conformations en écoulements simples 45
2.2.2 Rhéologie de cisaillement 47
2.3 Rhéologie élongationelle et turbulence ? 48
2.3.1 La couche limite en RTT 48
2.3.2 Lien avec la viscosité élongationnelle uniaxe 48

II Mesures macroscopiques : viscosité élongationnelle 49

3 Comment mesurer la viscosité élongationnelle ? 51
3.1 Enjeux 51
3.1.1 Notion de viscosité élongationelle 51
3.1.2 Définition formelle 52
3.2 La rhéologie élongationnelle 53
3.2.1 Principe 53
3.2.2 Éléments de rhéologie de cisaillement 53

3.2.3 Panorama des techniques de rhéologie élongationnelle 54
3.2.4 Résultats contradictoires 59
3.2.5 Lever l'ambiguité : que mesure-t'on ? Quelle(s) technique(s) choisir ? 59
3.3 L'instabilité capillaire : un écoulement élongationnel et une sonde rhéologique 62
3.3.1 L'instabilité capillaire et la rupture d'une surface libre . . . 62
3.3.2 Intérêt en rhéologie élongationnelle 68
3.3.3 Application au cas des polymères dilués : régime viscoélastique-capillaire (VEC) 70

4 Détachement de gouttes d'ADN et mesure de la viscosité en immersion 75
4.1 Méthodes 76
4.1.1 Choix, préparation et caractérisation des liquides utilisés . . 76
4.1.2 Description du montage 84
4.1.3 Traitement et analyse des images 85
4.1.4 Calcul de la viscosité 88
4.2 Détachement de goutte du solvant newtonien 89
4.2.1 Dans l'air 89
4.2.2 Dans l'huile 94
4.3 Détachement de goutte de solution d'ADN 95
4.3.1 Dans l'air 95
4.3.2 Dans l'huile 98
4.3.3 Viscosité élongationelle 98
4.3.4 Taux de contraction 101
4.3.5 Conclusion et note sur le pont capillaire 102

III Vers la microstructure 105

5 Écoulements élongationnels microfluidiques 107
5.1 La microfluidique en quelques points 107
5.1.1 Généralités 107
5.1.2 Aspects pertinents pour l'élongation de polymères 110
5.1.3 Fabrication 111
5.2 Géométrie « focusing » 113
5.2.1 Origine 113
5.2.2 L'effet « die-swell » inversé 115
5.2.3 Méthodes : interface et trajectoires 116
5.2.4 Mesures 118
5.2.5 Analyse 127
5.3 Contraction droite d'un canal simple 137

5.3.1 Fabrication d'un micro-viscosimètre 137
5.3.2 Écoulement d'une solution viscoélastique 139

6 Pont capillaire immergé **145**
6.1 Mise au point préliminaire 145
6.1.1 Description du montage 146
6.1.2 Ralentir la dynamique : quel solvant ? 148
6.1.3 Adaptation d'indice : immerger le pont 152
6.1.4 L'objectif de microscope 155
6.1.5 Des choix interdépendants 158
6.2 Adaptation d'indice et aberrations 158
6.2.1 Une adaptation d'indice efficace 158
6.2.2 Origine de la perte de signal 160
6.2.3 L'aberration sphérique 161
6.3 Stratégies de correction 163
6.3.1 Compenser physiquement l'aberration sphérique aux grands angles 163
6.3.2 Modification de la « longueur du tube » 164
6.3.3 Marche d'indice optique ajustable 164
6.3.4 Changement d'objectif et lentille mince 168
6.3.5 Un objectif sur mesure 172
6.4 Compromis : ADN en solution semi-diluée de polymères (PVP,POE) 181
6.4.1 Relâcher une contrainte : vers un liquide « suffisament » newtonien 181
6.4.2 Un autre liquide d'immersion 182
6.4.3 Le polyvinylpyrrolidone (PVP) : vers une viscosité effective du solvant ? 183
6.4.4 Inverser les rôles : un solvant très non-newtonien 185

Première partie

Introduction aux polymères dilués en écoulement

Chapitre 1

Polymères dilués en solution : statique et écoulement

Un polymère [1, 2] est une molécule géante formée par l'addition itérée un grand nombre de fois de monomères (voir le schéma 1.1). L'image idéale que l'on y associe est celle d'une chaîne formée de N maillons, N prenant des valeurs typiquement comprises entre le millier et la dizaine de millions. La longueur d'un polymère peut atteindre des valeurs macroscopiques, du micromètre au mètre (par ex. de l'ADN). Cette dimension linéaire n'est pourtant pas celle qui caractérise la chaîne du polymère dans l'espace. Un polymère se présente en général sous forme d'une pelote plus ou moins dense soumise à l'agitation thermique. Sa dynamique englobe une large gamme d'échelles spatiales, du monomère à la pelote.

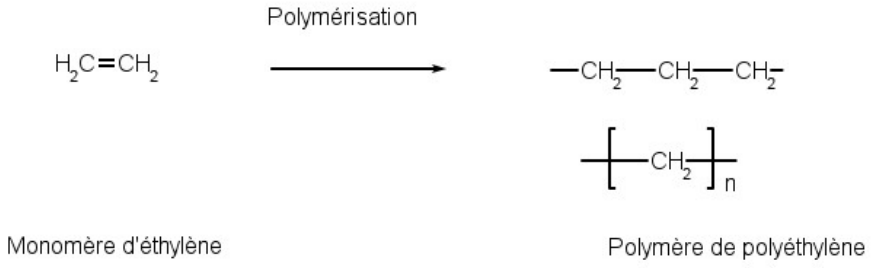


FIG. 1.1 – Un exemple de polymère simple : le polyéthylène.

Il existe un nombre immense de conformations possibles, dont la description déterministe n'est pas possible (problème à N corps). De plus même en se limitant aux cas des homopolymères linéaires (c'est-à-dire une chaîne simple sans branches ni boucles constituée à partir d'un seul type de monomère) on obtient une très grande variété de composés chimiques dont les propriétés sont différentes de celles de leurs monomères. Une description générale des propriétés des polymères pourrait paraître impossible mais c'est justement le nombre de degrés de liberté très grand devant l'unité qui leur confère des propriétés communes indépendantes de la

composition chimique et du détail microscopique. La physique statistique constitue le cadre idéal de leur étude. La coexistence des échelles spatiales variées dans leur configuration a permis l'application des concepts issus des théories de transitions de phase (ou phénomènes critiques) [3] et des objets fractals [4], tels que l'invariance d'échelle et l'autosimilarité, avec de nombreuses quantités obéissant à des lois d'échelle (rayon typique en N^{ν} par exemple).

La pelote statistique constitue un réservoir d'entropie de par son nombre élevé de configurations. Une déformation par rapport à son état d'équilibre s'accompagne d'une force de rappel élastique d'origine entropique. Une pelote de polymère plongée dans un solvant est très facilement déformée par un écoulement (de par sa grande taille), contrairement à son monomère. La dynamique d'une pelote en solution résulte de la compétition entre son élasticité et la friction exercée par le solvant. Le couplage rétroactif qui s'établit entre l'écoulement et la réponse du polymère conduit à des propriétés rhéologiques riches et très différentes de celle du solvant seul [5]. Ces effets, dits non-newtoniens, apparaissent même en régime dilué (régime dans lequel les polymères au repos se comportent comme des objets isolés sans interaction), comme par exemple la réduction de traînée turbulente qui a lieu lorsque l'on ajoute quelques parties par million seulement de polymères [6].

1.1 Chaîne isolée au repos

1.1.1 Pelote à l'équilibre

La chaîne idéale

Le modèle le plus simple pour décrire un polymère est celui de la chaîne idéale. Elle est constituée de N segments rigides de longueur b accrochés les uns à la suite des autres sans aucune contrainte sur les angles ni aucune interaction entre les segments. Cette chaîne a une flexibilité infinie. Sa longueur totale est appelée *longueur de contour* $L_c = Nb$ et est proportionnelle à la masse molaire M du polymère.

Toutes les configurations de la chaîne idéale *à l'équilibre* sont équiprobables et celle où elle est entièrement rectiligne n'est de loin pas une représentation typique du polymère en solution. Pour décrire statistiquement la conformation de la chaîne il est plus utile d'introduire le vecteur bout-à-bout $\vec{R} = \sum_i^N \vec{b}_i$ (voir la figure 1.2). La statistique de la chaîne est celle d'une marche aléatoire. La moyenne d'ensemble de $\vec{R}$ est nulle. On étudie donc la moyenne de sa norme carrée :

$$< \vec{R}^2 >_0 = \sum_i^N \vec{b}_i^2 + \sum_{i \neq j}^N < \vec{b}_i \vec{b}_j >_0 \tag{1.1}$$

où $<>_0$ désigne une moyenne d'ensemble à l'équilibre. Pour une chaîne idéale le second terme de droite est nul car il n'y a aucune corrélation entre les orientations

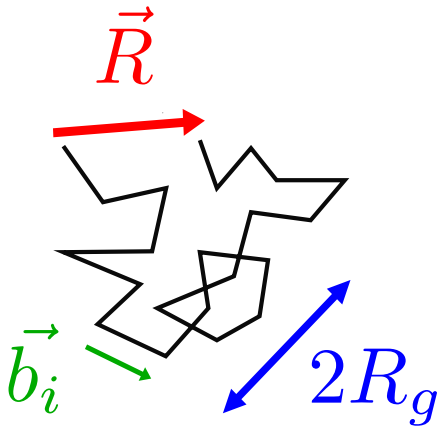


FIG. 1.2 – Une chaîne idéale de quelques maillons.

des segments. On a $< \vec{R}^2 >_0 = Nb^2$. La chaîne adopte donc une conformation moyenne[1] appelée « pelote » caractérisée par la distance :

$$R_0 \equiv \sqrt{< \vec{R}^2 >_0} = bN^{\frac{1}{2}} \tag{1.2}$$

La distribution de masse moyenne de la pelote est caractérisée par son *rayon de giration*, rayon de la sphère de même moment d'inertie que le polymère. Pour une pelote idéale il s'écrit :

$$R_g = \frac{R_0}{\sqrt{6}} = \frac{b}{\sqrt{6}} N^{\frac{1}{2}} \tag{1.3}$$

Taille du maillon et effet de raideur locale Un polymère réel n'est pas une chaîne idéale constituée de maillons correspondant au monomères. L'énergie de liaison entre les monomères n'est pas isotrope. Il existe des angles préférés dans l'orientation des bâtonnets successifs les uns par rapport aux autres[2]. Ces corrélations sont caractérisées par la *longueur de persistance* L_p, qui représente la longueur moyenne sur laquelle les corrélations entre les sous-unités successives d'un polymère sont perceptibles. Elle est de quelques angströms pour une chaîne réelle standard (ex. le polystyrène [7]) et peut atteindre quelques micromètres pour un polymère biologique (ex. l'actine [8]).

[1] La probabilité d'avoir une chaîne avec un vecteur bout-à-bout de norme $|\vec{R}|$ varie comme $P(R) \propto R^2 \exp\left(-\frac{3}{2}(\frac{R}{R_0})^2\right)$.

[2] Cela peut-être les angles successifs entre les liaisons C-C du polyéthylène, où il reste 2 angles libres, ou une rigidité de courbure causée par une structure plus complexe qui ne se déforme qu'à l'échelle de plusieurs monomères, comme pour l'ADN.

Comme $N \gg 1$ et que les propriétés du polymère sont autosimilaires, il est toujours possible de faire une moyenne sur quelques monomères consécutifs que l'on regroupe par la pensée et de renormaliser les longueurs par cette nouvelle sous-unité. On définit la *longueur de Kuhn* (ou pas de Kuhn) par $b_K = 2L_p$. Lorsque l'on connaît la longueur de contour et la longueur de persistance d'un polymère on peut appliquer le modèle de la chaîne idéale[3] avec $N = L_c/b_K$ bâtonnets et $b = b_K$. On a donc $R_g^2 = L_c L_p/3$.

La notion de flexibilité d'un polymère est en pratique liée à son *extensibilité* définie comme le rapport

$$\xi = L_c/R_0 \tag{1.4}$$

Il vaut $\xi = \sqrt{L_c/2L_p} = N^{\frac{1}{2}}$ pour la pelote idéale. On distingue les cas :

- idéal ($\xi = \infty$),
- flexible ($\xi \gg 1$),
- semi-flexible ou semi-rigide selon que l'on est plus ou moins près de l'unité ($\xi \geq 1$) et
- rigide ($\xi \approx 1$).

On voit qu'un type de polymère pourra toujours être considéré comme flexible (extensible) s'il est suffisamment long devant sa longueur de persistance.

Chaînes réelles

L'image d'une chaîne idéale est qualitativement valide pour une chaîne réelle mais les probabilités d'occurence des conformations accessibles sont modifiées par les interactions entre les éléments de la chaîne ainsi que de la présence du solvant. Cela modifie la dépendance de taille de la pelote $R_g \propto N^\nu$ avec le nombre de monomères par rapport au cas idéal où $\nu = \frac{1}{2}$.

Effet de volume exclu [3] Dans la réalité les monomères interagissent entre eux ainsi qu'avec les molécules du solvant. Les molécules du solvant interagissent aussi entre elles. Il faut rajouter un terme d'énergie potentielle d'interaction à l'énergie libre du système. Ce terme modélise les interactions monomère-monomère, monomère-solvant et solvant-solvant.

Lorsque l'interaction résultante entre les monomères et les molécules de solvant est répulsive, il y a une séparation de phase. C'est une situation de *mauvais solvant* avec une pelote effondrée sur elle-même. Le polymère occupe l'espace de manière dense : $\nu = 1/3$.

Si l'interaction résultante entre le monomère et les molécules de solvants est attractive, on a une situation dite de *bon solvant*. la dimension de la pelote résulte d'un équilibre entre le terme d'entropie de la chaîne et la répulsion entre monomères « habillés » par les molécules de solvant : c'est la *chaîne à volume exclu*. Une

[3] Inversement si l'on connaît la longueur de contour et le rayon de giration on peut inférer la longueur de persistance.

approche proposée par Flory [9] consiste à ne considérer que les interactions de paires en champ moyen. On trouve que l'énergie libre exprimée en fonction de R est minimisée pour $R = R_F$, le rayon de Flory. Le point important est la nouvelle dépendance avec N :

$$R_g \propto N^{\frac{3}{5}} \tag{1.5}$$

La différence d'exposants avec le cas idéal est faible mais le résultat significatif de par les grandes valeurs de N. En tenant compte des fluctuations avec une approche utilisant le groupe de renormalisation on trouve une valeur de $\nu = 0,58$ légèrement plus faible. Dans les deux cas la pelote subit un gonflement.

En fonction de la température et des structures chimiques, il arrive que les effets d'interaction se contrebalancent de telle manière que $\nu = 1/2$. Dans cette situation marginale entre bon et mauvais solvant et qui n'a lieu que pour une température T_θ propre à chaque couple polymère-solvant, le rayon de giration est celui d'une chaîne idéale. On parle de chaîne en *solvant theta*.

Effet des charges Un polymère chargé est appelé polyélectrolyte. L'interaction électrostatique due à de faibles quantités de charges suffit à modifier fortement la conformation d'une chaîne. L'effet le plus simple à comprendre est l'augmentation de la longueur de persistance et un gonflement de la pelote pouvant aller jusqu'à l'obtention d'un bâtonnet, mais le comportement des polyélectrolytes est encore plus riche que celui des polymères neutres [10]. Lorsque le solvant contient des charges mobiles, elles se réorganisent dans l'espace autour du polymère sur une longueur typique au-delà de laquelle les interactions électrostatiques sont écrantées. C'est la longueur de Debye. Pour une solution d'ions monovalents ($NaCl$, KCl) de concentration c_s en ions par m^3 elle s'écrit $L_D = \sqrt{\frac{\epsilon k_B T}{2e^2 c_s}}$ où ϵ est la permittivité du solvant, soit $L_D = 0,3/\sqrt{(c_s)}\ nm$ dans de l'eau avec la concentration c_s en mol/L. La flexibilité d'un polyélectrolyte dont les charges sont fortement écrantées (ce sera toujours notre cas avec l'ADN) peut donc passer de rigide à flexible en variant la force ionique d'une solution.

Effet de concentration Une solution est dite diluée quand les pelotes au repos n'ont aucune interaction les unes avec les autres [7]. Les propriétés de la solution diluée varient linéairement avec la concentration de pelote. Ainsi la viscosité à taux de cisaillement nul (voir 1.2.1) suit une relation du type $\eta(c) = \eta_s(1 + \alpha c)$ et la pression osmotique est $P = k_B T c$ où c est le nombre de chaines par unité de volume.

Lorsque l'on s'écarte de ces dépendances linéaires on entre dans le *régime semi-dilué* qui s'étend sur une large plage de concentration (avant le régime concentré). Les interactions entre chaînes ne sont alors plus négligeables. La frontière séparant le régime dilué du régime semi-dilué est appelée la *concentration de recouvrement* c^*. Elle correspond au seuil d'enchevêtrement où les chaînes peuvent être en contact

de manière significative, ainsi qu'à une augmentation marquée de la viscosité. Une définition simple[4] l'associe à une occupation uniforme du volume de la solution par le volume des pelotes (un « pavage » de l'espace par les pelotes), soit :

$$R_g^3 c^* \approx 1 \tag{1.6}$$

avec la concentration exprimée en polymère par unité de volume.

Une autre manière d'accéder à c^* consiste à mesurer la *viscosité intrinsèque* :

$$[\eta]_0 \equiv \lim_{c \to 0} \frac{\eta - \eta_s}{c\eta_s} \tag{1.7}$$

qui a la dimension d'un volume massique avec c la concentration massique de polymère. L'indice 0 indique qu'elle est mesurée avec un taux de cisaillement tendant vers 0 s^{-1} (ou extrapolée à ces conditions). Elle représente le volume hydrodynamique occupé par une unité de masse du polymère. Elle suit une loi de puissance en fonction de la masse molaire du polymère dont l'exposant dépend de la qualité du solvant et de l'importance des interactions hydrodynamiques. La dépendance linéaire de la viscosité avec la concentration en régime dilué est à rapprocher de la formule d'Einstein pour la viscosité d'une suspension de sphères dures diluées $\eta = \eta_s(1 + 2,5\phi)$ où ϕ est la fraction volumique. En considèrant que le rayon hydrodynamique d'un polymère en solution est de l'ordre de son rayon de giration et qu'il y a recouvrement pour une fraction volumique de l'ordre de 0,4, on obtient une définition de c^* (concentration massique de polymère) basée sur la viscosité intrinsèque :

$$[\eta]_0 c^* \approx 1 \tag{1.8}$$

Cette formule donne des valeurs cinq à six fois plus faibles que la précédente.

L'approche en loi d'échelle s'avère fructueuse pour décrire les propriétés du régime semi-dilué [3]. Il apparaît une nouvelle et unique échelle caractéristique : la longueur typique l_ξ entre les enchevêtrements d'un filet de polymères. Les propriétés s'expriment en fonction de c/c^*, sont indépendantes de la longueur des chaînes (qui n'intervient que pour définir c^*) et doivent permettre de retrouver celles du régime dilué pour $c = c^*$. Il découle de ces hypothèses $l_\xi = R_F(c/c^*)^{-\frac{3}{4}}$ et le temps de relaxation d'une chaîne en bon solvant varie en $(c/c^*)^{\frac{1}{4}}$ [3]. Pour les échelles $r < l_\xi$ on observe un comportement de chaînes isolées. Pour les échelles $r > l_\xi$, les interactions de volume exclu sont écrantées, on observe une solution homogène comparable à un fondu (liquide de polymères sans solvant) de chaines idéales constituées de sous-unités statistiques de taille l_ξ (les « blobs »).

1.1.2 Dynamique

La pelote est un objet statistique ayant des fluctuations incessantes de sa configuration à l'équilibre. Sa dynamique de relaxation est dominée par son élasticité

[4]D'autres définitions plus précises peuvent être avancées [11] en fonction de la rigidité du polymère et de la qualité du solvant.

et la friction exercée par le solvant environnant.

Élasticité entropique

L'élasticité d'une chaîne de polymère idéale est essentiellement d'origine entropique car une déformation imposée diminue le nombre de configurations accessibles et donc l'entropie. Si l'on perturbe la chaîne sans volume exclu par rapport à sa configuration moyenne, la force de rappel dérive du terme d'entropie de l'énergie libre et a pour norme [5] :

$$f_{el}(R) = -\frac{3k_BT}{R_0^2}R = -\kappa R \tag{1.9}$$

C'est une loi de rappel linéaire avec une constante de raideur $\kappa \propto T/N$.

Pour une chaîne réelle l'élasticité est effectivement linéaire pour des déformations de plusieurs dizaines de pour cent [12]. La longueur finie de la chaîne impose une divergence de la force lorsque l'on approche de sa pleine extension. C'est seulement pour les grandes déformations (> 30 %) que la structure particulière et finie du polymère étiré intervient et que la loi de force s'écarte de son expression linéaire idéale.

Diffusion et mobilité

Le coefficient de diffusion du centre de gravité de la pelote est reliée à sa mobilité par la relation $D = \mu k_BT$. La mobilité μ est définie comme le rapport entre la vitesse atteinte par la pelote en solution lorsque que l'on lui applique une force et cette force : $\vec{V} = \mu\vec{F}$. Cette relation relie les propriétés à l'équilibre (D) à la réponse linéaire de la pelote (μ). La mobilité nous renseigne sur l'interaction entre le polymère et le solvant.

Pour coupler hydrodynamiquement le polymère au solvant on associe à chaque sous-unité de la chaîne un centre de trainée visqueuse (par exemple une sphère dont la trainée de Stokes est équivalente à celle de la sous-unité décrite) avec une dynamique sur-amortie (l'inertie est négligeable à ces échelles). Selon que l'on tient compte ou pas des interactions hydrodynamiques entre les monomères on a deux comportements du champ de vitesse (voir figure 1.3).

Solvant immobile : approche de Rouse. On considère dans ce cas que le solvant est immobile. La force f_m que subit chaque monomère m est contrebalancée par la friction du solvant qui n'est pas perturbé. À cette échelle l'écoulement est laminaire et la trainée de chaque monomère suit la loi de Stokes, d'où $\vec{f_m} = \zeta_m\vec{V}$ avec $\zeta_m = 6\pi\eta_s a$ et a le rayon hydrodynamique du monomère. Le coefficient de friction global est donc $\zeta = N\zeta_m$, d'où la mobilité [7] :

$$\mu = \zeta^{-1} \propto N^{-1} \tag{1.10}$$

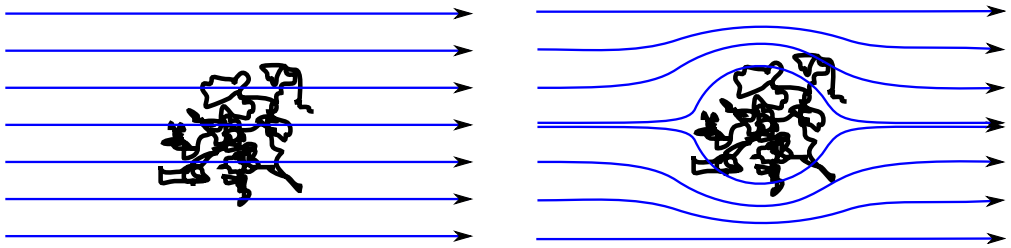


FIG. 1.3 – Lignes de courant d'un écoulement sans (à gauche) ou avec (à droite) interactions hydrodynamiques au sein de la pelote.

Solvant entraîné : approche de Zimm. En réalité le mouvement de chaque monomère modifie le champ de vitesse du solvant à longue distance : il y a des interactions hydrodynamiques entre les monomères qui favorisent les mouvements coopératifs. Le solvant à l'intérieur de la pelote se déplace à la même vitesse que la pelote. La pelote est une boule de polymère et de solvant associés, avec peu d'échange avec le solvant extérieur. Le coefficient de friction global est donc $\zeta = 6\pi\eta_s R_h$, où R_h est le rayon hydrodynamique correspondant à celui d'une boule de même coefficient de diffusion que la pelote. Ce rayon est proportionnel au rayon de giration. La mobilité devient [7] :

$$\mu = \frac{1}{6\pi\eta_s R_h} \propto N^{-\nu} \tag{1.11}$$

où ν varie de 3/5 en bon solvant à 1/2 en solvant θ.

En fonction des caractéristiques du solvant et du polymère[5] (taille, flexibilité[6]) on trouve des situations intermédiaires plus ou moins proches de ces deux idéalisations, avec des pelotes où le champ de vitesse relative du solvant décroit plus ou moins vite en s'approchant de leur centre.

Temps de relaxation

Soit une déformation (statistique) de la pelote correspondant à un accroissement r selon un axe quelconque par rapport à sa taille caractéristique R (voir figure 1.4). Son évolution est déterminée par la friction du solvant et la force de rappel élastique de la pelote. C'est ce que résume simplement l'équation [13] :

$$\zeta \frac{dr}{dt} = -\kappa r \tag{1.12}$$

[5]Le cas des polyélectrolytes est un peu particulier. Le coefficient de diffusion suit le comportement de Zimm. Cependant si on applique un champ électrique E il y a un écrantage du champ de vitesse du solvant et des contre-ions. Au final la vitesse de translation est $V \propto eE/\eta_s$ indépendante de la taille du polymère.

[6]Les deux approches donnent le même résultat dans le cas d'un polymère parfaitement rigide et rectiligne.

où ζ et $\kappa \propto k_B T/R_g^2$ sont respectivement le coefficient de friction et la constante élastique de la pelote.

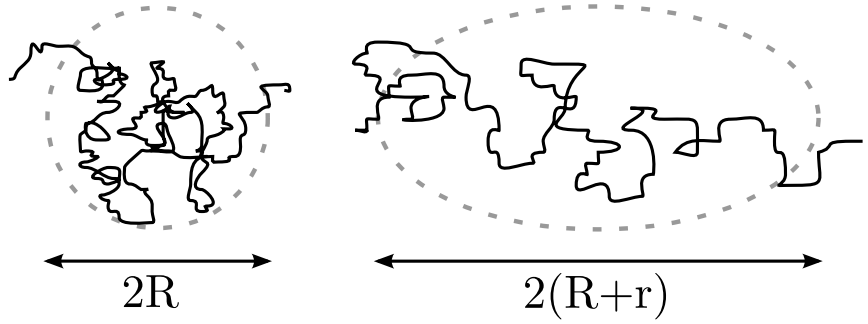


FIG. 1.4 – Fluctuation par rapport à la configuration moyenne d'une pelote.

La fluctuation r relaxe exponentiellement avec un temps caractéristique $\tau_1 = \zeta/\kappa$. Le coefficient ζ dépend de l'importance des interactions hydrodynamiques. Si la chaîne suit une dynamique de Rouse (sans interaction hydrodynamique), alors ce temps est :

$$\tau_R = N\zeta_m \frac{R^2}{k_B T} \propto \frac{\eta_s M^2}{T} \tag{1.13}$$

Si la dynamique est du type Zimm (avec interaction hydrodynamique) :

$$\tau_Z \propto \eta_s R \frac{R^2}{k_B T} \propto \frac{\eta_s M^{3\nu}}{T} \tag{1.14}$$

La dépendance avec le poids molaire M^α montre que la dynamique de Rouse ($\alpha = 2$), où la friction s'exerce sur chaque monomère, est plus lente que celle de Zimm ($\alpha = 3\nu$ soit 1,5 à 1,8 respectivement en solvant θ ou en bon solvant).

Il n'apparaît qu'un seul temps caractéristique dans cette description résultant de la compétition entre dissipation et élasticité. C'est le *modèle d'haltère élastique* : la pelote est représentée par deux masses reliées par un ressort idéal sur lesquelles le solvant exerce une friction visqueuse. On ajuste la traînée des masses et la constante du ressort avec les valeurs correspondant le mieux aux propriétés mesurées du polymère.

La nature autosimilaire des polymères nous indique cependant que le temps de relaxation d'une fluctuation doit dépendre de son échelle spatiale, ce qui est visible à travers la dépendance en M de τ_1. Une fluctuation à l'échelle d'une sous-pelote de taille M' aura un temps de relaxation $\tau' \propto \tau_1 (M'/M)^\alpha$. Les théories complètes de Rouse et Zimm décrivent les polymères comme une succession de masses avec une traînée visqueuse reliées entre elles par des ressorts, chaque ressort modélisant l'élasticité d'une portion de chaîne. Le volume exclu n'est pas pris en compte, aussi ces résultats ne s'appliquent qu'en solvant θ ou si les effets de volume exlu sont

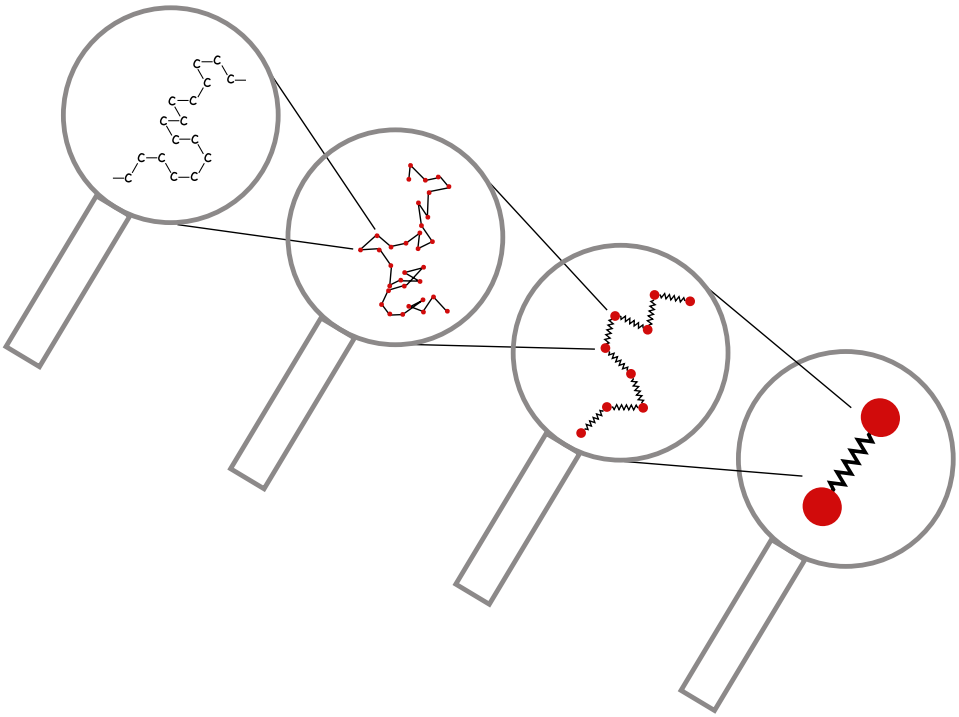


FIG. 1.5 – Des modèles d'approximations successives en fonction de l'échelle : la structure chimique, le modèle billes-batônnets, le modèle billes-ressorts puis le modèle d'haltère élastique.

faibles. La dynamique est résolue par une décomposition en modes normaux. Ils obtiennent des spectres discrets de temps de relaxation. Le temps caractéristique de chaque mode est d'autant plus petit que l'est l'échelle spatiale du mode considéré. On a pour le mode i :

$$\tau_i = \tau_1 i^{-\beta} \tag{1.15}$$

où τ_1 et β sont ceux de Rouse ou Zimm [7]. Si l'effet de volume exclu est important et qu'il y a des interactions hydrodynamiques, la valeur de β est plus proche de 1,8, soit une situation intermédiaire. Le gonflement de la pelote par le volume exclu réduit la force des interactions hydrodynamiques entre monomères.

Le modèle de l'haltère élastique décrit bien le comportement à grande échelle ou proche de l'équilibre en raison de la décroissance rapide avec l'échelle du temps de relaxation des autres modes. On peut le voir comme une approximation avec $N = 1$ des modèles multimodes Rouse-Zimm où l'influence des interactions hydrodynamiques est comprise dans la forme du temps de relaxation du mode unique. La figure 1.5 récapitule les approximations successives réduisant le nombre de degrés de liberté en fonction de l'échelle étudiée et du degré de précision nécessaire.

Le temps de relaxation le plus long peut être relié expérimentalement à la

viscosité intrinsèque par la relation :

$$\tau_1 = \frac{[\eta]_0 M \eta_s}{S_1 RT} \tag{1.16}$$

où $R = N_a k_B$ est la constante des gaz parfait et $S_1 = \sum_i \tau_i/\tau_1$ caractérise la distribution de temps de relaxation. La viscosité intrinsèque dépend de la masse molaire $[\eta]_0 \propto M^\alpha$ avec $\alpha = 1$ pour Rouse et $\alpha = 1/2$ pour Zimm. S_1 vaut 1,645 pour Rouse (ni interaction hydrodynamique ni volume exlu), $S_1 = 2,369$ [14] à 2,387 [15] avec les interactions hydrodynamiques et sans volume exclu, et on a jusqu'à une valeur proche de 1,6 avec les interactions hydrodynamiques en bon solvant. On utilise souvent comme temps caractéristiques le temps $\tau_0 = S_1\tau_1$. Il faut donc être attentif à la définition du temps le plus long lorsque l'on compare des mesures différentes.

1.2 Propriétés en écoulement

1.2.1 Description, Équations générales

L'équation bilan pour la quantité de mouvement permet de décrire l'évolution du champ de vitesse $\vec{v}(\vec{r}, t)$ de l'écoulement [16, 17] d'un fluide (par la suite, une solution diluée de polymères) :

$$\rho(\partial_t \vec{v} + (\vec{v}.\nabla)\vec{v}) = \nabla.\overline{\overline{\Sigma}} + \vec{F} \tag{1.17}$$

où $\overline{\Sigma}$ est le tenseur des contraintes (i.e. les forces surfaciques) et $\vec{F}$ est la résultante des forces volumiques (gravité). Le fluide de masse volumique ρ est incompressible, et la conservation de la masse donne :

$$\nabla.\vec{v} = 0 \tag{1.18}$$

La description de l'écoulement n'est complète qu'à l'aide d'une troisième équation qui relie les contraintes et le champ de vitesse. Cette relation de fermeture, appelée *équation constitutive*, contient les caractéristiques du fluide. La contrainte dans un élément de fluide peut dépendre du champ de vitesse local instantané de manière anisotrope et non linéaire mais aussi de son évolution passée. Sa détermination expérimentale et théorique, très souvent sous une forme approchée, constitue un challenge majeur dans l'étude des fluides complexes. C'est le rôle de la rhéologie.

Contrainte

On décompose la contrainte totale[7] sous forme d'un tenseur 3 x 3 en ses parties anisotrope $\overline{\overline{\sigma}}$ et isotrope p :

$$\overline{\overline{\Sigma}} = \overline{\overline{\sigma}} - p\overline{\overline{I}} \tag{1.19}$$

où $\overline{\overline{I}}$ est le tenseur identité. p est le champ de pression instantanée qui est égale à la pression thermodynamique P à l'équilibre. Il est déterminé par la condition d'incompressibilité du fluide (ou son équation d'état s'il est compressible). L'équation constitutive se réduit à une relation entre la partie anisotrope de la contrainte et le champ de vitesse. Sauf exception on désignera la contrainte anisotrope par le terme contrainte. Ce tenseur est symétrique $\overline{\overline{\sigma}} = \overline{\overline{\sigma}}^T$ et de trace nulle $Tr(\overline{\overline{\sigma}}) = 0$. Il n'a donc que 5 composantes indépendantes : 3 contraintes de cisaillement (éléments non diagonnaux) et 2 différences de contraintes normales, N_1 et N_2. On pose :

$$N_1 \equiv \sigma_{xx} - \sigma_{yy} \tag{1.20}$$

$$N_2 \equiv \sigma_{yy} - \sigma_{zz} \tag{1.21}$$

Un fluide à l'équilibre ne coule pas. On cherche donc à exprimer la contrainte en fonction des dérivées spatiales du champ de vitesse $\overline{\overline{\sigma}} = \overline{\overline{\sigma}}(\partial_j v_i)$.

Cinématique

Le tenseur des gradients de vitesse s'écrit $(\overline{\overline{\nabla v}})_{ij} = \partial_j v_i$. Pour un fluide incompressible $Tr(\overline{\overline{\nabla v}}) = 0$. On le décompose en ses parties symétrique $\overline{\overline{D}}$ et antisymétrique $\overline{\overline{\Omega}}$:

$$\overline{\overline{D}} \equiv \frac{1}{2}(\overline{\overline{\nabla v}} + \overline{\overline{\nabla v}}^T) \tag{1.22}$$

$$\overline{\overline{\Omega}} \equiv \frac{1}{2}(\overline{\overline{\nabla v}} - \overline{\overline{\nabla v}}^T) \tag{1.23}$$

$\overline{\overline{D}}$ est le *tenseur des taux de déformation*. Il correspond à une déformation pure de l'élément de fluide. Au contraire le tenseur $\overline{\overline{\Omega}}$ correspond aux rotations sans déformation de l'élément de fluide. L'équation constitutive est exprimée ou recherchée sous la forme $\overline{\overline{\sigma}}(\overline{\overline{D}})$

Certains écoulements simples sont particulièrement étudiés car ils permettent de relier à l'aide d'un seul coefficient un taux de déformation à une composante

[7] Il est possible de définir la contrainte comme le flux entrant de quantité de mouvement ce qui change le signe dans l'équation du champ de vitesse. La décomposition s'écrit alors $\overline{\overline{\Sigma}} = \overline{\overline{\sigma}} + p\overline{\overline{I}}$. C'est la convention, moins répandue, de la référence [2].

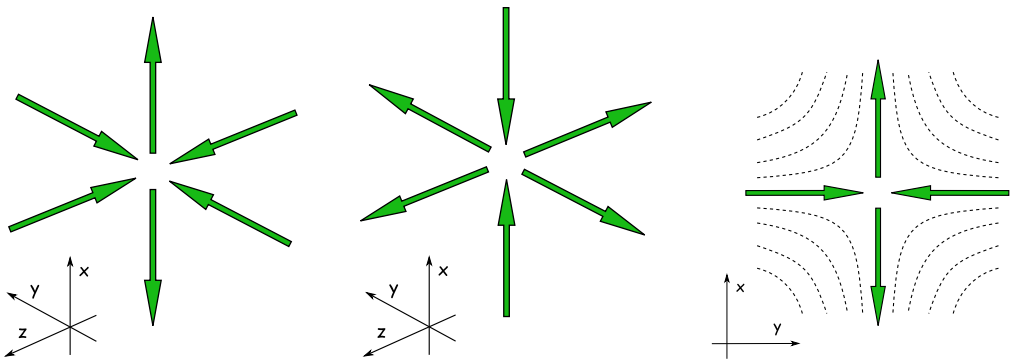
non nulle de la contrainte. Les écoulements *sans vorticité* sont dit de déformation pure. Le tenseur des gradients de vitesse est de la forme :

$$\overline{\overline{\nabla v}} = \begin{pmatrix} \dot{\epsilon}_1 & 0 & 0 \\ 0 & \dot{\epsilon}_2 & 0 \\ 0 & 0 & \dot{\epsilon}_3 \end{pmatrix} \tag{1.24}$$

où $\dot{\epsilon}_i \equiv \partial_i v_i$ est le taux de déformation le long de l'axe i, relié à la déformation ϵ_i par $\frac{d\epsilon_i}{dt} = \dot{\epsilon}_i$.

On distingue :

- a) *L'élongation uniaxe* (fig.1.6(a)) Le champ de vitesse est de la forme $\vec{u} = \dot{\epsilon}(x\vec{u}_x - y/2\vec{u}_y - z/2\vec{u}_z)$. On a donc : $\dot{\epsilon}_1 = \dot{\epsilon} = -2\dot{\epsilon}_2 = -2\dot{\epsilon}_3$
- b) *L'élongation biaxe symétrique* (fig.1.6(b)) Le champ de vitesse est l'inverse temporel de celui de l'élongation uniaxe . On a en prenant l'axe de compression selon la direction 1 $\dot{\epsilon}_2 = \dot{\epsilon}_3 = -1/2\dot{\epsilon}_1 = \dot{\epsilon}$.
- c) *L'élongation planaire* (fig.1.6(c)) Le champ de vitesse est du type $\vec{u} = \dot{\epsilon}(x\vec{u}_x - y\vec{u}_y)$ d'où $\dot{\epsilon}_1 = -\dot{\epsilon}_2 = \dot{\epsilon}$ et $\dot{\epsilon}_3 = 0$.



(a) Élongation uniaxiale le long de l'axe x.

(b) Élongation biaxiale selon les axes y et z.

(c) Élongation plane selon l'axe x.

FIG. 1.6 – Formes des principaux écoulements modèles de déformation pure

Pour les écoulements *avec vorticité* on distingue :

- a) *Le cisaillement simple* (fig.1.7) C'est un gradient de vitesse transversal par rapport au sens de l'écoulement. Le champ de vitesse est de la forme $\vec{v} = \dot{\gamma} y \vec{u}_x$ où $\dot{\gamma} = \partial_y v_x$ est le taux de cisaillement d'où :

$$\overline{\overline{\nabla v}} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ \dot{\gamma} & 0 & 0 \\ 0 & 0 & 0 \end{pmatrix} \tag{1.25}$$

Le cisaillement simple correspond à la combinaison d'une élongation plane au taux $\dot{\gamma}/2$ le long de $\vec{u}_x + \vec{u}_y$ et à une rotation à la vitesse $\dot{\gamma}/2$ autour de $\vec{u}_z$.

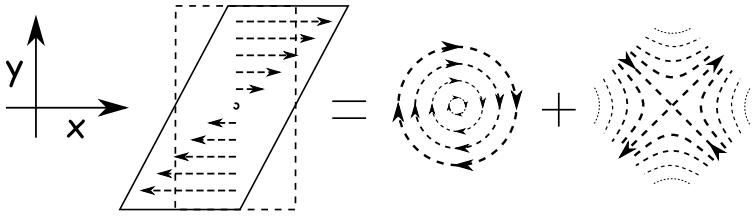


FIG. 1.7 – Décomposition d'un cisaillement simple en ses composantes de rotation et de déformation pure.

– b) *L'écoulement plan mixte* C'est la combinaison linéaire d'un écoulement élongationnel plan et d'un cisaillement. On le décompose sous la forme :

$$\overline{\overline{\nabla v}} = \frac{1}{2} G \begin{pmatrix} 1+m & 1-m \\ -(1-m) & -(1+m) \end{pmatrix} \tag{1.26}$$

où G est un taux de déformation et m le paramètre duquel dépend la nature de l'écoulement. Les valeurs propres du tenseur sont $\pm G\sqrt{m}$. On retrouve le cas du cisaillement simple pour $m = 0$ et l'élongation plane pour $m = 1$, avec respectivement $\dot{\gamma} = G$ et $\dot{\epsilon} = G$.

Fonctions rhéologiques

La rhéologie a pour objet l'étude des relations entre contraintes et taux de déformation. On détermine principalement ces relations à l'aide des écoulements simples de la partie précédente.

On définit la viscosité de cisaillement pour un écoulement de cisaillement stationnaire orienté selon $\vec{u}_x$ avec le gradient de vitesse selon $\vec{u}_y$:

$$\eta_{cis} \equiv \frac{\sigma_{xy}}{\dot{\gamma}} \tag{1.27}$$

où le taux de cisaillement est $\dot{\gamma} = \partial_y v_x$.

Un fluide avec une viscosité de cisaillement constante et uniforme qui obéit à la loi précédente et dont le tenseur des contraintes n'a qu'une seule composante indépendante est un *fluide newtonien*. Ce fluide est donc complètement et uniquement caractérisé par sa viscosité (de cisaillement) ; sa relation constitutive s'écrit simplement :

$$\overline{\overline{\sigma}} = 2\eta_{cis}\overline{\overline{D}} \tag{1.28}$$

En substituant cette expression dans l'équation d'évolution du champ de vitesse on obtient l'équation de Navier-Stokes. Dans le cas contraire on parle de fluides non-newtoniens.

Pour les fluides non-newtoniens la viscosité peut dépendre du taux de cisaillement $\eta(\dot{\gamma})$ et n'est pas forcément uniforme au sein d'un échantillon cisaillé. On

introduit aussi la viscosité de cisaillement transitoire $\eta(t)$, avec la même formule mais en utilisant les valeurs transitoires de la contrainte et du taux de déformation avant qu'un état stationnaire ne soit (éventuellement) atteint.

Les fluides non-newtoniens peuvent avoir des différences de contraintes normales (équations 1.20 et 1.21) non nulles en cisaillement. On les caractérise avec les coefficients de contrainte normale ψ_1 et ψ_2 :

$$\psi_1 \equiv \frac{N_1}{\dot{\gamma}^2} \tag{1.29}$$

$$\psi_2 \equiv \frac{N_2}{\dot{\gamma}^2} \tag{1.30}$$

Les propriétés en élongation sont caractérisées en fonction du type d'élongation par une viscosité élongationnelle. Dans le cas d'une élongation uniaxe le long de $\vec{u}_x$ la viscosité élongationnelle est définie par :

$$\eta_{ext} \equiv \frac{\sigma_{xx} - \frac{1}{2}\sigma_{yy} - \frac{1}{2}\sigma_{zz}}{\dot{\epsilon}} \tag{1.31}$$

Elle représente la résistance à l'étirement d'un élément de fluide. La viscosité élongationnelle d'un fluide newtonien vaut $\eta_{ext} = 3\eta_{cis}$. Cette relation[8] n'est pas forcément vérifiée pour un fluide non-newtonien. On définit le rapport de Trouton :

$$T_r \equiv \frac{\eta_{cis}}{\eta_{ext}} \tag{1.32}$$

Il vaut $T_r = 3$ en élongation uniaxe pour un fluide newtonien. Dans le cas d'une élongation plane d'un fluide newtonien, $T_r = 4$. Le nombre de Trouton peut atteindre des valeurs bien plus élevées pour un fluide non-newtonien.

1.2.2 Exemples d'écoulements

Les solutions de polymères appartiennent à la classe des fluides viscoélastiques. Leur réponse à une sollicitation comprend une part de réponse élastique les ramenant vers leur état initial et une part de déformation irréversible. Ce sont des fluides à « mémoire déclinante » . Ces deux comportements sont toujours présents *simultanément* mais dans des proportions qui varient en fonction de l'échelle de temps de la sollicitation, de la concentration, ... Une même solution de polymères peut avoir des comportements très différents, voire apparemment contradictoires, en fonction du type et de l'échelle de temps de l'écoulement mis en jeu.

[8] Que l'on peut démontrer en observant qu'une élongation plane est la somme de deux cisaillements miroirs.

FIG. 1.8 – L'effet Weissenberg : la rotation de l'agitateur cisaille le fluide et elle s'accompagne d'une remontée centripète du fluide [20].

Effet des contraintes normales en cisaillement

Lorsque l'on fait tourner un cylindre dans un récipient contenant du blanc d'oeuf (un liquide non-newtonien contenant de nombreux polymères), on observe que le fluide remonte le long du cylindre en rotation au lieu d'être entraîné vers l'extérieur par la force centrifuge, comme le serait un fluide simple comme le miel liquide [18]. La montée du fluide non-newtonien est appelée l'effet Weissenberg [2]. Il est dû aux contraintes normales qui apparaissent lors d'un cisaillement avec un gradient du taux de cisaillement (ici le gradient de vitesse est radial). Ces contraintes peuvent être comprises comme une tension supplémentaire agissant le long des lignes de courant [19]. Comme elles sont circulaires et fermées, leur contraction, en s'opposant à la pression hydrostatique et à la force centrifuge, se traduit par la remontée du fluide vers l'axe de rotation (fig.1.8) .

La tension dans la ligne de courant explique aussi pourquoi des particules dans une solution de polymères s'aggrègent lorsque l'on cisaille cette suspension [2]. La courbure des lignes de courant entourant deux particules a pour résultante une force d'attraction nette (fig.1.9). Si la suspension s'écoule dans une canalisation cet effet conduit à la migration des particules vers le centre du tuyau, là où le cisaillement est le plus faible.

Une solution de polymères s'écoulant par un orifice peut présenter un gonflement du jet extrudé (fig.1.10) ([21], « die swell » en anglais) très supérieur au diamètre de sortie du conduit (jusqu'à 300 % d'augmentation). Cet effet spectaculaire est causé par la relaxation des chaînes de polymère qui ont été préalablement déformées par le cisaillement au sein du conduit d'amenée (fig.1.10(b)). La tension enregistrée au sein du matériau ne relaxe pas instantanément lorsque cesse le cisaillement. C'est un effet mémoire d'autant plus important que le polymère a été

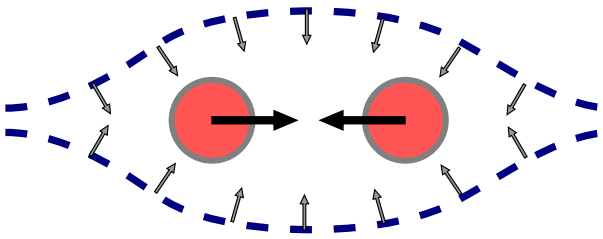


FIG. 1.9 – Effet d'aggrégations sous cisaillement causé par la tension le long des lignes de courant

déformé. Son intensité est une fonction de N_1. Si le débit est suffisamment élevé, le gonflement du jet peut avoir lieu plus en aval de l'orifice d'injection.

Viscosité non-newtonienne

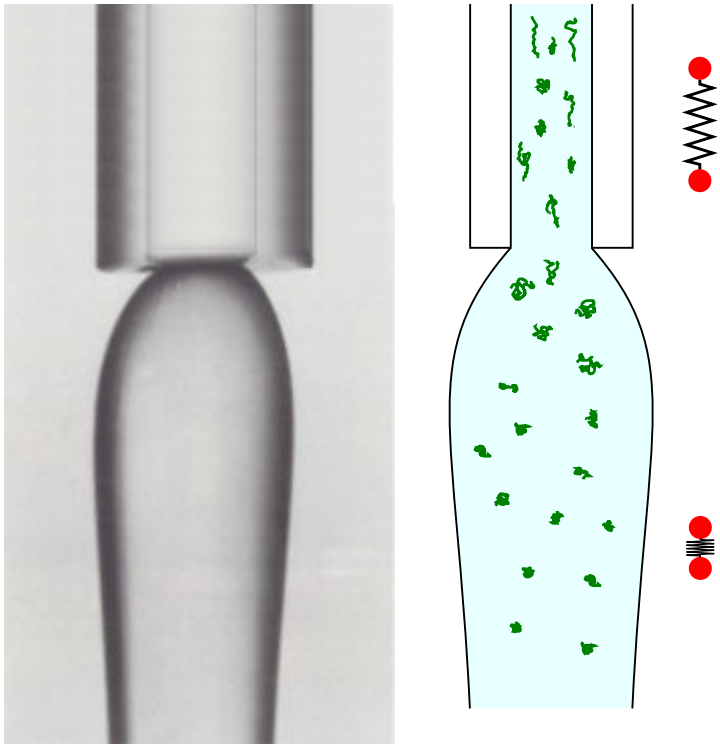
Les solutions de polymères ont un comportement visqueux qui présente tantôt une réduction de la dissipation, tantôt une augmentation.

Par exemple, les écoulements en conduite ont un profil de vitesse plus plat au centre et plus pentu près des parois que pour les fluides newtoniens. Pour une différence de pression donnée, le débit de la solution de polymères est plus important que dans le cas du solvant seul, même si leur viscosité à bas taux de cisaillement est quasiment la même. C'est un effet de rhéofluidification en cisaillement : la viscosité de cisaillement décroît avec l'augmentation du taux de cisaillement, de quelques dizaines de pour cent à un ordre de grandeur de moins. La dissipation est plus faible dans ce cas-ci. Cet effet est surtout présent pour les polymères rigides ou pour des concentrations assez élevées.

Un autre exemple spectaculaire est l'effet de réduction de la traînée turbulente [22, 6] causé par l'ajout d'une très petite quantité de polymères flexibles à un écoulement turbulent développé. La dissipation dans l'écoulement peut baisser jusqu'à 80 %. Elle n'a pas lieu en régime laminaire et n'est pas liée à la rhéofluidification (de toute manière faible pour les concentrations en polymère généralement utilisées). La compréhension de ce phénomène est encore partielle : il semblerait paradoxalement lié à la résistance accrue en élongation des solutions de polymère.

Les solutions de polymères présentent en effet une très forte résistance à l'étirement. Elle se manifeste dans les écoulements d'élongation de manière non linéaire et se traduit par une viscosité élongationnelle qui peut, lorsque le taux de déformation croît, devenir un millier de fois plus importante que la viscosité de cisaillement à un taux de cisaillement équivalent.

Cette résistance à l'étirement stabilise les jets de fluide en s'opposant aux instabilités causées par la tension de surface [23]. Ce mécanisme apparaît aussi lors du détachement de goutte de solution dont la dynamique est ralentie par la création d'un long filament cylindrique stable (voir chap. 3 et 4). De même, une colonne



(a) Expérience de « die swell » extraite de [21]. Note : la partie supérieure de la photographie a été modifiée pour montrer un tube plus long.

(b) Retour des polymères à une distribution de configuration proche d'une pelote avec la cessation du cisaillement.

FIG. 1.10 – Effet de gonflement lors de l'extrusion d'une solution de polymères.

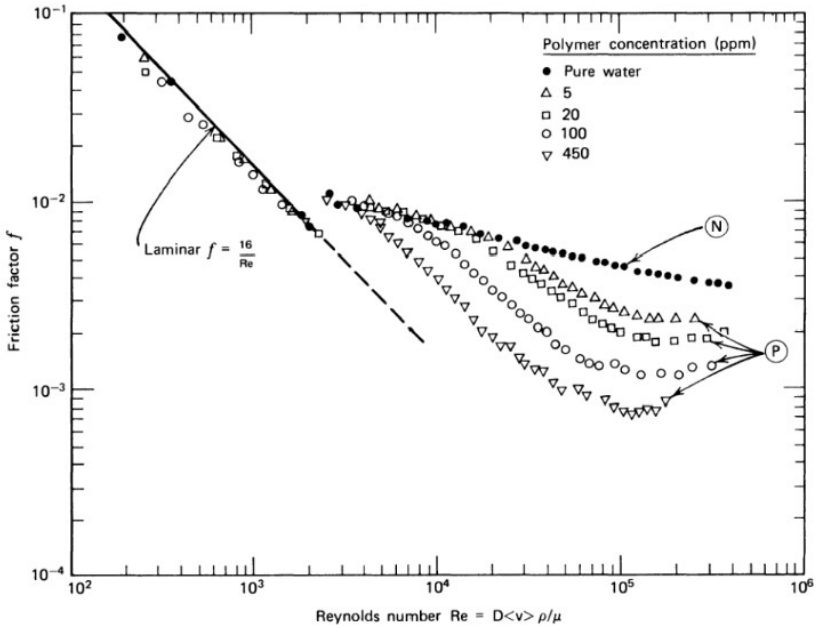


FIGURE 2.7-1. Friction factor for dilute aqueous solutions of polyethylene oxide, $\bar{M}_v = 6.1 \times 10^6$. In the turbulent regime, the curves for the polymer solutions lie below that of the solvent and illustrate drag reduction. [Data replotted from P. S. Virk, Sc.D. Thesis, Massachusetts Institute of Technology, Cambridge, MA (1966). See also C. B. Wang, *Ind. Eng. Chem. Fundam.*, **11**, 546–551 (1972).]

FIG. 1.11 – Réduction du facteur de friction turbulent par ajout de polymères, extrait de [2]

libre de fluide peut être aspirée d'un récipient sur des longueurs bien supérieures à la longueur capillaire en étant soutenue par les contraintes normales générées par la forte élongation : c'est l'effet de siphon sans tube (fig.1.12).

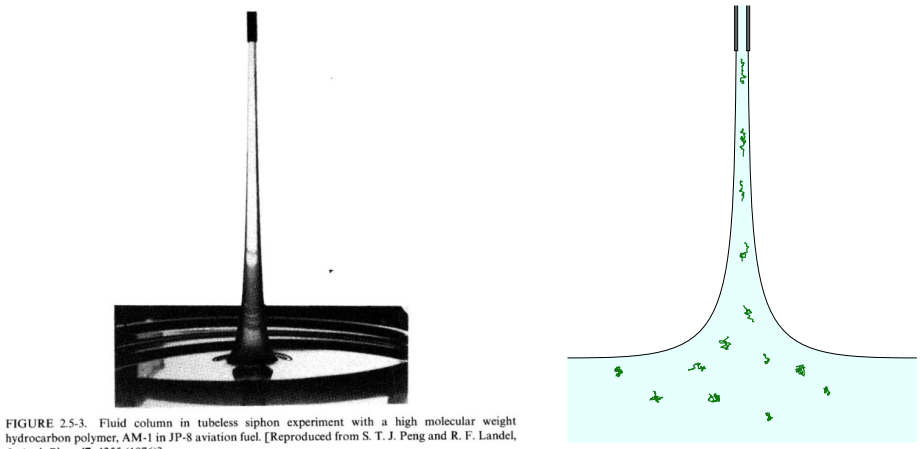


FIGURE 2.5-3. Fluid column in tubeless siphon experiment with a high molecular weight hydrocarbon polymer, AM-1 in JP-8 aviation fuel. [Reproduced from S. T. J. Peng and R. F. Landel, *J. Appl. Phys.* **47**, 4255 (1976)].

(a) Expérience : la solution de polymère est aspirée vers le haut contre la gravité et la colone de liquide à surface libre est stable [2].

(b) Les polymères sont étirés par l'écoulement de nature élongationnelle et l'augmentation de viscosité associée stabilise la colonne liquide.

FIG. 1.12 – Effet de siphon sans tube.

L'écoulement à travers une contraction est accompagné d'une recirculation [24] (fig.1.13) en amont totalement absente dans le cas newtonien. La déformation du fluide est proportionnelle à la largeur du cône d'écoulement dans lequel les lignes de courant sont dirigées vers l'orifice. Lorsque la viscosité élongationnelle est beaucoup plus grande que la viscosité de cisaillement, le cisaillement est moins coûteux que l'élongation du point de vue de la dissipation. Les tourbillons occupent une part plus importante de l'écoulement et le cône de contraction a un angle plus aigu. L'apparition des tourbillons coïncide avec l'augmentation de la viscosité élongationnelle. La perte de charge dans la contraction est supérieure à celle du cas newtonien et croît de manière surlinéaire avec le débit.

Instabilité élastique

L'existence de contrainte normale en cisaillement rend instable les écoulements avec des lignes de courant courbes. Cette instabilité apparaît notamment dans l'écoulement de Couette cylindrique[9] [25].

[9] Écoulement entre deux cylindres concentriques de rayon similaire avec une différence de vitesse angulaire, très utilisé en rhéométrie car il est une bonne approximation du cisaillement plan si l'entrefer est petit devant le rayon moyen des cylindres.

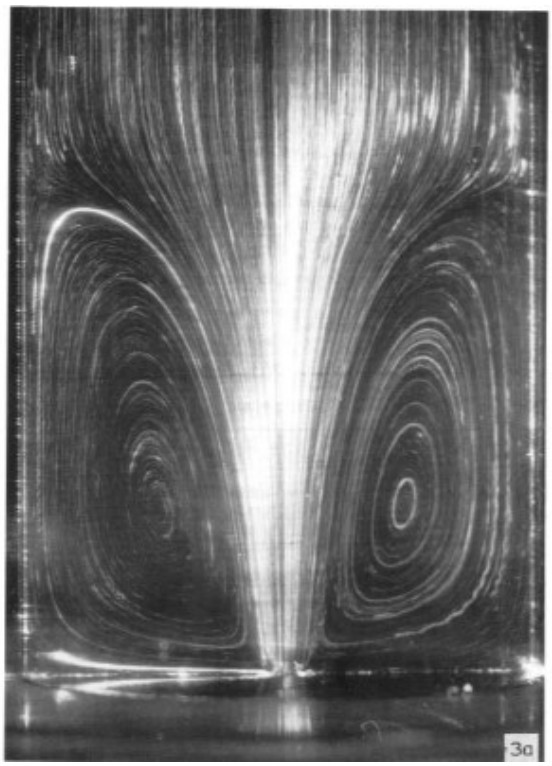


FIG. 1.13 – Recirculation lors d'un écoulement à travers une contraction axisymétrique (de haut en bas) tiré de [24].

Elle est la base du phénomène appelé « turbulence élastique » [26]. Le champ de vitesse dans un tel écoulement présente un comportement temporel chaotique réminiscent de celui de la turbulence inertielle (voir fig.1.14). La turbulence élastique en est toutefois fondamentalement différente car elle a lieu pour un nombre de Reynolds arbitrairement faible. Ce sont les nonlinéarités de la contrainte polymérique qui en sont la cause et non celles des termes inertiels.

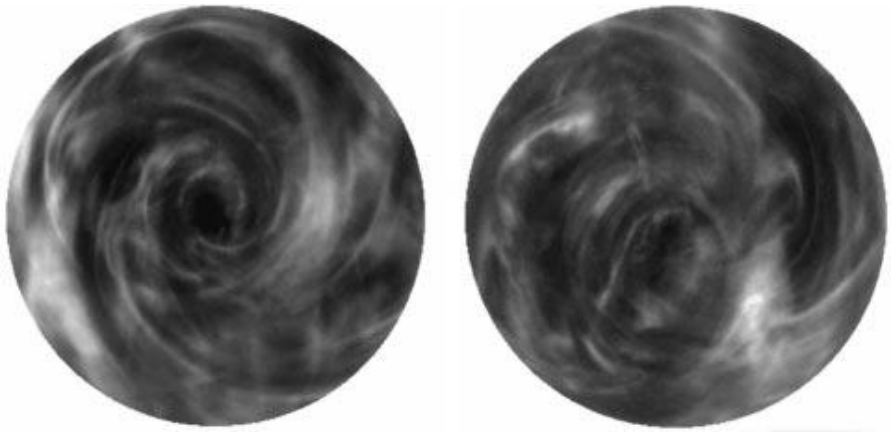


FIG. 1.14 – Deux images d'un fluide de Boger (voir définition en 1.2.3) avec des particules réfléchissantes dans un écoulement de von Kàrmàn à $W_i = 13$ et $R_e = 0,7$ [26].

Pour conclure ce panorama, on constate que le sens des effets viscoélastiques est très souvent opposé à celui des effets des forces inertielles, mais que dans les deux cas le champ de vitesse subit des modifications à longue portée. C'est le cas dans l'effet Weissenberg où la surface libre s'élève en direction de l'axe de rotation. Les tourbillons qui apparaissent en amont d'une contraction existent uniquement en aval pour un liquide newtonien avec un nombre de Reynolds élevé. L'écoulement d'un fluide viscoélastique autour d'une aile se traduit par une anti-portance [27], résultante de la tension le long des lignes de courant courbées.

1.2.3 Mesures rhéologiques et modèles

Rhéologie type

Le comportement des solutions de polymères dilués en cisaillement simple est caractérisé par des contraintes normales non nulles et de la rhéofluidification. La viscosité, constante à faible taux de cisaillement, décroît quand celui-ci augmente puis atteint une valeur constante pour un taux de cisaillement très grand (fig.1.15(a)). La viscosité peut en général être ajustée sur toute la gamme de ci-

saillement par un modèle de Cross [5] :

$$\frac{\eta_{cis} - \eta_\infty}{\eta_0 - \eta_\infty} = \frac{1}{1 + \frac{\dot{\gamma}}{\dot{\gamma}_m}^n} \tag{1.33}$$

Si la gamme de taux de cisaillement mesurés est réduite on peut utiliser un modèle plus simple de fluide en loi de puissance (fluide d'Ostwald) [5] $\eta_{cis} = K\dot{\gamma}^{n-1}$ avec $n < 1$. On observe que la différence $\eta_0 - \eta_\infty$ est d'autant plus faible que le polymère est dilué et flexible et que le solvant est visqueux. On appelle fluide de Boger les solutions avec un solvant très visqueux ne présentant pas de rhéofluidification mesurable mais de forts effets viscoélastiques.

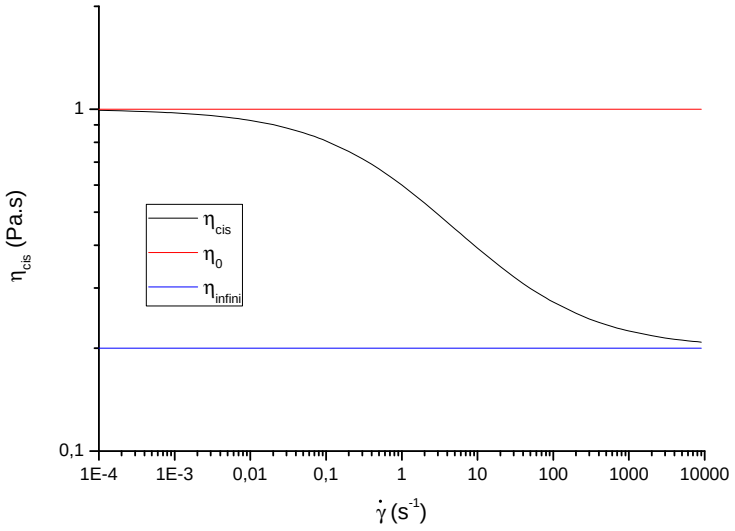
Les contraintes normales croissent de manière quadratique puis saturent. Le premier coefficient de contrainte normale est constant à bas taux de cisaillement puis décroît quand le taux de cisaillement augmente (pour des valeurs similaires à celles de la décroissance de la viscosité). Le premier coefficient est positif (dans l'orientation choisie dans ce texte, cf.1.2.1) et en général au moins un ordre de grandeur plus grand que le second coefficient.

Lorsque la viscosité de cisaillement est connue, le comportement en élongation est caractérisé par le rapport de Trouton $Tr = \eta_{ext}/\eta_{cis}$ (fig.1.15(b)). Il est quasiment constant dans la limite des faibles taux d'élongation, et est égal à sa valeur newtonienne. Il augmente faiblement avec le taux d'élongation, mais lorsque ce taux approche une valeur critique T_r augmente brusquement de plusieurs ordres de grandeur (typiquement deux à trois). Cette augmentation est bien plus importante qu'une éventuelle diminution de la viscosité du cisaillement : c'est la viscosité élongationnelle qui augmente. Pour des taux de déformations encore plus élevés le rapport de Trouton approche lentement et asymptotiquement une valeur constante.

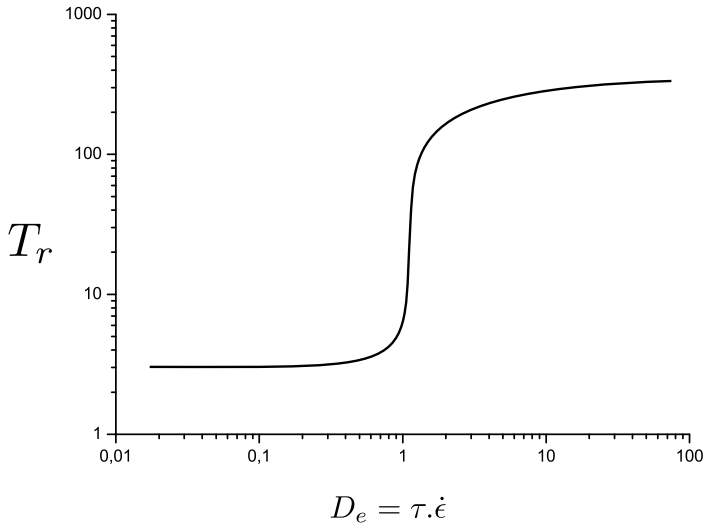
À cause de la difficulté à mesurer la viscosité élongationnelle en état stationnaire, on représente souvent le rapport de Trouton *transitoire* en fonction de la déformation totale $\epsilon(t)$ pour un taux d'élongation fixé $\dot{\epsilon} \geq \dot{\epsilon}_c$. La contrainte est en effet plus sensible dans le régime non linéaire à la déformation totale plutôt qu'aux taux auxquels a eu lieu cette déformation [7]. T_r est initialement égal à sa valeur newtonienne mais augmente exponentiellement avec la déformation totale, jusqu'à atteindre sa valeur stationnaire.

Les mesures de contrainte dans les écoulements mixtes sont plus délicates car il y a plusieurs composantes de contraintes et de taux de déformation. On détermine en général une propriété accessible (par ex. la biréfringence) que l'on relie éventuellement par un modèle à la déformation des chaînes. On observe que les données sont une fonction de la plus grande valeur propre $G\sqrt{m}$ du tenseur des taux de déformation (eq. 1.26), autrement dit c'est la composante élongationnelle de l'écoulement qui importe [28] pour la déformation des polymères.

Relations constitutives élémentaires



(a) Comportement de la viscosité de cisaillement. La rhéofluidification observée est en général beaucoup plus faible pour une solution diluée de polymères flexibles.



(b) Rapport de Trouton type pour un écoulement d'élongation uniaxial à taux de déformation constant.

Origine de la contrainte polymérique Dans le cadre du régime dilué on peut séparer la contribution des polymères et la contrainte de celle du solvant. On pose :

$$\overline{\overline{\sigma}} = \overline{\overline{\sigma_s}} + \overline{\overline{\sigma_p}} \tag{1.34}$$

La contribution du solvant est simplement $\overline{\overline{\sigma_s}} = 2\eta_s \overline{\overline{D}}$.

Une déformation de la pelote gaussienne (la chaîne idéale) par rapport à sa configuration d'équilibre se traduit par une force de rappel linéaire d'origine entropique. Il est possible de calculer la contrainte supplémentaire causée par les polymères dans une suspension de pelotes diluées, chacune caractérisée par son vecteur bout-à-bout. Les composantes du tenseur sont de la forme :

$$\sigma_{p,ij} = 2k_B T \beta^2 c < R_i . R_j > \tag{1.35}$$

où $\beta^2 = \frac{3}{2N_k b_K^2}$ (et $\kappa = 2k_B T\beta^2$ est la constante de raideur d'une pelote) (revoir paragraphe 1.1.1), c est le nombre de pelotes par unité de volume, $R_{i,j}$ des composantes du vecteur bout-à-bout et $<>$ et une moyenne d'ensemble. Cette formule nous montre que les contraintes polymériques proviennent de l'anisotropie de la distribution des vecteurs bout-à-bout de l'ensemble des pelotes. En particulier si un terme de contrainte normale est plus élevé qu'un autre cela signifie que les chaînes sont plus orientées dans sa direction que dans l'autre. L'orientation microscopique des molécules apparaît dans la contrainte.

Haltère élastique : modèle d'Olroyd-B L'étape suivante dans la description de la dynamique consiste à tenir compte de la traînée du solvant, susceptible de déformer les pelotes. Le modèle le plus simple est celui de l'haltère élastique évoqué précédemment : la pelote est un ressort linéaire qui relit deux masses dont le coefficient de traînée ζ est ajusté pour correspondre à celui de la pelote. L'équation de la dynamique des masses fait intervenir une force fluctuante pour le mouvement brownien, la force de rappel élastique et la traînée visqueuse du solvant. Après une moyenne sur l'ensemble des configurations on a l'équation suivante pour le tenseur des contraintes :

$$\dot{\sigma_p} - \overline{\overline{\nabla v}}^T . \overline{\overline{\sigma_p}} - \overline{\overline{\sigma_p}} . \overline{\overline{\nabla v}} + \frac{1}{\tau}(\overline{\overline{\sigma_p}} - A\overline{\overline{I}}) = 0 \tag{1.36}$$

avec $A = ck_B T$ et $\tau = \frac{\zeta}{8k_B T\beta^2}$. À l'équilibre, le tenseur des contraintes est isotrope.

L'équation d'évolution de la contrainte et la décomposition de son tenseur en une partie pour le solvant et l'autre pour les polymères est équivalente à la relation constitutive d'Olroyd-B. Elle prévoit une viscosité de cisaillement $\eta_p = ck_B T\tau$ et un coefficient de contrainte normale $\psi_1 = 2\eta_p\tau$ positif, tous deux indépendants du taux de cisaillement. En revanche la viscosité élongationnelle η_{ext} diverge pour le taux d'élongation $\dot{\epsilon}_c = \frac{1}{2\tau}$, pour ensuite être négative s'il est supérieur à cette valeur. Le modèle de l'haltère élastique ne permet donc de décrire que les propriétés proches de l'équilibre, lorsque les pelotes sont peu déformées. Il ne rend compte ni de la rhéofluidification ni de la viscosité élongationnelle grande mais finie.

La transition de déroulement (« coil-stretch ») Lorsque le taux de déformation du solvant approche l'inverse du temps de relaxation de la pelote, la force de rappel et les fluctuations thermiques ne sont plus suffisantes pour s'opposer à une déformation importante de la pelote. Si l'écoulement est élongationnel elle va se dérouler sans frein jusqu'à éventuellement atteindre une conformation totalement étendue. Le critère pour que la transition ait lieu s'écrit :

$$D_e = \frac{1}{2} \tag{1.37}$$

où $D_e = \tau\dot{\epsilon}$ est le nombre de Deborah, rapport des temps caractéristiques du polymère [10] et de l'écoulement ($\dot{\epsilon}^{-1}$ pour une élongation pure).

Cette transition a tout d'abord été prédite de manière théorique [29]. En dépit de mesures rhéologiques plutôt concordantes [30], il a fallu attendre les expériences de visualisation microscopique avec de l'ADN pour en avoir une vérification complète [31, 32].

L'effet de cette transition sur la distribution des conformations des polymères est très différent selon que l'écoulement est un cisaillement simple ou une déformation pure. C'est une conséquence directe de la composante de vorticité présente en cisaillement.

Dans une élongation pure, le polymère reste toujours orienté le long de l'axe d'élongation. La distribution des déformations est piquée autour d'une valeur élevée de la déformation relative. Les écoulements élongationnels sont donc beaucoup plus efficaces pour étirer les chaînes. Cela se traduit par un effet de seuil important sur les propriétés macroscopiques en fonction du taux de déformation.

En cisaillement la chaîne est initialement étirée à un angle de 45 ° de la direction de l'écoulement, mais la composante de rotation suffit à faire basculer le polymère lors de ses fluctuations selon une autre orientation où il va au contraire subir une compression. Une pelote en cisaillement effectue un mouvement de culbute avec une succession de cycles d'élongation-rétraction superposés à la translation[33, 34, 35]. On trouvera en régime stationnaire une distribution large et quasi-uniforme (de la taille au repos à une fraction significative de la longueur de contour) pour la déformation relative r/L_c le long de l'écoulement. L'effet de la transition sur les propriétés macroscopiques se fait de manière continue et douce.

Pour les écoulements mixtes la théorie initiale prévoit que dès que la composante de déformation est supérieure à celle de rotation, c'est la valeur propre dominante du tenseur des taux de déformation qui fixe une dynamique similaire à celle d'une déformation pure avec une disparition du phénomène de culbute.

Lorsque le polymère est très extensible, les interactions hydrodynamiques sont importantes et la traînée du polymère déroulé peut-être très supérieure à celle de la pelote peu déformée. Cela conduit à de l'hystérésis pour la transition en élongation, dite de premier ordre par analogie avec les transitions de phase (en cisaillement

[10] Et plus généralement de la microstructure du fluide complexe étudié

elle est d'ordre deux). Une chaine très fortement étirée pourra coexister avec une pelote pour un même taux d'élongation proche de la valeur critique [32], avec un ralentissement important des fluctuations de conformation [36].

Extensibilité finie : modèle FENE-P Lorsque le taux d'élongation approche de sa valeur critique les pelotes se débobinent. Dans le modèle de l'haltère élastique cette déformation ne s'arrête pas, le polymère peut atteindre une longueur infinie. Dans la réalité le polymère a une longueur finie et son élasticité devient non linéaire avec une divergence lorsque sa déformation relative R/L_c approche l'unité. On peut calculer l'expression exacte de la force de rappel d'une chaîne idéale. Elle fait intervenir une fonction inverse de Langevin, non analytique, dont une très bonne approximation est la loi de rappel de Warner :

$$\vec{F} = -\frac{\kappa}{1 - \left(\frac{R}{L_c}\right)^2}\vec{R} = -H(R^2)\vec{R} \tag{1.38}$$

Cette expression permet de tenir compte de l'extensibilité finie des polymères dans le traitement précédent. C'est le modèle FENE (pour Finite Extensible Non-linear Elastic). Cette relation étant non-linéaire on effectue une moyenne d'ensemble initiale pour la linéariser dans l'équation d'évolution. En supposant $H(R^2) = H(< R^2 >)$ (approximation de Peterlin [37]), on obtient les résultats du modèle FENE-P (pour Peterlin ou « Pre-averaging »).

La rhéofluidification sous cisaillement est maintenant reproduite :

$$\frac{\eta_\infty}{\eta_0} = \left(\frac{\tau\dot{\gamma}}{\beta L_c}\right)^{-\frac{2}{3}} \tag{1.39}$$

$$\frac{\psi_{1\infty}}{\psi_{10}} = \left(\frac{\tau\dot{\gamma}}{\beta L_c}\right)^{-\frac{4}{3}} \tag{1.40}$$

$$\psi_2 = 0 \tag{1.41}$$

Sous élongation la transition de dépelotage est correctement décrite, la viscosité élongationnelle ne diverge pas pour $\dot{\epsilon}_c$ mais augmente et tend vers une valeur constante à fort taux d'élongation :

$$\eta_{p,ext,\infty} \equiv \frac{\sigma_{11,p,\infty} - \sigma_{22,p,\infty}}{\dot{\epsilon}} = \frac{1}{2}cL_c^2\zeta \tag{1.42}$$

où $\zeta = 4\kappa\tau$. On peut réécrire ce résultat :

$$\eta_{p,ext,\infty} = 2B\eta_{p,ext,0} \tag{1.43}$$

avec $B = \frac{3L_c^2}{<R^2>_0} = 3\xi^2$ une fonction directe de l'extensibilité ξ définie précédemment (section 1.1.1).

On retiendra que le modèle Olroyd-B est correct dans la limite des petits nombres de Deborah, c'est-à-dire pour des pelotes peu déformées. Le modèle FENE le complète et donne une vision qualitativement correcte des solutions diluées de polymères proches et loin de l'équilibre. Il permet d'ajuster de manière plus satisfaisante les données expérimentales, éventuellement en utilisant une description avec plusieurs modes de relaxation. L'écart restant avec les mesures a plusieurs sources possibles.

1.2.4 Limitations des modèles

Interaction hydrodynamique Les interactions hydrodynamiques modifient le comportement des chaînes non seulement au repos mais elles varient en fonction de leur conformation, particulièrement dans le régime des fortes déformations. Cet effet peut être en partie inclus dans les modèles en observant que la traînée d'une pelote (sphérique) au repos est de la forme

$$\zeta_{pelote} \propto L_c^{\nu} \tag{1.44}$$

avec ν de 0,5 à 0,6, et que la traînée d'un bâtonnet cylindrique de longueur L_c et diamètre d (modélisant un polymère totalement étiré) est donnée par Bachelor :

$$\zeta_{baton} = \frac{2\pi\eta_s L_c}{\ln \frac{L_c}{d}} \propto L_c \tag{1.45}$$

On a $\zeta_{baton} \gg \zeta_{pelote}$ dans la limite $L_c \to \infty$. En raison de la dépendance logarithmique dans la traînée d'un bâtonnet, cette limite n'est atteinte que pour les polymères excessivement longs avec un rapport d'aspect de l'ordre de $L_c/d \approx 50000$. Pour observer l'hystérésis de la transition il a fallu utiliser de l'ADN long de quelques millimètres [32] car dans le cas de l'ADN λ, un polymère modèle particulièrement utilisé, la trainée ne varie quasiment pas en fonction de la conformation.

Moyenne et distribution On a vu que les distributions stationnaires de conformation étaient très différentes en cisaillement ou en élongation. Ce résultat rend difficilement justifiables les moyennes préalables utilisées pour l'obtention des relations constitutives, et c'est encore plus vrai dans l'étude des régimes transitoires. Par exemple un calcul exact [38] montre que le modèle FENE donne $\eta_{cis} \propto \dot{\gamma}^{-\frac{1}{2}}$ au lieu d'un exposant $-2/3$ pour le modèle FENE-P.

Cette variété des conformations en écoulement des molécules est appelé l'*individualisme moléculaire* [39]. C'est un concept important mis en lumière par les mesures microscopiques sur l'ADN [31]. Elles ont montré que, soumises à un même taux de déformation, les pelotes s'étirent de manière non affine et avec des vitesses très différentes les unes des autres dans un même écoulement. La valeur stationnaire est atteinte pour des déformations totales très différentes allant de quelques unités à plusieurs dizaines. La conformation initiale de la pelote détermine son

évolution et la manière dont elle se déforme, avec toute une zoologie de formes intermédiaires : en trombone plié, en yo-yo, en haltère, etc.

La description de la dynamique non linéaire des solutions de polymères dilués reste au niveau qualitatif avec les relations constitutives simples présentées ici, notamment du point de vue des interactions hydrodynamiques, de l'effet du volume exclu et du comportement individualiste de chaque molécule. L'approche la plus efficace réside actuellement dans la comparaison directe des données expérimentales (visualisation microscopique d'ADN, rhéologie élongationelle de solution modèle) et des simulations de dynamique moléculaire de plus en plus puissantes et contrôlées [7]. Entre autres, la valeur du nombre de Trouton aux grandes déformations, sa dépendance avec le poids moléculaire ainsi que sa décroissance aux hauts taux de déformation ne sont toujours pas expliquées. La rhéofluidication n'est prédite que de manière qualitative. Il n'y a pas d'explication pour les faibles déformations de pelote déduite des mesures de diffusion de la lumière sous écoulement.

Ces questions persistent alors que les écoulements sont simples. Une meilleure compréhension du couplage polymère-écoulement reste à obtenir pour élucider les phénomènes comme la réduction de traînée turbulente, où l'écoulement est beaucoup plus complexe.

L'objet de cette thèse est de corréler la mesure de la viscosité élongationnelle des solutions de polymère dilué à la conformation locale des chaînes au sein de l'écoulement d'élongation. Le chapitre 2 présente le polymère susceptible de permettre cette combinaison : l'ADN λ. Il clôt la première partie de ce mémoire, consacrée à l'introduction des écoulements de solution de polymères dilués. La partie 2 est consacrée à la mesure macroscopique de la viscosité élongationnelle de solutions d'ADN λ, par une technique de détachement de goutte. Enfin la troisième et dernière partie présente deux approches différentes pour accéder à la conformation microscopique des chaines : l'utilisation d'écoulements microfluidiques confinés, naturellement adaptés à la microscopie, et l'immersion des gouttes macroscopiques de la partie 2, impliquant de développer des techniques d'optique correctives.

Chapitre 2

Un polymère doublement intéressant : l'ADN de bactériophage Lambda

L'ADN n'est pas un polymère modèle au sens où peut l'être le polystyrène avec sa structure simple, flexible et un très grand nombre de monomères neutres. Au contraire, l'ADN double brin est un polyélectrolyte semi flexible. Il présente toutefois un ensemble de propriétés avantageuses qui ont permis des progrès fondamentaux dans la compréhension de la dynamique des polymères.

Les deux plus importantes sont d'une part la possibilité d'être *marqué par des molécules spécifiquement fluorescentes* qui permettent d'observer sa conformation à l'échelle de la (macro)molécule unique par microscopie de fluorescence et d'autre part une *dispersité parfaitement définie* grâce à son origine biologique.

Les différents types d'ADN (linéaire) utilisés dans les études se différencient du point de vue du physicien uniquement par leur longueur de contour L_c. Le plus utilisé est l'ADN issu du virus bactériophage Lambda. C'est cet ADN, dit Lambda, que j'utilise par la suite.

2.1 Propriétés physico-chimiques à l'équilibre

2.1.1 Carte d'identité et mise en solution tampon

L'ADN λ est une molécule d'ADN double brin de masse molaire 31,5 millions g/mol comportant 48 502 paires de bases. Sa longueur de contour est $L_c = 16,4$ μm. Une solution d'ADN λ est parfaitement monodisperse s'il n'y a pas eu de dégradation mécanique ou chimique lors de sa préparation.

Solution tampon

L'ADN double brin plongé dans l'eau pure n'est pas stable et se décompose partiellement à température ambiante[1] en ADN simple brin par rupture des ponts hydrogène reliant les deux parties de l'hélice. Dans les expériences décrites plus loin, on utilise une solution tampon dont le pH est ajusté entre 7,5 et 8 avec 10 mM de Tris-HCl. La solution contient aussi 1 à 2 mM d'EDTA pour neutraliser les ions métalliques. La viscosité de la solution est le plus souvent ajustée en ajoutant du sucrose (jusqu'à 65 % en masse) sans que la qualité du solvant soit sensiblement modifiée (note 26 dans [31]).

Écrantage et longueur de persistance

L'ADN est un polyélectrolyte à raison de deux charges par paires de bases. Ces charges conduisent à un gonflement de la pelote dans de l'eau pure [40]. Sa structure en double hélice lui confère de plus une certaine rigidité. Sa longueur de persistance[2] dépend fortement de la force ionique de la solution. La taille de la pelote décroît de manière monotone avec l'ajout de $NaCl$. Elle atteint une valeur minimum constante à partir de 10 mM de sel [42]. L'épaisseur de la double couche de Debye est alors de l'ordre du nanomètre et la molécule d'ADN entourée d'une fine gaine d'eau se comporte comme un polymère neutre, avec une longueur de persistance l_p d'environ 54 nm [43] soit 150 paires de bases. La plupart des expériences sont donc réalisées à cette concentration de $NaCl$.

2.1.2 Comportement de la pelote

Élasticité

Avec $L_c \approx 300 l_p$ les chaines suivent une marche aléatoire (avec de faibles effets de volume exclu) et avec un vecteur bout-à-bout $\vec{R}$ dont la valeur moyenne quadratique est $R_0 = (b_k L_c)^{1/2}$ où $b_k = 2l_p$ est la la taille du maillon de Kuhn. Toutefois en raison de la rigidité importante, la force de rappel n'est pas celle d'une chaîne idéale - dite de Kramers [44]- avec une énergie de courbure nulle aux échelles plus grande que b_k. La force de rappel mesurée pour de l'ADN λ étiré avec des pinces magnétiques [45, 43, 41] correspond à la loi de Kratky-Porod [46] dite du modèle de ver (« wormlike chain »), où le polymère se comporte comme un fil souple de rigidité non nulle [1]. Une excellente approximation de cette relation par Marko et Siggia [41] est

$$\vec{F} = Hf\left(\frac{R}{L_c}\right)\vec{R} \tag{2.1}$$

[1] Cette dénaturation a lieu aussi en augmentant la température. Pour l'ADN λ, assez long, elle est complète au delà de 70-80° Celsius.

[2] De l'ordre de 350 nm à 0,1 mM de sel monovalent [41].

avec

$$f(x) = \frac{1}{6x}\left(\frac{1}{(1-x^2)} - 1 + 4x\right) \tag{2.2}$$

et $H = 3k_bT/b_kL_c$ ce qui permet de retrouver la loi d'élasticité linéaire aux petites déformations.

Il est important de noter que les colorants fluorescents utilisés modifient les caractéristiques des chaînes d'ADN de manière non triviale [47]. Ces molécules sont chargées et interagissent électrostatiquement avec l'ADN en s'insérant plus ou moins dans la structure en double hélice. Le colorant YOYO-1, l'intercalant le plus utilisé, augmente les longueurs de contour [48] et de persistance [49] de l'ADN λ qui deviennent respectivement $L_c = 21\ \mu m$ et $l_p = 66\ nm$. La force de rappel ne semble pas dans ce cas être modifiée [48]. Toutefois d'autres colorants, y compris de la même famille que le YOYO, peuvent donner des résultats différents. Il faut aussi vérifier que lors d'une observation la photodestruction d'une molécule fluorescente ne modifie pas la structure de l'ADN observé. Cela passe par l'ajout d'antioxydants qui ne modifient pas les caractéristiques de l'ADN et par un contrôle de l'intensité lumineuse d'excitation.

Coefficient de diffusion

Une application simple de la microscopie de fluorescence est de déterminer très précisément le coefficient de diffusion D de l'ADN à l'équilibre en mesurant directement la distance quadratique moyenne parcourue par une chaine. Cela donne accès au rayon hydrodynamique R_h et donc au rayon de giration R_g avec un modèle adhoc[3]. De plus, la dépendance en loi de puissance du coefficient de diffusion avec la longueur de contour donne des indications sur la dynamique interne de la pelote [50]. Dans le régime dilué ($10^{-5}c^*$) le coefficient de diffusion pour l'ADN λ marqué au TOTO-1 de longueur 2 à 140 μm varie de 1,94 à 0,14 $\mu m^2/s$ et vérifie $D \propto L_c^{-\nu}$ avec $\nu = 0,611 \pm 0,016$. La valeur de l'exposant indique que le modèle de Zimm dans un bon solvant s'applique aux pelotes [1]. Le temps de relaxation rotationnel suit aussi le modèle de Zimm [51]. La pelote d'ADN se comporte hydrodynamiquement comme une pelote non poreuse et elle suit une marche aléatoire auto évitante (pour cette gamme de masse molaire).

En utilisant le modèle de Zimm on obtient le rayon de giration $R_g = aR_h = a\frac{k_bT}{6\pi\eta D}$ où η est la viscosité du solvant, soit $R_g = 0,73\ \mu m$ avec $a = 1,56$ pour un bon solvant.

[3]Lorsque la quantité de colorant est suffisamment faible, le rayon de giration estimé avec l'intensité des images ne varie pas avec la concentration de colorant, mais cette valeur dépend trop de la chaine de détection.

Volume exclu

Bien que les lois d'échelles en bon solvant s'appliquent, les effets de volume exclu sont assez faibles[4] pour l'ADN λ. Sa raideur conduit à une pelote gonflée assez « aérée » où les interactions de contact de la chaîne avec elle même sont réduites. En conséquence son extensibilité (éq. 1.4) est assez faible bien que cela soit une longue molécule de grande masse. On a $\xi \approx 12$ pour une chaine marquée, valeur atteinte par une molécule de polystyrène de seulement 10^5 g/mol [7].

Interactions hydrodynamiques

Une valeur de l'extensibilité inférieure à une dizaine signifie aussi que les interactions hydrodynamiques varient peu selon que la chaine est en pelote ou étirée [52, 53]. Le rôle des interactions hydrodynamiques s'avère être faible pour décrire la dynamique de l'ADN λ. Toutefois en observant des molécules d'ADN double brin beaucoup plus longues (de l'ordre du mm [32, 54]) les effets d'interactions hydrodynamiques finissent par influencer la dynamique de manière sensible.

Temps de relaxation

La microscopie de fluorescence permet aussi d'observer la conformation de la chaîne et ses fluctuations statistiques [55]. On peut en déduire le temps de relaxation typique des fluctuations. Une méthode plus simple et plus utilisée consiste à étirer la pelote (avec un écoulement, une pince optique, etc.) et à suivre son retour à l'équilibre [12] (voir fig.2.1). On mesure l'étirement x de la chaîne le long de la direction de plus grande déformation au cours du temps. Cette mesure est répétée plusieurs fois pour faire une moyenne d'ensemble des trajectoires. On ajuste ensuite une expression du type

$$< x^2 > (t) = A \exp(-t/\tau) + < x^2 >_0 \tag{2.3}$$

où τ est le temps de relaxation et $< x^2 >_0$ la valeur moyenne à l'équilibre. On ne conserve dans ce calcul que les valeurs de l'étirement vers la fin de la relaxation (par exemple $x/L_c < 0,3$, soit $A = (0,3L_c)^2$). Ainsi la non-linéarité de la loi de force et les modes supérieurs plus rapides ne sont plus présents et c'est bien le mode le plus lent qui est déterminé. Cette méthode donne une valeur proche à 10 % du temps de relaxation de la valeur moyenne du vecteur bout-à-bout carré $< \vec{R}^2 >$, qui est celui utilisé en théorie [56]. De plus il est courant de faire un ajustement pour chaque trajectoire et de prendre la moyenne des temps obtenus, plutôt que le temps de l'ajustement pour la moyenne des trajectoires, le résultat étant sensiblement le même [7].

[4] On peut les inclure dans une longueur de persistence effective, pratique pour la modélisation [7].

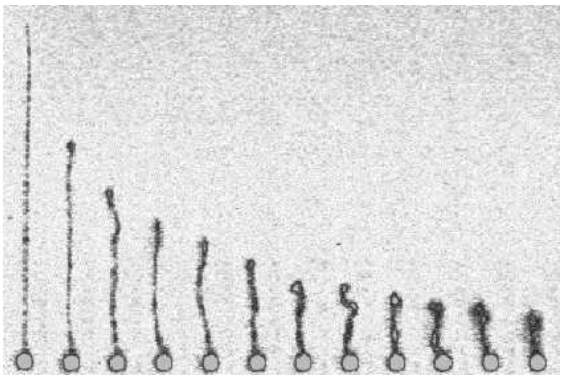


FIG. 2.1 – Images d'après [12] de la relaxation entropique d'une molécule d'ADN ($\approx$ 40 μm) attachée à une bille de latex d'1 μm manipulée par pince optique. L'ADN a été préalablement étiré dans un écoulement uniforme. L'intervalle de temps entre chaque image est de 5 s.

Le groupe de S. Chu [12, 31, 57] a obtenu la relation suivante pour l'ensemble de leurs mesures réalisées avec l'ADN λ marqué :

$$\tau \approx 0,094\eta \tag{2.4}$$

avec τ en s et η la viscosité du solvant en $mPa.s$. Cela donne un temps de relaxation de l'ordre de 0,09 s dans l'eau. Pour l'ADN λ non marqué, des mesures de viscosité intrinsèque, de relaxation de biréfringence ou de contrainte (voir pour une synthèse [7, 55] et plus récemment [58]) permettent d'estimer directement ou indirectement (avec d'autres masses molaires et les lois d'échelle $\tau \propto M^{1,6}$ [12] et $[\eta]_0 \propto M^{0,56}$) le temps de relaxation entre 0,05 s et 0,07 s dans l'eau. La valeur plus élevée pour l'ADN marqué s'explique par une taille de pelote plus importante en présence du colorant.

2.2 Aspects dynamiques de la pelote en écoulement

2.2.1 Conformations en écoulements simples

Outre les propriétés à l'équilibre particulières à l'ADN, la microscopie de fluorescence a permis d'étudier sa dynamique non linéaire en écoulement. Ces observations s'appuient sur un contrôle fin d'écoulements modèles à l'échelle microscopique permis par l'émergence de la microfluidique (voir le chapitre 5).

Ces écoulements font partie de ceux décrits dans la section 1.2.1 pour lesquels le tenseur des taux de déformation comporte une ou deux composantes seulement mais parfaitement définies. Ont été étudiés en particulier :

– le cisaillement simple, aussi bien dans le plan de translation [57, 59, 60] que dans le plan du gradient de cisaillement [35, 61],
– l'élongation plane, obtenue avec des points de stagnation au centre de canaux en croix en se limitant au plan central de cisaillement nul [31, 62] ou par focalisation hydrodynamique de jet [63],
– les écoulements mixtes plans [64]

En ajustant la viscosité du solvant et en contrôlant précisément l'écoulement, les observations portent aussi bien sur le régime stationnaire que le régime transitoire (non pas celui de l'écoulement, peu modifié par quelques molécules isolés en régime ultradilué $c \approx 10^{-5}c^*$, mais celui du comportement des pelotes) pour des nombres de Déborah (ou de Weissenberg) et des déformations totales typiquement compris entre 0,0 et 100.

Les régimes semi-dilué et concentré ont aussi été observés et ont apporté une vérification directe [65] du concept de reptation [66].

Transition de déroulement

L'observation des trajectoires individuelles des molécules a démontré expérimentalement à quel point cisaillement [57, 59] et élongation [31, 62] avaient un effet différent sur l'évolution des pelotes. Elle a confirmé qu'en régime transitoire des pelotes se dérouler sous cisaillement et en élongation lorsque le nombre de Deborah était de l'ordre de l'unité. En revanche les régimes stationnaires associés sont très différents.

Dans le cas de l'élongation, les chaînes tendent vers un étirement stationnaire fonction de $\dot{\epsilon}$. Les trajectoires suivies sont toutefois très différentes et dépendent énormément de la configuration initiale : c'est l'individualisme moléculaire.

Dans le cas du cisaillement, après l'étirement initial, les chaînes se mettent à suivre un mouvement de culbute rotatoire, avec des séries de contraction-étirement. L'état stationnaire correspond à une distribution large des déformations, et n'est atteint que pour des déformations de plusieurs dizaines.

Spécificités de l'ADN λ

Il ressort de toutes ces études quelques particularités propres à la molécule d'ADN λ et liées à sa faible extensibilité. D'une part, bien que la pelote présente certaines propriétés d'un polymère en bon solvant, les effets de volumes exclu modifient peu la dynamique non linéaire. D'autre part la traînée hydrodynamique ne varie quasiment pas que la pelote soit à l'équilibre ou complètement déroulée. En conséquence le modèle d'haltère avec un seul temps caractéristique (compétition élasticité/friction) décrit remarquablement bien la dynamique de cette molécule en régime stationnaire[5].

[5]Le régime transitoire étant lui très dépendant de la conformation initiale exacte de la chaîne en vertu de l'individualisme moléculaire évoqué plus haut

De plus l'étude de la relaxation des chaînes en milieu semi-dilué indique que la dynamique d'une chaîne individuelle est bien décrite par celle d'une chaîne isolée immergée dans un milieu de viscosité effective augmentée (effet de champ moyen des interactions avec les chaînes environnantes) [59].

2.2.2 Rhéologie de cisaillement

La conformation d'une pelote et sa statistique sont donc maintenant bien connues au sein de ces écoulements simples.Ce n'est pas le cas du lien avec le comportement macroscopique, c'est à dire la contrainte. À ce jour une seule étude [67] a réalisé simultanément la mesure de la viscosité instantanée de cisaillement et la visualisation de la conformation des chaînes au sein de l'écoulement (fig.2.2). Elle a permis de faire le lien expérimental entre la conformation microscopique (individuelle puis moyenne) et la contrainte de cisaillement lors du phénomène transitoire de dépassement de viscosité.

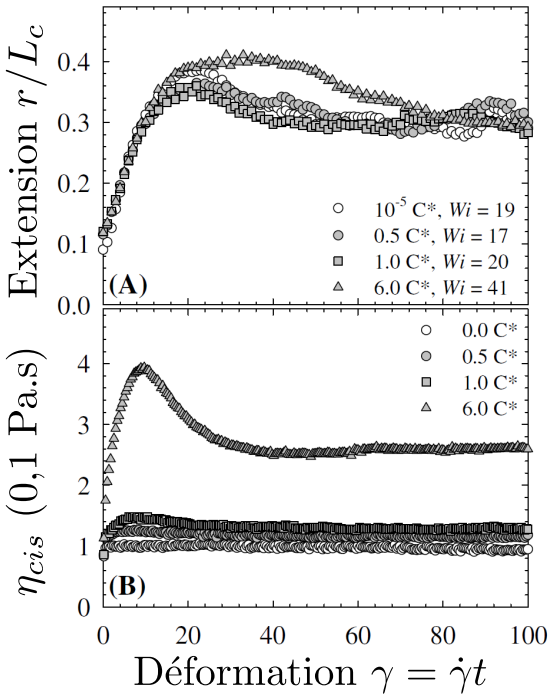


FIG. 2.2 – A) Extension relative moyenne des chaînes en fonction de la déformation du fluide. B) Viscosité de cisaillement instantanée correspondant à la même déformation du fluide. D'après [67].

2.3 Rhéologie élongationelle et turbulence ?

2.3.1 La couche limite en RTT

Le phénomène de réduction de traînée turbulente (RTT) a été observé et étudié avec de l'ADN λ [68], notamment à des nombres de Reynolds modérés (2.10^3 dans [69]). L'importance de la RTT observée est modeste ($< 20\%$). La dégradation des chaînes et la baisse associée de l'efficacité de la RTT correspond exactement (pour les R_e étudiés) à la scission symétrique des chaines en deux sans dégradation ultérieure [68, 70].

Au vu des progrès réalisés dans les écoulements simples grâce à la microscopie de fluorescence, la visualisation de la conformation de l'ADN λ au sein d'un écoulement turbulent en présence de RTT apporterait de précieuses informations pour comprendre ce phénomène.

La couche limite turbulente, typiquement de l'ordre d'une fraction de millimètre dans de l'eau, semble être la zone la plus intéressante pour cette compréhension et est la plus facile d'accès par microscopie. La détermination des composantes du tenseur des conformations en fonction de la distance à la paroi permettrait d'affiner et discriminer les différentes théories et simulations numériques ; par exemple en permettant de vérifier directement la prédiction $R_{yy} \propto y$ de la référence [71], de déterminer où les polymères sont étirés et s'il y a présence d'agrégats supramoléculaires.

2.3.2 Lien avec la viscosité élongationnelle uniaxe

La réduction de traînée turbulente est liée à la résistance à l'étirement des polymères : son intensité est corrélée avec la viscosité élongationnelle uniaxiale [69]. La conformation des polymères soumis à un écoulement élongationnel plan est maintenant bien connue, sans pour autant que la relation avec la contrainte locale soit établie de manière directe.

Dans le cas de l'écoulement élongationnel uniaxial, la visualisation de chaînes d'ADN n'a pas été réalisée, et la relation entre conformations microscopiques et valeurs de la contrainte (caractérisée par la viscosité élongationnelle) n'est pas connue non plus.

La détermination de cette relation constitutive effective, outre son intérêt intrinsèque, permettrait de mieux cerner le rôle de la contrainte polymérique au sein d'un écoulement turbulent (dans le régime de RTT) pour lequel la conformation des chaînes serait connue.

Deuxième partie

Mesures macroscopiques : viscosité élongationnelle

Chapitre 3

Comment mesurer la viscosité élongationnelle ?

3.1 Enjeux

Nous avons vu dans le chapitre 1 que les solutions de polymères pouvaient développer des contraintes très importantes lorsqu'elles sont soumises à une élongation. Ces contraintes modifient en retour les écoulements de manière spectaculaire (siphon sans tube, réduction de traînée turbulente, etc).

L'objectif de ce chapitre est de présenter les techniques permettant de mesurer la viscosité élongationnelle afin de choisir celle(s) qui sera la plus adaptée à une mesure de la contrainte locale de manière univoque et directe tout en permettant une visualisation microscopique de la conformation des chaînes d'ADN.

3.1.1 Notion de viscosité élongationelle

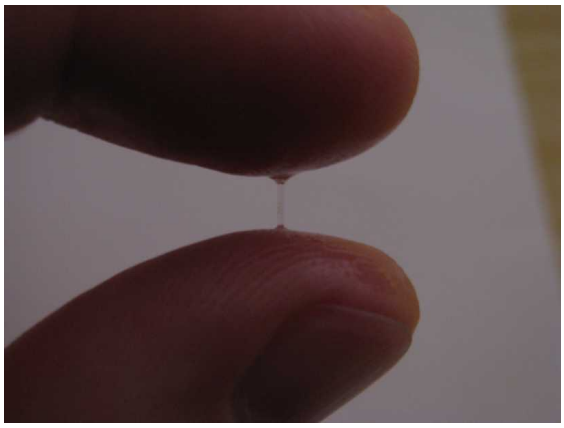


FIG. 3.1 – Filament de salive persistant entre deux doigts.

La viscosité élongationnelle représente la résistance à l'étirement d'un fluide. De nombreux fluides complexes présentent une réponse en élongation qui ne peut être expliqué par leur viscosité de cisaillement. Par exemple la salive dont la viscosité de cisaillement est comprise entre celle de l'eau et celle d'une huile alimentaire forme un filament lorsque que l'on sépare deux doigts à son contact (voir la fig. 3.1). Ce filament peut survivre plusieurs secondes alors que dans le cas d'une huile newtonienne de viscosité de cisaillement équivalente il se rompt en une fraction de seconde.

Lorsqu'un physicien rencontre le terme « viscosité » il pense en général à la viscosité de cisaillement. C'est dû pour une part au contenu des cours de mécanique des fluides qui, même s'ils introduisent les tenseurs des contraintes et des taux de déformation s'empressent en général de les réduire au cas du cisaillement simple d'un liquide newtonien incompressible. Dans ce cas, le caractère visqueux du fluide se réduit à une seule grandeur caractéristique, la viscosité, la précision « de cisaillement » étant alors superflue du point de vue des propriétés du matériau (cf. 1.32).

Pourtant, les écoulements élongationnels de fluides complexes sont omniprésents dans l'industrie (injection, pompage, pulvérisation, etc.). Cela constitue une forte motivation pour la mesure de la viscosité élongationnelle. Cette notion a toutefois été sujette à débat pendant très longtemps en raison de résultats contradictoires (voir 3.2.4), dont la cause principale est la difficulté de la mesure même de la viscosité élongationnelle.

Ainsi, bien que Trouton [72] ait mesuré correctement la viscosité élongationnelle (qu'il appelait « résistance à la traction ») de bitumes et de cires dès le début du siècle précédent, la rhéologie élongationnelle, et par voie de conséquence la notion de viscosité élongationnelle, n'ont fait une réelle percée que lors de la dernière trentaine d'années [73] (alors même que la détermination de la viscosité de cisaillement est très souvent une simple mesure de routine). La réussite expérimentale de Trouton est resté isolée jusqu'à ce que les moyens techniques permettent de mesurer plus aisément la viscosité élongationnelle pour des fluides bien moins visqueux (au repos) que de la cire ou du bitume, c'est à dire de l'ordre de 100 à 10000 fois la viscosité de cisaillement de l'eau.

3.1.2 Définition formelle

Formellement, on désignera par viscosité élongationnelle η_{ext} dans la suite du texte le coefficient de proportionnalité reliant le taux d'élongation $\dot{\epsilon} = \frac{\partial v_z}{\partial z}$ aux contraintes normales d'un écoulement d'élongation uniaxiale selon l'axe z d'un repère cylindrique (r, θ, z) (voir 1.2.1) :

$$\eta_{ext} = \frac{\sigma_{zz} - \sigma_{rr}}{\dot{\epsilon}} \tag{3.1}$$

On a alors $T_r = 3$ pour un fluide newtonien (cf. 1.32). Un écart à cette valeur indique un comportement non newtonien.

Pour tenir compte des fluides complexes dont le comportement n'est pas newtonien, cette définition est étendue au cas où le coefficient est une fonction du taux de déformation[1]. On cherche donc à mesurer la relation $\eta_{ext}(\dot{\epsilon})$ (ou $T_r(\dot{\epsilon})$) pour un fluide étiré au taux $\dot{\epsilon}$ en régime stationnaire.

Cette définition théorique est toutefois difficilement applicable en pratique, comme on le verra dans la section 3.2 sur la rhéologie élongationelle.

3.2 La rhéologie élongationnelle

3.2.1 Principe

La viscosité étant un coefficient de proportionnalité entre un taux de déformation et une contrainte (section 1.2.1, [2]), une mesure en rhéologie consiste à imposer l'une de ces grandeurs au choix (mais de manière exclusive) et à mesurer l'autre simultanément [74]. L'appareil utilisé s'appelle « rhéomètre » et son nom est complété par un qualificatif décrivant son mode de fonctionnement (à taux imposé, à contrainte imposée, de cisaillement, de Couette, etc.) [75].

La mise en application plus ou moins aisée de ce principe simple constitue le domaine de la rhéologie, la mesure de la viscosité élongationnelle étant toutefois moins bien répandue que celle de la viscosité de cisaillement. Je m'attache dans cette section à décrire les techniques utilisables pour mesurer la viscosité élongationnelle en commençant par résumer celles plus familières concernant la viscosité de cisaillement.

3.2.2 Éléments de rhéologie de cisaillement

On appelle *rhéomètre rotationnel* un dispositif dans lequel l'écoulement de cisaillement est obtenu à l'aide de deux surfaces en rotation l'une par rapport à l'autre. La relation entre la vitesse de rotation Ω et le couple C est reliée à celle entre le taux de cisaillement et la contrainte de cisaillement. On distingue les rhéomètres où l'on impose le taux de cisaillement ou bien la contrainte, un type de dispositif pouvant dans certaines limites simuler l'autre mode de fonctionnement à l'aide d'une boucle d'asservissement.

L'avantage principal de ce type de rhéomètre est sa capacité à obtenir un écoulement stationnaire pendant une durée de temps arbitraire. Cela permet aussi d'atteindre des déformations totales élevées, et ceci sur plusieurs ordres de grandeur de taux de cisaillement (10^{-4} à 10^4 s^{-1} typiquement).

[1] De la même manière que l'on étend la définition de la viscosité de cisaillement $\eta_{cis}(\dot{\gamma})$ en tenant compte du taux de cisaillement à laquelle elle est mesurée.

Plusieurs géométries (voir les schémas de la figure 3.2) sont utilisables et permettent d'obtenir des écoulements au sein desquels le taux de cisaillement peut être constant à 1 % près, chacune de ses géométries étant plus spécialisée pour une gamme de paramètres donnés.

On distingue notamment :

- cylindrique : le fluide est placé entre deux cylindres concentriques de rayon moyen R séparés par un entrefer $e \ll R$, la grande surface des cylindres favorisant une mesure précise,
- plan-plan : deux plaques parallèles en vis-à-vis à la distance e, le taux de cisaillement varie en fonction de la distance à l'axe de rotation.
- cône-plan : un cône remplace un des plaques de la géométrie plan-plan ce qui permet d'avoir un taux de cisaillement indépendant du rayon (ce qui n'est vrai qu'approximativement si l'angle α est petit (de l'ordre d'un degré) dans le cas d'un fluide non newtonien)

Un capteur de force placé le long de l'axe de rotation permet de mesurer la première différence des contraintes normales N_1 (éq. 1.20) dans la géométrie cône-plan, et $N_1 - N_2$ en plan-plan.

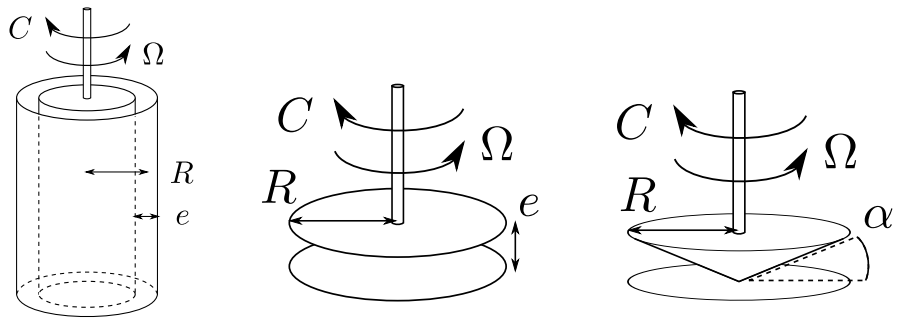


FIG. 3.2 – Les géométries de base du rhéomètre de cisaillement rotationnel

3.2.3 Panorama des techniques de rhéologie élongationnelle

Je présente ici les méthodes servant à mesurer la viscosité élongationnelle que l'on peut trouver actuellement dans la littérature. L'intérêt de chacune dépend de la gamme de paramètres expérimentaux (viscosité du solvant, concentration, élasticité, vitesse d'écoulement, géométrie, temps de mesure, taux de déformation accessible, etc.) dans laquelle elle est la plus performante.

Difficulté et particularité de la rhéologie des écoulements d'élongation

Les écoulements réels comportent en général une composante de cisaillement : la présence des parois entourant le fluide constitue une source de vorticité. Cela rend difficile l'utilisation directe de la définition 3.1, qui sous-tend l'obtention d'un écoulement élongationnel pur. Le rhéologue est donc souvent conduit à utiliser un écoulement mixte et une analyse plus ou moins sophistiquée afin d'en déduire la viscosité élongationelle.

De plus un écoulement en régime stationnaire avec un taux d'élongation constant conduit à une déformation totale qui croit exponentiellement avec le temps (1.2.1). Cela complique le contrôle de l'écoulement (stabilité). De même si l'on impose la contrainte, il faut que l'écoulement reste stable jusqu'à l'obtention du régime stationnaire correspondant.

Enfin, la condition d'écoulement laminaire n'est pas toujours vérifiée, particulièrement pour les solutions peu visqueuses à haut taux de déformation, et il est alors ardu de s'abstraire des effets inertiels lors des mesures.

Lorsque l'on dispose d'un rhéomètre et d'une expérience conséquente en rhéologie de cisaillement il est tentant de vouloir utiliser ce même outil pour l'étude des propriétés élongationnelles. En particulier la mesure des contraintes normales en cisaillement semble pouvoir être reliée à celle des contraintes normales en élongation [76]. Bien que cette approche très indirecte puisse être justifiée au cas par cas si un modèle et un ensemble de corrélations (abaques de correspondance) ont été préétablis elle ne permet pas de déterminer la viscosité élongationnelle a priori si ce travail préalable n'a pas été validé.

Dans le cas des solutions polymériques[2], cela tient essentiellement à l'efffficatité moindre des écoulements de cisaillement à étirer toutes les chaînes de polymères en régime stationnaire. La transition de déroulement y est de nature différente que dans le cas des écoulements élongationnels (voir la section 1.2.3). En dépit des difficultés il est donc fondamental que l'écoulement soit au moins à dominante élongationnelle pour réellement corréler une contrainte et une déformation élongationnelles avec la microstructure de la solution.

Écoulement à dominante élongationnelle

Je sépare dans cette présentation les mesures ayant un point de stagnation dans le référentiel du laboratoire de celles n'en ayant pas. La présence ou non d'un point de stagnation a un impact important sur la durée pendant laquelle il est possible d'observer une même partie de la microstructure du fluide complexe

[2]La nécessité d'un écoulement majoritairement élongationnel est aussi valable pour d'autres types de fluides complexes. Par exemple rien n'exclut que la présence ou non de vorticité puisse jouer un rôle dans le cas des suspensions granulaires concentrées en églongation (bien qu'à ma connaissance il n'y ait pas d'études expérimentales). De plus les solutions de surfactant présentent un comportement différent en cisaillement et en élongation, voire une dépendance complexe avec le pré-cisaillement [77].

étudié. Cette distinction n'est pas définitive car il est parfois possible de rendre symétrique un écoulement (avec un montage plus complexe) et d'obtenir ainsi un point de stagnation dans le référentiel du laboratoire.

Sans point de stagnation (Voir figure 3.3)

Les méthodes de contraction ou siphon [78, 79, 80] Il s'agit de faire passer le fluide par une zone où la section de l'écoulement est fortement réduite (comme dans un entonnoir où une bonde d'évacuation). L'accélération longitudinale créée conduit à un écoulement à dominante élongationnelle, où la microstructure est fortement étirée. Une mesure de l'augmentation de la perte de charge en fonction du débit permet de remonter à une estimation de la viscosité élongationnelle (relativement à l'écoulement d'un fluide newtonien de référence). Les effets inertiels sont importants pour les basses viscosités.

Le filage [81] Un filament de fluide est entraîné par et enroulé sur un volant de manière continue. La mesure du diamètre et de la tension dans le filament (ou du couple du volant) permet de remonter à la viscosité élongationnelle de cet écoulement. La principale difficulté est d'obtenir un filament (liquide) stable, ce qui limite cette méthode aux solvants très visqueux.

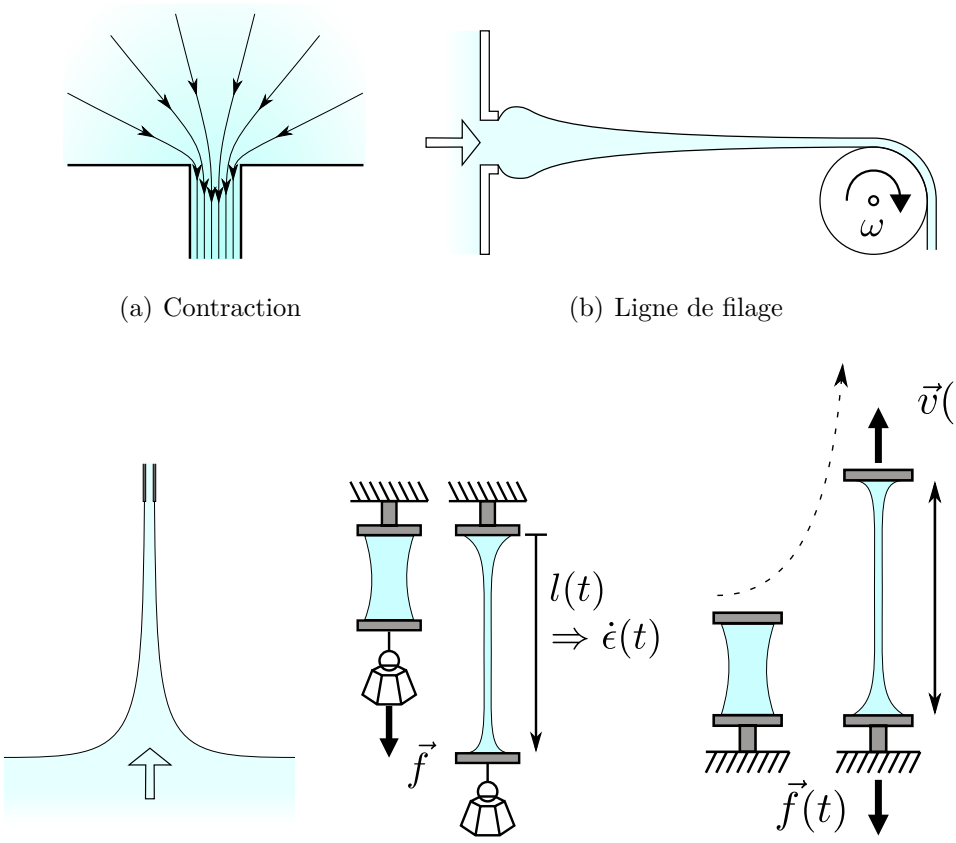
Utilisation de l'effet de siphon sans tube [82] L'aspiration initiale d'un siphon crée une forte zone d'accélération et d'extension. Si la viscosité élongationnelle est suffisament importante il est possible d'aspirer une colonne de liquide (avec sa surface libre) à partir d'un réservoir au repos. La hauteur de cette colonne libre dépend de la gravité et de la viscosité élongationnelle.

Par traction C'est la méthode employée par Trouton. Elle consiste à appliquer une contrainte connue à un échantillon de test. Cette contrainte peut être causée par le poids de l'échantillon lui-même [83] (exemple d'une très grosse « goutte » de fluide), une masse constante supplémentaire accrochée [72], etc. Le défaut majeur de cette technique est que la variation du taux de déformation ne passe pas forcément par une évolution quasi-stationnaire.

Par étirement (FISER^3) [84, 85] Dans ce cas on impose une déformation progressive controlée à l'échantillon testé, et on mesure la contrainte au niveau des points d'attache (les « pieds » du filament formé). La difficulté est ici de maintenir un écoulement avec une déformation qui augmente exponentiellement tout en gardant un filament stable, aussi bien au centre qu'aux pieds (instabilité de fibrilles, filament instable aux faibles viscosités).

En toute rigueur, les deux dernières méthodes ont un point de stagnation autour duquel l'écoulement est purement élongationnel mais il est en translation dans le référentiel du laboratoire, ce qui modère son utilité pour visualiser la microstucture.

Avec point de stagnation (Voir figure 3.4)



(a) Contraction

(b) Ligne de filage

(c) Siphon sans tube

(d) Traction de filament (contrainte controlée).

(e) Étirement de filament (déformation contrôlée).

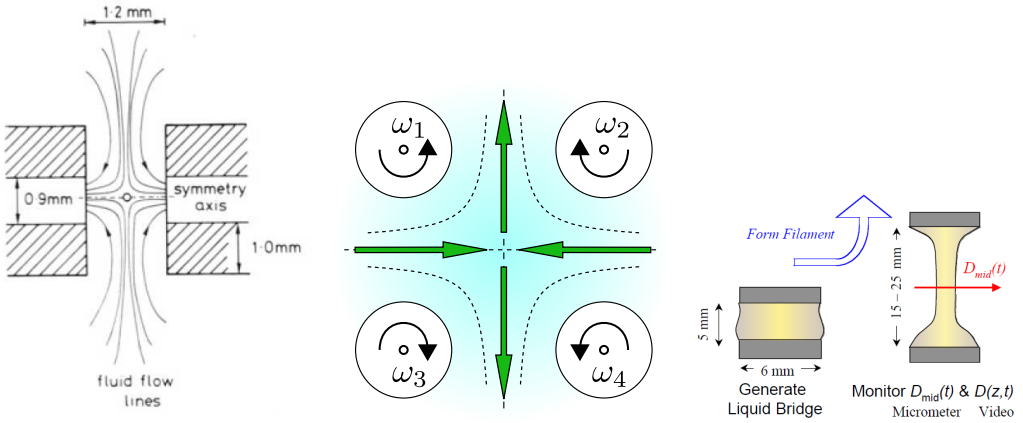
FIG. 3.3 – Les méthodes de rhéologie élongationnelle sans point de stagnation.

Jets opposés Dans cette méthode le point de stagnation est formé au point de rencontre de deux jets aspirés de manière opposée [86]. Le taux de déformation est proportionnel au débit. On mesure la perte de charge de l'écoulement ou la force exercée sur le canal d'aspiration. Si on utilise un canal plan en croix, on mesure la viscosité planaire.

Quatre rouleaux [28] Le point de stagnation est en fait une ligne de stagnation d'un écoulement bidimensionnel généré par la rotation de quatre cylindres verticaux. Le contrôle du sens et de la vitesse de rotation indépendamment pour chaque cylindre permet d'obtenir tous les écoulements mixtes dans le plan allant du cisaillement simple à l'élongation pure. La mesure des couples donne accès à la viscosité planaire dans l'écoulement.

CABER [23] Cela signifie CApillary Break-up Extensional Rheometer. Un pont capillaire (volume de fluide à surface libre, maintenu par la tension de surface entre deux surfaces solides) est placé dans une situation instable qui entraîne sa rupture en deux volumes de fluide distincts. Cette rupture est un écoulement élongationnel dont la dynamique dépend uniquement de la tension de surface et de la viscosité du fluide. L'enregistrement de cette dynamique (qui peut-être très rapide, de l'ordre de la dizaine de milliseconde) permet d'extraire la viscosité du fluide.

Goutte tombante C'est une situation un peu intermédiaire entre CABER et un méthode par traction dans laquelle une goutte maintenue par la tension de surface à l'extrémité d'un capillaire se détache sous son propre poids. L'écoulement est élongationnel et la dynamique du détachement est soumise à la tension de surface, au poids et à la viscosité. Elle peut être incluse dans les méthodes avec point de stagnation quand le poids joue un rôle négligeable [69].



(a) Jets opposés. (b) 4 rouleaux. (c) CABER.

FIG. 3.4 – Les méthodes de rhéologie élongationnelle avec point de stagnation.

3.2.4 Résultats contradictoires

Lors de l'essor expérimental du concept de viscosité élongationnelle, principalement ces 30 dernières années, le caractère disparate[4] des approches de mesures et des résultats est apparu plus clairement [87, 73]. Un grand nombre d'articles (comportant chacun sa propre méthode de mesure) visant à caractériser les fluides complexes conduisaient à des conclusions contradictoires sur la physique de ces fluides (aussi bien au point de vue de la microstructure ou de la relation constitutive qu'à l'explication d'écoulements plus complexes .

Une première étape afin de converger vers une unification cohérente du concept, des mesures et des résultats a été de réaliser des comparaisons entre laboratoires des techniques de mesure *en utilisant le même fluide de test* [88]. Ce fluide devait pouvoir être simple à utiliser, de manière reproductible quel que soit le laboratoire. La figure 3.5 récapitule les mesures de viscosité élongationnelle en fonction du taux d'élongation (associé à chaque instrument) obtenues pour différentes techniques dans différents laboratoires. Elles sont toutes réalisées avec le fluide M1.

Il apparaît clairement que ces techniques de mesures ne sont pas uniquement quantitativement différentes, c'est-à-dire qu'un simple étalonnage ne suffirait pas à les réconcilier. On observe en effet des sens opposés de variation de la viscosité avec le taux d'élongation.

Quelles sont les causes de ces différences ? Quels procédés de mesure donnent accès véritablement à la viscosité élongationnelle ?

3.2.5 Lever l'ambiguité : que mesure-t'on ? Quelle(s) technique(s) choisir ?

La cause des résultats contradictoires lors de la mesure de viscosité élongationnelle est en fait que le graphique 3.5 *ne représente pas LA viscosité élongationnelle* mais différentes grandeurs censées lui être égales. La définition de la viscosité élongationnelle 3.1 n'est pas respectée pour la plupart de ces mesures.

Plus précisément, ce n'est pas la formule telle qu'elle est écrite qui n'est pas appliquée mais plutôt le remplacement de grandeurs locales (taux d'élongation et contrainte) par des grandeurs globales alors que les propriétés de l'écoulement ne sont en général pas uniformes. Cette substitution peut être justifiée dans le cas des fluides newtoniens par un étalonnage du dispositif où a lieu l'écoulement mais cela a peu d'intérêt étant donné qu'une seule viscosité (celle de cisaillement) est nécessaire pour les décrire. Pour des fluides complexes dont la relation constitutive peut être très non linéaire cela limite fortement la validité de ces techniques.

Ce passage à la moyenne est donc mal contrôlé. Le fait que ces grandeurs puissent de plus être instationnaires ajoute à la confusion. Bien que l'écoulement

[4]Cette aspect a en partie été augmenté, avant sa résolution partielle, par le développement du domaine de la matière molle qui a favorisé la confrontation de milieux scientifiques et industriels initialement séparés (polymères, cristaux liquides, biologie).

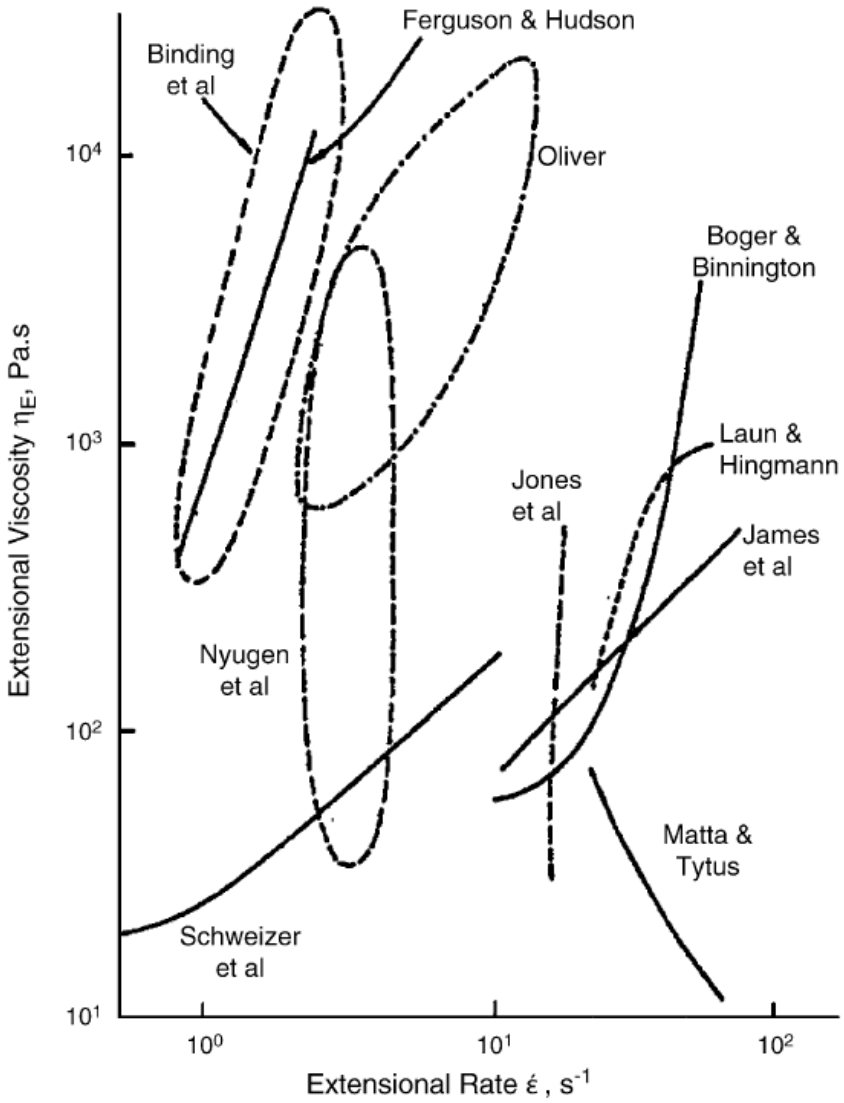


FIG. 3.5 – Comparaison des « viscosités élongationnelles » du fluide M1 mesurées par différentes techniques et équipes, tirée de [88].

en lui-même puisse être stationnaire ou quasi-stationnaire, la microstructure ne l'est pas (la déformation peut être trop faible, la microstructure est inhomogène dans la zone de mesure). Il est alors important de faire la distinction entre $\eta_{ext}(t)$ calculée à partir de la contrainte et du taux d'élongation instantanés (et locaux) et la viscosité élongationnelle η_{ext} par définition stationnaire.

L'utilisation d'écoulements mixtes ou non uniformes, même s'ils sont à dominante élongationnelle, ne permet pas d'obtenir la viscosité élongationnelle recherchée dans le cadre de ce travail : on cherche à relier la conformation microscopique des polymères à la contrainte locale. En l'état ils donnent accès à un indice de viscosité élongationnelle plutôt qu'à la viscosité elle-même. Au prix d'un plus grand nombre de mesures et d'une cartographie détaillée des propriétés de ces écoulements cet indice de viscosité pourrait trouver son utilité. En effet la quantité de données nécessaire est plus importante et le résultat final plus indirect, mais l'obtention de ces données est plus aisée d'un point de vue technique, notamment en vue d'une visualisation in situ de la microstructure. Cette approche sera explorée dans le chapitre 5.

Les méthodes où l'écoulement est à surface libre (écoulement dans l'air) permettent de s'affranchir presque totalement du cisaillement. La principale limitation est l'instabilité de cette surface libre. Dans le cas du siphon sans tube, de la méthode de filage et de celle par étirement contrôlé, cela restreint leur usage aux fluides très visqueux. L'évolution des moyens technologiques (caméras rapides numériques) a permis d'appliquer les méthodes de goutte et CABER au cas des solutions de polymères dilués (avec des solvants aussi peu visqueux que l'eau) [89, 90]. L'instabilité capillaire devient le moyen de créer l'écoulement élongationnel, et dans le cas des solutions de polymères, le taux d'élongation peut-être constant et uniforme. C'est d'ailleurs à l'aide de ces techniques qu'a été obtenue la majeure partie des progrès récent en rhéologie élongationnelle des solutions de polymères dilués [23, 91].

Les méthodes « capillaires » de rupture de surface libre apparaissent par leur simplicité comme les méthodes de choix pour accéder à la viscosité élongationnelle à partir des grandeurs locales. Je décris plus en détail cette technique dans la section suivante (3.3) avant de l'appliquer dans le chapitre 4.

3.3 L'instabilité capillaire : un écoulement élongationnel et une sonde rhéologique

3.3.1 L'instabilité capillaire et la rupture d'une surface libre

Définition d'une surface libre

En mécanique des fluides on appelle *surface libre* l'interface entre un liquide et une phase gazeuse. Cette interface est déformable (exemple d'un jet d'eau), par opposition au cas où l'interface est définie par une paroi solide (par exemple écoulement dans une conduite).

Les molécules situées à la surface libre d'un liquide ne sont pas entourées du même nombre (en moyenne) de molécules que celles qui sont en volume. L'interface est un défaut dans la structure de la phase et une variation d'aire dA par rapport à la situation à l'équilibre coûte une énergie dF (énergie libre de Helmholtz). Dans le cas d'une interface entre liquide et gaz, on appelle *tension de surface* γ l'énergie par unité de surface telle que

$$\gamma = \left(\frac{\partial F}{\partial A}\right)_{P,T} \tag{3.2}$$

La tension de surface peut aussi être comprise comme une force par unité de longueur.

Les écoulements à surface libre ont deux particularités importantes. Premièrement, on néglige très souvent la viscosité de l'air environnant ce qui signifie que la vitesse à l'interface n'est pas fixée (contrairement au cas d'une paroi solide où la condition de non-glissement s'applique en général). Deuxièmement, les contraintes à l'interface dépendent de la tension de surface par l'intermédiaire de la loi de Laplace. Celle ci relie la contrainte normale (locale) d'origine capillaire σ à la tension de surface et à la courbure moyenne C de l'interface (fig. 3.6(a)) :

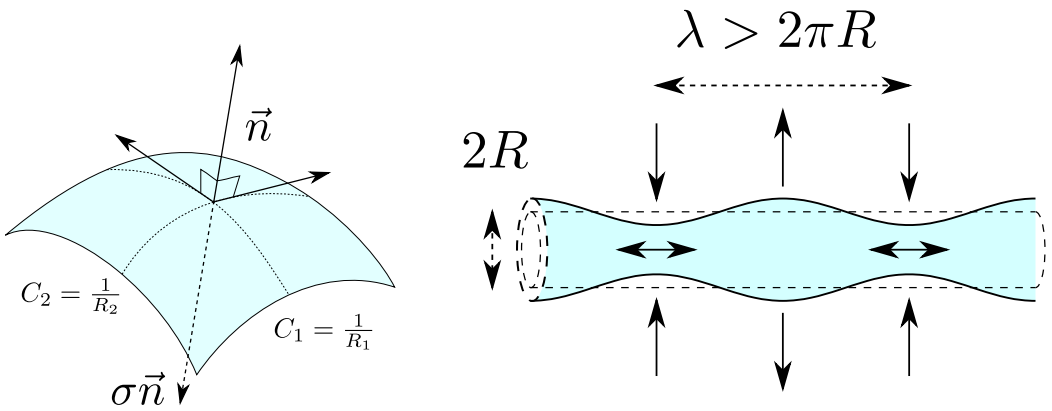
$$\sigma = 2\gamma C = \gamma(\frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2}) \tag{3.3}$$

où R_1 et R_2 sont les rayons de courbure principaux de la surface.

Cette contrainte qui dépend de la forme de l'interface complique la résolution des équations de Navier-Stokes.

Stabilité de l'interface

Instabilité de Plateau-Rayleigh La forme sphérique des gouttes de rosée ou bien la fragmentation d'un jet laminaire en gouttelettes (par exemple avant de toucher le fond d'un évier) sont causées par la tension de surface. Elle conduit un volume donné de liquide à minimiser l'aire de sa surface libre.



(a) Loi de Laplace : la courbure de l'interface cause une différence de pression de part et d'autre de cette interface.

(b) Instabilité de Plateau-Rayleigh.

FIG. 3.6 – Effet de la courbure de l'interface.

Une perturbation de la forme de l'interface peut-être amplifiée ou atténuée selon qu'elle se traduit par une perte ou un gain d'énergie de surface. C'est le mécanisme à la source de l'instabilité de Plateau-Rayleigh [92, 93]. Une analyse par perturbation linéaire de petite amplitude montre qu'une colonne cylindrique (voir fig. 3.6(b)) de longueur L et de rayon R d'un fluide parfait en absence de gravité est instable pour les perturbations de longueur d'onde λ telle que :

$$\lambda > 2\pi R \tag{3.4}$$

L'amplitude de cette instabilité dans l'analyse linéaire suit une évolution exponentielle. Le mode de longueur d'onde :

$$\lambda^* = 2^{\frac{3}{2}}\pi R \tag{3.5}$$

croît plus rapidement que les autres, avec la constante de temps suivante pour l'exponentielle :

$$\omega^{*-1} \approx 0,343\sqrt{\frac{\gamma}{\rho R^3}} \tag{3.6}$$

Cela explique pourquoi les gouttes formées sont de tailles comparables.

La figure 3.7 représente des géométries typiques où la dynamique de l'interface, instable, génère un écoulement à dominante élongationnelle : un jet, une goutte suspendue, un pont capillaire.

Application au pont capillaire Un pont capillaire est une goutte de fluide de volume V_0 maintenue entre deux plateaux circulaires de rayon R_0. La stabilité de

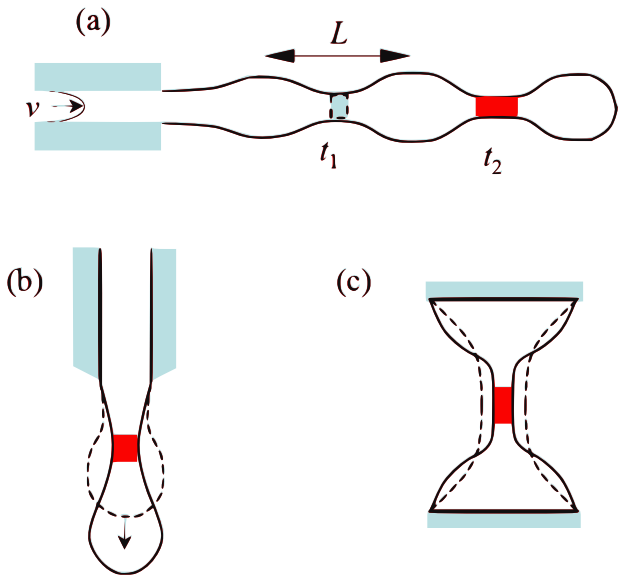


FIG. 3.7 – a) Jet. b) Goutte. c) Pont capillaire. D'après [23]

ce pont dépend de son rapport d'aspect $\Lambda = L/R_0$ et de son volume adimensionné $\Upsilon = V_0/\pi R_0^2 L_0$ (par rapport au volume d'un cylindre droit).

La hauteur maximum d'un pont stable dans le cas du cylindre droit $\Upsilon = 1$ est obtenue pour $\Lambda = 2\pi$ [94, 92]. Si l'on écarte les deux plaques au-delà de cette limite, l'instabilité se déclenche et le cylindre se contracte en son centre jusqu'à ce que les deux plateaux ne soient plus connectés par le fluide. Pour des volumes et des rapports d'aspects différents, la hauteur maximum peut-être plus petite aux plus grande, comme le montre le diagramme de stabilité (fig. 3.8).

Le critère de stabilité est modifié en présence de gravité. L'effet de cette dernière se fait sentir si les dimensions du pont sont de l'ordre de ou supérieures à la longueur capillaire $\lambda_c = (\rho g/\gamma)^{\frac{1}{2}}$, qui représente l'échelle en deçà de laquelle la pression d'origine capillaire domine la pression hydrostatique. La forme d'équilibre du pont capillaire n'est plus symétrique dans ce cas : elle est affaissée.

On utilise le nombre de Bond

$$B_o = \frac{\rho g R_0^2}{\gamma} \tag{3.7}$$

pour comparer l'effet de la tension de surface et de la gravité. On peut voir sur la figure 3.8 que pour $B_o = 0,1$ le domaine de stabilité est déjà fortement réduit. Le diagramme de stabilité (Λ, Υ) complet se trouve dans [95].

Application à une goutte suspendue Une goutte de masse m reste suspendue à un capillaire de rayon R_0 tant que que la résultante des forces dues à la tension

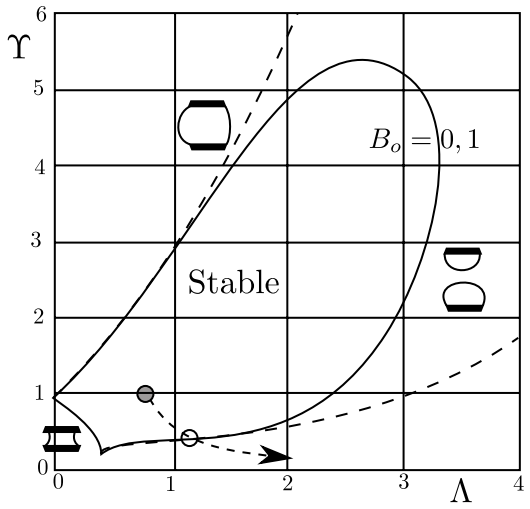


FIG. 3.8 – Diagramme de stabilité des ponts capillaires d'après [95]. La frontière pour $B_o = 0$ est en tiré, et en trait plein pour $B_o = 0,1$. La trajectoire fléchée représente l'évolution d'un pont lorsque l'on écarte les plaques. Au delà de la branche supérieure le pont perd sa symétrie axiale. En dessous de la branche inférieure, le pont se sépare en deux gouttes symétriques ($B_o = 0$) ou asymétriques ($B_o > 0$).

de surface et le poids de la goutte s'équilibrent. Si l'on augmente de manière quasistatique[5] la masse de la goutte en partant d'une situation d'équilibre, celle-ci se détache lorsque l'on a à l'ordre zéro :

$$mg = 2\pi R_0 \gamma \tag{3.8}$$

Ce simple bilan est à la base d'une méthode de mesure de la tension de surface (détaillée dans la section 4.1.1) dans laquelle on pèse les gouttes qui se détachent. En fonction des dimensions du capillaire et des propriétés du liquide (tension de surface et viscosité) le détachement (puis la rupture) aura lieu plus ou moins tôt et dans des configurations différentes (présence d'un filament plus ou moins long). Bien que d'origine capillaire et linéaire, l'instabilité observée n'est pas à strictement parler une instabilité de Plateau-Rayleigh [99] car une goutte qui se détache n'est pas un jet (vitesse uniforme et constante) mais un filament plus ou moins en chute libre (vitesse non uniforme et non constante) ; de plus la forme initiale de l'interface n'est pas cylindrique.

[5]C'est une condition nécessaire si l'on veut pouvoir étudier le détachement d'une goutte sans qu'il soit influencé d'une part par la quantité de mouvement non nulle due à un débit trop élevé d'autre part par le détachement des gouttes précédentes. Un simple robinet qui goutte dans une cuisine peut en effet être le siège de phénomènes chaotiques [96, 97, 98].

Effet de la viscosité Une viscosité non nulle du fluide change la relation de dispersion de l'instabilité [100]. Pour déterminer si la rupture est dominée par la viscosité ou l'inertie on compare le temps caractéristique de l'instabilité de Plateau-Rayleigh (qui fait intervenir inertie et tension de surface) :

$$\tau_{IC} = \sqrt{\frac{\rho R^3}{\gamma}} \tag{3.9}$$

au temps caractéristique construit avec la vitesse capillaire $\frac{\gamma}{\eta_{cis}}$ (qui fait intervenir viscosité de cisaillement η_{cis} et tension de surface) :

$$\tau_{VC} = \frac{\eta_{cis} R}{\gamma} \tag{3.10}$$

On construit le nombre d'Ohnesorge en faisant le rapport de ces deux temps :

$$O_h = \frac{\eta_{cis}}{\sqrt{(\gamma \rho R)}} \tag{3.11}$$

Ce nombre sans dimension peut être relié au nombre de Reynolds du détachement construit avec la vitesse capillaire et le rayon du capillaire. On a alors $R_e = O_h^{-2}$. Le détachement d'une goutte suit l'instabilité de Plateau-Rayleigh inertio-capillaire lorsque $O_h < 1$. Dans le cas contraire le taux de contraction du col dépend de la viscosité, mais l'instabilité repose sur le même mécanisme capillaire. Le taux de croissance du mode le plus instable d'un cylindre visqueux [100] de rayon R est :

$$\omega^{*-1} = \frac{\gamma}{6\pi \eta_{cis} R} \tag{3.12}$$

Le calcul la relation de dispersion de l'instabilité en présence d'un fluide extérieur de viscosité non négligeable a aussi été calculé en détail dans [101].

Rupture finale

L'instabilité de Plateau-Rayleigh décrit l'étape initiale de la rupture. Cette description linéaire n'est pas valide dans la phase finale de la rupture, juste avant la séparation du domaine liquide initial en deux domaines distincts. Lorsque l'on s'approche de cet événement le taux de déformation diverge et le rayon du col évolue de manière algébrique et non plus exponentielle. La dynamique ne dépend plus des conditions initiales, il n'y a pas d'échelle caractéristique extrinsèque.

L'absence d'échelle caractéristique associée à cette singularité conduit à rechercher une solution autosimilaire [102, 103], par analogie avec les phénomènes critiques. Il s'avère que ce problème peut être réduit à un écoulement a une dimension d'espace : l'écoulement est localement longitudinal et l'on peut résoudre les équations décrivant l'évolution de la surface de révolution. On peut observer

différents régimes autosimilaire en fonction des paramètres du problème, certains pouvant être transitoires. On peut réécrire le nombre de Ohnesorge comme :

$$O_h = \frac{\eta_{cis}}{\sqrt{(\gamma \rho R)}} \tag{3.13}$$

Lorsque $O_h \ll 1$, on est dans le régime *inertio-capillaire* (IC) [104, 105, 106]. C'est la solution d'écoulement potentiel. Le rayon du col (zone de la surface de rayon minimum) vérifie :

$$R(t) \propto (\frac{\gamma}{\rho})^{\frac{1}{3}} (t_0 - t)^{\frac{2}{3}} \tag{3.14}$$

où t_0 est l'instant de la rupture.

À l'inverse, si $Oh \gg 1$, on est dans le régime *visco-capillaire* (VC) [100, 107]. C'est la solution de Stokes. Le col évolue linéairement avec le temps :

$$R(t) = 0,0709 \frac{\gamma}{\eta_{cis}} (t_0 - t) \tag{3.15}$$

L'interface est symétrique de part et d'autre du col.

Ces régimes sont en général transitoires car le terme négligé (viscosité ou inertie) devient du même ordre que les deux autres en se rapprochant de la singularité. Dans ce cas $O_h \approx 1$. Autrement dit, les termes visqueux, inertiels et capillaires dans l'équation de Navier Stokes sont du même ordre de grandeur et le nombre de Reynolds local est de l'ordre de l'unité [108, 109]. L'écoulement transite vers cette solution *inertio-visco-capillaire* (IVC) lorsque le rayon du col devient plus faible que la longueur $L_\nu = \frac{\eta_{cis}^2}{\gamma \rho}$. Cela correspond à une dizaine de nanomètres pour de l'eau alors que pour de la glycérine c'est de l'ordre d'un centimètre. Le rayon du col (zone de la surface de rayon minimum) évolue linéairement avec le temps :

$$R(t) = 0,0304 \frac{\gamma}{\eta_{cis}} (t_0 - t) \tag{3.16}$$

où t_0 est l'instant de la rupture. L'interface a une forme fortement asymétrique de part et d'autre du col. La non-linéarité des équations donne un caractère universel à la solution vers laquelle l'écoulement converge à la rupture, c'est-à-dire qu'elle est indépendante des conditions initiales et ne dépend que des propriétés matérielles du liquide.

À mesure que les dimensions de l'écoulement diminuent, d'autres termes deviennent importants [23]. La viscosité du fluide extérieur, même très faible par rapport à celle de la phase interne, finit par modifier la forme de l'interface qui devient conique et symétrique de part et d'autre du col, tout en gardant une décroissance linéaire du col [110]. Dans le cas où les viscosités sont importantes et comparables, on peut passer directement de la solution VC à ce régime sans voir la solution universelle IVC. Enfin, bien que la description hydrodynamique continue soit vérifiée jusqu'à une échelle d'une dizaine de nanomètres, il convient alors d'inclure l'effet des fluctuations thermiques de l'interface.

3.3.2 Intérêt en rhéologie élongationnelle

Fluides newtoniens

Les expressions de la section 3.3.1 montrent que la viscosité joue un rôle lors du détachement d'une goutte lorsque $O_h \geq 1$. Le rayon du col où a lieu la rupture tend linéairement vers zéro, avec une pente proportionnelle à la vitesse capillaire. Le col est le siège d'un écoulement élongationnel dont le taux de déformation diverge en $(t_0 - t)^{-1}$. La grandeur rhéologique pertinente est en fait la viscosité élongationnelle. Les formules présentées font intervenir la viscosité de cisaillement car elles ont été établies pour les fluides newtoniens, pour lesquels $\eta_{ext} = 3\eta_{cis}$.

Si l'on mesure l'évolution temporelle du rayon minimum lors d'une rupture capillaire et que l'on connaît la tension de surface (par une autre méthode), il est alors possible d'en déduire directement la viscosité élongationnelle de l'échantillon en ajustant la relation 3.15 (dans le cas VC) d'où :

$$\eta_{ext} = -0,0709\frac{3\gamma}{\dot{R}} = -0,2127\frac{\gamma}{\dot{R}} \tag{3.17}$$

Cette méthode a été validée expérimentalement dans la référence [111] avec de la glycérine (c'est un fluide newtonien très visqueux). Cette expérience montre que l'on peut non seulement retrouver quantitativement les valeurs tabulées de la viscosité de la glycérine, mais aussi avec une précision qui permet de détecter les variations de sa viscosité causées par sa nature hygroscopique.

Fluides complexes

L'intérêt d'une telle méthode est bien sûr limité pour les fluides newtoniens en raison du rapport de Trouton constant. Elle démontre néanmoins que le détachement d'une goutte ou la rupture d'un pont capillaire constituent une sonde fine des propriétés rhéologiques élongationnelles des liquides. De plus, la divergence du taux d'élongation (jusqu'à plusieurs milliers par seconde) permet d'étendre significativement le domaine d'étude par rapport à une méthode d'étirement contrôlé (quelques dizaines par seconde).

La complexité des relations constitutives (seuil, mémoire, vieillissement, etc.) ne permet pas de déduire de manière simple la contrainte dans le cas général, mais il existe quelques cas modèles.

Liquides à « loi de puissance » La relation constitutive de ces liquides peut être très bien décrite[6] à l'aide d'une viscosité de cisaillement de la forme :

$$\eta_{cis} = a\dot{\gamma}^{n-1} \tag{3.18}$$

[6]Sur un intervalle limité de taux de cisaillement.

où la valeur de l'exposant n implique un comportement de rhéofluidication ($n < 1$), de rhéoépaississement ($n > 1$) ou newtonien ($n = 1$). Les analyses théorique et numérique prévoient que la loi d'amincissement du col dans le régime VC[7] devient [23, 113] :

$$R(t) = b(n)\frac{3\gamma}{a}(t_0 - t)^n \tag{3.19}$$

où $b(n)$ est une fonction polynomiale.

Liquides très viscoélastiques Certains liquides (solutions de polymères, solutions de micelles de tensioactifs [77], solution colloïdes/polymères) présentent une très forte augmentation (typiquement exponentielle) de la contrainte sous élongation. La relaxation de cette contrainte est caractérisée par une constante de temps unique. La rupture capillaire conduit alors à la formation d'un filament cylindrique de rayon uniforme séparant les deux gouttes en formation. La courbure longitudinale le long du filament est quasiment nulle contrairement au cas des fluides newtoniens. Cette forme particulière de l'interface s'explique par la relation constitutive non linéaire de ces fluides. Lors de la rupture le taux de déformation augmente fortement au niveau du col. La microstructure du fluide est déformée ce qui crée des contraintes supplémentaires : la viscosité augmente localement et stabilise la zone de contraction. Ce mécanisme de rétroaction stabilise la colonne de liquide et favorise l'uniformité du rayon.

La contraction du rayon est exponentielle, de la forme :

$$R(t) \propto \exp -\frac{t}{\tau} \tag{3.20}$$

Le mécanisme de rétroaction lors de l'amincissement du filament sélectionne l'échelle de temps caractéristique de relaxation des contraintes de la microstructure. La constante de temps τ de l'exponentielle est reliée à ce temps caractéristique. Le filament se contracte d'une manière autosimilaire avec un taux d'élongation constant et uniforme. La contrainte visqueuse du solvant, la contrainte capillaire et les contraintes dues à la microstructure (par exemple polymériques) sont en équilibre quasi-statique. la forme cylindrique du filament permet d'obtenir simplement la viscosité élongationnelle comme le montre la section 3.3.3.

Une contraction exponentielle ne permet pas la rupture en un temps fini du filament. Cette dernière a néanmoins lieu (dans le scénario le plus simple) lorsque la déformation de la microstructure sature : il y a alors un basculement vers un régime algébrique avec une viscosité effective constante.

[7] L'exposant est aussi n dans le régime IVC [112].

3.3.3 Application au cas des polymères dilués : régime viscoélastique-capillaire (VEC)

Les idées de la section 3.3.2 s'appliquent en particulier aux solutions de polymères dilués. C'est ce domaine qui bénéficie le plus des avancées de la mesure de la viscosité élongationnelle par les méthodes capillaires (CABER [90] et méthode de goutte).

La dynamique de rupture viscoélastique capillaire des solutions de polymères dilués est déterminée principalement par la transition de déroulement des pelotes (voir chapitre 1). Initialement l'évolution de la rupture se différencie peu de celle d'un fluide newtonien de viscosité de cisaillement équivalente. Cependant, comme le taux de déformation $\dot{\epsilon}$ diverge il finit par être de l'ordre de l'inverse du plus long temps caractéristique du polymère τ. La transition de déroulement a lieu lorsque $De = \dot{\epsilon}\tau \approx 1$ et les pelotes polymères sont alors étirées. L'augmentation locale de contrainte associée stabilise le filament cylindrique par le mécanisme de rétroaction précédemment décrit (3.3.2).

Description mathématique du filament

Une tranche du filament [23] initialement de rayon R_0 à la position Z_0 sera à la position Lagrangienne $z(Z_0, t)$ à l'instant t. L'interface est décrite par $R(z(Z_0, t), t)$. Son évolution quasi-statique en régime VC découle du bilan de contrainte :

$$\frac{F(t)}{\pi R^2} = 3\eta_{cis}\dot{\epsilon} + (\sigma^p_{zz} - \sigma^p_{rr}) + \frac{\gamma}{R}\left(\frac{1}{(1+R_z^2)^{\frac{1}{2}}} + \frac{RR_{zz}}{(1+R_z^2)^{\frac{3}{2}}}\right) - \frac{\rho g R_0^2 Z_0}{R^2} \qquad (3.21)$$

où le taux d'élongation est :

$$\dot{\epsilon} = -\frac{2}{R}\left(\frac{\partial R}{\partial t}\right)_{Z_0} \qquad (3.22)$$

$F(t)$ est une force uniforme appliquée le long du filament, l'indice z désigne la différenciation le long de l'axe z et $\sigma^p_{zz} - \sigma^p_{rr}$ est le terme non-newtonien de contraintes normales.

L'obtention de la viscosité élongationnelle non stationnaire dans le cas des liquides très viscoélastiques est paradoxalement plus simple que pour les liquides newtoniens. En effet les contraintes d'origine viscoélastique sont très importantes et rendent souvent l'inertie complètement négligeable, comme dans le régime VC. De plus la forme cylindrique du filament permet de simplifier le bilan précédent avec les hypothèse suivantes. La courbure de l'interface est constante et vaut R^{-1} et le filament est connecté à deux réservoirs hémisphériques où la pression capillaire est négligeable (leur rayon de courbure est bien plus grand que celui du filament). Ces deux réservoirs permettent de s'affranchir de la condition de non-glissement aux extrémités du filament. La gravité (le dernier terme, par l'intermédiaire de la

pression hydrostatique) joue un rôle négligeable au sein du filament. Enfin, si l'on suppose que la force exercée sur le filament est uniquement dûe à la tension de surface au niveau des jonctions des gouttes, on a $F(t) = -2\pi\gamma R$. Le bilan devient :

$$3\eta_{cis}\dot{\epsilon} = (\sigma^p_{zz} - \sigma^p_{rr}) + \frac{\gamma}{R} \tag{3.23}$$

On regroupe ensuite le terme des contraintes non-newtonienne et celui de la viscosité du solvant pour écrire :

$$(\sigma^p_{rr} - \sigma^p_{zz}) + 3\eta_{cis}\dot{\epsilon} = \eta_{ext}\dot{\epsilon} \tag{3.24}$$

Avec l'expression 3.22, l'équilibre quasi-statique entre l'effet de contraction de la tension de surface et la viscoélasticité conduit à l'estimation suivante pour la viscosité élongationnelle transitoire :

$$\eta_{ext}(\dot{\epsilon}, t) = -0,5\frac{\gamma}{\dot{R}} \tag{3.25}$$

Cette expression ne diffère de l'équation 3.17 du cas VC newtonien que par un facteur 2,35. Cette différence provient de la courbure non uniforme de l'interface lors de la rupture d'un fluide newtonien. L'expression 3.25 n'est valable que lorsque le filament est un cylindre droit (avec une courbure moyenne uniforme $1/2R$) [111].

Application

Viscosité élongationnelle transitoire La formule 3.25 permet d'extraire la viscosité élongationnelle transitoire $\eta_{ext}(\dot{\epsilon}, t)$ lors de l'amincissement exponentiel du filament cylindrique. On exprime la viscosité (ou le rapport de Trouton) transitoire en fonction de la *déformation totale* :

$$\epsilon(t) = \int_0^t \dot{\epsilon}dt = -2\ln\left(\frac{R(t)}{R(0)}\right) \tag{3.26}$$

subie par le fluide, en précisant le taux de déformation (constant) sélectionné par le filament. Le rapport de Trouton peut atteindre des valeurs de plusieurs milliers avant saturation.

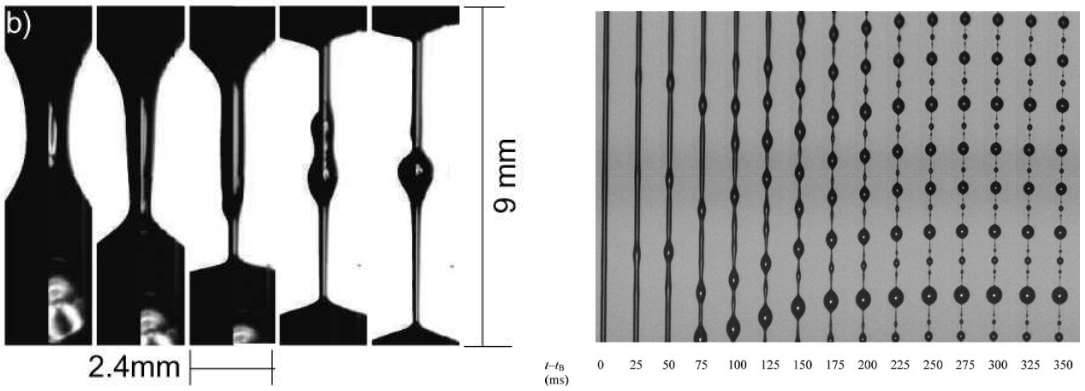
Il faut noter que le préfacteur est un peu plus de deux fois plus grand en valeur absolue que dans le cas visqueux newtonien (éq. 3.17). Cette différence est due à la présence ou non de la courbure longitudinale dans chacun de ces cas (non localité des équations [23]). La formule précédente est valide quand le filament est un cylindre droit, ce qui n'a lieu qu'en présence de contraintes croissantes et non linéaires.

Effet de saturation : viscosité élongationelle stationnaire Si aucun autre mécanisme de déstabilisation n'intervient, il est possible d'observer la saturation de la déformation des chaînes qui sont de longueur finie. Le fluide se comporte comme un fluide de viscosité effective anisotrope et constante. Le filament se rompt alors selon un régime VC et l'on peut extraire la viscosité élongationnelle stationnaire de l'évolution linéaire du rayon du col (le filament n'est plus à section uniforme) avec la formule 3.17. Les méthodes capillaires permettent d'atteindre une déformation totale de l'ordre de la dizaine [114], mais ce n'est pas toujours suffisant pour observer cette valeur stationnaire.

Instabilités secondaires L'application de la méthode capillaire est limitée par l'apparition d'instabilités secondaires.

Il peut apparaître une goutte satellite (fig. 3.9(a)) au centre des filaments lors de certaines ruptures [115]. C'est le cas lorsque le temps de relaxation du polymère est trop faible par rapport au temps caractéristique de l'instabilité de Plateau-Rayleigh (donc souvent pour les solvants peu visqueux).

Plus tard un filament cylindrique peut aussi être déstabilisé par la compétition entre la relaxation des chaînes et l'inertie. Il se forme un collier de gouttelettes (fig. 3.9(b)) le long du filament [116, 117, 118, 119]. Ce processus peut se répéter de manière itérative, avec une hiérarchie de taille de gouttelettes. Il est encore possible d'extraire la viscosité de la dynamique des filaments secondaires, mais cela rend la méthode beaucoup plus lourde à appliquer en pratique et plus dépendante de l'ensemble du processus de détachement.



(a) Goutte satellite pour une solution de 100 *ppm* de POE 4.10^6 g/mol dans de l'eau [115].

(b) Collier de perles itérées avec une solution de POE 4.10^6 g/mol à $c \approx 3c^*$. Séquence d'images 226 μm x 2317 μm [118, 119].

FIG. 3.9 – Deux instabilités limitant le domaine d'utilisation des méthodes capillaires.

Chapitre 4

Détachement de gouttes d'ADN et mesure de la viscosité en immersion

Dans ce chapitre je mesure la viscosité élongationnelle de solutions d'ADN λ en régime dilué par la méthode du détachement de goutte d'un capillaire. Cette méthode donne accès de manière simple à la contrainte causée par les polymères en élongation. L'objectif sous-jacent est d'utiliser cette technique pour observer les chaînes d'ADN par microscopie de fluorescence.

La microscopie n'est pas directement possible à cause du dioptre courbe constitué par l'interface air/solution. Pour s'en affranchir nous immergeons l'échantillon dans un liquide de même indice de réfraction que l'échantillon (dans le chapitre 6). Il nous faut donc préalablement déterminer si et sous quelles conditions cette méthode permet encore de déterminer la viscosité élongationnelle lorsque l'échantillon testé est immergé dans un liquide isoindice.

La mesure de la viscosité élongationnelle pour une solution diluée nécessite en général une caméra rapide (1000 Hz), tout en laissant une grande liberté d'organisation du montage (elle est de type macroscopique). Au contraire la microscopie de fluorescence se fera avec une caméra plus sensible mais plus lente (15 Hz), et avec des contraintes de distance de travail. Outre l'adaptation de l'indice optique il faut déterminer le jeu et les gammes de paramètres pertinents (caractéristiques des échantillons, du milieu d'immersion, etc.) pour combiner ces deux techniques aux exigences contradictoires.

Je décris tout d'abord la mise en place de cette technique ainsi que les caractéristiques, contraintes et choix concernant les échantillons. Puis je compare le détachement d'un liquide newtonien visqueux dans l'air (cas usuel et connu) au détachement dans un liquide d'immersion, avant de faire la même analyse pour la solution viscoélastique d'ADN. Je conclus par une comparaison entre détachement de goutte et pont capillaire.

4.1 Méthodes

4.1.1 Choix, préparation et caractérisation des liquides utilisés

Techniques de mesure des propriétés

Viscosité de cisaillement Elle est mesurée avec un rhéomètre à contrainte imposée (Reologica Stresstech) équipé d'une géométrie cône-plan de diamètre 50 mm et d'angle 1°. Le taux de cisaillement est contrôlé à l'aide d'une boucle de rétroaction. La gamme de taux de cisaillement accessibles donnant des mesures correctes dépend de la viscosité du liquide. Dans cette géométrie et pour une viscosité typique de nos solutions d'environ 100 $mPa.s$, le taux de cisaillement est compris entre 10 et 2000 s^{-1}. Un échantillon est soumis à une série de taux de cisaillement avec un balayage aller et retour de la gamme. La mesure des contraintes a lieu pendant 10 secondes et chaque mesure est séparée de la suivante par un temps d'attente constant de 10 secondes (respectivement 30 et 30 secondes pour le nonane) afin d'atteindre une situation stationnaire.

Un couvercle en plastique est ajusté autour de l'ensemble cône-plan afin de rendre négligeable l'évaporation d'une partie de l'échantillon (eau ou nonane) ou l'absorption d'eau (glycérol). La température est celle de la pièce, soit $20 \pm 1°C$.

Cette géométrie permet aussi de mesurer la première différence N_1 des contraintes normales de cisaillement grâce à un capteur de forces axiales. La résolution est d'environ 20 Pa.

Tension de surface J'ai utilisé la méthode du poids de la goutte et la méthode de l'anneau. La première consiste à déterminer le poids d'une goutte lorsqu'elle se détache d'un capillaire. On augmente de manière quasi statique le volume de la goutte initialement à l'équilibre. Au moment où elle se détache la force résultante exercée par la tension de surface est en quasi équilibre avec le poids de la goutte. La connaissance de la masse tombée, de la gravité, de la densité et du rayon du tube permettent d'estimer simplement la tension de surface à l'ordre zéro (loi de Tate [120]) avec la relation suivante :

$$\rho g V_T = 2\pi R\gamma \tag{4.1}$$

où V_T est le « volume idéal » de la goutte défini par la relation 4.1.

En pratique $V \leq V_T$, où V est le volume réel. La masse pesée n'est pas celle de la « goutte idéale » : une partie reste attachée au capillaire. Cette quantité dépend de la tension de surface γ, du rayon du capillaire R, de la constante de gravité g, de la masse volumique ρ ainsi que de la viscosité du fluide η et du débit Q. De plus le cosinus de l'angle de contact au niveau de la ligne triple (sur le capillaire) est en général inférieur à l'unité. Un facteur correctif empirique (fonction du volume pesé, du rayon du capillaire et de la tension de surface) a été tabulé pour des

Nombre de	Expression	Comparaison
Bond	$B_o = \frac{\rho g R^2}{\gamma}$	tension de surface / gravité
Ohnesorge	$O_h = \frac{\eta}{(\rho R \gamma)^{\frac{1}{2}}}$	viscosité / inertie
Weber	$W_e = \frac{\rho Q^2}{\pi^2 R^2 \gamma}$	tension de surface / inertie

TAB. 4.1 – Adimensionnement possible du détachement de la goutte.

liquides peu visqueux (eau, benzène) [121] puis étendu au cas d'autres liquides simples (notamment dodécane et glycérol) [122]. Le rapport $\psi = V/V_T$ du volume réel au volume idéal (si la loi de Tate était exacte) de la goutte est une fonction du rapport $\Phi = R/V^{\frac{1}{3}}$. Si le détachement est quasi statique ($Q \approx 0$) et le liquide newtonien, la précision est de l'ordre de $\pm 0,5\ mN/m$.

Les capillaires que j'ai utilisés sont en acier inoxydable de diamètre 1 ou 2 mm. Dans le cas de goutte se détachant dans l'air c'est le diamètre externe du tube qui est pris en compte car les liquides mouillent l'acier. En revanche pour une mesure de tension de surface liquide-liquide cela peut être le diamètre intérieur en fonction de la mouillabilité de l'acier par chacun des liquides présents.

Suivant l'approche de [93] et [123] pour le cas potentiel à débit nul, Les auteurs de la référence [124] ont utilisé le théorème de Buckingham [125] pour reformuler ce problème en en fonction d'un autre jeu de variables sans dimension (voir le tableau 4.1). Cela permet d'inclure l'effet du débit et de la viscosité. Ils ont montré en faisant varier ces nombres systématiquement dans des simulations que le poids de la goutte détachée est indépendant du nombre d'Ohnesorge (donc de la viscosité) dans la limite des petits nombres de Weber (le débit tendant vers 0). Ils ont obtenu une relation simple ($W_e \to 0$) :

$$B_o = 3,60.\Phi^{2,81} \tag{4.2}$$

Cette relation permet d'étendre la méthode du poids de la goutte à des liquides de viscosité très importante en contrôlant la précision de la mesure. Lorsque $O_h \approx 1$ l'erreur sur cette relation est de moins de 1 % si $W_e < 10^{-5}$, et si $O_h = 10$ il faut pour avoir la même erreur $W_e < 10^{-7}$ [124]. Dans le cas du glycérol, on a $O_h \approx 4$ ce qui conduit à des débits inférieurs à 10 $\mu l/s$ (faciles à obtenir avec un pousse-seringue) pour vérifier $W_e < 10^{-7}$.

Cela ne permet pas pour autant de justifier son utilisation pour un fluide complexe présentant une inhibition de la rupture capillaire avec un filament à longue durée de vie. Dans cette situation la masse qui reste attachée au capillaire pourrait être différente de celle d'un fluide de viscosité équivalente constante. Pour vérifier ce point j'utilise la méthode de l'anneau. Elle consiste à mesurer la force maximale exercée sur un anneau (ici en platine) lors de son passage quasistatique à travers une interface. L'appareil est celui du service d'enseignement de physique de l'ENS. Après étalonnage, l'opérateur ajuste la position relative de l'anneau par rapport

à l'interface et lit simultanément sur un cadran la force instantanée (mesurée par un ressort).

Les tensions de surface déterminées avec la méthode de l'anneau sont toutes similaires à celles déterminées par la méthode du poids de la goutte : à 1 % près dans les cas newtoniens et à 4 % près pour les solutions d'ADN λ.

J'utilise aussi ces deux méthodes dans le cas des interfaces liquide-liquide. Il faut alors tenir compte de la poussée d'Archimède.

Indice optique L'indice optique est déterminé avec un réfractomètre à prisme (d'Abbe) et affichage gradué. Les indices mesurables sont compris entre 1,300 et 1,600, avec une résolution de 0,001 en éclairage monochromatique. La dispersion des échantillons et la sensibilité de l'oeil (non uniforme sur le spectre) donnent seulement accès à une valeur moyennée sur le spectre visible. Les tables de propriétés [126] donnent l'indice moyen pour quelques raies d'éléments caractéristiques (principalement n_D pour la raie D du sodium à 589 nm). La mesure de l'indice d'un échantillon d'eau pure avec de la lumière blanche en tenant compte de la température ($n_D = 1,333$ à $20^{\circ}C$) me permet de retrouver les valeurs tabulées à 0,001 près. J'ai vérifié cette précision avec d'autres liquides purs (la série des alcanes linéaires de 6 à 15 carbones, de l'éthanol à 99,9 %) et de l'eau sucrée ou salée (respectivement avec des concentrations déterminées à la *ppm* près de sucrose anhydre et de $NaCl$). La résolution du réfractomètre est bien 0,001 sous lumière blanche.

Je vérifie l'état du réfractomètre avant chaque mesure de l'indice optique d'un échantillon en commençant par celle de l'indice de l'eau ultrapure.

La mesure de l'indice du glycérol (et des solutions où le glycérol est majoritaire) doit être faite en quelques secondes et si possible dans une atmosphère peu humide car il est très absorbant. Cette remarque s'applique aussi aux solutions de sucre très concentrées du chapitre 6. Dans ces cas, l'incertitude sur la mesure devient $\pm 0,002$.

La précision de la mesure de l'indice optique permet inversement de vérifier la concentration des solutions eau-glycérol-ADN avant et après leur utilisation, particulièrement après avoir été stockées plus de quelques jours.

La solution d'ADN

Nécessité d'un solvant visqueux en régime dilué L'ADN λ a un temps de relaxation de l'ordre de 0,05-0,07 s dans l'eau (cf. 2.1.2). Cela permet de l'étirer avec des écoulements de taux de déformation relativement modestes, bien plus faibles que ceux observés dans une rupture capillaire. Toutefois en raison de sa faible extensibilité le coefficient de traînée d'une chaîne en solution ne change que d'un ordre de grandeur entre l'état de pelote et l'état complètement étiré. Les effets viscoélastiques lors d'une rupture capillaire sont donc moins facilement observables

que par exemple pour d'une solution de POE. L'augmentation de viscosité élongationnelle lors du détachement d'une goutte de POE en régime dilué dans de l'eau est suffisamment importante pour passer brusquement d'un régime de détachement inertiel (IC) avec $\dot{\epsilon} = 1000\ s^{-1}$ à un régime visco-capillaire (VC) pouvant durer plusieurs centaines de millisecondes avec $\dot{\epsilon} = 50\ s^{-1}$ [89]. Le détachement d'une goutte de solution d'ADN λ en régime dilué dans de l'eau n'est en revanche pas sensiblement différent de celui d'une goutte d'eau pure : les contraintes inertielles dominent les contraintes dues aux polymères tout le long de la rupture.

L'augmentation de viscosité du solvant fait disparaître le régime inertio-capillaire au profit du régime visco-capillaire. De plus, les contraintes polymériques en régime dilué sont proportionnelles à la concentration du polymère et à la viscosité du solvant. J'ai donc cherché à avoir la concentration la plus élevée tout en restant en dessous du régime concentré et à augmenter la viscosité du solvant afin d'observer des effets viscoélastiques suffisamment importants (i.e. une longue durée de vie du filament) pour être observables sans caméra rapide (et avec la caméra intensifiée).

J'ai choisi de travailler à la concentration de recouvrement $c^* = 40\ ppm$ définie par le critère $\frac{4}{3}\pi R_g^3 c^* = 1$ (voir 1.1.1 ; dans cette formule c^* est le nombre de chaînes par unité de volume). Bien que cela corresponde en théorie au régime semi-dilué, les expériences de visualisation directe de l'ADN montrent qu'à cette concentration une chaîne d'ADN λ se comporte comme une chaîne isolée dans un milieu de viscosité effective légèrement augmentée [59] et d'autre part que la reptation n'apparaît que vers $10c^*$ (600 ppm dans [65]).

Conséquences L'augmentation de la viscosité du solvant est obtenue par l'ajout de glycérol [12, 69]. C'est un liquide (newtonien) ce qui le rend beaucoup plus facile d'utilisation que les sucres (solides) à haute concentration. La viscosité du glycérol pur à 20° Celsius est environ 1,4 $Pa.s$ soit trois ordres de grandeur plus importante que celle de l'eau. Il est nécessaire de travailler avec le glycérol comme composant majoritaire du solvant (typiquement plus de 80 % en masse pour avoir $\eta_{cis} \geq 0,1\ Pa.s$, c.f. figure 4.1) pour obtenir un régime de rupture visqueux (voir la section 3.3.2 et la référence [111]). Cela a deux conséquences importantes : une augmentation marquée de l'indice de réfraction de la solution et un changement de solvant pour l'ADN.

La structure et la stabilité des chaînes d'ADN dans un solvant où l'eau est minoritaire ne sont pas bien connues, sauf pour le cas du sucrose et du glucose. Si l'ajout de sucrose ou de glycérol jusqu'à 65 % en masse à une solution tamponnée standard ne semble pas modifier significativement les propriétés de l'ADN ([12] et note 26 dans [31]), les données pour des solutions de glycérol de l'ordre de 90% sont rares. J'ai pu vérifier qu'au moins jusqu'à 95 % de glycérol, le solvant obtenu n'était pas un mauvais solvant, c'est-à-dire que la solution d'ADN reste indéfiniment limpide et stable. Ceci est confirmé par des images en microscopie de fluorescence de chaînes d'ADN dont le rayon de gyration est compatible avec celui

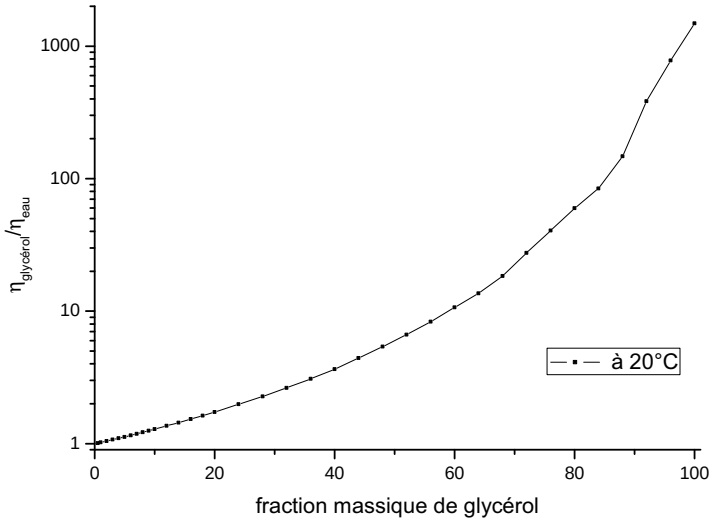


FIG. 4.1 – Viscosité de cisaillement relative à celle de l'eau du mélange eau-glycérol en fonction de la concentration massique de glycérol d'après [126].

mesuré dans un tampon standard ou sucré. La structure en double brin existe jusqu'à 99% en glycérol [127]. Toutefois des études de stabilité de l'ADN dans des solutions de polyols [128, 129, 130] suggèrent une légère modification de la structure (angle) de la double hélice dans ces conditions, ce qui pourrait entraîner des variations du temps de relaxation des chaînes autres que celles causées par le changement de viscosité.

Ce résultat est valable aussi bien dans le cas où le glycérol est ajouté pur à un volume donné d'ADN tamponné (ce qui réduit la concentration finale de TRIS-HCl, d'EDTA et NaCl) que dans le cas où la solution finale (ADN-glycérol) est complétée pour conserver les concentrations initiales des constituants du tampon. C'est assez étonnant car ces deux situations correspondent à des concentrations d'eau, de TRIS-HCl et de NaCl très différentes qu'il n'est pas évident de relier au pH et à la force ionique de la solution tampon usuelle. La difficulté à définir un pH et la force ionique du NaCl dans une solution à 90 % de glycérol ne permet pas d'extrapoler les résultats sur la flexibilité de l'ADN en solution aqueuse, et donc l'effet sur le temps de relaxation.

La dernière conséquence de l'ajout de glycérol est l'augmentation de l'indice optique de l'échantillon. Elle n'a pas d'incidence en elle-même sur le détachement de goutte et la mesure de viscosité élongationnelle. C'est en revanche une source de complications importantes dans le chapitre 6 consacré à la visualisation in situ de la conformation des chaînes par microscopie. Dans le présent chapitre, l'adaptation d'indice optique n'est pas réalisée car on s'intéresse à l'effet du fluide extérieur sur

la dynamique de détachement des gouttes.

Préparation L'ADN λ est acheté chez Sigma-Aldrich sous forme de solution à 512 ppm dans un tampon de Tris-HCl à 10 mM, $pH = 7$, avec 1 à 2 mM d'EDTA. Il est conservé sous cette forme à -20 $^{\circ}C$.

Pour préparer 10 ml de solution d'ADN à 40 ppm[1] dans du glycérol à 95% en masse, je dilue tout d'abord 780 μl d'ADN à 512 ppm dans 800 μl glycérol anhydre à 99 % (Sigma-Aldrich). Après un mélange par rotation lente pendant une à deux minutes jusqu'à disparition des inhomogénéités d'indice de réfraction, la viscosité du solvant est de l'ordre de 5 mPa.s avec 50 % de glycérol à $T = 20$ $^{\circ}C$. Cette étape permet un meilleur mélange que l'ajout direct de l'ADN dans un volume complet de glycérol. Un léger chauffage à 40 $^{\circ}C$ est parfois utilisé[2] ce qui diminue la viscosité. Puis je répète deux fois une dilution (avec du glycérol pur) et le mélange jusqu'à obtenir une solution homogène de 10 ml. Si la solution finale doit contenir moins de 95 % en masse de glycérol, je commence par diluer l'ADN dans un tampon Tris-HCl pH 8 avant d'ajouter le glycérol nécessaire. Enfin la concentration de NaCl est ajustée avant la dernière dilution et est en général fixée à 10 mM.

Ces solutions sont stockées à 4 $^{\circ}C$ à l'abri de l'air et de la lumière. Elles se conservent des années sans changement de leurs propriétés élastiques.

Rhéologie de cisaillement La figure 4.2 représente la viscosité de cisaillement en fonction du taux de cisaillement pour une solution d'ADN λ à 40 ppm et 89% de glycérol. Elle est quasiment constante à 230 $mPa.s$. Elle est plus élevée que celle d'une solution de glycérol préparée de la même manière mais en remplaceant la solution mère d'ADN par de l'eau, soit 170 $mPa.s$, ce qui correspondrait à 88 % de glycérol d'après les tables de viscosité[3].

Les contraintes normales sont en deçà de la résolution du rhéomètre (20 Pa).

[1] En toute rigueur la concentration d'ADN n'est pas 40 ppm car la densité du glycérol étant supérieure à un il n'y a plus équivalence entre la partie par million et le milligramme par litre d'eau. Néanmoins comme la notion de concentration de recouvrement est ici définie en fonction de l'occupation d'une fraction de volume par les pelotes, je continuerai à utiliser la partie par million pour désigner le mg/l dans le cas d'une solution de glycérol.

[2] Il ne faut pas dépasser 50° Celsius. En effet une forte proportion de glycérol abaisse significativement la température de séparation des deux brins de l'ADN [127, 129]. Alors que ce phénomène est réversible dans une solution majoritairement aqueuse, un chauffage de quelques heures à 50 $^{\circ}C$ dans du glycérol a fait disparaître tout effet viscoélastique de la solution résultante, alors que la même solution non chauffée formait toujours des filaments en étirement. Cette différence entre les deux solutions, qui pourrait être un effet cinétique dû à la viscosité du solvant, était toujours visible après plus d'un an de stockage.

[3] Pour indication, la solution de glycérol à 95% a la viscosité prévue pour 92% de glycérol. Cela illustre bien la sensibilité de la viscosité à la présence d'eau (facilement apportée par l'atmosphère) lorsque le glycérol est majoritaire.

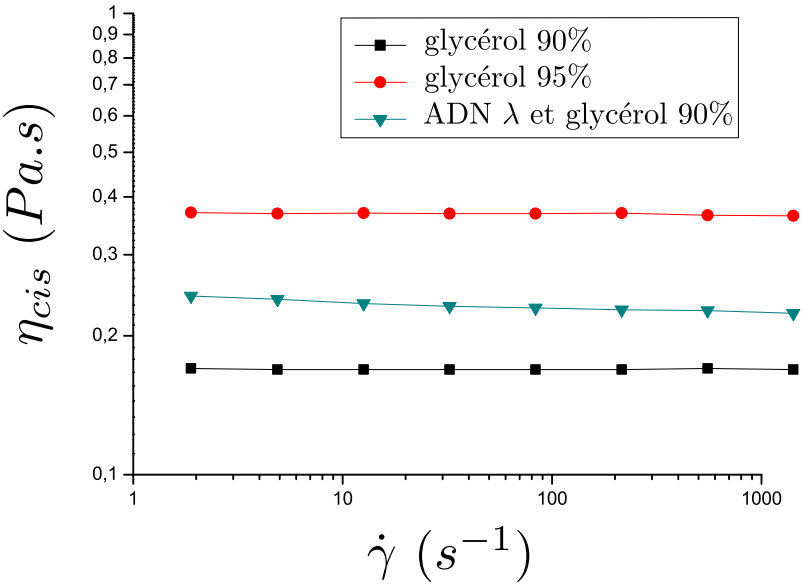


FIG. 4.2 – Viscosité de cisaillement d'une solution d'ADN λ à 40 *ppm* dans 89 % de glycérol.

Milieu d'immersion

Les deux fluides d'immersion au sein desquels on observe le détachement des gouttes sont l'air et le nonane. Pour toutes les mesures l'air se comporte comme et est assimilé à un fluide de viscosité nulle, d'indice optique unité et de densité négligeable.

Le liquide d'immersion a d'abord été choisi parmi les alcanes linéaires liquides à température ambiante. Leur viscosité est comparable à celle de l'eau et ce sont des liquides newtoniens. Ce sont des liquides neutres et non polaires. Ils sont pratiquement non miscibles dans l'eau[4].

Leurs propriétés (viscosité, indice de réfraction, densité) dépendent de manière simple du nombre d'atomes de carbone (7 à 16) de leur chaîne (fig. 4.3). De plus ces alcanes sont miscibles entre eux en toutes proportions. Enfin, l'indice de réfraction d'un mélange binaire de ces alcanes est la somme des indices des constituants pondéré par leurs proportions en masse. Ceci permet d'envisager de choisir le liquide d'immersion en fonction des propriétés de l'échantillon étudié, notamment son indice de réfraction.

[4]Leur solubilité est de l'ordre de la partie par milliers. Nos mesures de tension de surface sont réalisées dans les mêmes conditions que les mesures de viscosité élongationnelle (détachement de goutte de quelques dizaines de mm^3 se formant sur plus d'une minute) et l'on peut supposer que les gouttes sont saturées en alcane ou à défaut dans des états équivalents dans les deux types de mesures.

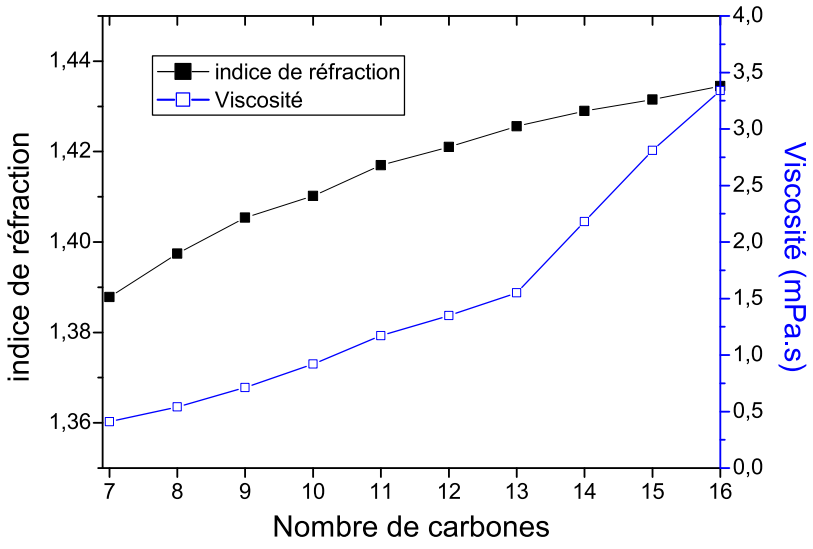


FIG. 4.3 – Viscosité et indice de réfraction des alcanes linéaires liquides avec C=7 à 16.

Le nonane (de masse volumique 0,7176 g/ml) avait en sa faveur une très faible viscosité ($\eta_{cis} = 0,711\ mPa.s$) et un indice optique (n=1,4054) proche de celui d'une solution à 50 % de glycérol en masse. Les premiers détachements de goutte avec adaptation de l'indice optique ont en effet été réalisés avec une solution de POE 4.10^6 g/mol à 200 ppm dans un mélange eau/glycérol[5] à 50 % entouré de nonane. Lors de l'étude des solutions d'ADN, la concentration en glycérol nécessaire plus élevée ($\approx$ 90 %) ne permettait plus l'adaptation d'indice avec le nonane, mais l'usage de ce liquide a été conservé pour étudier l'effet du fluide extérieur sur la mesure de viscosité en attendant de trouver un liquide d'immersion plus adapté (voir le chapitre 6). L'interface est alors visible sans agent de contraste.

La tension de surface air-solution est mesurée à 66 mN/m et 64 mN/m pour 74 % et 89 % de glycérol respectivement. Pour l'interface nonane-solution d'ADN la mesure donne 42 mN/m et 39 mN/m avec 74 % et 89 % de glycérol. La tension de surface à l'interface air-nonane est mesurée à 23,0 mN/m. On trouve la valeur 22,38 mN/m dans la littérature [126].

Récapitulatif

Le tableau 4.2 récapitule les caractéristiques principales des fluides utilisés.

[5]Dans cette situation le filament était visible grâce à l'adjonction d'un colorant contrastant.

Liquide	Viscosité ($mPa.s$)	γ liq./air (mN/m)	γ liq./nonane (mN/m)	Masse volumique ($g.cm^3$)	Indice de réfraction
air	0	0	23	0	1
tampon Tris-HCl	1	73	52	1	1,34
nonane	0,711	23	0	0,718	1,4054
glycérol pur	1474	62,5	39	1,2611	1,4735
ADN 89% glycérol	230	64	40	1,24	1,456
ADN 74% glycérol	34	66	42	1,19	1,434

TAB. 4.2 – Caractéristiques des fluides

4.1.2 Description du montage

Les gouttes se détachent de capillaires en acier inoxydable de diamètres interne-externe compris entre 0,6-0,9 mm et 2,2-2,5 mm. Le liquide étudié est injecté dans le capillaire à l'aide d'un pousse-seringue. Le débit est constant et suffisamment faible pour que la formation de la goutte se fasse de manière quasi statique.

Une caméra rapide (CamRecord Photonetics) permet d'enregistrer les images du détachement dans un format numérique (BMP). La caméra comporte 16 capteurs CMOS formant une zone sensible d'image de 512 par 512 pixels dont les valeurs d'intensité sont enregistrées sur 8 bits. Elle peut acquérir jusqu'à 2000 images en plein champ avec une cadence de 1000 Hz (soit 2 s de temps d'acquisition). Le déclenchement de l'acquisition est manuel et précède l'enregistrement de la séquence.

Les gouttes sont éclairées par un fond lumineux diffus obtenu avec un écran diffuseur placé devant un stroboscope (lampe à arc de 100 W, de fréquence maximale 1000 Hertz et de largeur d'impulsion 100 μs synchronisée avec la caméra). Lorsque le détachement est suffisamment lent et le contraste mauvais (faible différence d'indices de réfraction) une source d'éclairage continu est utilisée.

Les gouttes qui se détachent dans l'air sont protégées des courants d'air par une boîte entourant le montage.

Les détachements en immersion ont lieu dans des cuves remplies du liquide nécessaire. Ces cuves parallélépipédiques droites sont « faites maison » à partir de lamelles de microscopie en verre collées par de la colle époxy ou du joint en silicone [6]. Leur planéité permet d'observer l'interface des gouttes sans déformation.

[6]Les tension de surface liquide/liquide mesurées (voir le paragraphe de la section 4.1) dans des cuves collées (après un temps de séchage de quelques jours et un rinçage abondant à l'éthanol pur et à l'eau distillée) ou dans des béchers en pyrex étaient identiques. Une éventuelle contamination

4.1.3 Traitement et analyse des images

Quel est le contour associé à l'interface sur l'image ?

Une fois la série d'images enregistrée il faut en extraire l'évolution du rayon minimum du filament. Cette étape, qui doit être répétée pour un grand nombre de séries et d'images (plusieurs centaines à milliers par série) est automatisée à l'aide du logiciel ImageJ[7] ([131]).

Cette analyse passe avant tout par la définition d'un critère associé à la position de l'interface sur l'image. Dans le cas d'une image contrastée, avec un histogramme d'intensité bimodale et un bruit négligable il est possible d'utiliser un seuil global. L'image résultante a deux valeurs et deux régions bien définies. L'interface correspond au passage d'une valeur à l'autre. La résolution spatiale est au mieux d'un pixel.

Lors de la rupture capillaire le filament occupe une surface d'aire de plus en plus faible sur l'image. De plus, la différence de l'intensité des pixels le représentant avec ceux du fond diminue avec sa taille (et donc au cours du temps), et ceci d'autant plus que la différence d'indice entre les milieux est faible. La méthode de seuil global s'avére être inefficace lors du détachement au sein d'un liquide d'immersion en raison du mauvais contraste de l'interface, alors que d'autres régions de l'image sont bien contrastées.

Pour suivre toute l'évolution du filament il est nécessaire d'utiliser une méthode plus élaborée. L'idée sous-jacente consiste à déterminer un seuil plus local tout en mettant à profit l'information sur l'intensité des pixels environnants. Pour cela le contour de l'interface est associé à un maximum d'une fonction du gradient d'intensité. Le choix de ces maxima est fait en utilisant les propriétés statistiques de chaque ligne de l'image (perpendiculairement à l'axe du filament). Cela permet d'extraire le régime final de la rupture mais aussi d'augmenter la résolution spatiale en interpolant la position des maxima.

Les différentes étapes

Le traitement des images est résumé sur la figure 4.4.

Le calcul d'une dérivée à partir de grandeurs discrètes (l'intensité et la position des pixels) est très sensible au bruit. Il faut passer par une étape de mise en forme préalable. Chaque image est divisée par une image du fond (enregistrée sur 16 bits avant chaque rupture) et normalisée (les pixels non modifiés valent 1). Cette division a lieu après conversion en 32 bits. Les pixels délimitant la mosaïque de 16 capteurs ont leur intensité (souvent très différente de celle des pixels environnants) remplacée par la moyenne de celle des 2 pixels adjacents horizontaux. Un filtre

due à la colle ou au silicone semble donc négligeable pour le détachement.

[7] C'est un programme initialement développé pour l'analyse d'images médicales, qui permet l'enregistrement de macro et dont les commandes peuvent être augmentées grâce à des modules complémentaires écrits en Java

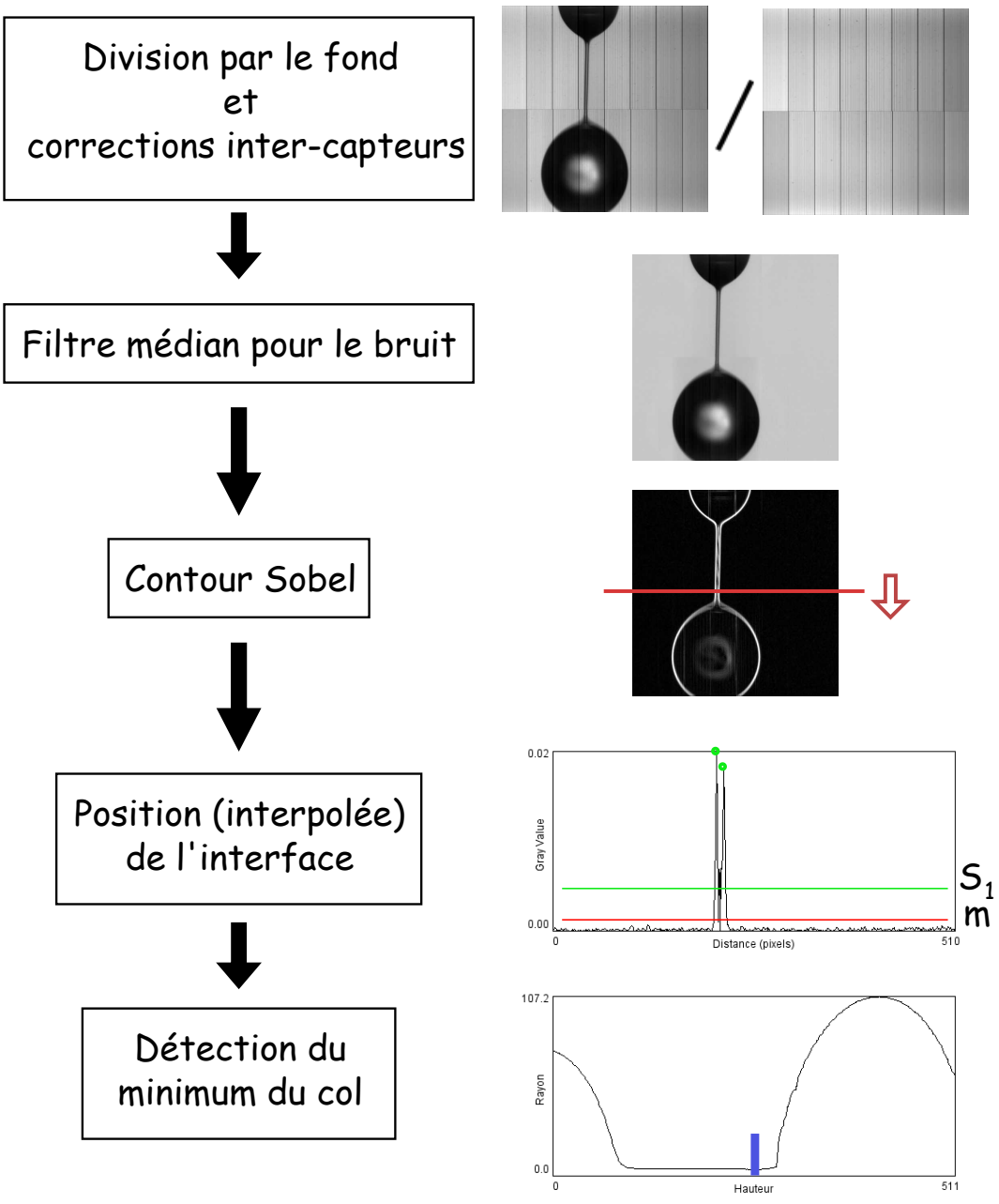


FIG. 4.4 – Les étapes pour obtenir le rayon minimum sur chaque image.

médian de rayon 2 est ensuite appliqué à l'image : la valeur de l'intensité de chaque pixel est remplacée par la valeur médiane des intensités du carré centré de neuf pixels dont il est le centre. Ce filtre permet d'éliminer le bruit à petite échelle (particulièrement celui de type « poivre et sel » , c'est-à-dire les pixels isolés d'intensité très différente de celle des voisins). L'intensité de l'image résultante est plus lisse et les extrema de gradients atténués, mais leur position n'est pas modifiée.

Un filtre Sobel est appliqué pour extraire les contours. La valeur de chaque pixel est remplacée par la norme du gradient discret. C'est un opérateur 3 x 3 où les dérivées sont estimées au deuxième ordre (poids des pixels selon une direction $[-1\ 0\ 1]$) avec un lissage triangulaire ($[1\ 2\ 1]$) selon la direction perpendiculaire.

Les deux positions de l'interface sont déterminées de la manière suivante pour chaque ligne perpendiculaire à l'axe du filament. On calcule la moyenne m et l'écart-type σ des intensités. Cela permet de définir un seuil de détection des maxima, en général :

$$s_1 = m + 3\sigma \tag{4.3}$$

Un balayage des valeurs des pixels en partant de l'extrémité de la ligne de gauche à droite (resp. de froite à gauche) permet de relever la position x_g et la valeur I_g du maximum le plus à gauche (resp. x_d et I_d pour le plus à droite). Afin de ne retenir que le premier maximum significatif rencontré (qui peut être un maximum relatif), le balayage s'arrête lorsque l'intensité du pixel en cours est inférieure à la valeur du dernier maximum repéré moins σ, soit $s_2 = I_{g/d} - \sigma$, ou bien inférieure à s_1.

Les positions des deux maxima sont alors déterminées à un pixel près. Si on assimile ces deux pics à des gaussiennes on peut interpoler les positions à l'aide des valeurs des deux paires de pixels voisins pour obtenir une résolution en deçà du pixel. Il suffit pour cela de prendre le logarithme naturel des intensités des pixels et de faire un ajustement par une parabole. Le système d'équations des coefficients est linéaire, et sa résolution donne accès à la position interpolée (sans avoir à minimiser une fonction χ^2) [132]. Cette étape a été ajoutée pour tenter de réduire l'effet des valeurs discrètes du diamètre (position des pixels) lors des calculs de la viscosité (voir la section 4.1.4) .

Ces calculs étant réalisé pour chaque ligne de l'image, on obtient ensuite le profil du diamètre $h[y]$ de l'interface en fonction de la position le long de l'axe du filament. Le rayon minimum et sa position sont à leur tour déterminés. La recherche du minimum s'effectue par un balayage similaire à celui des lignes. Il n'y a en revanche pas d'interpolation supplémentaire car pour les solutions de polymères le rayon du filament est pratiquement uniforme : cela nécessite un schéma plus complexe d'interpolation (nombre variable de points requis) dont le gain en précision est annulé par la dynamique limitée des images enregistrées seulement sur 256 niveaux de gris.

On obtient finalement la courbe d'évolution du rayon minimum en pixels au cours du temps. La valeur en mètres est déterminée grâce à l'image du capillaire

de diamètre connu.

4.1.4 Calcul de la viscosité

Dans le cas newtonien la viscosité est déterminée en ajustant l'équation d'une droite à $R(t)$ sur la durée du régime VC. On identifie la pente obtenue au coefficient de l'équation $R(t) = 0,0709\frac{3\gamma}{\eta_{ext}}(t_0 - t)$ et on en extrait η_{ext}.

Dans le cas d'un liquide non newtonien formant des filaments, le calcul de la dérivée temporelle du rayon permet de déterminer les différents régimes et de choisir la formule de la viscosité adaptée. Cette dérivée intervient dans l'expression de $\dot{\epsilon} = -\frac{2\dot{R}(t)}{R(t)}$ et $\eta_{ext}(\dot{\epsilon}, t) = -\frac{\gamma}{2\dot{R}(t)}$ (cas du filament cylindrique).

Je calcule une approximation d'ordre 2 de la dérivée à l'aide d'une expression aux différences finies centrée :

$$f'(t) = \frac{f(t + \delta t) - f(t - \delta t)}{2\delta t} + O(\delta t^2) \tag{4.4}$$

Ici δt devient Δt le pas de temps entre chaque image et f est le rayon minimum mesuré R.

Ce genre de calcul numérique est très sensible au bruit[8]. Un lissage préalable des données est donc nécessaire pour réduire ce bruit. Cela peut être réalisé par exemple avec une moyenne mobile de largeur trois ou cinq pour le bruit de petite échelle, sans modification des variations significatives de plus longue portée. Le lissage du bruit et le calcul de la dérivée peuvent être combinés de manière rapide et contrôlée en utilisant un filtre de Savitzky-Golay [132].

Cette approche est toutefois mise en défaut dans la partie finale du détachement de l'ADN. Ce n'est pas le bruit en lui-même qui pose problème mais l'inadéquation de la résolution spatio-temporelle de la caméra et de l'évolution de plus en plus lente du filament lors d'un détachement. En effet lorque la contraction est exponentielle, il arrive un moment où la vitesse réelle de l'interface est telle que :

$$\dot{R}(t) \ll \frac{\Delta X}{\Delta t} \tag{4.5}$$

avec ΔX la dimension d'un pixel sur l'image. Cela signifie que l'intensité des pixels ne change plus d'une image à l'autre pendant un intervalle de temps grand (et même de plus en plus grand) devant Δt car l'intensité d'un pixel de la caméra ne peut prendre qu'un nombre fini de valeurs (ici, 256). La courbe mesurée du rayon au cours du temps est constituée de longs paliers constants de dérivée numérique nulle. La longueur variable des paliers ne permet pas d'appliquer une fenêtre de largeur unique pour le lissage sans modifier les variations pertinentes plus rapides.

L'interpolation de la position de l'interface (lors de l'analyse des images) permet dans une certaine mesure de lisser l'effet de la taille finie des pixels (voir la section

[8]La dérivation peut être comprise comme un filtre passe-haut.

4.1.3). Le rayon mesuré est en effet beaucoup plus lisse dans la partie initiale du détachement. En revanche dans la partie finale, la transition entre les marches (saut d'un pixel) est lissée mais ces dernières existent toujours (avec une valeur non entière en pixels). Ceci montre que c'est bien les faibles contraste et dynamique des images (ici 256 valeurs au plus, mais quelques dizaines seulement étant utiles) qui limitent l'estimation de la position de l'interface.

J'ai testé plusieurs méthodes remplaçant les données par une courbe plus régulière ou sans plateau avant la dérivation : tri des points redondants avec élimination des plateaux, lissage simple (type moyenne mobile), interpolation, spline cubique, régression pondérée localement.

La première est précise et sans artefact. Un tri manuel permet de ne conserver que les points *entre* les plateaux, et seuls ces points servent au calcul de la dérivée, avec un pas de temps variable. Elle n'est pas nulle mais égale à la pente entre ces points. Cette procédure n'est toutefois pas applicable à plus d'une ou deux courbes de par sa lenteur[9]. Les trois méthodes suivantes n'agissent pas au-delà de leur fenêtre locale. Mon choix s'est finalement porté sur la dernière, qui donne les résultats les plus compatibles avec le calcul manuel.

La méthode de régression pondérée localement est la plus satisfaisante pour lisser les marches de manière automatique avant le calcul de la dérivée. Elle permet d'estimer la régression d'une surface à l'aide d'une procédure de lissage à plusieurs variables, en ajustant une fonction des variables indépendantes localement et à la manière d'une moyenne mobile. Elle est implémentée par exemple dans le logiciel KaleidaGraph 3.5 (commande « Weighted » du menu « Curve fit »). L'algorithme exact et de nombreux exemples sont présentés dans les références [133, 134, 135]. Cette méthode de régression est robuste et peu sensible aux points marginaux. Il est nécessaire de préciser un pourcentage de poids dont l'effet sur la courbe ajustée est similaire à une plus ou moins grande tension le long de cette courbe. Une valeur comprise entre 6 et 12 % donne le meilleur compromis entre le lissage des paliers et un approximation fidèle des données sous-jacentes. Il ne reste plus qu'à calculer la dérivée à l'aide de la formule précédente, ce qui donne accès au taux de déformation et à la viscosité élongationnelle.

4.2 Détachement de goutte du solvant newtonien

4.2.1 Dans l'air

La courbe 4.5 représente l'allure typique de l'évolution du rayon minimum lors du détachement d'une goutte de mélange glycérol-eau (avec moins de 30 % d'eau) dans l'air. On distingue trois parties successives sur cette courbe.

[9]Il y a beaucoup de bruit entre deux plateaux ce qui complique fortement son automatisation

L'évolution initiale correspond à la croissance exponentielle de l'instabilité capillaire, en accord avec les observations de [136] et [99], la constante de temps étant proportionnelle à η^{-1} [99].

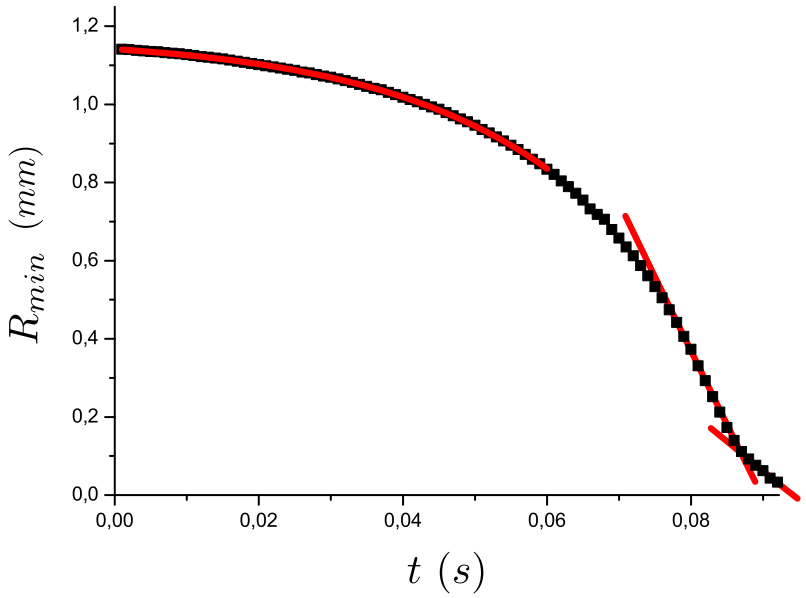


FIG. 4.5 – Evolution du rayon du col lors du détachement d'une goutte de solution tampon à 89 % de glycérol. Le diamètre de capillaire est 2,1/2,5 mm. Les ajustements en rouge correspondent aux régimes exponentiel et linéaires.

La courbe semble présenter ensuite deux pentes distinctes. La viscosité des solutions ($O_h = 1$ à 4) suggère qu'elles correspondent aux solutions VC $R(t) = 0,0709\frac{\gamma}{\eta_{cis}}(t_0 - t)$ puis IVC $R(t) = 0,0304\frac{\gamma}{\eta_{cis}}(t_0 - t)$, données respectivement par Papageorgiou et Eggers (voir la section 3.3).

On observe que la dérivée de cette courbe n'est constante que sur une faible région (quelques points, au mieux 10 ms) des intervalles correspondants (figure 4.6), et ceci pour tous les détachements observés, de part et d'autre d'une zone de transition de quelques millisecondes. La zone de transition entre le régime exponentiel et les régimes linéaires est beaucoup plus longue que la durée de ces derniers. Il n'est pas exclu que pour les solutions de plus basses viscosités l'on passe du régime exponentiel au régime linéaire d'Eggers via un régime en loi de puissance intermédiaire entre le cas potentiel et le cas visqueux. De même lorsque la viscosité est très importante la solution IVC peut ne pas etre visible car apparaissant trop peu de temps avant la rupture (moins d'une milliseconde, ce qui est notre résolution temporelle). Toutefois dans chacun des détachements observés la forme de l'interface, le rapport des pentes et les valeurs des viscosités extraites permettent d'identifier et de confirmer l'établissement complet et successif des deux régimes linéaires, en accord avec [137].

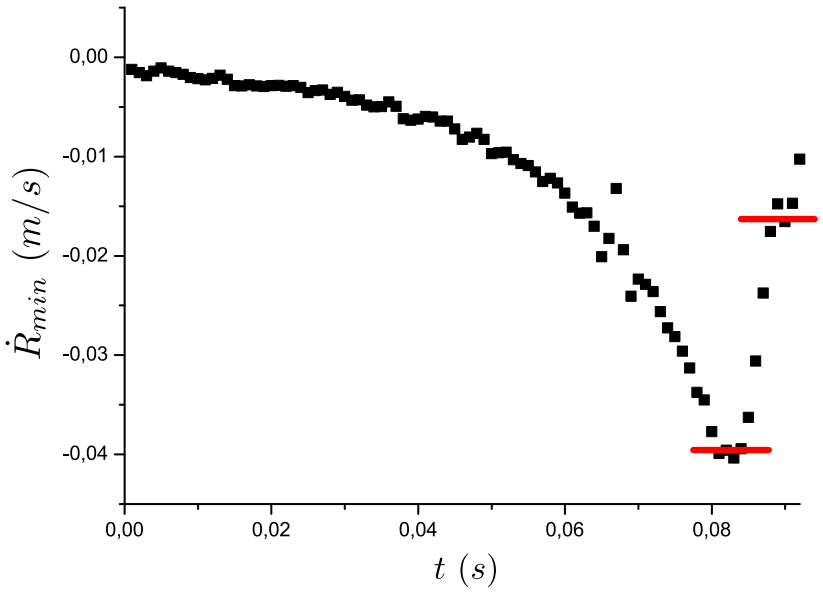


FIG. 4.6 – Dérivée de l'évolution du rayon représenté sur la courbe 4.5. En rouge les deux plateaux des régimes linéaires.

La transition vers le régime IVC est identifiée par le passage d'un profil du col de l'interface symétrique à un profil asymétrique, de manière synchrone avec le changement de pente dans l'évolution du rayon minimum (voir la figure 4.7). Cette transition se reflète aussi dans l'évolution de la position verticale du minimum. Le minimum symétrique initialement au milieu du filament se dédouble et se déplace vers la jonction du filament avec la goutte ou le capillaire en devenant asymétrique (fig.4.8).

Le rapport des pentes des solutions de Papageorgiou et d'Eggers est indépendant de la viscosité et de la tension de surface. Il est constant et vaut $0,709/0,304 = 2,332$. La moyenne des rapports calculés à partir des pentes[10] obtenues par ajustement linéaire pour les différentes solutions étudiées est $2,41 \pm 0,22$. Le bon accord avec la valeur théorique attendue confirme l'identification des deux régimes linéaires.

La tension de surface ayant été déterminée auparavant, on peut donc extraire la viscosité des pentes grâce au bon coefficient (0,0709 ou 0,0304). Les valeurs de viscosité déterminées ainsi sont en bon accord avec les valeurs mesurées avec le rhéomètre de cisaillement (fig.4.9) lorsque la viscosité est supérieure à 60 $mPa.s$, soit 80 % de glycérol. Cela étend au détachement de goutte le résultat de la référence[111] sur la mesure de la viscosité par la méthode CABER (utilisant des ponts capillaires), pour les liquides newtoniens de viscosité 0,1 à 1 $Pa.s$.

[10]Leurs valeurs sont à 5 % près égales aux valeurs de la moyenne de la dérivée sur les intervalles constants.

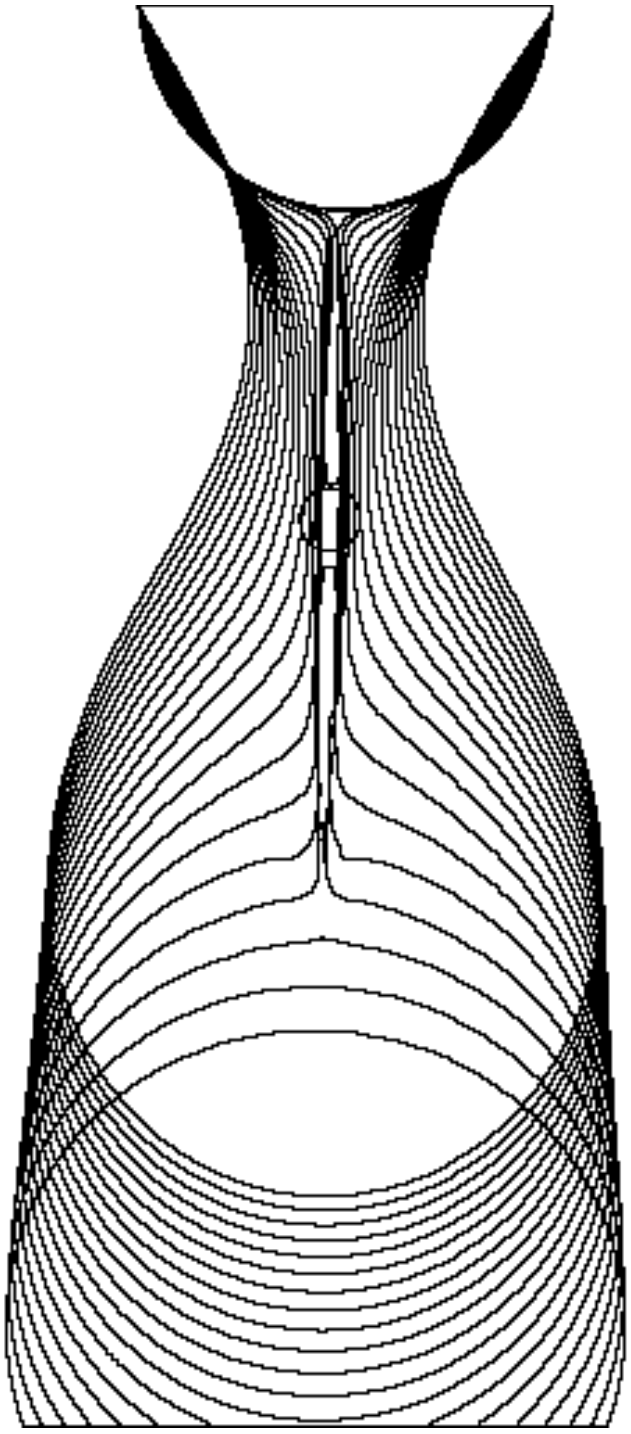


FIG. 4.7 – Transition entre interfaces symétrique et asymétrique signalant la transition d'un écoulement visco-capillaire vers un écoulement inertio-visco-capillaire (IVC).

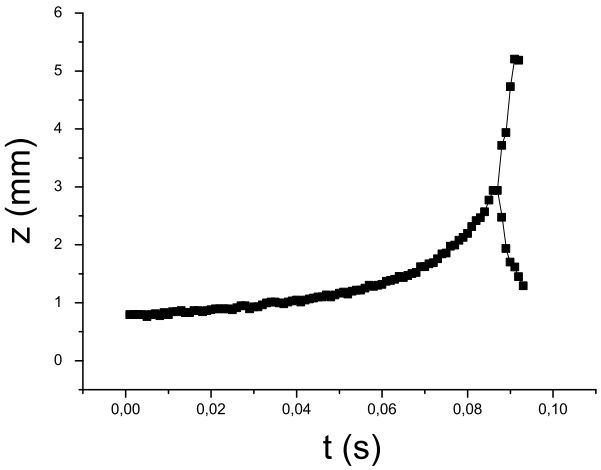


FIG. 4.8 – Position verticale et bifurcation à la transition VC/IVC du minimum du/des col(s) en fonction du temps.

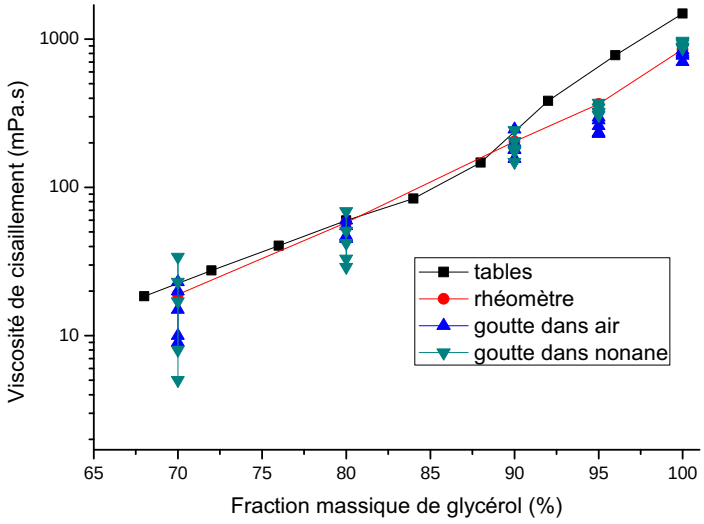


FIG. 4.9 – Viscosité des solutions tampons de glycérol obtenues par la méthode de goutte dans l'air et le glycérol, comparée à celle mesurée avec le rhéomètre et celle donnée par la littérature [126].

4.2.2 Dans l'huile

Le détachement de gouttes des mêmes solutions a été observé en immersion dans du nonane. La goutte est cette fois attachée aux capillaires au niveau du diamètre intérieur (le nonane mouille mieux l'acier que la solution glycérol/eau). L'évolution de l'interface suit qualitativement le même scénario que pour un détachement dans l'air mais semble être un peu plus lente. On observe une décroissance exponentielle puis deux régimes linéaires.

La dynamique plus lente pourrait être causée par une tension de surface plus faible, une gravité réduite (poussée d'Archimède) ou la viscosité du fluide extérieur.

Lorsque l'on passe de l'air au nonane la longueur capillaire des solutions varie peu car la baisse de la tension de surface s'accompagne d'une baisse de la différence de masse volumique. λ_c passe de 2,3 mm à 2,7 mm. De même le rayon pertinent pour les capillaires diminue lui de 18 % à 30 %. On a donc une situation comparable dans les deux cas pour ce qui est de la gravité.

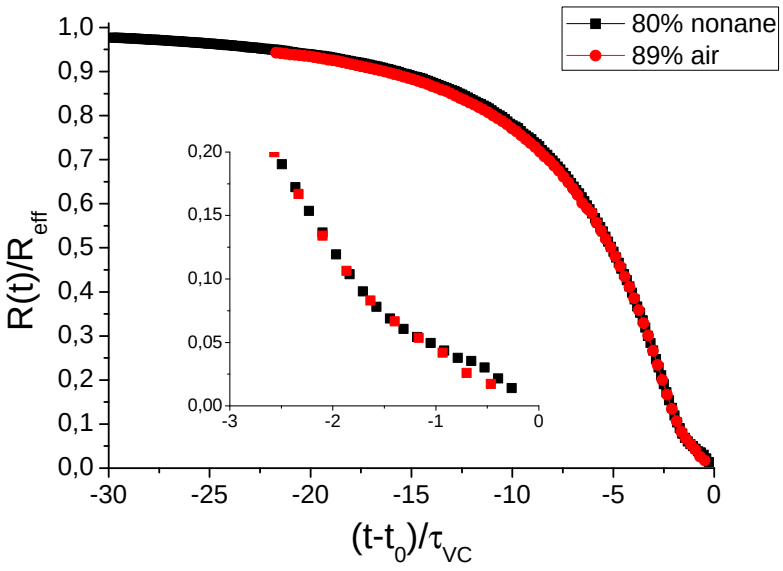


FIG. 4.10 – Superposition des courbes normalisées de détachements d'une goutte à 80 % de glycérol dans le nonane, capillaire 2,5 mm, et d'une goutte à 89 % de glycérol dans l'air. Les rayons sont normalisés par le rayon des capillaires et les temps par le temps visco-capillaire $\tau_{VC} = \eta R/\gamma$. La figure intérieure est un grossissement sur la rupture.

En divisant à la fois le rayon du col par le diamètre pertinent du capillaire et le temps par la tension interfaciale, les courbes obtenues dans le nonane et dans l'air se superposent quasiment après une translation de l'axe du temps (voir fig.4.10). Cela suggère que l'échelle de temps pertinente est obtenue comme pour l'air à

partir de la vitesse capillaire et du rayon du capillaire, c'est-à-dire $\tau \propto \frac{R_c \eta}{\gamma}$, aussi bien pour la phase exponentielle que pour la phase de rupture.

Les viscosités extraites à partir des pentes des régimes linéaires (fig.4.9 sont proches de celles obtenues dans l'air à 15 % près pour le régime VC, mais seulement à 30 % près pour le régime final IVC. Le rapport des deux pentes est cette fois-ci plus proche de $2,7 \pm 0,6$ que de la valeur théorique 2,33. Cette différence pourrait être causée par la viscosité du nonane dont on attend un effet d'autant plus marqué que le rayon diminue [23, 110].

En conclusion, la mesure de la viscosité comprise entre 60 $mPa.s$ (soit 80% de glycérol) et 800 $mPa.s$ d'un fluide newtonien dans le régime VC ($O_h > 1$) est raisonablement précise lorsque la goutte se détache dans un fluide extérieur avec un rapport des viscosités compris entre 80 et 1200. Si ce rapport est supérieur à 1200, la méthode est d'autant plus valide.

4.3 Détachement de goutte de solution d'ADN

4.3.1 Dans l'air

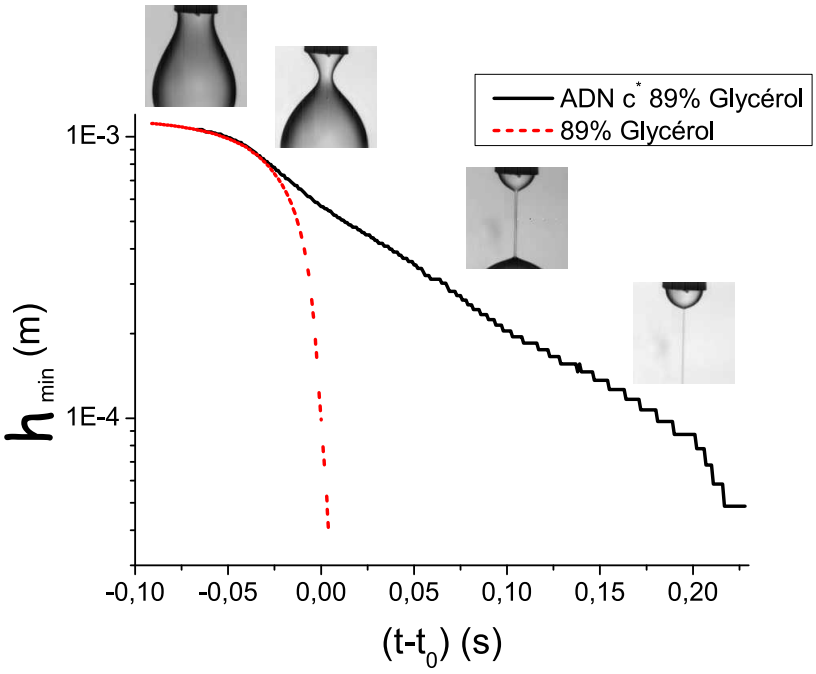


FIG. 4.11 – Diamètre du col h_{min} au cours du temps pour le détachement d'une goutte d'ADN à 89 % de glycérol (diamètre de capillaire 1,2 mm). En rouge, évolution pour le solvant sans ADN.

Le rayon évolue comme pour le cas newtonien dans la phase initiale du détachement, avec une divergence du taux d'élongation. Mais avant la rupture faisant intervenir un régime linéaire il se forme un filament cylindrique dont le rayon décroît beaucoup plus lentement (fig. 4.11). La durée totale du détachement est une fonction croissante du diamètre du capillaire et de la viscosité du solvant. Une séquence complète dure jusqu'à 600 ms (pour 89 % de glycérol et un capillaire de 2,5 mm de diamètre) au lieu de 100 ms pour le solvant seul.

Ce filament a un rayon uniforme. Cela nous permet d'observer avec un fort grossissement et donc une bonne résolution l'évolution du rayon minimum à partir du moment où la goutte entre en mouvement et aussi quand la position médiane le long du filament sort de la zone d'observation (le filament dont le rapport d'aspect peut atteindre le millier s'étend bien au-delà de la zone carrée observable par la caméra).

La courbure dans le filament est l'inverse de son rayon [11]. Contrairement au cas newtonien la rupture peut avoir lieu arbitrairement en plusieurs points du filament et sa dynamique n'est donc pas systématiquement observable avec le grossissement d'image utilisé.

Lorsque la courbe d'évolution du rayon s'écarte de celle correspondant au solvant, elle adopte un régime d'amincissement exponentiel (voir la partie centrale de la courbe du diamètre, linéaire avec un axe des ordonnées logarithmique, fig. 4.12). Le taux d'élongation est alors constant (fig. 4.12). Les trajectoires de quelques poussières visibles lors de certaines séquences confirment que la composante radiale de l'écoulement est négligeable, c'est-à-dire que le taux d'élongation est uniforme au sein du filament.

La transition entre la phase initiale du détachement et le régime exponentiel se fait de manière continue. La dérivée du rayon et le taux d'élongation sont continus. J'associe la transition entre ces deux régimes au minimum de la dérivée. Le taux d'élongation est d'abord divergent puis devient constant (en conservant la valeur atteinte à la transition) ou légèrement décroissant après la transition.

Pour le solvant le plus visqueux, il apparaît finalement des oscillations du rayon advectées le long du filament avant que n'ait lieu la rupture finale (la plupart du temps hors de la zone observée). Ces oscillations sont d'autant plus présentes que la viscosité du solvant est élevée. Elles sont peut être dues à une succession de cycles étirement-relaxation des chaines associé à la saturation de la contrainte et du taux de déformation [116], voir le stade initial du collier de perles [117]. Leur présence ne permet pas d'estimer de manière univoque un passage du régime exponentiel à un régime de rupture linéaire.

[11] L'absence de courbure longitudinale est la cause de la différence de formule de la viscosité par rapport au cas newtonien où cette courbure est toujours présente, même pour des filaments qui peuvent être de grands rapports d'aspect pour les liquides très visqueux.

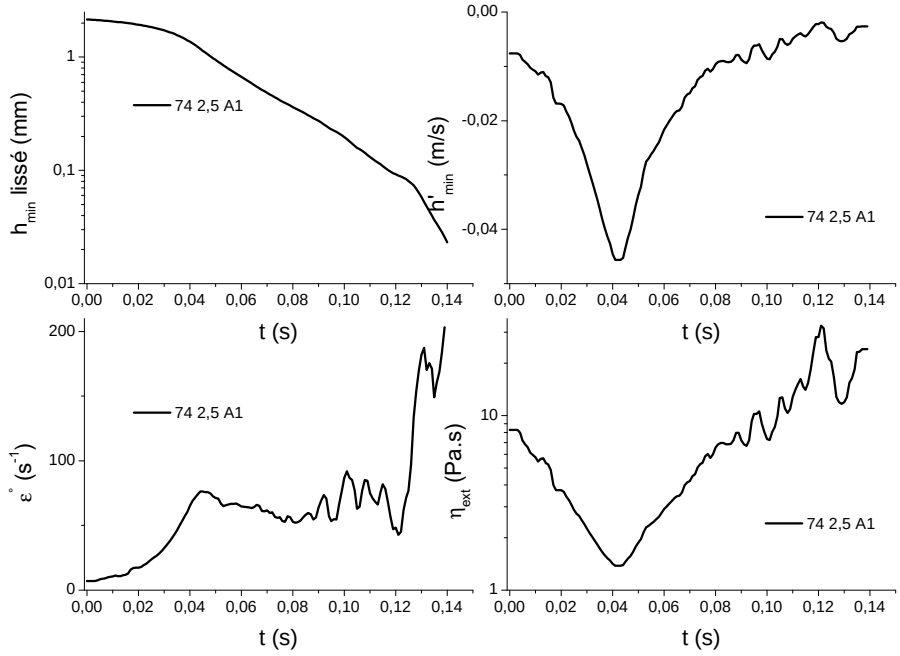


FIG. 4.12 – Rayon, dérivée, taux d'élongation et viscosité élongationnelle en fonction du temps pour une solution d'ADN à c^* dans 74 % de glycérol se détachant dans l'air d'un capillaire de diamètre 2,5 mm.

4.3.2 Dans l'huile

Tous les détachements observés dans le nonane suivent qualitativement le même scénario que ceux dans l'air, avec apparition (lors d'une transition continue) d'un filament qui s'amincit exponentiellement. La durée du détachement est toujours une fonction croissante du rayon du capillaire et de la viscosité du solvant. En revanche la durée totale de détachement est augmentée de 50 à 100 % par rapport aux détachements dans l'air. La durée de vie du filament pour la solution à 90 % de glycérol et un capillaire de 2,2 mm (diamètre mouillé) est de l'ordre de 1000 ms. C'est suffisant pour pouvoir espérer enregistrer une quinzaine d'images avec la caméra intensifiée.

De plus pour observer le centre du filament avec un objectif de microscope il faut pouvoir rapprocher la lentille frontale au plus près du filament sans que la paroi ne modifie la dynamique de contraction. J'ai vérifié que les filaments de goutte de diamètre 2,5 à 4 mm dont la surface latérale était à 1 mm de la paroi évoluent de la même manière que les filaments placés au centre de la cuve soit à environ 15 mm de la paroi. Cela rend possible l'observation du filament avec un objectif de microscope à immersion de distance de travail 3,3 mm.

4.3.3 Viscosité élongationelle

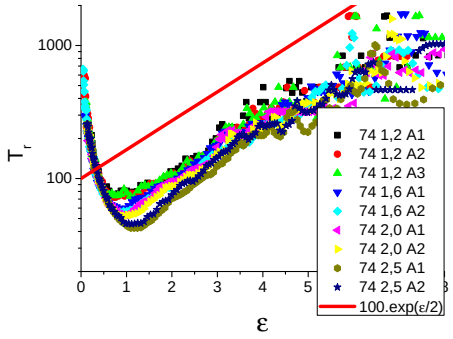
L'existence de filaments cylindriques permet d'appliquer la formule 3.25 pour estimer la viscosité élongationnelle aussi bien pour un détachement dans l'air que dans l'huile. Elle a été appliquée pour toute la durée du détachement sur la courbe de viscosité de la figure 4.12 mais elle n'est valide qu'à partir de l'apparition du filament.

J'utilise le rapport de Trouton transitoire (éq. 1.32) exprimé en fonction de la déformation totale (éq. 3.26) pour comparer les échantillons avec différents solvants. Je choisis le rayon initial du col de la goutte avant sa mise en mouvement pour origine de la déformation. Les valeurs du taux d'élongation (voir la section 4.3.4) avant l'apparition du filament suggèrent en effet que l'ADN λ est déjà partiellement étiré avant la transition.

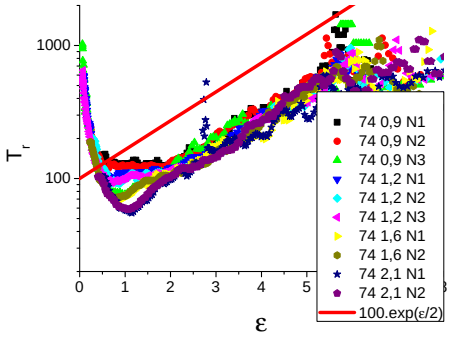
Les données pour différents diamètres de capillaires se superposent correctement (fig. 4.13) pour chaque couple (solvant,fluide d'immersion). La viscosité transitoire est donc bien une fonction (exponentielle) de la déformation totale accumulée. Elle ne dépend pas du taux de déformation sélectionné par le filament (compris entre 5 e 80 s^{-1} pour les détachements, voir 4.3.4). Les courbes de la figure comportent une droite (en rouge) d'équation $T_r = 100 \exp(\epsilon/2)$ qui sert de repère et correspond au cas d'un amincissement exponentiel $R(t) \propto \exp(0,5\dot{\epsilon}t)$.

Là encore le rapport de Trouton ne prend de sens qu'à partir de la valeur minimum des courbes, car avant le régime visco-élasto-capillaire n'est pas encore atteint. J'ai toutefois représenté les valeurs avant la transition car la déformation pour laquelle elle a lieu semble être une fonction croissante du diamètre du capil-

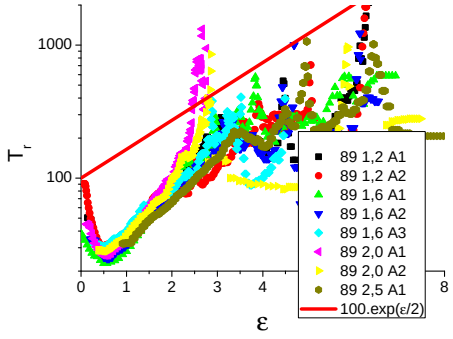
laire. De plus le nombre de Trouton initial à la transition est lui d'autant plus bas que le diamètre du capillaire est grand. Le régime d'amincissement du filament devient exponentiel quand la déformation atteint 0,5 à 1,5. Pour ces déformations, il y a un régime transitoire entre le régime linéaire où la viscosité est dominée par le solvant et le régime exponentiel où la viscosité est dominée par les polymères. Sa largeur dépend du diamètre du capillaire.



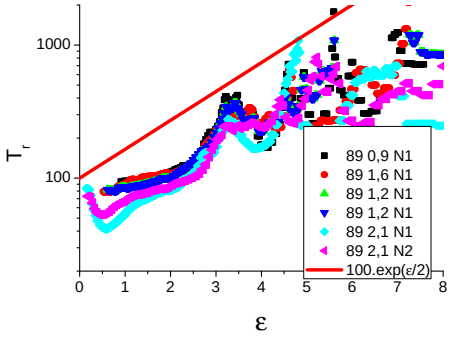
(a) 74 % dans l'air.



(b) 74 % dans le nonane.



(c) 89 % dans l'air.



(d) 89 % dans le nonane.

FIG. 4.13 – Rapport de Trouton transitoire pour les différents détachements. Chaque légende du type « 89 0,9 N1 » correspond à un détachement pour un pourcentage de glycérol, un diamètre de capillaire en *mm* et un milieu d'immersion : A(ir) ou N(onane) suivi d'un chiffre pour distinguer les mesures multiples.

La relation $T_r(\epsilon)$ est aussi indépendante du solvant (approximativement dans le cas du solvant à 89 % de glycérol dans l'air). Ce résultat est attendu car en régime dilué les contraintes polymériques et le temps de relaxation sont proportionnels à la viscosité du solvant. Cela permettra notamment d'utiliser dans l'eau la relation entre contrainte et conformation microscopique obtenue dans un solvant visqueux après renormalisation par l'échelle de temps idoine.

Les valeurs du rapport de Trouton sont comparables (fig. 4.14) entre elles mais

on observe toutefois une légère variation des pentes, plus importantes pour le cas du solvant à 89 % de glycérol dans l'air.

Un régime stationnaire semble être atteint pour $\epsilon > 5$ à 74 % et $\epsilon > 3$ à 89 % en particulier pour les détachements dans le nonane. Les mesures de viscosité par FISER/CABER indiquent en général une saturation de la viscosité élongationnelle pour $\epsilon > 5$ [85]. Pour les détachements à 89 % de glycérol, il y a une « bosse » avant d'atteindre l'éventuelle saturation (voir fig. 4.13(c) dans l'air et surtout fig. 4.13(d) dans le nonane). Cela correspond au passage dans le champ d'observation d'un « renflement » advecté le long du filament. La dérivée temporelle du rayon est alors plus faible, d'où une valeur temporairement plus élevée de la viscosité.

Si l'on fait la moyenne de $T_r(\epsilon)$ dans la région finale des oscillations, on obtient les valeurs du nombre de Trouton stationnaire du tableau 4.3. Les valeurs obtenues sont indépendantes du taux de contraction du filament, comme pour le nombre de Trouton transitoire. Cette estimation est à prendre avec précaution en raison du caractère oscillatoire provenant à la fois de la déstabilisation du filament et du bruit numérique. L'incertitude dans le tableau représente la largeur typique des écarts des fluctuations.

Solution	74 % /Air	74 % /Nonane	89 % /Air	89 % /Nonane
T_r	810 ± 200	790 ± 200	653 ± 300	305 +500/-100

TAB. 4.3 – Viscosité élongationnelle maximale moyenne mesurée pour les solutions d'ADN λ à 40 ppm et 10 mM de $NaCl$.

On peut comparer ces valeurs au modèle FENE (éq. 1.43). On a alors avec $L = L_c = 16\ \mu m$, $R_g = 0,6\ \mu m$ (valeurs pour l'ADN non marqué dans le tampon TE à 0 % de glycérol) et $\eta_{p,ext,0} \approx 3\eta_{p,cis,0} \approx 70\ mPa.s$ (d'après nos mesures de cisaillement dans 89 % de glycérol) :

$$\eta_{p,ext,0} = 150Pa \tag{4.6}$$

ce qui correspond à un nombre de Trouton $T_r = 630$.

Alternativement, on peut évaluer la viscosité avec la formule de Bachelor [138] pour une solution de molécules rigides en régime semi-dilué :

$$\eta_{ext} = \eta_s \left(3 + \frac{2}{3} \frac{\phi \left(\frac{l}{d}\right)^2}{\ln\left(\frac{2l}{d}\right) - \ln\left(1 + \frac{2l}{d}\sqrt{\frac{\phi}{\pi}}\right) - 1,5} \right) \tag{4.7}$$

où $l = L_c$, $d = 2\ nm$ et $\phi = \frac{\pi d^2 l N_a c \rho}{4 M_w}$ est la fraction volumique. On obtient :

$$\eta_{ext} = 69Pa \tag{4.8}$$

ce qui correspond à un nombre de Trouton $T_r = 406$.

L'ordre de grandeur des nombres de Trouton pour les mesures est en accord avec ces deux valeurs.

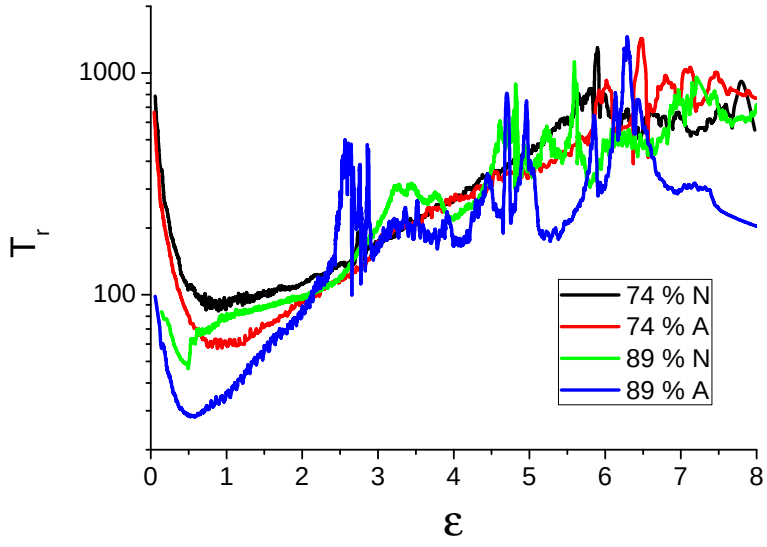


FIG. 4.14 – Rapports de Trouton transitoires moyennés sur tous les détachements.

4.3.4 Taux de contraction

Dans le cas du détachement dans l'air de gouttes de solution à base d'eau de POE dilué, on observe deux taux de déformation caractéristique distincts [89] : celui à la transition de l'ordre de l'inverse du temps de relaxation du POE, et celui du filament cylindrique, deux ordres de grandeurs plus bas. Au contraire pour l'ADN dans une solution visqueuse, le taux d'élongation reste continu à la transition et il n'y a qu'un seul taux de déformation sélectionné : $\dot{\epsilon}_0$.

La figure 4.15 représente les taux d'élongation mesurés en fonction du diamètre effectif (ou mouillé) pour les différents couples (solvant,milieu).

Le modèle d'amincissement visco-élasto-capillaire du filament avec une loi constitutive Olroyd-B (ou FENE) [23] prévoit que le nombre de Deborah de l'écoulement soit :

$$D_e = \frac{2}{3} \tag{4.9}$$

autrement dit $\dot{\epsilon}_0 = 2/3\tau_{relax}$, où τ_{relax} est le temps de relaxation de l'ADN. Comme le temps de relaxation en régime dilué est proportionnel à la viscosité du solvant, on peut estimer pour l'ADN λ non marqué que $\tau_{relax}^{74\%} = 1,65\ s$ et $\tau_{relax}^{89\%} = 8,5\ s$.

On peut voir sur la figure 4.16 que le nombre de Deborah $D_e = \dot{\epsilon}_0.\tau_{relax}$ des filaments est au minimum deux ordres de grandeur plus grand que 2/3. De plus il dépend du couple (solvant, fluide d'immersion) utilisé. On voit en revanche qu'en comparant $\dot{\epsilon}_0$ au temps caractéristique visco-capillaire $\tau_{VC} = \eta R/\gamma$, cette dépendance est plus faible (seul le cas 89 % dans l'air est différent).

On observe sur l'ensemble des détachements que $D_e \approx 10$ pour $\epsilon \approx 0,1$ et qu'à

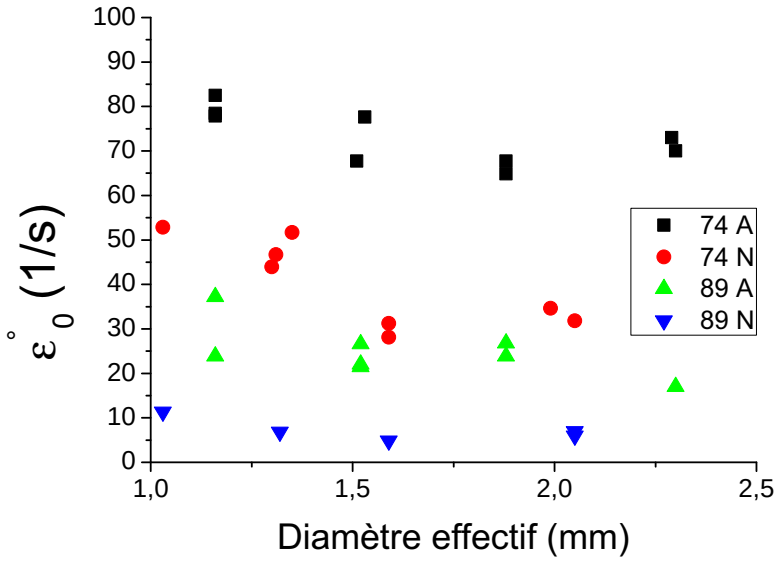


FIG. 4.15 – Taux d'élongation du filament en fonction du diamètre mouillé. L'incertitude est environ 10 %.

la transition $De \gg 2/3$ pour $\epsilon \approx 1$. De plus T_r a toujours une valeur minimum très supérieure à 3. Cela suggère que les chaînes sont déjà fortement étirées avant que la contrainte soit suffisante pour modifier le régime de rupture. Des travaux récents [138] ont aussi montré que pour une solution de xanthane, un polymère semi-rigide, les chaînes étaient significativement alignées avant l'établissement d'un régime exponentiel.

4.3.5 Conclusion et note sur le pont capillaire

Ce chapitre montre qu'il est possible de déterminer la contrainte élongationnelle lorsque le filament est plongé dans un liquide de viscosité suffisamment faible (rapport minimum de 80) et à proximité (centre du filament, de diamètre maximum 2 mm, à ≈ 3 mm) d'une paroi appelée à être remplacée par la lentille frontale d'un objectif de microscope. Cette mesure est réalisée à l'aide du détachement d'une goutte qui est facile à mettre en place, la dynamique de la goutte étant dictée uniquement par la compétition entre la tension de surface, la viscosité et la gravité.

La mesure de la viscosité élongationnelle atteinte semble peu varier avec les combinaisons (solvant, fluide d'immersion) sauf dans le cas (89 % glycérol, air). La viscosité transitoire augmente exponentiellement avec la déformation dans tous les cas mais les taux de déformation des filaments sont plus difficilement interprétables dans le cadre du modèle visco-élasto-capillaire (VEC). Une différence importante

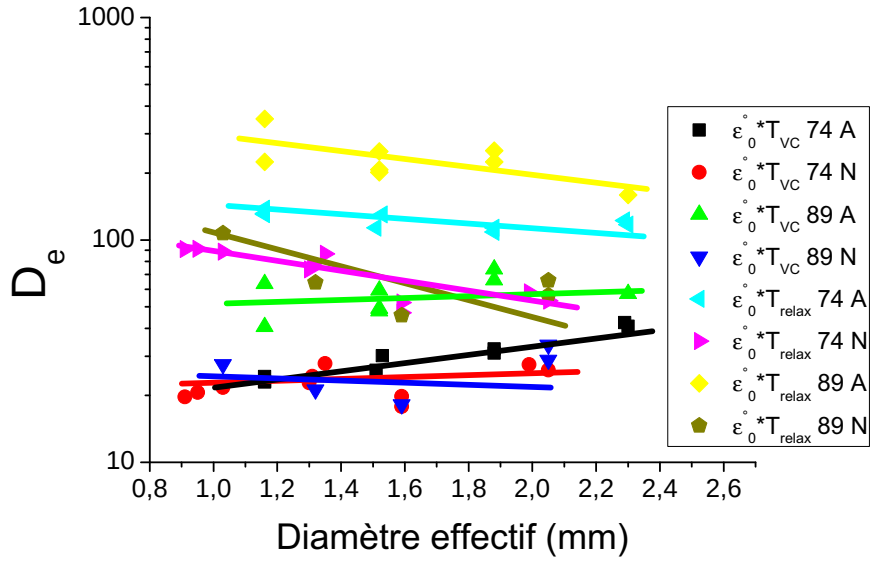


FIG. 4.16 – Nombre de Deborah des filaments en fonction du diamètre effectif du capillaire pour les solutions avec 74 ou 89 % de glycérol, plongée dans de l'(A)ir ou du (N)onane. D_e est construit avec le temps capillaire $\tau_{VC} = \eta R/\gamma$ ou le temps de relaxation τ_{relax} de l'ADN λ dans le solvant.

entre le détachement dans l'air et dans le nonane est la diminution d'un facteur 2 de la gravité effective. Lorsque la viscosité d'un liquide est suffisamment élevée (par exemple du miel) la goutte suspendue au filament n'est pas en chute libre. Or nous avons dans cette étude négligé l'effet de la gravité. Ce pourrait être une piste à explorer pour expliquer la différence de dynamique des gouttes à 89 % de glycérol (les plus visqueuses) dans l'air ou dans le nonane. L'effet de la viscosité du nonane (en ralentissant la chute de la goutte) ne permet pas d'expliquer cette différence car pour la solution à 74 % de glycérol on ne trouve pas de différence de dynamique après renormalisation par le temps visco-capillaire alors que les tailles des gouttes ne varient pratiquement pas pour les deux concentrations de glycérol utilisées.

L'influence de la gravité semble aussi intervenir dans la transition entre le régime visco-capillaire, avec un filament symétrique et le régime inertio-visco-capillaire, avec un filament asymétrique. En effet, j'ai observé ces deux régimes pour les solutions newtoniennes étudiées (voir 4.2). Par contre les séquences réalisées avec un pont capillaire pour les mêmes solutions ne montrent que le régime visco-capillaire symétrique. Cela ne signifie pas que le régime d'Eggers n'existe pas dans cette situation mais qu'il apparaît un peu plus tard et n'est pas visible dans la seconde configuration avec la résolution temporelle utilisée (1 ms). Des travaux en cours avec une caméra plus rapide (résolution de quelques μs) suggèrent que la

gravité aurait une influence sur cette transition en brisant la symétrie de l'écoulement plus tôt, même si elle n'intervient pas dans la rupture finale elle-même [103].

Ces résultats suggèrent d'utiliser un pont capillaire plutôt qu'une goutte pour déterminer la viscosité sans ambiguïté. Le critère à retenir concernant la gravité se résume à $B_o < 1$, en gardant les formules simples de viscosité élongationnelle du chapitre 3. De plus le pont capillaire offre trois avantages pratiques pour le couplage avec un montage de microscopie. D'une part il bénéficie d'un point de stagnation fixe dans le laboratoire qui est idéal pour faire la mise au point microscopique et l'observation d'une même zone du fluide. D'autre part il permet d'obtenir des filaments de rayon initial plus important qu'avec une goutte car l'encombrement est alors fixé par le diamètre du capillaire et non par par le diamètre de la goutte qui y est attachée. Enfin il offre un meilleur contrôle de la déformation initiale déclenchant l'instabilité. Le domaine instable peut être approché de manière quasistatique ou en imposant une prédéformation « instantanée » vers un état instable. C'est donc cette solution qui est implémentée pour le montage de microscopie du chapitre 6.

Troisième partie

Vers la microstructure

Chapitre 5

Écoulements élongationnels microfluidiques

Dans cette partie, j'introduis tout d'abord rapidement ce qu'est la microfluidique, son intérêt potentiel pour répondre aux questions que nous nous posons et les techniques de fabrication utilisées. Puis, je me penche sur une transition d'écoulement discontinue au sein d'une géométrie microfluidique initialement destinée à l'étude de la viscosité élongationnelle. Je montre qu'elle découle des propriétés de la viscosité élongationnelle du polymère étudié dans une contraction de la section du canal et non pas dans la zone d'injection. Enfin, je m'intéresse à l'écoulement au sein d'une contraction dans une géométrie plus classique.

5.1 La microfluidique en quelques points

5.1.1 Généralités

La microfluidique est un domaine de la mécanique des fluides relativement récent qui s'intéresse aux écoulements dont les dimensions caractéristiques sont inférieures à la centaine de micromètres. Ce genre d'écoulement n'est en soi pas nouveau. Il suffit de s'intéresser au monde vivant pour y voir l'omniprésence des écoulements à petite échelle (dans les cellules, dans les capillaires sanguins, etc.). Mais ce qui explique principalement l'émergence de ce domaine en tant que tel, c'est la mise au point de procédés technologiques permettant la création de canaux dont la géométrie et les dimensions sont parfaitement contrôlées à l'échelle du micromètre [139, 140]. De plus, si dans la plupart des cas[1] ces écoulements sont encore régis par l'équation de Navier-Stokes (éq. 1.17), la diminution de plusieurs ordres

[1]Un contre-exemple notable est l'écoulement des gaz, où l'on peut atteindre le régime de Knudsen quand la taille des canaux approche le libre parcours moyen des molécules. Ce régime est en général observé dans des situations de vide poussé (d'où un grand libre parcours moyen) comme par exemple dans l'immensité spatiale (de la macrofluidique).

de grandeur de leurs dimensions caractéristiques conduit parfois à un changement de paradigme [141].

Soit un fluide de viscosité η, de densité ρ s'écoulant à la vitesse moyenne v dans un canal de largeur l et de hauteur h, avec $h \leq l$. Je choisis h comme longueur caractéristique. Une première conséquence de cette réduction d'échelle de longueur est l'augmentation importante du rapport surface sur volume $S/V \propto 1/h$. Les forces surfaciques ne sont plus négligeables : il est notamment possible de générer un écoulement bouchon en contrôlant l'état de charge de la surface et en appliquant un champ électrique [142, 143]. Dans les écoulements diphasiques, la tension de surface joue un rôle prépondérant et permet une pléthore d'applications tournant autour de la génération de gouttes de taille contrôlée [144]. Les parois omniprésentes et le confinement ont un rôle accru, par exemple par l'intermédiaire de l'adsorption , et il devient souvent nécessaire de tenir compte de la physico-chimie du système.

Une deuxième conséquence est l'importance que prennent les phénomènes diffusifs par rapport aux phénomènes convectifs. Soit $\tau_{conv} \propto h/v$ le temps caractéristique de convection sur la distance h et $\tau_{diff} \propto h^2/D$ le temps caractéristique de diffusion sur la même distance, où D est le coefficient de diffusion. Le rapport $P_e = \tau_{diff}/\tau_{conv} \propto hv/D$ (appelé nombre de Peclet) montre que la réduction d'échelle favorise la diffusion qui aura lieu plus rapidement que la convection quand $P_e \leq 1$.

Ce résultat appliqué à la quantité de mouvement débouche sur une propriété très intéressante des écoulements microfluidiques : dans la grande majorité des cas les forces inertielles sont négligeables et l'écoulement est dans un régime de Stokes. On est donc dans le domaine des écoulements à bas nombre de Reynolds (ici, le nombre de Reynolds $R_e = \rho vh/\eta$ joue le rôle du paramètre sans dimension du paragraphe précédent, et il tend vers zéro avec la longueur h). Par exemple, pour un écoulement d'eau de vitesse 1 mm/s dans un canal de plus petite largeur 10 μm, on a $R_e = 0,01$. Le terme convectif dans l'équation de Navier-Stokes devient négligeable, et en régime permanent, sans forces volumiques, l'écoulement obéit à la loi suivante :

$$\vec{\nabla} P = \vec{\nabla}.\bar{\sigma} \tag{5.1}$$

où P est la pression, $\bar{\sigma}$ est le tenseur des contraintes. Si le fluide est newtonien et qu'il n'y a pas d'autres forces que les forces visqueuses, en posant $\nu = \eta/\rho$ la viscosité cinématique, et si l'on combine ceci à l'équation de continuité d'un fluide incompressible dans un canal infiniment rigide, toujours en régime permanent, on obtient un système d'équations linéaires pour le champ de vitesse :

$$\vec{\nabla} P = \nu \nabla^2 \vec{v} = \nu \vec{\Delta} \vec{v} \tag{5.2}$$

$$\vec{\nabla}.\vec{v} = 0 \tag{5.3}$$

En conséquence, outre l'additivité et l'unicité (à conditions aux limites fixées), tout champ de vitesse de solution stationnaire de ce système est également solution

après renversement du sens de l'écoulement (et du gradient de pression). Cette propriété n'est pas vérifiée par l'équation de Navier-Stokes à cause des termes inertiels.

La linéarité du système assure aussi l'existence de solutions analytiques explicites, notamment dans le cas d'un canal droit de section rectangulaire [141]. Au-delà du détail de la formule, il est important de noter que tout comme dans la solution bien connue de Poiseuille pour un canal de section circulaire (rayon r, longueur L) où $\Delta P = \frac{8\eta l}{\pi r^4} Q$, la perte de charge est :

– proportionnelle à la vitesse (ou au débit) et à la viscosité du fluide.
– très non linéaire en les dimensions de la section du canal

Cette proportionnalité entre le débit et la perte de charge permet de mener une analogie[2] (voir tableau 5.1) très fructueuse avec les équations de l'électrocinétique. Le coefficient de proportionnalité entre la perte de charge et le débit est appelé résistance hydraulique, par analogie avec la loi d'Ohm, et la conservation du débit est l'analogue de la loi des noeuds. Cette analogie facilite la mise au point des canaux et des procédés, et elle a même été poussée jusqu'à la création de diode (ou rectifieur) [145] et de transistors [146] microfluidiques en utilisant les non-linéarités de solutions élastiques de polymères.

Hydraulique	Électrocinétique
Débit Q	Courant I
Perte de charge ΔP	Différence de potentiel ΔV
Résistance hydraulique R	Résistance électrique$R$

Tab. 5.1 – Correspondance de l'analogie hydraulique (loi de Poiseuille) / électrocinétique (loi d'Ohm)

La linéarité de l'équation de Stokes pose en revanche un problème dans les applications où l'on cherche à mélanger les fluides (par exemple dans les réacteurs chimiques et les « laboratoires sur puce »). La turbulence inertielle, mécanisme très efficace pour mélanger, n'existe pas dans les microcanaux à cause de l'absence des non-linéarités inertielles. La diffusion est seule à l'oeuvre et ne permet pas d'homogénéiser suffisamment rapidement le contenu des canaux dans la plupart des cas. Des formes de canaux complexes qui introduisent un comportement chaotique en repliant les lignes de courant [147] ou en utilisant des écoulements instationnaires [148] ont été inventées afin d'accélérer le mélange de liquides newtoniens. Une autre approche consiste à utiliser la turbulence élastique causée par les non-linéarités de la relation constitutive de solutions de polymères élastiques (cf. 1.2.2). On obtient ainsi un mélange efficace au sein de microcanaux [149] pour un nombre de Reynolds arbitrairement bas (en raison de la dépendance inverse avec la taille du canal du nombre de Reynolds et du nombre de Weissenberg, voir la partie 5.1.2), ceci

[2] qui ne se limite pas au domaine de la microfluidique

au prix de l'utilisation d'une solution de polymère[3].

Dans le cas où l'épaisseur du canal est inférieure à environ dix fois sa largeur ($h \leq 10l$), le microcanal se comporte comme une cellule de Hele-Shaw [141]. Ceci signifie que l'écoulement pourra être décrit dans cette zone par un écoulement potentiel 2D. Bien sûr, cela ne signifie pas que le cisaillement soit totalement absent (le profil de vitesse dans l'épaisseur du canal est parabolique) mais que la condition de non glissement aux parois est écrantée horizontalement sur une distance de l'ordre de l'épaisseur du canal. Le champ de vitesse horizontal pour une altitude donnée est celui d'un fluide parfait dès que l'on s'écarte à plus d'une épaisseur de canal de la paroi vertical. Cette propriété se trouve être fort utile pour comprendre la forme de l'écoulement dans les cellules.

5.1.2 Aspects pertinents pour l'élongation de polymères

Le nombre de Weissenberg (produit du taux de cisaillement par le plus long temps de relaxation du polymère, revoir la section 1) de l'écoulement d'une solution de polymère avec un temps de relaxation τ dans le canal modèle de la partie 5.1.1 s'écrit

Il en découle immédiatement que la miniaturisation des écoulements (diminution de h) permet d'accéder à des W_e élevés (en favorisant les taux de déformation élevés) tout en conservant des écoulements exempts d'instabilités inertielles (R_e petit).

Ce point est important car en raison de la dépendance avec la vitesse identique pour R_e et W_e le domaine d'apparition des effets élastiques est confondu avec le domaine des instabilités inertielles pour les écoulements macroscopiques. Dans ces cas, il est difficile de déconvoluer un effet de l'autre, les deux types d'effets étant non-linéaires. Dans une géométrie microfluidique au contraire, on pourra ne prendre en compte que les effets d'origine élastique (par ex. la turbulence élastique dans un microcanal serpentin [149]).

Les techniques de réalisation des microcanaux permettent une grande variété de géométries aux dimensions précises qui donne, combinée au confinement inhérent aux microcanaux, accès à un contrôle fin de l'écoulement. Il est notamment possible d'obtenir un écoulement élongationnel planaire pur dans le plan de cisaillement nul d'un canal (grâce au point de stagnation au centre d'un canal en croix) ce qui permet d'observer une molécule d'ADN en élongation pendant un temps arbitrairement long [31, 32].

Les deux exemples précédents reposent sur le dernier atout des géométries microfluidiques : la facilité de visualiser ce qui se passe dans l'écoulement. En effet, une des parois du canal peut être une lamelle de microscope en verre (c'est notre cas, cf. 5.1.3). L'ajout de colorants (fluorescents ou non), de traceurs (particules

[3]Rappelons ici que de nombreux fluides biologiques, outre les solutions d'ADN, sont viscoélastiques, ce qui étend la portée de cette technique

ou molécules) donne accès à une plus ou moins grande connaissance du champ de vitesse.

5.1.3 Fabrication

Méthode simple

Je décris ici une méthode simple pour la fabrication de canaux avec au moins une dimension micrométrique. Ceci permet un prototypage rapide (moins d'une heure) sans la fabrication préalable d'un masque lithographique haute résolution. Le canal est découpé dans un morceau de ruban adhésif[4] double face qui est lui-même placé entre deux lamelles de verre. Le ruban adhésif double face (3M) d'épaisseur environ 70 microns permet d'obtenir une hauteur de canal suffisamment faible pour la visualisation microscopique et l'obtention d'un faible nombre de Reynolds. En revanche, la découpe avec une lame de scalpel du ruban adhésif limite la résolution des canaux à une cinquantaine de microns (pour la rugosité des parois) et donc à des canaux de dimension plutôt millimétrique. On note au passage que cela nous permet de rester dans le cadre de l'approximation des écoulements potentiels à deux dimensions. La partie la plus technique de ce mode de fabrication réside dans la connectique. Il faut en effet percer dans le verre les trous nécessaires à l'écoulement des fluides. Les trous sont percés dans une lame épaisse qui permet de solidifier l'ensemble de la cellule, alors que l'autre lame peut-être une lamelle de 0,17 mm d'épaisseur permettant l'utilisation d'un objectif de microscope à huile (afin d'avoir une grande ouverture numérique).

Le matériel nécessaire comprend : deux lames de verre ou une lame et une lamelle, du ruban adhésif double face,un scalpel, des aiguilles de seringues, des tubes flexibles adaptés au diamètre des aiguilles, de la colle résistant à l'eau (type Araldite), une perceuse et un foret diamanté de diamètre adéquat, éventuellement une sableuse et un gabarit pour les trous, de l'huile de térébenthine, de l'éthanol.

Voici les étapes nécessaires à la réalisation de ces canaux (l'un d'entre eux est utilisé dans la section 5.3, voir fig. 5.20) :

1. Il faut tout d'abord percer la lame de verre qui recevra les connexions. Pour une lame[5] de verre de 1,1 mm, il est possible de forer des trous cylindriques de 1 mm de diamètre relativement aisément[6] si l'on respecte quelques précautions. Le perçage du verre requiet évidemment de ne pas effectuer des mouvements brusques et de bien lubrifier la zone percée. Mais j'ai pu observer par ailleurs que lors d'un perçage à sens unique, la sortie du foret causait

[4] Il est aussi possible d'utiliser un film de Parafilm collé par un léger chauffage si le débit appliqué n'implique pas de trop fortes pressions.

[5] Dans le cas d'une lamelle de 0,17 mm, il est plus commode d'utiliser une sableuse qui permet de forer des trous par abrasion à l'aide d'un gabarit en métal. Pour une lamelle de 1,1 mm le trou obtenu avec la sableuse a une forme fortement conique.

[6] C'est à dire sans casse, ce qui dans le cas contraire est fort frustrant car il y a au moins deux trous par lame

un cratère irrégulier et large dans le meilleur des cas, et dans la plupart des cas la rupture de la lamelle. En revanche, si l'on fore seulement une moitié de l'épaisseur de la lamelle puis qu'on la retourne pour forer la seconde moitié dans l'autre sens (en prenant soin de bien aligner les deux excavations), le taux de casse devient quasiment nul et le trou bien cylindrique. Il ne reste plus alors, une fois les trous finis, qu'à nettoyer les lamelles de toute trace d'huile ou autre salissure.

2. Puis il faut évider le canal dans le ruban adhésif toujours protégé. L'utilisation d'un patron et d'un réglet, ou encore d'un emporte-pièce, facilite cette étape.

3. Il faut ensuite coller le pourtour du canal sur la lamelle fenêtre, en faisant bien attention à chasser toute bulle d'air, puis la lame trouée en faisant attention à l'alignement des trous avec le canal (chaque film protecteur du ruban adhésif étant enlevé seulement au moment de l'applique de la lame correspondante). On applique une pression suffisante pour assurer l'adhésion de l'ensemble.

4. L'étape finale consiste à coller la partie en plastique des aiguilles en face de chaque trou. Il est possible de limer la pointe des aiguilles au préalable, ce qui réduit le risque de perforation des tubes plastiques lors de l'insertion et la manipulation, mais dans le cas de tubes très ajustés cela rend l'insertion plus difficile. Il faut également faire attention à mettre suffisamment de colle pour assurer l'étanchéité sans pour autant boucher le canal. Après séchage, la cellule est prête à être connectée au reste du circuit.

Ces cellules sont simples, rapides à réaliser et peu coûteuses. Leurs dimensions donnent accès à des écoulements dans le régime de Stokes (avec un canal de largeur 1 mm, $R_e = 1$ pour un débit de 60 $\mu l/min$). Elles permettent des débits jusqu'à 8 ml/min ($R_e = 80$) avec de l'eau . La hauteur du canal est stable dans le temps en dépit d'une légère absorption d'eau au sein des parois du canal observable après plusieurs heures de circulation. Malgré cette faible porosité des parois à l'eau, les bulles d'air coincées au sein de l'écoulement ne se résorbent pas sur la durée d'une expérience, contrairement à ce qui se passe dans les cellules en PDMS. Elles sont idéales pour tester rapidement des géométries de microcanaux sans avoir besoin d'imprimer un masque et de réaliser un moule en résine.

Leur défaut principal reste la faible résolution au niveau des parois. La rugosité importante associée à la découpe ne permet pas un contrôle fin de la forme des écoulements lorsque la dimension latérale des canaux est plus petite qu'un demi millimètre. Or pour atteindre des taux de déformation importants tout en ayant une vitesse et un champ d'observation utile suffisamment faible pour permettre l'observation microscopique, il faut diminuer encore ces dimensions.

Approche sophistiquée

Pour obtenir des microcanaux de largeur micronique avec une rugosité inférieure au micron, j'utilise des cellules en PDMS (Sylgaard 188) sur verre fabriquées selon le protocole de lithographie molle proposé dans [139]. Un moule en résine (SU8, Microchems) photosensible est fabriqué sur une galette de silicium, sans modification majeure du protocole par rapport aux recommendations du fournisseur de résine. Le PDMS est versé et polymérisé sur ce moule, puis on le colle à l'aide d'un plasma micro-onde d'air raréfié sur une lamelle de microscope en verre.

5.2 Géométrie « focusing »

5.2.1 Origine

Lors de son post-doctorat au sein de l'équipe, Yacine Amarouchène a proposé d'utiliser une géométrie dite de « flow focusing » afin de générer un écoulement élongationnel contrôlé. Cette géométrie (voir la figure 5.1) est un carrefour plan à quatre canaux avec trois canaux entrants et un canal de sortie, de hauteur constante comprise entre 70 et 100 μm. Le fluide arrivant par les deux canaux latéraux (largeur 1 mm) va focaliser et accélérer le fluide arrivant du canal central (largeur 0,1 mm) jusqu'au canal d'évacuation (largeur 0,1 mm). Le fluide central est une solution de polymères dilués, le fluide latéral est une solution newtonienne de viscosité de cisaillement proche (c'est en général le solvant pur de la première solution, leur viscosité étant quasiment identique dans le régime dilué). Si le débit latéral est suffisamment supérieur au débit central, on obtiendra un écoulement mixte à dominante élongationnelle à la sortie du canal d'injection (voir la figure 5.2). Le cisaillement présent au sein de l'écoulement est principalement dû au confinement dans l'épaisseur du canal. Le profil de vitesse dans l'épaisseur est approximativement parabolique, la hauteur du canal étant au centre du carrefour dix fois plus petite que sa largeur. On obtient ainsi un écoulement purement élongationnel dans le plan à demie hauteur du canal. La réalisation d'un champ de vitesse purement élongationnel (dans le plan médian) à l'aide d'une géométrie similaire a été démontré expérimentalement [63], ainsi que sa capacité à étirer des chaînes d'ADN.

Une fois un tel écoulement réalisé, l'étape suivante consiste à trouver une relation entre la viscosité élongationnelle (ou plus généralement les contraintes au sein de l'écoulement) et un paramètre mesurable facilement, le tout en fonction des débits imposés. Cette relation obtenue, il resterait à déterminer la conformation des molécules d'ADN par microscopie de fluorescence en fonction du débit pour pouvoir relier conformation microscopique et contraintes macroscopiques.

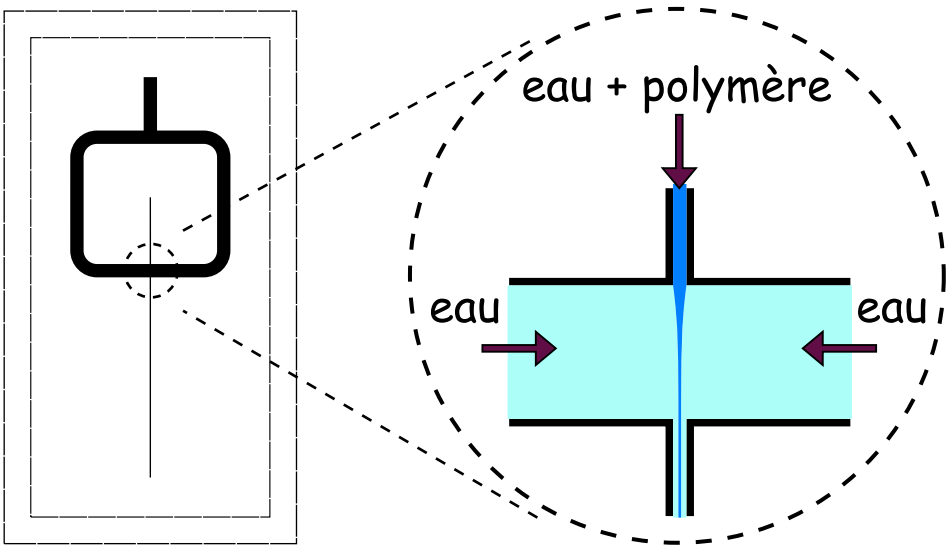
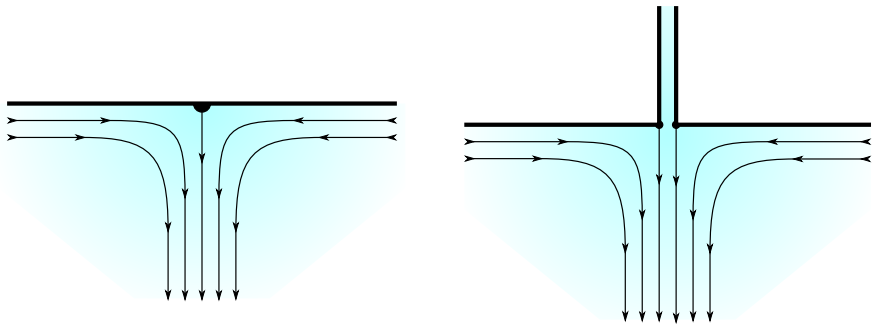


FIG. 5.1 – À gauche, schéma du microcanal utilisé (PDMS sur verre) pour les expériences de « focusing ». Le canal central fait 100 μm de large et le canal latéral fait 1 mm. À droite, zoom sur la zone de focalisation de l'écoulement. On injecte la solution polymérique avec un débit Q_c et le liquide newtonien avec un débit total Q_l, soit $Q_l/2$ de chaque côté du canal latéral.



(a) Un canal en forme de T et les lignes de courant du point de stagnation associé.

(b) Canal en auquel on a ajouté un canal d'injection central.

FIG. 5.2 – Principe d'obtention d'un écoulement élongationnel en géométrie « flow focusing ». Si le débit central est suffisamment plus faible que le débit latéral, l'écoulement est peu modifié et garde sa nature élongationnelle. En toute rigueur il y a maintenant deux points de stagnation, mais si la largeur et le débit de la nouvelle source sont faibles, les lignes de courant précédentes seront peu modifiées.

5.2.2 L'effet « die-swell » inversé

Avant de rentrer dans le détail des expériences, je décris ici une observation surprenante. La première grandeur étudiée a été la forme de l'interface séparant la solution de polymères focalisée du fluide latéral newtonien. Les fluides sont injectés dans la géométrie décrite en 5.2.1 et les débits sont imposés à l'aide de pousse-seringues. Différentes combinaisons de débits latéral et central sont imposées, et l'on prend une photographie de l'interface (visible grâce à un agent de contraste) une fois un régime stationnaire atteint. On s'est intéressé plus particulièrement à la largeur maximale de l'interface à la sortie du canal d'injection en utilisant des solutions de POE ($(CH_2CH_2O)_n$) de poids moléculaire 8 millions de grammes par mole dilué à 100 parties par million dans de l'eau pure (ceci assure des effets élastiques déjà très marqués), additionnées d'une petite quantité de bleu de méthylène pour visualiser l'interface.

Lorsque l'on augmente le débit central, la largeur maximum d_{max} commence par augmenter elle aussi. Ceci est valable autant pour le liquide polymérique que pour un liquide newtonien. Néanmoins, dans le cas de la solution de POE, il existe un débit au-delà duquel non seulement d_{max} cesse d'augmenter avec le débit mais elle redescend à une valeur beaucoup plus basse que pour des débits plus faibles. Au-delà de ce débit critique, d_{max} ne dépend plus beaucoup du débit et la largeur de l'interface semble quasiment constante tout du long du canal. Ce comportement est illustré sur la figure 5.3 où l'on peut apprécier le changement de forme spectaculaire de l'interface : on passe brusquement d'une forme d'entonnoir de plus en plus évasée avec l'augmentation du débit à une forme de section constante variant peu avec le débit.

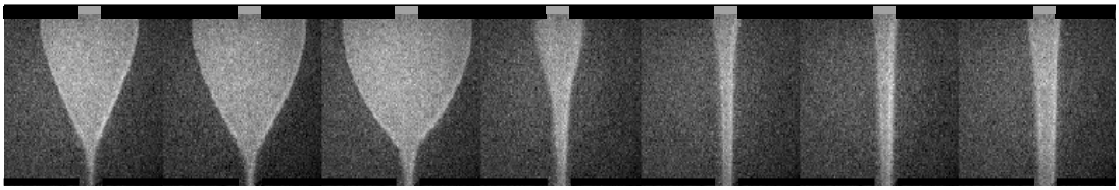


FIG. 5.3 – Séquence d'images d'écoulement stationnaire illustrant l'effet « Die-swell » inversé. Le débit central est augmenté par paliers. On note le changement radical de forme de l'écoulement pour un débit critique (passage de l'image 3 à l'image 4). L'échelle est donnée par le canal central (injection en haut, délimité en noir) qui fait 100 μm de large. Une image fait $\approx$1 mm de haut (largeur du canal latéral). L'épaisseur du canal est 100 μm.

Ce phénomène n'a pas lieu si l'on injecte une solution de solvant pur. On l'a surnommé effet « die-swell » inversé, par contraste avec ce qui se passe à la sortie d'un tube duquel est éjectée une solution polymérique élastique. En effet, on observe dans ce cas une augmentation du diamètre du jet liquide qui peut facilement doubler par rapport au cas d'un liquide newtonien (voir la section 1.2.2).

Cette dénomination souligne le caractère paradoxal de ce phénomène. Dans le cadre de l'effet « die-swell » , il est clairement établi que c'est la relaxation des contraintes normales causées par le cisaillement des polymères qui sont la cause de la dilatation du jet [2]. Lorque le cisaillement cesse, les chaînes se replient en entrainant le solvant. De plus il est assez facile d'obtenir de tels effets élastiques avec du POE et on a pu observer qu'à cette concentration les contraintes normales de la solution pouvaient être importantes. Or, à la sortie du canal d'injection on observe bien une contraction et non pas une dilatation.

Quelle est la cause de ce phénomène apparemment contradictoire ? Même au sein d'une géométrie simple comme celle-ci, l'effet des polymères ajoutés à la solution peut prendre de nombreuses formes. Est-ce un effet élastique, visqueux ? Est-il déclenché par du cisaillement, de l'élongation ?

5.2.3 Méthodes : interface et trajectoires

Les cellules microfluidiques (fig. 5.1) sont placées sur un microscope métallographique équipé d'objectifs à longue distance de travail. L'éclairage se fait en épifluorescence avec une lampe à mercure de 100 W avec un jeu de filtres adaptés à la fluorescéine ou en transmission avec une lampe halogène. L'acquisition des images est réalisée sur une caméra Coolsnap Cf (Roper Instrument) ayant une matrice CCD de 1392x1040 pixels carrés et un temps d'exposition minimum de quelques microsecondes. Le temps de lecture du CCD entier (équipé d'un masque interligne) est 100 ms.

Solutions étudiées

Pour ces expériences, j'ai utilisé deux types de polymères. D'une part, du POE 8.10^6 g/mol (Sigma Aldrich) afin de bénéficier de la grande flexibilité du POE, d'autre part de l'ADN λ (Sigma Aldrich) en vue d'une possible visualisation par microscopie de fluorescence.

Les solvants utilisés sont des solutions d'eau contenant une plus ou moins grande quantité de glycérol afin d'ajuster la viscosité. Les solutions A,B,C et D contiennent respectivement 0, 24, 50 et 59 % de glycérol en masse, avec pour viscosité de cisaillement 1,0, 2,0, 5,6 et 9 $mPa.s$ à 20 $^{\circ}C$

Les solutions de POE sont réalisées en dissolvant le polymère en poudre progressivement, avec une agitation modérée et un léger chauffage durant 24 heures, jusqu'à disparition complète des paquets de POE non dissous et des variations d'indice optique. J'ai utilisé du POE à 8.10^6 g/mol dilué à 100 ppm dans de l'eau pure de résistivité 18 $M\Omega/cm$, ou bien une solution concentrée à 1000 ppm dans de l'eau pure diluée ultérieurement à 100 ppm avec une solution eau/glycérol afin d'ajuster la viscosité du solvant.

Les solutions d'ADN λ ont été réalisées comme en 2.1.1, le solvant étant alternativement une solution tampon de Tris-HCl $pH = 7{,}5$ à 2 mM d'EDTA et 10 mM

de NaCl de même viscosité que l'eau, ou contenant 92 % de glycérol ($\eta_{cis} = 360$ $mPa.s$).

Visualisation de l'interface

De par la faible concentration en polymère, les deux liquides injectés sont quasiment identiques d'un point de vue optique. La différence relative entre leurs indices de réfraction (valeur moyenne mesurée avec un réfractomètre sous lumière blanche, déterminée pour de l'eau pure et une solution de POE à 3000 *ppm* respectivement à 1,333 et 1,334) est inférieure à 0,01 %. On a donc initialement ajouté du bleu de méthylène pour avoir un contraste d'absorption (la cellule est éclairée en transmission). La concentration en bleu de méthylène doit être suffisamment importante pour assurer le contraste et suffisamment faible pour ne pas modifier les propriétés de la solution de polymères. De plus, il est nécessaire de filtrer la solution colorée. Malgré cela, j'ai noté une dégradation à l'échelle de quelques heures des propriétés viscoélastiques des solutions comportant du bleu de méthylène (ou bien de la rhodamine) aux concentrations nécessaires pour avoir un bon contraste.

Cet inconvénient disparaît en ajoutant le bleu de méthylène à la solution newtonienne plutôt que dans la solution de polymères. Toutefois un dépôt irréversible se formait le long des interfaces successives lors d'observations prolongées . J'ai donc abandonné le bleu de méthylène et utilisé un colorant fluorescent (de la fluorescéine) avec le jeu de filtres adaptés. De cette façon le contraste était excellent pour des concentrations de colorants non détectables à l'oeil en lumière blanche, et sans dégradation des propriétés des solutions à l'échelle de quelques jours.

Contrôle de l'écoulement

Pour générer un écoulement il est possible alternativement d'imposer la différence de pression ou le débit. Un contrôle en pression a l'avantage d'imposer le champ de vitesse quasi instantanément car exempt d'effet de compliance [141] mais nécessite une connectique plus évoluée afin d'assurer la reproductibilité des conditions d'une expérience à l'autre (changement de cellule, effet de capillarité, tubes de longueurs différentes, etc.).

J'utilise des pousse-seringues pour imposer le débit (modèles Razel ,Orion, et Harvard PH 2200). Afin de minimiser les problèmes d'irrégularité du débit (dus au phénomène d'adhésion-glissement du piston) il faut veiller à choisir une seringue de capacité adaptée aux spécifications données par le contructeur du pousse-seringue en fonction de la gamme de débits souhaités, ainsi qu'à la viscosité du fluide. J'ai donc utilisé des seringues en plastique de 1 à 10 ml (Terumo) et en verre de 1000 μl à 5 ml (Hamilton), pour des débits typiquement compris entre 0,01 $\mu l/min$ et 1 ml/min.

Ajout de traceurs

Afin d'élucider le champ de vitesse j'ai ajouté aux solutions étudiées des billes de latex non fluorescentes de diamètre 2 μm (Sigma Aldrich) afin d'avoir une estimation de la forme du champ de vitesse. Plus précisément, lors de l'acquisition d'une image sur la caméra avec un éclairage en transmission, une microbille projette une ombre le long de sa trajectoire. Puisque l'écoulement est stationnaire, cette trace est à la fois le long de la trajectoire et le long d'une ligne de courant. A l'aide d'une seule image et dans le cas d'un bon contraste d'image, la longueur de cette ombre permet de remonter à la vitesse moyenne de la particule pendant la durée de l'exposition (connue). Une approche plus fine peut même utiliser l'intensité au sein de la trace sombre pour remonter au temps d'occultation de la lumière en un point, et donc la vitesse instantanée[7]. Cependant la faiblesse et la variabilité du contraste dues à la taille réduite des billes et à leur vitesse (variable) m'a dissuadé d'utiliser des données plus quantitatives que l'allure des lignes de courant.

La fraction volumique des particules est réduite à 0,0025 % afin de minimiser leur effet sur l'écoulement. Ainsi une trentaine de particules est visible dans toute la portion observée de la cellule avec le grossissement x5. Leur densité ($d \approx 1,05$) est donnée légèrement supérieure à celle de l'eau. La sédimentation est encore visible sur certains clichés par une asymétrie de fraction volumique entre les canaux (et de répartition en leur sein) introduite par la position horizontale de la seringue. Cette inhomogénéité du profil de concentration le long de la hauteur du canal rend impossible la détermination du champ de vitesse horizontale moyenne en un point du canal.

Des séries de 100 images consécutives sont obtenues pour un même jeu de débits fixés. Les images sont traitées avec ImageJ [131]. S'il y a une dérive de la position de la cellule par rapport au champ de vision, les images sont réalignées (translation ou rotation) en utilisant les parois du canal. Une image de référence du fond est obtenue en prenant pour chaque coordonnée de pixel la valeur la plus brillante de la série (la présence de bille causant une ombre, donc une valeur basse, mais seulement sur quelques images car elle se déplace suffisament dans la plupart des cas). Cette méthode donne un résultat plus propre que de faire la moyenne de la série car la distribution des traces et leur intensité ne sont pas uniformes. L'image de référence est soustraite à chaque image de la série, et la série résultante est moyennée. J'obtiens ainsi l'allure des lignes de champ moyennée dans l'épaisseur du canal.

5.2.4 Mesures

Je présente de manière parallèle les résultats correspondant respectivement au cas newtonien et au cas des solutions de polymères afin de souligner les points

[7] Si la source de lumière est constante dans le temps, ce qui n'est pas le cas ici, ou si elle fluctue plus rapidement que le plus petit pas de temps à résoudre

communs et les différences pour chaque type d'obervation. La solution de polymère est du POE à 8.10^6 g/mol dilué à 100 ppm ou de l'ADN λ à 40 ppm (dans une solution à 92 % de glycérol uniquement, car c'est la solution caractérisée dans le chapitre 4). Les mesures sont toujours réalisées pour le solvant « pur » puis ensuite avec la solution de polymère, afin d'éviter toute contamination.

Formes de l'interface

J'observe la forme de l'interface pour différentes combinaisons de débit. Dans le cas newtonien, l'augmentation du débit central à débit latéral fixé se traduit par un élargissement de l'aire occupée par le fluide central. A débit central fixé, une augmentation du débit latéral cause une diminution de cette aire. Si l'interface évolue de manière similaire dans une certaine gamme de débit pour le cas polymèrique, il y a certaines paires de valeurs pour lesquelles l'interface semble se contracter sur elle même (voir la séquence de la figure 5.4).

Pour quantifier simplement l'évolution de la forme de l'interface, je mesure d_{max} la largeur maximale de la zone centrale. La largeur maximale se trouve en général près de la sortie du canal d'injection.

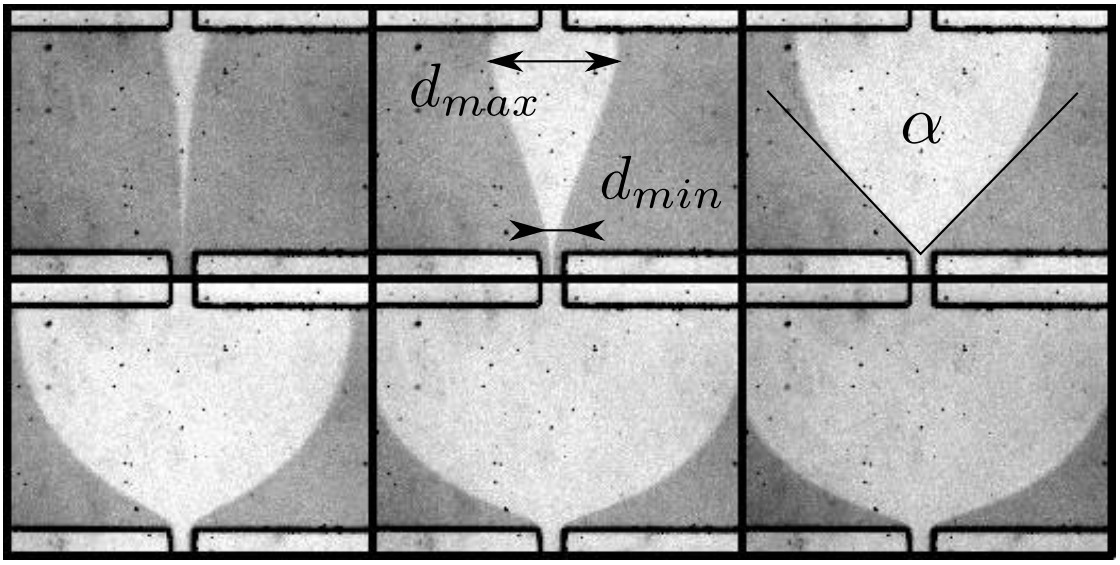
L'effet sur d_{max} (dans le cas newtonien) d'une variation de Q_c ou de Q_l semblant être inverse, je réalise des séries de mesures en variant Q_c à Q_l fixé. La figure 5.5 représente l'évolution de d_{max} en fonction du débit central dans les cas newtonien (eau) et polymèrique (POE). On retrouve l'existence de valeurs seuils au- delà desquelles la largeur de l'écoulement polymèrique s'effondre. Je précise ici que si ces résultats sont obtenus en variant le débit central, on a le comportement suivant pour une variation du débit latéral. En partant d'un écoulement large ($d_{max} \gg l$), tel que la transition[8] n'a pas eu lieu , avec un débit central fixé, l'augmentation du débit latéral induit une diminution continue et monotone de la largeur, mais pour une certaine valeur, la forme de l'interface se contracte et s'écarte de la forme du cas newtonien.

Je mesure aussi la largeur d_{min} au niveau du canal de sortie.

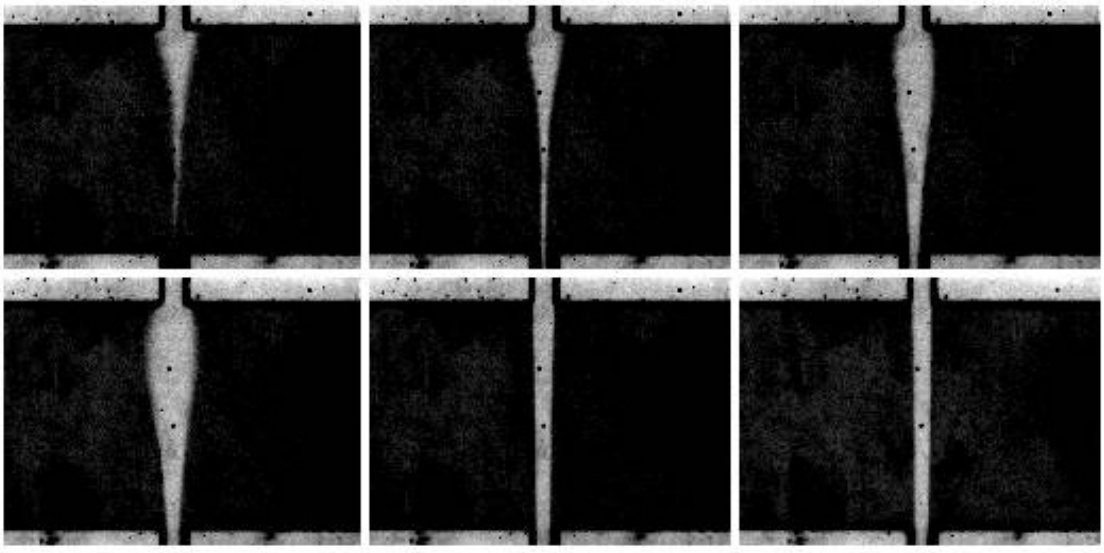
On peut caractériser les conditions de la transition en relevant les paires de valeurs critiques des débits pour lesquelles la largeur maximum d_{max} change significativement de celle du cas newtonien. La figure 5.6 représente dans le plan des débits (Q_c, Q_l) la frontière séparant les interfaces de forme correspondant aux cas newtonien de celle s'en écartant. La borne inférieure droite de la frontière n'est plus mesurable lorsque le flux central n'est plus discernable ($Q_c < 10Q_l$).

Cette frontière possède une certaine « épaisseur » . Ceci est principalement dû à de l'hystérésis autour de la transition : lorsque l'on redescend un des débits sous sa valeur critique l'écoulement ne reprend pas la forme initiale newtonienne immédiatement ; il faut parfois descendre le débit d'une dizaine de $\mu l/min$ pour déclencher la transition. Il est difficile de déterminer si cela est dû intrinsèquement

[8] J'entends par là une transition vers une forme significativement différente de la forme qu'aurait une solution newtonienne pour les mêmes débits

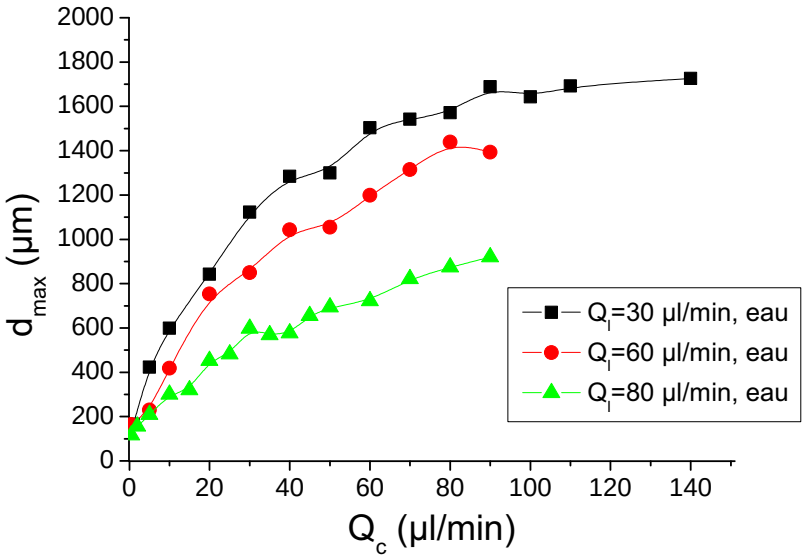


(a) Cas newtonien : eau + microbilles. On introduit l'angle α que fait l'interface au niveau du canal d'évacuation.

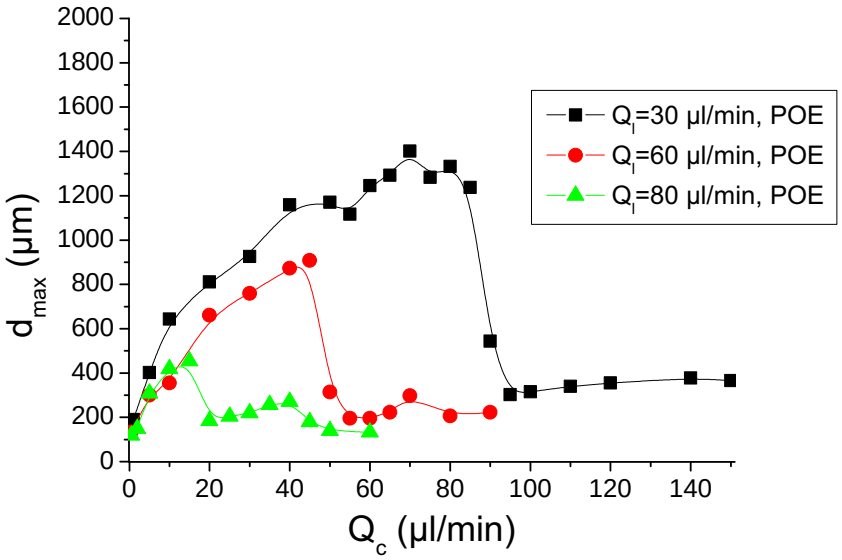


(b) Cas polymérique : eau + 100 *ppm* de POE 8.10^6 g/mol + microbilles.

FIG. 5.4 – Suite d'images de l'écoulement dans la cellule en variant le débit central à débit latéral fixé $Q_l = 20\ \mu l/min$. Pour chaque solution, on a dans l'ordre de lecture $Q_c = 1$, 5, 25, 50 et 110 $\mu l/min$. La présence de microbilles change les valeurs des seuils mais pas l'évolution qualitative. Je présente les images de ces solutions particulières car elles correspondent à celles avec les lignes de champs (fig. 5.10).



(a) Eau.



(b) POE.

FIG. 5.5 – Évolution de la largeur d_{max} en fonction de Q_c à débit latéral fixé (Q_l=30, 60 et 80 $\mu l/min$) pour les solutions newtonienne (eau) et polymèrique (POE 8.10^6 g/mol à 100 ppm). Dans le cas de la solution de polymère, il y a un écart important au delà de certains débits critiques : Q_c^{crit} = 20, 50 et 90 $\mu l/min$ pour la solution de POE 8.10^6 g/mol à 100 ppm.

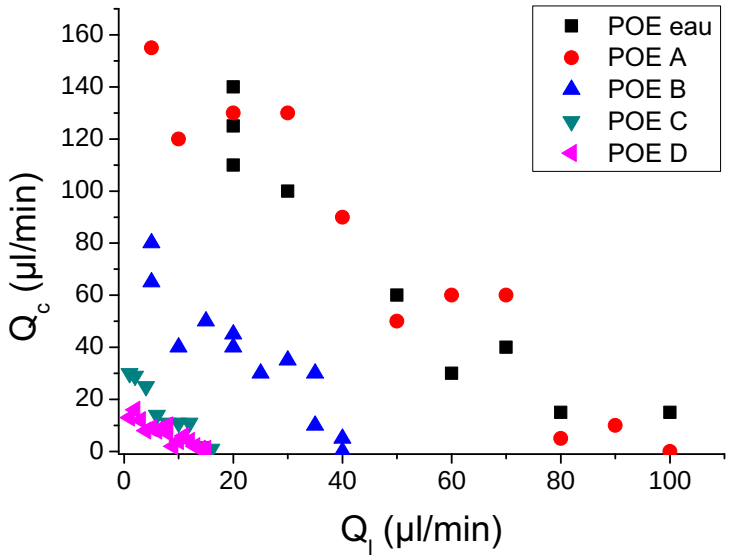


FIG. 5.6 – Diagramme de phase en fonction des débits pour les solutions de POE à 8.10^6 g/mol dilué à 100 ppm dans les solvants A,B,C et D (avec η_{cis} = 1, 2, 5,6 et 9 $mPa.s$. Les points de la solution notée « eau » (eau pure et POE, donc solvant A), ont été mesurés par Dirk Aarts.

au fluide et à l'écoulement ou à l'état de propreté du canal. En effet, il se produit parfois un phénomène d'accrochage de l'interface au niveau du point de stagnation, en général plus important à mesure que le temps passe. Ceci pourrait être la signature d'un effet de contamination de la paroi.

Si l'on augmente significativement plus les débits dans le cas newtonien, la forme de l'interface peut aussi se contracter de manière discontinue pour le fluide newtonien. Pour un débit central seuil (à débit latéral fixé), l'interface se contracte au niveau du canal d'injection et prend la largeur de ce dernier. Elle s'élargit en traversant le canal latéral puis se contracte de nouveau juste avant le canal d'évacuation (voir la fig. 5.7). La transition entre une interface centrale large ou en « jet » est hystérétique. Je n'ai pas étudié ce type d'écoulement car cette contraction est probablement d'origine inertielle : pour la transition de la figure 5.7 le nombre de Reynolds $R_e = \rho Q_c/\eta l$ critique est d'environ 250.

Le cas de la solution d'ADN est différent. En effet, si pour la solution de POE la transition est aisément identifiable par la contraction quasi uniforme de l'interface en travers du canal latéral, la solution d'ADN semble présenter un comportement intermédiaire. On observe certes un écart avec le cas du fluide newtonien (ici une solution de glycérol très visqueuse), mais la forme de l'interface reste bombée près du canal d'injection et n'est pas rectiligne sur toute sa longueur (fig. 5.8). Chaque image de cette figure est la superposition des interfaces obtenues en faisant varier

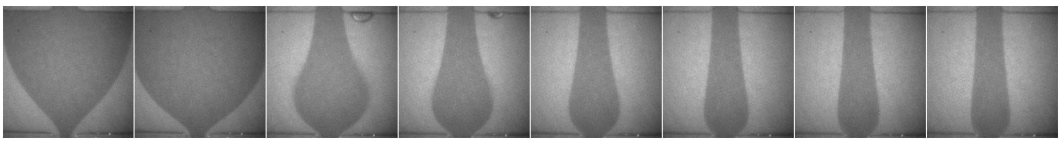
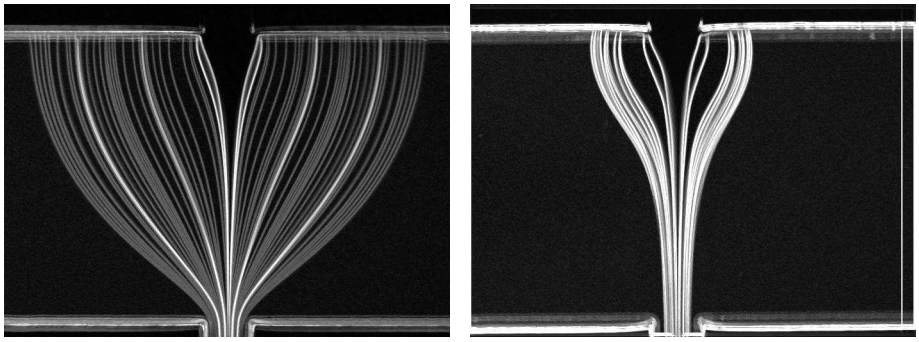


FIG. 5.7 – Injection (par le haut de l'image) d'eau colorée à débit élevé ($Q_c/3 =$ 100,200,500,600,700,800,900 et 1000 $\mu l/min$ et $Q_l = 100$ $\mu l/min$). La transition vers un jet inertiel, entre la deuxième et la troisième image a lieu pour $R_e \geq 250$.

les débits. Les contours sont extraits à l'aide d'un filtre Sobel (module du gradient de l'intensité de l'image), et les images sont réalignées grâce aux contours du canal avant la superposition. La viscosité importante du solvant (240 $mPa.s$) conduit à attendre plusieurs minutes avant d'obtenir une interface stationnaire (à cause de la compliance).



(a) Cas newtonien avec une solution de glycérol à 92 %. Les quatre interfaces plus brillantes sont obtenues à $Q_c = 0,8$ $\mu l/min$ et $Q_l = 20, 10, 5, 1$ $\mu l/min$

(b) Cas polymérique avec de l'ADN λ à 40 *ppm* dans la solution de glycérol.

FIG. 5.8 – Superposition des contours des interfaces pour différents débits. $Q_c \in [0, 8 : 12]$ $\mu l/min$ et $Q_l = 10$ $\mu l/min$ sauf si spécifié autrement. La surface enclose par l'interface augmente avec Q_c pour Q_l constant, ou diminue quand Q_l croît à Q_c constant.

On retrouve dans le cas newtonien les mêmes formes d'interface que pour l'eau, alors que l'on a des formes en entonnoir ou en verre de vin dans le cas polymèrique, assez différentes de celles du POE après la transition. De plus l'écart entre les deux formes se fait progressivement. Le diamètre maximum (fig. 5.9) ne présente pas la discontinuité en fonction du débit observée avec le POE.

Lors d'un changement de débit avec une solution d'ADN et un fluide latéral contenant plus de fluorescéine (et donc avec un contraste accru), j'ai pu observer une inhomogénéité de la fluorescence au sein du fluide latéral près du canal de sortie. Des zones de fluide plus sombres semblaient s'éloigner du canal de sortie

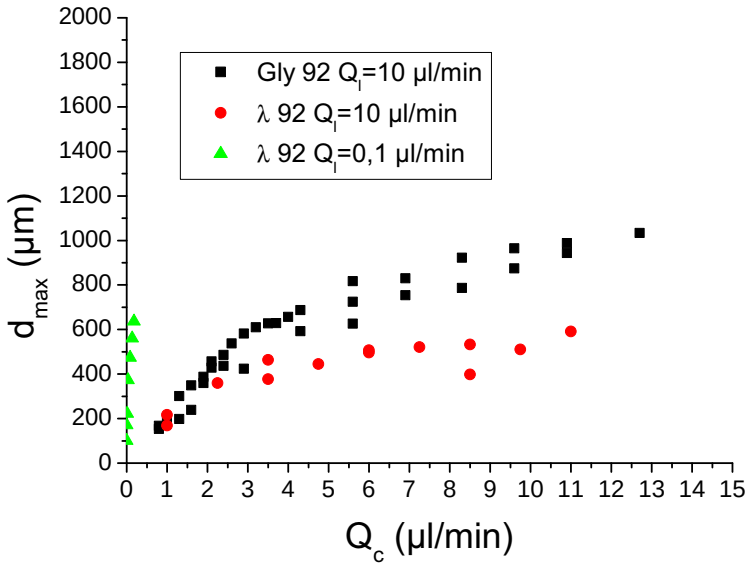


FIG. 5.9 – Évolution de la largeur d_{max} en fonction de Q_c à débit latéral fixé (Q_l=0,1 et 10 $\mu l/min$) pour les solutions newtonienne (92 % glycérol) et polymèrique (ADN λ à c^* et 92 % glycérol)).

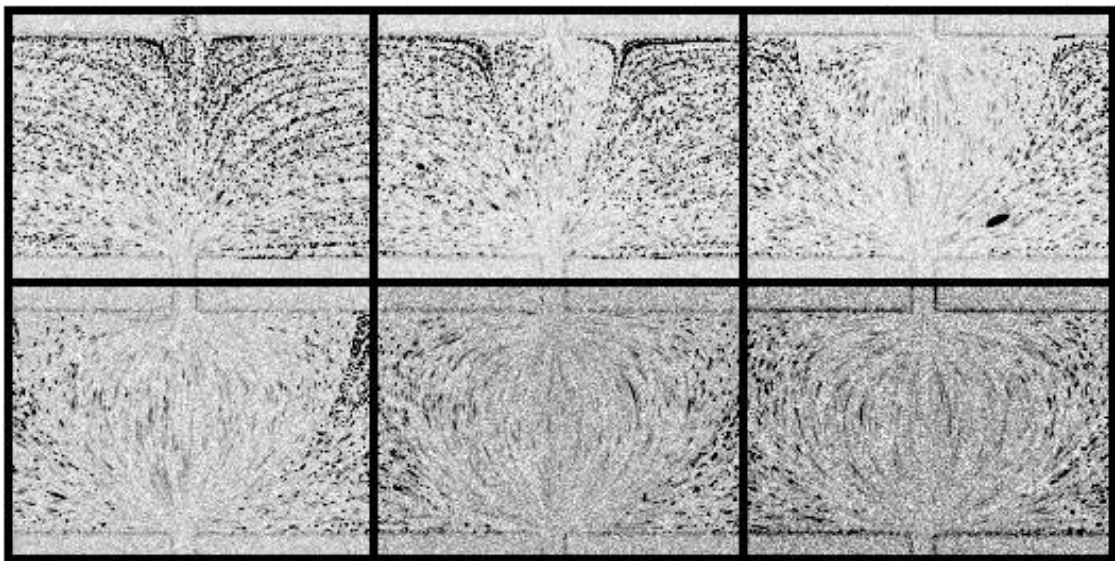
même après que l'interface soit devenue stationnaire. Ceci m'a incité à déterminer plus précisément la forme des lignes de courant.

Lignes de courant

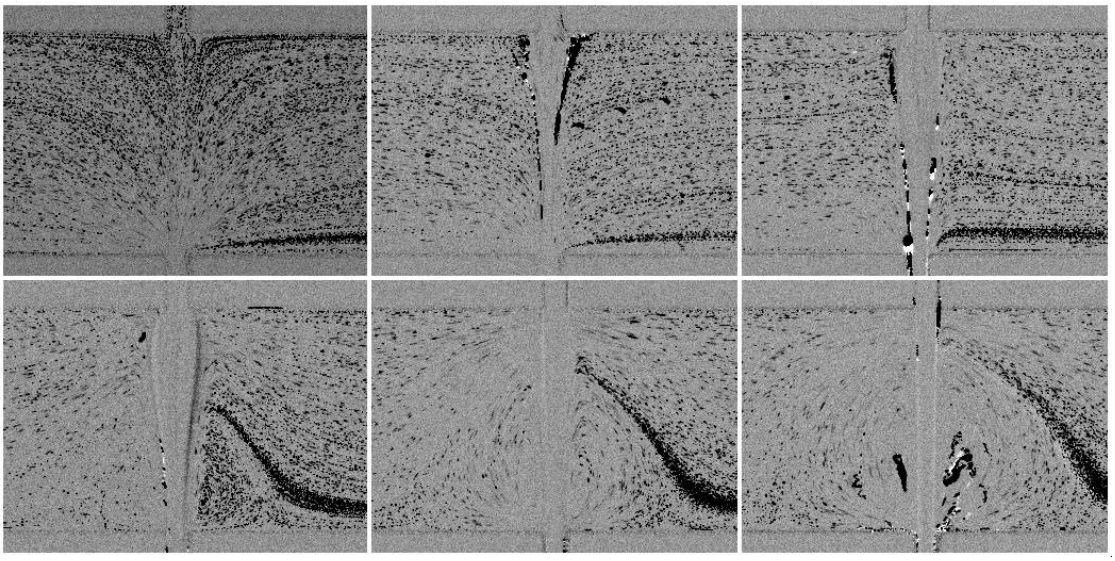
Dans le cas newtonien (voir la figure 5.10(a)), lorsque le débit central est dix fois plus faible que le débit latéral on obtient bien l'écoulement de type élongationnel désiré, avec des lignes de courants convergentes. Lorsque le débit central augmente, les deux points de stagnation s'écartent et les lignes de courants issues du canal d'injection deviennent divergentes. Il est important de noter que les lignes de courant sont toujours convergentes au niveau du canal d'évacuation. Lorsque le débit central est significativement plus élevé que le débit latéral on a une symétrie entre le canal d'injection et le canal d'évacuation qui correspondent respectivement à une source et un puits, avec des écoulements de type radial.

Comme pour l'interface, les lignes de courant dans le cas polymérique sont très différentes (voir la figure 5.10(b)). Au-delà d'une combinaison critique de débits les lignes de courants issues du canal d'injection restent légèrement convergentes. Les lignes de courants issues de l'écoulement latéral leur sont quasiment perpendiculaires, ce qui contraste avec le cas newtonien où elles convergeaient vers le canal d'évacuation plus en amont.

Lorsque que l'on augmente le débit central (à partir de $Q_c = 25\ \mu l/min$ sur la



(a) Cas newtonien.



(b) Cas polymérique.

FIG. 5.10 – Suite d'images composites représentant les lignes de champ de l'écoulement dans la cellule en variant le débit central à débit latéral fixé $Q_l = 20\ \mu l/min$. Pour chaque solution (eau ou POE $8.10^6\ g/mol$ à 100 ppm + microbilles), on a dans l'ordre de lecture $Q_c = 1$, 5, 25, 50 et 110 $\mu l/min$. Chaque image est la somme de 100 images d'un film comportant de multiples trajectoires de particules. Ces images correspondent à celles des interfaces de la figure 5.4.

séquence de la figure 5.10(b)) il apparaît une recirculation au sein de l'écoulement latéral. Cela se traduit tout d'abord par une courbure des lignes de courant vers le canal d'injection, puis par des tourbillons de part et d'autre du canal d'évacuation. Ces tourbillons sont symétriques par rapport à l'écoulement central. J'estime leur taille à partir des lignes de champ issues des points de stagnation les plus éloignés du canal d'évacuation le long de la paroi adjacente. Cette taille augmente avec le débit central (voir la figure 5.11).

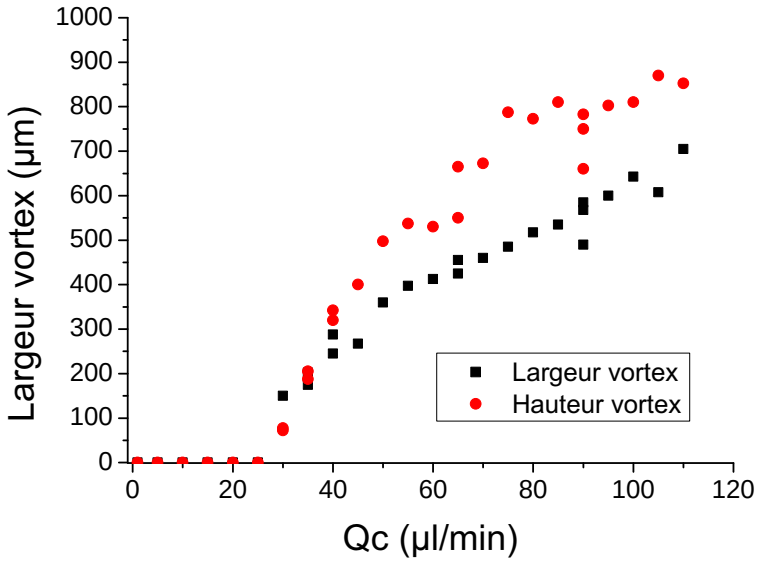


FIG. 5.11 – Évolution de la taille des tourbillons en fonction du débit central pour la solution de POE 8.10^6 g/mol à 100 ppm ($Q_l = 20$ $\mu l/min$).

Il faut préciser que les valeurs du seuil obtenues pour des solutions contenant des microbilles sont en général plus basses (2 à 10 fois) que celles obtenues sans bille. Par souci d'illustration j'ai utilisé la même solution contenant des billes pour les figures d'interface et de lignes de courant (respectivement 5.4(b) et 5.10(b)), mais les seuils sont déterminés uniquement pour les solutions sans microbille.

La figure 5.12 représente des extraits de l'évolution non stationnaire de l'interface et de la position des traceurs lorsque le débit central passe d'une valeur inférieure au débit critique à une valeur supérieure. Le faible taux d'acquisition de la caméra utilisée ne permet pas de bien représenter cette transition (qui dure moins d'une seconde) de manière statique mais je m'appuie dessus pour préciser ce qui arrive avant d'atteindre l'état stationnaire. Après l'application de la nouvelle consigne de débit au pousse-seringue, l'écoulement central s'élargit et prend dans un premier temps la forme de l'interface correspondant à ce débit pour le cas newtonien. Cependant il se forme deux tourbillons de part et d'autre du canal d'évacuation, dont la taille atteint la moitié de la largeur du canal latéral. Ces

tourbillons ne sont pas stables. Ils sont comme aspirés par le canal d'évacuation en même temps que l'interface se contracte et relaxe vers la forme stationnaire du cas polymérique pour ce débit.

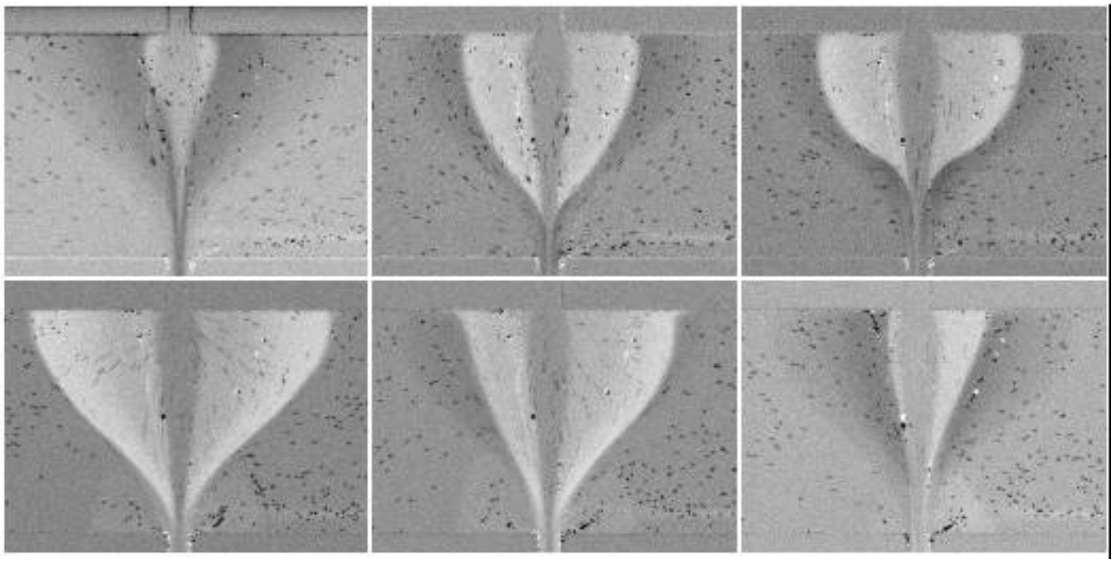


FIG. 5.12 – Évolution de l'écoulement lors d'un échelon de débit central de 1 à 20 $\mu l/min$. Le fluide injecté est plus clair. La zone plus foncée au centre représente la position finale de l'interface (l'image stationnaire finale a été soustraite).

5.2.5 Analyse

Écoulement newtonien

J'explique ici en détail la nature de l'écoulement dans le cas newtonien. Ceci s'avère être un prérequis essentiel afin de bien comprendre la transition observée dans le cas de la solution de polymère élastique et d'identifier ce qui relève véritablement du caractère non newtonien ou bien de l'hydrodynamique classique d'un fluide de viscosité constante. J'insiste notamment sur les points clés de l'écoulement propices à une interaction avec les polymères lors de leur ajout.

En remarque préliminaire, il faut noter que l'inertie ne joue effectivement aucun rôle pour les débits que nous avons utilisés (jusqu'à 200 $\mu l/min$) : la cellule est le siège d'un écoulement rampant, ou de Stokes. Dans le cas de l'eau le nombre de Reynolds maximum atteint est de l'ordre de 30, et de 0,1 pour les solutions de glycérol. La forme des écoulements est alors identique dans les deux cas, donc indépendante de R_e, ce qui justifie l'affirmation précédente.

La cellule microfluidique utilisée a une épaisseur constante h d'une centaine de microns, et dans la partie qui nous intéresse (principalement le canal latéral) sa largeur L est de 1 mm. On a donc $h \leq \frac{L}{10}$. Ceci correspond au cas des écoulements

de Hele-Shaw, c'est-à-dire que la condition de non-glissement aux parois verticales est écrantée sur une distance horizontale de l'ordre de h. De plus, la viscosité de cisaillement est essentiellement[9] la même en tous points de la cellule. La composante horizontale de la vitesse[10] est donc celle d'un écoulement potentiel à deux dimensions.

Ceci suffit pour expliquer qualitativement l'allure des lignes de courant et de l'interface, et quantitativement la forme de l'interface uniquement en fonction des débits appliqués. À partir de maintenant, j'utilise le terme vitesse pour la vitesse moyennée dans l'épaisseur du canal.

L'écoulement a la structure suivante. Dans le canal latéral les lignes de courant en amont sont parallèles et la vitesse est de signe opposé de part et d'autre de l'axe du canal central. Les lignes de courant sont incurvées en s'approchant de cet axe puis sont dirigées vers le canal d'évacuation qui est essentiellement un puits radial. Le canal central d'injection est une source dont le caractère radial ne modifie l'écoulement que si son débit est comparable au débit latéral. Le flot central est alors entouré de deux points de stagnation (sur la paroi du côté de l'injection) séparés par la distance d_{max}. Les deux lignes de courants issues de ces points de stagnation délimitent l'interface entre fluide central et latéral. Elles se rejoignent dans le canal d'évacuation.

Les lignes de courant près du canal d'évacuation sont toujours convergentes et radiales : on peut définir l'angle α entre les deux interfaces du flot central (voir la figure 5.4(a)). Si l'écoulement est potentiel, on doit, par conservation du débit, vérifier la relation simple suivante :

$$\frac{\alpha}{\pi} = \frac{Q_c}{Q_c + Q_l} = \frac{1}{1 + \frac{Q_l}{Q_c}} \tag{5.4}$$

La figure 5.13 représente $\frac{\alpha}{\pi}$ en fonction des débits combinés selon la relation fonctionnelle simple proposée. L'angle α est mesuré pour différentes viscosités et différentes séries de débits. Un ajustement par une fonction affine donne une ordonnée à l'origine $0,01 \pm 0,01$ et une pente $0,98 \pm 0,02$, ce qui est pour toute considération pratique une relation linéaire de pente unité.

L'écoulement est donc bien potentiel dans l'ensemble du microcanal, et radial près du canal de sortie[11].

[9] quoique différente suivant chaque solution étudiée

[10] suffisament loin de toute paroi verticale

[11] Dans le cadre des écoulements de Hele-Shaw, on peut relier la vitesse $\vec{v}$ au gradient de pression P par la relation suivante, où η est la viscosité et h est toujours l'épaisseur du canal :

$$\vec{\nabla} P = -\frac{12\eta}{h^2}\vec{v}$$

Connaissant le champ de vitesse il serait possible d'extraire le champ de pression à une constante additive près. La seule connaissance des lignes de courant donne accès à la forme des isobares

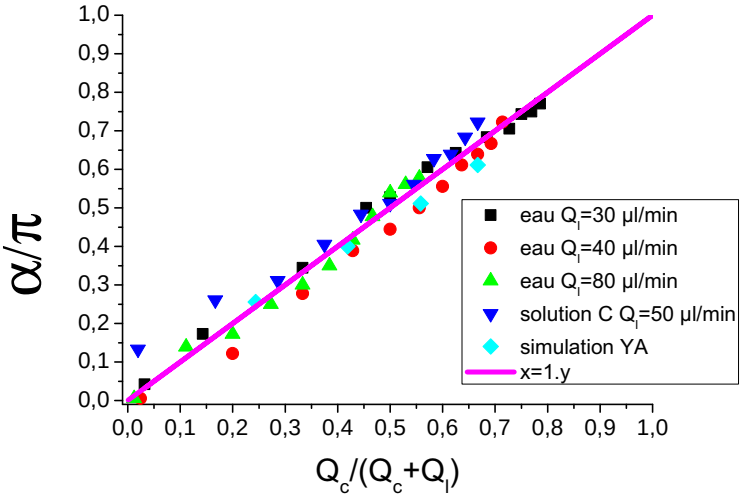


FIG. 5.13 – Relation entre l'angle de sortie de l'interface et les débits appliqués.

La figure 5.14 montre que la largeur maximale de l'interface d_{max} suit la même dépendance que la largeur au niveau du canal de sortie d_{min}. On peut alors s'attendre à ce que d_{max} soit aussi une fonction du rapport des débits de l'équation 5.4. La figure 5.15 montre qu'il est possible de superposer toutes les données obtenues[12] pour d_{max} sur une courbe unique fonction de $x = \frac{Q_c}{Q_c+Q_l}$. Un ajustement par une fonction affine donne $d_{max}(\mu m) = 2028.x + 91$. L'ordonnée à l'origine est proche de la largeur du canal central, car d_{max} correspond toujours aux coins du canal central pour les valeurs de $x < 0,05$, alors que l'angle α continue à varier linéairement avec x.

La source de l'interaction polymère-écoulement

Le cadre naturel pour analyser l'interaction entre le polymère écoulement est celui de la transition de déroulement (voir la section 1.2.3). De manière générale, il y a un écart au comportement newtonien quand le nombre de Deborah (rapport d'un temps caractéristique de l'écoulement τ_e et d'un temps de relaxation typique du polymère τ_p) approche puis dépasse l'unité, c'est à dire :

$$D_e = \frac{\tau_p}{\tau_e} \geq 1$$

Ce critère permet tout d'abord de comprendre pourquoi on observe un effet de seuil en fonction des débits pour la transition d'écoulement observée. Il s'agit

(perpendiculaires aux lignes de courant).

[12] pour différentes viscosités et séries de données, ainsi que pour des simulations numériques aux éléments finis du cas newtonien réalisées par Yacine Amarouchène.

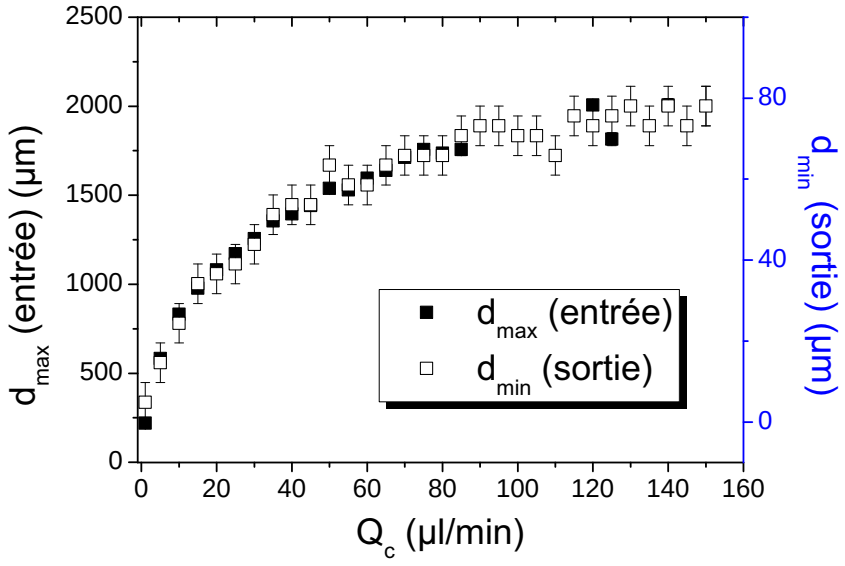


FIG. 5.14 – Évolution de d_{max} et d_{min} en fonction de Q_c pour $Q_l = 20\ \mu l/min$ dans le cas newtonien (eau).

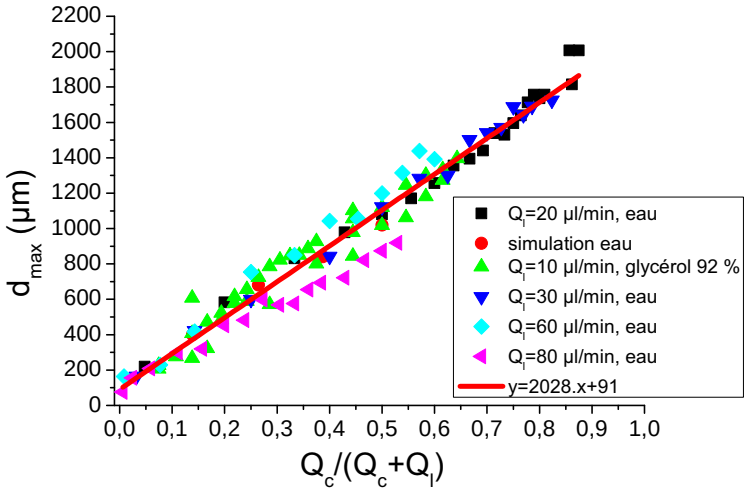


FIG. 5.15 – Relation entre la largeur maximale d_{max} de l'interface et les débits appliqués.

donc maintenant de déterminer quels sont la région et le temps caractéristique de l'écoulement pertinent pour cette transition.

La connaissance détaillée de l'écoulement newtonien nous permet d'identifier ces zones et leurs natures. Plaçons nous au point de transition $(Q_l, Q_c) = (60, 60)$ sur la courbe 5.6 pour comparer les taux de déformation des différentes zones. Leur emplacement est résumé sur la figure 5.16.

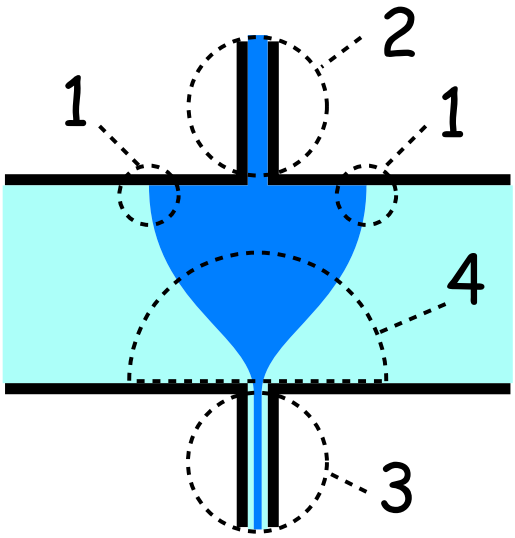


FIG. 5.16 – Localisation des différents taux de déformation que subit le fluide.

En premier lieu il faut noter que l'ensemble du fluide est soumis à un cisaillement dû au confinement vertical (canal d'épaisseur h), dont l'ordre de grandeur est $\dot{\gamma}_0 \approx \frac{v}{h}$, où v est la norme de la vitesse horizontale moyennée verticalement, qui dépend de la position dans le canal. Sa valeur est inférieure ou égale aux taux de cisaillement estimés par la suite dans le canal d' évacuation.

La configuration initiale de la cellule avait pour but de générer un écoulement élongationnel focalisé à l'aide de l'écoulement latéral. Il existe effectivement un point de stagnation approximatif (lorsque $Q_l \gg Q_c$) ou deux points de stagnation (lorsque $Q_l \approx Q_c$) près du canal d'injection (zone 1). Ce sont des zones d'écoulement élongationnel, connu pour étirer les chaînes de polymères plus efficacement qu'un cisaillement simple. Dans le cas à un point de stagnation c'est le débit latéral Q_l qui impose le taux d'élongation en entrainant le fluide injecté au centre. L'estimation de ce taux d'élongation $\dot{\epsilon}_1$ est délicate : la position des points de stagnation varie avec le débit, et la paroi n'est pas négligeable dans cette zone. On a à l'ordre 1 $\dot{\epsilon}_1 \approx \frac{Q}{lhL}$, avec $Q = Q_c + Q_l$ le débit total évacué, L et l les largeurs respectives des canaux latéral et central et h leur épaisseur, d'où $\dot{\epsilon}_1 \approx 290\ s^{-1}$.

D'un autre côté le lien potentiel avec l'effet « die-swell » suggère de s'intéresser à ce qui se passe dans le canal d'injection en amont du canal latéral, à savoir un

écoulement de cisaillement (zone 2). Il y a là un taux de cisaillement de l'ordre de $\dot{\gamma}_2 \approx \frac{Q_c}{lh^2}$, imposé par le débit central Q_c, soit $\dot{\gamma}_2 \approx 2.10^3\ s^{-1}$.

De manière symétrique, on peut s'intéresser à l'écoulement en aval (zone 3) dans le canal d'évacuation (là aussi du cisaillement) avec le taux typique de cisaillement $\dot{\gamma}_3 \approx \frac{Q_c+Q_l}{lh^2}$, où Q est le débit total du fluide évacué, d'où $\dot{\gamma}_3 \approx 4.10^3\ s^{-1}$.

Enfin, dans la partie centrale près du canal d'évacuation (zone 4), le caractère potentiel de l'écoulement étant bien établi, je peux sans danger faire l'approximation suivante : par conservation de la masse, le champ de vitesse dans un référentiel polaire de centre le canal d'évacuation (équivalent à un puits de courant à 2D) aura asymptotiquement dans une large partie du canal la forme suivante :

$$\vec{v(r)} = -\frac{Q}{2\pi r h}\vec{e_r} \tag{5.5}$$

Le taux d'élongation planaire local s'en déduit :

$$\dot{\epsilon}(r) = \frac{\partial v(r)}{\partial r} = \frac{Q}{\pi h r^2}$$

Cette expression diverge quand on s'approche du canal d'évacuation, mais elle doit saturer en réalité. Je choisis de prendre pour distance de coupure r_0 tel que la vitesse radiale soit de l'ordre de la vitesse moyenne dans le canal d'évacuation d'où $r_0 = l/\pi$ et :

$$\dot{\epsilon}_4 = \frac{\pi Q}{h l^2} \tag{5.6}$$

soit $\dot{\epsilon}_4 \approx 9.10^3\ s^{-1}$.

Le fait que le seuil de transition dépend du débit central et du débit latéral permet d'exclure la zone 2 car le taux de déformation y est piloté par le débit central uniquement.

Dans la zone 1 l'estimation du taux de déformation des points de stagnation est un ordre de grandeur plus faible que les autres. Des simulations numériques[13] de l'écoulement newtonien confirment que pour un débit total constant le taux d'élongation des points de stagnation est beaucoup plus faible ($\approx 60\ s^{-1}$) que celui près de la contraction ($\approx 3.10^3\ s^{-1}$) (figure 5.17). Cela montre que leur rôle est tout au plus un pré-étirement et un alignement des chaines, pouvant cependant avoir une influence sur les seuils de transition [78].

Ces simulations confirment d'autre part la nature radiale de l'écoulement et la divergence du taux d'élongation lorsque l'on se rapproche de la contraction. Les courbes de la vitesse en fonction de la distance le long de l'interface sont sensiblement les mêmes lorsque l'on varie le rapport Q_c/Q_l (et donc l'angle α de l'interface) à débit total constant.

$\dot{\gamma}_3$ et $\dot{\epsilon}_4$ ont des valeurs proches. Néanmoins l'efficacité beaucoup moins grande des écoulements de cisaillement à étirer les chaînes de polymères permet de douter

[13]Simulations aux éléments finis réalisées par Yacine Amarouchène.

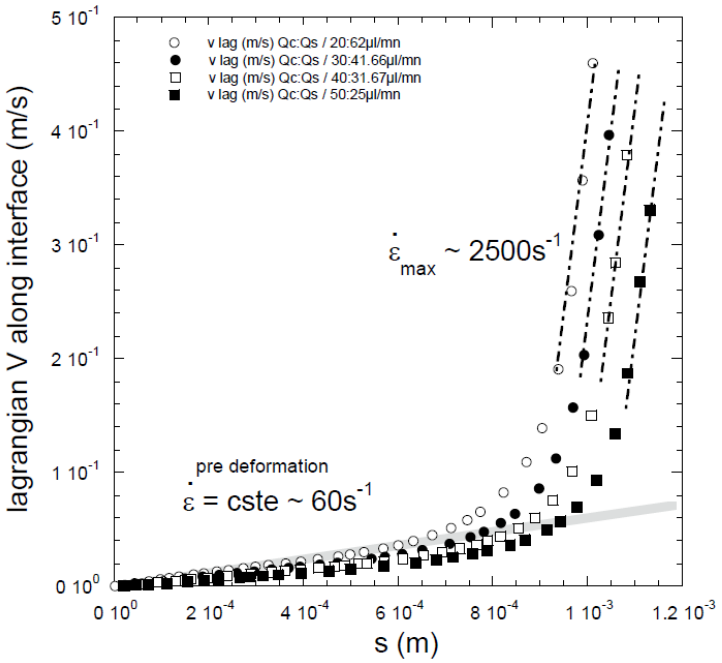


FIG. 5.17 – Vitesse lagrangienne le long de l'interface dans le cas newtonien, obtenue par simulation numérique par Yacine Amarouchène pour différents débits (à débit total constant). L'origine est à un des points de stagnation.

du rôle du cisaillement dans le canal de sortie comme source de la transition. Une expérience simple permet de s'en convaincre. Nous avons réalisé une cellule dont le canal d'évacuation a sa largeur égale à la somme des largeurs des trois canaux d'injection. Il est alors impossible d'observer une transition d'écoulement comparable, même pour des débits tels que le taux de cisaillement obtenu dans le canal d'évacuation élargi est supérieur à celui estimé pour la transition dans le canal d'évacuation de la cellule usuelle.

La clef de la nature de la transition réside dans son déroulement (revoir la séquence de la figure 5.12). Lors du franchissement du seuil, avant que le régime stationnaire ne soit atteint, il y a la formation de petits tourbillons et une contraction du flot central. Ceci désigne la zone 4 comme le lieu de la transition de conformation des chaines de polymères. Ce qui s'y passe est très similaire à une transition due à la présence de polymères qui a eu lieu lors de l'écoulement à travers une contraction (cf. 1.2.2). Ce phénomène connu et documenté [78, 79, 24, 150], est associé à la nature élongationnelle de l'écoulement à travers la contraction. Lorsqu'on injecte une solution de polymères avec une viscosité anisotrope à travers une contraction, il existe un débit seuil donné par $D_e \sim 1$ pour lequel apparait une modification radicale des lignes de courant. L'élongation importante que subissent les polymères déclenche une forte augmentation de la viscosité élongationnelle. L'écoulement radial n'est alors plus la solution stable à cause de la très grande

anisotropie des contraintes (la viscosité élongationnelle étant plusieurs ordres de grandeur plus grande que la viscosité de cisaillement). Il apparaît une zone de recirculation périphérique. Cette transition est illustrée par la séquence de la figure 5.18. On note les similitudes entre les lignes de courant de cette séquence et celles de nos expériences.

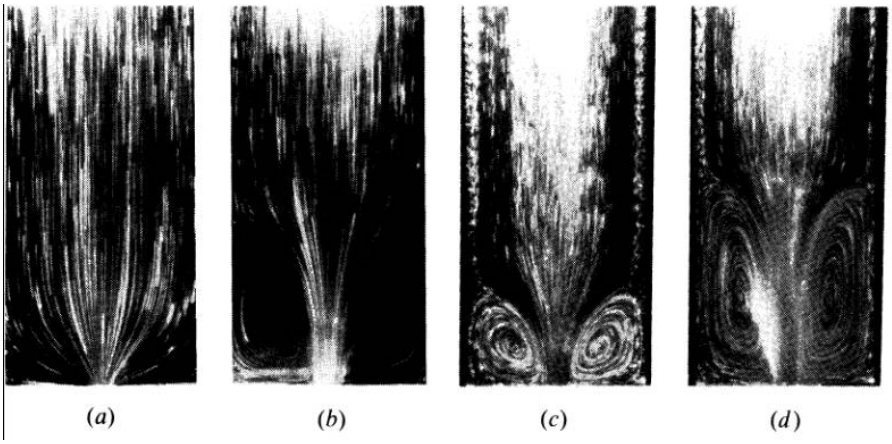


FIG. 5.18 – Absence ou présence de tourbillons en amont d'une contraction. Fluide newtonien (sirop de glucose) a) $D_e = 0$. FLuide non newtonien (0,057 % en masse de polyacrylamide dans un sirop de glucose) b) $D_e = 0,2$, c) $D_e = 1$ et d) $D_e = 3$, extrait de [2].

La similitude entre ces deux transitions permet d'écrire pour la présente situation le critère simple suivant. Il y a transition vers une forme d'écoulement différente du cas newtonien pour la condition critique :

$$D_e = \dot{\epsilon}_4 \tau_p \geq 1$$

soit

$$D_e = \frac{\pi Q \tau_p}{hl^2} \geq 1 \tag{5.7}$$

avec $Q = Q_c + Q_l$. On en déduit que la transition a pour frontière dans l'espace (Q_c, Q_l) une droite d'équation $Q_c + Q_l = k$, avec k une constante proportionnelle à la viscosité du solvant (comme le taux de relaxation τ_p du polymère).

Effectivement, si l'on multiplie les coordonnées des points du diagramme 5.6 par la viscosité[14] des solvants des solutions on obtient une unique frontière d'équation $Q_c = 137 - 1,1.Q_l$ (voir la fig. 5.19) avec l'ordonnée à l'origine 137 ± 5 $\mu l/min$ et la pente -1,1 ± 0,1.

Le temps de Zimm du POE 8.10^6 g/mol peut être estimé à $\tau_p = 3,4$ ms [91]. En utilisant l'équation de la frontière on obtient un nombre de Déborah critique à la transition :

$$D_e = 35 \tag{5.8}$$

[14]Plus précisément par la viscosité relative à celle de l'eau.

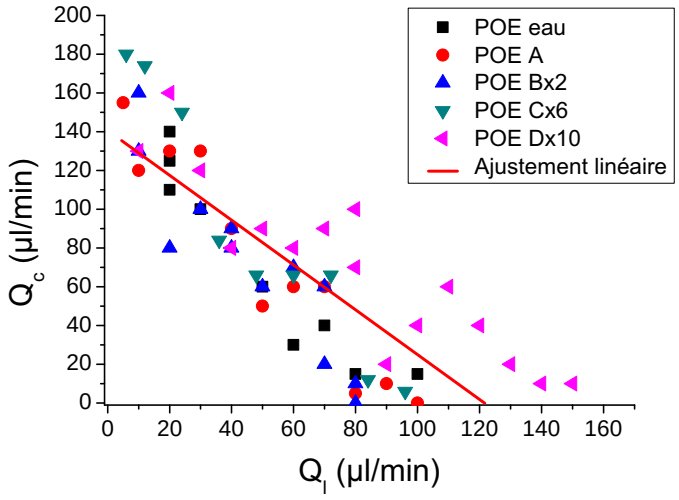


FIG. 5.19 – Diagramme de stabilité renormalisé par les viscosités de cisaillement des solutions.

bien supérieur à la valeur qui semble nécessaire à la transition de déroulement, pour laquelle on estime $D_e = 1/2$.

Des transitions ?

La comparaison avec l'apparition d'effets viscoélastiques au sein d'une contraction simple est fructueuse, mais elle a ses limites. La transition d'écoulement que nous observons n'est pas identique. Dans le cas de la contraction simple, les tourbillons apparaissent avec l'augmentation de viscosité élongationnelle consécutive à la transition de déroulement, puis ils croissent avec le débit. Une augmentation supplémentaire du débit peut conduire à un écoulement avec des tourbillons instables et asymétriques [2]. Dans le cas de notre cellule de focalisation, les tourbillons associés à cette première modification de l'écoulement disparaissent lors de la transition que nous étudions. Lorsque l'écoulement central est contracté (de largeur quasi constante entre les canaux d'injection et d'évacuation) il n'y a initialement plus de tourbillon. Si le débit latéral est augmenté, la situation reste identique. En revanche si le débit central est augmenté on observe la réapparition des tourbillons, dont la taille croît avec le débit central jusqu'à envahir tout le canal latéral.

Bien qu'une description quantitative du mécanisme à l'origine de cette transition ne soit pas à ce jour connue on peut proposer le scénario explicatif suivant. L'écoulement est tout d'abord modifié lorsque le nombre de Déborah dans la contraction approche de l'unité, il y a apparition des tourbillons primaires. La viscosité élongationnelle n'est pas uniforme dans le fluide central. Lorsque le débit augmente encore il arrive un point où la tension le long des lignes de courants dans

la partie centrale est telle que l'écoulement n'est plus stable et qu'elle provoque la contraction de l'interface jusque à la zone d'injection. On a alors une situation comparable à un siphon sans tube (cf. 1.2.2) mais confiné dans le plan. Si l'on augmente le débit latéral le fluide central est faiblement accéléré à cause du rapport élevé des viscosités. Inversement si l'on augmente le débit central on a l'équivalent d'une paroi solide en mouvement ; le transfert de quantité de mouvement engendre les tourbillons .

Cette comparaison avec le siphon sans tube permet de comprendre pourquoi la transition n'a pas été observée dans le cas de l'ADN λ, alors que le nombre de Déborah le plus faible que l'on puisse estimer[15] était $D_e = 38$, comparable à la valeur seuil pour le POE. Le rapport de Trouton obtenu pour l'ADN λ au chapitre 4 est au moins un ordre de grandeur plus faible que pour le POE [89] ; la largeur du canal latéral serait alors trop grande pour que la tension dans le liquide suffise à l'accélérer dès la sortie du canal d'injection.

Cet effet est une illustration du caractère longue portée des modifications de champ de vitesse causées par le couplage polymère/écoulement [2]. L'augmentation de viscosité causée par le taux d'élongation au niveau de la contraction s'accompagne de la disparition du caractère radial et élongationnel du champ de vitesse. La disparition de la courbure des lignes de champs entre l'injection et l'évacuation peut être associée à la tension induite le long des lignes de courant.

Pour conclure je reviens sur le seuil plus bas observé pour les solutions contenant des microbilles. Des mesures de viscosité élongationnelle réalisées à l'aide d'un siphon sans tube ont montré récemment que l'adjonction de nanoparticules (colloïdes) à une solution de polymères cause une forte augmentation des valeurs de la viscosité élongationnelle ainsi qu'une modification des taux de déformation critiques [151, 152]. Ceci va dans le sens à la fois de l'abaissement du seuil et de l'interface beaucoup plus rectiligne que nous avons observés avec les microbilles. L'adjonction de microbilles ne change pas qualitativement mais quantitativement la transition. Notamment les formes d'interface restent les mêmes et les indices de l'existence des tourbillons ont été observés sans microbilles. On peut voir par ailleurs sur les figures des lignes de courant que les particules sont piégées à certains endroits (zones de fort contraste sur les photographies de la figure 5.10(b)). Elles semblent être confinées au sein d'une structure élastique formée uniquement au-dessus des débits seuils. Bien que le POE utilisé soit tout juste à la concentration de recouvrement (une notion définie à l'équilibre), l'étirement des chaînes le long des lignes de courant cause peut-être leur enchevêtrement de manière anisotrope, ou une variation importante de la concentration locale. Cet effet a été observé dans d'autres études de contraction [78] mais aussi dans le stage final de mesures de viscosité par la méthode du pont capillaire [138].

[15] Avec $\tau_{relax} = 0{,}05$ s et $\dot{\epsilon} = 750\ s^{-1}$

5.3 Contraction droite d'un canal simple

La cellule en croix s'est avérée efficace pour observer des effets dus à la viscosité élongationnelle des solutions de polymères et à leur transition de déroulement, mais dans des conditions assez différentes de l'écoulement élongationnel par focalisation (l'élongation ayant lieu principalement à la sortie du canal d'injection) initialement désiré. De plus la détermination des contraintes n'est pas triviale dans cette géométrie à deux injections.

Je suis donc revenu à une géométrie de microcanal plus simple : un canal unique de section droite avec une contraction abrupte. Il est alors possible de mesurer la perte de charge de part et d'autre de la contraction pour estimer les contraintes élongationnelles.

5.3.1 Fabrication d'un micro-viscosimètre

Le canal (fig. 5.20) a été réalisé par la méthode de la section 5.1.3. Sa largeur principale vaut $L = 5\ mm$, sa hauteur $h = 70\ \mu m$. Sa largeur est diminuée de manière abrupte à $l = 1\ mm$ au niveau de la contraction, sur $\Delta X_2 = 1\ cm$ de long.

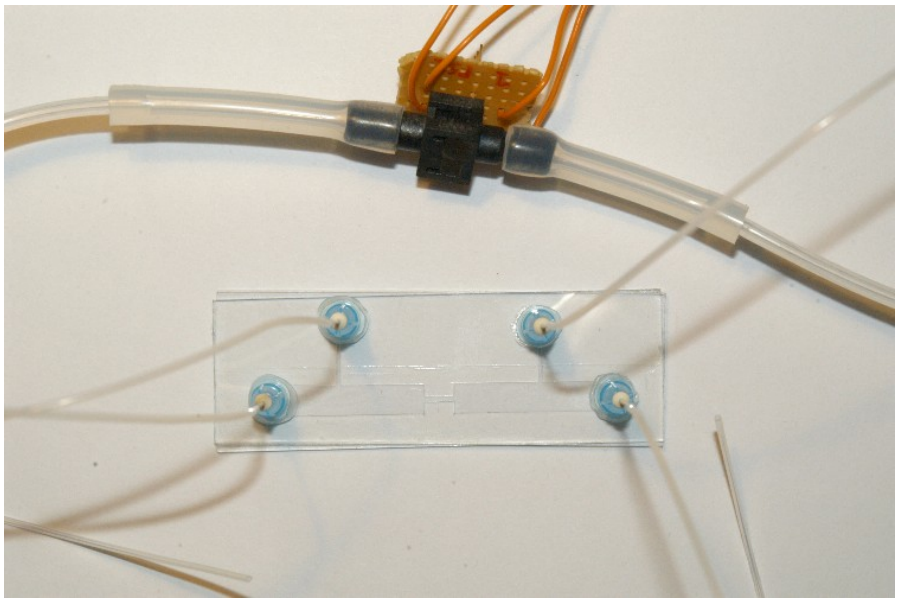


FIG. 5.20 – Contraction simple 5 : 1 : 5 avec pseudo-dérivation pour la mesure de la différence de pression. Le bloc noir est le capteur de pression.

Deux canaux secondaires, de largeur 1 mm, sont placés à angle droit et à 1,5 cm en amont et en aval de la contraction (séparés par $\Delta X_1 + \Delta X_2 = 4\ cm$). Ils permettent de placer un capteur de pression différentielle pour mesurer la perte de charge. Le débit est nul dans cette pseudo-dérivation.

J'utilise des capteurs Honeywell PC26 1 et 15 PSI (1 $psi \approx 6893\ Pa$) qui fournissent une tension de 100 mV pour leur pression maximale. Ils sont branchés sans amplification directement à un oscilloscope. Un condensateur 2,2 μF est branché en parallèle aux bornes pour réduire le bruit du signal et améliorer la lecture sur l'écran de l'oscilloscope.

J'ai mesuré la perte de charge en fonction du débit imposé pour différentes solutions de glycérol (0, 25, 46 et 60 % en masse) pour les deux capteurs (fig. 5.21). Les courbes $\Delta P(Q)$ obtenues après soustraction de la valeur à débit nul sont bien linéaires, comme attendu pour un écoulement de Stokes ($R_e = \eta Q/\rho l \leq 133$ obtenu pour 8 ml/min). De plus si on divise les pentes $R_{i\%}$ par la pente de la solution à 0 %, le tableau 5.2 montre que l'on retrouve les valeurs de viscosité relative à celle de l'eau (1 $mPa.s$ à 20 $^{\circ}C$).

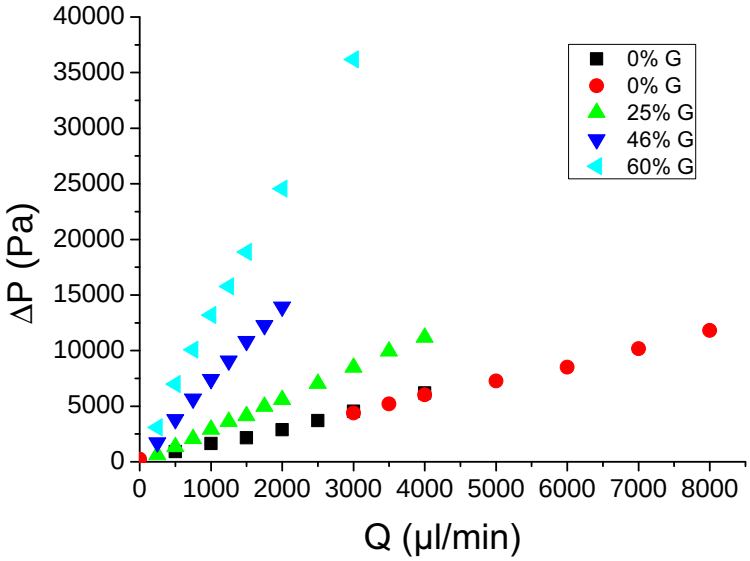


FIG. 5.21 – Étalonnage de la cellule sur toute sa plage de débit possible avec le capteur 15 psi (1/3 de sa gamme de pression). Les points en noir (0%) sont obtenus avec le capteur 1 psi (gamme complète de pression).

i %	0	25	46	60
$\frac{R_{i\%}}{R_{0\%}}$	1,00	1,97	4,83	9,28
$\frac{\eta_{i\%}}{\eta_{eau}}$	1,00	2,04	4,89	10,6

TAB. 5.2 – Viscosités relatives obtenues par mesure de $\Delta P(Q)$ dans le canal en fonction de la fraction massique de glycérol i %.

On a donc un viscosimètre pour les fluides newtoniens avec l'étalonnage suivant,

valable pour cette cellule :

$$\Delta P(Pa) = R.Q(\mu l/min) \tag{5.9}$$

où la résistance hydraulique vaut avec ces unités :

$$R(Pa.min/\mu l) = 1,44.\eta_{cis}/\eta_{eau} \tag{5.10}$$

Cette relation ne dépend pas de la dimension des tubes reliant le capteur à la pseudo-dérivation à condition que la connexion avec le canal soit étanche. Il est donc possible de changer de capteur pour couvrir une plus grande gamme de pression lors d'une même série de mesure sans avoir à étalonner de nouveau[16] le montage (capteur+cellule).

5.3.2 Écoulement d'une solution viscoélastique

J'ai utilisé une solution d'ADN λ à la concentration c^* dans le tampon TE, de viscosité de cisaillement (mesurée avec une géométrie cône-plan 50 mm) 1,11 mPa.s.

Mesure de perte de charge

Le débit a été imposé de 50 à 5000 $\mu l/min$, ce qui correspond pour de l'eau s'écoulant dans la cellule à l'intervalle de mesures du capteur 1 psi, i.e. 70-7000 Pa. Pour la solution d'ADN, j'ai dû utiliser le capteur 15 psi au-delà de 2500 $\mu l/min$ car la relation perte de charge-débit n'est pas linéaire pour la solution viscoélastique. Il y a un débit seuil $Q_c = 510\ \mu l/min$ ($R_e = 8$) en deçà duquel la résistance hydraulique (cf. 5.1) est constante et au-delà duquel elle augmente. Ce comportement est illustré par la courbe de la figure 5.22. La quantité $\Delta P/\Delta P_{eau}$, égale à la viscosité relative à celle de l'eau dans le cas newtonien, n'est pas constante, et augmente quand le rapport Q/Q_c, équivalent à un nombre de Déborah effectif, devient plus grand que 1. C'est une illustration de la transition de déroulement en écoulement élongationnel.

En raison des rapports d'aspect du canal (0,014 et 0,07) l'écoulement est de type Hele-Shaw, et le champ de vitesse en amont de la contraction est radial avant la transition. On peut donc évaluer le taux de déformation par $\dot{\epsilon} = \pi Q/hl^2$ comme dans la section 5.2.5. On a $\dot{\epsilon}_c = 381\ s^{-1}$ quand la résistance hydraulique augmente. En prenant pour la solution d'ADN $\tau_{relax} = 0,07\ s$ cela nous donne un nombre de Déborah critique

$$D_e = 27$$

[16]Chaque capteur a toutefois sa propre caractéristique pression/tension (affine), avec un zéro à soustraire (à débit nul) qui peut dépendre de la connexion.

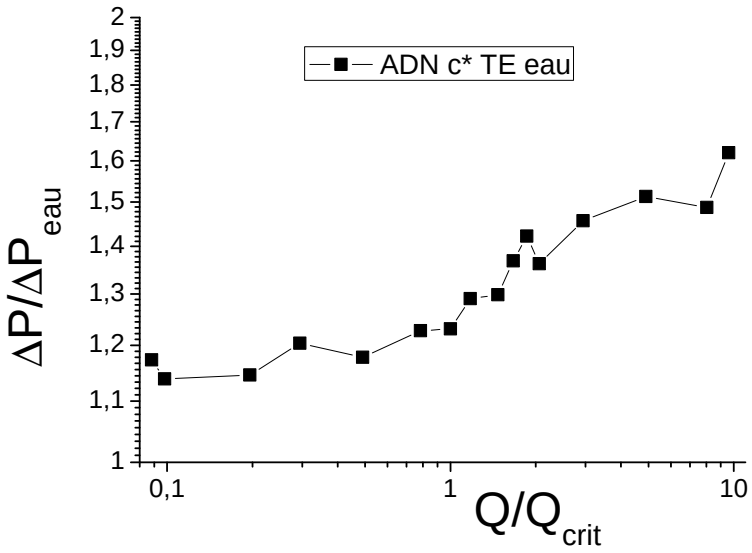


FIG. 5.22 – Perte de charge relative à celle de l'eau de la solution d'ADN en fonction du débit normé par le débit critique.

C'est sensiblement plus élevé[17] que la valeur théorique (1/2) pour la transition de déroulement. La déformation totale subit par le fluide dans la contraction de rapport 5 : 1 est $\epsilon = \ln(5/1) = 1,6$.

Si l'on évalue le rapport de Trouton non stationnaire atteint en utilisant la viscosité de cisaillement effective maximale (1,62 $mPa.s$) et la viscosité de cisaillement (1,11 $mPa.s$) on obtient, pour une élongation planaire[18] à $D_e = 256$:

$$T_r = 5,8$$

ce qui est supérieur à 4 mais plus d'un ordre de grandeur plus faible qu'au chapitre 4 où on avait pour une déformation uniaxiale $T_r(\epsilon = 1,6) \approx 70 - 100$, avec D_e valant de 50 à 300.

Toutefois la viscosité effective inclut le cisaillement le long de 4 cm de canal, alors que l'écoulement est radial dans moins d'1 cm. La résistance hydraulique pour un canal droit de rapport d'aspect <1/10, de longueur ΔX, hauteur h et largeur l vaut [141] :

$$R = \frac{12\eta\Delta X}{h^3 l} \tag{5.11}$$

On peut décomposer la perte de charge en une partie due au cisaillement et une partie due à l'élongation : $\Delta P = \Delta P_{cis} + \Delta P_{ext}$. Ces différences de contraintes sont

[17] Même si l'on ne tient pas compte du facteur π, on a tout de même $D_e = 9$.

[18] $T_r = 4$ dans le cas newtonien.

respectivement proportionnelles aux viscosités de cisaillement et élongationnelle. On suppose que la contraction a une résistance équivalente telle que $\Delta P_{ext} = \eta_{ext}\dot{\epsilon}$ d'où $R_{ext} = \frac{\pi}{hl^2}\eta_{ext}$ et que la résistance hydraulique des sections droites est dominée par l'effet du cisaillement, c'est à dire que la résistance hydraulique équivalente est $R_{cis} = \frac{12}{h^3}(\frac{\Delta X_1}{L} + \frac{\Delta X_2}{l})\eta_{cis}$. Dans le cas newtonien, ces deux résistances sont constantes et proportionnelles à η_{cis}.

L'expression 5.10 de la résistance hydraulique totale en fonction de la viscosité de cisaillement et la courbe 5.22 permettent (quand $Q < Q_{crit}$) d'estimer la viscosité de cisaillement de la solution d'ADN : $\eta^{\lambda}_{cis} = 1{,}16\ mPa.s$, en accord avec la valeur mesurée en géométrie cône-plan. On en déduit la résistance hydraulique totale $R_N = 1{,}67\ Pa.min/\mu l$ du microcanal avec un fluide newtonien de viscosité η^{λ}_{cis}. La différence $\Delta P^{\lambda} - R_N.Q$ correspond à la perte de charge supplémentaire associée à l'augmentation de viscosité élongationnelle, d'où l'estimation de la viscosité élongationnelle :

$$\eta^{\lambda}_{ext} = 4\eta^{\lambda}_{cis} + (\frac{\Delta P^{\lambda}}{Q} - R_N)\frac{hl^2}{\pi} \tag{5.12}$$

On peut alors tracer le nombre de Trouton correspondant en fonction du nombre de Déborah (fig. 5.23). Les valeurs avant la transition ($D_e < 27$) sont comprise entre -36 et 130. La contrainte élongationnelle représentant une faible part de ΔP^{λ} les écarts à la valeur moyenne sont très amplifié par la formule 5.12. Cela nous donne la précision de cette estimation.

La valeur maximale observée par cette méthode est

$$T_r = 770$$

pour $D_e = 256$ $\epsilon = 1,6$. Dans le cas des mesures de gouttes du chapitre 4 ces valeurs étaient atteintes pour $\epsilon > 5$ (mais D_e similaire). Cela suggère que l'approximation effectuée ici (écoulement radial et utilisation d'un taux délongation unique) surévalue l'importance de la contrainte d'origine purement élongationnelle. La visualisation des lignes de courant dans la section 5.3.2 montre en effet qu'une part importante de la dissipation après la transition provient d'une structure plus complexe de l'écoulement.

Lignes de courant

En ajoutant des microbilles (diamètre 2 μm) à la solution, on peut visualiser les lignes de courant. La série d'images de la figure 5.24 montre l'apparition de tourbillons dans une solution avec une forte concentration de billes ($\approx 0,02\%$) lorsque le débit dépasse $90 \pm 40\ \mu l/min$. Le débit seuil pour cette solution est donc 5,7 fois plus petit que sans les microbilles mais sa valeur n'est pas précise : l'apparition des tourbillons se fait sur une plage de 80 $\mu l/min$, probablement à cause de la concentration trop élevée de billes. Si on travaille avec moins de billes

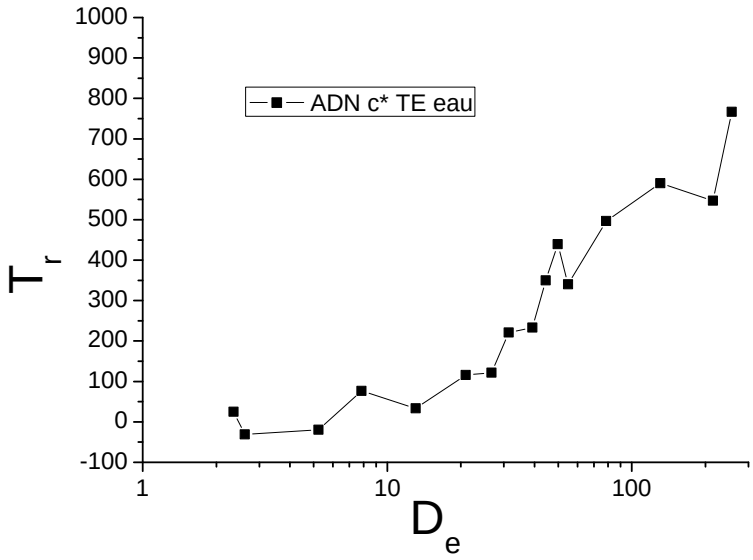


FIG. 5.23 – $T_r(D_e)$ calculé avec l'expression 5.12 de la viscosité élongationnelle de la solution d'ADN.

(0,0001 %) on peut discerner leur apparition de manière plus reproductible à 500 $\pm$ 20 $\mu l/min$ et mesurer la pression car le débit est assez élevé. L'augmentation de la résistance hydraulique a lieu pour 490 $\pm$ 40 $\mu l/min$, en accord raisonnable avec la valeur pour la solution sans microbilles. Dans tous les cas les tourbillons sont symétriques et stationnaires pour les débits observés (jusqu'à $Q = 4000$ $\mu l/min$, soit environ $D_e = 200$).

Le modèle de la flute de champagne [153] développé pour décrire l'écoulement à travers une contraction abrupte explique comment les tourbillons apparaissent à cause de l'anisotropie de la viscosité. Le bilan de quantité de mouvement se répartit entre le cisaillement en leur sein et l'élongation dans la zone médiane de la contraction :

$$\eta_{ext}\frac{\partial^2 v}{\partial r^2} \simeq \eta_{cis}\frac{1}{r^2}\frac{\partial^2 v}{\partial \theta^2} \tag{5.13}$$

On en déduit (en utilisant une solution aux variables séparées (r, θ)) que l'angle de la zone conique comprise entre les tourbillons (le « pied du verre ») est donné par :

$$\alpha \approx \sqrt{\frac{\eta_{cis}}{\eta_{ext}}} \tag{5.14}$$

Pour le plus fort débit observé on trouve un angle grossièrement compris entre 15 et 25°, ce qui correspond à :

$$T_r = 5 - 15$$

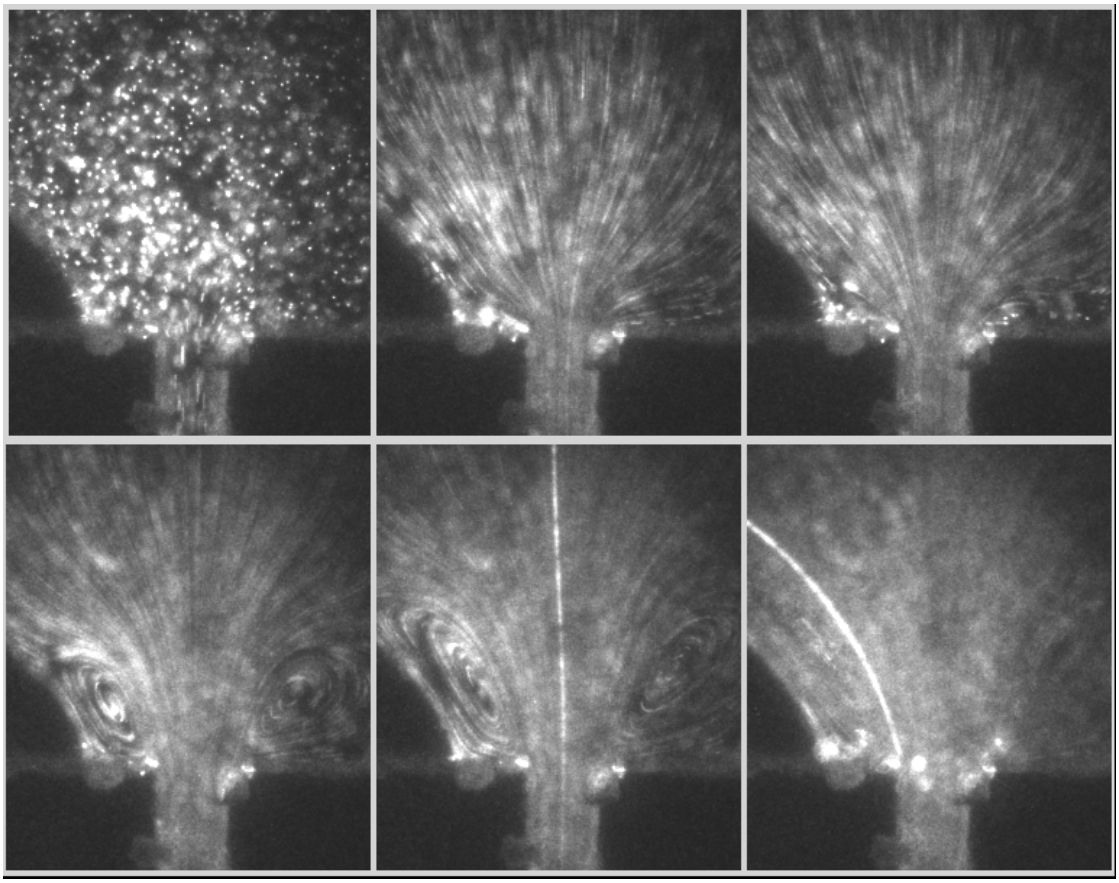


FIG. 5.24 – Apparition des tourbillons dans la solutio d'ADN à 0,02 % de billes : Q=6, 60, 90, 240, 800 et 2000 $\mu l/min$. L'écoulement se fait de haut en bas. La tache sombre en bas à gauche est une bulle.

encadrée par les deux valeurs estimées précédemment (avec la perte de charge), respectivement $Tr = 5$ et 700.

On retrouve les limites évoquées au chapitre 3 de ce genre de méthodes de rhéologie où le fluide n'est pas déformé de manière uniforme. La validité de l'approximation d'écoulement potentiel avec un taux de déformation planaire controlé est perdue dès l'apparition des tourbillons, c'est-à-dire dès l'apparition des effets non newtoniens que l'on cherche justement à mesurer dans un écoulement uniforme. Des études plus détaillées du champ de vitesse par vélocimétrie par imagerie de particules confirment ce résultat [154, 155].

Visualisation de l'ADN et mesure de pression ?

La cellule utilisée a été dimensionnée en espérant pouvoir combiner la mesure de la perte de charge et une visualisation de l'ADN par microscopie de fluorescence. Malheureusement la vitesse à la transition dans le canal est au final 120 mm/s ce qui ne permet pas d'observer l'ADN par fluorescence avec le temps d'exposition minimum (0,1 ms, ce qui donne un déplacement de l'ordre d'une molécule complètement étirée) que nous pouvons utiliser. Une mesure à plus basse vitesse est bien sûre possible en diminuant la largeur l du canal (ou en augmentant la viscosité du solvant), ce qui abaissera le débit critique car $D_e \propto \eta_s V/l$, mais alors la mesure de pression devrait être faite avec un capteur plus sensible.

Chapitre 6

Pont capillaire immergé

Le chapitre 5 montre qu'en dépit d'une affinité naturelle pour les techniques de microscopie, l'approche microfluidique que nous avons testée ne donne accès au lien entre configuration microscopique et aux contraintes au sein de l'écoulement que de manière très indirecte. Inversement, la méthode du pont capillaire (cf.4) permet de mesurer de manière univoque la viscosité élongationnelle, mais dans une configuration qui n'est pas propice à la microscopie.

Je relate dans ce chapitre comment pallier les handicaps initiaux de cette dernière approche. J'y présente une technique permettant de réaliser des observations microscopiques au sein d'un filament capillaire avec une résolution de l'ordre de deux microns ainsi que ses limites lors de l'observation de molécule unique par fluorescence. Le facteur limitant s'avère être la présence d'aberrations optiques importantes causant une chute de l'intensité lumineuse récupérable. J'étudie et j'implémente plusieurs approches visant à corriger ces limitations optiques. Je montre notamment qu'il est possible d'observer au sein d'échantillons épais d'indices variés à l'aide d'un unique objectif à très longue distance de travail et d'ouverture numérique 0,45, prévu pour fonctionner sans lamelle et dans l'air. Dans le cas du pont capillaire immergé, je montre qu'il est possible d'utiliser cet objectif pour créer un nouvel objectif à immersion spécifique du milieu utilisé. Enfin, je propose une approche alternative dans laquelle les aberrations sont réduites à zéro en utilisant un système où l'ADN n'est plus le polymère étudié mais une sonde reliée aux déformations d'un autre polymère dans son régime concentré.

6.1 Mise au point préliminaire

On a vu dans la partie II comment mesurer la viscosité élongationnelle à l'aide d'une caméra rapide. Cette caméra n'est cependant pas assez sensible pour observer l'ADN par microscopie de fluorescence. J'utilise donc maintenant une caméra intensifiée (I-Pentamax, Roper Scientific). Son taux d'acquisition est relativement bas (une quinzaine de Hertz) ce qui conduit à modifier l'échantillon étudié afin de

ralentir encore la dynamique de rupture.

De plus l'observation microscopique au sein du filament pose problème : le filament de liquide environné d'air constitue une lentille cylindrique dont la focale évolue avec le temps. Le pont capillaire est donc immergé dans un fluide d'immersion de même indice que l'échantillon. Cette adaptation de l'indice fait « disparaître » l'interface optique. Enfin une mesure microscopique au sein d'une structure macroscopique impose des contraintes sur le choix de l'objectif utilisable.

6.1.1 Description du montage

Le montage est schématisé sur la figure d'ensemble 6.1

Le pont capillaire

Le pont capillaire est vertical afin de conserver la symétrie de révolution. La déformation causée par la gravité s'avère être moins gênante pour la mise au point que dans le cas d'un pont horizontal. Cela implique de renverser le bâti du microscope (Leica DM IRB) sur le « dos » par rapport au sens d'utilisation traditionnelle où l'axe optique de l'objectif est vertical.

Le pont capillaire est soutenu par deux cylindres en acier inoxydable dont au moins l'un peut être creux afin d'apporter le liquide de l'échantillon. Les cylindres utilisables ont un diamètre au choix compris entre 0,5 et 2 mm. Le cylindre du bas est fixé sur un cadre de référence alors que le cylindre d'en haut est fixé sur une partie mobile solidaire d'une platine de translation micrométrique. Les ressorts de cette platine ont été enlevés. Ceci permet à la mâchoire du pont de coulisser librement tout en restant bien alignée. Deux vis de butée réglables permettent de régler les limites de la course de la platine (0-10 mm). La partie mobile est de plus reliée à deux électroaimants permettant d'écarter rapidement la mâchoire sur commande. Ce mouvement s'effectue typiquement en 10 à 15 ms.

Il y a ainsi plusieurs possibilités pour contrôler l'occurrence de l'instabilité de Rayleigh. Elle peut être déclenchée :

- en faisant varier le volume du liquide (à l'aide d'un tuyau reliant une seringue au cylindre métallique supérieur) pour un écartement donné (c'est-à-dire une hauteur h fixée du cylindre liquide),
- en écartant rapidement les mâchoires (variation de h à volume fixé) à l'aide des électroaimants, ou en écartant lentement les machoires en modifiant les vis de butée.

Le déclenchement des électroaimants se fait par un signal qui est synchronisé aux impulsions lumineuses de l'éclairage (voir sec. 6.1.1) et à la caméra. Ceci donne une référence temporelle pour le début de l' amincissement et permet de comparer un détachement observé en microscopie de fluorescence à un détachement observé en lumière blanche avec la caméra rapide (La dynamique de rupture est très reproductible, cf. partie II).

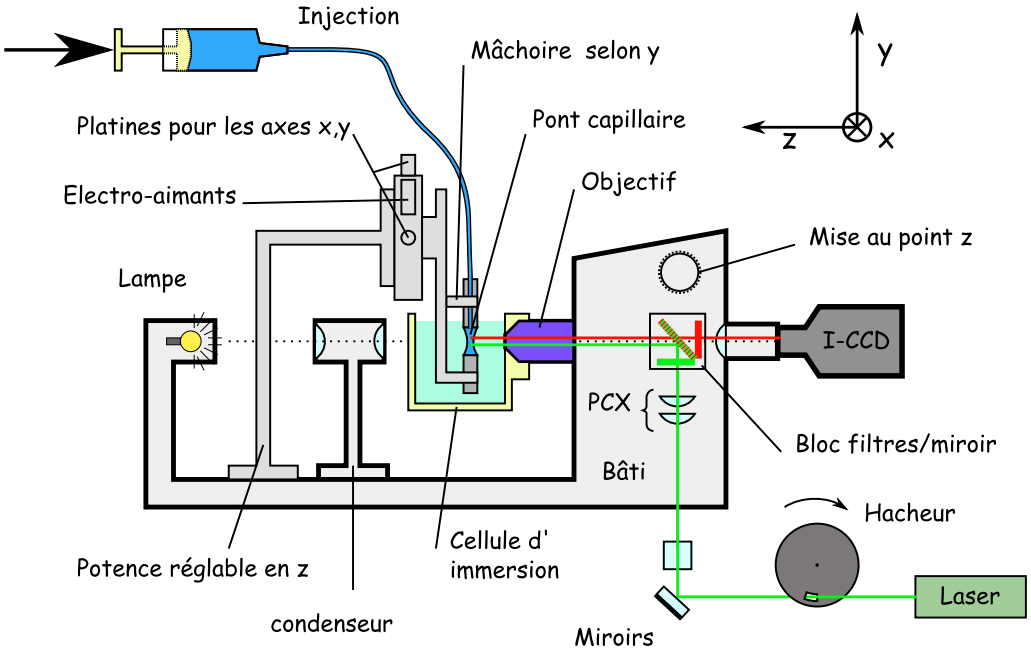


FIG. 6.1 – Schéma du montage microscope et pont capillaire

L'ensemble constituant la mâchoire du pont capillaire est fixé sur deux platines de translation micrométriques (pas des graduations 10 μm) assurant le positionnement dans le plan de mise au point selon les axes Ox (course horizontale 7 mm) et Oy (course verticale 25 mm). Le tout est placé sur un bras relié à la potence d'éclairage par transmission du microscope : le positionnement du pont capillaire peut être fait grossièrement, lors de la mise en place, en translatant le tout le long de l'axe optique du microscope.

Le montage fixé au microscope est très sensible aux vibrations. Le microscope repose lui-même sur deux barres de dural, solidement fixées à l'aide de serre-joints sur deux lourdes tables, avec des plaques de perbutan intercalées pour amortir les vibrations. Une fois la mise au point réalisée, le déclenchement de l'acquisition se fait distance à l'aide d'un interrupteur filaire.

La cellule d'immersion du pont capillaire

Plusieurs cellules d'immersion (cuves parallèpipédique) ont été utilisés. Elles varient par les dimensions mais leur caractéristique principale est le type d'objectif de microscope auxquels elles sont destinées. Dans certains cas la lentille est directement au contact du milieu d'immersion, au travers de la paroi de la cellule. La cellule est alors usinée dans de l'altuglas. L'étanchéité de la jonction entre l'objectif et la cellule est assurée par de la bande téflon, du parafilm et des bagues de serrage. La cellule est dans ce cas solidaire de l'objectif. En revanche avec un

objectif à air, elles sont généralement en verre collé, avec une zone servant à la visualisation d'épaisseur contrôlée. J'ai utilisé comme fenêtre des lames de microscope en verre de 1,1 mm, 0,170 mm, ou une feuille de Mylar de 50 μm.

Un serpentin en cuivre immergé dans la cellule en plexiglas est parcourue par de l'eau dont la température est fixée grâce à un bain thermostaté (Haake). Il est possible avec ce montage de descendre la température jusqu'à 5 $^{\circ}C$ sans mesures d'isolation supplémentaires, avec une température mesurée homogène et constante au degré Celsius près. Néanmoins, la température dans la cellule d'immersion est ajustée à 20 $^{\circ}C$ dans le but de maintenir constantes les propriétés des différents liquides (échantillon et fluide extérieur), ainsi que pour éviter la condensation sur le reste du montage.

L'éclairage et l'acquisition

L'éclairage halogène standard du microscope par transmission ou réflexion est utilisé lors de la mise en place et pour l'alignement du pont capillaire. Pour les observations en fluorescence, on utilise un faisceau laser (532 nm, vert) de 60 mW focalisé sur la zone d'intérêt. La largeur du champ éclairé est modifiée à l'aide de lentilles placées au niveau port arrière du microscope et du bloc de filtres, ce qui permet d'utiliser quasiment toute l'intensité du faisceau. Il est haché mécaniquement (grâce à une roue ajourée et placée en amont) à la fréquence d'acquisition de la caméra (I-Pentamax 15 Hz) avec une impulsion lumineuse d'une largeur de 0,1 à 1 ms. Le bloc de filtres de flurorescence permet d'utiliser le colorant POPO-3 avec l'ADN (émettant dans l'orange, avec un spectre similaire à celui de la rhodamine B).

Le déclenchement d'une acquisition se fait à l'aide d'un commutateur manuel. Après son enfoncement, l'acquisition et le mouvement des électroaimants sont déclenchés lors de la première impulsion lumineuse consécutive.

Le choix de l'objectif ou de la cellule dépend du type d'expérience.

6.1.2 Ralentir la dynamique : quel solvant ?

J'ai montré dans la partie II que pour avoir accès à la viscosité élongationnelle de l'ADN en régime dilué il était nécessaire d'avoir un solvant suffisamment visqueux (pas d'effets inertiels) et newtonien (effet de l'ADN seul). C'est ce qui m'a conduit à utiliser une solution de glycérol dans les mêmes conditions que la référence [69]. La caméra rapide permet de suivre en détail l'amincissement du filament, qui dure typiquement de 100 ms à 1 s pour des concentrations de glycérol de 75 à 90 %.

La fréquence d'acquisition est telle qu'une dizaine d'images représente 600 ms. Cela impose d'utiliser un solvant d'une viscosité supérieure à $\approx$ 200 $mPa.s$ pour les solutions d'ADN lambda à 40 ppm, soit plus de 90 % de glycérol. Le choix du

solvant doit toutefois être réexaminé dans le cadre d'une observation microscopique d'ADN fluorescent avec adaptation d'indice.

Viscosité et colorant

L'ADN est marqué avec un colorant, le POPO-3 (Molecular Probes). Ce dernier s'intercale entre les paires de bases de l'ADN en formant un complexe. Cette réaction est régie par un équilibre réversible dont la constante de dissociation est particulièrement basse (de l'ordre de la nanomole/litre) : l'affinité du colorant pour l'ADN est très élevée. L'ADN est tout d'abord marqué avec une concentration suffisante pour que la réaction soit quasiment totale (typiquement à 1 *ppm* d'ADN et un rapport colorant/ paires de bases de 1 pour 5), avec un temps d'attente de l'ordre de 1 heure à 1 journée. Ce complexe est stable pendant des années. On le dilue ensuite fortement (typiquement par 100 à 1000) avant les expériences pour n'observer que des chaînes marquées isolées (éventuellement entourées d'ADN non marqué). La plupart des observations en fluorescence est donc réalisée hors-équilibre, sur une durée de l'ordre d'une heure. Ceci est rendu possible grâce à une cinétique particulièrement lente de décomplexation (le colorant est fortement enchassé dans la structure en double hélice).

Il s'est avéré que les échantillons d'ADN marqué dans un solvant à $\approx$ 90 % de glycérol perdaient leur fluorescence après dilution beaucoup plus rapidement (typiquement en une dizaine de minutes) que ceux dans le tampon (cf. 2.1.1) sans glycérol, alors même que leur intensité avant dilution était bien supérieure. Cette modification de l'équilibre ou de sa cinétique empêche donc l'observation de l'ADN au sein d'un filament à base de glycérol.

Ce comportement n'est pas observé pour les solutions à base de sucrose, plus couramment utilisé que le glycérol pour augmenter la viscosité des solutions d'ADN. Cela pose un problème : la viscosité maximum d'une solution de sucrose à saturation est d'environ 200 $mPa.s$. Cela ne permet pas de préparer un échantillon d'ADN à 40 *ppm* de viscosité supérieure à 200 $mPa.s$ à partir de la solution commerciale à 512 *ppm* (dans un tampon à base d'eau), au contraire du glycérol, de viscosité $\approx$ 1 $Pa.s$. Il faut donc trouver un solvant ayant une viscosité maximale de l'ordre de celle du glycérol et les propriétés du sucrose par rapport au complexe colorant-ADN.

Viscosité et indice de réfraction

Il est important de maintenir un indice optique le plus faible possible pour l'échantillon car cela conditionne le choix du milieu d'immersion, dont le rôle est expliqué en 6.1.3. On cherche en effet à maintenir la viscosité du milieu d'immersion significativement plus faible que celle de l'échantillon. Or on constate généralement que pour une même catégorie de liquide, l'indice de réfraction augmente avec la taille de la molécule, tout comme la viscosité.

À ma connaissance, les additifs augmentant la viscosité de manière la plus importante, compatible avec l'ADN d'une solution, et gardant un caractère complètement newtonien sont le glycérol pour les polyols et le sucrose (saccharose) pour les sucres. La viscosité des solutions de sucrose augmente plus vite avec la fraction massique que celle des solutions de glycérol, alors que l'indice augmente dans les deux cas linéairement. Toutefois, l'augmentation des indices en fonction de la viscosité est en fait la même (fig. 6.2).

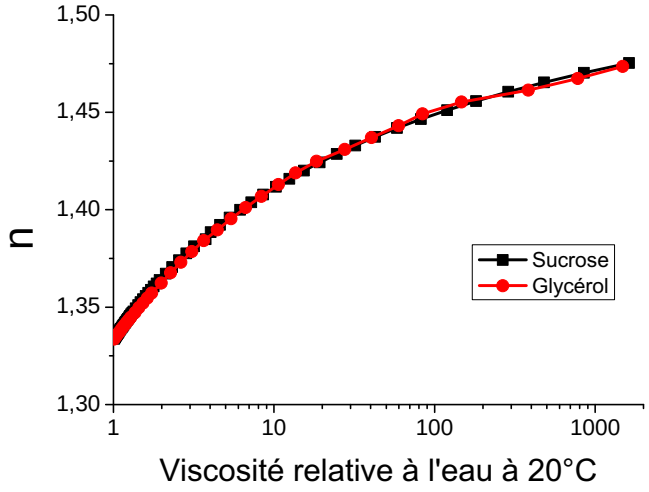


FIG. 6.2 – Indice optique en fonction de la viscosité pour les solutions de glycérol et sucrose.

Ces deux additifs semblent fixer une limite aux gains de viscosité accessibles en utilisant un seul additif[1]. Cela conduit à rechercher un solvant dont la composition contiendrait plusieurs sucres (comme le miel) afin d'augmenter fortement la viscosité, sans pouvoir limiter l'augmentation de l'indice optique de l'échantillon.

Mélange de sucre

Des viscosités de l'ordre de 400 $mPa.s$ ont été obtenues en ajoutant du glucose à une solution de sucrose proche de la saturation. L'ADN était observé en régime très dilué ($\approx 10^{-5}c^*$), donc la viscosité initiale du solvant restait quasiment constante après ajout de l'ADN. À fraction massique égale le glucose seul a une viscosité plus faible que le sucrose, mais un mélange des deux pourra avoir à l'équilibre une viscosité plus élevée que du sucrose à saturation. Les petites molécules du glucose

[1]De plus je n'ai pas observé de différence significative de rhéologie entre les échantillons d'ADN à base de glycérol ou de sucrose bien qu'il ait été suggéré que la double hélice de l'ADN adopte une structure légèrement différente dans le glycérol par rapport à celle dans une solution tampon plus classique [128, 129, 130].

inhibent la cristallisation[2] du sucrose [156]. Néanmoins cela ne permet toujours pas d'obtenir cette même viscosité avec une solution d'ADN à 40ppm à cause de l'étape de dilution à partir de 512 *ppm* : le contenu en eau augmente de 8 %, et la viscosité redescend à moins de 100 $mPa.s$.

Pour contourner cette difficulté j'utilise une recette consistant à passer par un sirop initial de sucrose et de glucose (ou sorbitol) de viscosité beaucoup plus élevée, mais instable à température ambiante. Sa préparation se fait à température élevée, donc avec une limite de solubilité plus importante. L'ADN est ensuite dilué (à 40 *ppm*, en homogénéisant pendant une nuit dans un tambour tournant à une dizaine de tours par minute) sans difficulté dans ce sirop (a priori seulement métastable) à température ambiante, avant la cristallisation, ce qui donne une solution d'ADN finale stable et suffisamment visqueuse de 200 à 600 $mPa.s$.

Je décris ici en détail le protocole typique suivi pour obtenir 50 ml de solvant de viscosité 1,4 $Pa.s$. L'ordre des étapes est crucial pour sa réussite en un temps raisonnable.

1. Moudre le sucrose anhydre aussi finement que possible (Sigma Aldrich, cristaux de quelques millimètres de côté) dans un environnement propre et sec.
2. En dissoudre 32 g dans 10 g de solution tampon TE (filtrée) à 60° Celsius dans un tube à centrifugeuse refermable. C'est l'étape la plus longue (plus de 60 min) car le sucrose se solubilise moins vite que le glucose. Il est nécessaire d'agiter la solution régulièrement et vigoureusement jusqu'à dissolution complète.
3. Dissoudre 8 g de glucose (Sigma Aldrich, grains de quelques dizaines de microns) dans la solution précédente, toujours à 60° Celsius pendant quelques dizaines de minutes.
4. Vérifier que la solution est limpide et transparente, sinon continuer à chauffer à 60° Celsius et agiter jusqu'à disparition totale de tout grain diffusant ou de variations de l'indice optique.
5. Ramener à température ambiante. En cas de problème de recristallisation, il est possible de maintenir la solution à 50° Celsius pendant une ou deux nuits.

Ce sirop visqueux se conserve pendant plusieurs semaines à température ambiante. Il a un comportement newtonien, même après plusieurs balayages de la gamme de taux de cisaillement 1-5000 s^{-1}, sans cristallisation induite par le cisaillement. Une solution d'ADN à 40 *ppm* réalisée à partir de ce sirop a typiquement une viscosité de 0,4 $Pa.s$, ce qui permet la mesure de la viscosité élongationnelle. Enfin la fluorescence de chaînes d'ADN λ marquées avec du POPO-3 à 1 : 5 à 1 *ppm* dans de l'eau puis diluées à 0,005 *ppm* dans ce sirop concentré est encore

[2] C'est ce qui se passe pour le miel, mélange de nombreux sucres et protéines, qui peut avoir une viscosité de ≈ 10 $Pa.s$.

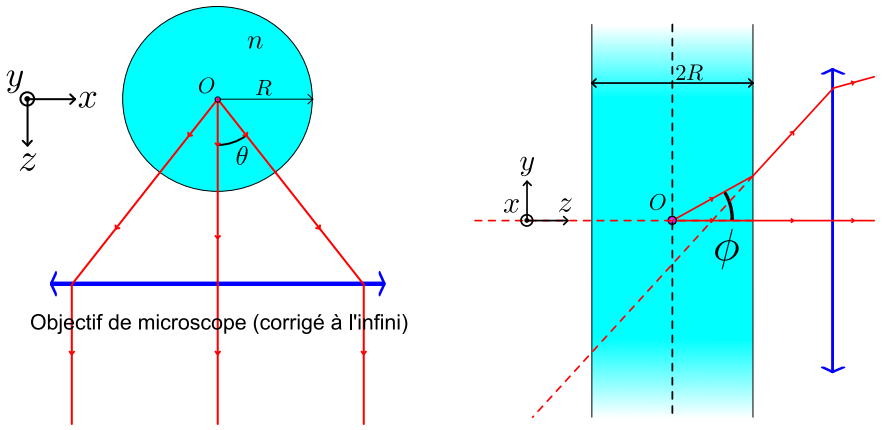
possible une heure après la dilution, contrairement au cas de la dilution dans le glycérol.

6.1.3 Adaptation d'indice : immerger le pont

Nécessité de l'immersion

Penchons-nous en détail sur le pont capillaire (figure 6.3). De manière schématique c'est un cylindre droit de sections circulaires, dont le rayon $R(t)$ décroît avec le temps, d'indice optique $n > 1$ entouré d'air d'indice 1. À peu près à mi-distance de ses deux extrémités se trouve un point de stagnation 0. C'est cette zone que nous cherchons à observer avec un objectif de microscope, car c'est là que la vitesse d'une chaine d'ADN sera la plus faible mais avec un taux d'élongation non nul.

Supposons que le cylindre est parfaitement droit et aligné avec l'axe Oy, et que le point O est au point focal objet d'un objectif à air sans lamelle (corrigé à l'infini) d'axe optique Oz. Le cylindre comporte deux courbures principales. Celle du plan (xOz) vaut $C_{xz} = 1/R(t)$ et celle du plan (zOy) vaut $C_{zy} = 0$. Sa surface constitue un dioptre qui dévie les rayons lumineux issus du voisinage de O.



(a) Vue selon l'axe du pont.

(b) Vue perpendiculaire à l'axe du pont et à l'axe optique.

FIG. 6.3 – Description schématique du pont capillaire du point de vue des courbures principales et de l'optique géométrique.

L'image d'un point source n'est pas un point mais une répartition complexe et étendue de l'intensité lumineuse dans l'espace image (voir par exemple la fig. 6.5(c)), qui de plus dépend du temps à cause de l'évolution du rayon du cylindre. Les causes de cette dégradation sont *la présence d'un dioptre* et *la grande ouverture numérique nécessaire* (c'est-à-dire un écart important à l'approximation paraxiale). Il est possible de réduire ces aberrations en diaphragmant l'objectif (réduction de l'ouverture numérique) pour se rapprocher de la situation paraxiale, mais cela

revient à réduire très fortement l'intensité lumineuse utilisable et la résolution spatiale.

Pour pouvoir observer de l'ADN fluorescent il faut impérativement atténuer ces aberrations sans perdre l'intensité lumineuse des rayons marginaux. Il suffit pour cela de faire disparaître le dioptre. Si le cylindre est environné d'un fluide de même indice de réfraction, les rayons lumineux ne seront plus déviés par interface entre les deux matériaux (en négligeant la dépendance des indices avec la longueur d'onde).

Le pont capillaire étudié doit donc être immergé dans un fluide de même indice. Il reste d'une part à trouver ce fluide, d'autre part à trouver un objectif de microscope à immersion satisfaisant.

Une quête pleine de contraintes : le fluide d'immersion

Voici le portrait-robot du parfait liquide d'immersion :

1. non miscible[3] avec l'eau, l'eau sucrée et le glycérol,
2. indice de réfraction proche de 1,470,
3. faible viscosité selon le critère sur le rapport des viscosités intérieur/extérieur établi au chapitre 4, c'est à dire $\approx 5\ mPa.s$ pour mesurer une viscosité de $\approx 400\ mPa.s$ pour le solvant seul.
4. non-absorbant (dans le vert) et non-fluorescent (dans l'orange) dans le visible,
5. compatibles avec les matériaux environnants, notamment la partie immergée de l'objectif, l'échantillon et la cellule en altuglas,
6. stable et peu volatil.

Trouver un liquide répondant à toutes ces caractéristiques n'est pas chose aisée, notamment pour les critères numéro deux et numéro trois : la viscosité d'un liquide est souvent d'autant plus élevée que l'est sa densité et il en est de même pour son indice de réfraction. La référence [126] constitue une ressource importante pour tenter de recouper ces différentes propriétés. De plus l'indice optique d'un liquide est relié à la polarisabilité électronique par la formule suivante [157] :

$$n^2 = \frac{2\frac{N_a \rho \alpha_e}{3M\epsilon_0} - 1}{1 - \frac{N_a \rho \alpha_e}{3M\epsilon_0}}$$

où ρ est la masse volumique, M la masse molaire, ϵ_0 la permittivité du vide, N_a le nombre d'Avogadro et α_e la polarisabilité électronique. On retient donc des molécules avec un indice potentiellement élevé et une viscosité modérée en sélectionnant celles dont la formule contient :

[3] Dans notre cas une tension de surface non nulle et une solubilité très basse suffisent si cela ne perturbe pas l'état de l'ADN

– des atomes lourds par rapport au carbone et à l'hydrogène, par exemple les composés chlorés, iodés ou bromés,
– des doubles liaisons carbone-carbone,
– un noyau aromatique.

Cette approche permet d'isoler des liquides dont les propriétés et le numéro du critère posant problème sont récapitulés dans le tableau 6.1 . On note qu'aucun d'entre eux ne satisfait tous les critères.

Liquide	Indice	Viscosité (mPa.s)	Défaut
alcanes C_nH_{2n+1} n=7-13	1,39-1,43	0,5-3	2
huiles d'immersion	1,4-1,6	200-10000	3
squalane $C_{30}H_{62}$	1,45	15	2
squalène $C_{30}H50$	1,49	≈ 50	3
toluène	1,51	$\approx 0{,}6$	5,6
décaline	1,49	≈ 2	5
diiodométhane CH_2I_2	1,7	≈ 2	5,6
diéthylphtalate	1,49	≈ 20	2,3

TAB. 6.1 – Propriétés de quelques candidats pour l'adaptation d'indice et conditions limitantes.

Les huiles d'immersion sont des mélanges d'hydrocarbures (incluant des halogénoalcanes) spécifiquement développés pour adapter l'indice entre les objectifs de microscope à huile et les lamelles en verre ($n = 1{,}517$). Leur indice optique est très bien caractérisé, avec une faible dispersion. Certains fabricants (Cargille Lab.) proposent des formulations, tenues secrètes, avec une large gamme d'indices de réfraction. Leur viscosité est malheureusement trop élevée. Toutefois en consultant les caractéristiques des différentes gammes de liquide il apparaît que pour certaines séries l'indice varie fortement alors que la viscosité reste constante. Cela suggère que l'indice élevé des ces mélanges est dû à une espèce en particulier.

Il se trouve par ailleurs que l'indice optique des mélanges d'alcanes varie linéairement en proportion des fractions massiques [158]. Ce n'est pas le cas de la viscosité d'un mélange. J'ai pu vérifier que le squalène[4], ainsi que certains des liquides d'immersion commerciaux, sont miscibles en toutes proportions avec les alcanes linéaires (de l'heptane à l'hexadécane) dont la viscosité et l'indice sont très faibles. On vérifie dans le cas du couple (squalène,nonane) que l'indice d'un tel mélange est bien linéaire avec les proportions (fig. 6.4). Cela permet une adaptation continue de l'indice du milieu d'immersion par rapport à celui de l'échantillon immergé.

De même je me suis procuré un liquide d'immersion d'indice élevé mais de viscosité la plus basse possible (Cargille Lab. code 5095, $n = 1{,}518$, $\eta \geq 50\ mPa.s$). Puis je l'ai dilué avec du dodécane (Sigma Aldrich $n = 1{,}42$ $\eta \approx 2\ mPa.s$, moins

[4]Il tire son nom de sa présence dans l'huile de foie de requin.

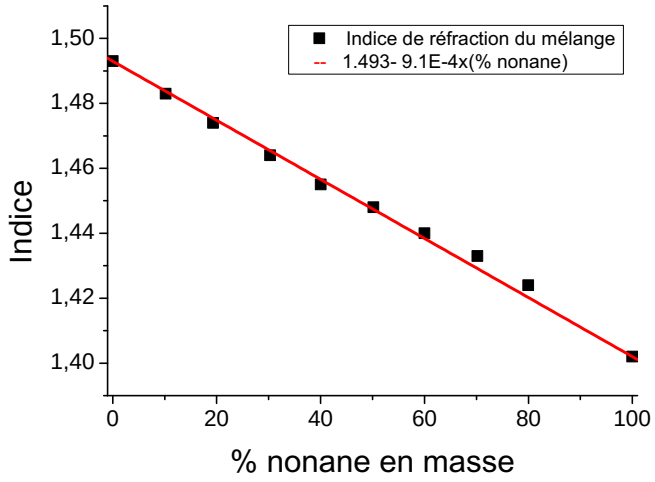


FIG. 6.4 – Indice de réfraction du mélange squalène-nonane en fonction de la fraction massique.

volatile que le nonane) pour en abaisser l'indice à la valeur désirée ($n = 1{,}465$ pour le solvant initialement utilisé, éventuellement plus avec la solution de sucre. Voir le tableau 6.2).

huile 5095	Indice	Viscosité	Tension de surface	Densité
47% en masse	1,465	15 $mPa.s$	27 mN/m	0,8 g/cm^3

TAB. 6.2 – Propriétés du mélange d'immersion à base de liquide 5095 et de dodécane. La viscosité est plus faible que si elle était proportionnelle à la concentration.

Avec ces deux solutions : (squalène+dodécane) ou (liquide 5095+dodécane), il est possible d'adapter l'indice du milieu à celui d'un échantillon à Δn =0,001 près. Je mesure l'indice de l'échantillon, puis je réalise un mélange dont les proportions sont estimées en utilisant la linéarité de l'indice avec les proportions. Je mesure les indices avec un réfractomètre d'Abbe gradué au millième en utilisant la lumière du jour. Cela introduit bien sûr une approximation sur la valeur de l'indice qui dépend de la longueur d'onde, mais cela suffit pour se rapprocher suffisamment des proportions pour lesquelles l'interface ne cause plus d'aberrations. Un ajustement plus fin peut être réalisé in situ dans la cellule, en observant l'intensité ou la largeur de l'interface en incidence rasante.

6.1.4 L'objectif de microscope

Une fois les aberrations causées par l'interface du filament rendues négligeables il faut déterminer quel objectif de microscope utiliser. C'est là encore un problème

d'optimisation aboutissant à un compromis.

Les objectifs utilisables avec notre microscope sont du type « corrigé à l'infini ». Dans cette configuration l'objet est au point focal de l'objectif et son image est à l'infini. Elle est projetée sur le détecteur (la caméra) par une « lentille de tube »n'introduisant pas d'aberration supplémentaire et ne diaphragmant pas le faisceau issu de l'objectif. Le grandissement G n'est pas une caractéristique de l'objectif mais est donné par le rapport des longueurs focales de l'objectif et de la lentille de tube (pour le microscope Leica utilisé ici c'est 200 mm). Pour exploiter au mieux la résolution de la caméra (pixels $\approx$ 23 μm) le grossissement total doit être compris entre x60 et x100, sachant que le microscope possède une lentille d'apppoint x1,6.

Il faut rechercher un objectif à grande ouverture numérique $ON = n \sin \alpha$ afin de maximiser l'intensité lumineuse captée (n est l'indice du milieu d'immersion et α est le demi-angle du plus grand cône de lumière utile). Elle détermine la proportion Γ de photons de fluorescence (émis de façon incohérente et isotrope) collectés selon l'expression :

$$\Gamma = \frac{1 - \cos \alpha}{2} = \frac{1 - \sqrt{1 - \left(\frac{ON}{n}\right)^2}}{2} \tag{6.1}$$

L'image d'une source ponctuelle (un fluorophore émettant de manière incohérente) au foyer objet d'un objectif parfait est la figure de diffraction de Fraunhofer. La tâche centrale de rayon

$$d_r = \frac{0,61\lambda}{ON} \tag{6.2}$$

comprend 84 % de l'énergie dans le plan de l'image du point. Cette distance correspond à la distance minimum du critère de résolution d'Airy entre deux points[5]. De même la distribution axiale de l'intensité définit la profondeur de champ (du côté objet) :

$$2d_z = \frac{2\lambda n}{ON^2} \tag{6.3}$$

Une grande ouverture numérique est intéressante car elle augmente la résolution latérale et axiale. Ce dernier point permet notamment d'augmenter le rapport signal sur bruit en diminuant la contribution des sources situées en dehors du plan focal. La majeure partie de l'énergie lumineuse émise par un point source est comprise dans un cercle d'aire proportionnelle au carré du rapport ouverture numérique sur grandissement. L'image du point source par un objectif sera d'autant plus intense que la quantité $\left(\frac{ON}{G}\right)^2$ sera élevée. Il faut effectuer un compromis entre agrandissement et ouverture numérique afin d'optimiser le signal. Pour cela on détermine le grandissement maximal utile en fonction du détecteur et on maximise l'ouverture numérique.

[5]En éclairage cohérent ce critère devient $d = 0,82\lambda/ON$.

L'efficacité lumineuse totale d'un objectif parfait est donc donnée par le produit :

$$\Gamma \left(\frac{ON}{G}\right)^2 \tag{6.4}$$

dont une valeur approchée à 10 % est $ON^4/(2nG)^2$.

L'objectif utilisé en épifluorescence joue aussi le rôle de condenseur. Dans notre cas on met en forme le faisceau laser pour que le champ illuminé soit plus petit que le champ de vision de l'objectif. L'intensité d'excitation est donc multipliée par le facteur G^2, mais le signal réémis par les fluorophores peut saturer.

Il faut aussi rechercher un objectif avec une grande distance de travail W_d (de l'ordre du millimètre) afin que la présence d'une paroi n'influence pas la dynamique de rupture du filament. Or qu'il s'agisse des objectifs à air ou à immersion une grande ouverture implique généralement une petite distance de travail et réciproquement (voir le tableau 6.3).

x G ∞	ON	W_d (mm)	n	I_{norm} %	d_r (μm)	d_z (μm)
5	0,12	10	1	1	2,80	57,1
10	0,25	5,8	1	5	1,34	17,6
20	0,4	0-2	1	8	0,83	6,9
40	0,55	0-2	1	7	0,61	3,6
40	0,8	3,3	1,33	30	0,42	2,3
63	0,7	1,1-1,3	1	7	0,48	2,2
63	0,9	2,2	1,33	19	0,37	1,8
63	1,4	0,1	1,52	100	0,24	0,9
100	1,25	0,12	1,52	26	0,27	1,0

TAB. 6.3 – Quelques objectifs Leica et leurs caractéristiques. La colonne I_{norm} représente l'intensité collectée en épifluorescence normalisée par celle de l'objectif de plus grande ouverture numérique.

Les plus grandes distances de travail sont souvent obtenues avec les objectifs secs. Mais un objectif à air est ici exlu à cause de la trop grande différence d'indice entre le milieu d'immersion et l'air ($\Delta n \approx 0,47$!) et de l'épaisseur de cette région (quelques mm). Les objectifs de grande ouverture ($ON > 0,5$) sont très sensibles aux inhomogénéités d'indice[6]. Par exemple le x63/0,7 Fluotar de Leica a une distance de travail de 2,6-1,8 mm et une bague de correction qui permet d'utiliser des lamelles de 0,1 à 1,1 mm d'épaisseur en verre (n = 1,518). Mais même pour ce dernier en utilisant une lamelle de quelques microns, alors qu'il offre un des

[6]Au point que certains objectifs secs sont équipés d'une bague de correction afin de corriger les aberrations causées par des variations de l'épaisseur des lamelles de l'ordre de la dizaine de microns.

meilleurs compromis ouverture/distance, une épaisseur de 3 mm à $n = 1{,}47$ est rédhibitoire.

Les objectifs à immersion dans l'huile ($\Delta n \approx 0,05$) ou dans le glycérol ($\Delta n \approx 0,01$) ont des distances de travail typiquement inférieures à 200 μm. Je n'ai trouvé aucun objectif de ces types [7] avec une distance de travail suffisante (ne serait-ce qu'un millimètre) parmi les constructeurs suivants : Lomo, Nachet, Mitutoyo, Leica, Zeiss, Olympus et Nikon.

Il existe des objectifs à immersion dans l'eau (on a alors $\Delta n \approx 0,17$) qui sont plongés directement dans le milieu étudié, sans lamelle. Ils sont conçus pour permettre un accés aisé à l'échantillon étudié, notamment en électrophysiologie. Leur distance de travail est millimétrique, mais leur ouverture numérique est plus modeste ($\leq 0,9$) comparé à un objectif à eau typique ($ON \approx 1,2$ et distance de travail de 100 μm).

Leica propose ces deux objectifs à immersion directe dans l'eau : un x40/0,8 et un x63/0,9 (modèles HCX APO L UVI) avec respectivement une distance de travail de 3,3 mm et 2,2 mm, une efficacité de 30 et 20 % et des résolutions similaires (tab. 6.3). L'objectif X40 est donc le meilleur compromis distance de travail/ouverture numérique grâce à ses 3,3 mm et une ouverture raisonnable. C'est donc l'objectif que je choisis initialement pour tester le montage.

6.1.5 Des choix interdépendants

Les sections précédentes aboutissent à des choix très interdépendants. Un solvant visqueux permet d'utiliser la caméra intensifiée en ralentissant la dynamique de rupture. Mais cela implique une augmentation de l'indice du milieu d'immersion adapté. L'intensité du signal est donc potentiellement compromise car l'objectif de microscope sélectionné ne sera pas dans ses conditions optimum d'utilisation. La faiblesse du signal de fluorescence à l'échelle impose pourtant un objectif avec une grande ouverture numérique. En revanche la dynamique plus lente permet d'avoir une vitesse des chaînes d'ADN plus faible, donc des temps d'exposition de la caméra plus longs et un signal plus fort.

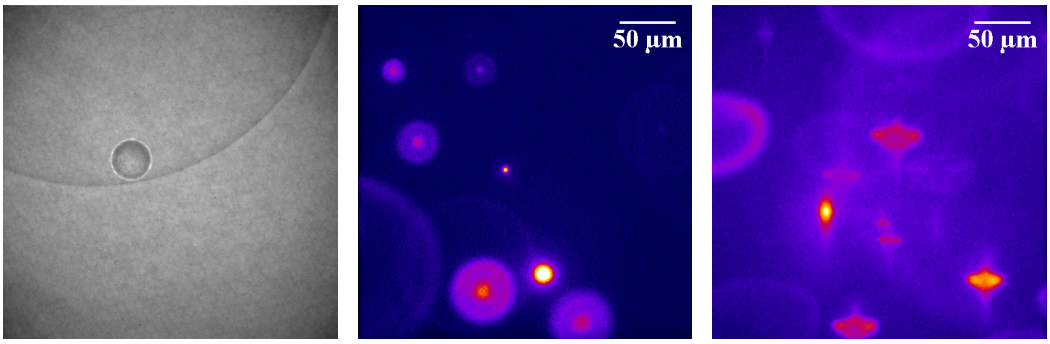
6.2 Adaptation d'indice et aberrations

6.2.1 Une adaptation d'indice efficace

Pour tester l'efficacité de l'adaptation d'indice, j'ai utilisé une goutte immergée d'un échantillon sans polymère d'indice 1,47 contenant des billes de polystyrène de diamètre 140 μm et de mélamine 2-20 μm (celles-ci sont fluorescentes dans l'orange). L'indice du milieu d'immersion a été adapté selon la méthode décrite dans la section 6.1.3.

[7] Y compris en étendant ma recherche aux objectifs avec une distance de tube finie.

Avec un éclairage en transmission et de la lumière blanche, on vérifie (figure 6.5(a)) que les billes sont bien visibles. Le diamètre moyen mesuré est identique à celui mesuré en immersion à eau. L'image de chaque bille conserve sa symétrie de révolution autour du centre de la bille, et ceci quelle que soit la position de la bille au sein de la goutte, notamment près du contour de la goutte dans le plan focal. Cette symétrie est conservée lorsque l'on défocalise : l'image reste centrée sur la même position et circulaire.



(a) Indice adapté ($\Delta n \approx 0,002$). Une bille de diamètre 140 μm en éclairage par transmission près de l'interface d'une goutte.

(b) Indice adapté ($\Delta n \approx 0,002$). Billes de 2 à 20 μm teintées de rhodamine en épifluorescence (fausses couleurs).

(c) Indice inadapté ($\Delta n \approx 0,070$). Billes de 2 à 20 μm teintées de rhodamine en épifluorescence. On note les figures de caustiques.

FIG. 6.5 – Image de billes à travers une interface optique.

En utilisant les mêmes billes préalablement trempées dans une solution de rhodamine B concentrée, on peut observer la fluorescence de la rhodamine adsorbée en l'excitant avec un laser YAG et en utilisant la caméra intensifiée. Si l'indice du milieu n'est pas adapté (figure 6.5(c) par exemple en prenant du nonane d'indice 1,40), l'image des billes est fortement déformée. On observe des caustiques dues à la courbure de l'interface, et leur forme dépend de la focalisation. Si l'indice est adapté (figure 6.5(b)), l'image des billes est circulaires. On note que la distribution d'intensité lumineuse n'est pas symétrique suivant que la mise au point soit faite en avant ou en arrière de la bille observée.

Tout ceci est le signe que l'adaptation d'indice est efficace : l'interface entre l'échantillon et le milieu d'immersion est optiquement inerte. Les rayons lumineux ne sont pas déviés de manière sensible pour une courbure d'interface de l'ordre de $10^3\ m^{-1}$ avec $\Delta n \approx 0,002$.

Maintenant, si je remplace l'échantillon par une solution d'ADN fluorescent (successivement de 0,005, 0,1 et 1 ppm, marquée avec du POPO-3 à 1 : 5) de même indice (à 0,002 près) à base de glycérol, puis à base de sucres, et que j'éclaire avec un laser vert, il est impossible de résoudre les chaines d'ADN, le rapport signal/bruit est trop faible. Tout au plus ai-je observé une variation de l'intensité du fond lumineux suivant la région de mise au point (à l'intérieur ou hors de la goutte),en

fonction de l'intensité et du temps d'exposition, ainsi que des poussières ou des amas (peut être d'ADN mal dispersé) fluorescents et isolés de tailles conséquentes (supérieures à 3 microns). Tous ces échantillons sont pourtant parfaitement observables dans des conditions standards de microscopie en épifluorescence (laser continu à 0,5 mW, objectif d'ouverture 0,7 ou 1,25, temps d'exposition 60 à 10 ms).

Quelle est l'origine de ce rapport signal sur bruit (RSB) très dégradé ?

6.2.2 Origine de la perte de signal

C'est la non-adaptation globale de l'indice du milieu avec celui prévu pour l'objectif qui introduit des aberrations optiques qui limitent les performances optiques de notre combinaison.

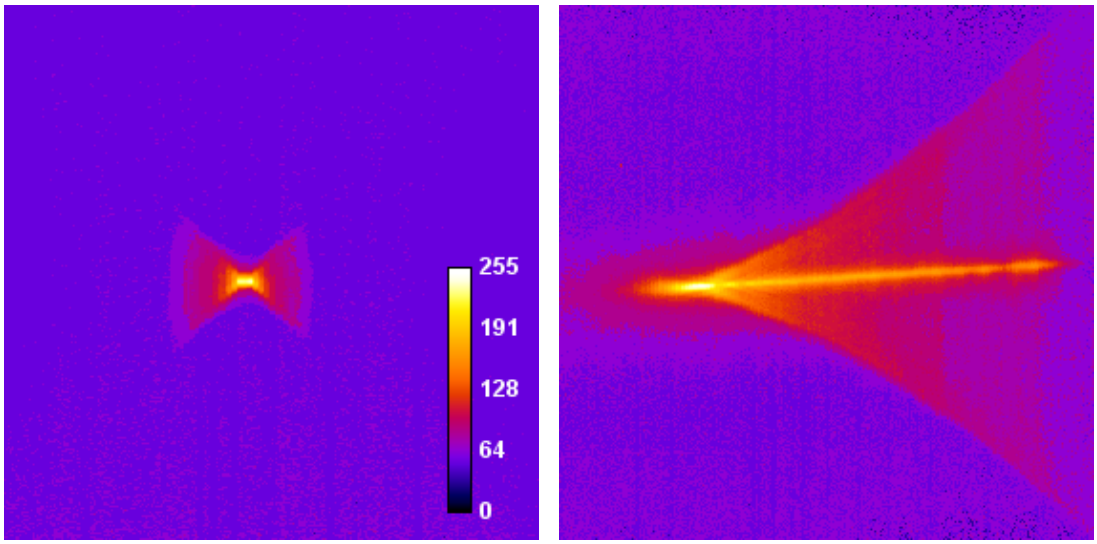
Pour caractériser ces aberrations je mesure une approximation de la réponse impulsionnelle spatiale de l'objectif x40/0,8 à eau (Leica HCX APO L UVI). La source ponctuelle est remplacée par une microbille fluorescente (Sigma Aldrich, émission dans l'orange) de diamètre 1 μm, excitée par un laser vert 532 nm continu à 0,5 mW.

Les billes sont diluées dans de l'eau distillée. Je dépose quelques gouttes de cette suspension sur des lamelles de verre. Après évaporation je rince les lamelles à l'eau distillée. Après séchage il ne reste que quelques billes adsorbées sur la surface du verre et isolées les unes des autres.

La lamelle de verre est ensuite immergée dans une cellule (solidaire de l'objectif x40) contenant de l'eau distillée ($n = 1{,}33$, cas idéal) ou du glycérol pur ($n = 1{,}47$, écart d'indice maximal). Je réalise la mise au point sur une bille au centre du champ de vision en repérant le zéro du vernier fin du microscope. Je défocalise ensuite le microscope, en répérant la position du vernier. Je balaye ensuite la mise au point de part et d'autre de la position de la bille par pas de 1 μm, en enregistrant une image à chaque pas. J'obtiens ainsi pour chaque milieu d'immersion une représentation tridimensionnelle de la répartition d'intensité lumineuse (fig. 6.6).

Cette carte ne correspond pas à la réponse impulsionnelle car je mesure la fluorescence émise par une bille excitée par un faisceau qui est lui-même une distribution spatiale non uniforme et déformée par les aberrations de l'objectif qui joue le rôle de condenseur. Néanmoins la coupe le long de l'axe optique de la figure 6.6 donne une idée assez précise de la nature de l'aberration. En se rappelant la forme de l'aberration pour une lentille simple plano-convexe, on note que :

- dans le cas de l'eau (fig.6.6(a)) la réponse est bien symétrique le long de l'axe par rapport à la position de mise au point, qui est bien définie. L'intensité lumineuse est bien concentrée en ce point (environ 4 μm de largeur à mi-hauteur).
- au contraire dans le cas du glycérol (fig.6.6(b)) l'asymétrie est marquée, et la détermination de l'optimum de mise au point est ambigue : l'intensité lumineuse est très étalée le long de l'axe (environ 80 μm de largeur à mi-



(a) Réponse axiale dans l'eau $n = 1{,}33$. (b) Réponse axiale dans le glycérol $n = 1{,}47$.

FIG. 6.6 – Répartition de l'intensité lumineuse de l'image d'une microbille fluorescente de diamètre 1 μm par l'objectif x40/0,8 à eau (échelle de fausses couleurs en unité arbitraire). Section de 100 μm de haut et d'environ 100 μm selon l'axe optique.

hauteur). Cela se traduit par une baisse très nette du signal récupérable dans un plan image.

– On observe une distribution caractéristique de l'aberration sphérique. Le sens de l'asymétrie indique que l'aberration introduite correspond à un excès de divergence des rayons entrant dans l'objectif.

excés La caméra utilisée est monochrome, mais en observant directement à l'oculaire je n'ai pas vu de différence significative dans la teinte de l'image de la bille entre le cas de l'eau et celui du glycérol. Une éventuelle aberration chromatique semble négligeable dans ces conditions.

6.2.3 L'aberration sphérique

La distribution de l'intensité lumineuse de la fig.6.6(b) est très similaire à l'aberration sphérique d'une lentille sphérique plano-convexe. Une telle lentille n'est qu'approximativement stigmatique. Les rayons issus d'un point objet placé sur l'axe optique et qui ne satisfont pas l'approximation paraxiale (petits angles et proximité de l'axe optique) ne se coupent pas en un point image unique (voir la fig. 6.7). Il y a un excès de convergence croissant avec l'angle d'entrée (ou de sortie). Cet écart au stigmatisme est dû à la forme sphérique du dioptre. Une lentille plano-concave aura un défaut opposé, avec un excès de divergence.

L'aberration sphérique est normalement corrigée pour les objectifs de grande

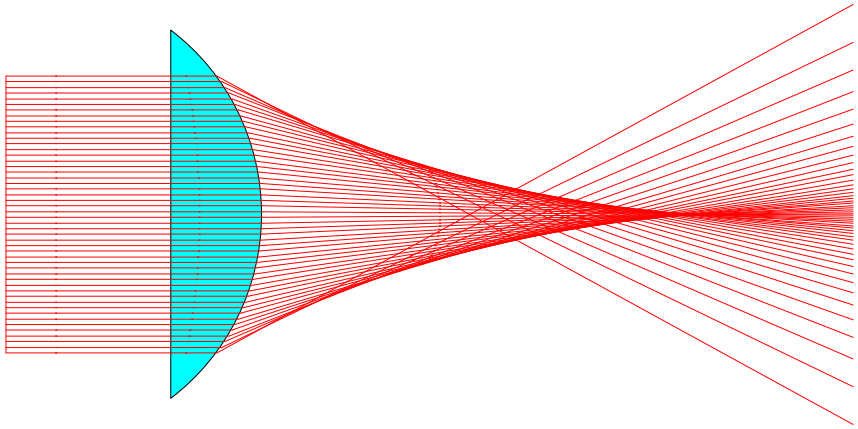


FIG. 6.7 – Tracé de rayons illustrant la nappe de l'aberration sphérique d'une lentille plano-convexe en configuration infini-fini.

ouverture. Néanmoins on obtient une aberration similaire en introduisant une plaque d'indice optique différent de celui du milieu prévu sur le trajet lumineux. Bien que les courbures des deux faces de la plaque soient nulles, les rayons issus du point objet ne sont pas déviés de la même quantité en fonction de l'angle qu'ils font avec l'axe optique. Ceci est causé par la dépendance en sinus des angles dans la loi de Snell-Descartes. En conséquence, plus un rayon issus du point objet fait un angle important avec l'axe optique, plus son intersection avec cet axe dans l'espace image sera éloignée de l'image idéale (voir fig. 6.8).

Il existe plusieurs types d'aberrations optiques qui sont en général cataloguées en fonction de leur origine physique et de leur position par rapport à l'axe optique dans le plan image. On distingue :

- Les aberrations *sphériques* ; au sens large, c'est à dire tout écart à une image ponctuelle d'un point objet causée par la forme sphérique du dioptre, sur l'axe ou non (par exemple la distortion de coma, en forme de comète).
- Les aberrations *géométriques* ; courbure du champ, causées par la forme du dioptre et l'agencement des lentilles et des diaphragmes.
- Les aberrations *chromatiques* ; causées par la dispersion de l'indice des milieux traversés (loi de Cauchy $n(\lambda) \propto \lambda^{-2}$).

Dans la suite je ne me focalise que sur l'aberration sphérique (voir schéma 6.7) proprement dite c'est-à-dire celle qui concerne l'image d'un point sur l'axe. C'est en général la première que l'on cherche à corriger car si elle est suffisamment bien compensée l'approximation paraxiale s'appliquera dans un voisinage du champ de vision autour de l'axe optique.

On la caractérise par l'aberration sphérique longitudinale (ASL) et l'aberration sphérique transversale (AST). La première représente l'étalement selon la direction de l'axe optique des rayons lumineux et la seconde représente l'étalement dans le

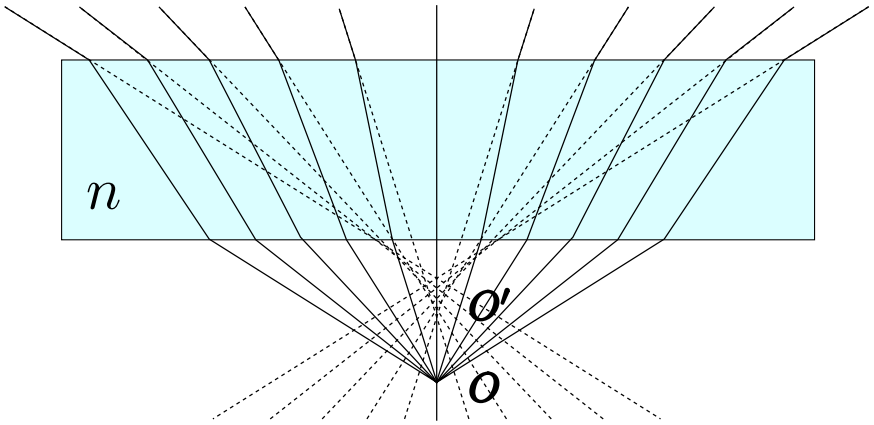


FIG. 6.8 – Illustration de l'astigmatisme introduit par une plaque de verre intercalée dans le trajet optique. L'image du point O à travers la plaque est le point O' virtuel. L'oeil observe un objet apparent plus proche. Plus l'angle d'ouverture du rayon considéré est important, plus il coupe l'axe optique en un point éloigné du point O'. On observe que les rayons de petit angle sont très peu déviés et coupe l'axe très près de O'. Il y a stigmatisme approché pour ces petits angles : c'est l'approximation de Gauss.

plan de l'image. On note que la répartition de l'intensité lumineuse le long de l'axe n'est pas symétrique par rapport au point image paraxial.

6.3 Stratégies de correction

6.3.1 Compenser physiquement l'aberration sphérique aux grands angles

Il n'existe pas à ma connaissance d'objectifs à immersion dans le glycérol ayant une distance de travail de l'ordre de 2-3 mm et une ouverture importante. Il faut donc trouver un moyen pour corriger les aberrations présentes avec l'objectif dont je dispose. Les rayons ayant un angle d'ouverture important ne convergent pas correctement au point image. L'intensité lumineuse correspondante est décalée le long de l'axe, ce qui entraîne un signal beaucoup plus faible dans le plan image. Corriger cette aberration sphérique signifie compenser la déviation des rayons marginaux.

La méthode générale de correction consiste à identifier la nature (ici l'aberration sphérique) et l'origine (ici une inadaptation d'indice) de l'aberration, puis à introduire de nouvelles aberrations dans le chemin optique[8] pour compenser l'effet de la première.

[8]Une déconvolution numérique est exclue dans notre cas en raison du faible rapport signal sur bruit. La déconvolution physique offre en revanche une piste intéressante mais non utilisée

6.3.2 Modification de la « longueur du tube »

La première méthode testée de compensation consiste à utiliser la combinaison (objectif-lentille de tube) dans une autre configuration que celle pour laquelle elle est optimisée. Cela consiste à modifier la « longueur du tube » du microscope [161, 162], en référence aux microscopes où l'image intermédiaire après l'objectif est à distance finie.

Pour modifier la longueur du tube infini j'ai utilisé l'accès du microscope permettant d'insérer un analyseur dans l'espace infini. J'ai remplacé cette lame par une lame évidée de mêmes dimensions et sur laquelle j'ai fixé une lentille plano-convexe. Cette lentille réduit effectivement la longueur du tube en ramenant l'image intermédiaire à distance finie. Cela change la position de l'image finale et il faut donc déplacer la caméra par rapport à la lentille de tube pour conserver la mise au point, ou bien changer la mise au point et garder la caméra fixe.

Les focales des lentilles utilisables sont limitées par les dimensions de l'ouverture accessible (35x35 mm). En utilisant des lentilles de focales 10 cm à 100 cm je n'ai cependant pas réussi à corriger significativement l'aberration. De plus cette modification change le grossissement global de manière sensible. Une approche similaire consiste à observer l'échantillon ailleurs qu'au point focal de l'objectif. Il faut aussi changer la position de la caméra pour être de nouveau conjugué. Là encore, l'effet sur le grossissement est plus sensible que la correction de l'aberration. Au final, cela ne permet pas de résoudre l'ADN fluorescent.

Le principe de cette méthode est vérifié mais l'aberration observée est beaucoup plus importante que celle corrigée dans [161, 162]. De plus la mise en oeuvre sur le microscope utilisé, peu modifiable, est particulièrement peu efficace

6.3.3 Marche d'indice optique ajustable

Dans le cas d'un objectif à immersion utilisé avec une lamelle de microscope cette dernière sépare le milieu d'immersion proprement dit du milieu de l'échantillon. C'est en général l'indice de ce dernier (ou l'épaisseur de la lamelle, en général en verre) qui cause des aberrations. Il est possible de modifier l'indice du milieu d'immersion pour introduire de nouvelles aberrations qui compenseront celle de l'échantillon [163]. Cette méthode est excellente pour corriger des aberrations causées par des décalages d'indice de l'ordre de $\Delta n = 0,1$ sur une centaine de micromètres avec des objectifs d'ouverture maximum, en microscopie confocale [164, 165]. Il est possible de prévoir quantitativement l'indice a utilisé en calculant cette aberration à l'aide de l'optique géométrique uniquement [165] (tracés des rayons marginaux). Des calculs plus complets de la distribution lumineuse du front d'onde supportent ces calculs [166].

dans ce travail. Il serait intéressant de tester l'optique adaptative issue de l'astronomie [159] et l'holographie corrective, qui permet de faire un objectif de 17 cm (!) de distance de travail, d'ouverture 0,3 et avec une résolution inférieure au micron [160].

Dans notre cas le milieu d'immersion a par construction le même indice que l'échantillon (adaptation). Le schéma 6.9 représente comment appliquer cette technique au pont capillaire avec une marche d'indice optique modifiable supplémentaire.

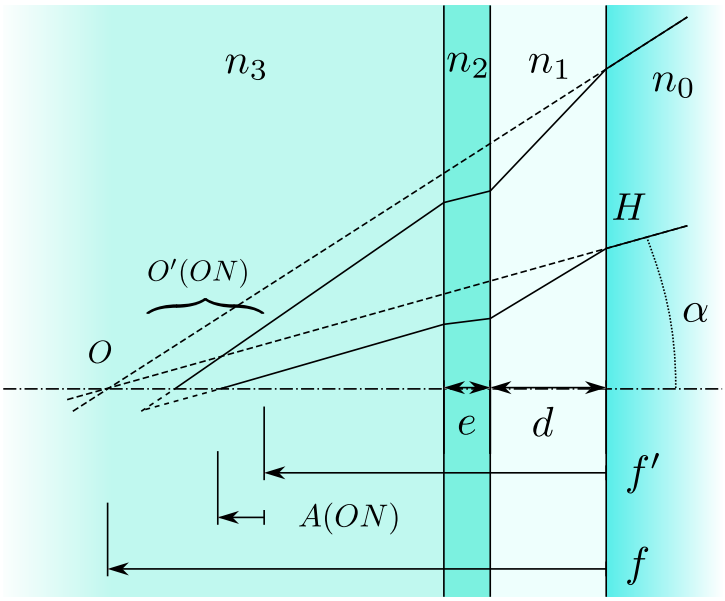


FIG. 6.9 – Aberration causée par l'ajout de sauts d'indice.

Initialement l'objectif à immersion à eau est censé être plongé dans un milieu d'indice n_0 =1,33. Dans ce cas un rayon issu du point focal O avec l'ouverture numérique $ON = n_0 \sin\alpha$ entre dans l'objectif en H (sur sa face frontale). La distance (point focal,face de l'objectif) est notée f. Ce n'est pas la focale mais la distance de travail. Si l'on suit le chemin de ce rayon en sens inverse en partant de l'image parfaite (c'est-à-dire qu'il est issu du point image sans aberration), mais avec un milieu d'indice n_3, ce rayon arrive en H avec l'angle d'ouverture α sur la fenêtre de l'objectif que l'on peut assimiler à un dioptre entre un milieu d'indice n_0 à droite et d'indice n_3 à gauche. Il est ensuite dévié selon la loi de Snell-Descartes. Les intersections $O'(ON)$ des rayons d'angles d'ouverture variés avec l'axe (ce n'est plus uniquement O) représentent l'aberration du système. Je note $\Delta(ON) = \overline{OO'}(ON)$. Si l'on retranche la valeur du décalage à angle nul, l'aberration longitudinale introduite pour le rayon d'angle d'ouverture α est $A(ON) = \Delta(ON) - \Delta(0)$.

J'ajoute maintenant une lamelle d'épaisseur e d'indice n_2 entre le milieu d'immersion d'indice ajustable n_1 d'épaisseur d et le milieu du pont capillaire d'indice n_3. La face avant de l'objectif correspond au milieu d'indice n_0. Je note f' la distance entre la nouvelle interface et l'intersection des rayons d'angle nul : c'est la distance de travail effective. En injectant l'expression des tangentes de α, β, γ et

δ en fonction de f, f', e, d, H, h et h' dans $\Delta(ON) = f' + e + d - f$, puis en utilisant la loi de Descartes à chaque interface, j'obtiens l'expression suivante pour l'aberration totale :

$$A(ON, n_1, e) = f\left(\sqrt{\frac{n_3^2 - ON^2}{n_0^2 - ON^2}} - \frac{n_3}{n_0}\right)$$
$$+d\left(\frac{n_3}{n_1} - \sqrt{\frac{n_3^2 - ON^2}{n_1^2 - ON^2}}\right) \quad (6.5)$$
$$+e\left(\frac{n_3}{n_2} - \sqrt{\frac{n_3^2 - ON^2}{n_2^2 - ON^2}}\right) \quad (6.6)$$

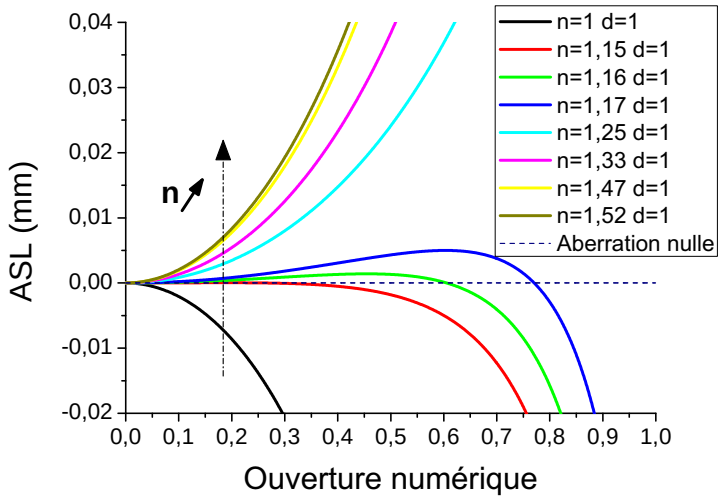
On note que les termes en facteur de e et d peuvent être de signe opposé au terme en facteur de f, permettant ainsi l'annulation de A pour une ouverture donnée en choisissant d, e, n_1 et n_2. On note aussi que l'aberration causée par une couche de matériau est proportionnelle à son épaisseur, point important étant donné les 3,3 mm de distance de travail de l'objectif et qui rationalise la très forte aberration mesurée dans le cas du glycérol. Pour $e = d = 0$ on a l'aberration causée par le milieu du pont capillaire. Pour $n_3 = n_=$1,33, on a uniquement l'aberration causée par l'intercalation d'une lamelle d'indice n_2.

Si j'utilise une cellule d'immersion avec un fenêtre en verre de 0,170 mm, les paramètres fixés sont n_0 =1,33, n_2 =1,52, n_3 =1,47, $f = 3,3$ mm et $e = 0,17$, les paramètres ajustables sont d et n_1. Pour maximiser f', il faut compenser les aberrations sur la plus grande plage d'ouverture numérique possible, avec une distance d la plus petite possible.

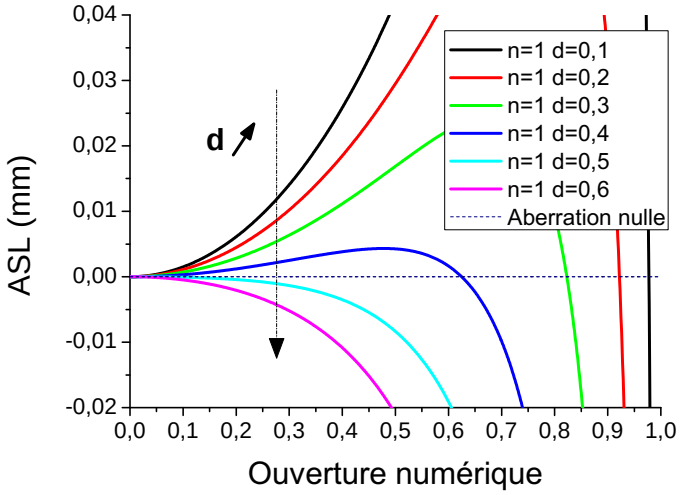
On peut voir sur les figures 6.10(a) et 6.10(b) que suivant la valeur de n_1 ou d le signe de l'aberration peut être positif ou négatif pour toute ou partie des ouvertures. On note que plus l'épaisseur ou l'indice sont faibles, et plus une variation d'un des deux paramètres se traduit par une variation rapide de l'aberration à une ouverture donnée. Pour $d = 1$ et n_1 =1,15 l'ASL est pratiquement nulle jusqu'à $ON = 0,8$ où elle atteint 5 μm. Il n'existe malheureusement pas de milieu ayant cet indice qui soit utilisable simplement[9]. Pour n_1 =1 l'ASL est inférieure à 5 μm jusqu'à $ON \approx 0,7$.

En sélectionnant les valeurs $d = 0,1$ (pour conserver la distance de travail libre de 3 mm) et n_1 =1 (de l'air), j'ai essayé de voir si cela se traduisait expérimentalement par une amélioration de l'intensité, permettant de résoudre l'ADN fluorescent. La cellule était simplement posée sur un support face à l'objectif et solidaire de la potence de l'éclairage en transmission. L'échantillon d'ADN λ (0,1 ppm marqué au POPO-3 à 1 : 5) était une goutte suspendue et immergée de

[9]L'azote liquide et le dioxygène liquide ont un indice de l'ordre de 1,2.



(a) Courbes A(ON) pour $d = 1\ mm$ et différentes valeurs de n_1



(b) Courbes A(ON) pour n_1 =1 et différentes valeurs de d

FIG. 6.10 – Dépendance de l'aberration $A(ON)$ en n_1 et d

diamètre environ 2 mm. Le réglage de la distance d se faisait à l'aide de la mise au point de l'objectif, la taille de la goutte assurant de toujours avoir des chaines d'ADN dans le plan focal.

Cette tentative s'est révélée infructueuse, l'ADN n'étant pas résolu. L'intensité moyenne des images (représentant un fond diffus, en excluant les images contenant des « poussières ») présente un optimum étalé à une distance $d = 0,3 \pm 0,08$ mm (l'objectif étant quasiment accolé à la fenêtre). De plus, comparativement au même échantillon observé dans exactement les même conditions (intensité d'excitation, temps d'exposition, gain de la caméra), avec l'objectif directement immergé, cette intensité optimum est supérieur de 35 % ± 10 %. Ce résultat est compatible avec l'amélioration de la focalisation du faisceau laser (donc une intensité dans le plan d'excitation plus élevée), couplée à une meilleure récupération du signal de fluorescence.

Il n'est pas évident de déterminer pourquoi la correction n'est pas suffisante. En effet l'équation 6.6 semble décrire correctement l'aberration pour une immersion directe dans le glycérol $e = d = 0$. On a respectivement $A = 0,08 - 0,13 - 0,18$ mm pour $ON = 0,6 - 0,7 - 0,8$, valeurs qui se comparent favorablement au 80 μm de largeur à mi-hauteur de la distribution axiale mesurée en 6.2.2. De plus une correction à l'optimum de l'ordre de 5 μm pour $ON = 0,7$ est proche de la largeur à mi-hauteur sans aberration (4 μm).

La limitation provient peut-être du grand saut d'indice constitué par une marche d'air. L'ouverture de 0,8 de l'objectif correspond à un angle de 37 ° or l'angle de réflexion totale d'une interface verre-air vaut 41 °. La quantité de lumière effectivement transmise à l'objectif est surement réduite par la réflexivité accrue aux grands angles. Quoiqu'il en soit le gain apporté par cette méthode avec une seule marche ajustable n'est pas suffisant pour observer l'ADN au sein d'un pont capillaire en cours de rupture.

6.3.4 Changement d'objectif et lentille mince

Principe

Dans cette section j'abandonne l'objectif x40/0,8 à immersion à eau de Leica au profit d'un objectif sec x50/0,45, corrigé à l'infini lui aussi, de marque Olympus. On note immédiatement que l'ouverture est beaucoup plus petite. Son efficacité lumineuse totale (cf. 6.1.4) n'est que 2 % contre 30 % pour l'objectif de Leica. La lentille de tube du microscope Leica a une focale de 200 mm, alors que cet objectif est initialement prévu pour être utilisé avec une lentille de focale 180 mm. On a donc une légère modification du grossissement nominal qui passe à x56.

Le grand avantage de cet objectif est d'avoir une *très longue distance de travail* : *15 mm*, tout en conservant une ouverture numérique de même ordre que la plupart des objectifs secs de même grossissement (voir tab. 6.3).

Mon but est d'utiliser l'espace important devant l'objectif pour insérer des len-

tilles correctrices des inévitables aberrations et d'observer au sein d'un échantillon épais d'indice > 1.

J'utilise l'aberration des lentilles sphériques. L'ASL est une fonction de l'ouverture, de la focale et de l'orientation de la lentille (fig. 6.11). On note d'une part que l'on a des valeurs positives ou bien négatives et d'autre part que suivant la conjugaison voulue il est préférable d'utiliser un certain type dans un certain sens[10]. Si l'on tient compte des aberrations, les lentilles ne sont pas des lentilles minces et ne sont pas symétriques. Cette constatation est à la base des stratégies de compensation des aberrations. En effet cela permet par un choix soigneux des différentes lentilles sphériques de compenser presque totalement les aberrations jusqu'à un ordre donné.

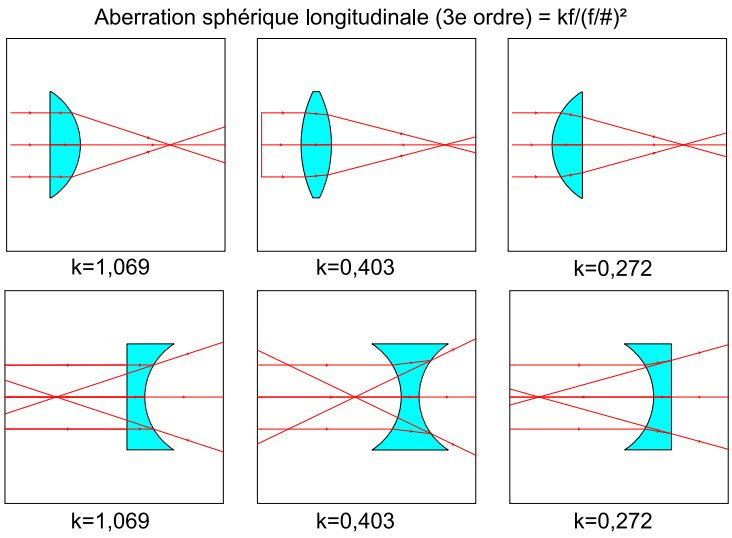


FIG. 6.11 – Les aberrations sphériques au 3e ordre, en fonction de la focale et du nombre d'ouverture $\#/f$.

En utilisant un raisonnement similaire à celui de la partie 6.3.3 on peut prévoir la nature de l'aberration observée pour cet objectif, de type métallographique. Que cela soit en observant un échantillon dans l'air mais à travers une lamelle ou bien au sein d'un liquide (sans immerger l'objectif, qui n'est pas étanche !), il y a un excès de divergence des rayons marginaux. Il faut utiliser des lentilles convergentes.

Évaluation

Pour tester cette approche, je fixe une lentille plano-convexe en BK7 de focale 50 cm à l'extrémité d'un cylindre ajusté coulissant le long de l'objectif. La lentille est fixée à l'aide de trois petites boules de 2 mm de diamètre en Patafix, une pâte

[10] La rêgle des 4P, « Plus plat plus près », [167]

élasto-plastique légèrement adhésive. Cela permet de régler l'alignement des axes optiques pendant l'observation. La partie plane de la lentille se situe du côté de l'objectif. Une étiquette adhésive graduée au millimètre par rapport à la position de contact lentille-objectif est fixée le long de l'objectif.

Pour l'échantillon, j'utilise des microbilles fluorescentes oranges de rayon 1 μm déposées sur une lamelle en verre d'épaisseur[11] 3,3 mm. C'est cette lamelle qui cause les aberrations. Le reste du montage est similaire aux mesures précédentes.

Il y a d'abord une phase d'alignement de la lentille réalisée en essayant d'obtenir une image des billes, même sans mise au point, ayant la symétrie de révolution, et ceci quelque soit la position dans le champ. Je fais ensuite varier la position de la lentille par rapport à l'objectif et j'essaie d'obtenir pour chaque position, une mise au point sur une bille puis la forme de la distribution lumineuse en dehors du plan focal.

Cette méthode permet effectivement de corriger l'aberration introduite par la lamelle. Des billes non résolues à cause d'un signal mesuré trop faible et trop étendu deviennent clairement détectables lorsque la lentille est en place. Il est possible de déterminer un optimum pour la position de la lentille qui rend la distribution lumineuse symétrique par rapport à la position de mise au point. Cela correspond à l'intensité maximum. Dans ce cas ci, la distance lentille-objectif optimum est d'un peu plus de 2 mm. Si la lentille est décalée par rapport à cette position on a une distribution asymétrique correspondant à un excès ou un déficit de déviation des rayons. Ces résultats sont résumés sur la figure 6.12 où l'on peut voir pour les positions 1, 2 et 3 mm l'image d'une même bille et la différence de répartition de l'intensité lumineuse.

La correction est d'autant plus importante que la lentille est proche de l'objectif. En utilisant une lentille de focale 30 cm, on obtient des résultats qualitativement similaires mais l'optimum se trouve à 3,5 mm. Cela laisse présager de la possibilité de corriger une épaisseur de verre plus importante, ou égale mais avec un indice plus élevé.

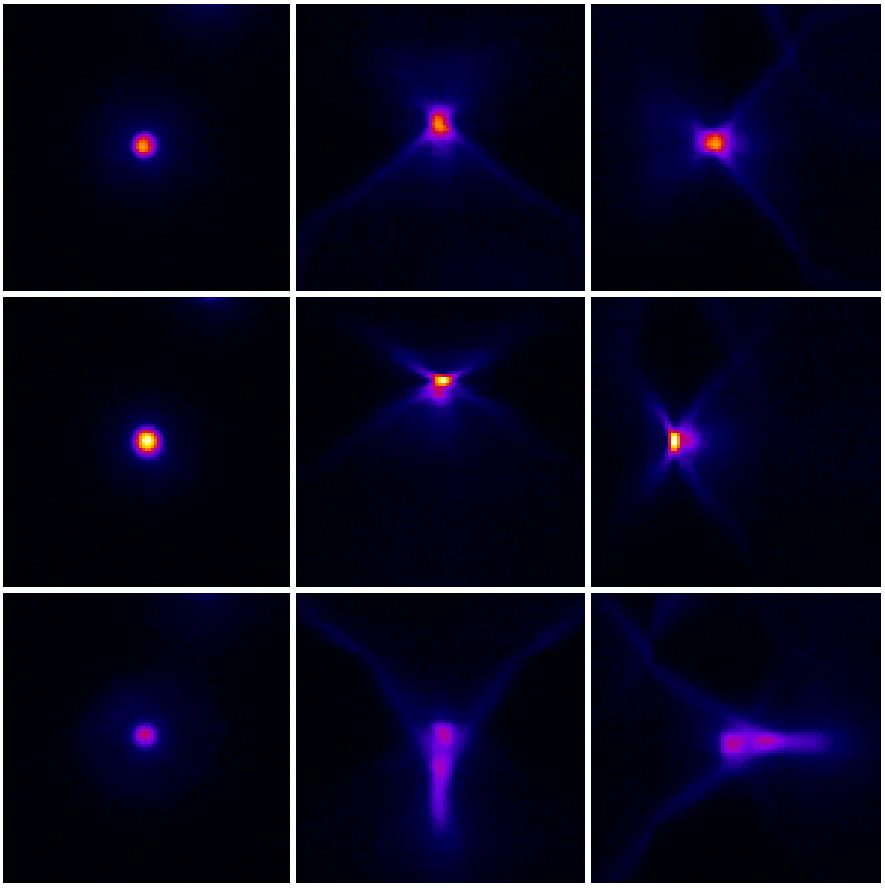
L'observation d'un réseau carré 10x10 μm montre qu'il n'y a pas de modification sensible du grossissement de l'objectif. Cette propriété doit certainement tenir tant que la focale de la lentille utilisée est beaucoup plus grande que la focale de l'objectif (ici 50 $cm \gg 3,5\ mm$). De même le champ semble être plat.

Dans le cas présent, la distance de travail libre est encore de 8 mm, ce qui reste plutôt confortable.

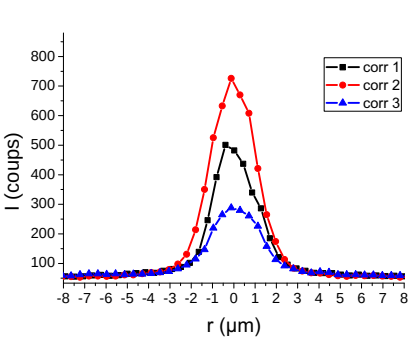
Enfin, toujours sur une lamelle d'épaisseur 3,3 mm, j'ai remplacé les microbilles par une goutte d'ADN fluorescent dilué. En mettant le gain de l'intensificateur à 70, le laser à 60 mW et un temps d'exposition de 100 ms, il est possible de résoudre les chaînes individuelles adsorbées et peignées [168] après évaporation (figure 6.13(b)).

De même on peut aussi visualiser une goutte de solution d'ADN dans l'eau derrière une fenêtre en verre de 170 μm et 4 mm d'eau (fig. 6.13(a)). Ce résultat n'est

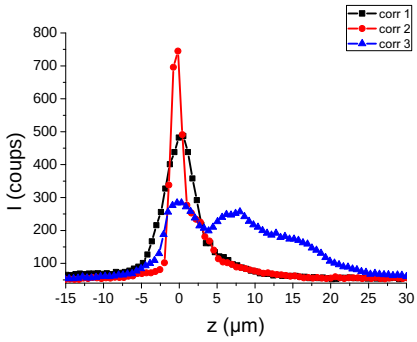
[11] Obtenue à l'aide de 3 lamelles standards et d'huile d'immersion pour verre.



(a) De haut en bas, position 1, 2 et 3. De gauche à droite, section (xy), (xz) et (zy).



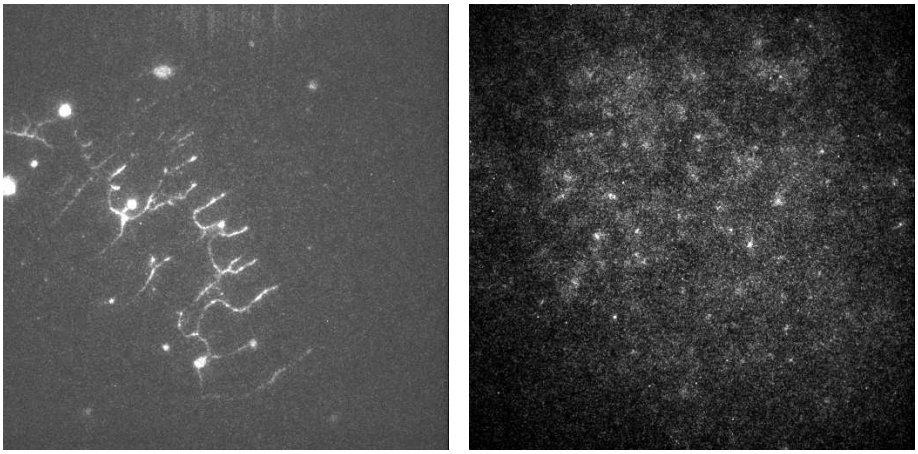
(b) Réponse radiale : coupes selon (Ox) des images de la colonne de gauche, dans le plan où l'image de la bille est la plus brillante.



(c) Réponse axiale : coupes selon (Oz) des images de la colonne de droite, centrées sur leur maximum.

FIG. 6.12 – Correction d'aberration avec la combinaison x50/0,45 et lentille PCX 50 cm. Allure de la distribution d'intensité d'une bille pour différentes mises au point et positions de la lentille (environ 1, 2 et 3 mm). On note l'existence d'un optimum d'observation.

toutefois pas suffisant pour permettre de suivre l'ADN en mouvement pendant la rupture (60 mW x 50 $ms \gg$ 60 mW x 0,1-1 ms).



(a) Peigné (statique) à travers 3,3 mm de verre (gain de l'intensificateur à 70, laser à 60 mW et t_{exp} = 100 ms).

(b) ADN en solution à travers 4 mm d'eau (gain de l'intensificateur à 90, laser à 60 mW et $t_{exp} = 50$ ms)

FIG. 6.13 – ADN observé avec l'objectif x50 sec combiné à la lentille correctrice (Images de 200x200 μm).

Cette stratégie de correction des aberrations appliquée à un objectif à air aboutit à un objectif très polyvalent. Il permet des observations à une résolution inférieure au micron, et ceci pour une large gamme d'indice (1-1,5) et d'épaisseur (0-4 mm), tout en maintenant une distance de travail confortable (mais limitée par l'importance de la correction à apporter). Ce concept pourrait être amélioré en choisissant de manière plus systématique la lentille en fonction des conditions d'observations. Bien que l'ouverture numérique reste modérée, la possibilité d'avoir une très grande distance de travail (plusieurs millimètres au lieu d'une centaine de micromètres) avec des aberrations modérées pourrait être mise à profit en imagerie biologique, et ceci dans des milieux différents, sans avoir à acheter plusieurs objectifs à immersion spécifique.

6.3.5 Un objectif sur mesure

Principe

Le schéma correctif du paragraphe précédent n'est pas suffisant pour observer l'ADN lors de la rupture. Ceci est dû à l'ouverture numérique initialement faible de l'objectif, celle-ci n'étant pas modifiée par la correction. En revanche, en dépit de sa simplicité, il corrige plutôt bien l'aberration due à l'indice élevé et à l'épaisseur du

milieu traversé, tout en conservant une grande distance de travail. Une ouverture numérique plus importante serait très bénéfique.

D'un autre côté, la solution idéale à ce problème serait qu'un opticien produise un objectif à immersion dans le glycérol, corrigé à l'infini, avec une ouverture numérique de l'ordre de un et une distance de travail de l'ordre de 3 mm. La mise au point d'un tel objectif implique de combiner et d'aligner avec précision plusieurs éléments optiques afin de réduire les aberrations et de n'être limité que par la diffraction (voir l'objectif spécialisé pour la microscopie à angle de Brewster de la référence [169]).

Pour comprendre le lien entre ouverture numérique, distance de travail et milieu d'immersion, il n'est pas inutile de se pencher sur les principes de construction des objectifs de microscope. La plupart sont conçus en utilisant les propriétés des points de Weierstrass [170], un couple de points parfaitement conjugués placés sur l'axe optique des dioptres sphériques. Ils sont exempts de l'aberration sphérique.

Cette propriété est illustrée sur la construction de la figure 6.14. Soit une sphère d'indice n, de rayon R et de centre O placée dans un milieu d'indice 1. Soit A le point objet placé sur l'axe optique à la distance R/n à gauche de O. Le rayon d'angle α issu de ce point est dévié à l'interface de la sphère suivant la loi de Snell-Descartes. Le rayon dévié intercepte l'axe optique au point A' avec l'angle β. Le point A' est l'image virtuelle du point A et est situé à la distance nR de O. Cette relation entre A et A' est valable quelle que soit la valeur de l'angle α. Elle l'est aussi pour toutes les paires de point intersection des cercles de rayons nR et R/n et d'une demi-droite issue de O.

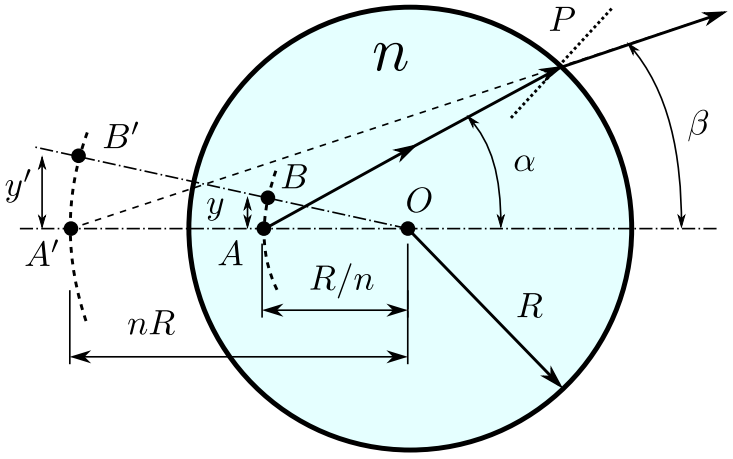
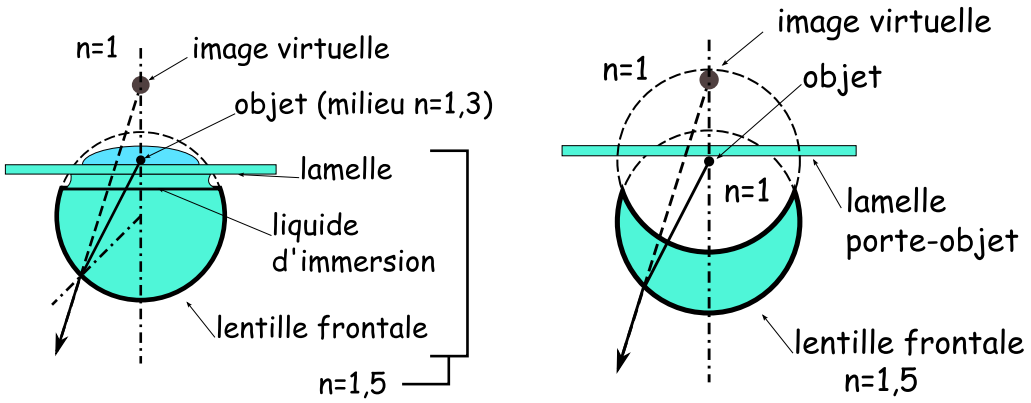


Fig. 6.14 – Construction de Weierstrass.

L'image de l'arc de cercle $\widehat{AB}$ est l'arc $\widehat{A'B'}$. Le rapport d'homothétie est n^2. Si un point du plan objet passant par A est dans le voisinage de A, il y a stigmatisme approché pour son image. L'angle sous laquelle est vue l'image

virtuelle est diminué.

On applique cette propriété aux objectifs à immersion de la manière suivante (voir le schéma 6.15(a) : l'échantillon à visualiser est placé au point de Weierstrass le plus proche du centre d'une lentille sphérique. Si un point objet est placé exactement à l'interface plane entre deux milieux d'indices différents, les rayons issus de ce point ne sont pas déviés. La lentille sphérique est donc une boule tronquée par un plan perpendiculaire à l'axe optique passant par le point de Weierstrass. Mais d'un point de vue pratique l'échantillon ne peut être collé sur la lentille : on place l'échantillon sur une lamelle d'épaisseur bien déterminée et d'indice égal à celui de la lentille. Celle-ci est en fait tronquée de manière plus importante, et la partie enlevée supplémentaire est remplacée par la lamelle et par un espace contenant un liquide (dit d'immersion) de même indice. Comme il y a adaptation d'indice entre la lentille , le liquide et la lamelle, cette situation est équivalente optiquement à la situation précédente.



(a) Frontale d'un objectif à immersion

(b) Frontale d'un objectif sec (métallographique, c'est à dire sans lamelle)

FIG. 6.15 – Utilisation des deux types principaux d'objectif de microscope.

Pour un objectif sec, la première lentille est un ménisque aplanétique (dit d'Amati) (voir 6.15(b). Un tel ménisque se compose de deux interfaces sphériques air-verre et verre-air. Le centre de courbure de la première surface est placé au point de Weierstrass le plus proche du centre de courbure de la seconde. Les rayons issus d'un point objet placé au centre de courbure de la première surface ne sont pas déviés par ce premier dioptre. On retrouve donc la situation de l'objectif à immersion en ne considérant que le deuxième dioptre.

Ces deux constructions créent une image virtuelle agrandie vue sous un angle plus faible de l'objet. L'ouverture numérique théorique maximum d'un objectif est donc 1 pour un objectif sec et n pour un objectif à immersion dans un milieu d'indice n. En pratique on a rarement plus de 0,9 pour un objectif à air et 1,45

pour un objectif à immersion à huile (l'indice du verre est environ 1,5).

L'addition de plusieurs autres ménisques permet de réduire encore plus l'angle sous lequel est vue l'image intermédiaire. Cela permet de se rapprocher des conditions de l'optique paraxiale. Il ne reste plus qu'à compléter l'objectif à l'aide de doublets[12] ou de triplets pour corriger les aberrations géométriques et chromatiques résiduelles, ainsi que pour compenser le fait que la lentille frontale n'est pas forcément du même indice que l'échantillon ou l'huile (objectif à immersion), ou encore qu'une lamelle est utilisée (pour un objectif sec).

L'objectif x50/0,45 à air a une distance de travail de 15 mm. Je propose d'utiliser cet espace pour insérer une lentille section de boule entre le milieu d'immersion et l'objectif. La lentille aura sa face plane directement au contact du liquide d'immersion du pont capillaire. La face sphérique sera tournée vers l'objectif. Ce dernier pourra grâce à sa distance de travail faire la mise au point sur l'image virtuelle issue de la lentille avec un angle apparent plus faible. Cette mise en place revient à transformer l'objectif sec en objectif à immersion avec une ouverture plus importante, avec virtuellement très peu d'aberration sphérique.

Pour que cette combinaison soit efficace, il faut que l'indice de la lentille soit celui du milieu d'immersion. L'indice typique d'un échantillon est $n = 1{,}465$. De manière fort heureuse[13], la silice fondue (isotrope) est le matériau utilisé de manière standard en optique ayant l'indice de réfraction le plus proche ($n = 1{,}459$ à 550 nm, 1,458 à 600 nm et 1,456 à 650 nm).

Les dimensions de cette lentille doivent satisfaire un certain nombre de contraintes. Une demi-boule n'est pas essentielle ; une lentille plano-convexe très bombée et tronquée peut suffire. La combinaison lentille-objectif est schématisée sur la figure 6.16 avec les notations suivantes. Je note D le diamètre libre de la lentille, e son épaisseur selon l'axe optique, W_d la distance de travail initiale, W'_d celle de la combinaison lentille-objectif, d la distance (lentille-plan avant de l'objectif). Son indice n étant fixé, son rayon de courbure R doit permettre de vérifier la relation entre les points de Weierstrass dans les 15 mm disponibles, avec une marge de sécurité pour l'ajustement de sa position par rapport à la lentille (un ménisque) frontale de l'objectif initial, soit :

$$d + (n+1)R \leq W_d$$

Pour ne pas modifier la dynamique du filament, il faut que la distance entre la face plane de la lentille et le centre de courbure du cylindre soit telle que :

$$(R - e) + \frac{R}{n} \geq 4mm$$

[12]Doublet achromatique mis au point par C.Chevalier en 1830.

[13]Avec un indice à $1,49$, une lentille en PPMA ne conserve pas ses propriétés de surface au contact des milieux d'immersion à base d'hydrocarbures. Les verres, plus stables, ont en général un indice plus élevé dont la valeur peut être ajustée à l'aide d'impuretés, mais les lentilles ne sont pas fabriquées en série avec des indices arbitraires.

Pour que toute l'ouverture numérique ON de l'objectif sec soit utilisée, il faut que le diamètre utile de la lentille soit au moins tel que :

$$\frac{D}{2} \geq \frac{ON}{\sqrt{1-ON^2}}\left(nR + (R-e)\right)$$

sans pourtant être supérieur afin de ne pas ajouter de lumière parasite.

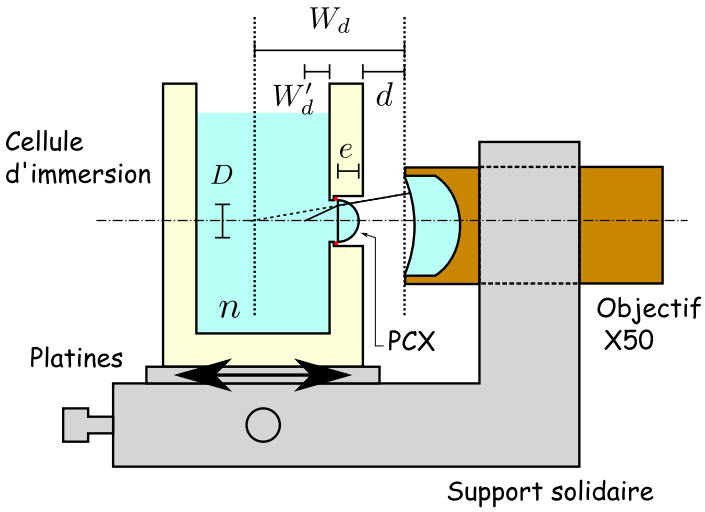


FIG. 6.16 – Combinaison utilisant les points de Weierstrass d'une lentille plano-convexe et d'un objectif sec.

J'ai sélectionné deux lentilles (Edmund Optics) satisfaisant ces critères. Elles sont décrites dans le tableau 6.4. La lentille en BK7, une demi-boule, n'a pas le bon indice mais offre une solution de secours pour la mise au point de la fixation. Les deux lentilles sont recouvertes d'une couche anti-réflection pour améliorer la transmission dans le visible, et elles ont une qualité de surface en $\lambda/2$ et 40-60 creux/rayure.

Matériau	Indice	Rayon de courbure	Diamètre libre	Focale	Épaisseur
silice	1,459	5,5	9	12	4
BK7	1,518	5	10	12	5

TAB. 6.4 – Caractéristiques des deux lentilles sélectionnées. Toutes les longueurs sont en millimètres.

Le tableau 6.5 contient les caractéristiques de l'objectif initial et les caractéristiques théoriques de sa combinaison avec la lentille de silice.

Type d'objectif	Grossissement	Ouverture numérique	Distance de travail	Milieu d'immersion
original	x56	0,45	15 mm	n=1
combinaison	x118	1,07	4 mm	n=1,46

Tab. 6.5 – Caractéristiques théoriques de l'objectif avant/après la combinaison.

Évaluation

Pour pouvoir tester cette combinaison, il faut aligner les axes de l'objectif et de la lentille et pouvoir ajuster la distance lentille-objectif pour trouver où la condition de conjugaison est réalisée. Il faut de plus que la face avant de la lentille soit au contact du milieu d'immersion.

Il faut d'abord régler l'ensemble lentille-objectif puis faire la mise au point sur un échantillon. L'échantillon de test est constitué de microbilles fluorescentes oranges de diamètre 1 μm adsorbées sur une lamelle de verre, immergée dans du une solution de glycérol à 90 %.

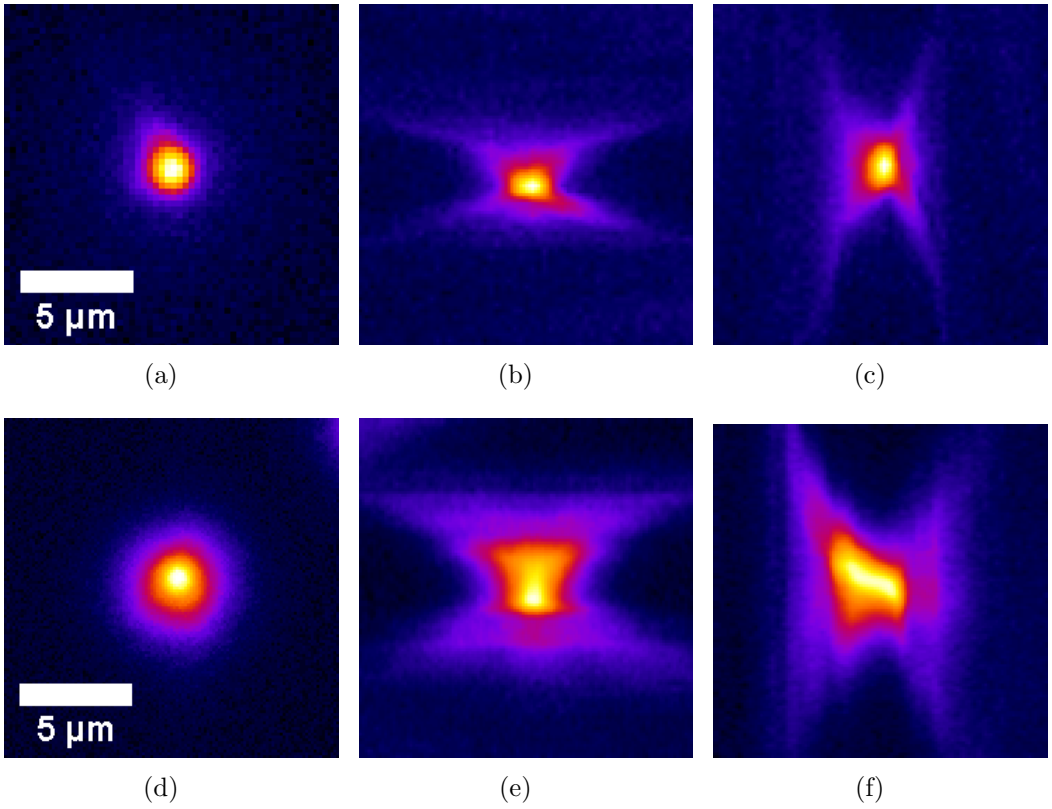
Je choisis de rendre la lentille solidaire de la cellule d'immersion. La position de la cellule est ajustable par rapport à l'objectif, alors que l'échantillon immergé dans la cellule est fixé au bâti du microscope par l'intermédiaire du bras supportant habituellement le montage du pont capillaire. Lorsque la distance objectif-lentille optimum est atteinte, la cellule est fixée et constitue un ensemble solidaire avec l'objectif. La mise au point ultérieure ne se fait alors qu'avec la molette de mise au point du microscope.

La cellule est un parallèlépipède de dimensions internes 20x40x60. La lentille est insérée dans une ouverture cylindrique de diamètre 10 mm, sa face plane reposant sur un anneau plat de largeur 0,5 mm et d'épaisseur 0,5 mm. L'étanchéité est assurée par du ruban téflon fin (épaisseur $\approx$ 50 μm) entourant le chanfrein de la lentille et une rondelle apposée de diamètre intérieur 8,5 mm et extérieur 9,99 mm. Le diamètre libre est donc 8,5 mm, proche du diamètre utile de la lentille. La face plane de la lentille est en retrait de 0,5 mm de la paroi interne de la cellule, ce qui réduit d'autant la distance de travail effective.

La cellule est posée sur une platine de translation à vis dont la partie non mobile vient se fixer sur l'objectif (la référence). L'axe de la platine est parallèle à celui de l'objectif. La distance entre l'axe optique de l'objectif et le haut de la partie mobile de la platine est égale à la distance entre l'axe de la lentille et le fond de la cellule moins un millimètre, afin d'insérer une cale d'épaisseur constante et régler la différence de hauteur entre les axes. La position latérale de la cellule et son angle autour de la verticale sont libres. Les réglages se font en rendant la distribution lumineuse de l'image d'une bille fluorescente axisymétrique et la plus intense possible.

La mise au point et l'ajustement de la distance lentille-objectif se font de manière itérative en partant de positions grossièrement estimées. La forme asymé-

trique selon l'axe optique de la distribution lumineuse informe de l'intensité et du sens de l'aberration, donc de la position par rapport à l'optimum. Une fois cet optimum atteint, je peux mesurer la dépendance de la distribution avec la mise au point.



(a) (b) (c)

(d) (e) (f)

FIG. 6.17 – Allure du logarithme de la distribution d'intensité d'une bille. En haut objectif x50/0,45 dans l'air avec lentille x1,6 du microscope. En bas, pour la combinaison x50/0,45 et lentille PCX en silice, plus la lentille 1,6 du microscope. De gauche à droite, section (xy), (xz) et (zy).

On note la bonne symétrie radiale de la tache dans le plan image. Si l'on compare la distribution d'intensité normalisée de l'objectif à sec ou de la combinaison immergée, on observe un certain étalement de la tache obtenue avec l'objectif combiné (fig. 6.17(a) et 6.17(d)). La symétrie axiale est correcte pour l'axe horizontal de l'image, qui correspond aux réglages de la position latérale de la cellule et à l'angle de la lentille par rapport à l'axe horizontal du plan image (fig. 6.17(b) et 6.17(e)). En revanche la distribution inclinée dans le plan vertical montre que la lentille, la cellule (dont la position n'est pas réglable finement sur ce montage) et l'objectif ne sont pas correctement alignés (fig. 6.17(c) et 6.17(f)).

La résolution avec ce réglage de l'objectif a une résolution légèrement meilleur que le micron comme le montre l'image de la fig. 6.18.

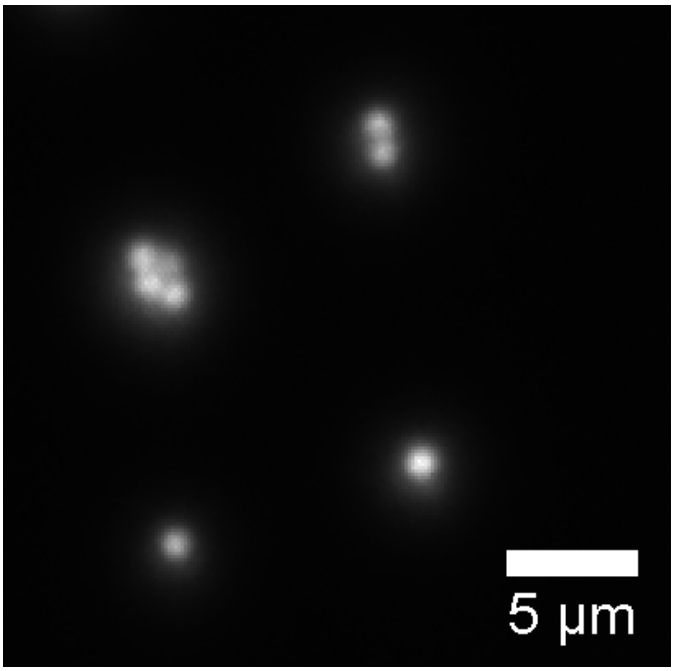


FIG. 6.18 – Mise au point avec le réglage de distance optimum pour la combinaison (lentille silice, objectif) et la lentille x1,6. On note que les billes adjacentes (diamètre 1 μm) sont nettement résolues.

L'image d'une grille carrée de pas 10 μm montre que le champ d'observation est plat (fig. 6.19). Le grossissement de la combinaison vaut x116, à comparer au x118 estimé théoriquement. Il pourrait être intéressant d'utiliser une lentille de tube de plus courte focale ce qui réduirait le grossissement global du microscope, et augmenterait l'intensité lumineuse recueillie par chaque pixel de la caméra.

L'étalement observé de la tache est en partie dû à l'aberration chromatique. J'ai pu observé un dégradé radial de teinte du jaune au rouge orangé, avec une inversion de l'ordre des teintes en changeant la distance de mise au point. Ceci est cohérent avec un décalage des points de Weierstrass en fonction de la valeur de l'indice pour chaque longueur d'onde. La disperstion est caractérisée par le coefficient de dispersion, constringence ou nombre d'Abbe :

$$\nu_d = \frac{n_d - 1}{n_f - n_c}$$

où les indices n, d et c correspondent aux longueurs d'ondes 486,1 nm, 589,2 nm et 656,3 nm. Pour la silice fondue $\nu_d = 67,8$, ce qui en fait un matériau peu dispersif, comme un verre de type crown (le verre BK7 a $\nu_d = 64,17$). Je ne connais pas la dispersion du glycérol. Cette aberration chromatique tire peut-être son origine de l'utilisation d'un objectif de marque différente de celle du bâti du microscope Leica. En effet, la correction de l'aberration chromatique pour les objectifs corrigés

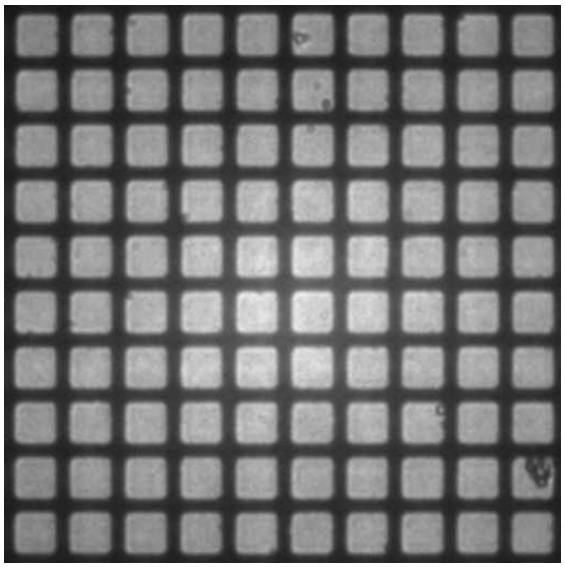


FIG. 6.19 – Images d'une grille étalon avec l'objectif combiné. On note la planéité du champ. La période est 10 μm.

à l'infini de marque Leica a lieu dans la lentille de tube, alors que pour l'objectif sec Olympus la correction est incluse dans l'objectif. Dans ce cas, l'aberration chromatique observée pourrait être corrigée simplement en changeant la lentille de tube (en général un doublet).

L'ouverture de cet objectif est certainement supérieure à celle de l'objectif seul, mais je n'ai pas estimé le gain de luminosité. L'aberration de ce système est bien plus faible que celle de l'objectif seul utilisé avec le milieu d'immersion, car on peut observer les billes résolues, mais je n'ai pas déterminé dans quelle mesure l'ouverture est augmentée effectivement sans aberration.

Il faut noter que la possibilité d'ajuster la distance entre la lentille frontale en silice et l'objectif permet dans une certaine mesure de compenser les aberrations sphériques présentes si le milieu d'immersion n'a pas le même indice que la lentille.

Les performances préliminaires de cet objectif composite sont très encourageantes. Une diminution de l'aberration chromatique, si elle s'avérait génante pourrait se faire en plaçant un doublet lentille convergente/divergente sur mesure (en s'inspirant de la conceptions des doublets achromatiques) entre la lentille de tube et la caméra.

6.4 Compromis : ADN en solution semi-diluée de polymères (PVP,POE)

6.4.1 Relâcher une contrainte : vers un liquide « suffisament » newtonien

Pour pouvoir déterminer la viscosité élongationnelle à l'aide d'un pont capillaire, il faut que la viscosité du solvant soit significativement plus grande que celle de la solution tampon originale (en raison de la faible cadence de la caméra et de la dynamique de la rupture), et qu'elle obéisse à un comportement newtonien. L'ajout de glycérol ou de sucrose remplit ces conditions (voir la partie 6.1.2) mais avec l'inconvénient majeur d'introduire des aberrations optiques à cause de l'inadéquation de l'indice de réfraction de l'échantillon et de l'objectif de microscope. À la lueur de la partie 6.2, où plusieurs méthodes pour compenser ces aberrations sont étudiées et où la difficulté de cette tâche est soulignée, je réexamine la question suivante : comment suffisamment augmenter la viscosité du solvant tout en maintenant l'indice de réfraction aussi peu changée que possible, et ceci afin d'utiliser l'objectif à immersion à eau x40/0,8 dans les meilleurs conditions possibles (indice 1,333 de l'objet à la frontale de l'objectif) ?

La conservation du caractère newtonien pour le solvant visqueux constitue une contrainte très forte. En effet, il existe de nombreux exemples de liquide aqueux très visqueux : gel pour cheveux, dentifrice, sirop, crème, etc. Il est dès lors tentant de regarder leurs compositions et de s'en inspirer pour résoudre notre problème, particulièrement ceux qui sont transparents et dont l'agent épaississant est en faible proportion. Leur indice optique est alors en général assez proche de celui de l'eau. Outre le glycérol dont nous avons déjà exploré les limites, il est principalement fait usage de colloïdes (avec des interactions à longue portée) et de polymères (plus ou moins longs, plus ou moins rigides). Mais ces fluides complexes sont évidemment fortement non-newtoniens.

Dans la plupart de ces fluides, on observe un seuil d'écoulement, de la rhéofluidification, du vieillissement, de la thixotropie ou des différences de contraintes normales non nulles. Par exemple, quelques pourcents en masse de laponite (une argile artificielle) donnent naissance à un gel présentant un seuil d'écoulement et de la thixotropie alors même que l'indice optique est à quelques pourcents près celui de l'eau. L'adjonction d'une quantité comparable de xanthane, un polymère très utilisé dans l'industrie alimentaire, augmente très significativement la viscosité mais avec une forte rhéofluidification.

Il faut cependant noter que les taux de déformation déclenchant l'étirement de l'ADN λ sont relativement modestes (10 à 20 s^{-1} dans l'eau).

Supposons d'une part qu'un fluide complexe suffisamment visqueux se comporte comme un fluide newtonien sur cette gamme de taux de déformation, et d'autre part que les molécules causant cette augmentation de viscosité soient de

taille significativement plus petite que celle de l'ADN. Comment se comporteraient les pelotes d'ADN au sein de cet environnement ? Dans le cas d'ADN λ en régime semi-dilué, la dynamique des chaines est la même qu'en régime dilué si elle est renormalisée par le temps de relaxation des chaines évoluant dans un milieu de viscosité effective homogène [59]. De même, peut-être que l'effet de la microstructure du milieu non-newtonien serait équivalent du point de vue d'une chaine d'ADN à un milieu effectif homogène de viscosité plus élevée ?

J'ai donc cherché un polymère[14] qui aurait les caractéristiques suivantes :

- une forte viscosité (de l'ordre de 400 $mPa.s$) à basse concentration massique (pour garder un indice proche de celui de l'eau),
- une viscosité constante jusqu'à un cisaillement de 20 $s-1$ (taux critique pour l'ADN λ dans l'eau)),
- pas de seuil d'écoulement,
- un compatibilité avec l'ADN (donc a priori pas un autre électrolyte).

6.4.2 Un autre liquide d'immersion

Le fluide doit avoir essentiellement les mêmes caractéristiques que celui de la partie 6.1.3, mais avec l'indice de l'eau $n = 1{,}333$, sans être miscible.

Cargille Labs commercialise une gamme de liquides d'immersion (série AAA ou numéro de catalogue 19495 Code 43421) dont l'indice est compris au choix entre 1,300 et 1,395. Leur masse volumique est très élevée (environ 2 g/ml). Leur viscosité dynamique est de l'ordre de 40 $mPa.s$, ce qui n'est pas négligeable. Pour y remédier, ma première approche fut d'essayer de faire comme dans la partie 6.1.3, c'est-à-dire prendre un liquide d'indice supérieur à 1,333 et le diluer avec un liquide moins visqueux d'indice plus faible. Ces liquides ne sont cependant pas miscibles avec les alcanes.

La situation est maintenant l'inverse de la précédente : il faut trouver un liquide d'indice très bas. La formule de l'indice de réfraction indique qu'il faut chercher des composés avec de faibles masses moléculaires et une faible polarisabilité.

Il se trouve que la liaison carbone-fluor est extrêmement peu polarisable. Les perfluoroalcanes sont des composés identiques aux alcanes à ceci près que tous les atomes hydrogène sont remplacés par des atomes fluor. Cette très basse polarisabilité de la liaison $C - F$ leur confère des propriétés très particulières. Leur indice optique est de l'ordre de 1,25 à 1,3, ce qui est extrêmement bas pour des liquides. Leur viscosité est en générale inférieure ou comparable à celle de l'eau. Leur tension de surface est de l'orde de 20 mN/m. À température ambiante ce sont des composés très peu réactifs, quasiment inertes chimiquement. Ils sont quasiment immiscibles avec la plupart des solvants organiques et polaire (en particulier l'eau). Ils sont en revanche extrêmement perméable aux gaz[15]. Ils ont de plus une densité

[14] Plus simple à utiliser que des colloïdes pour cet usage.

[15] La solubilité spectaculaire de l'oxygène dans les perfluoroalcanes a initié de nombreuses

élevée (de l'ordre de 1,7).

Avec 6 carbones on obtient du perfluorohexane d'indice $n = 1{,}251$, de viscosité 0,47 $mPa.s$, de masse volumique 1,7 g/cm^3, de tension de surface 12 mN/m et beaucoup plus volatile que l'hexane. Le fluide FC-40 (Fluorinert 3M, chez Sigma-Aldrich)[16] est une molécule beaucoup plus grosse ($(C_{12}F_{27})$, dont l'indice n'est que $n = 1{,}29$, de viscosité 4 $mPa.s$, de masse volumique 1,87 g/cm^3, de tension de surface 16 mN/m et quasiment non volatile.

La similarité des propriétés des perfluoroalcanes et des liquides d'immersions de Cargille Labs (dont on apprends sur le site [171] qu'il s'agit d"un mélange de chlorofluorocarbone (CFC) ou halogènoalcanes) est frappante. L'obtention d'un indice supérieur à 1,30 est probablement due à l'utilisation de composés chlorés.

J'ai pu vérifier que le perfluorononane est miscible en toute proportion avec les fluides de bas indice de Cargille Labs. De plus en mélangeant 45,1% de perfluorononane d'indice 1,27 et 54,9% de liquide AAA d'indice 1,40 j'obtiens un fluide homogène d'indice 1,337 (cela suggère des propriétés de mélange linéaire avec les proportions) et de viscosité 6 $mPa.s$. Cela démontre la possibilité d'adapter l'indice d'un milieu d'immersion suffisament peu visqueux à celui d'un pont capillaire d'indice proche de l'eau ($\Delta n \leq 0,005$). Si la volatilité du perfluorononane est problématique, je préconise l'utilisation du FC-40 (n=1,29) avec du AAA (n=1,4).

6.4.3 Le polyvinylpyrrolidone (PVP) : vers une viscosité effective du solvant ?

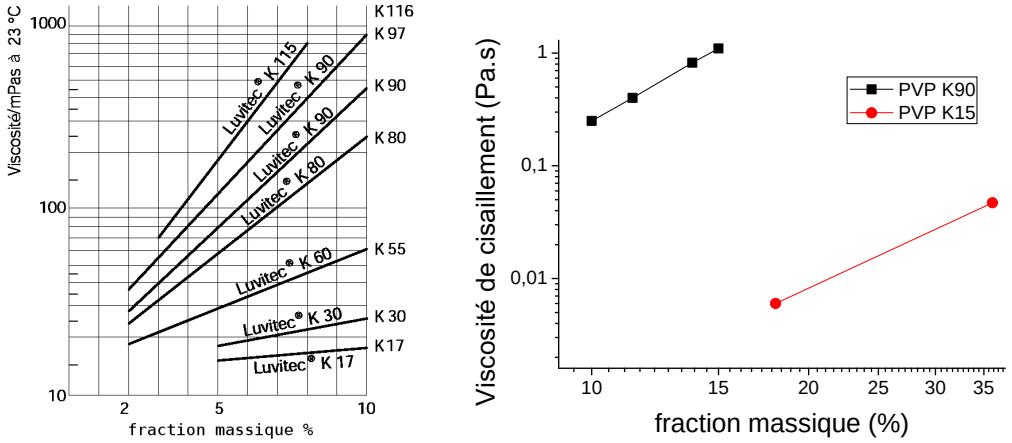
Le polyvinylpyrrolidone ($(C_6H_9NO)_n$) est un homopolymère polaire, soluble dans l'eau. C'est un produit stable, disponible sous forme de poudre très hygroscopique, très peu toxique et très bien toléré dans les applications biologiques (tampon pour l'ADN). Il est utilisé dans la réalisation d'enduit, de peinture, d'adhésifs (bâton de colle, pansements cutanés) ou comme inhibiteurs des polyphénols lors de l'extraction d'ADN végétal.

Il est souvent présenté comme un agent épaississant permettant de créer des solutions visqueuses newtoniennes, en insistant sur la constance de la viscosité et l'absence de thixotropie. Il est disponible en plusieurs masses molaires, catégorisées sous l'appelation K, ce qui autorise une grande plage de viscosités accessibles [172]. La viscosité dépend de la concentration de manière non linéaire comme on peut le voir sur les courbes 6.20.

J'ai effectué quelques tests préliminaires avec du PVP K15 disponible au laboratoire (mesure d'indice de réfraction, de viscosité, d'autofluorescence, de compati-

recherches visant à en faire un sang artificiel ou un substitut de l'atmosphère respirable. Notamment, c'est dans ce type de liquide saturé en O_2 que des souris ont été immergées sans se noyer plusieurs dizaines de minutes. Elles sont mortes par la suite de chocs respiratoires et d'oedèmes. L'absence d'adaptation des indices de réfraction des souris et du liquide d'immersion rend toutefois cette expérience nettement moins pertinente pour notre travail.

[16]Il est utilisé entre autres pour le refroidissement des supercalculateurs.



(a) D'après [172]. On note que la pente des courbes (ordonnée logarithmique) dépend de la masse molaire (indice K).

(b) Viscosité mesurée en fonction de la concentration pour les solutions de PVP K15 et K90.

FIG. 6.20 – Viscosité de solutions de PVP Luvitec (BASF), en fonction de la concentration massique dans de l'eau.

bilité avec l'ADN coloré ou non). Les résultats étant encourageants mais la viscosité atteinte trop faible je me suis procuré du PVP K90 (Sigma-Aldrich, masse molaire 360 000 g/mol) afin de déterminer la validité de cette stratégie.

Les tests commencent par la préparation d'une solution de PVP K90 à 15 % dissous avec une agitation modérée à 50° Celsius dans une solution tampon TE à 10 mM, puis stockée à température ambiante. À cette concentration, la solution a une viscosité supérieure à celle que nous cherchons à atteindre. Elle est transparente et homogène. Son autofluorescence excitée à 532 nm est négligeable par rapport à la fluorescence de l'ADN complexé. Pour tester la stabilité de l'ADN seul, je rajoute 40 ppm d'ADN λ à cette solution. Il n'y a pas de séparation de phase (pendant plusieurs semaines), la solution conserve ses propriétés optiques.

Je dilue ensuite une solution d'ADN marquée au POPO-3 à 1 : 5 de 1 ppm à 0,005 ppm dans un autre échantillon de cette solution de PVP. Les chaînes d'ADN sont clairement visibles avec une intensité comparable à celle de chaînes dans le tampon seul. Une heure plus tard, le signal est affaibli et la fluorescence légèrement « étalée » autour des chaînes, mais les chaînes sont toujours résolues.

Je mesure la viscosité de cisaillement dans une géométrie cône-plan de diamètre 50 mm et d'angle 1°, en imposant le taux de cisaillement. Les courbes de viscosité de solutions de PVP K90 sont réprésentées sur la figure 6.21. Si la viscosité est constante sur une plage de cisaillement, la dénomination de fluide newtonien n'est pour le moins pas justifiée à cause de la rhéofluidification importante et des contraintes normales présentes à partir de 20 à 90 s^{-1}. Ces valeurs montrent

toutefois que les solutions de PVP, notamment les plus diluées, satisfont à notre définition d'un fluide « suffisamment » newtonien du point de vue de l'ADN.

L'indice de réfraction n'est une fonction que de la concentration massique, alors que la viscosité dépend aussi du poids molaire du polymère. J'ai mesuré une relation linéaire entre l'indice et la fraction massique ϕ : $n(\phi) = 0,002.\phi + 1,332$. Il faut 10 % de PVP K90 pour obtenir une viscosité de 250 $mPa.s$, avec un indice à 1,352. L'augmentation de l'indice par rapport à l'eau pure est seulement de $\Delta n = 0,020$, soit 1,4 %, ce qui dans le cas de l'utilisation de l'objectif à immersion à eau x40/0,8 est une adaptation globale d'indice beaucoup plus efficace qu'avec le sirop tamponné ($\Delta n = 0,130$, soit 9 %). Cela laisse entrevoir la possibilité de corriger l'aberration résiduelle avec la technique des marches d'indice optique étudiée dans la section 6.3.3.

La définition de liquide « suffisamment » newtonien ne doit pas cependant se limiter aux cas du cisaillement mais inclure les écoulements élongationnels. Pour tester ce dernier point, une goutte de solution de PVP K90 à 10 % écartée entre deux doigts suffit : il y a inhibition de la rupture avec formation d'un filament persistant plus longtemps que pour une solution de glycérol ($\approx$ 90%) de même viscosité de cisaillement.

L'approche utilisant du PVP pour augmenter la viscosité sans changer l'indice afin de réduire les aberrations ne permet donc pas de mesurer la viscosité élongationnelle de l'ADN.

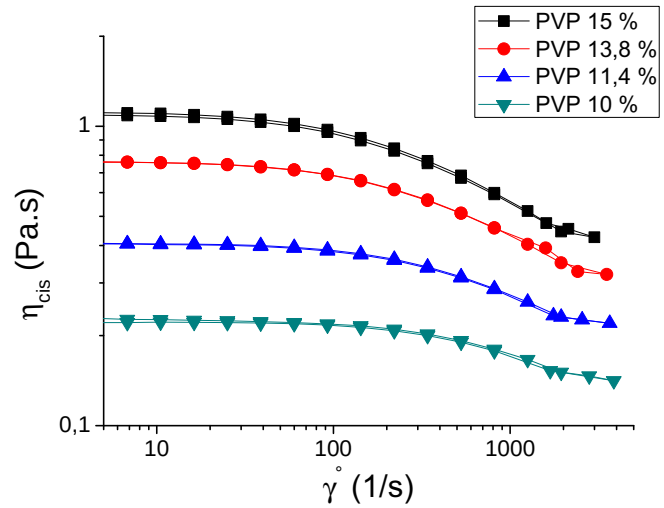
Il faut noter cependant que la présence de PVP inhibe elle aussi la rupture et que le régime de rupture est viscoélastique-capillaire. L'inertie est absente de cette rupture et le taux de contraction a l'air suffisamment élevé pour étirer les chaînes d'ADN dans de l'eau pure. Cela suggère que l'on devrait pouvoir observer l'augmentation de viscosité causée par l'ADN en plus de celle du PVP. Il faudrait faire des mesures plus fines et plus systématiques mais l'on peut déjà dire que les dynamiques des microstructures sont en fait interdépendantes de manière non triviale.

6.4.4 Inverser les rôles : un solvant très non-newtonien

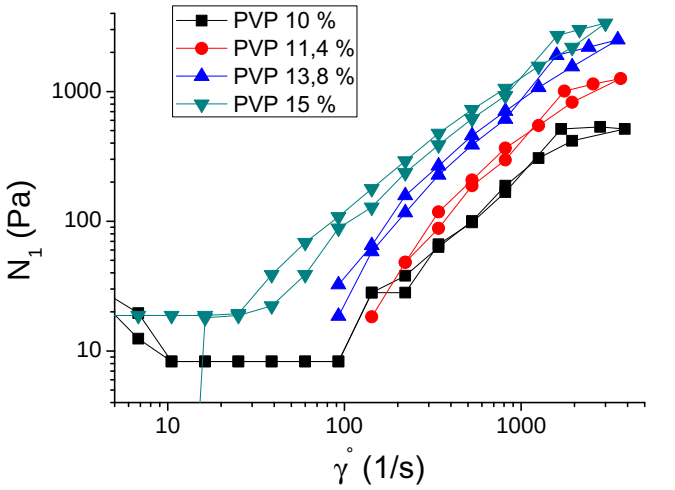
Une sonde locale ?

Dans l'article [173], N. François et al. ont étudié l'influence des polymères sur l'écoulement et la contrainte autour d'un cylindre. Le polymère étudié était du POE à 4.10^6 g/mol. Ils ont utilisé de l'ADN λ ou T4 très dilué comme une sonde locale [17] de la conformation de la microstructure d'une solution de POE dans le régime semi-dilué (à 3000 *ppm* soit $10C^*$ pour ce POE). Le POE utilisé a un temps de relaxation de 5,5 ms dans de l'eau en régime dilué soit environ 20 fois moins que l'ADN λ (0,1 s). À 3000 *ppm* ce POE a un temps de relaxation de Zimm de l'ordre

[17] p.2 « Since the conformation of the PEO molecules cannot be visualized directly, we use the DNA molecules as local probes of the polymer conformations and of the velocity field. »



(a) Viscosité de cisaillement en fonction du taux de cisaillement



(b) Contraintes normales de cisaillement en fonction du taux de cisaillement

FIG. 6.21 – Propriétés sous cisaillement des solutions de PVP K15 et K90.

de 20 ms, valeur plus importante qu'en régime dilué à cause des interactions entre chaînes, mais toujours plus faible que celle de l'ADN.

Le point qui m'intéresse ici est décrit page 4 : « Note that Wi_{crit} is the same for realizations with the λ or $T4$ DNA molecules which have very different relaxation times, much greater than that of the PEO solution. These observations point out that the relevant time scale is that of the PEO solution and that the DNA molecules are acting as probes of the PEO conformations. The PEO molecules must be highly elongated in the vicinity of the wall just like their DNA counterparts which are behaving as passive probes of their conformations. »

Il est clairement démontré expérimentalement que dans le cas d'une chaîne d'ADN très diluée au sein d'une solution de POE dans le régime semi-dilué, l'échelle de temps critique de la conformation de la chaîne est la même que la microstructure de POE.

Bien qu'au vu de la partie précédente et de la définition du régime semi-dilué, on puisse s'attendre à ce que l'ADN ressente l'influence du POE environnant et omniprésent, le changement radical de la hiérarchie des échelles de temps de relaxation et l'identification $Wi_{crit}^{\lambda_{dilue}} = Wi_{crit}^{POE_{10C^*}}$ (et donc des temps de relaxation de la structure pour le POE et apparent ou effectif pour l'ADN) constituent en eux-même un résultat très intéressant.

La nature exacte de la relation entre la conformation de l'ADN et celle des chaines de POE, suggérée dans la dernière phrase de la citation, est en revanche sujet à débat. En effet, de la même manière que dans des expériences de biréfringence on a accés seulement à l'alignement des chaines et non pas à la conformation, en particulier en dehors du régime linéaire (ou ne serait ce qu'à la trace du tenseur de conformation), l'étirement de l'ADN est ici équivoque.

Par exemple, on pourrait suggérer le mécanisme simpliste suivant : Au repos, les fluctuations de la matrice de POE, beaucoup plus rapides que celles de l'ADN, impose une relaxation plus rapide à celui-ci, imbriqué en son sein (autrement dit la constante de raideur de l'ADN est plus grande). Quand cette matrice est étirée, l'anisotropie des fluctuations permet à l'ADN de se déformer dans une certaine mesure, moindre que s'il « était dans le solvant pur. Cela justifie l'égalité des taux de déformation critiques, mais cela laisse quantitativement inconnue le lien entre une conformation donnée de l'ADN et l'état réel de déformation de la matrice environnante. L'ADN est-il figé et advecté dans un réseau dynamique ou bien peut-il encore, et dans quelle mesure, relaxer, diffuser ou se déformer comme un polymère au sein d'un tube de fondu ?

Perspectives

Je trouve ces questions très similaires à celles abordées dans ce manuscrit, et un certains nombres de liens peuvent être établis.

Le résultat obtenu avec le PVP semble rentrer dans le cadre de ce couplage forcé de la dynamique de l'ADN sur celle de la matrice environnante. En effet, le PVP

à 10 % est au moins dans un régime semi-dilué comme le montre le comportement non linéaire de la viscosité.

La détermination du couplage entre une chaine d'ADN et le polymère environnant de manière plus complète ouvrirait un vaste domaine expérimental, tout comme l'a fait la possibilité de mesurer la conformation de l'ADN. Cette sonde serait à la fois locale, comme la RMN, mais aussi résolue spatialement et à l'échelle de la chaine unique, sans moyenne d'ensemble. Cette détermination concerne notamment la dépendance du temps de relaxation de l'ADN avec la concentration de la matrice de polymère (ici le POE), du régime dilué où le couplage est par définition nul, au régime concentré où les échelles de temps pertinentes de la microstructure sont plus nombreuses (même si la dynamique macroscopique peut n'en refléter qu'une pour la transition critique, les autres apparaissent lors de la relaxation après arrêt de l'écoulement). Cela peut passer par des mesures directes de coefficient de diffusion, de temps de relaxation en cisaillement ou en élongation, ou des mesures de viscosité et de contrainte pour les propriétés de la matrice.

Enfin, il est tentant d'appliquer la stratégie proposée avec le PVP, mais cette fois avec le POE. Une concentration de 3000 *ppm* représente seulement 0,3 % en masse de POE, et l'indice de cette solution est $1,334 \pm 0,001$. Grâce à cet indice peu modifié et en utilisant le mélange d'immersion à base de perfluoroalcane (la version peu visqueuse), le problème des aberrations optiques est résolu et il est possible d'observer des chaines d'ADN fluorescent au sein d'un pont capillaire immergé. La figure 6.22 le démontre pour une goutte statique. Cette image a été prise avec le liquide AAA d'indice $n = 1{,}333$ comme milieu d'immersion, ce qui donne un milieu plus visqueux que l'échantillon lui-même (du moins en cisaillement ou avant la transition d'étirement).

Ironiquement, la nécessité d'un solvant « effectif » newtonien, voire « suffisament » newtonien, pour mesurer les propriétés du polymère ADN disparait au profit de l'usage d'une solution très non-newtonienne d'un autre polymère, pour lequel l'ADN n'est plus qu'une sonde locale de ses propriétés.

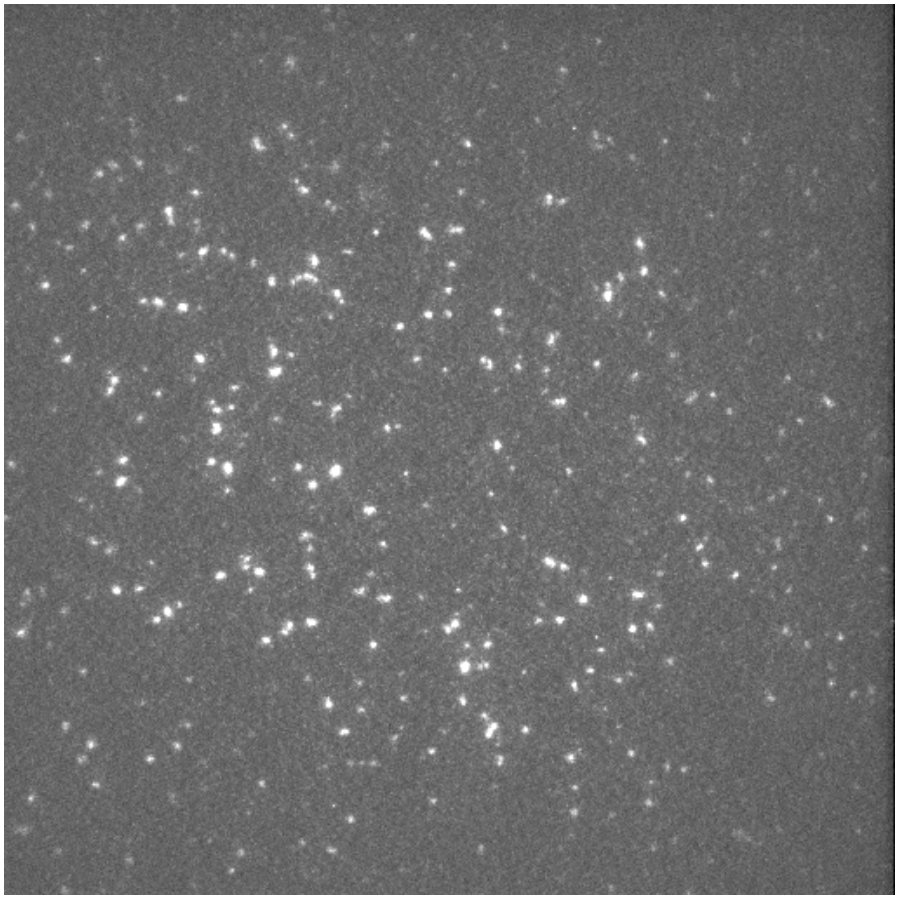


FIG. 6.22 – De l'ADN λ fluorescent dilué dans une solution à 3000 ppm de POE 4.10^6 g/mol, observé avec l'objectif Leica x40/0,8 à immersion à eau. La goutte est statique, de rayon 1mm, immergée dans le fluide AAA d'indice $n = 1{,}333$. La zone imagée fait 200 μm de côté. Gain caméra 50, laser 0,5 mW et $t_{exp} = 10$ ms.

Bibliographie

[1] Masao Doi et S.F. Edwards : *The theory of polymer dynamics*. Oxford University Press, USA, 1986.

[2] Byron R. Bird, Robert C. Armstrong et Ole Hassager : *Dynamics of polymeric liquids*, volume 1, Fluid mechanics. Wiley, 1987.

[3] Pierre-Gilles de Gennes : *Scaling concepts in polymer physics*. Cornell University Press, NY, 1979.

[4] Benoît Mandelbrot : *The fractal geometry of Nature*. Freeman, 1982.

[5] Ronald G. Larson : *The Structure and Rheology of Complex Fluids*. Oxford University Press, 1998.

[6] Christopher M. White et M. Godfrey Mungal : Mechanics and prediction of turbulent drag reduction with polymer additives. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 40(1):235–256, 2008.

[7] R. G. Larson : The rheology of dilute solutions of flexible polymers : Progress and problems. *Journal Of Rheology*, 49(1):1–70, 2005.

[8] Wilson C. K. Poon et David Andelman : *Soft condensed matter physics in molecular and cell biology*. Taylor & Francis, 2006.

[9] P.J. Flory : The configuration of real polymer chains. *Journal of Chemical Physics*, 17:303–310, 1949.

[10] J.L. Barrat et J.F. Joanny : *Theory of polyelectrolytes solutions*, volume 94 de *Advances in chemical physics*. John Wiley & Sons, 1995.

[11] M. Bercea, C. Ioan, S. Ioan, B.C. Simionescu et Simionescu C.I. : Ultrahigh molecular weight polymers in dilute solutions. *Progress in Polymer Science*, 24:379–424, 1999.

[12] Thomas T. Perkins, Quake S.R., Douglas E. Smith et Steven Chu : Relaxation of a single DNA molecule observed by optical microscopy. *Science*, 264(5160):822–826, 1994.

[13] Byron R. Bird, Robert C. Armstrong et Ole Hassager : *Dynamics of polymeric liquids*, volume 2, Kinetic Theory. Wiley, 1987.

[14] B. H. Zimm : Dynamics of polymer molecules in dilute solution : viscoelasticity, flow birefringence and dielectric loss. *Journal of Chemical Physics*, 24:269–278, 1956.

[15] H.C. Öttinger : *Stochastic processes in polymeric fluids*. Springer, Berlin, 1996.

[16] T.E. Faber : *Fluid mechanics for physicist*. Cambridge University Press, 1995.

[17] Ira M. Cohen et Pijush K. Kundu : *Fluid Mechanics*. Academic press, 2nd édition, 2001.

[18] H.G. Muller : Weissenberg effect in the thick white of the hen's egg. *Nature*, 189:213–214, 1961.

[19] K. Weissenberg : A continuum theory of rheological phenomena. *Nature*, 159:310–311, 1947.

[20] Gareth McKinley'sGroup : Effet weissenberg vu sur le site du groupe (mit), 2009.

[21] D.V. Boger et K. Walters : *Rheological Phenomena in Focus*. Elsevier Science Ltd, 1993.

[22] B. A. Toms : Proceedings of the international congress of rheology. 2:135–141, 1949.

[23] G.H. McKinley : Visco-elasto-capillary thinning and break-up of complex fluids. *Rheology Reviews*, 3, 2005.

[24] U. Cartalos et J. M. Piau : Creeping flow regimes of low concentration polymer solutions in thick solvents through an orifice die. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 45(2):231, 1992.

[25] Alexander Groisman et Victor Steinberg : Elastic versus inertial instability in Couette-Taylor flow of a polymer solution : review. *Philosophical Magazine B*, 78:253, 1998.

[26] Alexander Groisman et Victor Steinberg : Elastic turbulence in a polymer solution flow. *Nature*, 405:53–55, 2000.

[27] B. Dollet, M. Aubouy et F. Graner : Anti-inertial lift in foams : A signature of the elasticity of complex fluids. *Physical Review Letters*, 95(16): 168303, 2005.

[28] G.G. Fuller et L.G. Leal : Birefringence of dilute polymer-solutions in two-dimensional flows. *Rheologica Acta*, 19:580–600, 1980.

[29] P. G. de Gennes : Coil-stretch transition of dilute flexible polymers under ultrahigh velocity-gradients. *Journal Of Chemical Physics*, 60(12):5030–5042, 1974.

[30] S. P. Carrington et J. A. Odell : How do polymers stretch in stagnation point extensional flow-fields ? *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 67:269–283, 1996.

[31] T. T. Perkins, D. E. Smith et S. Chu : Single polymer dynamics in an elongational flow. *Science*, 276(5321):2016–2021, 1997.

[32] C. M. Schroeder, H. P. Babcock, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Observation of polymer conformation hysteresis in extensional flow. *Science*, 301(5639):1515–1519, 2003.

[33] M. Chertkov, I. Kolokolov, V. Lebedev et K. Turitsyn : Polymer statistics in a random flow with mean shear. *Journal Of Fluid Mechanics*, 531:251–260, 2005.

[34] Sergiy Gerashchenko et Victor Steinberg : Statistics of tumbling of a single polymer molecule in shear flow. *Physical Review Letters*, 96(3):038304, 2006.

[35] R. E. Teixeira, H. P. Babcock, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Shear thinning and tumbling dynamics of single polymers in the flow-gradient plane. *Macromolecules*, 38(2):581–592, 2005.

[36] H. P. Babcock, R. E. Teixeira, J. S. Hur, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Visualization of molecular fluctuations near the critical point of the coil-stretch transition in polymer elongation. *Macromolecules*, 36(12):4544–4548, 2003.

[37] A. Peterlin : Gradient dependence of intrinsic viscosity of freely flexible linear macromolecules. *Journal of Chemical Physics*, 33:1799, 1960.

[38] P.S. Doyle, E.S.G. Shaqfeh et A.P. Gast : Dynamic simulation of freely draining flexible polymers in steady linear flows. *Journal of Fluid Mechanics*, 334:251, 1997.

[39] P. G. de Gennes : Molecular individualism. *Science*, 276:1999, 1997.

[40] N. Borochov, H. Eisenberg et Z. Kam : Dependence of DNA conformation on the concentration of salt. *Biopolymers*, 20(1):231–235, 1981.

[41] J. F. Marko et E. D. Siggia : Stretching DNA. *Macromolecules*, 28(26): 8759–8770, 1995.

[42] P. J. Hagerman : Flexibility of DNA. *Annual Review Of Biophysics And Biophysical Chemistry*, 17:265–286, 1988.

[43] C. Bustamante, J. F. Marko, E. D. Siggia et S. Smith : Entropic elasticity of lambda-phage DNA. *Science*, 265(5178):1599–1600, 1994.

[44] H. A. Kramers : The behavior of macromolecules in inhomogeneous flow. *Journal Of Chemical Physics*, 14:415–424, 1946.

[45] S. B. Smith, L. Finzi et C. Bustamante : Direct mechanical measurements of the elasticity of single DNA-molecules by using magnetic beads. *Science*, 258(5085):1122–1126, 1992.

[46] O. Kratky et G. Porod : Röntgenuntersuchung gelöster fadenmoleküle. *Rec. Trav. Chim*, 68:1106–1115, 1949.

[47] Kenichi Yoshikawa, Yukiko Matsuzawa, Keiji Minagawa, Masao Doi et Mitsuhiro Matsumoto : Opposite effect between intercalator and minor

groove binding drug on the higher order structure of DNA as is visualized by fluorescence microscopy. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 188(3):1274, 1992.

[48] T. T. Perkins, D. E. Smith, R. G. Larson et S. Chu : Stretching of a single tethered polymer in a uniform-flow. *Science*, 268(5207):83–87, 1995.

[49] S. R. Quake, H. Babcock et S. Chu : The dynamics of partially extended single molecules of DNA. *Nature*, 388(6638):151–154, 1997.

[50] D. E. Smith, T. T. Perkins et S. Chu : Dynamical scaling of DNA diffusion coefficients. *Macromolecules*, 29(4):1372–1373, 1996.

[51] M. Matsumoto, T. Sakaguchi, H. Kimura, M. Doi, K. Minagawa, Y. Matsuzawa et K. Yoshikawa : Direct observation of brownian motion of macromolecules by fluorescence microscope. *Journal of Polymer Science, Part B : Polymer Physics*, 30:779–783, 1992.

[52] R. G. Larson, T. T. Perkins, D. E. Smith et S. Chu : Hydrodynamics of a DNA molecule in a flow field. *Physical Review E*, 55(2):1794–1797, 1997.

[53] R.M. Jendrejack, de Pablo J.J. et M.D. Graham : Stochastics simulations of DNA in flow : dynamics and the effect of hydrodynamic interactions. *Journal of Chemical Physics*, 116:7752–7759, 2002.

[54] C. M. Schroeder, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Effect of hydrodynamic interactions on DNA dynamics in extensional flow : Simulation and single molecule experiment. *Macromolecules*, 37(24):9242–9256, 2004.

[55] E. S. G. Shaqfeh : The dynamics of single-molecule DNA in flow. *Journal Of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 130(1):1–28, 2005.

[56] R. G. Larson, H. Hu, D. E. Smith et S. Chu : Brownian dynamics simulations of a DNA molecule in an extensional flow field. *Journal Of Rheology*, 43(2):267–304, 1999.

[57] D. E. Smith, H. P. Babcock et S. Chu : Single-polymer dynamics in steady shear flow. *Science*, 283(5408):1724–1727, 1999.

[58] Y. G. Liu, Y. G. Jun et V. Steinberg : Longest relaxation times of double-stranded and single-stranded DNA. *Macromolecules*, 40(6):2172–2176, 2007.

[59] J. S. Hur, E. S. G. Shaqfeh, H. P. Babcock, D. E. Smith et S. Chu : Dynamics of dilute and semidilute DNA solutions in the start-up of shear flow. *Journal Of Rheology*, 45(2):421–450, 2001.

[60] R. E. Teixeira, A. K. Dambal, D. H. Richter, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : The individualistic dynamics of entangled DNA in solution. *Macromolecules*, 40(7):2461–2476, 2007.

[61] C. M. Schroeder, R. E. Teixeira, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Dynamics of DNA in the flow-gradient plane of steady shear flow : Observations and simulations. *Macromolecules*, 38(5):1967–1978, 2005.

[62] D. E. Smith et S. Chu : Response of flexible polymers to a sudden elongational flow. *Science*, 281(5381):1335–1340, 1998.

[63] P. K. Wong, Y. K. Lee et C. M. Ho : Deformation of DNA molecules by hydrodynamic focusing. *Journal Of Fluid Mechanics*, 497:55–65, 2003.

[64] J. S. Hur, E. S. G. Shaqfeh, H. P. Babcock et S. Chu : Dynamics and configurational fluctuations of single DNA molecules in linear mixed flows. *Physical Review E*, 66(1), 2002.

[65] D. E. Smith, T. T. Perkins et S. Chu : Self-diffusion of an entangled DNA molecule by reptation. *Physical Review Letters*, 75(22):4146–4149, 1995.

[66] P. G. de Gennes : Reptation of a polymer chain in presence of fixed obstacles. *Journal Of Chemical Physics*, 55(2):572, 1971.

[67] H. P. Babcock, D. E. Smith, J. S. Hur, E. S. G. Shaqfeh et S. Chu : Relating the microscopic and macroscopic response of a polymeric fluid in a shearing flow. *Physical Review Letters*, 85(9):2018–2021, 2000.

[68] H. J. Choi, S. T. Lim, P. Y. Lai et C. K. Chan : Turbulent drag reduction and degradation of DNA. *Physical Review Letters*, 89(8), 2002.

[69] C. Wagner, Y. Amarouchene, P. Doyle et D. Bonn : Turbulent-drag reduction of polyelectrolyte solutions : Relation with the elongational viscosity. *Europhysics Letters*, 64(6):823–829, 2003.

[70] S. A. Vanapalli, S. L. Ceccio et M. J. Solomon : Universal scaling for polymer chain scission in turbulence. *Proceedings Of The National Academy Of Sciences Of The United States Of America*, 103(45):16660–16665, 2006.

[71] R. Benzi, E. De Angelis, V. S. L'Vov, I. Procaccia et V. Tiberkevich : Maximum drag reduction asymptotes and the cross-over to the newtonian plug. *Journal of Fluid Mechanics*, 551(-1):185, 2006.

[72] Frederick Thomas Trouton : On the coefficient of viscous traction and its relation to that of viscosity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Containing Papers of a Mathematical and Physical Character*, 77(519):426–440, 1906.

[73] Christopher J. S. Petrie : One hundred years of extensional flow. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1-3):1, 2006.

[74] Faith A. Morrison : *Understanding Rheology.* Oxford University Press, USA, 2001.

[75] Chris Macosko : *Rheology : Principles, Measurements, and Applications.* Wiley-VCH, 1994.

[76] Anke Lindner, Jan Vermant et Daniel Bonn : How to obtain the elongational viscosity of dilute polymer solutions ? *Physica A : Statistical Mechanics and its Applications*, 319:125–133, mars 2003.

[77] J. Drappier, T. Divoux, Y. Amarouchene, F. Bertrand, S. Rodts, O. Cadot, J. Meunier et D. Bonn : Turbulent drag reduction by surfactants. *Europhysics Letters*, 74(2):362–368, 2006.

[78] D. F. James et J. H. Saringer : Flow of dilute polymer-solutions through converging channels. *Journal Of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 11(3-4):317–339, 1982.

[79] D.V. Boger : Viscoelastic flows through contractions. *Ann. Rev. Fluid Mech.*, 19:157–182, 1987.

[80] D.F. James, G.M. Chandler et S.J. Armour : A converging channel rheometer for the measurement of extensional viscosity. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 35:421–443, 1990.

[81] M.M. Denn : Continuous drawing of liquids to form fibers. *Ann. Rev. Fluid Mech.*, 12:365–387, 1980.

[82] G. Fano : Contributo allo studio dei corpi filanti (contribution to the study of thread-forming materials). *Archivio di Fisiologio*, 5:365–370, 1908.

[83] W. M. Jones, N. E. Hudson et J. Ferguson : The extensional properties of M1 obtained from the stretching of a filament by a falling pendant drop. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 35(2-3):263 – 276, 1990.

[84] V. Tirtaatmadja et T. Sridhar : A filament stretching device for measurement of extensional viscosity. *Journal Of Rheology*, 37(6):1081–1102, 1993.

[85] Gareth H. McKinley et Tamarapu Sridhar : Filament-stretching rheometry of complex fluids. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 34(1):375–415, 2002.

[86] Bernhard Gampert et Christoph Wilkes : Rheo-optical measurements of the elongational flow of aqueous polymer solutions. *Rheologica Acta*, V41(4): 326, 2002.

[87] Christopher J. S. Petrie : Extensional viscosity : A critical discussion. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1-3):15, 2006.

[88] D.F. James et K. Walters : *A critical appraisal of available methods for the measurement of extensional properties of mobile systems (Techniques of Rheological Measurement).* Elsevier, 1994.

[89] Y. Amarouchene, D. Bonn, J. Meunier et H. Kellay : Inhibition of the finite-time singularity during droplet fission of a polymeric fluid. *Physical Review Letters*, 86:3558, 2001.

[90] L. E. Rodd, T. P. Scott, J. J. Cooper-White et G. H. McKinley : Capillary break-up rheometry of low-viscosity elastic fluids. *Applied Rheology*, 15(1):12–27, 2005.

[91] V. Tirtaatmadja, G. H. McKinley et J. J. Cooper-White : Drop formation and breakup of low viscosity elastic fluids : Effects of molecular weight and concentration. *Physics of Fluids*, 18(4):043101, 2006.

[92] Lord Rayleigh : On the instability of jets. *Proc. Lond. Math. Soc.*, 10:4–13, 1879.

[93] L. Rayleigh : Investigations in capillarity. *Philosophical Magazine*, 48:321, 1899.

[94] J.A.F. Plateau : Experimental and theoretical researches on the figures of equilibrium of a liquid mass withdrawn from the action of gravity. *Ann. Rep. Smithsonian Institution*, pages 207–285, 1863.

[95] L. A. Slobozhanin et J. M Perales : Stability of liquid bridges between equal disks in an axial gravity field. *Physics of fluids. A, Fluid dynamics*, 5(6):1305–1314, 1993.

[96] H. J. Subramani, H. K. Yeoh, R. Suryo, Q. Xu, B. Ambravaneswaran et O. A. Basaran : Simplicity and complexity in a dripping faucet. *Physics Of Fluids*, 18(3), 2006.

[97] E. Bonabeau, G. Theraulaz, J. L. Deneubourg, A. Lioni, F. Libert, C. Sauwens et L. Passera : Dripping faucet with ants. *Physical Review E*, 57(5):5904–5907, 1998.

[98] B. Ambravaneswaran, S. D. Phillips et O. A. Basaran : Theoretical analysis of a dripping faucet. *Physical Review Letters*, 85(25):5332–5335, 2000.

[99] A. Rothert, R. Richter et I. Rehberg : Formation of a drop : viscosity dependence of three flow regimes. *New Journal Of Physics*, 5, 2003.

[100] Demetrios T. Papageorgiou : On the breakup of viscous liquid threads. *Physics of Fluids*, 7(7):1529–1544, 1995.

[101] S. Tomotika : On the instability of a cylindrical thread of a viscous liquid surrounded by another viscous fluid. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A, Mathematical and Physical Sciences*, 150(870):322–337, 1935.

[102] D. H. Peregrine, G. Shoker et A. Symon : The bifurcation of liquid bridges. *Journal Of Fluid Mechanics*, 212:25–39, 1990.

[103] J. Eggers : Drop formation - an overview. *Zamm-Zeitschrift Fur Angewandte Mathematik Und Mechanik*, 85(6):400–410, 2005.

[104] J.B. Keller et M.J. Miksis : Surface tension driven flows. *SIAM J. Appl. Math.*, 43:268, 1983.

[105] Richard F. Day, E. John Hinch et John R. Lister : Self-similar capillary pinchoff of an inviscid fluid. *Physical Review Letters*, 80(4):704–707, Jan 1998.

[106] J. C. Burton, J. E. Rutledge et P. Taborek : Fluid pinch-off dynamics at nanometer length scales. *Physical Review Letters*, 92(24), 2004.

[107] Asimina Sierou et John R. Lister : Self-similar solutions for viscous capillary pinch-off. *Journal of Fluid Mechanics*, 497(-1):381, 2003.

[108] Jens Eggers : Theory of drop formation. *Physics of Fluids*, 7(5):941–953, 1995.

[109] M. P. Brenner, J. R. Lister et H. A. Stone : Pinching threads, singularities and the number 0.0304. *Physics Of Fluids*, 8(11):2827–2836, 1996.

[110] J. R. Lister et H. A. Stone : Capillary breakup of a viscous thread surrounded by another viscous fluid. *Physics Of Fluids*, 10(11):2758–2764, 1998.

[111] G. H. McKinley et A. Tripathi : How to extract the newtonian viscosity from capillary breakup measurements in a filament rheometer. *Journal Of Rheology*, 44(3):653–670, 2000.

[112] P. Doshi, R. Suryo, O. E. Yildirim, G. H. McKinley et O. A. Basaran : Scaling in pinch-off of generalized newtonian fluids. *Journal Of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 113(1):1–27, 2003.

[113] Ronald Suryo et Osman A. Basaran : Local dynamics during pinch-off of liquid threads of power law fluids : Scaling analysis and self-similarity. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 138(2-3):134, 2006.

[114] S. L. Anna et G. H. McKinley : Elasto-capillary thinning and breakup of model elastic liquids. *Journal Of Rheology*, 45(1):115–138, 2001.

[115] C. Wagner, Y. Amarouchene, D. Bonn et J. Eggers : Droplet detachment and satellite bead formation in viscoelastic fluids. *Physical Review Letters*, 95(16):164504, 2005.

[116] H. C. Chang, E. A. Demekhin et E. Kalaidin : Iterated stretching of viscoelastic jets. *Physics Of Fluids*, 11(7):1717–1737, 1999.

[117] Christian Clasen, Jens Eggers, Marco A. Fontelos, J. I. E. Li et Gareth H. McKinley : The beads-on-string structure of viscoelastic threads. *Journal of Fluid Mechanics*, 556(-1):283, 2006.

[118] M. S. N. Oliveira et G. H. McKinley : Iterated stretching and multiple beads-on-a-string phenomena in dilute solutions of highly extensible flexible polymers. *Physics Of Fluids*, 17(7), 2005.

[119] Monica S. N. Oliveira, Roger Yeh et Gareth H. McKinley : Iterated stretching, extensional rheology and formation of beads-on-a-string structures in polymer solutions. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1-3):137, 2006.

[120] T. Tate : On the magnitude of a drop of liquid formed under different circumstances. *Philosophical Magazine*, 27:176, 1864.

[121] W. D. Harkins et F. E. Brown : The determination of surface tension (free surface energy), and the weight of falling drops : the surface tension of water and benzene by the capillary height method. *Journal of American Chemical Society*, 41:499, 1918.

[122] M. C. Wilkinson : Extended use of, and comments on, the drop-weight (drop-volume) technique for the determination of surface and interfacial tensions. *Journal of Colloid and Interface Science*, 40(1):14, 1972.

[123] A. Ferguson : Some notes on the drop-weight method for the measurement of surface tension. *Journal of Scientific Instruments*, 6:163, 1929.

[124] Ozgur E. Yildirim, Qi Xu et Osman A. Basaran : Analysis of the drop weight method. *Physics of Fluids*, 17(6):062107, 2005.

[125] E. Buckingham : On physically similar systems ; illustrations of the use of dimensional equations. *Physical Review*, 4(4):345–376, 1914.

[126] David R. Lide : CRC handbook of chemistry and physics. Internet Version 2005, 2005.

[127] Gary Bonner et Alexander M. Klibanov : Structural stability of DNA in nonaqueous solvents. *Biotechnology and Bioengineering*, 68(3):339–344, 2000.

[128] C. Q. Wang, F. Altieri, A. Ferraro, A. Giartosio et C. Turano : The effect of polyols on the stability of duplex DNA. *Physiological Chemistry And Physics And Medical NMR*, 25(4):273–280, 1993.

[129] Pompea Del Vecchio, Diego Esposito, Lucia Ricchi et Guido Barone : The effects of polyols on the thermal stability of calf thymus dna. *International Journal of Biological Macromolecules*, 24(4):361, 1999.

[130] Dehai Liang, Liguo Song, Zijian Chen et Benjamin Chu : Effect of glycerol-induced DNA conformational change on the separation of DNA fragments by capillary electrophoresis. *Journal of Chromatography A*, 931(1-2):163, 2001.

[131] W. S. Rasband : ImageJ, 1997-2009.

[132] William H. Press, Saul A. Teukolsky, William T. Vetterling et Brian P. Flannery : *Numerical recipes in C. The art of scientific computing.* Cambridge University Press, 2nd édition, 1992.

[133] W. S. Cleveland : Lowess - a program for smoothing scatterplots by robust locally weighted regression. *American Statistician*, 35(1):54–54, 1981.

[134] W. S. Cleveland : Robust locally weighted regression and smoothing scatterplots. *Journal Of The American Statistical Association*, 74(368):829–836, 1979.

[135] W. S. Cleveland et S. J. Devlin : Locally weighted regression - an approach to regression-analysis by local fitting. *Journal Of The American Statistical Association*, 83(403):596–610, 1988.

[136] Christophe Clanet et Juan C. Lasheras : Transition from dripping to jetting. *Journal of Fluid Mechanics*, 383(-1):307–326, 1999.

[137] A. Rothert, R. Richter et I. Rehberg : Transition from symmetric to asymmetric scaling function before drop pinch-off. *Physical Review Letters*, 8708(8), 2001.

[138] R. Sattler, A. Kityk et C. Wagner : Molecular configurations in the droplet detachment process of a complex liquid. *Physical Review E (Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics)*, 75(5):051805, 2007.

[139] David C. Duffy, J. Cooper McDonald, Olivier J. A. Schueller et George M. Whitesides : Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Analytical Chemistry*, 70:4974–4984, 1998.

[140] Todd M. Squires et Stephen R. Quake : Microfluidics : Fluid physics at the nanoliter scale. *Reviews of Modern Physics*, 77(3):977, Oct 2005.

[141] Patrick Tabeling : *Introduction á la microfluidique*. Belin, 2003.

[142] D. Long, J. L. Viovy et A. Ajdari : Stretching DNA with electric fields revisited. *Biopolymers*, 39(6):755–759, 1996.

[143] Y. J. Juang, S. Wang, X. Hu et L. J. Lee : Dynamics of single polymers in a stagnation flow induced by electrokinetics. *Physical Review Letters*, 93(26):268105, 2004.

[144] Joeska Husny et Justin J. Cooper-White : The effect of elasticity on drop creation in t-shaped microchannels. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 137(1-3):121, 2006.

[145] Alex Groisman et Stephen R. Quake : A microfluidic rectifier : Anisotropic flow resistance at low reynolds numbers. *Physical Review Letters*, 92(9): 094501, 2004.

[146] Alex Groisman, Markus Enzelberger et Stephen R. Quake : Microfluidic memory and control devices. *Science*, 300(5621):955–958, 2003.

[147] Abraham D. Stroock, Stephan K. W. Dertinger, Armand Ajdari, Igor Mezic, Howard A. Stone et George M. Whitesides : Chaotic mixer for microchannels. *Science*, 295(5555):647–651, 2002.

[148] H.A. Stone, A.D. Stroock et A. Ajdari : Engineering flows in small devices : microfluidics toward a lab-on-a-chip. *Annual Review of Fluid Mechanics*, 36(1):381–411, 2004.

[149] T. Burghelea, E. Segre, I. Bar-Joseph, A. Groisman et V. Steinberg : Chaotic flow and efficient mixing in a microchannel with a polymer solution. *Physical Review E*, 69:066305, 2004.

[150] João Manuel Maia et David Binding : Influence of elongational properties on the contraction flow of polyisobutylene in a mixed solvent. *Rheologica Acta*, V38(2):160, 1999.

[151] J. Wang et D. D. Joseph : Particle-laden tubeless siphon. *Journal Of Fluid Mechanics*, 480:119–128, 2003.

[152] J. Wang, R. Bai et D. D. Joseph : Nanoparticle-laden tubeless and open siphons. *Journal Of Fluid Mechanics*, 516:335–348, 2004.

[153] P. Szabo, J.M. Rallison et E.J. Hinch : Start-up of flow of a fene-fluid through a 4 :1 :4 constriction in a tube. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 72:73–86, 1997.

[154] Lucy E. Rodd, Timothy P. Scott, David V. Boger, Justin J. Cooper-White et Gareth H. McKinley : The inertio-elastic planar entry flow of low-viscosity elastic fluids in micro-fabricated geometries. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 129(1):1, 2005.

[155] L. E. Rodd, J. J. Cooper-White, D. V. Boger et G. H. McKinley : Role of the elasticity number in the entry flow of dilute polymer solutions in micro-fabricated contraction geometries. *Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics*, 143(2-3):170, 2007.

[156] A. Katrin Laos, B. Evelin Kirs, C. Anna Kikkas et D. Toomas Paalme : Crystallization of the supersaturated sucrose solutions in the presence of fructose, glucose and corn syrup. *In Proceedings of European Congress of Chemical Engineering (ECCE-6)*, Septembre 2007.

[157] John David Jackson : *Classical electrodynamics*. John Wiley & Sons, 3e édition, 1999.

[158] Emanuel Bertrand : *Transitions de mouillage : rôle des interactions entre interfaces*. Thèse de doctorat, Université Paris VI - Pierre et Marie Curie, 2000.

[159] Nicolas Gouze, Jérôme Ballesta, Guillaume Dovillaire et Xavier Levecq : Utilisation et impact des analyseurs de front d'onde shack-hartmann sur les techniques d'imagerie du vivant. Rapport technique, Imagine Optic, 18, rue Charles de Gaulle, 91400 Orsay.

[160] Geoff Andersen et R. J. Knize : Holographically corrected microscope with a large working distance. *Applied Optics*, 37(10):1849–1853, 1998.

[161] P. C. Ke et M. Gu : Characterization of trapping force in the presence of spherical aberration. *Journal Of Modern Optics*, 45(10):2159–2168, 1998.

[162] S. N. S. Reihani, H. R. Khalesifard et R. Golestanian : Measuring lateral efficiency of optical traps : The effect of tube length. *Optics Communications*, 259(1):204–211, 2006.

[163] C. J. R. Sheppard : Confocal imaging through weakly aberrating media. *Applied Optics*, 39(34):6366–6368, 2000.

[164] M. J. Booth et T. Wilson : Strategies for the compensation of specimen-induced spherical aberration in confocal microscopy of skin. *Journal of Microscopy*, 200:68–74(7), October 2000.

[165] D. S. Wan, M. Rajadhyaksha et R. H. Webb : Analysis of spherical aberration of a water immersion objective : application to specimens with refractive indices 1.33-1.40. *Journal of Microscopy*, 197(3):274–284, 2000.

[166] C. J. R. Sheppard : Comment on 'analysis of spherical aberration of a water immersion objective : application to specimens with refractive index 1.33-1.40'. *Journal of Microscopy*, 200(3):177–178, 2000.

[167] Sextant : *Optique expérimentale*. Hermann, 1997.

[168] D. Bensimon, A. J. Simon, V. Croquette et A. Bensimon : Stretching DNA with a receding meniscus - experiments and models. *Physical Review Letters*, 74(23):4754–4757, 1995.

[169] C. Lheveder, S. Henon, R. Mercier, G. Tissot, P. Fournet et J. Meunier : A new brewster angle microscope. *Review of Scientific Instruments*, 69(3):1446–1450, 1998.

[170] Maksymilian Pluta : *Advanced Light Microscopy*, volume 1. Elsevier Science Publishers, 1988.

[171] Cargille labs.

[172] BASF : Luvitec, luvicross. pvp and more..., 2009.

[173] N. Francois, D. Lasne, Y. Amarouchene, B. Lounis et H. Kellay : Drag enhancement with polymers. *Physical Review Letters*, 100(1):018302, 2008.