HAL
open science

Conception et réalisation d'un micro-injecteur matriciel pour la fonctionnalisation des biopuces

Ty Phou

To cite this version:

Ty Phou. Conception et réalisation d'un micro-injecteur matriciel pour la fonctionnalisation des biopuces. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Paul Sabatier - Toulouse III, 2003. Français. NNT : . tel-00583924

HAL Id: tel-00583924

https://theses.hal.science/tel-00583924v1

Submitted on 7 Apr 2011

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.

Année 2003

Université Toulouse III - PAUL SABATIER
U.F.R. : P.C.A.

Thèse

- Préparé au :
  Laboratoire d'Analyse et d'Architecture des systèmes du CNRS

- En vue de l'obtention du grade de :
  Docteur de l'Université Paul Sabatier de Toulouse (Discipline : génie électrique**)**

- Présentée par :
  Ty Phou au LAAS-CNRS, Salle de conférence, lundi 26 mai à 10h15

Titre

Conception et réalisation d'un micro-injecteur matriciel pour la fonctionnalisation des biopuces.

Membres du jury

- Rapporteurs : **Jean-René Martin**
  Josep samitier

- Examinateurs : **Marc Prat**
  Alessandro Bottaro (Président du jury)
  Francis Galibert

- Directrice de thèse : **Anne Marie Gué**

Table des matières

CONCEPTION ET REALISATION D'UN MICRO-INJECTEUR MATRICIEL POUR LA FONCTIONNALISATION DES BIOPUCES

INTRODUCTION……..……..……..……..……..…… p1-3

Chapitre I : Les bio-puces : Présentation générale

1. Introduction……..……..……..…... p7

2. Principe de fonctionnement et la présentation de la puce à ADN…….....p8

2-1. Quelques rappels sur la structure et les caractéristiques de l'ADN……..... p8

2-1-1. La structure primaire de l'ADN……...……..p8

2-1-2. La structure secondaire de l'ADN……...….. p11

2-1-3. L'hybridation de l'ADN……..……..…… p14

2-2. La puce à ADN……...……..……..…….p15

2-3. Les méthodes d'analyse…….……...……...……..……. p18

2-3-1. Les méthodes classiques……..…….. p18

2-3-2. Les perspectives ouvertes par l'intégration silicium…….…….p20

3. Domaines d'utilisation…….……p20

3-1. L'analyse de mutations……..……. p21

3-2. L'analyse de l'expression des gènes……..……. p22

3-3. Le séquençage par hybridation……..……..p23

3-4. Les perspectives socio économiques des pues à ADN……...….p24

4. Principes de fabrication des puces à ADN……...……...…… p25

4-1. Les supports…….…….…….. p26

4-2. La fonctionnalisation des surfaces…….……. p28

4-3. Les techniques de fabrication…….…….p29

4-3-1. La fixation d'oligonucléotides pré-synthétisés……..p30
4-3-2. La synthèse in situ……..p36
4-4. Récapitulatif…… p42

5. Objectif et cadre des travaux……...…… p44
5-1. La conception de la matrice……...……. p45
5-1-1. Spécifications générales……p45
5-1-2. Choix d'un principe d'actionnement du micro-éjecteur……....p47
5-2. Notre proposition = le micro-injecteur de type Inkjet….……p49

6. Conclusions…….… p52

Références (chapitre I)……..…….……p53-57

Chapitre II : Conception de la matrice d'éjection : théories et simulations

1. Introduction……. p61

2. Présentation du problème……...……. p62

3. La phase de nucléation et croissance des bulles gazeuses…….…….……p65
3-1. L'ébullition et la nucléation homogène……..….p66
3-2. La croissance des bulles de vapeur…….……..…….. p71
3-3. La croissance de la bulle gazeuse par formation d'un film de vapeur…… p76
3-4. Modélisation fluidique de l'éjection……..……. p81

4. Modélisation électrothermique de l'éjecteur……..……p83
4-1. Le modèle…….……...……p84
4-2. Présentation du logiciel de simulation……...…….… p86
4-3. Les résultats des simulations…….……..p87
4-4. Comportement thermique en régime transitoire…….…… p94

5. Modèle global de fonctionnement et validation du design pour l'éjection…… p96
5-1. Première étape : la formation des bulles gazeuse……..……..p96
5-2. Deuxième étape : la croissance des bulles gazeuses……..……p98
5-3. Troisième étape : l'éjection…….……p102

6. Conclusions…….…… p103

Références (Chapitre II)……...……...…… p105

Chapitre III : Réalisation technologique des micro-injecteurs

1. Introduction……...…….. p109

2. Les véhicules tests et le procédé de buse……...……..p109

3. Mise au point de la membrane support……..…….…….p113

4. La réalisation de la résistance chauffante…….……..…….p118
4-1. Le dépôt du film de polysilicium…….…….…….. p118
4-2. Le dopage…….……...…… p119
4-3. La réalisation de la résistance…….……...……. p121
4-4. La protection de la résistance chauffante et réalisation des contacts électriquesp122

5. La réalisation de l'éjecteur…….……. p123
5-1. Le perçage du trou d'éjection……..p123
5-2. La réalisation des buses d'éjection……..……p124
5-3. La libération de la membrane…….…….p125
5-3-1. L'attaque anisotrope du silicium par KOH……..……..p125
5-3-2. L'attaque par gravure plasma……...……. p127

6. Caractérisation des réalisations technologiques…….…….p128
7. Montage des composants…….p130

8. Conclusions……...…….. p132

Références (Chapitre III)……..……...…p133

Chapitre IV : Caractérisations et premiers test d'éjection

1. Introduction……. p137

2. Caractérisations des initiateurs thermiques……..……...… p137

2-1. Les effets de la convention……..……p138

2-2. La caractérisation thermique par mesure de résistivité…….…..p139

2-3. La caractérisation thermique par caméra infrarouge……...…p143

2-3-1. La mise en place du dispositif de mesure……..…… p143

2-3-2. Principe de la mesure…….……p143

2-3-3. Les résultats……...…… p144

2-4. Les caractérisations en transitoire……...……p149

3. Caractérisations fluidiques…….……. p158

3-1. Introduction…….p158

3-2. Le banc optique mis en place……..p160

3-3. Remplissage et pression de travail……...…… p160

3-4. Les tests d'éjection……..p162

4. Optimisation du dispositif……..…….…… p167

4-1. L'amélioration pour faciliter le montage……..…….. p167

4-2. Les modifications de design pour améliorer l'éjection……...…p167

5. Conclusions……. p169

Références (Chapitre IV)..……..…….……p171

CONCLUSIONS ET PROSPECTIVES……..…….p173-175

Introduction

Le séquençage de l'intégralité du génome humain a, dans les années 90, suscité de nombreux débats quant à son opportunité, son coût et sa faisabilité. L'immensité de la tâche a mis en exergue les limitations de la méthode de séquençage classique et l'échec relatif de son automatisation. Toutefois, le séquençage de plusieurs génomes vivants et d'une grande partie du génome humain a pu être réalisé et a ouvert de nombreuses perspectives. Cette expérience a montré la nécessité de développer des outils d'analyse rapides et fiables. C'est ainsi qu'ont vu le jour de nouveaux systèmes d'analyse : les puces à ADN. elles se présentent sous la forme de matrices de test de grande densité pouvant atteindre plus de 10^4 points de mesure par cm^2 qui peuvent être caractérisés en quelques heures. Ces nouveaux systèmes sont donc très attractifs en terme de capacité de mesure. Ils permettent, ainsi, à la fois le séquençage, l'étude des mutations génétiques et de l'expression des gènes. Ces perspectives ont immédiatement provoqué une grande effervescence dans le milieu scientifique et dans le monde industriel car au delà de l'analyse et du séquençage des gènes, elles ouvrent de nombreuses autres possibilités d'utilisation dans la toxigénomie, la pharmacogénomie, la détection de maladie, la détection le bactérie dans le traitement des eaux etc…

On peut dire aujourd'hui que le développement de cette outil d'analyse ainsi que la nécessité d'en produire en grande quantité suscitent donc **une activité de recherche florissante non seulement dans les disciplines de la biologie et de la chimie mais aussi les micro/nano technologies issues des sciences physiques et de l'ingénierie**. En effet, si les travaux relatifs à ces développements portent sur la synthèse des séquences ADN leur mise en œuvre implique de nombreux autres travaux sur le traitement des surfaces des supports, sur la chimie de fixation des sondes, sur des outils d'analyse des résultats, sur le design des supports, sur les moyens d'amener les sondes au contact du support, etc… A travers cela, il apparaît évident que les micro/nano technologues ont un rôle important à jouer au sein d'équipes pluridisciplinaires, dans la mesure où la réduction des dimensions et la parallélisation des tâches est le point central de cette évolution. C'est, en effet, un procédé dérivé des procédés de la microélectronique qui a donné lieu, aujourd'hui, à la fabrication des puces à ADN les plus performantes : le procédé Affymetrix.

Conscient des enjeux scientifiques, technologiques et économiques portés par les biotechnologies en général et les biopuces en particulier, le LAAS-CNRS a très vite souhaité s'impliquer dans le domaine. Les origines de cette implication remonte aux années 80, où le laboratoire a travaillé à la miniaturisation de capteurs chimiques et de biocapteurs, de systèmes complets d'administration de médicaments (patch transdermiques et systèmes implantables) et d'actionneurs microfluidiques. C'est dans le prolongement de ces travaux antérieurs que s'inscrit cette thèse. Comme nous le montrerons dans la suite de notre mémoire, un verrou technologique important reste la conception et la mise en oeuvre de méthodes et techniques flexibles et peu coûteuses de réalisation des puces à ADN qui se distinguent des procédés existants et en particulier du procédé Affymetrix.

Notre choix a donc été de s'appuyer sur l'expérience du laboratoire en microsystèmes et de viser la synthèse in-situ de l'ADN, par voie chimique, sur les unités d'hybridation des puces. Le travail a pu s'engager sous l'impulsion de F. Galibert, Directeur des Programmes CNRS Génome et Biopuces. Il s'est très vite intégré au Projet ROSA, dirigé par E. Souteyrand et J.R. Martin de l'Ecole Centrale de Lyon. Il s'inscrit dans le cadre des activités du Groupe MIS dirigé par Mme A.M. Gué, Directeur de recherches au CNRS, qui développe une activité microsystèmes axée sur la microfluidique. Il se fonde sur le développement d'éjecteurs en matrice de densités moyennes : quelques milliers de points par cm^2. **Notre problématique de recherche est donc de concevoir et de développer une matrice d'éjecteurs adressables et actionnables de façon indépendantes**. Ainsi, les éjecteurs auront à déposer les liquides, de façon localisée à la demande, sur la ou les unités d'hybridation sélectionnées afin de synthétiser les séquences choisies d'oligonucléotides. Les progrès récents en technologie de réalisation de membranes diélectriques suspendues permettant le confinement thermique, nous a incité à opter pour un actionnement par bulle de type ink-jet.

Les spécifications qui ont guidé notre travail sont :

- Le nombre d'éjecteurs unitaires et l'espacement entre ceux-ci doivent être rigoureusement identiques à ceux des unités d'hybridations sur la biopuce. Conformément aux premiers objectifs du projet ROSA, cela correspond à 4096 buses/cm^2, soit un éjecteur individuel tous les 156µm.

- Chaque éjecteur unitaire doit être actionnable individuellement.

- L'éjection par une buse ne doit pas provoquer l'éjection par les voisines.
- L'éjection doit être parfaitement directionnelle et reproductible. Les quantités éjectées doivent être réglable entre 25pL à 1nL.

Pour répondre à ce cahier des charges, nous avons donc opté pour la réalisation d'un micro-injecteur matriciel actionnable thermiquement. Les étapes de conception et de réalisation du micro-injecteur, en prenant en compte ce cahier des charges, sont présentées dans cette thèse composée de 4 chapitres :

- Le premier chapitre rappelle la structure des puces à ADN, leur mécanisme de fonctionnement et leurs applications. Dans ce chapitre, nous présentons aussi les différentes filières technologiques utilisées pour leur fabrication en précisant les avantages et inconvénients de chacune d'elles. Nous montrons enfin l'intérêt de la nouvelle approche que nous proposons au travers d'un comparatif avec les autres techniques.

- Dans le deuxième chapitre, nous présentons la partie conception du micro injecteur. Ce chapitre comprend la présentation de la théorie de l'éjection. Au travers de la connaissance du mécanisme de fonctionnement du micro injecteur, nous présentons la réflexion qui a orienté la conception structurelle et technologique de la matrice. Les performances de cette modélisation sont validés par simulation et calcul numérique.

- Dans le chapitre 3, nous présentons les étapes technologiques qui nous ont permis de fabriquer l'injecteur.

- Enfin, dans le dernier chapitre, nous présentons les résultats de caractérisations des éjecteurs. Ces caractérisations portent essentiellement sur les propriétés thermiques et fluidiques du système. La conclusion, de ce mémoire, explique quels travaux restent à accomplir pour mener ce développement à terme.

Chapitre I

Les problèmes technologiques posés par les puces à ADN

1. Introduction

Ces dernières années, les articles traitant des bio puces se sont multipliés. Le terme bio puce est utilisé de façon générique pour qualifier des composants incorporant du matériel organique sur un substrat solide. Pour notre part, les bio puces qui nous intéressent sont celles incorporant des séquences d'ADN c'est à dire un support solide de 1 à quelques cm² sur lequel on vient fixer une multitude de séquences d'ADN mono brin. C'est la raison pour laquelle nous préférerons, pour éviter tout malentendu, parler de puce à ADN plutôt que de bio puce [1].

La paternité de la puce à ADN n'est pas facile à établir : déjà en 1963, les premières expériences de fixation d'ADN avaient été effectuées sur du papier en nitrocellulose [2-3]. En 1975, E.M. Southern fixait des fragments d'ADN à l'aide de capillaires en les déposant localement sur un support soit en nylon, soit en nitrocellulose [4]. L'avènement de la puce ADN telle que nous la concevons aujourd'hui, ne date que de la fin des années 80. On doit à A. Mirzabekov (Argonne, Illinois), en collaboration avec l'Institut de biologie moléculaire de Moscou (Yu.P. Lysov, K.R. Khrapko), l'utilisation de bras robotisés munis de pipettes pour déposer les séquences d'ADN pré-synthétisées sur des endroits localisés de la puce [5-7]. Les premiers appareils robotisés pour la fonctionnalisation des puces ont été commercialisés par l'Université de Stanford. Parmi les pionniers, on peut également nommer W. Brains et G.C. Smith (1988) [8] et E.M. Southern (1989) [9] etc...

La bio-puce représentait, d'après les estimations effectuées en 1999, un marché potentiel de 40 millions de dollars par an [10]. Cette estimation est à multiplier par 10 pour les prochaines années. De nombreuses compagnies ont déjà mis sur le marché des puces ou des équipements de réalisation.

Notre objectif dans ce chapitre est tout d'abord de rappeler les principes de fonctionnement des puces à ADN utiles au technologues. Nous présentons ensuite l'état des filières de fabrication pour situer les besoins. Nous verrons que ces besoins s'expriment autant en termes de propriété industrielle que d'innovations. Nous présentons, sur cette base, notre problématique qui est de concevoir un produit et une filière technologique originale et performante. C'est ce que nous tenterons de montrer en conclusion de chapitre.

2. Le principe de fonctionnement de la puce à ADN [1]

2-1. Quelques rappels sur la structure et les caractéristiques de l'ADN

2-1-1. La structure primaire de l'ADN [11]

L'ADN ou acide désoxyribonucléique est un acide nucléique formé par la répétition de sous unités appelées "nucléotides". Chaque nucléotide est lui-même constitué de 3 éléments : Acide Phosphorique + Sucre + Base azotée

Les bases azotées :

On dénombre dans l'ADN quatre bases : Adénine (A), Guanine (G), Thymine (T) et Cytosine (C). Ces quatre bases peuvent être divisées en 2 groupes : les bases dites puriques et les bases dites pyrimidiques. Les formules élémentaires des noyaux purine et pyrimidine sont présentés sur la figure 1-1:

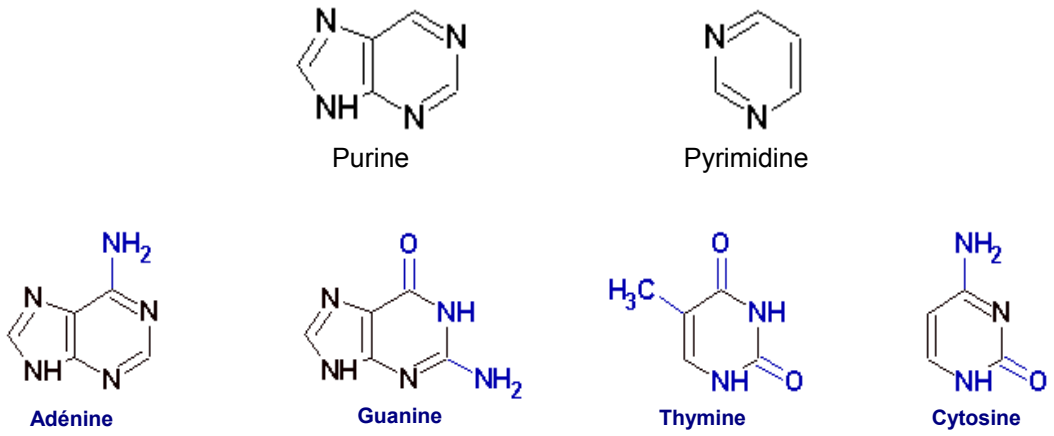


Figure 1-1 : *Structure des noyaux de purine et pyrimidine ainsi que des bases azotées*

Le sucre (figure 1-2) :

Comme les initiales "A**D**N" l'indiquent, le sucre (ose) entrant dans la constitution de l'ADN est un pentose et plus particulièrement le **désoxyribose**. Si les bases sont des structures planes, le sucre présente en revanche une structure non plane susceptible de déformation.

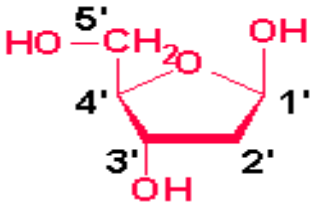


Figure 1-2 : *Structure développée du désoxyribose (représentation plane + numérotation des carbones)*

<u>l'acide phosphorique (figure 1-3) :</u>

L'acide phosphorique est un triacide. Deux de ses fonctions acides seront estérifiées dans l'ADN (estérification : réaction d'un alcool sur un acide)

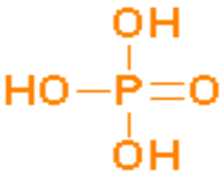


Figure 1-3 : *L'acide phosphorique*

<u>Le nucléotide :</u>

La liaison qui unit le sucre et la base est une liaison covalente du type β-osidique. La molécule qui résulte de ce couplage s'appelle nucléoside (sucre + base), à ne pas confondre avec un nucléotide : le couplage se fait par une réaction de substitution avec élimination d'une molécule d'eau (figure 1-4).

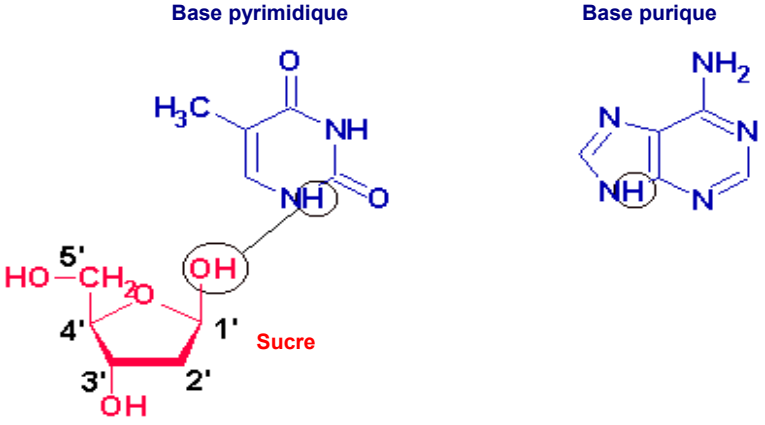


Figure 1-4 : *Exemple d'un nucléoside.*

La liaison entre le sucre et l'acide phosphorique est aussi une liaison covalente du type Ester. La formation de la liaison acide phosphorique-sucre (figure 1-5) se fait par une réaction d'estérification avec élimination d'une molécule d'eau.

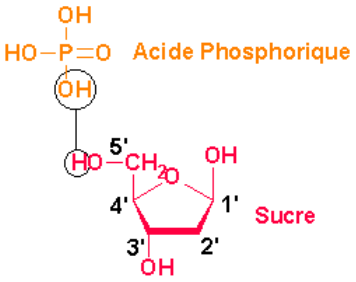


Figure 1-5 *: La liaison acide phosphorique-sucre.*

La structure finale d'un nucléotide a alors la configuration de la figure 1-6 :

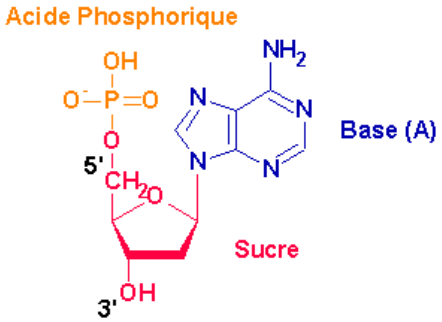


Figure 1-6 : *Structure complète d'un nucléotide.*

Dans l'ADN, les nucléotides sont assemblés entre eux par des liaisons ester. Une molécule d'eau est éliminée entre un OH de l'acide phosphorique d'un premier nucléotide et un H du sucre d'un second nucléotide et ceci de façon itérative jusqu'à n nucléotides (Figure 1-7). Ainsi, l'acide phosphorique engage deux fonctions acides dans des liaisons dites « phosphodiester » (une fonction ester servant à former le nucléotide, la 2eme à relier deux nucléotides entre eux). La 3eme fonction acide reste libre et confère donc à l'ADN des propriétés acides (charges négatives). Lors de l'enchaînement des nucléotides, les bases, à structure plane se retrouvent empilées les unes sur les autres et interagissent entre elles, favorisant ainsi la stabilité de la structure de la chaîne. Ces interactions sont

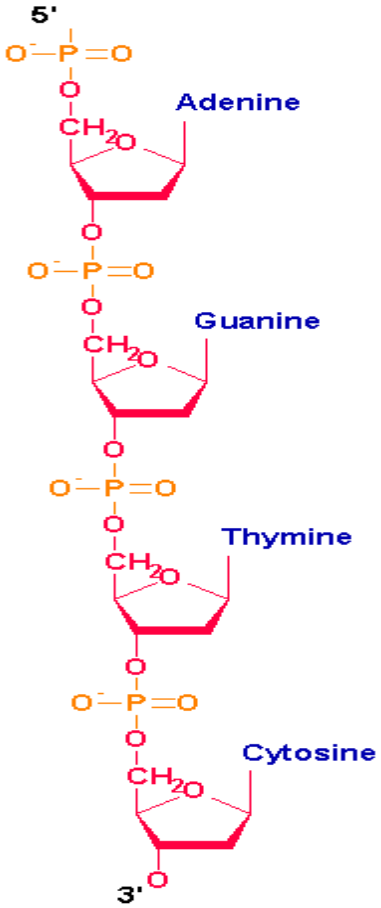


Figure 1-7 *: Séquence de 4 nucléotides*

des forces dites d'empilement ou de Van Der Waals. Elles sont perpendiculaires au plan des bases.

Considérons les deux extrémités d'une chaîne nucléique :

- une extrémité contient le groupement phosphate avec deux fonctions acides libres, on l'appelle « extrémité 5'P »

- l'autre extrémité contient un OH libre en 3', sur le sucre, on l'appelle « extrémité 3' OH ».

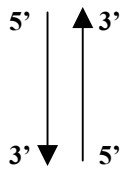
Par convention, on lira toujours une chaîne d'acide nucléique dans le sens 5'P vers 3'OH. Par souci de simplification, on ne fait figurer sur chaque séquence d'ADN que les seuls chiffres 5'et 3'.

La structure que l'on vient de décrire correspond à la structure primaire de l'ADN, c'est à dire une seule chaîne de nucléotides. Mais l'ADN peut aussi se trouver sous une autre forme dite secondaire (structure la plus représentée in vivo).

2-1-2. La structure secondaire de l'ADN (modèle de Watson et Crick)

La structure secondaire de l'ADN correspond à l'association de 2 chaînes (ou brins) antiparallèles, complémentaires et hélicoïdales de nucléotides. La structure tertiaire ne sera pas développée ici car non, utilisée dans les puces à ADN

- « Antiparallèle », signifie que les deux brins de nucléotides sont parallèles dans des directions opposées. Pour un brin : la direction 5' vers 3' se trouve être, par exemple de haut en bas. Pour le deuxième brin : la direction 5' vers 3' sera alors à l'inverse, de bas en haut.



- Ce que nous entendons par principe de complémentarité des bases azotées, c'est qu'il existe entre elles des couplages possibles qui sont sélectifs, c'est à dire qu'un type de

nucléotide s'appariera uniquement à un seul autre type de nucléotide spécifique A avec T ou U et G avec C.

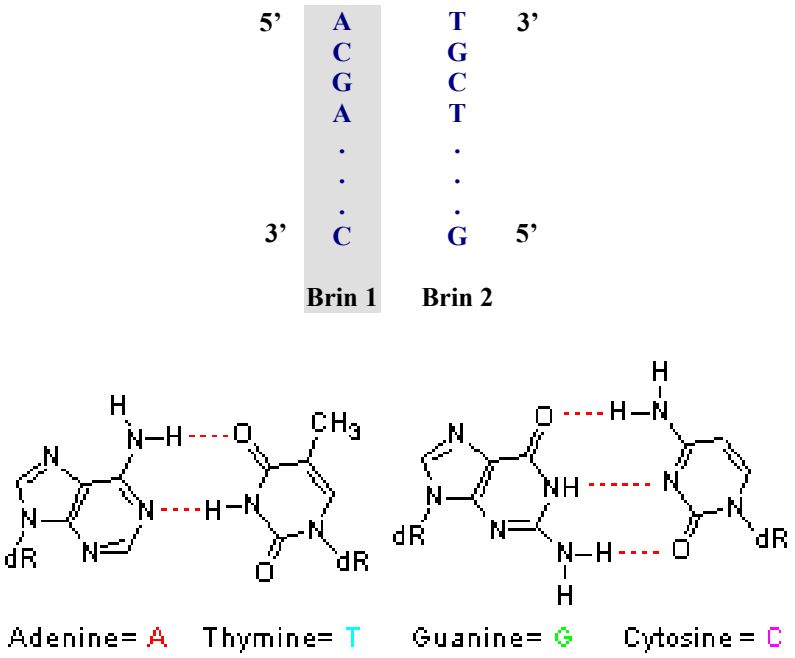


Figure 1-8 : *Complémentarité des bases azotées*

Cette complémentarité entre les 2 chaînes s'explique par les raisons suivantes :

- **Pour des raisons stériques**, en face d'une purine, qui est constituée de 2 cycles, on a obligatoirement une pyrimidine, qui ne possède qu'un seul cycle, et inversement. Chaque paire de base a donc la même dimension et ceci rend possible la structure régulière de la double hélice. Mais ceci pourrait laisser supposer qu'en face de A (base purique), on peut trouver aussi bien T que C (base pyrimidique). Il n'en est rien comme nous allons maintenant le préciser.

- **Les bases complémentaires situées face à face sont liées entre elles par des liaisons hydrogènes**. Les liaisons ne sont possible que dans les configurations suivantes :

A avec T ou U : création de 2 liaisons hydrogènes

C avec G : création de 3 liaisons hydrogènes

Les liaisons hydrogènes résultent d'effets de polarités dans les nucléotides. La polarité autour de l'atome d'hydrogène est positive, alors qu'autour des atomes d'azote et d'oxygène, elle est négative.

Caractérisée par un nombre de liaisons cohésives supérieur, la paire GC est plus stable que la paire AT. La composition en base d'un duplex est donc un des principaux facteurs influençant sa stabilité. Cette dernière est caractérisée par une grandeur, la température de fusion (Tm), c'est à dire la température à laquelle 50% d'un acide double brin est dissocié. Un autre facteur entraîne une baisse importante de la stabilité des duplex : la survenue de mésappariements (mismatch). Cette situation se rencontre lorsque les deux séquences associées ne sont pas strictement homologues. Elle se traduit par une chute importante de la température de fusion.

Les deux chaînes d'ADN présentent dans l'espace une configuration hélicoïdale. Elles s'enroulent autour d'un axe central imaginaire en formant une double hélice.

Le passage d'une structure primaire à une structure secondaire correspond à une réaction dite d'association, mieux connue sous le terme hybridation. Le fait de pouvoir passer d'une structure à l'autre, et cela de façon réversible est une des propriétés remarquables de l'ADN.

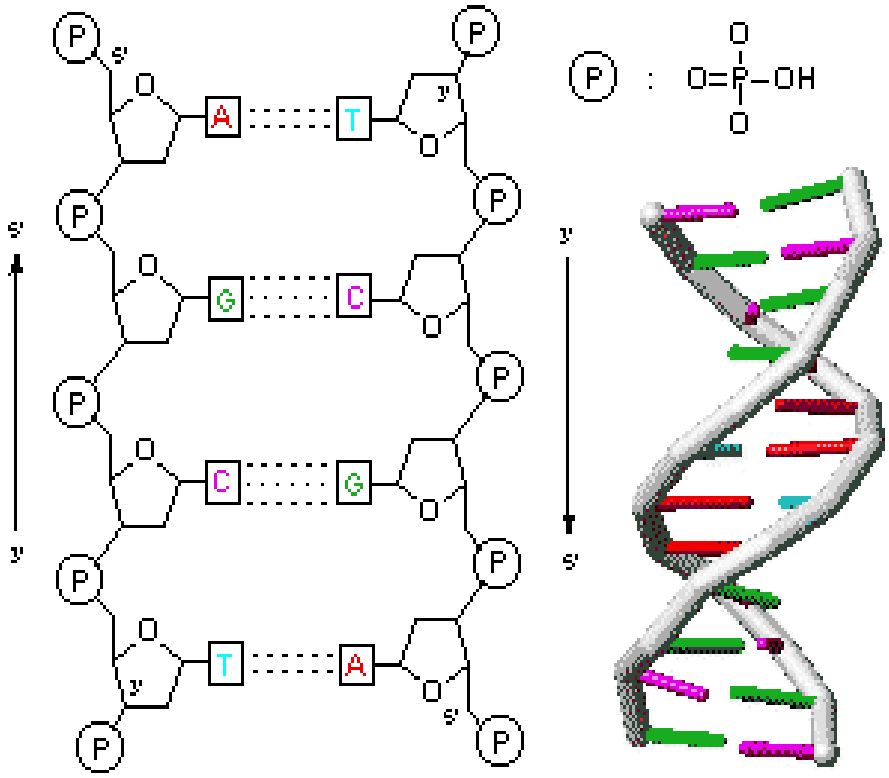


Figure 1-9 : *Représentation schématique de l'ADN*

2-1-3. L'hybridation de l'ADN [12]

On appelle hybridation l'appariement de deux brins simples d'ADN. C'est le mécanisme central utilisé dans les puces à ADN et nous allons en préciser les éléments essentiels.

Considérons une réaction d'hybridation entre des brins complémentaires de concentration respective *S* et *C* qui donnent le produit d'hybridation *H* (doubles brins) :

$$S + C \xrightarrow{k} H$$

Seule la constante de vitesse de réaction k est prise en compte car la réaction n'est réversible que sous certaines conditions. La vitesse de formation de *H*, c'est à dire la probabilité pour que les deux séquences *S* et *C* s'associent, dépend de leurs concentrations relatives :

$$\frac{dH}{dt} = k.S \times C$$

A $t = 0$, $S = S_0$ et $C = C_0$

Au temps t, $S = S_0 - H$ et $C = C_0 - H$

D'où, $\frac{dH}{dt} = k(S_0 - H) \times (C_0 - H)$ et $\frac{dH}{(S_0 - H)(C_0 - H)} = kdt$

En intégrant on obtient : $\frac{1}{C_0 - S_0} \ln \frac{C_0 - H}{S_0 - H} = kt + Cst$

Si t = 0, H=0, donc : $Cst = \frac{1}{C_0 - S_0} \ln \frac{C_0}{S_0}$ et $\frac{1}{C_0 - S_0} \ln \frac{C_0 - H}{S_0 - H} - \frac{1}{C_0 - S_0} \ln \frac{C_0}{S_0} = kt$

Soit

$$H = \frac{S_0 C_0 \left(1 - e^{(C_0 - S_0)kt}\right)}{S_0 - C_0 e^{(C_0 - S_0)kt}} \qquad (1)$$

La relation (1) correspond à l'équation générale de la cinétique d'hybridation. Le facteur *k* est représentatif de la vitesse de réaction, exprimé en $l.mol^{-1}.s^{-1}$.

L'hybridation est une technique de base de la biologie moléculaire impliquant la mise en présence de deux brins simples d'acides nucléiques dans des conditions physico-chimiques précises. **Le brin dont on connaît au moins un fragment de séquence, est appelé sonde, l'autre brin, celui qu'on souhaite caractériser constitue la cible**.

Dans le fonctionnement d'une puce à ADN, l'un des brins est marqué de manière à ce que l'on puisse, suite à la réaction d'hybridation et à une étape de lavage éliminant les molécules n'ayant pas réagi, obtenir un signal (émis par le marqueur) traduisant une hybridation et par conséquent la présence cherchée dans l'échantillon cible. La réaction peut être conduite en phase liquide ou sur un support solide. C'est ce mécanisme fonctionnel élémentaire qui est appliqué dans chaque point de mesure des puces à ADN.

2-2. La puce à ADN

La puce ADN se présente comme une matrice de points de mesure matérialisés par des micro surfaces appelées unités d'hybridation (UH), réalisées sur un support plan ou structuré (percé de puits par exemple). Sur ces unités sont fixées des molécules simple brin d'ADN dont on connaît la séquence intégrale ou partielle. Le rôle de chaque UH est de reconnaître, par réaction d'hybridation, une séquence spécifique d'ADN ou d'ARN. **A l'issue de la réaction d'hybridation, lors de la mise en présence d'un échantillon de séquences ADN ou ARN inconnues, les signaux émis par chaque UH, mesurés et analysés, permettent de déduire la présence d'autant de cibles différentes qu'il y a d'UH différentes sur la puce**. Les marqueurs utilisés peuvent être de natures diverses. Ce sont des marqueurs fluorescents, des colorants ou des isotopes radioactifs. De plus en plus, de nouvelles méthodes de détection sont développées. Nous y reviendrons plus tard.

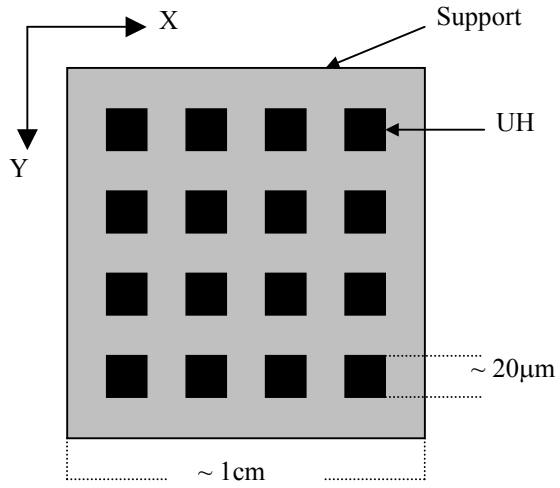


Figure 1-10: *Représentation schématique d'une puce à ADN*

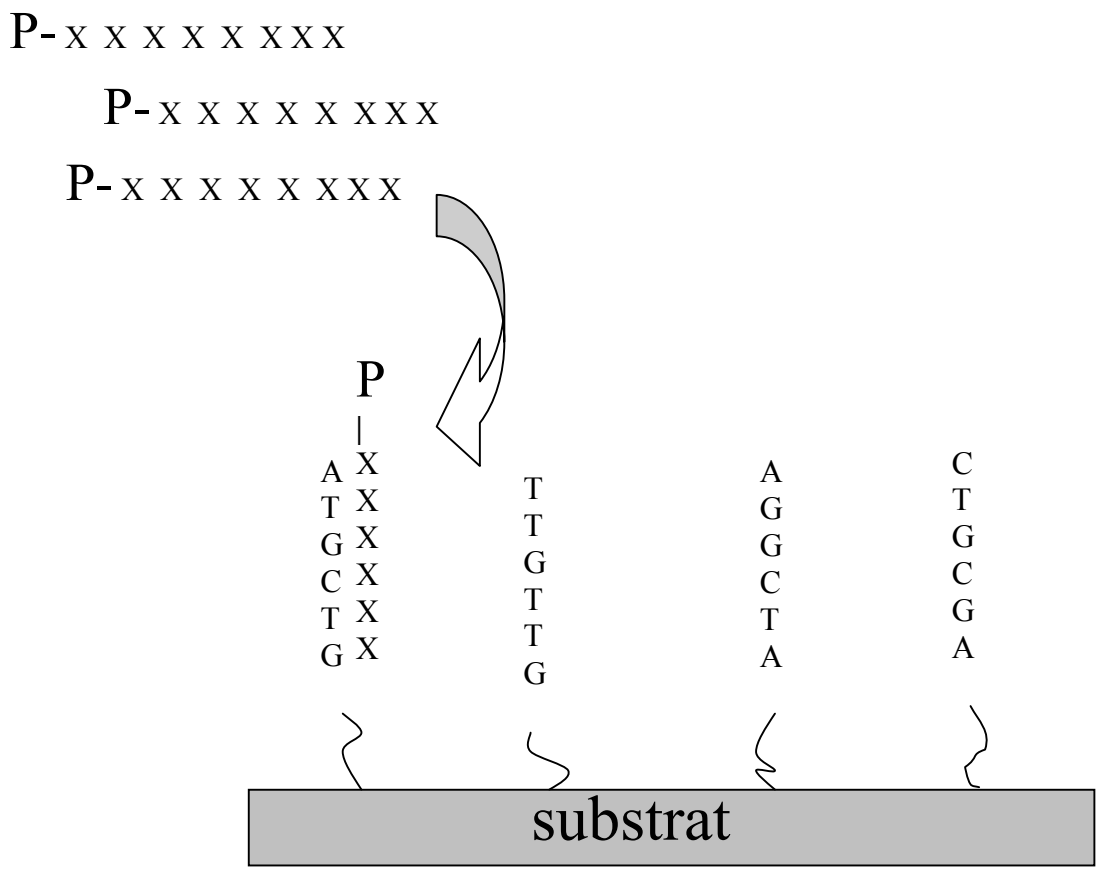


Figure 1-11 : *Schématisation de la puce ADN et de son fonctionnement, avec P : groupement chimique fluorophore ; X : nucléotide inconnu ; A,T,G,C :les quatre nucléotides composant l'ADN.*

Il faut signaler que la solution à analyser a, au préalable, subi un traitement destiné à multiplier la quantité d'ADN, pour que celle-ci devienne significative lors de l'hybridation. **Il faut en effet que le nombre de séquences cibles soit suffisamment important pour que**

l'on puisse les détecter par les différents moyens de détection. Cette étape, appelée amplification, se fait en général par une méthode de PCR (Polymerase Chain Reaction) asymétrique : c'est une réaction enzymatique de polymérisation en chaîne asymétrique qui permet, en utilisant des enzymes ADN polymérase, de synthétiser en grande quantité des séquences déterminées à partir d'un premier brin "parent" [13].

On distingue deux types de puce à ADN, différentiables par la longueur de la séquence greffée [14] :

- La séquence ADN greffée sur la surface solide est longue (500 à 5000 nucléotides), cette séquence est produite par rétro transcription de l'ARN par PCR, ce qui permet d'obtenir des séquences monobrins longues. Cette séquence est appelée cADN
- La séquence ADN greffée sur la surface du solide est courte (20 à 25 nucléotides)

Cette différence de longueur des oligonucléotides dépend de la technique utilisée pour la fonctionnalisation de la bio puce . Dans le premier cas, celle-ci se fait à partir d'une séquence pré-synthétisée, alors que dans le deuxième cas, la synthèse de la séquence d'ADN se fait de façon in situ. Nous reviendrons plus en détail sur les différents procédés de fabrication des puces dans la suite de ce chapitre. La longueur limitée des séquences s'explique par le risque d'interactions, pour de longues chaînes, entre les oligonucléotides greffés eux-mêmes mais aussi entre un greffon et plusieurs séquences cibles ou, inversement, entre une séquence cible et plusieurs greffons. De plus, la taille minimale des brins est généralement de 10 bases azotées afin d'avoir une bonne stabilité de la structure après hybridation [15].

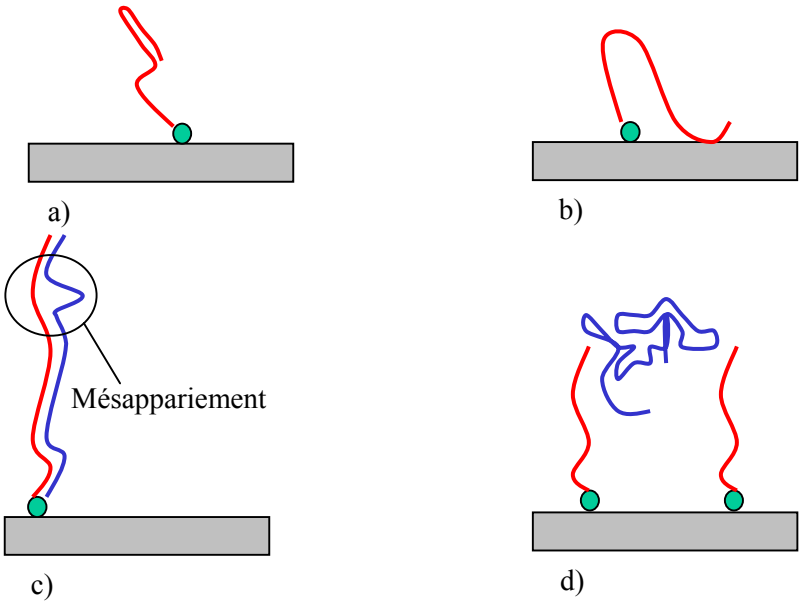


Figure 1-12: *Les raisons de la limitation de la longueur des oligonucléotides*

Nous pouvons aussi signaler que, pour des séquences synthétisées in situ ou des séquences synthétisées en laboratoire, plus le nombre d'oligonucléotides dans la chaîne est important plus le rendement de synthèse est faible, d'où l'intérêt de limiter leur longueur. Pour certaines applications, telle que l'analyse de séquences inconnues, pour couvrir l'ensemble des combinaisons possibles pour une longueur d'oligonucléotide choisie, il est préférable d'avoir des séquences courtes. En effet, pour une séquence de longueur s, sachant qu'il y a 4 types de nucléotides, il y a alors 4^s combinaisons possibles. Rien que pour 4 nucléotides, il y a alors 256 possibilités de séquençage. Dans ce cas là, ce sont les dimensions de la puce qui limitent la longueur de chaîne, ou plus précisément, le nombre de plots de greffage qu'il est possible d'intégrer sur une puce pour couvrir tout le panel de combinaisons possibles sur une même puce ADN (cf figure 1-12).

2-3. Les méthodes d'analyse

Les faibles dimensions des plots et des oligonucléotides ont nécessité de développer des moyens de détection appropriés. Dans un premier temps, l'utilisation du radiomarquage [16], qui a les avantages d'être d'une grande sensibilité, avec peu de bruit, et d'être une méthode déjà au point, a tout naturellement été choisie comme méthode d'analyse d'hybridation. L'inconvénient majeur de cette technique réside dans son faible pouvoir de résolution. De plus, l'analyse de l'hybridation par radioactivité ne peut être faite qu'une fois les étapes d'hybridation et de lavage achevées, ceci excluant donc toute analyse en temps réel.

2-3-1. Les méthodes classiques

La fluorescence, qui est déjà utilisée pour certaines applications, a de nombreux avantages [17,18]. Ces avantages sont :

- La possibilité d'utiliser de multiples couleurs pour marquer les séquences
- Une haute résolution
- La possibilité d'effectuer des mesures en temps réel par des mesures au cours de l'hybridation des variations d'intensité des rayonnements

L'analyse par fluorescence s'effectue à l'aide d'un laser qui excite les molécules fluorescentes liées aux cibles hybridées et d'un microscope à fluorescence confocal relié à un ordinateur qui capte et traite la lumière émise par excitation des fluorophores (Scanner). Un exemple d'empreinte de l'hybridation est donné sur la figure 1-13.

D'autres moyens d'analyse existent aussi ou sont en cours de développement (cf paragraphe 2-3-2), nous pouvons citer, entre autres, la détection par colorimétrie [19], des techniques électroniques ou encore la spectroscopie de masse par temps de vol.

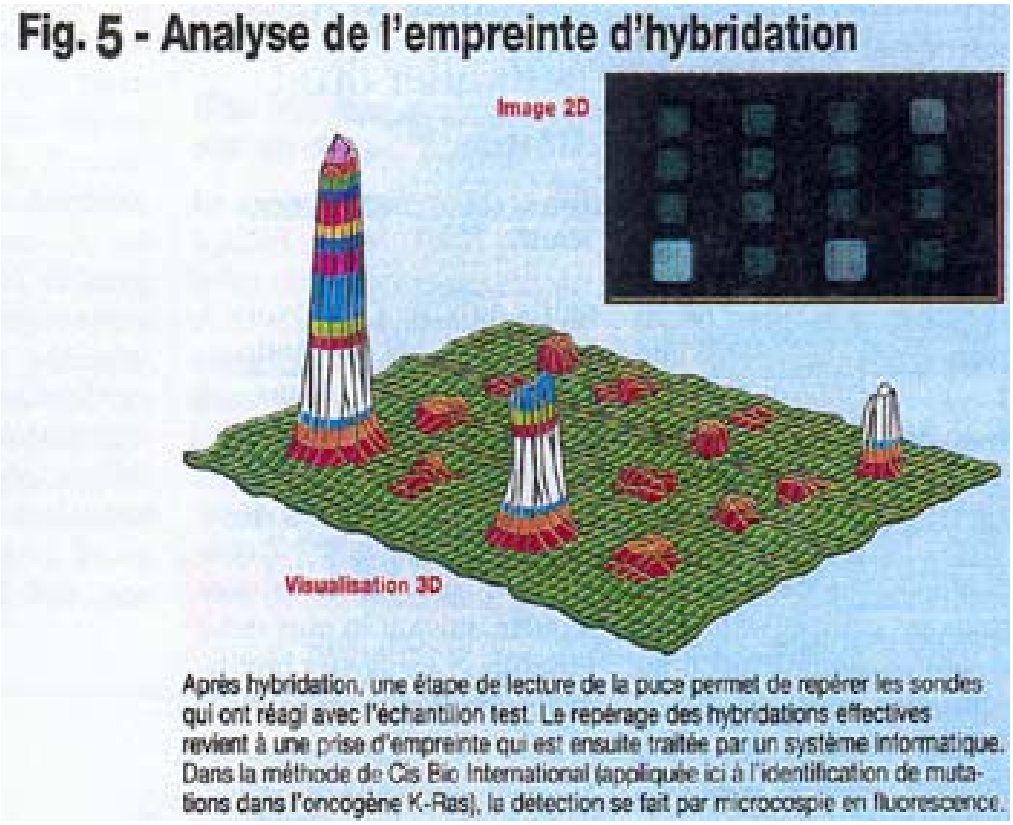


Figure 1-13 : *Analyse de l'empreinte d'hybridation par fluorescence*

Durant la dernière décennie, dans le but d'améliorer les moyens de détection, différentes techniques optiques, physiques ou électrochimiques ont été développées. Les efforts se sont surtout portés vers des moyens de détection en temps réel. On peut citer comme techniques l'ellipsométrie [20], l'analyse des ondes évanescentes à l'aide d'une fibre optique [21].

2-3-2. Les perspectives ouvertes par l'intégration silicium

L'utilisation du silicium comme support d'hybridation présente un grand nombre d'avantages pour le développement de nouvelles méthodes de détection. L'emploi de cette technologie ouvre la voie à l'intégration, sur le support, de dispositifs permettant de faciliter le greffage mais aussi la détection de signaux, l'identification et la visualisation des hybridations. On a vu grâce à cela l'apparition de techniques de détection performantes telles que la résonance de plasmon de surface [22,23], la détection électrochimique [24-27], l'utilisation de surfaces CCD [28,29] ou encore l'utilisation de matériaux piézoélectriques [30-32] etc…

3. Domaines d'utilisation [33-37]

Les domaines d'applications des bio puces sont vastes, nous pouvons énumérer une liste non exhaustive où trois champs d'application importants se distinguent particulièrement. **Ces trois domaines sont l'analyse des mutations, l'analyse de l'expression des gènes et le séquençage par hybridation**. Chacun de ces domaines présentent des exigences propres, en particulier en terme de nombre d'unité d'hybridation. Cette corrélation, entre application et caractéristiques des puces est donnée de façon synthétique par la figure 1-14.

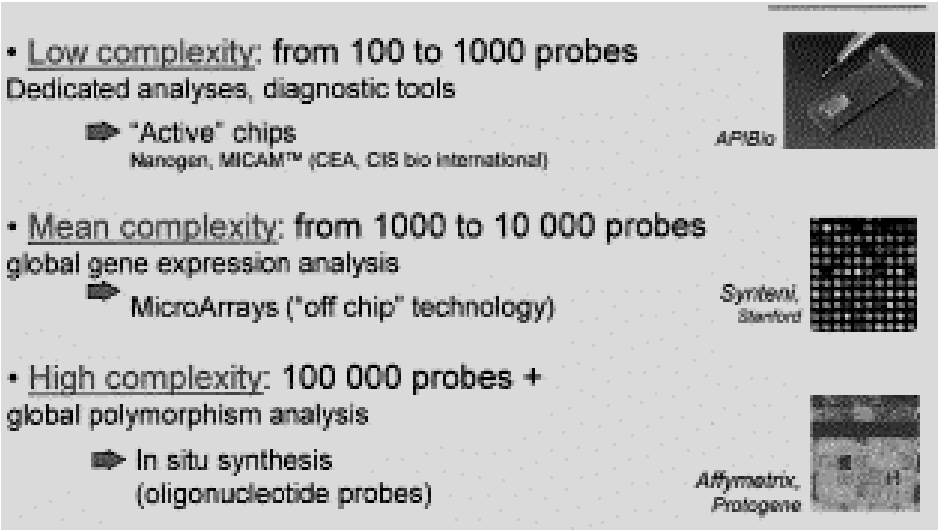


Figure 1-14 : *Corrélation entre densité d'unités d'hybridations et les applications*

3-1. L'analyse de mutations

On utilise dans ce cas une sonde de référence correspondant à la séquence sauvage avec en parallèle, plusieurs sondes identiques à une mutation prés. Ces sondes vont couvrir l'ensemble des mutations potentielles : substitution, délétion et addition. De manière générale, l'analyse de substitutions implique l'utilisation de quatre sondes, une pour la séquence sauvage et trois pour chacun des nucléotides pouvant se substituer au nucléotide original. Cette tâche s'effectue par des comparaisons de détection de sondes hybridées avec des séquences de l'échantillon testé par rapport à celle résultante de l'échantillon sauvage, le tout combiné avec une méthode faisant appel au double marquage fluorescent. Un tel procédé a été appliqué afin de détecter des mutations hétérozygotes dans l'exon 11 du gène BRCA1 [38]. Cette détection met en place des ensembles redondants et chevauchants de 14 sondes de nucléotides correspondant chacune à des types de mutations différentes et à deux sondes sauvages.

- Trois sondes pour les substitutions potentielles en position centrale.
- Trois sondes pour les insertions de 1 nucléotide en position centrale
- Cinq sondes pour des délétions en position centrale.

Pour s'affranchir des différences de conditions d'hybridation, le nucléotide étudié aura une position centrale sur la sonde. Une fois la sonde constituée, un double marquage fluorescent qui en vert (fluorescéine) correspond au type sauvage et en rouge (Coerythrine et streptavidine) est associé aux ARN test. C'est après une analyse de l'empreinte d'hybridation que l'on peut apprécier les quantités ARN de référence ou testé. C'est par un tel procédé qu'il a été possible de mettre en évidence, après l'étude de 15 échantillons test, 14 mutations connues ainsi que 8 nouveaux polymorphismes.

Les puces à ADN furent aussi utilisées dans le cadre des recherches concernant les mutations de la protéase du VIH (Cible de nombreux antiviraux). C'est grâce aux puces utilisées au cours de cette expérience que l'on a pu mettre en évidence que l'acquisition de la résistance du VIH vis à vis des médicaments résultait d'un polymorphisme naturel et non d'un phénomène adaptatif. Une puce spécifiquement dédiée à l'étude des mutations de ce gène est

d'ailleurs commercialisée par Affimetrix sous le nom de Gene Chip Tm HIV PRT (figure 1-15).

Le même principe de puce est actuellement utilisé pour le séquençage des mutations éventuelles du Virus de l'Hépatite C [39].

Ne pouvant s'appliquer que sur des brins déjà séquencés, l'analyse de mutations se voit aussi toute dédiée à l'ADN mitochondrial qui n'est présent, chez un individu, qu'en une unique version moléculaire (l'ADN mitochondrial est d'origine maternelle).

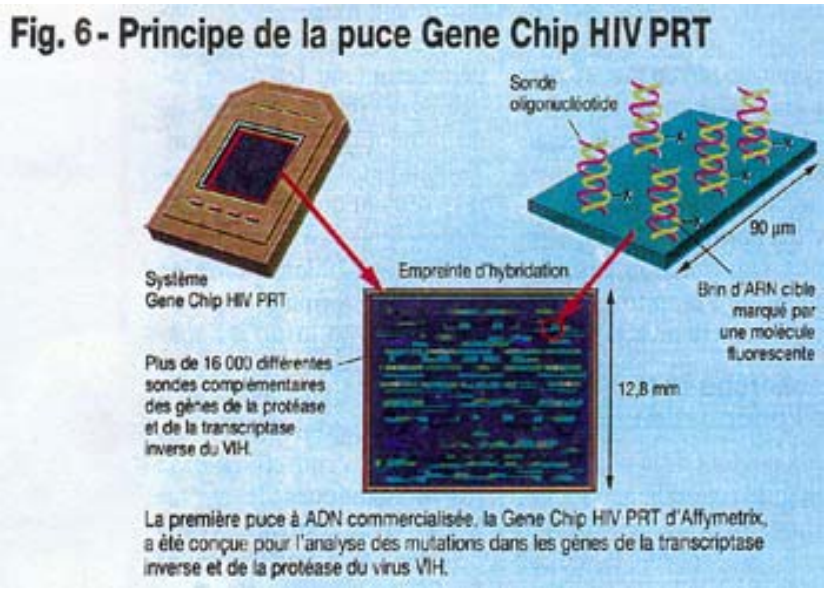


Figure 1-15 : *Analyse de l'empreinte d'hybridation par fluorescence*

3-2. L'analyse de l'expression des gènes

Une autre application majeure des puces à ADN est l'étude de ce que l'on appelle le "**transcriptome**". En général, les sondes sont formées d'ARN complémentaires, utilisées de façon redondante , c'est à dire que la représentation d'un gène se fait par environ 30 paires de sondes de 20 nucléotides. Une des deux sondes est sauvage, tandis que l'autre est mutée en position centrale.

Deux principes de mesure de l'expression des gènes peuvent être distingués :
Le premier fait appel à la comparaison avec des cibles standards ajoutées dans l'extrait. Le second est le résultat de l'analyse successive, par la même puce, d'un échantillon test et d'un échantillon de référence, les deux étant marqués par des fluorophores différents. De nouveaux procédés mis au point par Affymetrix permettent de détecter une concentration minimale de 1:300000 et devraient d'ici peu atteindre une complexité de plusieurs dizaine de milliers de gènes (1997).

3-3. Le séquençage par hybridation

Les limitations de la technique de séquençage de Sanger amenèrent les chercheurs à trouver une méthode de séquençage, pour séquencer plus et plus vite. Les puces semblaient, à l'origine, parfaitement adaptées à cette utilisation. En effet, lorsque l'on souhaite séquencer de l'ADN, la synthèse d'une grande quantité de sondes connues est nécessaire pour faire le séquençage par hybridation. Avant l'existence des puces ADN, ce travail semblait herculéen. Aujourd'hui la puce ADN permet de regrouper sur un même composant des milliers ou dizaines de milliers de cellules d'hybridation ce qui rend ce travail plus accessible.

Dans le séquençage par hybridation, une séquence nucléotidique linéaire est considérée comme un ensemble de sous-séquences chevauchantes dont la détermination simultanée et le réassemblage, au moyen d'un programme informatique spécifique, permet la reconstitution de la séquence étudiée. Etant donnée l'invariabilité des sondes fixées aux puces dans le cadre du séquençage, une industrialisation de ces dernières serait possible et faciliterait grandement la tâche des laboratoires. Cependant, il existe plusieurs obstacles à cette ouverture. Les répétitions, nombreuses dans le génome humain constituent un obstacle au séquençage par hybridation, en empêchant le calcul d'une solution unique dans la réorganisation des séquences chevauchantes.

L'équipe du biologiste Russe A.D. Mirzabekov, cherchant à résoudre le problème des répétitions de séquences, a opté pour la mise au point de puces de capacité supérieure qui, une fois couplées au principe de double hybridation, affranchit la séquence de doutes éventuels sur son intégrité [40].

3-4. Les perspectives socio économiques des puces à ADN

a) En « pharmacogénomie »

Il est bien connu que beaucoup de médicaments sont plus efficaces sur certains patients que sur d'autres. Jusqu'ici, peu d'éléments permettaient d'expliquer ces différences mais une hypothèse est que la cause pourrait être génétique. **La pharmacogénomie est la science qui permet de faire la corrélation entre un gène et une molécule pharmacologique**. En déterminant ces corrélations, il est alors possible de faire suivre le traitement optimal à un malade suivant son profil génétique.

b) En «toxicogénomie»

La toxicogénomie travaille sur la corrélation entre un organisme et une substance qui lui est toxique. Le but de cela est de déterminer et modifier le ou les gènes d'un sujet pour lui permettre de faire face à la substance toxique [41].

c) En contrôle des résistances virales

Les puces à ADN permettront bientôt de contrôler les résistances du virus du sida à différentes molécules et ainsi d'adapter au plus juste les traitements. Certains d'entre eux ayant de nombreux effets secondaires il est préférable de connaître au préalable la pertinence de telle ou telle stratégie de traitement.

d) En contrôle de la qualité de l'eau

Le contrôle de la qualité de l'eau passe aujourd'hui par l'analyse de 64 paramètres de qualité dont certains doivent être surveillés en permanence. L'association de Bio-Merieux et de la Lyonnaise des Eaux dans le projet Aquagen a pour objectif une amélioration technique et une réduction des coûts de l'analyse de l'eau. Les puces à ADN permettent de détecter la présence, même en très faible quantité, d'un micro-organisme en le reconnaissant à travers son

empreinte génétique. L'utilisation de puces à ADN permet un diagnostic et donc une intervention plus rapide et moins coûteuse.

e) En remplacement des anticorps monoclonaux

Il se pourrait en effet, que des ARN artificiels soient effectivement capables de remplacer des anticorps monoclonaux et cela sans pour autant atténuer les affinités obtenues avec l'utilisation d'anticorps classiques. Une expérience de ce type à été réalisé dans le cadre d'une étude sur l'hormone TSH (Thyroïde Stimulating Hormone), ou encore à l'aide du mode de microscopie à champ proche qui a été essayé au cours du dosage de l'ACE (Angiotensine 1 Converting Enzyme).

f) En immuno-analyses

Les puces à ADN devraient permettre l'accès aux immuno-analyses simultanées du même prélèvement pour le diagnostic moléculaire des maladies infectieuses ou encore, dans le cadre de recherche sur les résistances aux antibiotiques.
Les puces à ADN risquent de bouleverser les recherches en Génétique, grâce à la mise au point imminente de puces de polymorphismes dont les applications seront des plus nombreuses: l'étude de la diversité génétique dans le cadre de la génétique des populations, l'établissement de cartes génétiques affinées et la recherche accélérée sur les maladies à origine génétique (dépistage, facteurs de risque...)

4. Principes de fabrication des puces à ADN [42]

Les puces ADN sont des composants intégrant des séquences ADN mono-brins sur des supports solides. Le principe fondamental est déjà relativement ancien comme nous l’avons déjà évoqué. Ce qui est nouveau aujourd’hui c’est l’idée de s’appuyer sur les micro et nano technologies pour réaliser, sur un même support, de nombreux points de mesure avec une grande flexibilité de fabrication et un coût suffisamment réduit pour que la biopuce soit un produit jetable.

Pour l'instant, les spécifications générales des biopuces sont de pouvoir :

- **Immobiliser** des monobrins d'ADN dans les points de mesure
- De réaliser des opérations successives d'hybridation
- De réaliser des **caractérisations** in-situ ou de permettre l'accès ponctuel à des moyens de mesures

Nous allons successivement détailler les points clefs de ces spécifications générales.

4-1. Les supports

Différentes méthodes permettent de fixer des monobrins ADN sur un support. D'une manière très générale, les méthodes peuvent aller de la simple adsorption (sur les support cellulose par exemple), au greffage covalent, à l'utilisation de polymères spécifiques ou à l'utilisation d'affinité moléculaires (biotine-streptavidine par exemple).

Les supports se présentent sous la forme de surfaces planes ou structurées (percées de puits) réalisées à partir de différents matériaux. Le choix du matériau utilisé est important. Il doit présenter les caractéristiques suivantes : faible niveau de dispersion de la lumière, bruit de fond de fluorescence négligeable, bonne stabilité chimique et capacité à fixer de façon non spécifique un type d'acide nucléique plutôt qu'un autre. Un matériau comme le verre répond parfaitement à ces critères. C'est le support qui a été le plus couramment employé mais il existe aussi d'autres matériaux tel que le silicium ou les polymères qui sont de plus en plus utilisés. Le type de support choisi est en général lié à la technique utilisée pour la fabrication des puces à ADN.

a) Le verre

Les avantages du verre comme support sont nombreux. Le verre est un matériau inerte, peu onéreux, non polaire et mécaniquement stable. De plus sa transparence naturelle facilite la lecture en fluorescence des empreintes d'hybridation. Le verre est aussi bien utilisé pour des

synthèses in situ des oligonucléotides que pour des fixations d'oligonucléotides pré-synthétisés. Il n'est pas utilisé tel quel mais est d'abord traité chimiquement pour rendre sa surface réactive vis-à–vis des groupements qu'on souhaite y fixer. Cette première étape est appelée étape de fonctionnalisation. Les supports de verre les plus utilisés sont les lames de verre pour microscope. Les méthodes de fonctionnalisation peuvent être variées : Affymetrix active les surfaces par des molécules de silane possédant des groupement amine ou hydroxyle [43], les chercheurs de l'Université de Standford déposent une couche adhésive de poly-L-lysine [44-45], le groupe de E.D. Southern fonctionnalise par l'hexaéthylène glycol avec comme groupement terminal une fonction hydroxyle [46] etc…

b) Le silicium

Le silicium a l'avantage d'être très abondant, d'avoir des propriétés semi-conductrices de pouvoir une fois oxydé (SiO_2) appliquer les technologies mises au point sur le verre et surtout de permettre l'utilisation des technologies existant dans le domaine de la micro électronique. Le silicium peut être utilisé de façons diverses : on peut le fonctionnaliser comme le verre par exemple, par une activation à l'aminopropyltriéthoxysilane (Laboratoire IFOS de l'école centrale de Lyon) [47]. L'utilisation d'un support en silicium permet, à travers la technologie micro électronique, de réaliser des support actifs (Nanogen, Apibio). Les aspects seront repris plus en détails dans le paragraphe consacré aux techniques de fabrication des puces ADN.

Sur la figure 1-16, sont présentés des agents de fonctionnalisation utilisés pour le verre ou le silicium [42].

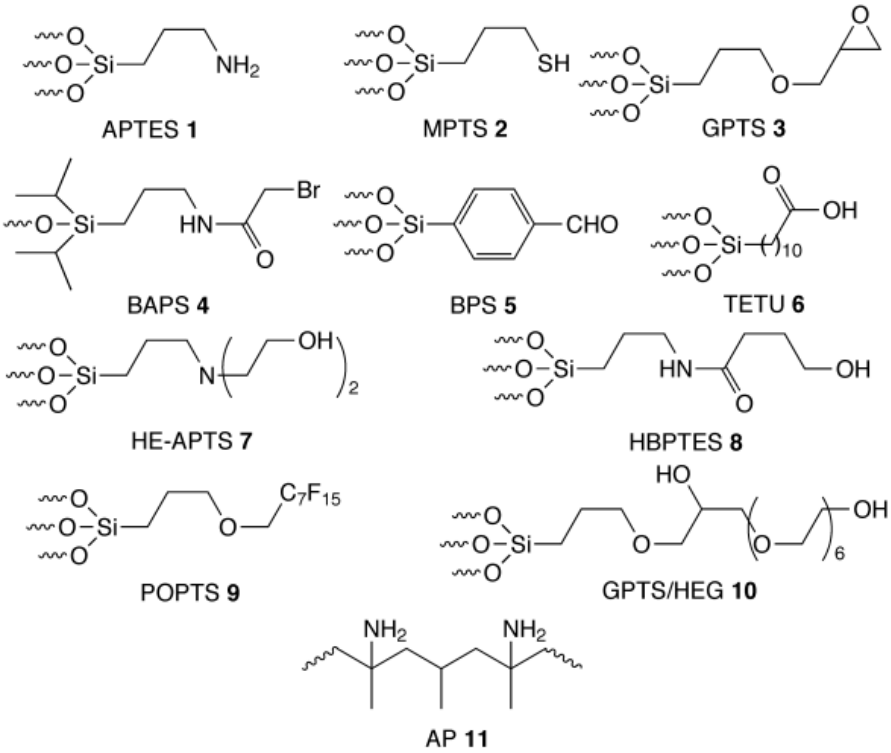


Figure 1-16 : *Agents de fonctionnalisation des surfaces de verre ou de silicium.*
APTES=aminopropyltriethoxysilane, MPTS=3-mercaptopropyltrimethoxysilane, GPTS=glycidoxypropyltrimethoxysilane, HE-APTS=bis(hydroxyethyl)aminopropyltriethoxysilane, HBPTES=hydroxybutyramide propyltriethoxy silane, POPTS=(perfluorooctyloxy)propyltriethoxysilane.

c) Les polymères

La fonctionnalisation des supports ne constitue pas la seule manière de fixer les sondes sur le support, il existe un autre moyen qui est de faire un dépôt de polymère sur le verre ou le silicium. On dépose soit une couche de polymère soit des carrés de polymère recouvrant la zone de la cellule d'hybridation. L'utilisation des polymères peut avoir plusieurs intérêts, d'une part augmenter la densité de sonde par cellule d'hybridation, c'est le cas, par exemple des supports utilisés par Andrei Mirzabekov. La couche de polyacrylamide est rendue réactive non pas seulement en surface mais dans le volume, et en conséquence, la densité de sondes est beaucoup plus importante que dans les cas classiques. Le dépôt d'un polymère peut aussi permettre de modifier les propriétés de surface du support : dans le cas du verre, le support est hydrophile, en déposant un polymère, on peut rendre le support hydrophobe, ce qui peut être intéressant (méthode Protogene).

4-2. La fonctionnalisation des surfaces

Le choix du substrat est conditionné par le type d'utilisation à laquelle la puce est destinée mais aussi à la technique de fabrication. Sur le substrat, sont fixés des séquences mono brins d'ADN par fixation d'un oligonucléotide pré-synthétisé ou par synthèse in situ. Cette fixation, sur le support, se fait généralement, comme nous l'avons déjà dit, par simple adsorption, par greffage covalent, par l'utilisation de polymères spécifiques ou par l'utilisation d'affinités moléculaires.

Quel que soit le mode de fixation, un point commun à la plupart des techniques existantes est, dans la majorité des cas, l'utilisation de molécules intermédiaires dites espaçantes. Les espaceurs (linker en anglais) sont fixés sur la surface activée. Utilisées comme intermédiaires entre la surface et la sonde, ces molécules, de taille variable, permettent un affranchissement vis-à-vis des propriétés de surface des supports, lesquelles s'avèrent souvent gênantes pour la synthèse (ou la fixation) des sondes. L'utilisation des espaceurs facilite aussi l'hybridation lors de la mise en présence de la solution cible, ils permettent de diminuer l'encombrement stérique lié à la densité de molécules et à la présence du support, ils permettent, lors de l'hybridation, d'être dans un environnement proche des conditions en solution. Les espaceurs les plus utilisés sont les oligomères à base d'éthylène glycol ou des séquences de thymine mais on trouve aussi des espaceur à base d'un squelette silane comme l'époxysilane, aminopropyltriéthoxysilane etc… (cf figure 1-17).

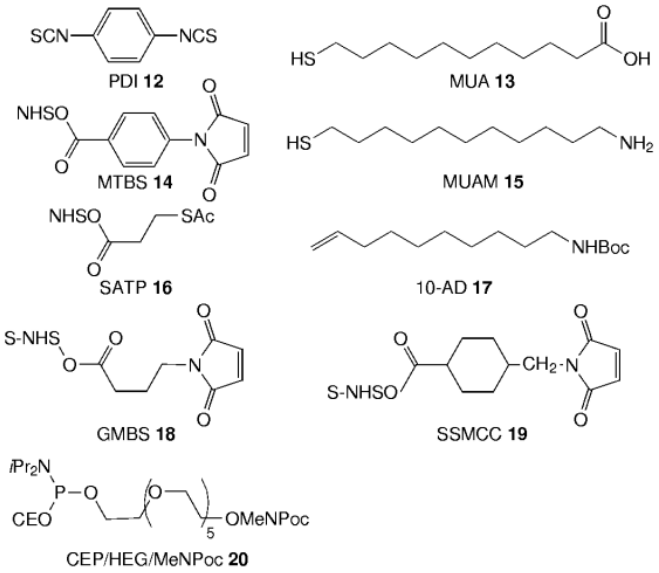


Figure 1-17 : *Molécules espaçantes. S-NHS=sulfo-succinimidyl, Boc=tert-butoxycarbonyl, MeNPoc=((α-methyl-2-nitropiperonyl)oxy)carbonyl, PDI=1,4-phenylenediisocyanate, MUA=11-sulfanylundecanoic acid, 11-MUAM=mercaptoundecylamine, 10-AD=10-amino-1-decene [15].*

4-3. Les techniques de fabrication

De nombreuses compagnies commercialisent déjà des appareils qui permettent de fabriquer soi-même des puces ADN. Ils fonctionnent en général avec des pipettes robotisées qui permettent de transférer les réactifs d'un réservoir vers le substrat à fonctionnaliser. Le diamètre de la pointe et la viscosité de la solution déterminent les caractéristiques des volumes transférés ainsi que la résolution du dépôt. En jouant sur ces paramètres, la densité de plots peut être relativement importante mais assez limitée tout de même (unités d'hybridation de 50 à 150µm et densité d'environ 10 000 unités pour une surface de 3,6cm^2). Même si aujourd'hui la tendance est à l'utilisation de micropipettes, il existe d'autres méthodes ; méthodes photolithographiques, utilisation de micro-injecteurs ou encore utilisation d'électrodes… en attendant le développement de la nanotechnologie. D'une manière générale, il existe deux voies possibles pour fixer les séquences d'ADN sur un support : la synthèse in situ des oligonucléotides et la fixation des sondes pré-synthétisées. Le choix d'une technique est souvent conditionné par le type d'utilisation qui sera fait de la puce.

4-3-1. La fixation d'oligonucléotides pré-synthétisés

Les biopuces basés sur la réalisation de matrices d'oligonucléotides pré-synthétisés ont largement été développées. Les paramètres qui doivent être pris en compte, dans cette approche, sont : la nécessité de fonctionnaliser les supports par des fonctions chimiques assurant la fixation des sondes, la capacité à délivrer de faibles volumes de solution de séquences d'ADN sur le support et enfin la nécessité de désactiver les groupes fonctionnels qui n'ont pas réagi sur le support. Trois types de méthodes pour amener l'oligonucléotide en petite quantité à la surface du support ont été développés : le dépôt de la solution à l'aide de capillaires ou micro pipettes effectué par un bras robotisé [48], le dépôt par éjection et enfin l'adressage électrique par électrodes.

a) L'adressage mécanique

En 1989, A. Mirzabekov (Argonne, Illinois) en collaboration avec des chercheurs de l'Institut de Biologie Moléculaire de Moscou arrivaient à fixer des oligonucléotides sur des

plots de gel de polyacrylamide rendu réactif par un traitement à l'hydrate d'hydrazine [49-50]. Synthétisées par un appareil de facture classique, les sondes fonctionnalisées pour le couplage sont disposées sur des plaques de microtitration. Les oligonucléotides nécessaires sont prélevés et placés sur les plots par l'intermédiaire d'une micropipette robotisée. La température et le déplacement de l'aiguille sont contrôlés par ordinateur.

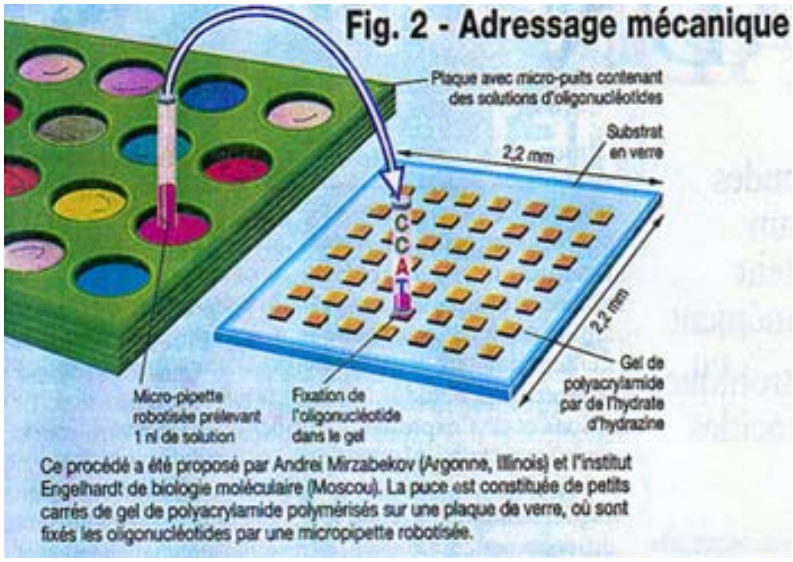


Figure 1-18 : *Adressage mécanique.*

Au milieu des années 90, l'équipe américaine de joseph Derisi (Université de Stanford) a mis au point une méthode qualifiée "d'impression d'ADN" utilisant un appareil automatisé dénommé Arrayer (cf figure 1-19a) [45, 51,52]. Des pointes comparables à quatre très fines pinces à épiler chargent par capillarité 5nl d'une solution de sondes purifiées à partir de quatre plaques de microtitration. Le dépôt des sondes sur une lame de verre conduit à la formation de sites d'hybridation dont les centres sont distants entre eux de 450µm. Cette méthode a permis l'obtention d'une matrice de 1cm^2 portant 1161 unités d'hybridation. Cet appareil est aujourd'hui commercialisé.

b) L'utilisation de jets

Le dépôt de réactifs sur support par utilisation de jets a été étudié par de nombreux groupes (T. Okamoto et al. [53-54], société Incyte [55], MicroFab [56,57], L.R. Allain [58] etc…). Contrairement au cas de l'adressage mécanique, il n'y a pas, ici, de contact entre le support et l'éjecteur. Un autre avantage par rapport à l'adressage mécanique est la possibilité

d'atteindre des densités de cellules supérieures : on peut envisager d'atteindre des densités de 100 000 unités d'hybridation de 25 à 30µm sur une surface de $4cm^2$. Pour pouvoir faire un dépôt par jet, l'outil utilisé s'inspire de la technologie des imprimantes à jet d'encre : les gouttelettes peuvent être générées par des injecteurs piézoélectriques ou à bulles de gaz. Le problème lié à ce type de dépôt est de savoir si la chaleur ou le stress généré par l'injecteur lors de l'éjection dégrade ou non les séquences d'ADN. En effet, lors de l'éjection par un injecteur thermique, la température à laquelle est exposé l'ADN est au moins 200°C et le stress de $10m.s^{-1}$. Il a été montré que les oligonucléotides de 10 à 300 unités monomères ne subissent pas de dommages liés à ce type d'éjection [53].

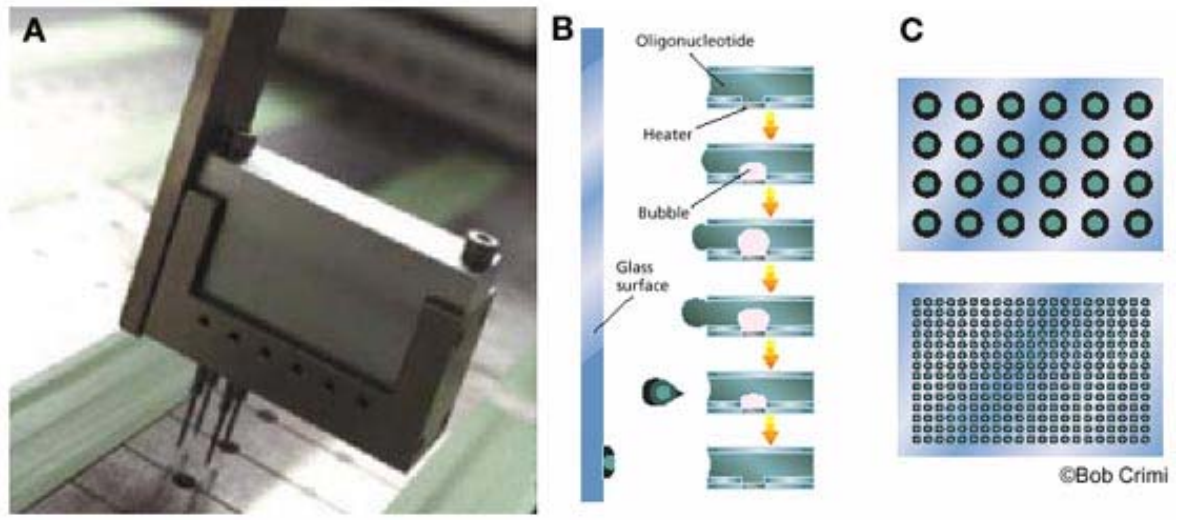


Figure 1-19: *Technique par injection et comparaison avec l'adressage mécanique. (A) : adressage mécanique, (B) adressage par jet, (C) :comparatif de densité de plots entre les deux techniques.*

c) L'adressage électrophorétique ou électrochimique

La société Nanogen a, dans les années 90, exploré les possibilités offertes par leur système "Active Programmable Electronic MatriX" (APEX) de contrôler individuellement chaque unité d'hybridation, par un champ électrique généré par une électrode. Ce contrôle permet le ciblage et la fixation séquentielle des sondes, l'accélération de l'hybridation et l'amélioration de la spécificité du signal par l'adaptation des conditions locales de stringeance de lavage à la constante de dissociation de la sonde portée par une unité d'hybridation [59-63]. L'utilisation d'un champ électrique positif pour concentrer les oligonucléotides dans la

zone de l'électrode est possible car ceux-ci sont chargés négativement à cause des groupements phosphates. Aujourd'hui, Nanogen arrive à intégrer de 25 à 10 000 microélectrodes de 80 à 25µm en utilisant les technologies microélectroniques. Sur les électrodes est déposé une couche de 1 à 10µm de streptavidine-agarose qui est perméable. Cette couche permet de protéger les oligonucléotides des dégradations possibles liées à l'électrode, elle permet aussi d'immobiliser la biotine fixée sur l'oligonucléotide (12 à 26-mers). Pour pouvoir actionner de façon indépendante des électrodes sur des matrices de plus de 10*10 électrodes en minimisant les connections externes, la matrice est intégrée sur silicium en utilisant la technologie CMOS-FET (Complementary Metal Oxide Semiconductor-Field Effect Transistor).

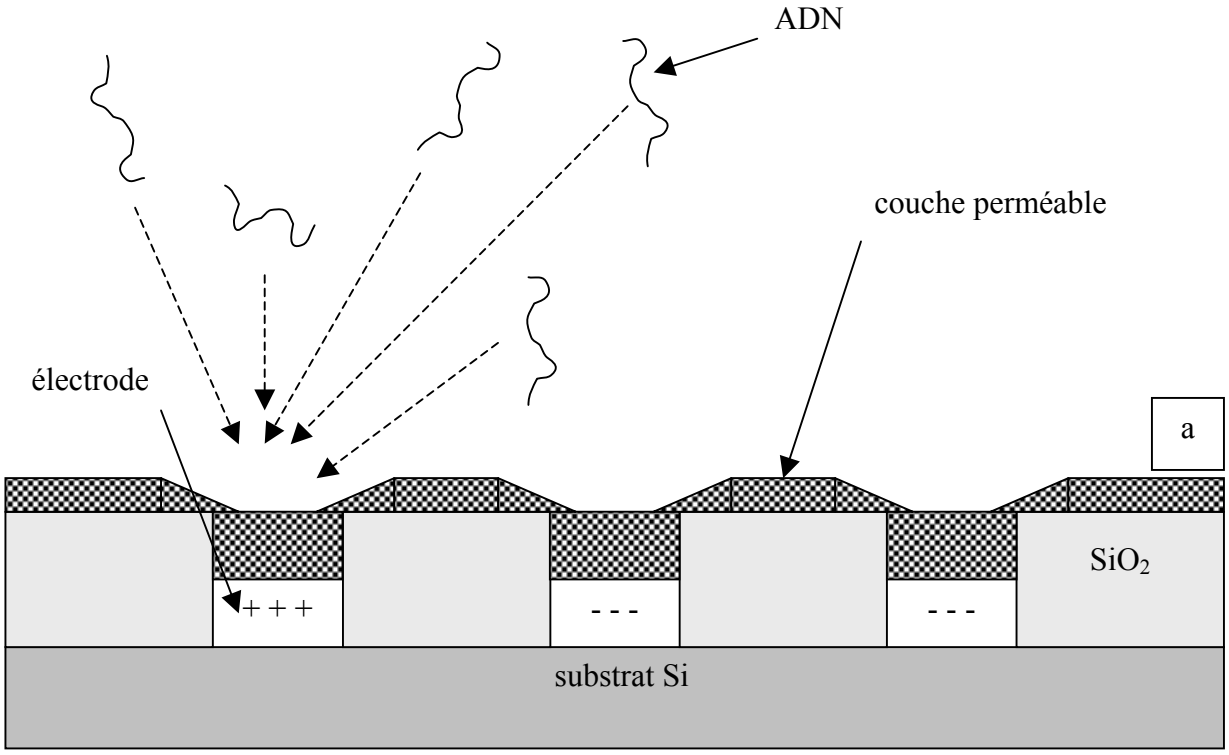


Figure 1-20a : *Technique Nanogen : schématisation du fonctionnement des électrodes, l'électrode positive attire les oligonucléotides tandis que les électrodes négatives les repoussent.*

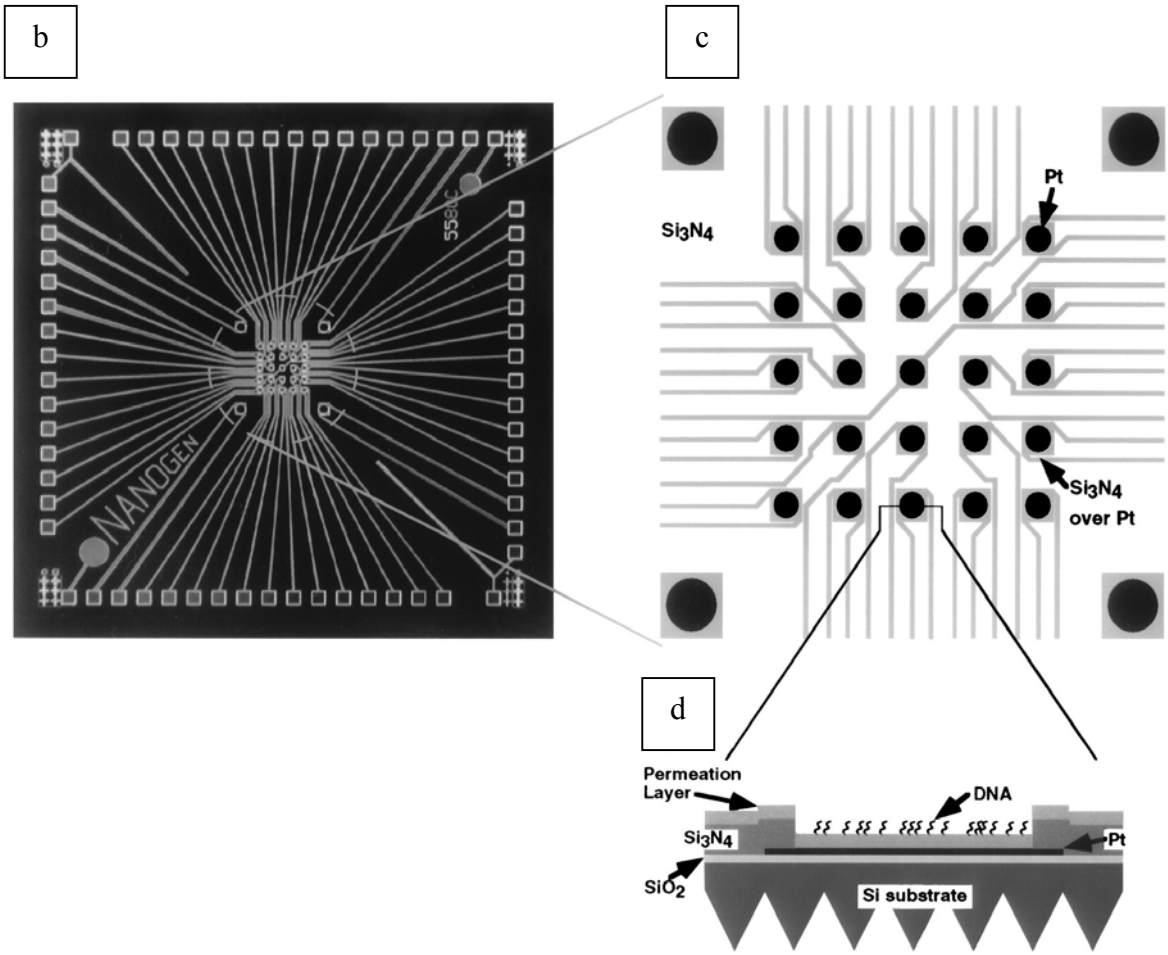


Figure 1-20b, c, d : *(b) et (c) : photo et schématisation d'une puce à ADN de 25 électrodes de Nanogen ; (c) : schématisation d'une cellule d'hybridation.*

La société Cis Bio International (aujourd'hui APIBIO), en collaboration avec le CEA-DRFMC et le CEA-LETI, a développé une méthode originale de ciblage d'oligonucléotides [64-68]. La puce, réalisée sur un support en silicium, comprend plusieurs micro-électrodes de platine contrôlées individuellement. Le principe de la méthode développée par Cis Biointernational repose sur le pilotage électrique d'une réaction de copolymérisation mettant en jeu le pyrrole et une molécule nommée pyrrole-ODN. Ce dernier est constitué de pyrrole associé de façon covalente, via une molécule espaçante, à un oligonucléotide obtenu au moyen d'un synthétiseur automatique. Ce procédé est conduit à la surface des microélectrodes en or ou en platine. La mise sous tension sélective des électrodes organisées en matrice permet la formation, en des sites spécifiques, d'un fin film conducteur (environ 50nm d'épaisseur) insoluble et très homogène de pyrrole sur lequel sont greffés les oligonucléotides. Le taux d'incorporation d'un oligonucléotide donné en un site spécifique dépend de la

méthode d'électropolymérisation du pyrrole et varie entre 0,6 et 1,8pmol.cm^{-2}. Sur les puces à ADN d'Apibio, il y à jusqu'à 400 électrodes indépendantes de 80µm. Les électrodes sont disposées en matrice 20 par 20 (figure 1-21a). Aujourd'hui le CEA, en utilisant un dépôt par jet sur des électrodes en or arrive à des densités de cellules de 81000 (figure 1-21b) [37].

Les figures 1-21b et 1-22 illustrent cette méthode de réalisation des puces ADN.

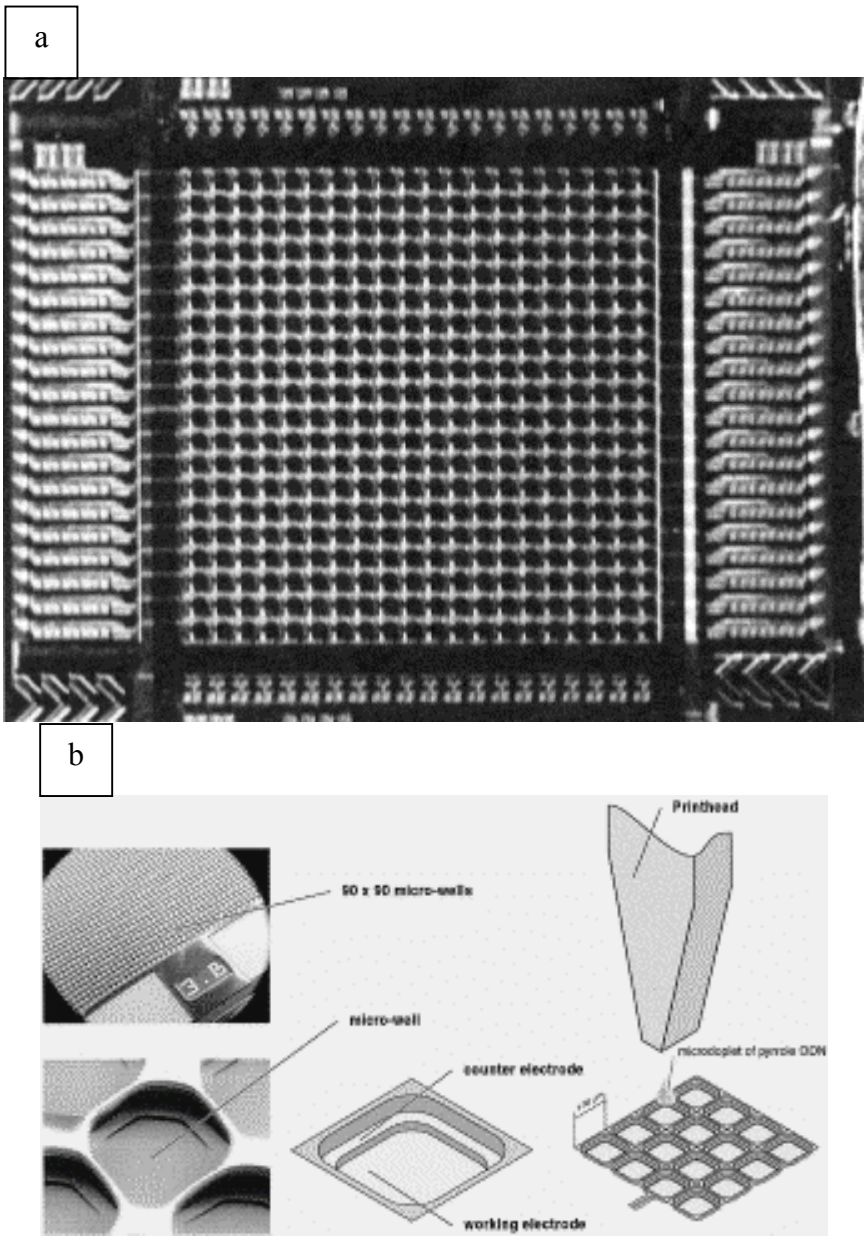
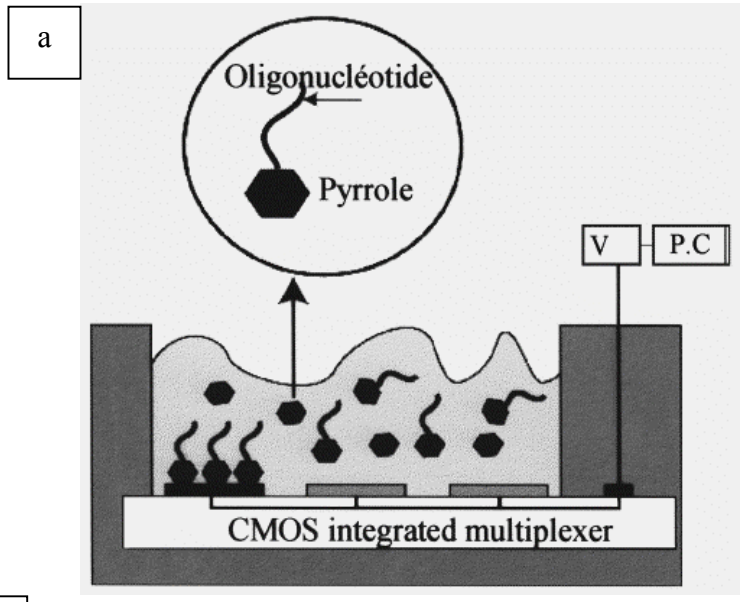


Figure 1-21 : *(a) : photo de la matrice à 400 électrodes ; (b) : dépôt des oligomères par éjection sur les cellules d'hybridation[37].*



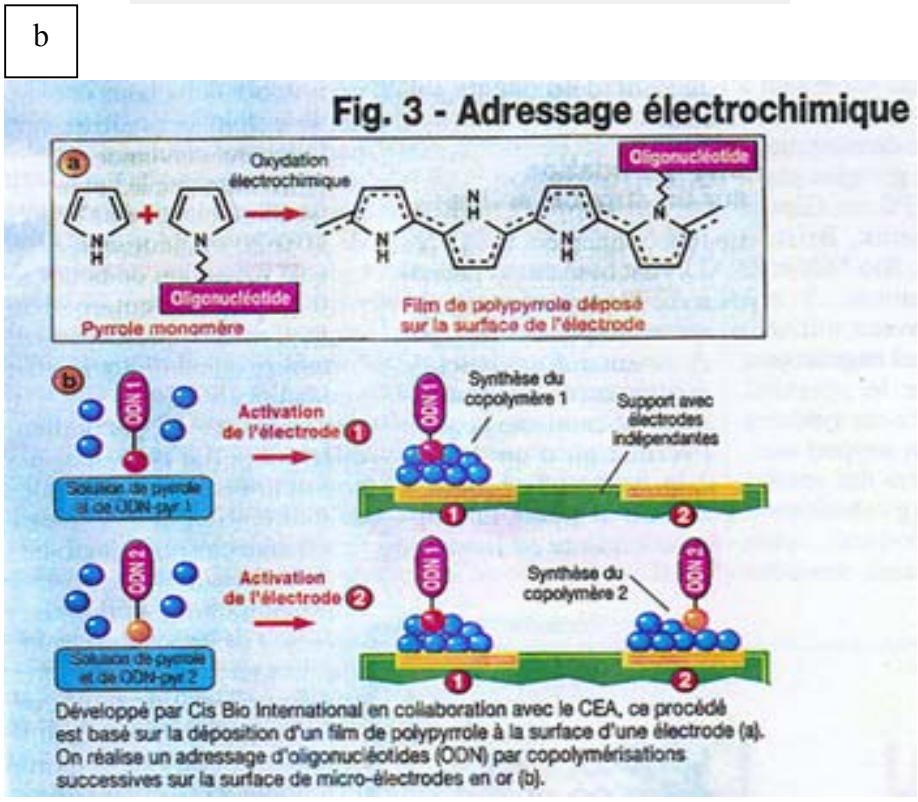


Figure 1-22 : *Adressage électrochimique. (a) : schématisation de l'attraction par l'électrode chargée positivement ;(b) : fixation par copolymérisation.*

4-3-2. La fixation des oligonucléotides par synthèse in situ

La synthèse des sondes de façon in situ sur la biopuce repose sur l'utilisation d'un synthétiseur automatique d'oligonucléotides "couplé" à la surface de la puce. L'utilisation d'un synthétiseur pour la réalisation de sondes par voie in situ ne permet pas aujourd'hui

d'atteindre des densités de cellules importantes, c'est pourquoi cette méthode est souvent réservée à une utilisation de laboratoire. A l'inverse, l'adressage photochimique, mis au point par Affymetrix [69, 70], relève d'une technologie beaucoup plus évoluée qui, à la croisée de l'électronique et de la chimie combinatoire, a suscité un vif engouement et est déjà exploitée à l'échelle industrielle.

L'intérêt majeur de cette approche est qu'elle consiste en une méthode combinatoire qui permet de synthétiser une grande variété de séquences d'oligonucléotides en parallèle avec des temps de fabrication courts. L'inconvénient de cette technique est que la longueur des oligonucléotides synthétisés reste limitée à cause des faibles rendements des réactions de photo-déprotection (91-94% pour les groupement MeNPOC qui sont les plus utilisés). Pour des séquences de 25 monomères, le taux d'obtention de chaîne complète n'est que de 12 à 21%. Pour ces raisons, les séquences ont des longueurs qui n'excèdent généralement pas 25 à 30 unités monomères.

Pour la synthèse in situ, deux stratégies d'élaboration existent. Les deux voies comportent des étapes de déprotection et de couplage, la différence vient de la manière d'amener les sondes sur le support. On peut soit déprotéger collectivement et déposer d'une manière localisée sur chaque cellule d'hybridation les nucléotides que l'on souhaite immobiliser, soit déprotéger individuellement et déposer la solution d'oligonucléotides collectivement sur toute la surface du support. Plusieurs techniques de synthèse in situ ont été développées, nous ne rappellerons ici que les principales.

a) Les méthodes photolithographiques

La méthode photolithographique a été développée par la société Affymetrix. Dans cette méthode, la synthèse des différents oligonucléotides peut se faire en parallèle, niveau par niveau comme nous pouvons le voir sur la figure 1-23. Ce procédé nécessite un support prétraité qui permet la fixation de la première couche de nucléotides. Les molécules assurant le greffage des nucléotides ainsi que les nucléotides à greffer comportent des groupements protecteurs photolabiles. La synthèse des chaînes se fait par l'utilisation d'un jeu de masques. Chaque masque permet d'irradier sélectivement aux UV des unités d'hybridation (1min de durée à une longueur d'onde de 365nm et une puissance de 1kW). L'exposition aux UV a

pour effet d'enlever les groupements protecteurs. Les molécules dont le groupement protecteur a ainsi été ôté peuvent alors réagir avec les nucléotides (équipés eux aussi d'un groupement protecteur pour éviter toute réaction en chaîne) en présence. Il faut ainsi quatre masques différents pour pouvoir greffer successivement les quatre bases azotées et avoir un niveau de synthèse, c'est à dire pour que tous les sites réactifs aient réagi. La succession d'étapes de déprotection et de réaction permet la synthèse des séquences de bases azotées pour chacun des sites réactifs situés sur le support solide. Typiquement, la longueur des chaînes synthétisées de cette façon n'excède pas 30 unités de monomères. Le nombre de sondes immobilisées sur un support de 1,6 cm^2 est supérieur à 400 000. Aujourd'hui la résolution des puces commercialisées par affymetrix est de 50µm et les prochaines générations seront de 25µm [69, 71-74].

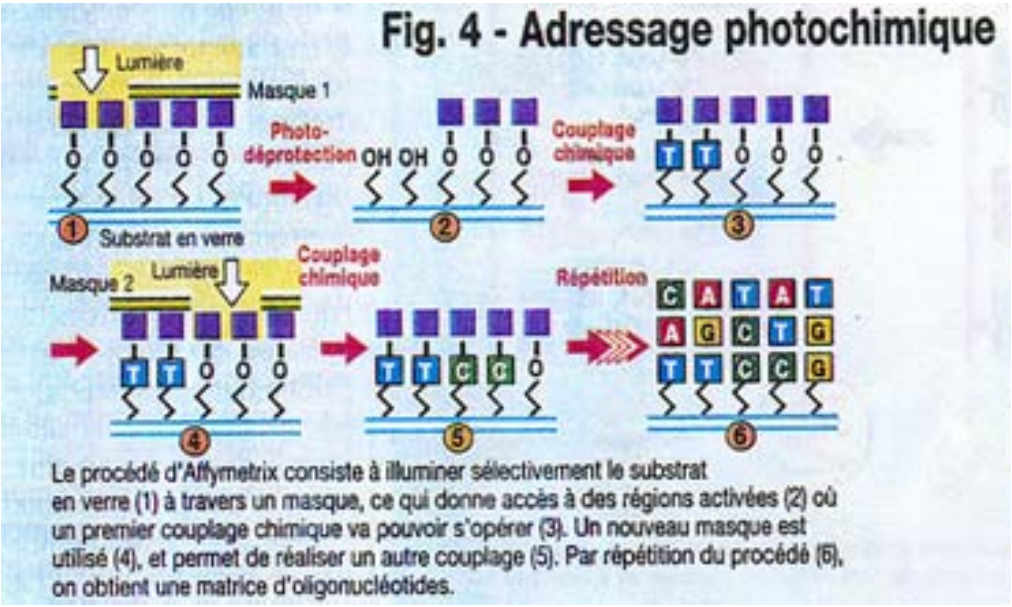


Figure 1-23 : *adressage photochimique développé par Affymetrix*

Résolution en micromètre	500	200	100	50	20	10
Densité des unités d'hybridation	400	2 500	10 000	40 000	250 000	1 000 000

Tableau 1-1 : *Tableau donnant la relation entre résolution des appareils de photolithographie et la densité des cellules d'hybridations*

Une méthode alternative a également été développée par les chercheurs d'affymetrix en collaboration avec IBM : cette technique utilise 2 couches physiques de protection [75]. La première est la couche de groupements protecteurs photolabiles comme pour la technique classique et la deuxième est une couche de résine époxyde photosensible comme on en utilise en micro technologie.

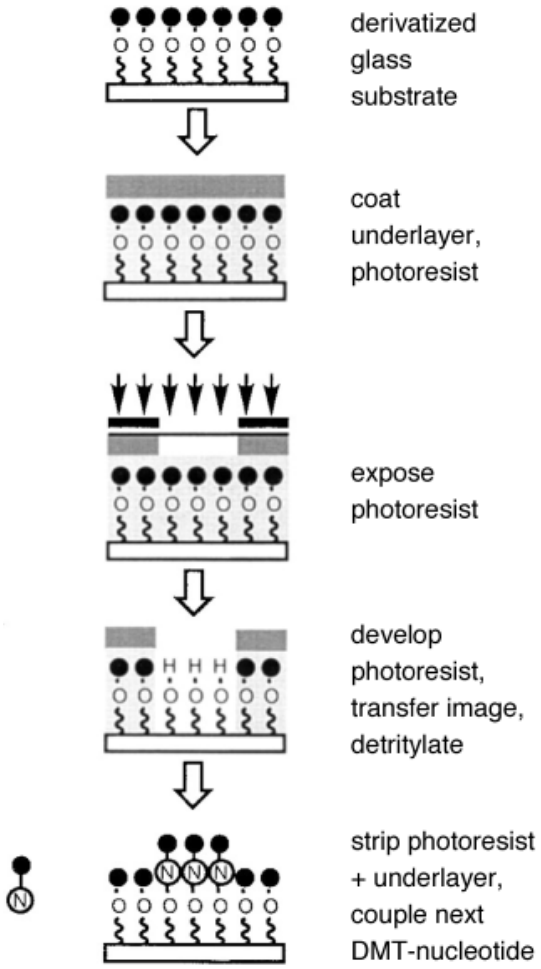


Figure 1-24 : *Adressage photochimique développé par Affymetrix et IBM (image tiré de la référence [14])*

Récemment, deux groupes de recherche ont développé une nouvelle technique photolithographique qui, contrairement à Affymetrix, n'utilise pas de masques pour activer les cellules mais utilise des réseaux de micro miroirs pour orienter la lumière sur les cellules à activer. Les systèmes de projection optique utilisés par l'Université du Wisconsin [76] sont commercialisés par NimbleGen et ceux utilisés par l'Université de Houston [77] sont commercialisés par Xeotron. Dans ces techniques, on utilise une surface de verre de 1,5*1,5cm^2 sur laquelle des lignes en fluorocarbone servent à délimiter les cellules. Il y a

48*48 cellules de 300µm. Le groupement protecteur photolabile utilisé est le DMTr dont le rendement de réaction de déprotection est meilleur que celui du MeNPoc (94 à 98%).

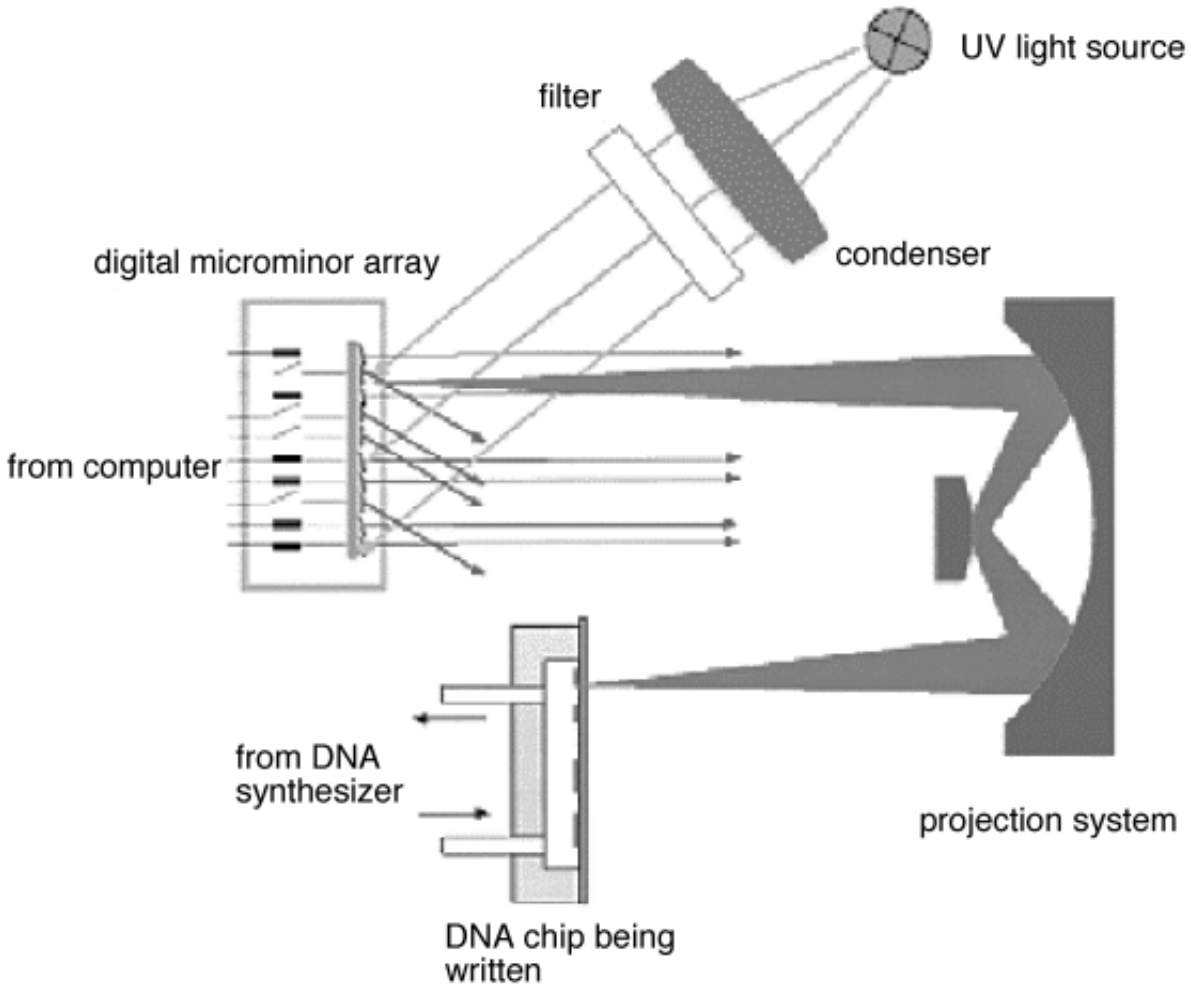


Figure 1-25 : *Appareil de réflexion optique à base de réseaux de micro miroirs pour photolithographie.*

b) Le masquage physique

Les techniques utilisant des masques physiques sont plus rudimentaires que la méthode développée par affymetrix. Ces techniques ont été développées par les Universités d'Oxford (E.D. Southern) et de Beckman (R.S. Matson). La méthode développée par E.D. Southern et al repose sur le dépôt de nucléosides protégés sur un support de verre [78]. La réaction se déroule dans une cellule de téflon étroitement jointe à la surface du verre et connectée à un synthétiseur d'oligonucléotides programmé de façon à coupler les nucléosides dans un ordre défini. Le téflon sert de masque. La lame est déplacée manuellement sur un rail selon un motif

défini en fonction de la séquence à synthétiser. Chaque étape de couplage dure 8 min et le déplacement du support est réalisé en 1 min par un opérateur. La déprotection du groupement protecteur se fait par insolation UV.

Suivant un protocole assez proche de celui de E.D. Southern, Jan Weiler et al (Heidelberg, Allemagne) [79] réalisent des puces ADN sur polypropylène. Cette technique a la particularité d'avoir une immobilisation de sonde réversible par simple traitement chimique (solution de 30% de NH_3).

Les chercheurs de Beckman [80] on développé une technique où, sur une surface de verre, est déposée une couche de polypropylène qui a peu d'affinité avec les acides nucléiques. Cette surface est traitée afin de créer des fonctions amines. L'espaceur utilisé est une séquence de thymine.

c) La synthèse in situ par utilisation de jets

La technique de synthèse in situ par utilisation de micro injecteurs est une méthode en cours de développement, les intérêts de la technique du jet ont déjà été explicités dans le paragraphe 4-1-2. Les chercheurs de Combion utilisent des éjecteurs piézoélectriques comme représentés sur la figure 1-26a [81]. Leur méthode utilise le polyéthylène glycol comme espaceur, celui-ci est protégé par une fonction chimique. Le jet dispense des agents chimiques permettant la réaction de déprotection. Le support de la puce est couplé à un synthétiseur d'ADN. Le cycle d'une étape dure 10 min, le rendement de chaque étape de ce procédé est d'environ 91%.

La méthode Protogene utilise elle aussi des injecteurs piézoélectriques (figure 1-26b) [82, 83]. Les buses des éjecteurs sont de 40 µm et délivrent des gouttelettes de l'ordre de 33pL à des vitesses de 1 à $10 m.s^{-1}$. Il faut trois gouttelettes pour remplir une cellule de réaction de 50µm. Les injecteurs individuels sont empilés de façon à réaliser une tête d'impression de 64 buses espacées de 400 µm. Les injecteurs sont connectés au même réservoir et sont actionnables indépendamment. Les têtes d'impression sont remplies chacune d'une base différente. Avec une fréquence de 1Khz, les têtes d'impression déposent les

monomères sur une matrice de 512*512 cellules d'hybridations (262000 sites) en 32 secondes. Une autre originalité de cette méthode est que la surface du support subit un traitement de manière à rendre certaines parties de cette surface non mouillables. Ainsi, le liquide déposé par éjection reste cantonné dans la zone mouillable.

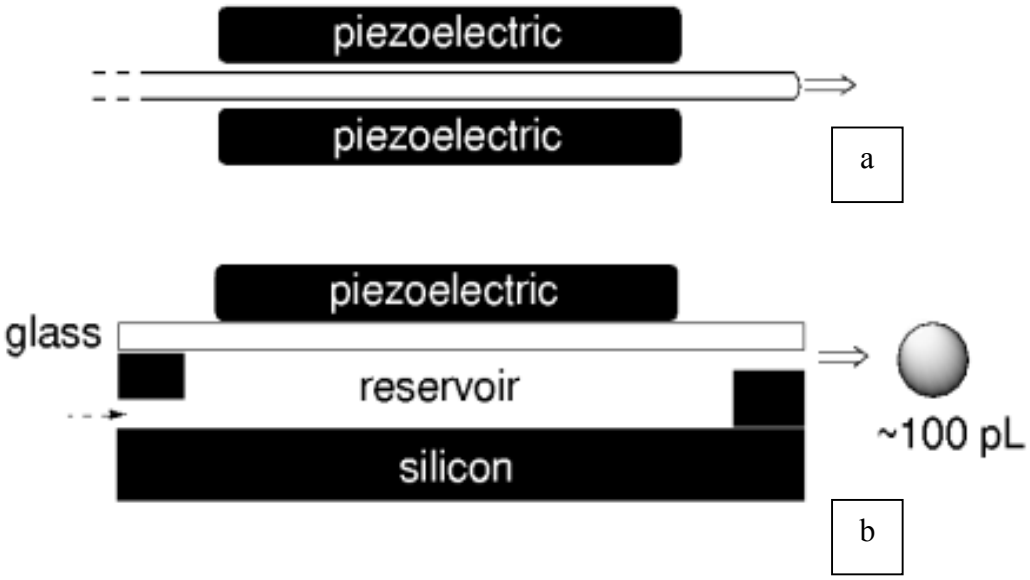


Figure 1-26 : *Micro injecteurs piézoélectriques.*

Les chercheurs de Rosetta, ont développé une approche similaire, les UH sont adressées individuellement par des jets et la déprotection des nucléotides de surface se fait collectivement par irradiation UV. La quantité éjectée est de 100pL, l'éjection se fait avec des injecteurs fabriqués à base de verre, silicium et céramique (figure 1-26b). Cette méthode se différencie par l'utilisation du carbonate de propylène comme solvant de synthèse. Ce solvant se caractérise par une tension superficielle élevée, une faible volatilité et une grande viscosité. Rosetta conçoit des puces à ADN avec 25 000 séquences de 60-mers différentes : leurs puces sont déjà sur le marché [84-86]. La longueur importante des séquences synthétisées in situ par Protogene ou Rosetta s'explique par des rendements de réaction par étapes de 94 à 98% en utilisant comme groupement protecteur le DMTr au lieu du MeNPOC.

4-4. Récapitulatif

Chaque technique comporte son lot d'avantages et inconvénients qui sont résumés dans le tableau 1.

Technique	Avantages	Inconvénients
Photolithographie (affymetrix)	• grande variété de types de nucléotides • haute densité • production de masse	• coût élevé • temps de création des masques long • rendement faible • non flexible
Photolithographie utilisant des micro miroirs	• permet de créer une grande diversité de puces ADN	•densité faible
Adressage mécanique	• accessible • simple	• stockage des oligonucléotides • lent • faible densité • coût des sondes
Injecteur pour la fixation des sondes	• rapidité • haute densité • coût moyen	• stockage des oligonuéotides •coût des sondes • tailles des sondes limitée à 300 nucléotides
Utilisation d'électrode	•rendement élevé •puce réutilisable •rapide	• densité faible • coût des sondes • stockage des oligonuéotides •Coût du support
Injecteur pour la synthèse in situ	• faible coût de production et d'équipement • puces à haute densité • permet de créer une grande diversité de puce ADN • rapide •flexible	

Tableau 1-2 : *Tableau de comparaison entre les différentes techniques de réalisation des bio puces*

L'analyse de ce tableau montre que la technique par photolithographie, développée par la société Affymetrix, est aujourd'hui la plus performante. Elle permet d'obtenir des densités d'unités d'hybridation par bio puce importantes et a une vitesse de production importante. **Mais les inconvénients majeurs sont, d'une part, le coût élevé des puces lié au manque de flexibilité des types d'oligonucléotides pouvant être greffés**. En effet les séquences obtenues par cette méthode dépendent des jeux de masques existant et la gamme de diversité proposée par l'entreprise est limitée. De plus, le faible rendement des réactions de photo-déprotection limite sensiblement la taille des oligonucléotides synthétisés et oblige à de lourdes redondances dans les séquences présentes sur les biopuces. Aujourd'hui des méthodes

telle que l'utilisation d'électrodes montrent des résultats intéressants mais l'utilisation de micro injecteurs pour la synthèse in situ des oligonucléotides semble être un bon pendant aux techniques développées par Affymetrix que se soit au niveau des densités d'unités d'hybridation qu'au niveau de la longueur des sondes et du coût de l'équipement.

L'étude et la comparaison des différentes méthodes de fonctionnalisation des puces nous montre que même si elles sont au point et présentent des avantages certains, il existe néanmoins pour chacune d'elles des inconvénients non négligeables. Cela laisse donc la porte ouverte à de nouvelles voies de fonctionnalisation. C'est dans l'optique de développer une nouvelle technique de fonctionnalisation que s'inscrit notre travail.

5. Objectif et cadre de nos travaux

Actuellement, les différentes techniques utilisées pour la fonctionnalisation des puces ADN, tel que la photolithographie, les micro injecteurs ou les micro pipettes, présentent toutes leurs lots d'avantages mais aussi d'inconvénients. La méthode la plus performante au niveau densité d'unités d'hybridation est celle utilisant la photolithographie qui est commercialisée par la compagnie Affymetrix. Cette technique présente les désavantages majeurs d'être coûteuse et peu flexible. C'est la raison pour laquelle **nous avons imaginé une nouvelle voie de fabrication qui consiste à utiliser un micro injecteur matriciel à éjecteurs actionnables individuellement**. Cette fois-ci, le micro injecteur est utilisé non plus pour greffer des séquences présynthétisées, comme il se fait déjà, mais pour effectuer une synthèse in situ des séquences d'ADN sur la puce. Cette nouvelle technique proposée ne permettra certes pas d'égaler les performances de la photolithographie dans le domaine de la densité de séquences mais l'idée d'un injecteur matriciel peut permettre d'atteindre néanmoins des densités élevées.

Les avantages principaux, en comparaison de la photolithographie, sont une plus grande flexibilité dans le choix des oligonucléotides à synthétiser et une plus grande facilité de mise en oeuvre. Un autre atout majeur résiderait dans un coût plus faible de l'équipement nécessaire à cette fabrication.

Ce travail a été effectué dans le cadre du projet ROSA (réalisation de Réseau d'Oligonucléotides pour le Séquençage de l'ADN) et soutenu par les programmes CNRS Génome puis Bio puce. Les objectifs de ROSA sont de réaliser des puces intégrant 4096 types d'oligonucléotides de 20 mers greffés sur des supports Si/SiO_2 de $4cm^2$. La chimie de synthèse choisie est celle des phosphoramitides, c'est-à-dire que le solvant véhiculant les nucléotides est l'acétonitrile. Ce projet a rassemblé 7 équipes du CNRS de compétences complémentaires, appartenant aux trois départements SDV, Chimie et SPI du CNRS.

5-1. Le conception de la matrice

5-1-1. Spécifications générales

L'idée de base est d'utiliser quatre têtes d'éjections permettant de délivrer les quatre nucléotides constituants de l'ADN. Chaque tête d'éjection est une matrice d'éjecteurs unitaires et comporte autant de buses d'éjection que d'unités d'hybridations à fonctionnaliser, de manière à pouvoir placer chaque éjecteur unitaire exactement en regard d'une unité d'hybridation. Chaque éjecteur peut délivrer, à la demande et indépendamment de ses voisins, une goutte de réactif.

Le principe de déroulement de la synthèse est schématisé sur la figure 1-27. La possibilité d'actionner de façon indépendante chaque éjecteur de la matrice permet de déposer la solution contenant la base azotée voulue sur le plot choisi (étape 1). Le support a été traité préalablement à l'aide de couplants chimiques qui permettront la fixation du premier nucléotide. La combinaison de quatre têtes d'éjecteurs, remplies chacune d'un type de nucléotide différent, permet d'obtenir le premier niveau de bases azotées (étapes 2 à 4). L'étape suivante est celle de déprotection des nucléotides (étape 5), et consiste à enlever le groupement protecteur chimique qui est fixé sur le nucléotide. Ce groupement permet d'éviter une réaction en chaîne des nucléotides entre eux. La puce ADN, avec différents types d'oligonucléotides greffés, est obtenue en répétant les étapes 2 à 5. La longueur de la séquence dépend du nombre de cycles effectués.

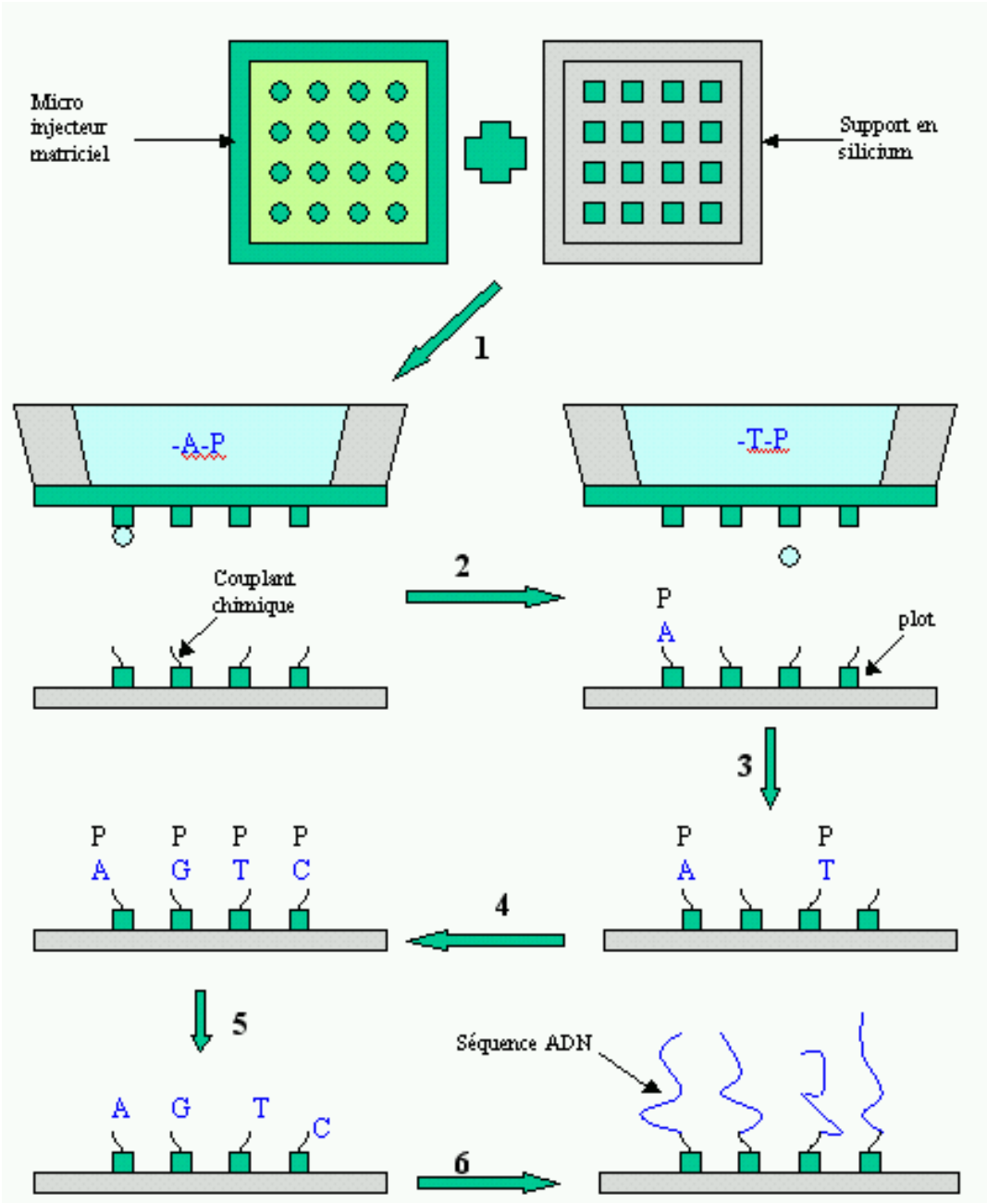


Figure 1-27 : *Principe de déroulement de la nouvelle méthode de fonctionnalisation proposée. A, G, C et T sont les nucléotides. P est le groupement protecteur.*

Les caractéristiques essentielles d'une tête d'éjection sont donc :

- Le nombre d'éjecteur unitaire et l'espacement entre ceux-ci doivent être rigoureusement identiques à ceux des unités d'hybridations sur la biopuce. Conformément aux premiers objectifs du projet ROSA, cela correspond à 4096 buses/cm^2, soit un éjecteur individuel tous les 156µm.
- Chaque éjecteur unitaire doit être actionnable individuellement.

- L'éjection par une buse ne doit pas provoquer l'éjection par les voisines.
- L'éjection doit être parfaitement directionnelle et reproductible, si on suppose que la cellule d'hybridation est à 1mm de la buse, alors la direction du jet ne doit pas faire un angle supérieur à 8° avec la perpendiculaire de la surface de la buse si on ne veut pas de débordement sur la cellule voisine. Les quantités éjectées doivent être de 25pL à 1nL.

5-1-2. Choix d'un principe d'actionnement du micro-éjecteur

Deux options s'affrontent dans la manière de réaliser l'adressage de l'éjection, une fois que l'on a convenu de s'écarter des choix d'Affymetrix qui s'appuie sur des opérations de masquage sur la biopuce. Une première option est d'obturer sélectivement les éjecteurs et donc de pouvoir utiliser un seul actionneur pour toute la matrice. Dans cette option, l'actionneur n'est pas un verrou technologique. Par exemple, le LAAS a une expérience de plusieurs années dans la réalisation de membranes actionnables pour réaliser une micropompe. Une première proposition de composant a été conçue pour le projet BARMINT [87] et reprise dans le projet MICROMED [88] du Programme Microsystèmes du CNRS. La figure 1-28 montre la pompe BARMINT/MICROMED réalisée au LAAS avec des dimensions centimétriques. Elle est compatible avec l'intégration d'une tête d'injection mais très complexe à mettre en œuvre.

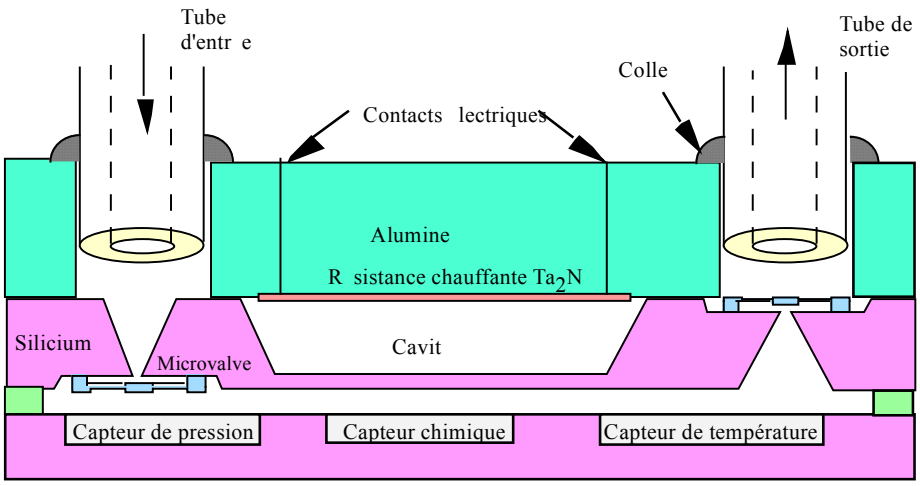


Figure 1-28 : *Représentation schématique en coupe de la micropompe assemblée sur sa chambre de mesure.*

Une solution plus robuste est celle des actionneurs piézoélectrique. Le LAAS a aussi une expérience dans ce domaine avec un actionneur d'aérosols qui montre la faisabilité de l'option. La difficulté technologique est reportée sur la capacité à obturer, sur commande, les éjecteurs que l'on veut inactifs au moment de l'éjection collective. Nous avons, sur cette base, évalué plusieurs solutions :

- Le bilame thermique qui serait très difficile à intégrer en évitant les interactions point à point mais le principe est quand même intéressant et doit être fouillé.

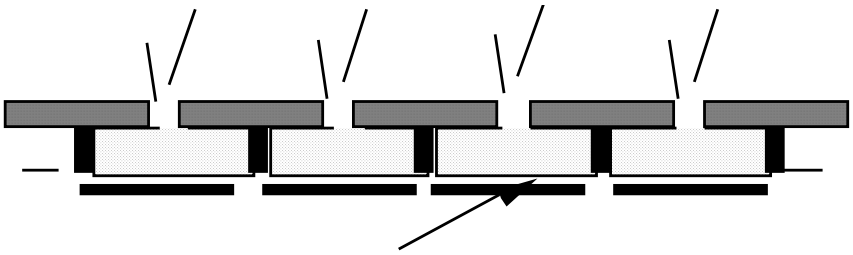


Figure 1-29 : *Actionnement à membrane simple pour éjecteur localisé.*

- **Le micro-injecteur à micro-vanne active est** une idée intéressante sous la forme d'une simple vanne commandable électrostatiquement. Des modélisations préalables ont montré que, étant données les faibles dimensions, un actionnement électrostatique ne pourrait pas permettre, dans des conditions raisonnables, l'actionnement de la micro-vanne jusqu'à obturation complète de l'orifice.

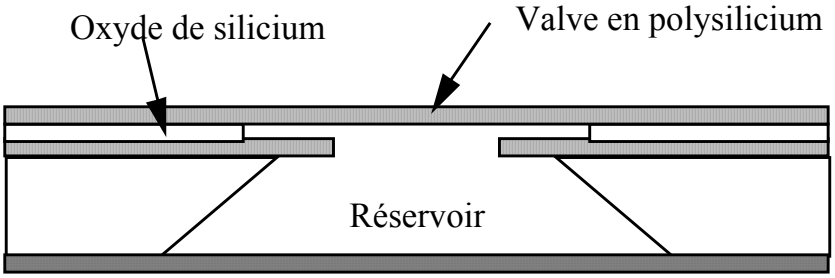


Figure 1-30 : *Représentation schématique et simplifiée d'une vanne active vue en coupe.*

- **L'obturation par électrodéposition** a été proposée pour la libération de médicaments in vivo. C'est une solution robuste et attractive qui suppose une études spécifique préalable sur les temps de réponse, la reproductibilité…

5-2. Notre proposition = le micro-injecteur de type Inkjet

Le choix s'est fixé sur des options déjà explorées pour le jet d'encre et qui nous assure par avance de la faisabilité opérationnelle. Deux options sont actuellement commercialisées : les options à actionnement mécanique par piezo et les options à actionnement thermique initiées par Hewlett Packard. Cette deuxième solution s'impose progressivement dans la reproduction informatisée et est totalement intégrable comme le montre la figure 1-31. C'est donc ce principe que nous avons retenu :

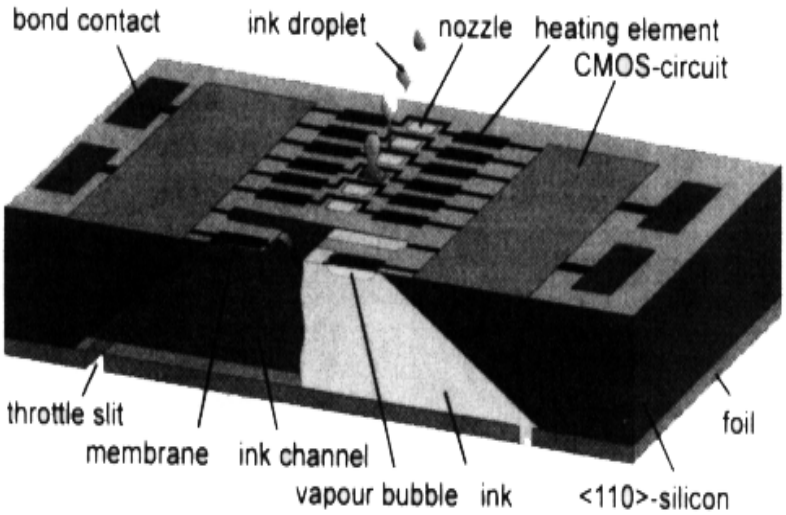


Figure 1-31 : *Système de jet d'encre tel que présenté par P. Krause et al [89].*

Il consiste à éjecter une goutte de liquide par une buse d'éjection en provoquant la formation de bulles gazeuses dans la cavité remplie de fluide. En chauffant localement la paroi du réservoir par une résistance chauffante, on atteint à cet endroit une température suffisante à l'ébullition du liquide. La surpression générée par la croissance de la bulle permet l'éjection de la goutte. Après éjection, le réservoir se remplit à nouveau sous l'effet des forces de capillarité et se trouve prêt pour une nouvelle phase d'éjection.

La figure 1-32 montre les 3 phases qui composent le mécanisme d'éjection :

- Phase 1 : Echauffement du liquide jusqu'à apparition de bulles gazeuses.
- Phase 2 : Croissance des bulles et effondrement sur elles-mêmes avec formation d'une gouttelette.
- Phase 3 : Remplissage de la buse par capillarité.

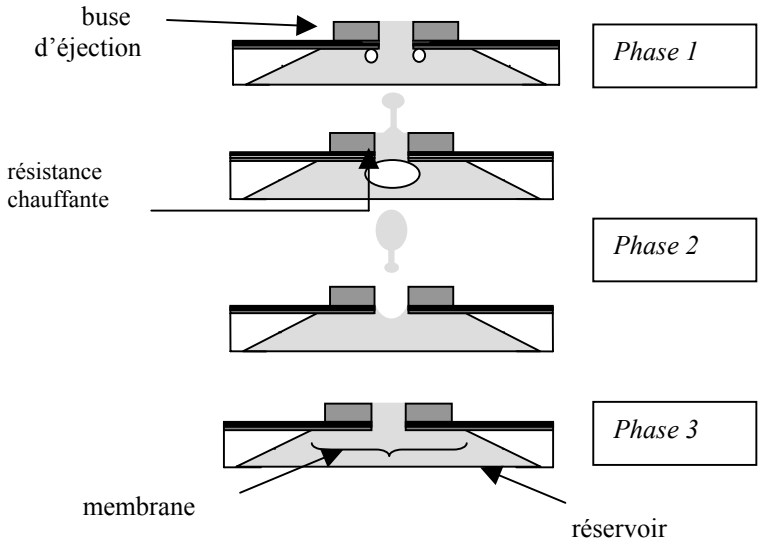


Figure 1-32 : *les différentes étapes de l'éjection.*

La maîtrise et la quantité de l'éjection (volume des gouttes, directionnalité du jet, reproductibilité) dépendent du parfait contrôle de ces trois phases.

Dans son principe, l'actionnement de type jet d'encre thermique semble pouvoir répondre a nos besoins. Ses applications dans le cas des puces à ADN posent toutefois des problèmes nouveaux et difficiles :

- la non interaction thermique entre éjecteurs voisins que l'on souhaite placé aves des pas <300µm
- l'arrangement des éjecteurs en matrice qui n'a jamais été traité
- l'adressage individuel des éjecteurs sur des matrices de plusieurs milliers de points

L'option technologique retenue est celle schématisée sur la figure 1-33. Les résistances chauffantes, amenant le liquide éjecté à ébullition, sont intégrées sur une membrane diélectrique, possédant un fort pouvoir d'isolation thermique. Cette option à membrane s'appuie sur une compétence développée au LAAS pour des applications aux capteurs chimiques [90] et pour des applications de pyrotechnie [91]. Cette proposition résout la première difficulté mais ne facilite pas la résolution des deux autres dans la mesure où l'on ne peut plus utiliser le silicium massif pour les technologies d'adressages.

La géométrie de la résistance chauffante est montrée sur la figure 1-34. Située à la périphérie du trou d'éjection, elle doit assurer un échauffement homogène et doit permettre d'atteindre, de façon aussi locale que possible, la température d'ébullition de l'acétonitrile. Une buse d'éjection, réalisée également en périphérie du trou d'éjection, complète le dispositif et doit permettre de garantir les performances de l'éjection.

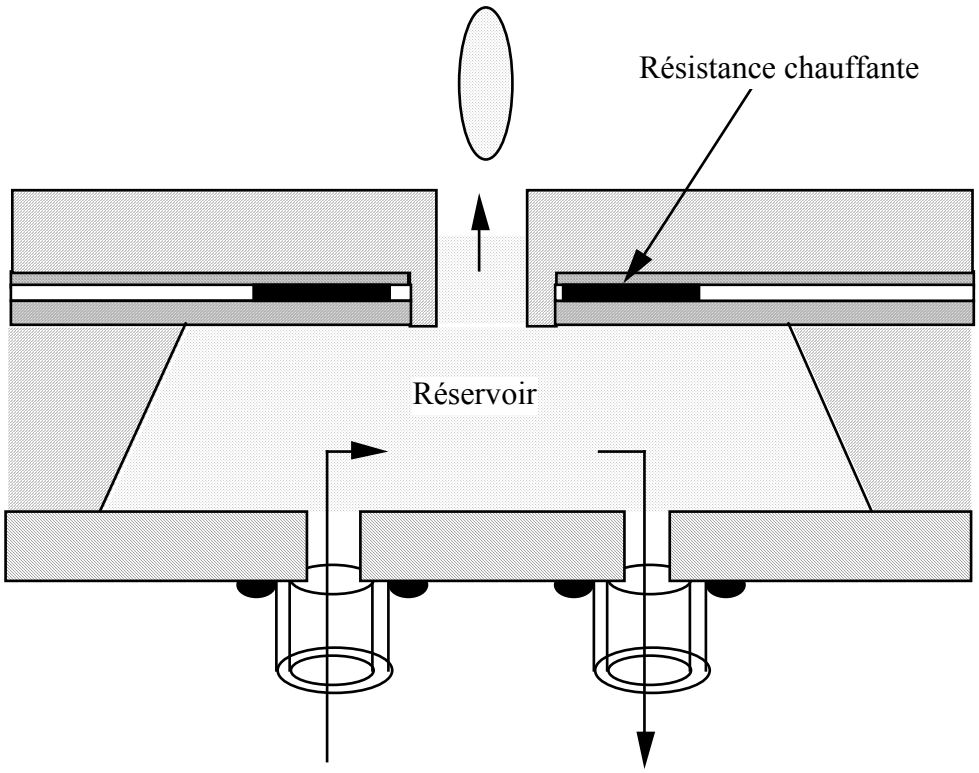


Figure 1-33 : *Schéma de principe du micro-injecteur.*

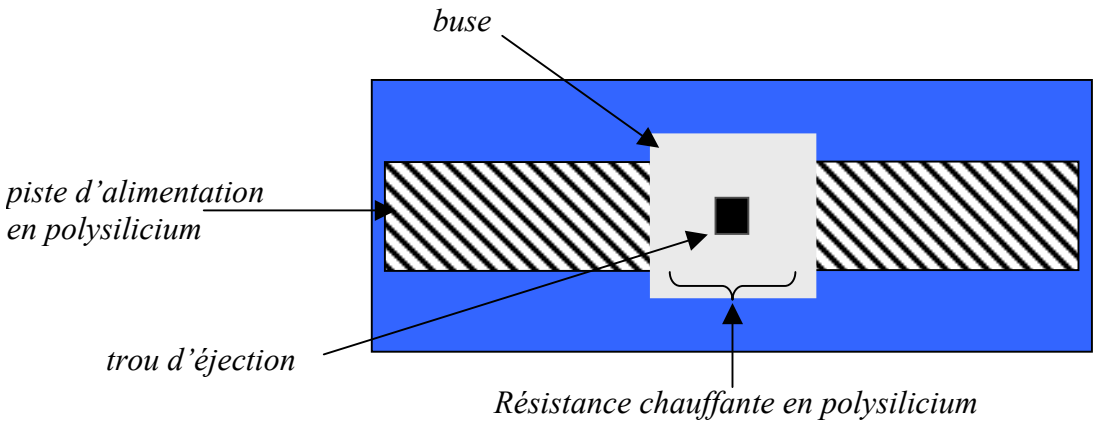


Figure 1-34. : *Vue de dessus de l'éjecteur.*

6. Conclusions

A partir d'une analyse documentaire, nous avons tout d'abord présenté l'émergence récente des puces à ADN et montré l'intérêt grandissant que suscite la biotechnologie depuis quelques années. Ce sujet met en effet la communauté scientifique et le monde socio-économique en ébullition depuis maintenant presque 10 ans. Nous avons vu, à travers ce premier chapitre, que le développement des biopuces s'appuie sur la mise au point de méthodes de synthèse des sondes et de moyens de fixation des sondes par des techniques de préparation des surfaces. Nous avons également vu que les micro/nano technologies constituent un point essentiel pour le succès industriel de ces puces. Elle permettent de multiplier les points de mesure et d'abaisser les coûts jusqu 'à obtenir des produits performants et jetables. Les travaux, pour concevoir et réaliser cette nouvelle génération de produits, sont nombreux. Dans un environnement scientifique et industriel très concurrentiel, notre travail s'inscrit dans cette dynamique : il concerne le développement d'un microsystème d'éjection permettant la synthèse in situ de séquences d'ADN sur les unités d'hybridation. Nous avons choisi d'orienter nos travaux sur la conception d'un micro-éjecteur de type matriciel à actionnement électrothermique dont l'intérêt a été explicité. Dans les chapitres suivants, nous aborderons les aspects théoriques du mécanisme de fonctionnement et développerons les différentes étapes de conception et de réalisation du micro éjecteur.

REFERENCES (Chapitre I)

[1] A. Chiou, "Biochip technology : a triad of micro-electro mechanical (MEM), biochemical, and photonic technologies", Part of SPIE Conference on Advanced Photonic Sensors and Applications, Singapore, November-December 1999, SPIE Vol. 3897, 0277-786X/99/$10.00.

[2] A.P. Nygaard and B.D. Hall, 1963, Biochemical and Biophysical Research Communications, Vol.12, 98-104.

[3] A.P. Nygaard et al., 1964, Journal of molecular biology, Vol.9, 125-142.

[4] E.M. Southern, "Detection of specific sequences among DNA fragments separated by electrophoresis", Journal of Molecular biology, 1975, Vol.98(3), 503-517.

[5] K.R. Khrapko et al., "An oligonucleotide hybridization approach to DNA sequencing", FEBS Letters, 1989, Vol.256, 118-122.

[6] Yu.P.Lysov et al., "DNA sequencing by oligonucleotide hybridization", First international conference on Electrophoresis, supercomputing and the human Genome, Tallahassee, March, 1990.

[7] K.R. Khrapko et al., "A method for DNA sequencing by hybridization with oligonucleotide matrix", Journal of DNA Sequencing and Mapping, 1991, Vol.1, 375-388.

[8] W. Bains and G.C. Smith, "A novel method for nucleic acid sequence determination", Journal of Theoretical Biology, 1988, Vol.135, 303-307.

[9] E.M. Southern, "Analyzing polynucleotide sequences", 1989, International patent application, International publication number WO 89/-10977.

[10] http://www.thescientist.library.upenn.edu/yr1999/may/profile1_990524.html.

[11] J. Etienne, "Biochimie génétique. Biologie Moléculaire" , édition Masson.

[12] M.L.M. Anderson, "Nucleic Acid Hybridization", edition Springer.

[13] http://www.icampus.ucl.ac.be/ANIBIOL/document/anibiol/PCR/pcr.html.

[14] http://www.Gene-Chips.com.

[15] E.M. Southern et al., "Molecular interactions on microarrays", Nature Genetic supplement, 1999, Vol. 21, 5-9.

[16] A.D. Mirzabekov, "DNA sequencing by hybridization : a megasequencing method and a diagnostic tool?", Trends in biotechnology Regular edition, 1994, Vol. 12 (1), 27-32.

[17] M.J. O'Donnell-Maloney, "The development of microfabricated arrays for DNA sequencing and analis", Trends in biotechnology Regular edition, 1996, Vol. 14 (10), 401-407.

[18] R.J. Lipshutz, "Using oligonucleotide probe arrays to acces genetic diversity", BioTechniques, 1995, Vol. 19 (3), 442-447.

[19] J.J.W. Chen, "Profiling expression patterns & isolating differentially expressed genes by cDNA microarray system colorimetry detection", Genomics, 1998, 313-324.

[20] Fu Wei Juan et al., "The study of DNA hybridization on silicon substrate by ellipsometric spectroscopy", Journal of Fudan University Natural Science, 2002, Vol.41 (2), 192-195.

[21] A.P. Abel et al., "Fiber-optic evanescent wave biosensor for the detection of oligonucléotides", Analytical Chemistry, 1996, Vol. 68, 2905-2912.

[22] B. Persson et al., “Analysis of Oligonucleotide Probe Affinities Using Surface Plasmon Resonance : A Means for Mutational Scanning”, Analytical Biochemistry, 1997, Vol. 246, 34-44.
[23] P. Guedon et al., “Characterization and Optimization of a Real-Time, Parallel, Label-Free, Polypyrrole-Based DNA Sensor by Surface Plasmon Resonance Imaging ”, Analytical Chemistry, 2000, Vol. 72, 6003-6009.
[24] J.Wang et al., “Microfabricated thick-film electrochemical sensor for nucleic acid determination”, Analyst London, 1996, Vol. 121 (7), 965-970.
[25] E. Souteyrand, “Functionalization of Si/SiO_2 substrates with homooligonucleotides for a DNA biosensor”, Sensors and Actuators B, 1999, Vol. 58, 394-398.
[26] C.G. Siontorou et al., “Rapid methods for detection of Aflatoxin M_1 based on electrochemical transduction by self-assembled metal-supported bilayer lipid membranes (s-BLMs) and on interferences with transduction of DNA hybridization”, Electrochimica Acta, 1998, Vol. 43 (23), 3611-3617.\
[27] G. Marrazza, “Disposable DNA electrochemical biosensors for environnemental monitoring”, Analytica Chimica Acta, 1999, Vol. 387, 297-307.
[28] M. Eggers, “A versatile biochip for gene-based diagnostic”, 0-7803-3271-7, 1996 IEEE.
[29] “Optical and electrical methods and apparatus for molecule detection”, United States Patent : 5 653 939.
[30] S.M. Sze, “Semiconductor Sensors”, édition John Wiley & Sons, INC.
[31] L. J. Blum, P.R. Coulet, “Biosensor principles and applications”, édition Dekker.
[32] N. Lassalle et al., “ Electronically conductive polymer grafted with oligonucléotides as electrosensors of DNA. Preliminary study of real time monitoring by in situ techniques”, Journal of Electroanalytical Chemistry, 2001, Vol. 509, 48-57.
[33] J. Hinfray et al., “Les puces à ADN” Biofutur, 1997, Vol.91 (166), 1-14.
[34] T. Vo-Dinh et al., “Development of a DNA biochip : principle and applications”, Sensors and Actuators B, 1998, Vol. 51, 52-59.
[35] M.J. Heller et al., “DNA Microarray Technology : Devices, Systems and application”, Annual Review of Biomedical Engineering, 2002, Vol. 4, 129-153.
[36] N. Dhiman et al., “Gene expression microarrays : a 21st century tool for directed vaccine design”, Vaccine, 2002, Vol. 20, 22-30.
[37] M. Cuzin, “DNA chips : a new tool for genetic analysis and diagnostics”, Transfusion clinique et biologique, 2001, Vol. 8, 291-296.
[38] JG Hacia et al, “Detection of Heterozygous mutations in BRCA1 using high density oligonucléotide arrays and two-colour fluorescence analysis”, Nature Genetics, 1996, Vol. 14 (4), 441-447.
[39] T. Livache and al., “Polypyrrole DNA Chip on a silicon device : Exemple of Hepatitis C Virus Genotyping”, Analytical Biochemistry, 1998, Vol. 255, 188-194.
[40] M. Bellis and P. Casellas, “La puce à ADN : un multi-réacteur de paillasse”, Médecine/Sciences, Vol 13 (11), 1317-1324, Novembre 1997.
[41] E.F. Nuwaysir et al., “Microarray and Toxicology : The Advent of Toxicogenimics”, Molecular Carcinogenesis, 1999, Vol. 24, 153-159.
[42] M.C. Pirrung et al., “How to Make a DNA Chip”, Angewandte Chemie International Edition, 2002, Vol. 41, 1276-1289.
[43] A.C. Pease et al., “Light-generated oligonucleotide arrays for rapid DENA sequence analysis”, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 1994, Vol. 91, 5022-5026.

[44] P.O. Brown et al., “Quantitative monitoring of gene expression patterns with a complementary DNA Microarray”, Science Washington DC, 1995, Vol. 270, 467-470.
[45] J. Derisi et al., “Use of a cDNA microarray to analyse gene expression patterns in human cancer”, Nature Genetics, 1996, Vol. 14 (4), 457-460.
[46] E.D. Southern et al., “Oligonucleotide hybridization on glass supports : a novel linker for oligonucléotides synthesized in situ”, Nucleic Acids research, Vol. 7, 1679-1684.
[47] E. Souteyrand et al., “Impedance analysis of Si/SiO_2 structures grafted with biomolecular for the elaboration of an immunosensor”, Sensors and Actuators B, 1995, Vol. 27, 457-460.
[48] K.L. Beattie et al., “Advances in Genosensor Research”, Clinical Chemistry, 1995, Vol. 41 (5), 700-706.
[49] G. Yershov et al., “DNA analysis and diagnostics on oligonucleotide microchip”, Proceedings of the national academy of sciences of the USA, 1996, Vol. 93, 4913-4918.
[50] A.D. Mirzabekov et al., “Theoritical analysis of the kinetics of DNA hybridization with gel-immobilized oligonucleotides”, Biophysical Journal, 1996, Vol.71,2795-2801.
[51] M. Schena et al., “Genome analysis with gene expression microarrays”, Bioessays, 1996, Vol. 18, 427-322.
[52] R. Ekins et al., “Microarrays : their origins and applications”, Trends in Biotechnology, 1999, Vol. 17 (6), 217-218.
[53] T. Okamoto et al., “Microarray fabrication with covalent attachment of DNA using Bubble Jet technology”, Nature Biotechnology, 2000, Vol. 18, 438-441.
[54] T.M. Harris et al., “Injecting new ideas into microarray printing”, Nature Biotechnology, 2000, Vol. 18, 384-385.
[55] S. Borman, Chemical and Engineering News, 1996, Vol. 50, 42-43.
[56] P. Cooley et al., “Methods in molecular biology”, Vol. 170 : DNA arrays : methods and protocols, edition J.B. Rampal, Humana Press, Totowa, NJ, 2001, 117-129.
[57] http://www.microfab.com
[58] L.R. Allain, “Microarray sampling-platform fabrication using bubble-jet technology for a biochip system”, Fresenius’ Journal of Analytical Chemistry, 2001, Vol. 371 (2), 146-150.
[59] M.J. Heller, “An Active Microelectronics Device for Multiplex DNA Analysis”, IEEE Engineering in Medicine and Biology, March/April 1996, 100-104.
[60] R.G. Sosnowski et al., “Rapid determination of single base mismatch mutations in DNA hybrids by direct electric field control”, Proceedings of the national academy of sciences of the USA, 1997, Vol. 94, 1119-1123.
[61] C.F. Edman et al., “Electric field directed nucleic acid hybridization on microchips”, Nucleic Acids Research, 1997, Vol. 25 (4), 4907-4914.
[62] P. Swanson et al., “A fully multiplexed CMOS biochip for DNA analysis”, Sensor and Actuators B, 2000, Vol. 64, 22-30.
[63] C. Gurtner et al., “Microelectronic array devices and techniques for electric field enhanced DNA hybridization in low-conductance buffers”, Electrophoresis, 2002, Vol. 23, 1543-1550.
[64] T. Livache et al., “Preparation of a DNA matrix via an electrochemically directed copolymerization of pyrrole and oligonucleotides bearing a pyrrole group”, Nucleic Acids Research, 1994, Vol. 22 (15), 2915-2921.
[65] T. Livache et al., “Electroconducting polymers for the construction of DNA or peptide arrays on silicon chips”, Biosensors & Bioelectronics, 1998, Vol. 13, 629-634.

[66] P. Caillat et al., “Active CMOS Biochips : An Electro-Addressed DNA Probe”, IEEE international Solid-State Circuits Conference, 1998, 272-273.
[67] T. Livache et al., “Conducting polymers on microelectronic devices as tools for biological analyses”, Clinica Chimica Acta, 1998, Vol. 278, 171-176.
[68] P. Caillat et al., “Biochips on CMOS : an active matrix address array for DNA analysis”, Sensors and Actuators B, 1999, Vol. 61, 154-162.
[69] http://www.affymetrix.com.
[70] K. Takahashii et al., “A photochemical/chemical direct method of synthesizing high-performance deoxyribonucleic acid chips for rapid and parallel gene analysis”, Sensors and Actuators B, 2002, Vol. 83, 67-76.
[71] A. C. Pease et al., “Light-generated oligonucleotide arrays for rapid DNA sequence analysis”, Proceedings of the national academy of sciences of the USA, 1994, Vol. 9, 5022-5026.
[72] D.J. Lockhart et al., “Expression monitoring by hybridization to high- density oligonucleotide arrays”, Nature BioTechnology, 1996, Vol. 14, 1675-1680.
[73] R.J. Lipshutz et al., “High density synthetic oligonucleotide arrays”, Nature Genetics supplement, 1999, Vol. 21, 20-24.
[74] G.H. McGall et al., “The Efficiency of Light-Directed Synthesis of DNA Arrays on Glass Substrates”, Journal of the American Chemical Society, 1997, Vol. 119, 5081-5090.
[75] G.H. McGall et al., “Light-directed synthesis of high-density oligonucleotide arrays using semiconductor photoresists”, Proceedings of the national academy of sciences of the USA, 1996, Vol. 93, 13555-13560.
[76] S. Singh-Gasson, “Maskless fabrication of light-directed oligonucleotide microarrays using a digital micromirror array”, Nature BioTechnology, 1999, Vol. 17, 974-978.
[77] E. LeProust et al., “Digital Light-Directed Synthesis. A Microarray Platform That Permits Rapid Reaction Optimization on a Combinatorial Basis”, Journal of Combinatorial Chemistry, 2000, Vol. 2, 349-354.
[78] E.M. Southern, “DNA chips : analyzing sequence by hybridization to oligonucleotides on a large scale”, Trends in Genetics, 1996, Vol. 12 (3), 110-115.
[79] J. Weiler et al., “Combining the Preparation of Oligonucleotide Arrays and Synthesis of High-Quality Primers”, Analytical Biochemistry, 1996, Vol. 243, 218-227.
[80] R.S. Matson et al., “Biopolymer Synthesis on Polypropylene Support : Oligonucleotide Arrays”, Analytical Biochemistry, 1995, Vol. 224, 110-116.
[81] T.P. Theriault et al., “DNA Microarrays. A Practical Approach”, Edition M. Schena, Oxford Press, New York, 1999, 101-119.
[82] T. Brennan (Protogene), US Patent 5 985 551, 1999.
[83] J.H. Butler et al., “In Situ Synthesis of Oligonucleotide Arrays by Using Surface Tension”, Journal of the American Chemical Society, 2001, Vol. 123, 8887-8894.
[84] A.P. Blanchard (Rosetta), US Patent 6 028 189, 2000.
[85] A.P. Blanchard et al., “High-density oligonucleotide arrays”, Biosensors & Bioelectronics, 1996, Vol. 11 (6/7), 687-690.
[86] T.R. Hughes et al., “Expression profiling using microarrays fabricated by an ink-jet oligonucleotide synthesizer”, Nature BioTechnology, 2001, Vol. 19, 342-347.
[87] BARMINT : Basic Research for Microsystems Integration, Edited by D. Estève, Cépaduès Editions, 1997.
[88] MICROMED I: Rapport final, LAAS-CNRS, Septembre 1997.

[89] P. Krause et al., “A micromachined single-chip inkjet printhead”, Sensors and Actuators A, 1996, Vol. 53, 405-409.

[90] S. Astié et al., Laboratoire Capteurs et Intégration de Puissance: Convention de Recherche CNRS-MOTOROLA-Région Midi-Pyrénées, "Caractérisation et modélisation thermique du capteur à membrane silicium: premiers pas vers une membrane tout oxyde", Rapport LAAS N°96243, Juin 1996.

[91] C. Rossi, "Conception et réalisation d’un système de réhydratation pour patch transdermique à partir de micro-actionneurs pyrotechniques", Thèse Université P. Sabatier, Décembre 1997 et Rapport LAAS N° 97520.

Chapitre II

Modélisation de la matrice d'éjection : théories et simulations

1. Introduction

Nous avons, dans le chapitre précédent, opté pour la conception et la réalisation d'un éjecteur matriciel dont les spécifications sont :

- Le nombre d'éjecteur unitaire et l'espacement entre ceux-ci doivent être rigoureusement identiques à ceux des unités d'hybridation sur la biopuce. Conformément aux premiers objectifs du projet ROSA, cela correspond à 4096 buses/cm^2, soit un éjecteur individuel tous les 156µm.

- Chaque éjecteur unitaire doit être actionnable individuellement.

- L'éjection par une buse ne doit pas provoquer l'éjection par les voisines.

- L'éjection doit être parfaitement directionnelle et reproductible : si on suppose que la cellule d'hybridation est à 1mm de la buse, alors la direction du jet ne doit pas s'écarter de plus de à 8° par rapport à l'axe d'éjection de la buse si on ne veut pas de débordement sur la cellule voisine. Les quantités éjectées doivent être de 25pL à 1nL.

La précision du dosage n'est pas essentielle. Par contre, la commande point par point est obligatoire avec, à terme, une densité d'intégration de 1 micro-injecteur tous les 100 µm, soit 10000 points d'injection par cm^2. Pour répondre à ce cahier des charges, nous avons examiné les différents moyens possibles permettant d'éjecter du liquide. Le principe que nous avons retenu est un actionnement électrothermique selon un procédé déjà éprouvé dans les jets d'encre pour l'impression des caractères. Le procédé devra être adapté pour répondre aux spécifications précédentes : adressage matriciel, haute densité de point. Ce chapitre est consacré à la modélisation de l'éjecteur. Nous étudierons successivement les différentes phases du mécanisme d'éjection, afin d'en comprendre les fondements, de définir les paramètres d'importance et d'en déduire les caractéristiques de notre dispositif.

2. Présentation du problème

L'histoire du jet d'encre thermique démarre en 1984 lorsque Hewlett-Packard introduit cette technologie dans une imprimante de bureautique à bas prix. Ce fut un concept révolutionnaire [1-3]. Il est encore aujourd'hui un exemple très illustratif de l'approche microsystème. La résolution de ces injecteurs était alors très faible : il y avait seulement 96 points par pouce. Cette faible résolution nécessitait d'éjecter de gros volumes, ce qui est difficile. Quels qu'aient été les inconvénients de cette technique, l'avantage de celle-ci était son faible coût de fabrication et la possibilité d'une production de masse, c'est ce qui a expliqué son succès. Aujourd'hui, l'utilisation du jet d'encre thermique dans les imprimantes est largement répandue et nous observons de plus en plus une diversification des applications possibles de ces techniques. Parmi les applications possibles, l'une d'elles nous intéresse plus particulièrement : la fonctionnalisation des puces à ADN.

Le fonctionnement des micro-injecteurs tel que nous le présentons, s'inspire du jet d'encre thermique. Il consiste à éjecter une goutte de liquide par une buse d'éjection sous l'effet de la nucléation et de la croissance d'une bulle de gaz. En effet, en chauffant localement la paroi du réservoir par une résistance chauffante, on peut atteindre à cet endroit une température suffisante pour porter le liquide à ébullition. La variation de volume, générée par la croissance de la bulle gazeuse, permet l'éjection d'une gouttelette de liquide. Après éjection, le réservoir se remplit à nouveau sous l'effet des forces de capillarité et se trouve prêt pour une nouvelle phase d'éjection.

La figure 2-1 montre les 3 phases qui composent le mécanisme d'éjection [4-5].

- Phase 1 : Echauffement du liquide jusqu'à apparition de bulles gazeuses.
- Phase 2 : Croissance (a) et coalescence (b) des bulles avec formation d'une gouttelette.
- Phase 3 : Remplissage de la buse par capillarité.

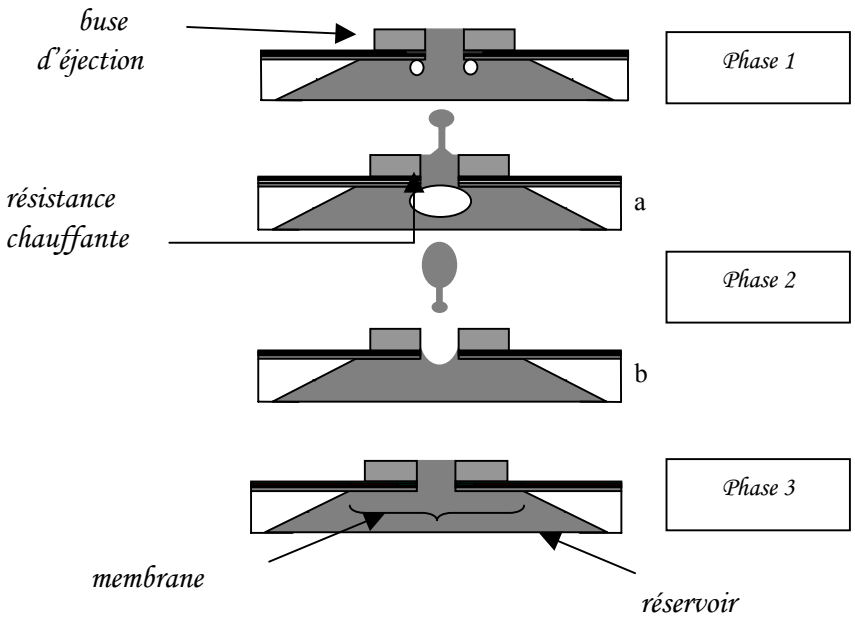


Figure 2-1 : *Les différentes étapes de l'éjection.*

La maîtrise de la qualité de l'éjection (volume des gouttes, directionnalité du jet, reproductibilité) dépend du parfait contrôle de ces trois phases. Une structure originale pouvant remplir la fonctionnalité recherchée a été proposée au chapitre précédent et est redonnée sur la figure 2-2.

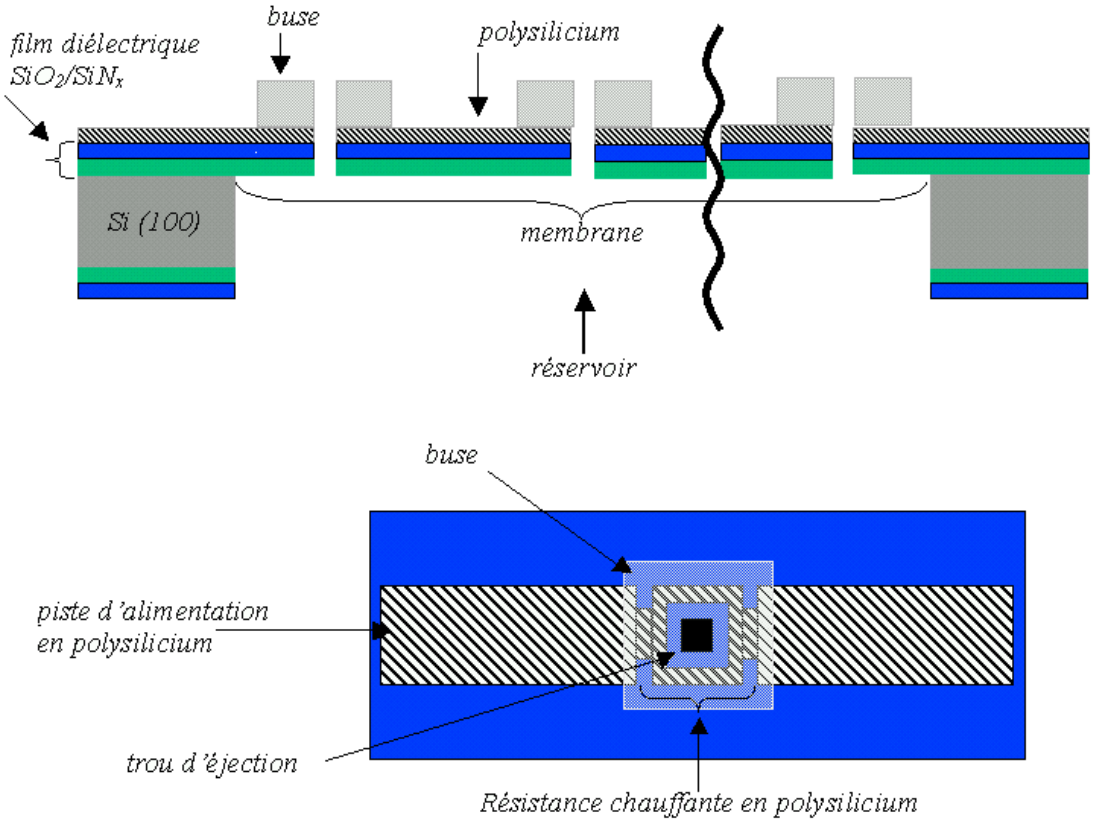


Figure 2-2 : *Structure du microsystème d'éjection matriciel .*

Cette structure définit l'architecture générale de notre actionneur et il s'agit maintenant d'en définir les dimensions et les caractéristiques afin d'atteindre les performances d'éjection recherchées. La membrane diélectrique supporte la résistance chauffante qui entoure le trou d'éjection. Un réservoir commun, obtenu par micro usinage du silicium, alimente toute la matrice d'éjecteurs.

Pour concevoir la structure du composant, nous avons suivi le raisonnement suivant :

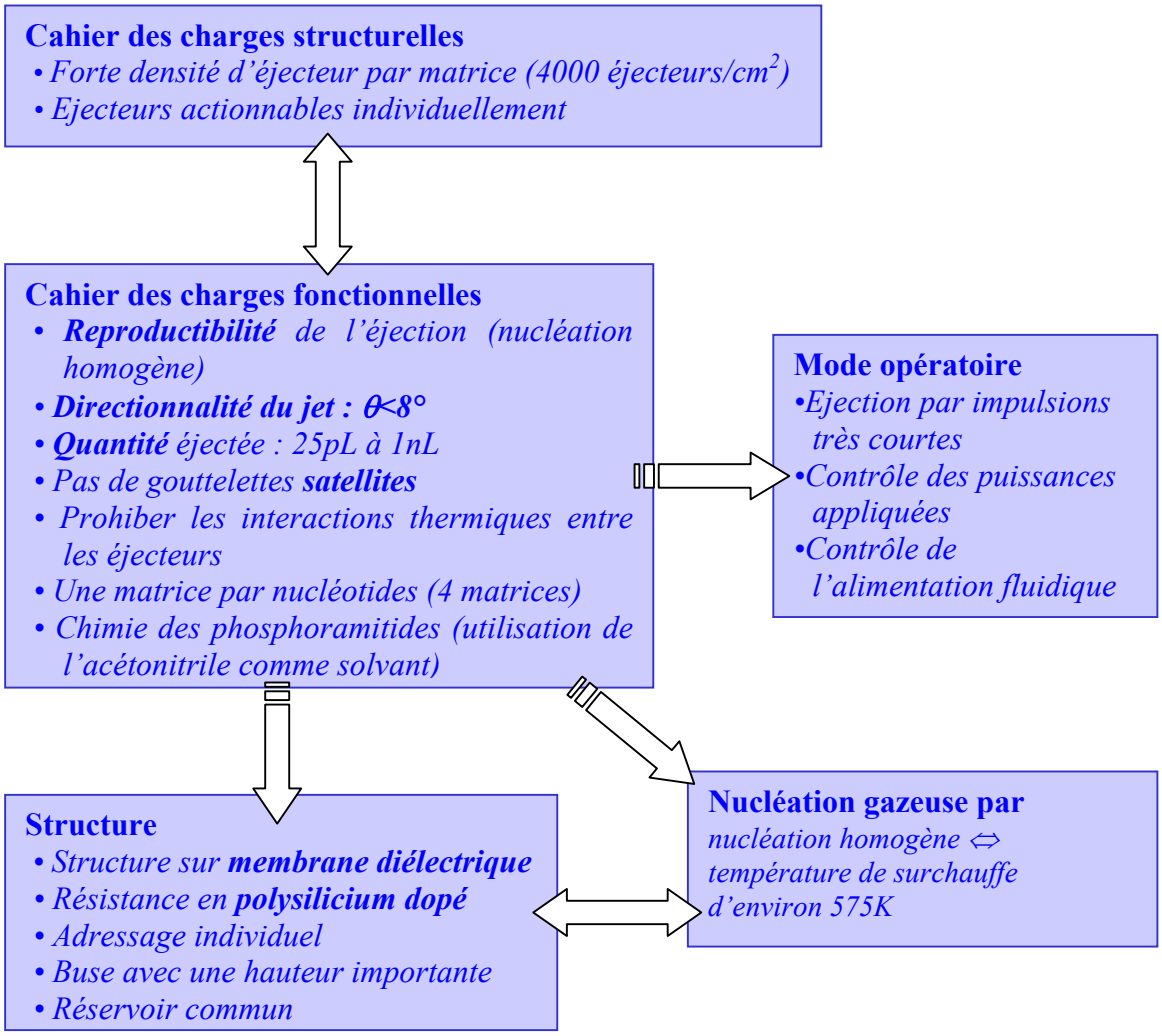


Figure 2-3 : *Schéma de conception du micro injecteur.*

Pour dimensionner l'éjecteur, nous pouvons en décomposer le fonctionnement en trois phases : la génération de chaleur par la résistance, la nucléation de la bulle gazeuse dans le liquide et le phénomène d'éjection à proprement parler. La conception de l'actionneur avant tout consiste à calculer la surface et l'intensité de chauffe nécessaires à une éjection et à estimer le volume du liquide éjecté. Pour ce faire, il faut avoir un modèle assez précis du

fonctionnement de l'éjecteur dans ces trois étapes. On peut à priori imaginer le fonctionnement suivant :

1. La résistance chauffe le liquide environnant jusqu'à une température critique où une bulle de gaz prend naissance. Une première question est donc de connaître la thermodynamique définissant cette température critique.

2. Une fois la bulle de gaz formée, elle va croître sous l'effet conjugué des interactions gaz-liquide et de la poursuite probable du processus d'évaporation. La deuxième question est donc de connaître la cinétique de croissance de cette bulle gazeuse.

3. Durant cette phase 2, les variations de volume de la bulle gazeuse, couplées aux déplacements de fluide qu'elles provoquent ainsi qu'aux effets de tension superficielle provoquent ou non l'éjection. Il s'agit donc d'évaluer le volume de liquide déplacé afin d'en déduire les propriétés de l'éjection.

On devine que le mécanisme est complexe et que le dimensionnement de la structure, les définitions des conditions expérimentales et du mode opératoire du dispositif d'éjection passent par l'analyse, la modélisation et l'évaluation de ces phénomènes. Les trois étapes successives de nucléation de la bulle, de croissance de celle-ci et d'éjection de la goutte vont donc être étudiées tour à tour dans ce chapitre.

3. La phase de nucléation et croissance des bulles gazeuses

Deux types d'ébullition sont proposés dans la littérature : la nucléation des bulles peut être hétérogène ou homogène. La nucléation homogène correspond à la génération spontanée des bulles par évaporation directe du liquide. C'est un mécanisme complexe de changement de phase qui nécessite une surchauffe très forte du liquide. A la différence de la nucléation homogène, la nucléation hétérogène se produit à la surface du corps chauffant. Elle est initiée par l'échauffement de très petites bulles gazeuses piégées dans les imperfections de surface lors du remplissage du système par le fluide. La rugosité et la mouillabilité de la surface

jouent alors un rôle important dans ce phénomène. Ce type de nucléation peut apparaître à des températures bien inférieures à celles nécessaires à la nucléation homogène et annihiler complètement cette dernière.

Dès 1985, Allen et al. ont considéré, pour les têtes d'imprimante à jet d'encre, que la nucléation homogène était préférable pour obtenir des éjections reproductibles [6], grâce à l'indépendance de ce type de nucléation vis à vis de la surface chauffante. De plus, elle se fait à la température de surchauffe limite du liquide que nous définirons plus loin, qui est connue et applicable de façon reproductible. La nucléation hétérogène, étant quant à elle dépendante de la surface de la résistance chauffante, se fait de manière aléatoire, ce qui conduit à des conditions d'éjection non reproductibles.

3-1. L'ébullition et la nucléation homogène

La compréhension du mécanisme d'ébullition nécessite quelques rappels fondamentaux que nous exposons ici brièvement.

a) L'équilibre d'une bulle de vapeur dans un liquide surchauffé

On considère un liquide chauffé soumis à une pression constante, au dessus de la température d'ébullition. Des fluctuations locales de densité donnent naissance à de petits embryons de bulles de vapeur. Ces embryons sont dans un état métastable, c'est-à-dire qu'ils peuvent soit collapser soit croître. Pour déterminer le rayon d'une bulle en équilibre avec le liquide surchauffé, considérons le système de la figure 2-4.

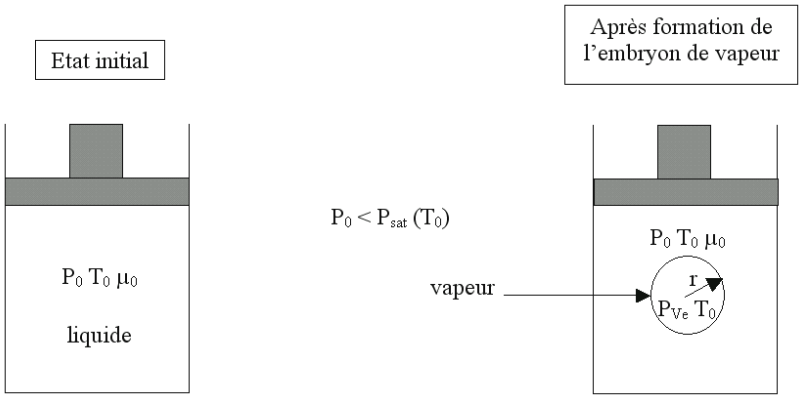


Figure 2-4 : *Formation d'un embryon de vapeur dans un liquide surchauffé.*

A l'équilibre, les températures et les potentiels chimiques des deux phases sont égaux ($\mu_0=\mu_{ve}$). Les pressions dans les deux phases sont liées par la loi de Laplace :

$$P_{ve} = P_0 + \frac{2\sigma}{r_e}$$

où r_e est le rayon d'équilibre de la bulle gazeuse et σ sa tension superficielle en N/m.

En intégrant l'équation de Gibbs-Duhem sur une isotherme, de la pression de saturation à une pression arbitraire :

$$\mu - \mu_{sat} = \int_{P_{sat}(T_0)}^{P} v dP$$

et en utilisant la loi des gaz parfaits, on obtient :

*pour la vapeur :

$$\mu_{ve} = \mu_{sat,v} + R T_0 \, Ln\left(\frac{P_{ve}}{P_{sat}(T_0)}\right)$$

où $\mu_{sat,v}$ représente le potentiel chimique de saturation de la phase vapeur, P_{ve} la pression de vapeur et P_{sat} la pression saturante.

*pour la phase liquide qui est incompressible :

$$\mu_0 = \mu_{sat,0} + v_l \, (P_0 - P_{sat}(T_0))$$

où v_l est le volume massique du liquide en $m^3.kg^{-1}$.

En écrivant l'égalité des potentiels chimiques des deux phases à l'équilibre ($\mu_l = \mu_{ve} = \mu_0$) et à saturation ($\mu_{sat,0} = \mu_{sat,v}$), on peut calculer la pression à l'intérieur de la bulle à l'équilibre :

$$\mathbf{P_{ve} \approx P_{sat}(T_0)\, exp\left(\frac{-2\sigma v_l}{r_e R T_0}\right)} \qquad (1)$$

avec R en $J.kg^{-1}.K^{-1}$.

Pour un liquide surchauffé métastable on a $P_0<P_{sat}(T_0)$. En substituant l'équation précédente dans l'équation de Laplace, on peut calculer le rayon à l'équilibre :

$$\mathbf{r_e = \frac{2\sigma}{P_{sat}(T_0)\exp(v_l(P_0 - P_{sat}(T_0))/RT_0) - P_0}} \qquad (2)$$

Ainsi les bulles de rayon r_e seront en équilibre avec le liquide surchauffé. Le rayon r_e constitue le rayon critique de formation des germes gazeux, en dessous duquel toute bulle gazeuse créée est instable et est amenée à disparaître.

Ces phénomènes d'équilibres stable et métastable, sont parfaitement représentés sur le diagramme de stabilité des phases de la figure 2-5.

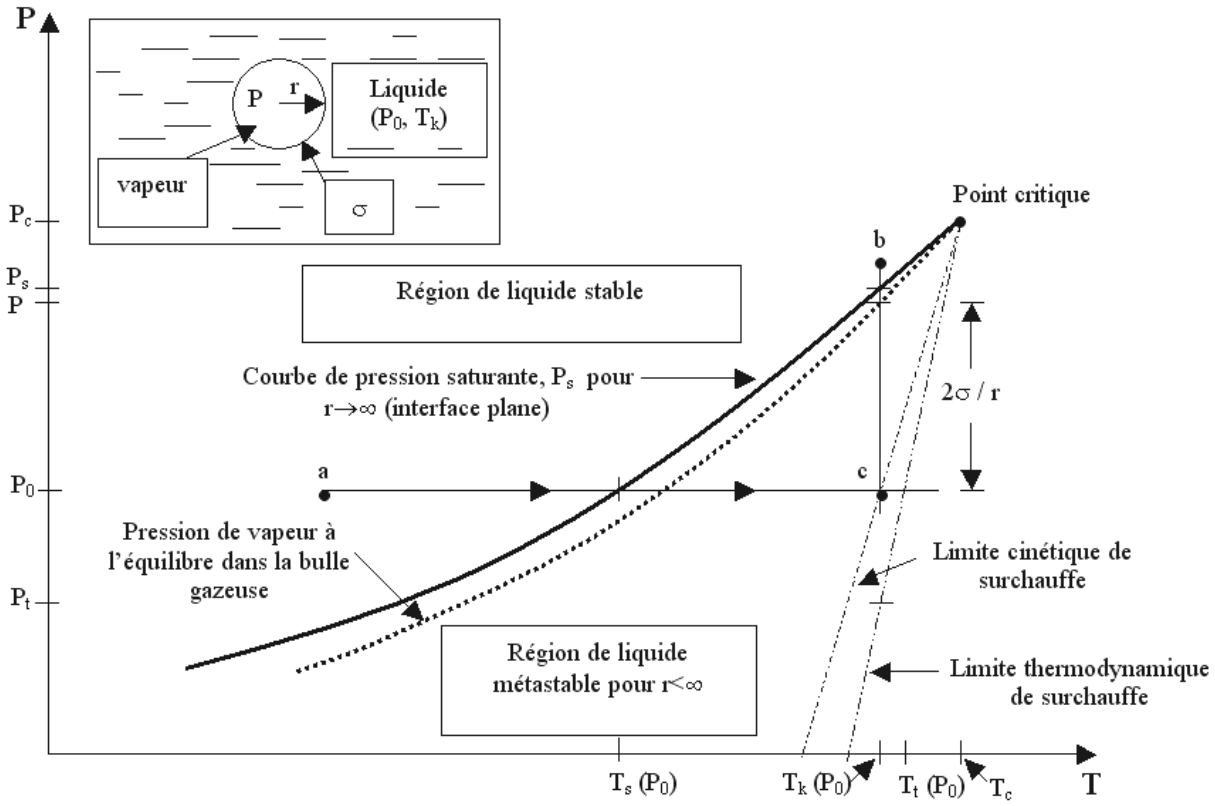


Figure 2-5 : *Diagramme de phase pression-température pour le liquide et le gaz. La droite a-c correspond à un échauffement isobarique et la droite b-c correspond à une décompression isotherme.*

Sur cette figure, on distingue la courbe de pression saturante pour le cas d'une interface liquide-vapeur plane (trait continu). Cette courbe sépare la zone où le liquide est stable de la

zone où la vapeur est stable. Lorsque le liquide est surchauffé au dessus de la température normale d'ébullition correspondant à la pression ambiante P_0, une bulle gazeuse est formée. L'interface liquide-vapeur n'est plus plane mais sphérique ($r<\infty$). Cette courbe est présentée en pointillé sur la figure, elle sépare la zone de liquide stable avec la zone où le liquide est métastable. Pour que la bulle gazeuse formée soit à l'équilibre mécanique, il faut que :

$$P - P_0 = \frac{2\sigma}{r} \quad > \quad 0$$

Pour la bulle de vapeur, on a $P>P_0$ et $r<\infty$. Le liquide est dit surchauffé lorsque $T(P_0) > T_s(P_0)$ où $T_s(P_0)$ est la température d'ébullition à pression ambiante. Cette surchauffe peut se faire en théorie jusqu'à la limite thermodynamique de surchauffe qui correspond à la température $T_t(P_0)$ qui est la limite spinodale comme on peut le voir sur la figure 2-5. Dans la pratique, on est limité pour la surchauffe à la limite cinétique T_k, cette température correspond à 88-90% de la température critique qui est la température de surchauffe à partir de laquelle les propriétés de la phase liquide et de la phase gazeuse ne sont plus différentiables, au delà de ce point la phase liquide n'existe plus. A partir de la figure 2-4, on voit bien que :

$$P_{sat}(T_0)-P_v<<2\sigma/r_e.$$

b) Le phénomène de nucléation gazeuse homogène

Le phénomène de nucléation gazeuse spontanée au sein d'un liquide exempt de tout germe (particules solides, microbulles de gaz non soluble) est complexe. La probabilité que la nucléation gazeuse homogène se produise dépend de la cinétique de formation de l'embryon de vapeur. On suppose l'existence, au sein du liquide, des rassemblements de molécules de haute énergie susceptibles de devenir des embryons gazeux. La répartition des tailles de ces noyaux est donnée par une loi de Boltzmann. La phase initiale de croissance d'un embryon gazeux n'est pas décrite par la thermodynamique classique, mais par la théorie cinétique des gaz.

Le nombre d'embryons N_n de n molécules par unité de volume dans un liquide surchauffé à T_0 et P_0 est de la forme :

$$N_n = N_l \exp\left(\frac{-\Delta A(r)}{k_b T_0}\right)$$

avec ΔA, l'excès d'énergie occasionné par la formation d'un embryon gazeux de rayon r:

$$\Delta A = m_v\,[e_v - T_0\,s_v + P_0\,v_v - (e_l - T_0\,s_l + P_0\,v_l)] + \sigma\,\Delta S_{bulle}$$

$$\Delta A = m_v\,[g_v(T_0,P_v) - g_l(T_0,P_0) + (P_0 - P_v)\,v_v] + 4\pi\,\sigma\,r^2 \approx \frac{-2\sigma\,m_v\,v_v}{r_e} + 4\pi\,\sigma\,r^2$$

où N_l est le nombre de molécules de liquide par unité de volume, r est le rayon d'un embryon de n molécules, $k_b=R/N_A$ est la constante de Boltzmann en $J.K^{-1}$. On a $4\pi r^3/(3v_v)=mn=nM/N_A$ où m est la masse d'une molécule en kg/molécule, M sa masse molaire en kg.mol$^-$1 et N_A le nombre d'Avogadro ($6{,}02.10^{23}$ molécules/mole). e est l'énergie interne spécifique en J/kg et g la fonction spécifique de Gibbs en J/kg (fonction de Gibbs : G=U-TS+PV).

On note J le taux auquel un embryon de vapeur croît de n à n+1 molécules par unité de volume. J est indépendant de n. Pour $r=r_e$, il prend la valeur [7-10] :

$$J = N_l\left(\frac{3\sigma}{\pi m}\right)^{1/2} \exp\left(\frac{-\Delta A(r_e)}{k_B T_0}\right)$$

ou encore :

$$J = N_l\left(\frac{3\sigma}{\pi m_l}\right)^{1/2} \exp\left(\frac{-4\pi\sigma\,r_e^2}{3k_B T_0}\right) = \frac{N_A \rho_l}{M_l}\left(\frac{3\sigma}{\pi\,m_l}\right)^{1/2} \exp\left(\frac{-16\pi\sigma^3}{3k_B T_0 (P_{ve} - P_0)^2}\right)$$

J est constant quel que soit n, c'est aussi le taux auquel des bulles de taille critique sont générées. On a également $P_{ve}=\eta P_{sat}(T_0)$ avec $\eta=\exp(v_l\,(P_0-P_{sat}(T_0))/(RT_0))$ et J peut également s'écrire :

$$\mathbf{J = \frac{N_A \rho_l}{M_l}\left(\frac{3N_A \sigma}{\pi M_l}\right)^{1/2} \exp\left(\frac{-16\pi\sigma^3}{3k_B T_0 (\eta P_{sat}(T_0) - P_0)^2}\right)} \quad (3)$$

où ρ_l la masse volumique en kg/m^3 .

En raison du terme $P_{sat}(T_0)$-P_0 dans l'exponentielle, une faible augmentation de T_0 (1°C) peut entraîner une forte augmentation de J. Le taux de nucléation change rapidement avec la température et on s'attend à ce qu'il existe une gamme de température seuil en dessous de laquelle, il n'y a pas de nucléation et au dessus de laquelle, la nucléation s'amorce presque immédiatement. La température médiane de cette zone seuil est la limite cinétique de surchauffe. Ce n'est qu'aux fortes surchauffes que l'on peut observer un taux de nucléation appréciable. La courbe typique que l'on peut obtenir, est présentée sur la figure 2-6.

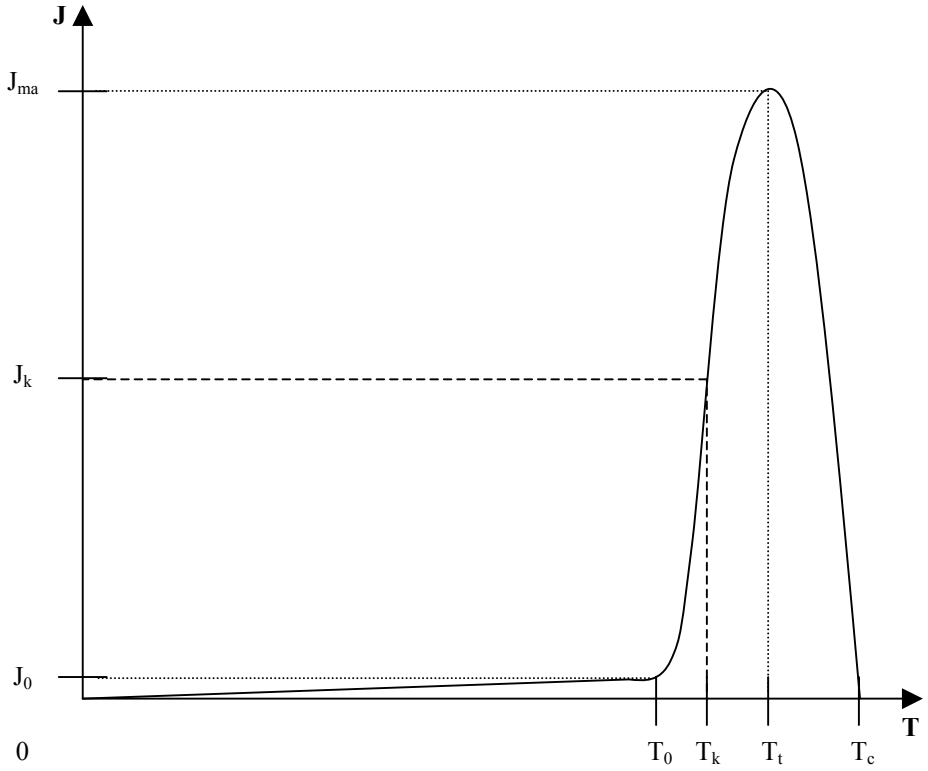


Figure 2-6 : *Courbe caractéristique de J=f(T), T_c température critique, T_t limite de surchauffe thermodynamique, T_k limite de surchauffe cinétique, T_0 température de surchauffe à partir de laquelle J devient significatif.*

3-2. La croissance des bulles de vapeur

Nous avons vu dans le paragraphe précédent que lors de l'échauffement d'un liquide, des nucléi de bulles gazeuses étaient formées. Le rayon initial de ces bulles et leur taux de création est donné par les relations (2) et (3). Nous allons maintenant examiner les aspects hydrodynamiques et thermiques de leur croissance.

La croissance et la condensation d'une bulle de vapeur sont contrôlées à la fois par l'inertie de la phase continue, par le changement de phase à la surface de la bulle et par la condition d'équilibre thermodynamique local $P_v=P_{sat}(T_v)$. L'énergie apportée par conduction dans le liquide à l'interface est utilisée pour vaporiser du liquide ou condenser de la vapeur selon le sens du gradient de température entre les deux phases. Les bilans dynamique et thermique interfaciaux sont fortement couplés par l'intermédiaire de la température et de la pression à l'intérieur de la bulle. Les nombreuses études réalisées font apparaître deux régimes successifs de croissance : ces deux régimes sont appelés régime inertiel et régime diffusif. Ils sont traités de manière distincte à partir d'un bilan à l'interface (figure 2-7).

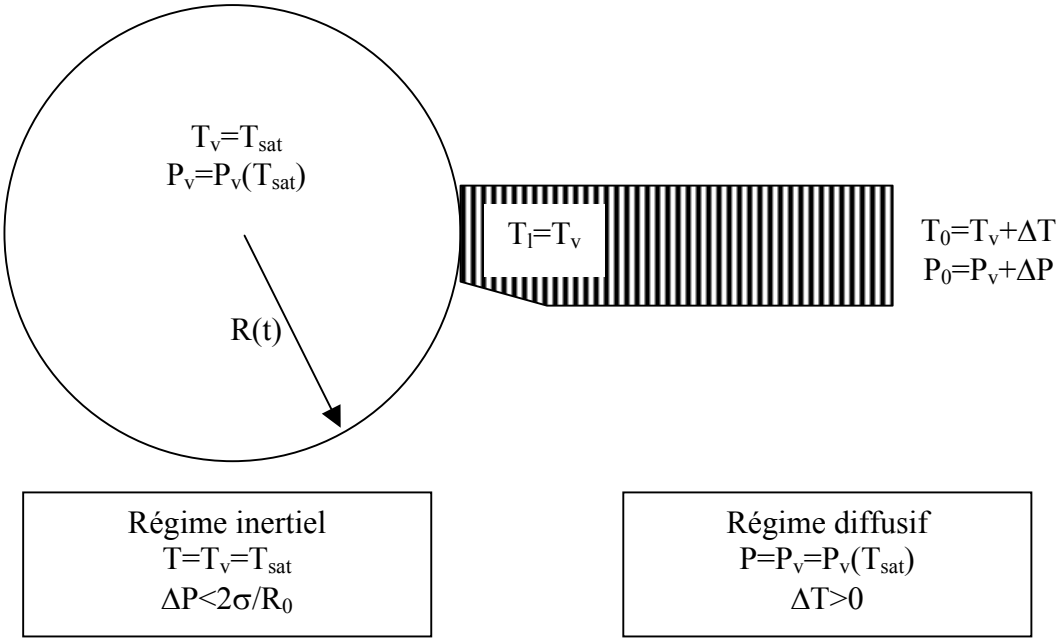


Figure 2-7 : *Régime inertiel et régime diffusif en ébullition.*

Le régime inertiel est caractérisé par une différence de température ΔT très faible entre les deux phases. Pv est proche de sa valeur maximale $Psat(T_0)$. Le transfert de chaleur à l'interface est très rapide et n'est pas le facteur limitant de l'évolution de la taille de la bulle. La différence de pression ΔP contrôle l'évolution de la bulle. La dynamique du régime inertiel est uniquement décrite par le bilan de quantité de mouvement à l'interface. Ces conditions existent durant les premiers stades de la croissance d'une bulle de vapeur, juste après la formation d'un embryon de vapeur.

La contribution à l'évolution radiale de la bulle est décrite par le bilan à l'interface de quantité de mouvement :

$$-P+\tau_{nn}=-P_v(T_{sat})+\frac{2\sigma}{R(t)}$$

où R(t) est le rayon instantané de la bulle et τ est le cisaillement en Pa.

Dans le cas d'une croissance inertielle, le taux de croissance de la bulle de vapeur peut s'exprimer de la façon suivante :

Conditions initiales : t=0, $R=R_0$ et $\dot{R}=\dot{R}_0$

$$\dot{R}^2=\left(\frac{R_0}{R}\right)^3\dot{R}_0^2+\frac{4\sigma}{\rho_l R_0}\left(1-\frac{R_0^3}{R^3}\right)-\frac{2\sigma}{\rho_l R}\left(1-\frac{R_0^2}{R^2}\right)$$

Pour $R>>R_0$ (on prend typiquement $R/R_0>10$), les effets de tension superficielle qui ralentissent la croissance s'estompent et le taux de croissance devient constant :

$$\dot{\mathbf{R}}=\left[\frac{4\sigma}{3\rho_l R_0}\right]^{1/2}=\left[\frac{2(P_{sat}(T_0)-P_0)}{3\rho_l}\right]^{1/2} \quad (4)$$

En utilisant une forme linéarisée de la relation de Clapeyron, on peut estimer la valeur de $P_{sat}(T_0)-P_0$:

$$P_{sat}(T_0)-P_0=\rho_v L\frac{T_v-T_{sat}(P_0)}{T_{sat}(P_0)}$$

et déterminer l'évolution du rayon de la bulle :

$$\mathbf{R(t)}=\left[\frac{2}{3}\left(\frac{(T_0-T_{sat}(P_0))}{T_{sat}(P_0)}\right)\frac{\rho_v L}{\rho_l}\right]^{1/2}t \quad (5)$$

La croissance inertielle est donc essentiellement linéaire, le taux de croissance étant directement lié à la surchauffe initiale.

Le régime diffusif est observé quand la température de la bulle T_v est proche de la température de saturation correspondant à la pression dans la phase liquide ($P_0=P_v=P_v(T_{sat})$). L'évolution de la bulle est essentiellement contrôlée par le bilan d'énergie à l'interface. Le mouvement de l'interface est lent comparé au régime inertiel et le transfert de quantité de mouvement n'est plus le facteur limitant. Ces conditions correspondent aux stades ultérieurs de la croissance d'une bulle de vapeur lorsque la surchauffe du liquide près de l'interface est devenue importante. La contribution à l'évolution radiale de la bulle est décrite par le bilan d'énergie à l'interface:

$$\lambda 4\pi R^2(t)\left(\frac{\partial T}{\partial n}\right)_{R(t)} = \frac{d}{dt}\left(\rho_v(T_{sat})L\frac{4}{3}\pi R^3(t)\right)$$

où R(t) est le rayon instantané de la bulle, ρ_v la masse volumique de la vapeur, L la chaleur latente de changement de phase et λ la conductivité thermique du liquide.

Le taux de croissance ne peut pas être obtenu simplement par intégration du système établi puisque l'évolution instationnaire de la couche limite thermique doit être d'abord calculée. On peut cependant retrouver la forme du taux de croissance asymptotique à l'aide de considérations physiques simples qui méritent d'être signalées. Le résultat le plus fréquemment cité est celui de Plesset et Zwick (1954) [11]. Il s'agit du développement asymptotique du taux de croissance de la bulle à grand nombre de Jacob (Ja) obtenu en considérant la couche limite thermique comme mince.

La température de l'inclusion valant T_v, l'énergie transférée par conduction dans le liquide sert à vaporiser le liquide :

$$\frac{d}{dt}\left(\frac{4}{3}\pi R^3\rho_{sat}(T_v)L\right) = 4\pi R^2 L\rho_{sat}(T_v)\dot{R} = 4\pi R^2\lambda\left(\frac{\partial T}{\partial r}\right)_{R(t)}$$

Pour estimer le gradient de température à la surface de la bulle, on rappelle que la diffusion thermique affecte, pendant le temps t, une longueur caractéristique proportionnelle à $(a_l t)^{1/2}$.

Le gradient $[(\partial T/\partial r)]_{r=R}$ doit donc être proportionnel à $(T_0-T_v)/(a_l t)^{1/2}$ et $\dot{R}$ s'écrit :

$$\dot{R} = cst \frac{\lambda}{L\rho_{sat}(T_v)} \frac{T_0 - T_v}{\sqrt{a_l t}}$$

On retrouve la forme calculée de manière exacte par Plesset et Zwick (1984). La constante a une valeur de $\sqrt{3/\pi}$. La croissance par diffusion, en $\sqrt{t}$, est nettement plus lente que la croissance inertielle.

$\dot{R}$ peut être exprimé en fonction d'un nombre de Jacob défini par :

$$Ja = \frac{\rho_l Cp(T_0 - T_v)}{\rho_v L}$$

Ce nombre mesure le rapport de la quantité d'énergie pouvant être fournie par unité de volume du liquide, à la quantité d'énergie nécessaire pour obtenir une unité de volume de vapeur. On a :

$$\dot{R}(t) = Ja\sqrt{\frac{3a_l}{\pi t}}$$

La valeur du nombre de Jacob conditionne la rapidité de la croissance par diffusion et il sera un paramètre clé de la détermination des régimes de nucléation en paroi. Remarquons d'ores et déjà que Ja, simple fonction linéaire de la surchauffe, est extrêmement sensible à la pression d'ébullition. L'évolution du rayon de la bulle au cours du régime diffusif est donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{R(t) = Ja\sqrt{\frac{12a_l}{\pi}t}} \quad (6)$$

Pour des pressions supérieures à la pression atmosphérique, la comparaison des temps caractéristiques permet de montrer que le régime diffusif est prépondérant (à 120°C pour T_{sat}=100°C, le rayon de la bulle de vapeur pour lequel se produit la transition entre le régime inertiel et diffusif est de 0,325mm alors que la vitesse inertielle de croissance de la bulle de gazeuse est de 7m/s, ce qui correspond à un temps de croissance inertiel de $4{,}6.10^{-5}$s).

Le régime inertiel pour l'ébullition est très bref et restreint aux tous premiers instants du changement de phase. Le début du régime diffusif est caractérisé par une brusque augmentation de l'écart de température ΔT entre les 2 phases. Le taux de croissance d'une bulle de vapeur dans un milieu au repos peut être calculé dans les deux cas asymptotiques : croissance inertielle régie par un bilan de quantité de mouvement à l'interface et croissance diffusive régie par un bilan d'énergie.

3-3. La croissance de la bulle gazeuse par formation d'un film de vapeur

Si on regarde le taux de transfert de chaleur dans le liquide en fonction de la température de la surface, on observe une courbe caractéristique (figure 2-8) en S connue comme la courbe d'ébullition [7].

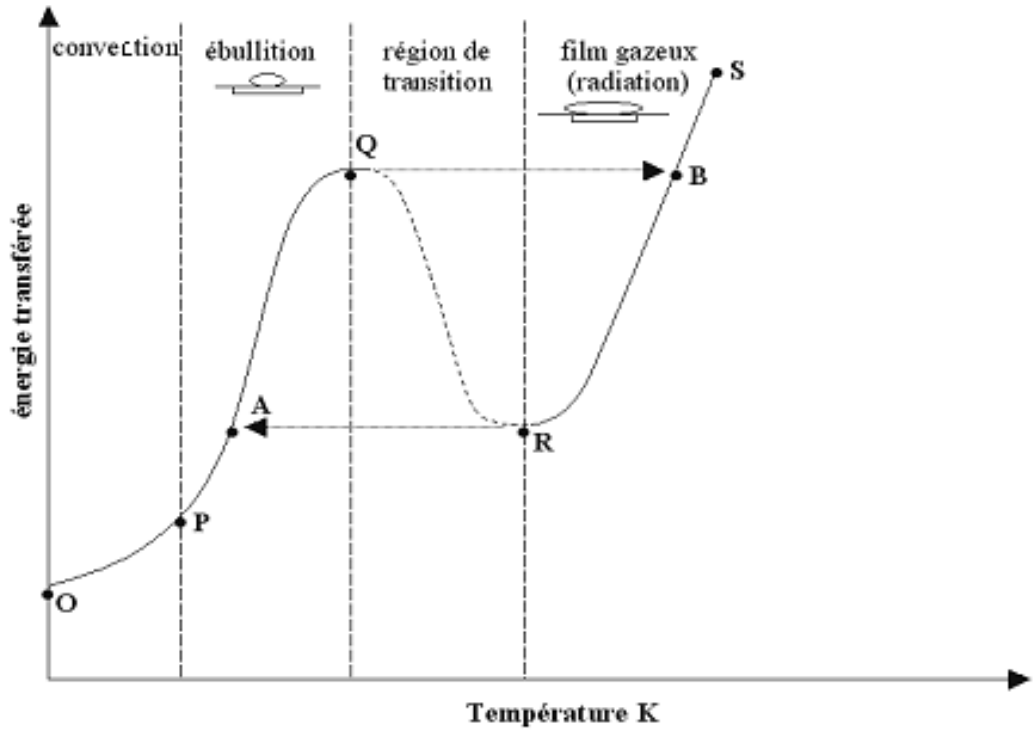


Figure 2-8 : *Courbe d'ébullition : relation entre la température de la surface chauffante et l'énergie calorifique transférée au liquide.*

Dans la zone O-P, on est dans une situation de faible surchauffe. Le transfert de chaleur se fait par convection à cause de la présence d'une fine couche de vapeur. Cela limite l'émission de chaleur. Dans la zone PQ qui correspond à la zone d'ébullition, le taux de nucléation va croître de façon très rapide. Il est possible de transférer une grande quantité de chaleur. Le point Q correspond au maximum de transfert de chaleur. A ce point, la température du liquide est proche de celle de la surface chauffante, il existe, entre les deux, un écart de 20 à 50K à pression atmosphérique. Dans la zone R-S, il y a formation d'un film gazeux stable, R est appelé point de Leidenfrost. A ce point, une plus faible quantité de chaleur est transférée dans le liquide alors que la température de la surface chauffante est plus importante. La raison de ce faible coefficient de transfert est, qu'à cet endroit, un film gazeux, peu conducteur thermiquement, se forme sur la surface chauffante [7, 14].

Nous avons vu au paragraphe 3-1 que le rayon de l'embryon gazeux est de :

$$r_e = \frac{2\sigma}{P_v - P_0}$$, avec P_v, la pression de vapeur initiale

et qu'il évoluait selon la loi :

$$\dot{R} = \left[\frac{4\sigma}{3\rho_l R_0}\right]^{1/2} = \left[\frac{2(P_{sat}(T_0) - P_0)}{3\rho_l}\right]^{1/2}$$

$$R(t) = \left[\frac{2}{3}\left(\frac{(T_0 - T_{sat}(P_0))}{T_{sat}(P_0)}\right)\frac{\rho_v L}{\rho_l}\right]^{1/2} t$$

Dans un premier temps, la valeur initiale du rayon est de l'ordre de 1 à 10nm pour l'eau et l'éthanol, alors que la pression de vapeur est de l'ordre de 1 à 10 MPa.

Si on utilise l'équation ci-dessus comme équation de variation du rayon, alors le temps typique t_0 où il va y avoir contact entre les bulles pourra être déterminé par la relation :

$$S_h = n(t_0)\pi \dot{R}^2 (t_0 - t_g)^2$$

avec t_g le temps qu'il faut pour qu'il y ait formation d'embryons de vapeur une fois l'impulsion de chaleur appliquée et $n(t_0)$ le nombre de nucléation au temps t_0.

Dans cette équation, l'effet du refroidissement de la bulle a été négligé, cet effet peut affecter la vitesse de croissance de la bulle avant coalescence. Si on applique une impulsion de durée

$\tau > t_0$ et un flux thermique q_w suffisamment grand pour que $n(t_0) >> 1$, alors la surface est instantanément recouverte d'une multitude d'embryons de vapeur qui vont coalescer avant même de croître. On se trouve alors dans le cas idéal où l'étude de la croissance des bulles gazeuses revient à étudier la croissance d'un film gazeux avec comme temps d'origine $t=t_g$ [15-16].

Dans le premier stade de la croissance de la bulle gazeuse, le vitesse du liquide est très faible et les effets de la convection et la viscosité peuvent être négligés. Si on néglige aussi la compressibilité du liquide, alors le moment du liquide est décrit par :

$$\nabla \bullet u = 0 \quad \text{et} \quad \rho_l \frac{\partial u}{\partial t} + \nabla p = 0$$

où u et p sont respectivement la vitesse du liquide et la pression dans le liquide.

Cette approximation est valable si les conditions suivantes sont satisfaites :

$$u_v t << d, \; 2\sqrt{\nu t} << d \quad \text{et} \quad \upsilon_l t >> d$$

avec u_v la vitesse de l'interface liquide vapeur, d la taille du système, ν est la viscosité cinétique et υ_l est la vitesse du son dans le liquide. Si on néglige les effets de la tension de surface, l'interface le la bulle gazeuse lorsque :

$\sigma_l/d_h << P_v - P_{amb}$, P_v est la pression initiale à l'intérieur de la bulle gazeuse.

En supposant que la pression à l'intérieur du film de vapeur est uniforme et en négligeant la discontinuité de la pression à l'interface liquide-vapeur, le volume de la bulle V_v satisfait l'équation suivante :

$$\frac{d^2 V_v(t)}{dt^2} = \frac{(P_v(t) - P_{amb})}{A_l}$$

$$V_v(t) = \frac{dV_v(t)}{dt} = 0 \quad \text{pour } t=0$$

On a alors :

$$\mathbf{V_v = \frac{1}{2}\frac{(P_v(t) - P_{amb})}{A_l} t^2} \quad (7)$$

A_l est l'inertance de la région liquide, sa valeur est fortement dépendante de la forme de la partie liquide. Si l'initiateur thermique de dimension d_h et le liquide chauffé n'occupent qu'une infime partie du réservoir, on se trouve dans une situation de dimensions semi infinies du réservoir par rapport à ces deux composantes. L'inertance dans ce cas là est **≈0,43 ρ_l/d_h** [16]. P_v est déterminé par la relation :

$$P_v = P_g \exp\left[-\left(1+\frac{t}{t_1}\right)\left(\frac{t}{t_2}\right)^{\frac{1}{2}}\right]$$

avec :

$$t_1 = \frac{3q_h S_h A_l}{2P_g \rho_g L_g}, \qquad t_2 = \frac{\pi\left(\left(1-\frac{\rho_g}{\rho_l}\right)\left(\frac{P_g}{\rho_g L_g}\right)T_g k_l\right)^2}{4q_h^2 a_l}$$

où S_h est la surface de la zone chauffante en m^2, q_h est la moyenne du flux thermique de la résistance au liquide avant formation du film gazeux en$W.m^{-2}$, P_g en Pa, ρ_g en $kg.m^3$ et L_g en $J.k^{-1}$ sont respectivement la pression de vapeur, la densité de vapeur et la chaleur latente de vaporisation à la température T_g. ρ_l est la densité du liquide, a_l est la diffusivité thermique en $m^2.s^{-1}$ et k_l en $W.m^{-1}.K^{-1}$ est la conductivité thermique du liquide.

Le temps caractéristique de croissance de la bulle dans cette première étape t_3 qui correspond au temps où le flux thermique (résistance/liquide) devient maximum, peut être déterminé de façon approximative par la relation [16]:

$$\mathbf{t_3 \approx \frac{3\delta_0 t_1}{5\delta_1} f\left(\frac{2}{3\delta_0}\left(\frac{5\delta_1 t_2}{3\delta_0 t_1}\right)^{\frac{1}{2}}\right)} \quad (8)$$

où $f(\zeta)$ est la solution d'une équation algébrique avec le paramètre ζ :

$$(1+f)\sqrt{f} = \zeta$$

et :

$$\delta_0 \equiv \frac{5}{4}\left(1-\left(1-\frac{\rho_g}{\rho_l}\right)\left(\frac{P_g}{\rho_g L_g}\right)+\frac{8}{15\left(1-\frac{P_{amb}}{P_g}\right)}\right)-\left(\frac{P_g}{4\rho_g L_g}\right)$$

$$\delta_1 \equiv \frac{7}{4}\left(1-\left(1-\frac{\rho_g}{\rho_l}\right)\left(\frac{P_g}{\rho_g L_g}\right)+\frac{8}{35\left(1-\frac{P_{amb}}{P_g}\right)}\right)-\left(\frac{3P_g}{4\rho_g L_g}\right)$$

Lorsque le régime de croissance du film n'est plus inertiel mais devient diffusif, il est difficile d'obtenir une expression analytique de la variation de la pression dans la bulle. Puisque la pression à l'intérieur de la bulle décroît de façon très rapide et que la couche de liquide surchauffée est très fine, on peut supposer de façon empirique que le profil de variation de la pression est de la forme :

$$P_v(t) = \left[P_g - P_{sat}(T_{amb})\right] \exp\left[-\left(\frac{t}{t_e}\right)^{\lambda}\right] + P_{sat}(T_{amb})$$

où T_{amb} est la température ambiante, t_e est la constante de temps total de décroissance de la pression et λ est un paramètre qui dépend des propriétés thermiques du liquide, de l'échauffement et de la valeur de A_l qui est comprise entre 0,5 à1.5. On a comme conditions aux limites $P_v(0)=Pg$ et $P_v(t)\rightarrow P_{sat}(T_{amb})$ quand $t\rightarrow\infty$.

$$t_e = t_3\left(1+\frac{t_3}{t_1}\right)^{-\frac{1}{\lambda}}\left(\frac{t_3}{t_2}\right)^{-\frac{1}{2\lambda}}$$

Si $P_{amb} << P_g$, la pression impulsé **P** et le travail W fournis par la bulle au liquide sont donnée par :

$$\mathbf{P} \approx P_g\, t_e/\lambda$$

$$W \approx \mathbf{P}^2/(2A_l)$$

Si on suppose que la pression de la bulle décroît rapidement jusqu'à atteindre la pression ambiante et que le liquide arrête de croître lorsque le volume V_v devient maximum (V_{max}). on obtient :

$$V_{\max} \approx \frac{W}{P_{amb} - P_{sat}(T_{amb})}$$

3-4. Modélisation fluidique de l'éjection [17]

Dans l'analyse classique de la formation d'une goutte, le flux continu d'un liquide dans un capillaire provoque la formation d'une goutte par accumulation de liquide et celle-ci se sépare du capillaire lorsque son poids devient supérieur aux forces de capillarité qui le retiennent. Un autre moyen de former une goutte est celui de "la goutte à la demande" qui est utilisé dans les imprimantes à jet d'encre. La goutte est éjectée du tube par l'application d'une surpression dans le réservoir de liquide pendant une durée de temps très courte. Cette surpression peut être générée par une source piézoélectrique ou par création d'une bulle de vapeur.

La dynamique des fluides, dans le cas de l'éjection, est un phénomène compliqué. Cette difficulté dans la compréhension du phénomène est liée non seulement à la viscosité du liquide mais aussi à la non stabilité du flux de liquide. En effet, lors de l'éjection, le liquide subit une accélération soudaine et est éjecté de la buse. Lorsque la pression provoquant cette accélération de liquide, est arrêtée, celui-ci continue à se déplacer en raison de son inertie. La quantité de liquide éjectée dépend de la durée de l'impulsion mais aussi d'une fonction complexe de différents paramètres du système. Si on simplifie le problème en supposant que la réponse du liquide se fait dès le début de l'impulsion, on peut avoir une idée du temps qu'il faut pour qu'il y ait une éjection.

En supposant que le liquide est confiné dans un réservoir et y est maintenu par capillarité sur une surface de longueur L, on applique une surpression P, telle que :

$$P=0 \text{ pour } t < 0$$

$$P>0 \text{ pour } 0 \leq t \leq T_p$$

$$P=0 \text{ pour } t>T_p$$

On peut évaluer le volume du liquide éjecté lorsque le réservoir est soumis à la surpression, en résolvant les équations du le mouvement des fluides. En supposant que le flux de liquide est laminaire et que la non linéarité inertielle du liquide est négligeable par rapport aux effets de la viscosité. Le moment du déplacement est de la forme :

$$\rho \frac{\partial u_z}{\partial t} = -\frac{\partial p}{\partial z} + \mu \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}\left(r \frac{\partial u_z}{\partial r} \right)$$

Il faut noter que dans ce cas là, on néglige les effets d'entrée du liquide. Durant la durée de l'impulsion, le gradient de pression est de P/L, avec L la longueur du capillaire.

$$\rho \frac{\partial u_z}{\partial t} = \frac{P}{L} + \mu \frac{1}{r} \frac{\partial}{\partial r}\left(r \frac{\partial u_z}{\partial r} \right)$$

La condition initiale est :

u_z=0 à t=0 pour r comprit entre [0, R_0]

La condition limite de non glissement est :

u_z=0 pour r=R_0

La symétrie le long de l'axe z nécessite que :

$$\frac{\partial u_z}{\partial z} = 0 \text{ pour r=0}$$

La solution de u_z (r,t) peut être écrite sous la forme (Bird et al., 1960) :

$$\Phi \equiv \frac{4\mu L u_z}{P R_0^2} = (1 - s^2) - 8 \sum_{n=1}^{\infty} \frac{J_0(\alpha_n s)}{\alpha_n^3 J_1(\alpha_n)} e^{-\alpha_n^2 \tau}$$

A partir de cette équation et en évaluant tous les termes de la séries, on peut voir qu'un flux constant est obtenu quand :

$$t = \frac{3\rho R_0^2}{(2{,}403)^2 \mu}$$

avec R_0 le diamètre du trou d'éjection, ρ la densité du liquide en kg.m^{-3} et μ la viscosité du liquide en Pa.s.

Le volume V traversant le trou d'éjection peut être estimé par la relation :

$$\boldsymbol{\psi \equiv \frac{V}{V_\infty} = 1 - \frac{0{,}166\rho R_0^2}{t_p \mu}\left[1 - \exp\left(-\frac{5{,}77 t_p \mu}{\rho R_0^2}\right)\right]} \quad (9)$$

avec t_p, la durée de la pression est :

$$V_\infty \equiv \frac{\pi R_0^4 P t_p}{8\mu L}$$

Cependant, pour qu'il y ait éjection effective, l'inertie du fluide doit permettre de vaincre les forces de tension superficielle. Le nombre de Weber défini par :

$$\mathbf{We} = \frac{\rho U_\infty^2 R_0}{\sigma} \quad (10)$$

avec :

$$\frac{V_\infty}{\pi R_0^2 t_p} = U_\infty = \frac{P R_0^2}{8\mu L}$$

peut nous permettre de déterminer si l'éjection est effective. Si le nombre de Weber est de l'ordre de l'unité ou supérieur, cela signifie que l'inertie du fluide dans le capillaire est de l'ordre de grandeur ou supérieur à la force de tension superficielle qui la maintient dans le capillaire. Il faut signaler que cette analyse est une analyse simplifiée du problème mais elle nous permet, tout de même, de nous faire une idée des divers facteurs intervenants dans le phénomène.

4. Modélisation électrothermique de l'éjecteur

A partir des considérations précédentes, où nous avons vu la nécessité de travailler à des températures de surchauffe permettant la nucléation gazeuse homogène, et d'un cahier des charges que l'application nous impose, une première structure du composant et une première géométrie de la résistance chauffante ont été proposées. Pour concevoir des structures capables de monter à des températures de surchauffe très importantes et de permettre

l'éjection des liquides tel que l'éthanol, l'eau et l'acétonitrile, nous sommes partis sur la base d'une résistance en polysilicium et d'une membrane de support en $SiO_2/SiN_{1,2}$ [18]. La structure générale du dispositif et de la résistance chauffante a été donnée sur la figure 2-2.

4-1. Le modèle

La conception plus précise de la structure présentée sur la figure 2.2 s'est affinée au fur et à mesure des modélisations. Si la complexité 3D de la structure ne nous a pas autorisé à modéliser précisément le comportement fluidique, le comportement électrothermique est quant à lui tout à fait accessible par des outils de simulation à éléments finis par exemple.

Le comportement thermique de notre dispositif a été simulé à l'aide de CoventorWare qui est un logiciel de simulation à élément finis [19]. Ces simulations permettent de calculer la dissipation de la chaleur dans une structure multicouches et micro-usinée.

La chaleur générée par la résistance thermique est induite par effet joule. Si un courant continu traverse un élément x(l,S), la densité de puissance dissipée par effet Joule correspond à :

$$q\left(\vec{x}\right) = \vec{J}\left(\vec{x}\right).E\left(\vec{x}\right)$$

Les pertes thermiques dans notre dispositif sont de plusieurs natures, les pertes par convection et rayonnement sur les parois en contact avec le milieu ambiant, et les pertes par conduction dans le solide [20].

$$q\left(\vec{x}\right) = q_{conduction} + q_{convection} + q_{radiation}$$

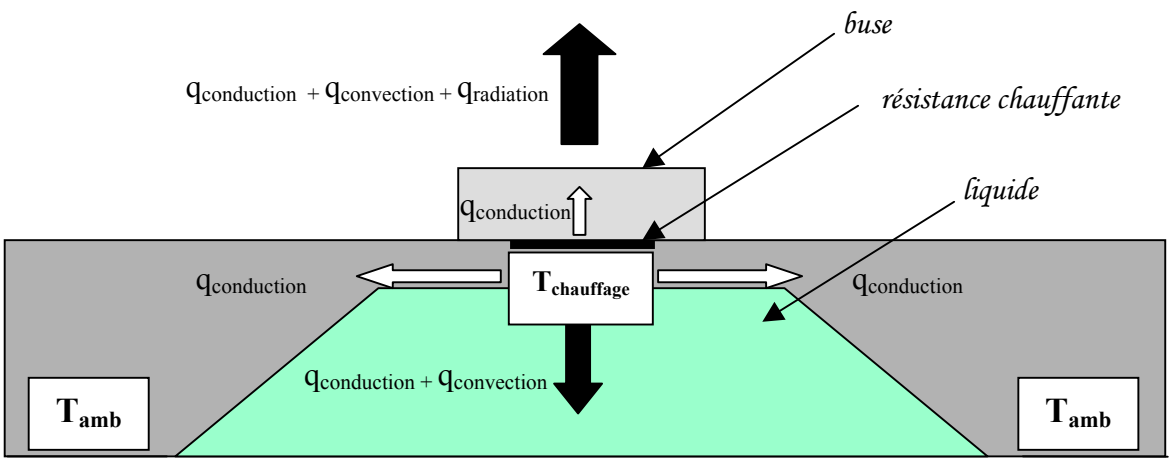


Figure 2-9 : *Flux thermiques dans le micro-injecteur*

Les pertes thermiques par conduction :

La conduction thermique dans un matériau donné est un phénomène de diffusion. En régime stationnaire, les transferts thermiques par conduction dans l'ensemble de la structure sont gouvernés par l'équation de Poisson de conservation de la chaleur :

$$div\,\vec{F} = q$$

où la densité de flux de chaleur (F) est proportionnelle à la distribution de température d'après la loi de Fourier :

$$\vec{F} = -k\,.\,grad\,T$$

avec k représentant la conductivité thermique.

Les pertes thermiques par convection :

Les pertes thermiques par convection se produisent aux voisinages des parois d'un corps fluide dont la température est différente de celle du milieu ambiant. La quantité de chaleur dissipée par convection est donnée par la relation :

$$q = h\,A\,(T_S - T_{MA})$$

avec h : le coefficient de convection, A : l'aire de la surface en contact avec le milieu ambiant, T_S : la température de la surface de l'éjecteur et T_{MA} : la température du milieu ambiant.

Les pertes thermiques par radiation :

Le rayonnement par radiation d'un corps est de nature relativement différente selon qu'il soit émis par un solide ou par un gaz. Le rayonnement thermique d'un solide constitue

une perte d'énergie qui se traduit par un abaissement de la température. Cette perte énergétique dépend à la fois de l'état de surface, de la température et du milieu environnant. Elle est gouvernée par la loi de Stefan-Boltzmann :

$$q = \varepsilon A T^4 \sigma$$

avec ε : l'émissivité de la surface à la température T, A : l'aire de la surface en contact avec le milieu ambiant, T : la température de la surface et σ le facteur de Boltzmann qui vaut $5{,}67.10^{-8}$ $W/m^{-2}.K^{-4}$.

4-2. Présentation du logiciel de simulation

Ce logiciel permet de :

- De simuler le comportement électrostatique de dispositifs
- D'analyser les transferts thermiques (stationnaires et transitoires)
- De simuler les écoulements de courant électrique dans les milieux continus
- De simuler le comportement électrique stationnaire des dispositifs semi-conducteurs
- De simuler des problèmes magnétostatiques
- D'analyser le comportement thermomécanique des dispositifs

Il intègre en plus un module de simulations fluidiques. Toutefois, avec ConventorWare, il n'est pas possible de faire des simulations thermiques en transitoire. Le lancement d'une procédure de simulation est divisée en cinq étapes.

<u>Le dessin :</u>

La première étape est la réalisation d'un dessin 2D équivalent à la réalisation d'un jeu de masques pour une réalisation technologique en salle blanche.

La Fonderie :

Cette étape permet de définir l'enchaînement des étapes de dépôt et de gravure qui permettront d'obtenir le microsystème en volume.

Le modèle solide :

Avec l'ensemble de ces renseignements, le simulateur génère un modèle en 3D.

Le maillage :

La principale étape de la mise en place d'une simulation est le maillage. CoventorWare offre plusieurs outils de maillage adaptés à la méthode des éléments finis, du tétraèdre à la brique et offre aussi la possibilité de faire de l'extrusion. La première contrainte est de connaître le type de maillage à employer de manière à ce qu'il soit compatible avec le solveur utilisé. Ensuite vient la gestion de la finesse du maillage et du temps de calcul tout en tenant compte de l'influence de ces paramètres sur la précision des résultats.

L'analyse :

Le solveur utilisé est MemETherm. Il offre la possibilité de faire des simulations combinant les champs électriques, thermiques et mécaniques. Dans cette étude, l'influence de la chaleur sur la déformation de la membrane n'est pas abordée. Nous nous concentrons sur le transfert de chaleur dû à l'effet joule en fonction des tensions appliquées et des propriétés des matériaux. La mise en œuvre d'une analyse demande de préciser des conditions aux limites sur les faces de notre modèles 3D une fois maillé. Les conditions de température sur les surfaces extérieures sont appliquées pour décrire au mieux le milieu expérimental ambiant.

4-3. Les résultats des simulations

Les simulations thermiques, du micro injecteur avec la structure, la géométrie de résistance et les dimensions présentés sur les figures 2-2 et 2-10, ont été effectuées en régime stationnaire sous ConventorWare. Ces simulations ont été réalisées en étroite collaboration avec D. Jugieu, doctorant le Groupe MIS.

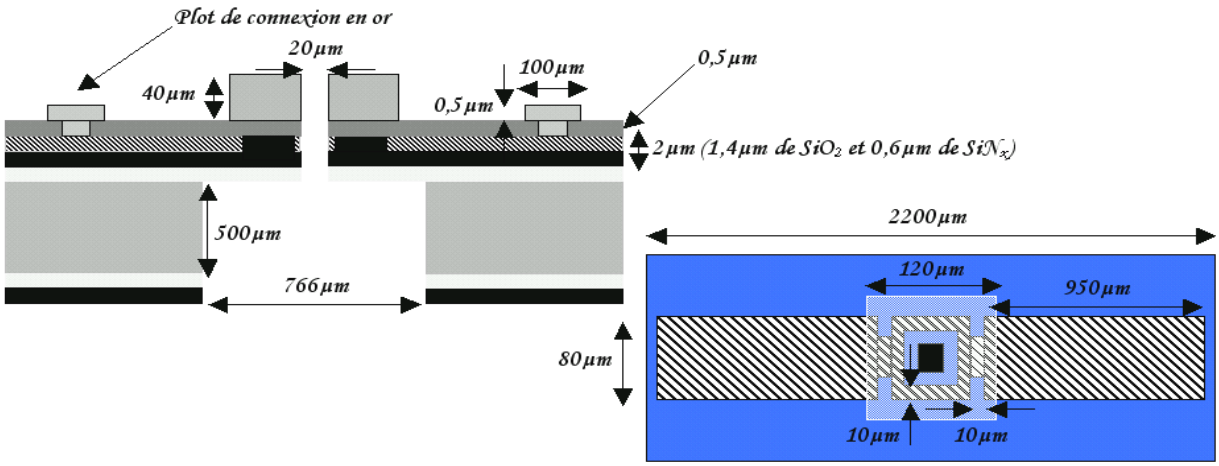


Figure 2-10 : *Dimensions des différents éléments du composant.*

Les différents paramètres utilisés sont donnés dans les tableaux 2-1 et 2-2.

	Si	**PolySi**	**SiO_2**	**SiN_x**	**SU8**
densité en kg.µm^3	$2,34*10^{-15}$	$3,29*10^{-15}$	$2,27*10^{-15}$	$3,1*10^{-15}$	$1,5*10^{-15}$
conductivité thermique en pW.µm^{-1}.K^{-1}	$2,21*10^{8}$	$2,08*10^{7}$	$1,4*10^{6}$	$2,09*10^{7}$	$2*10^{5}$
capacité calorifique en pJ.kg^{-1}.K^{-1}	$7,12*10^{14}$	$7*10^{14}$	10^{15}	$7,9*10^{14}$	
conductivité électrique en pS.µm^{-1}	$2*10^{10}$	$6,15*10^{10}$	0	0	0
constante diélectrique	11,9	8	3,9	7,5	4

Tableau 2-1 : *Propriétés physiques des différents matériaux composant la structure.*

	air	**eau**	**éthanol**	**acétonitrile**
densité en kg.µm^3	$1,18*10^{-18}$	10^{-15}	$7,87*10^{-16}$	$7,79*10^{-16}$
conductivité thermique en pW.µm^{-1}.K^{-1}	$2,62*10^{4}$	$5,94*10^{4}$	$1,69*10^{5}$	$3,07*10^{5}$
capacité calorifique en pJ.kg^{-1}.K^{-1}	$1,01*10^{15}$	10^{15}	$2,44*10^{9}$	$2,23*10^{9}$
Viscosité en kg.µm^{-1}.s^{-1}		$8,9*10^{-10}$	$1,074*10^{-9}$	$3,69*10^{-10}$

Tableau 2-2 : *Propriétés physiques des différents liquides.*

Les calculs ont été effectués pour un micro-injecteur avec des membranes de 766µm de large pour des réservoirs vides et pour des réservoirs remplis d'eau, d'éthanol et d'acétonitrile. La figure 2-11 est un exemple de thermogramme (image sur la distribution de la chaleur) simulé par ConventorWare d'un micro-injecteur vide, pour une puissance d'alimentation de 3,7mW, en régime permanent.

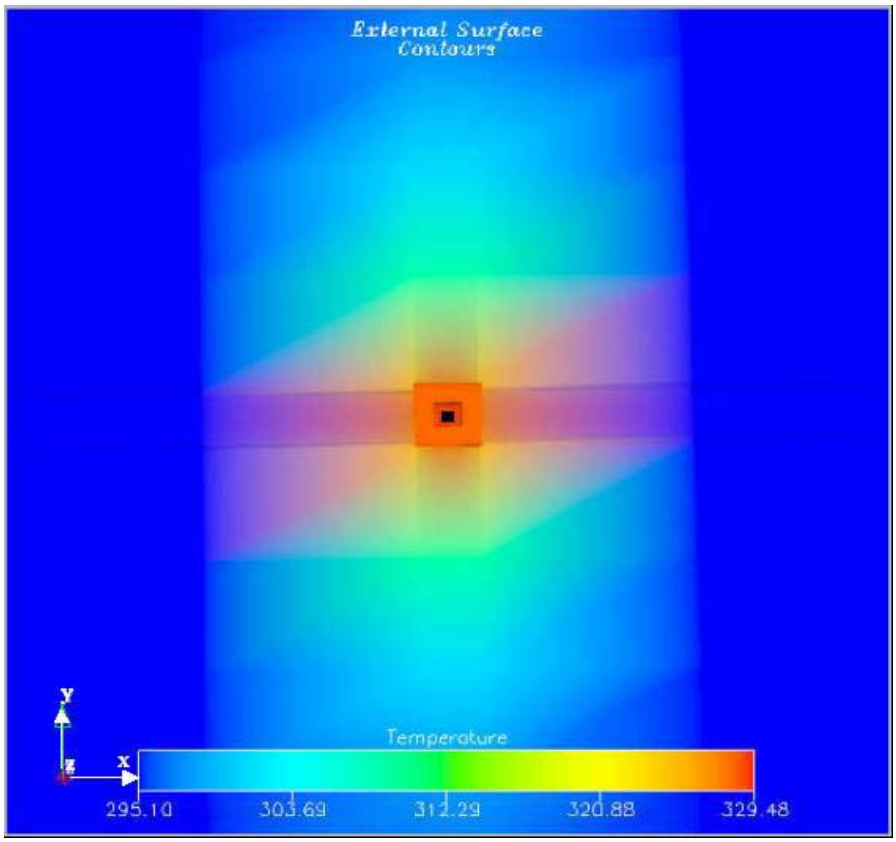
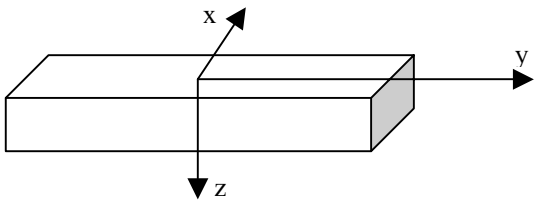


***Figure 2-11 : T**hermogramme simulé par ConventorWare d'un micro-injecteur vide, pour une puissance de 3,7mW, en régime permanent.*

On constate que le gradient de température est confiné à la membrane et que la zone centrale, limitée à la partie carrée de la résistance chauffante, supporte l'essentiel de l'élévation de température. Pour une étude plus précise, les valeurs des températures, sur les axes x, y et z, tels que définis ci-dessous, ont été reportées sur les figures 2-12 et 2-13 pour des simulations d'un micro-éjecteur vide.



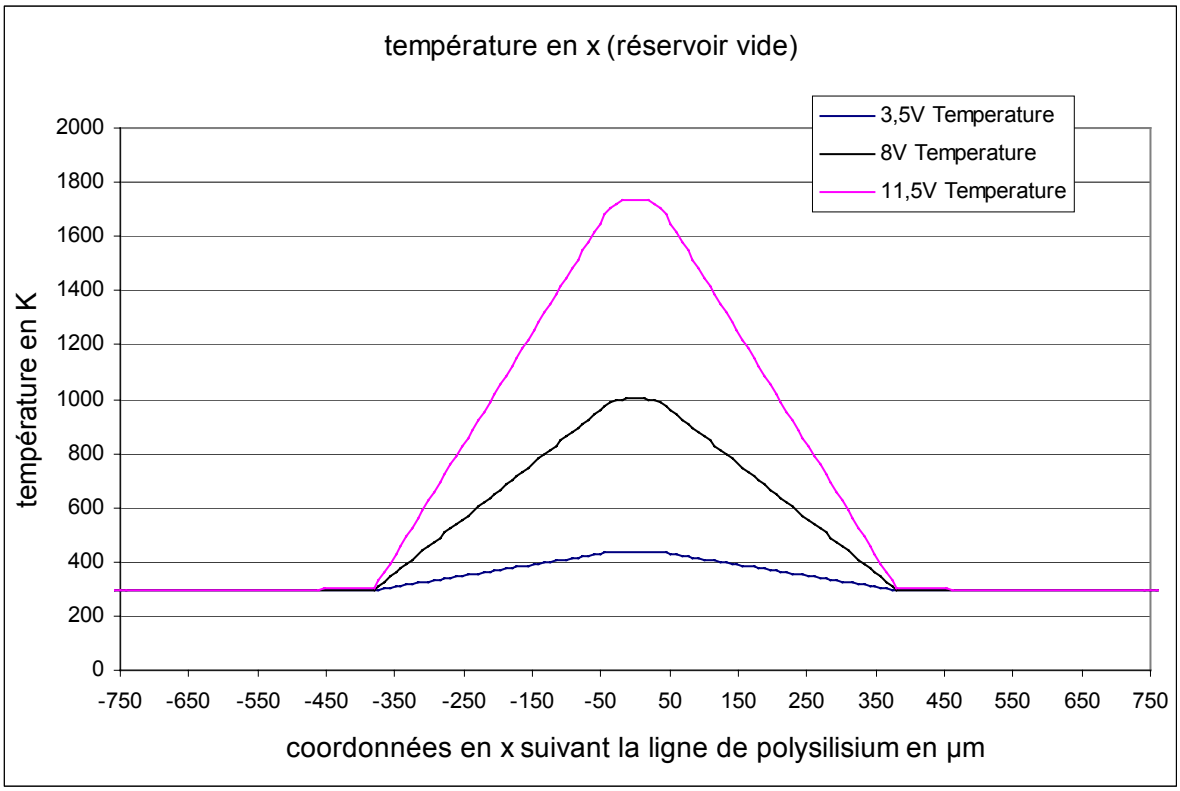


Figure 2-12 : *Variation de température en fonction de la tension selon l' axe x pour un réservoir vide, 0 est le centre de la résistance.*

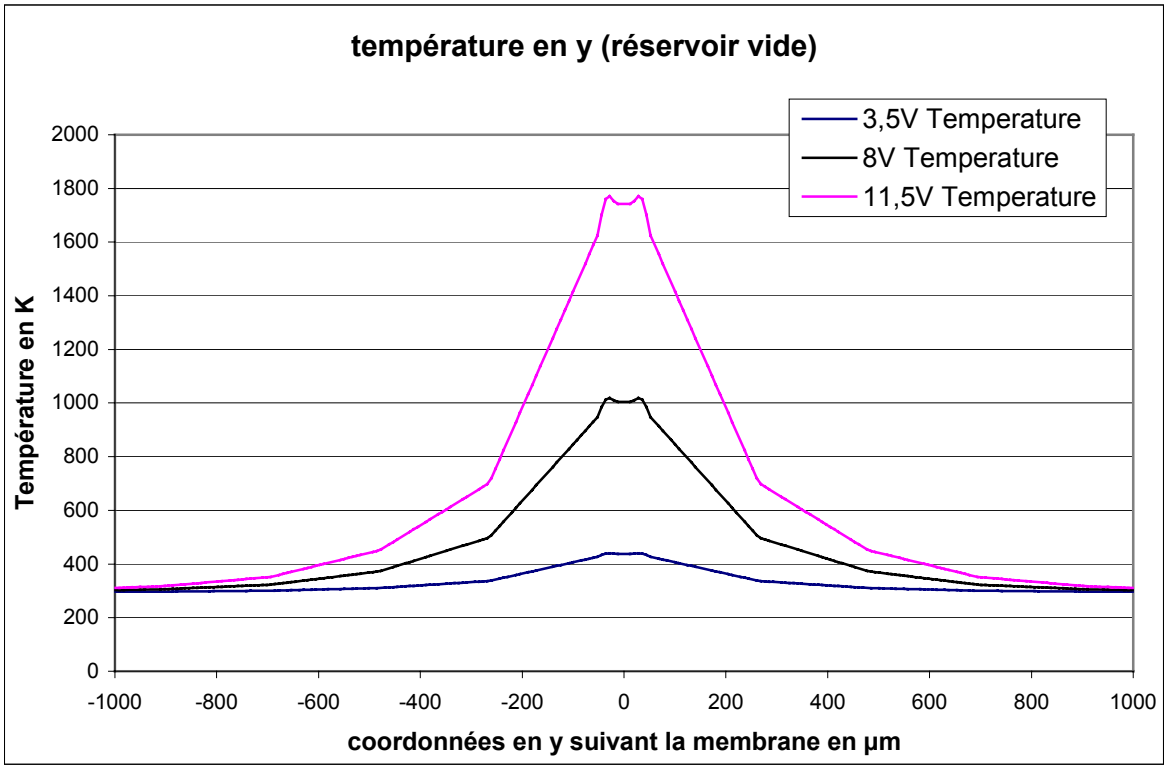


Figure 2-13 : *Variation de température en fonction de la tension selon l' axe y pour un réservoir vide, 0 est le centre de la résistance.*

On constate que les températures sont maximales sur la zone de la résistance chauffante et décroissent rapidement dès que l'on s'éloigne de cette zone. Le confinement de la chaleur ne se fait pas de façon homogène : on observe sur la figure 2-13, l'existence de 2 points chauds qui correspondent aux deux " bras" de la résistance comme indiqué sur la figure ci-dessous. C'est sur eux que sont observées les températures maximales T_{max}. La surface concernée est d'environ 600µm^2.

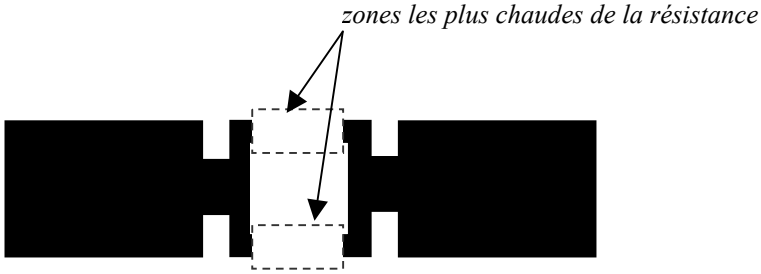


Figure 2-14 : *Zones les plus chaudes de la résistance.*

Les températures observées pour 8 et 11volts sont très importantes. Pour 8 volts, ces températures maximales peuvent atteindre 1000K et 1740K pour 11V. Ces températures paraissent bien supérieures aux températures limites cinétiques de surchauffe de l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile (tableau 2-3) mais quand est t-il en présence de liquide? Sur les figures 2-15, 2-16 et 2-17 sont présentées les résultats de simulations pour un micro-injecteur rempli d'eau. Les résultats de simulations nous montrent de la même manière qu'à vide, l'existence de points chauds. On retrouve également l'existence d'un plateau de température, confiné à la surface délimitée par la résistance chauffante. On appellera $T_{résistance}$ la valeur de la température sur cette zone.

Les simulations réalisées pour un micro-injecteur rempli d'eau montrent que les températures atteintes par la résistance chauffante sont bien inférieures à celles obtenues à vide. Par exemple, à 11V, il y a un rapport de 2,8 entre les températures maximales à vide et avec de l'eau. Cette différence vient de la dissipation thermique par conduction dans l'eau. D'après les simulations, pour 11V, le liquide en contact avec la surface chauffante atteint 591K ; cette température décroît de façon rapide sur une épaisseur très faible. A cette tension là, le liquide est chauffé entre 570K et 591K (qui sont typiquement les températures permettant une nucléation homogène) sur une profondeur de 11µm. Entre 575K et 570K, l'épaisseur de surchauffe est de 2,5µm. Ces résultats nous montrent qu'il est tout à fait

possible d'atteindre, avec la structure proposée, des températures de surchauffe permettant la nucléation gazeuse homogène.

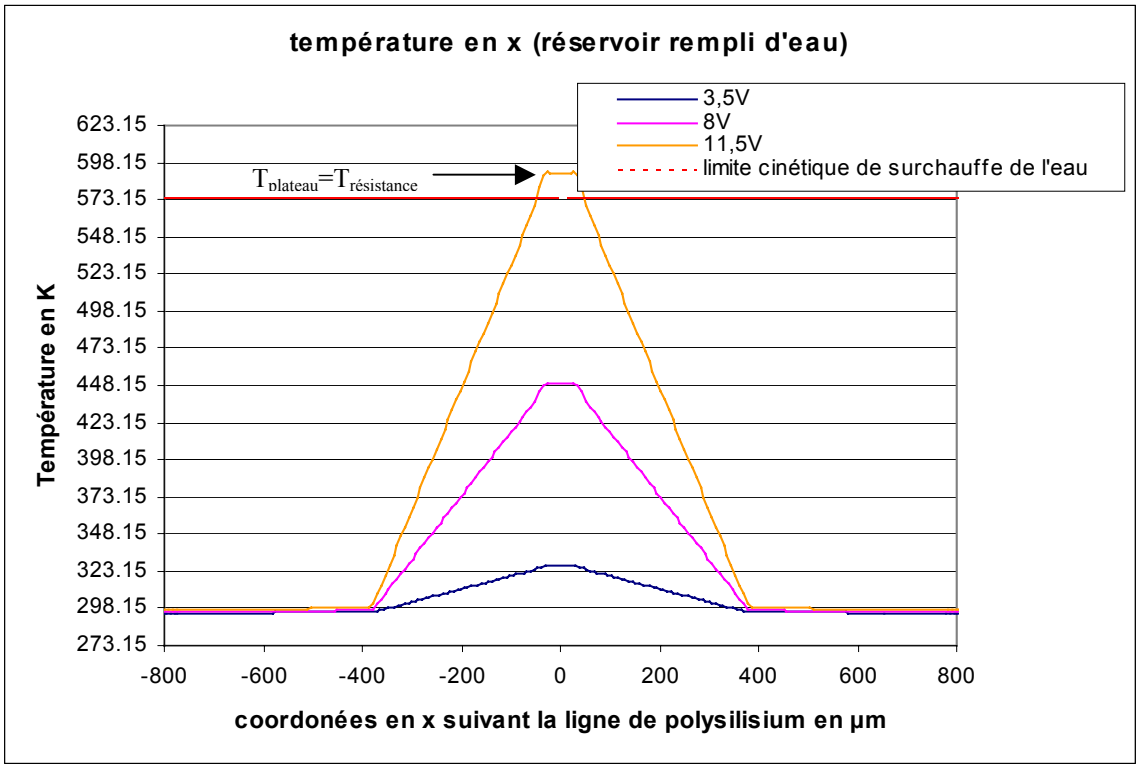


Figure 2-15 : *Variation de température en fonction de la tension selon l' axe x pour un réservoir rempli d'eau, 0 est le centre de la résistance.*

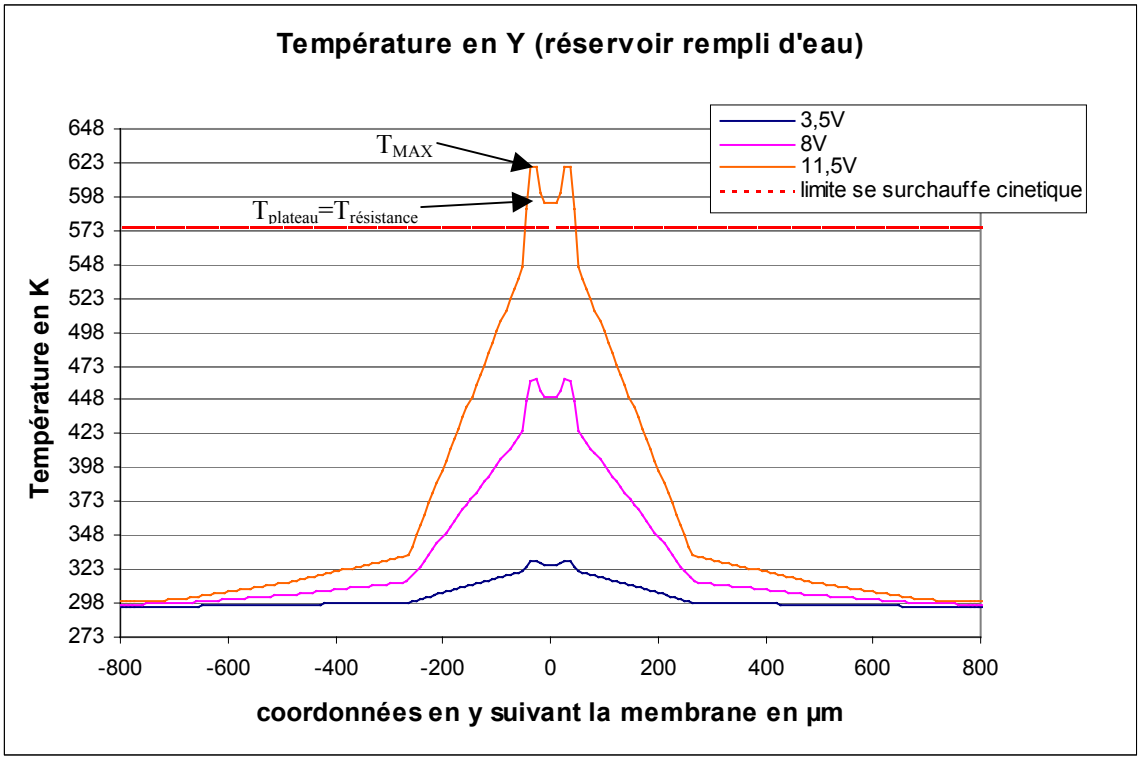


Figure 2-16 : *Variation de température en fonction de la tension selon l' axe y pour un réservoir rempli d'eau, 0 est le centre de la résistance.*

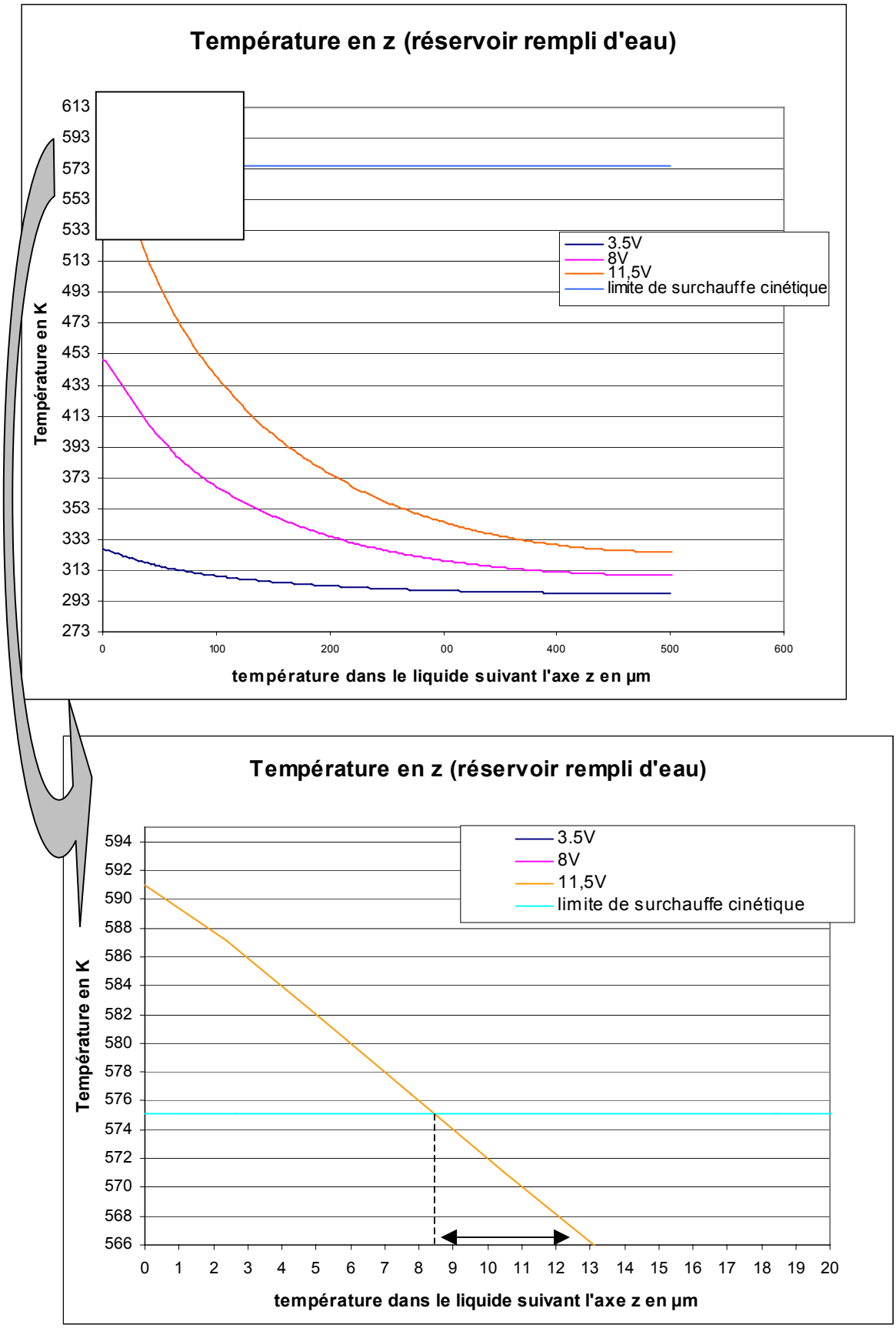


Figure 2-17 : *Variation de température en fonction de la tension selon l' axe z pour un réservoir rempli d'eau, 0 est le centre de la résistance.*

Les résultats de simulation pour l'éthanol et l'acétonitrile sont présentés dans le tableau 2-3. L'éthanol et l'acétonitrile, ayant des températures de limite cinétique de surchauffe plus faibles que pour l'eau et étant plus volatiles, les tensions qu'il est nécessaire d'appliquer pour atteindre des températures permettant la nucléation gazeuse homogène, sont bien plus faibles que pour l'eau. Il suffira d'appliquer des tensions d'environ 5V et 5,5V pour atteindre le régime de surchauffe dans respectivement l'éthanol et l'acétonitrile.

	LIMITE CINETIQUE DE SURCHAUFFE	TENSION APPLQUEE	$T_{MAXIMALE}$ SUR LES DEUX POINTS CHAUDS	T AU CENTRE DU TROU D'EJECTION
RESERVOIR VIDE		3,5V	440,3	437,7
		8V	1018,5	1004,4
		11,5V	1771,2	1742,2
RESERVOIR REMPLI D'EAU	575,1K	3,5V	329,6	327,3
		8V	463,4	449,9
		11,5V	620,4	592,9
RESERVOIR REMPLI D'ETHANOL	471,5	2,5V	334,9	333,5
		4,5V	429,4	424,7
		5,3V	482	475,7
RESERVOIR REMPLI D'ACETONITRILE	497	3V	351,8	349,7
		4,5V	423,2	418,7
		5,8V	517,8	510,2

Tableau 2-3 : *Températures obtenues par simulation sous ConventorWare pour différentes tensions et différents liquides.*

4-4. Comportement thermique en régime transitoire

Les impulsions thermiques pouvant être de courte durée, il est important de connaître le comportement thermique transitoire de notre éjecteur. Malheureusement, le logiciel de simulation que nous utilisons ne nous permet pas de faire la simulation des échauffement non stationnaires qui s'avèrerons déterminants pour évaluer les temps d'impulsion et les puissances nécessaires pour atteindre la nucléation homogène. Le comportement thermique transitoire a donc été évalué, à partir des simulations ci-dessus, en utilisant un modèle analytique. Le modèle que nous avons utilisé est un modèle à une dimension d'un mur semi

infini soumis à une densité de flux constante [22]. Ce flux est appliqué de la surface chauffante (z=0) au liquide (z≥0) pour un temps allant de 0 à t. Dans ce modèle, nous négligeons les variations des propriétés thermiques du liquide en fonction de la température. L'évolution temporelle de la température en un point situé à la profondeur z dans la liquide est donnée par la relation suivante :

$$\mathbf{T = T_{amb} + 2q_h \sqrt{\frac{t}{k_l c_l \rho_l}} \left[\frac{1}{\sqrt{\pi}} \exp\left(-\left(\frac{z}{2\sqrt{a_l t}} \right)^2 \right) - \left(\frac{z}{2\sqrt{a_l t}} \right) \mathrm{erfc}\left(\frac{z}{2\sqrt{a_l t}} \right) \right]}$$

Où q_h est le flux thermiques en $W.m^{-2}$, k_l la conductivité thermique du liquide en $W.m^{-1}.K^{-1}$, C_l la capacité calorifique du liquide en $J.kg^{-1}.K^{-1}$, ρ_l la densité du liquide en $kg.m^{-3}$ et a_l la diffusivité thermique en $m^2.s^{-1}$. La valeur du flux thermique q_h nous est donnée par les simulations effectuées sous ConventorWare, pour différentes tensions d'actionnement.

Le tableau 2-4 donne de façon synthétique, le temps d'impulsion nécessaire pour amener la liquide en contact avec la résistance chauffante à limite cinétique de surchauffe en fonction des flux thermiques appliqués. Cette évaluation repose sur le fait que la quantité de chaleur transférée au liquide représente 30 à 70% de la puissance dissipée totale [23]. Ce tableau montre sans ambiguïté que le temps de montée en température est non négligeable lorsque V<20V . Il est compris entre 467µs et 2,5ms à 15V, 148µs et 805µs à 20V, 61µs et 330µs à 25V et n'est plus qu'entre 29µs et 159µs à 30V.

U en V	**q_h en W/m^2**		**t en µs**
3	30%	37183	non
	70%	86762	non
5	30%	103288	non
	70%	241004	non
8	30%	264416	non
	70%	616971	non
11	30%	499912	8,80ms
	70%	1116646	1,62ms
15	30%	929588	2,54ms
	70%	2169040	467,5µs
20	30%	1652601	805,2µs
	70%	3856071	147,9µs
25	30%	2582190	329,8µs
	70%	6025111	60,6µs
30	30%	3718354	159,1µs
	70%	8676160	29,2µs

Tableau 2-4 : *Durée de l'impulsion pour atteindre la limite cinétique de surchauffe pour différentes tensions pour l'eau.*

5. Modèle global de fonctionnement et validation du design pour l'éjection

Les modèles présentés dans le paragraphe précédent nous donnent les éléments pour la compréhension du fonctionnement de notre éjecteur et couplés aux simulations du paragraphe 4-3 vont nous permettre d'établir un premier modèle comportemental global.

5-1. Première étape : la formation des bulles gazeuses

Nous avons vu, que dans les conditions idéales, la formation de la bulle gazeuse était définie à travers deux paramètres essentiels : le taux de nucléation de germes et la vitesse de croissance de ces germes gazeux. Les taux de nucléation gazeuse (nucléi.$m^{-3}.s^{-1}$) ont été calculés selon Avedisian [9], Asai [16] et Blander et Katz [8] pour l'eau. Ces résultats sont reportés sur la figure 2-18. On constate, selon l'approche, un léger écart. Cependant, il apparaît de façon unanime, que le taux de nucléation devient bien non négligeable à partir de 575K. Nous considérerons que cette température est le seuil de nucléation homogène. Il est important de voir que le taux de nucléation varie entre 575K et 628K, de $1{,}9.10^{4}$ à $4{,}7.10^{39}$ pour Asai, de $6{,}2.10^{2}$ à $4{,}5.10^{39}$ pour Katz et de $1{,}5.10^{4}$ à $3{,}8.10^{39}$ pour Avedisian.

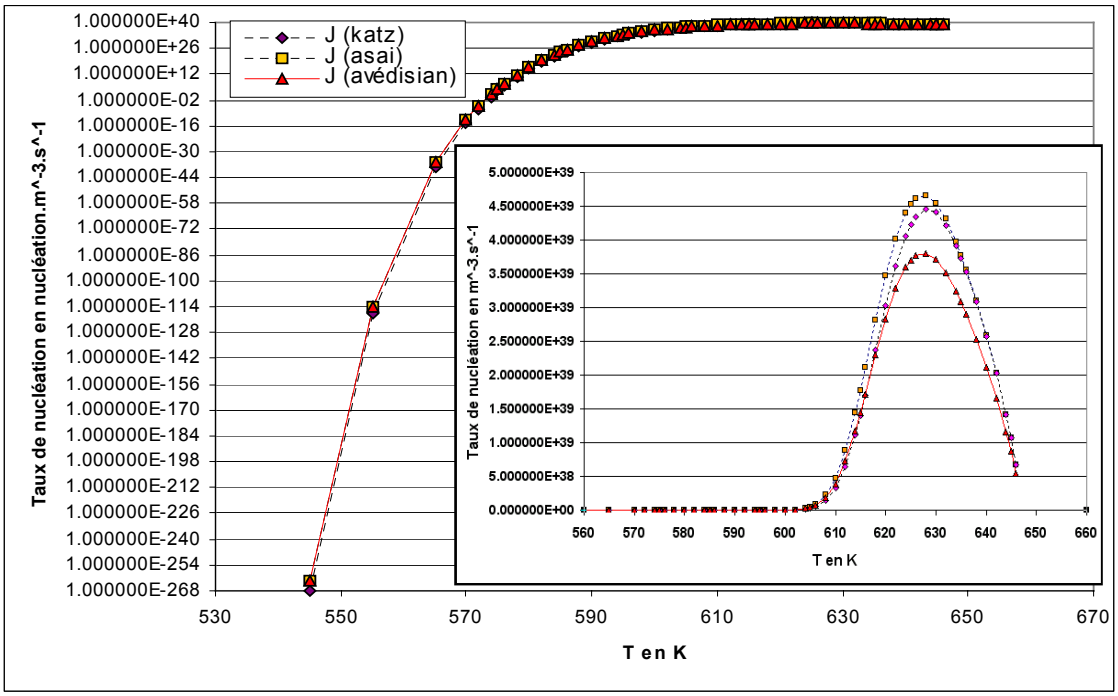


Figure 2-18 : *Taux de nucléation (nucléi.$m^{-3}.s^{-1}$) selon différentes méthodes de calcul .*

Ces variations importantes vont donc introduire une incertitude importante, sur l'estimation de la situation réelle dans la mesure ou notre évaluation de la température dans les régimes transitoires est imprécise.

Par ailleurs, les taux de nucléation homogène à la température limite de surchauffe cinétique ont été mesurés expérimentalement par C.T. Avedisian et sont présentées dans le tableau 2-5 [9]. Les valeurs, bien loin apparemment des valeurs théoriques calculées ci dessus, semblent cependant être une « bonne » moyenne dans une gamme de 575-628K. Etant donnée la faible précision que nous avons sur l'estimation de la température dans l'épaisseur du liquide, c'est sur ces valeurs moyennes-là que nous nous appuierons.

Liquide	Eau	Ethanol	Acétonitrile
Température de surchauffe limite en Kalvin	575.2	471.5	497
Pression Pa	0.101E+6	0.101E+6	0.101E+6
J_{oh} Taux de nucléation en $m^{-3}.s^{-1}$	1E+21	1E+23	1E+12

Tableau 2-5 : *Taux de nucléation à la température limite de surchauffe.*

Nous savons d'après la tableau 2-4 et 2-6, que la puissance d'alimentation et la durée de l'impulsion ont une influence importante sur le volume de liquide portée à la température de surchauffe, et donc sur le nombre de germes créés. A partir des valeurs du tableau 2-4, il est donc possible de faire une première estimation du taux de nucléation par unité de surface et de temps K_{oh} (cf Tableau 2-6) et si on considère que la zone surchauffée correspond à la surface de la résistance chauffante, soit $3,6*10^{-9}m^2$, on peut calculer le nombre de germes gazeux créés pour cette surface, pendant un temps donné. Ces valeurs sont reportées dans le tableau 2-6 pour différentes tensions d'alimentation et pour différentes durées de l'impulsion thermique. Nous voyons, d'ores et déjà, que les taux de nucléation pour l'eau ne deviennent significatifs qu'à partir de 20V et pour des durées de surchauffe au moins égales à 5µs. Le tableau 2-6 donne également le rayon initial de la bulle gazeuse.

liquide		e, K_{oh} et N en fonction du T temps t de chauffe supplémentaire		Puissance appliqué				
				11V	15V	20V	25V	30V
Eau (q à 30%)	Rayon initial = 3,3nm	0,1µs	e en m	0,2e-9	5e-10	5,5e-10	1,06e-9	2,6e-9
			Koh	2e11	5e11	5,5e11	1,06e12	2,6e12
			N	7,2e-5	1,8e-4	1,98e-4	3,816e-4	9,36e-4
		1µs	e en m	2,5e-9	4,6e-9	8e-9	1,24e-8	1,9e-8
			Koh	2,5e12	4,6e12	8e12	1,2e13	1,9e13
			N	9e-3	1,656e-2	2,88e-2	4,32e-2	6,84e-2
		5µs	e en m	1,2e-8	2,3e-8	4e-8	6,4e-8	9,2e-8
			Koh	1,2e13	2,3e13	4e13	6,4e13	9,2e13
			N	2,16e-1	4,14e-1	7,2e-1	1,152	1,656
		10µs	e en m	1,5e-8	4,6e-8	8e-8	1,24e-7	1,8e-7
			Koh	1,5e13	4,6e13	8e13	1,24e14	1,8e14
			N	5,4e-1	1,656	2,88	4,464	6,48
Eau (q à 70%)		0,1µs	e en m	0,85e-9	1,8e-9	2e-9	3,6e-9	3,5e-9
			Koh	8,5e11	1,8e12	2e12	3,6e12	3,5e12
			N	3,06e-4	6,48e-4	7,2e-4	1,296e-3	1,26e-3
		1µs	e en m	6e-9	1,25e-8	1,9e-8	3e-8	4e-8
			Koh	6e12	1,25e13	1,9e13	3e13	4e13
			N	2,16e-2	4,5e-2	6,84e-2	1,08e-1	1,44e-1
		5µs	e en m	2,9e-8	5,4e-8	9,4e-8	1,4e-7	2,1e-7
			Koh	2,9e13	5,4e13	9,4e13	1,4e14	2,1e14
			N	5,22e-1	9,72e-1	1,692	2,52	3,78
		10µs	e en m	5,8e-8	1,08e-7	1,9e-7	3e-7	4e-7
			Koh	5,8e13	1,08e14	1,9e14	3e14	4e14
			N	2,088	3,888	6,84	10,8	14,4

Tableau 2-6 : *Nombre de germe gazeux en fonction du temps de surchauffe une fois que la température de 575K est atteinte. t : temps de surchauffe en plus, une fois que le liquide à la paroi soit à 575K, e : épaisseur de liquide surchauffé, K_{oh} : taux de nucléation en $m^{-2}.s^{-1}$ et N : nombre de germe gazeux pour une surface de $3,6.10^{-9}m^2$.*

5-2. Deuxième étape : la croissance des bulles gazeuses

La croissance de la bulle gazeuse est générée par 2 phénomènes concomitants, qui sont d'une part la vaporisation du liquide et d'autre part les interactions mécaniques entre la bulle et son environnement. Selon les conditions expérimentales, on peut soit observer la croissance

des germes gazeux jusqu'à coalescence, ou bien assister à la formation quasi-instantanée d'un film de vapeur recouvrant toute la surface chauffante, comme suggéré par Asai [15].

Nous avons vu, au paragraphe 3-2, que la croissance d'une bulle gazeuse se déroulait selon deux étapes successives. La première appelée régime inertiel, correspond aux tous premiers instants de la croissance et est caractérisée par une vitesse de croissance du type :

$$\dot{R} = \left[\frac{4\sigma}{3\rho_l R_0}\right]^{1/2} = \left[\frac{2(P_{sat}(T_0) - P_0)}{3\rho_l}\right]^{1/2}$$

La deuxième, appelée régime diffusif, est contrôlée par les phénomènes de changement de phase dans la bulle gazeuse et est caractérisé par une vitesse de croissance plus lente que la précédente et donnée par :

$$\dot{R}(t) = Ja\sqrt{\frac{3a_l}{\pi t}}$$

Le temps de transition entre les deux régimes est donné par le tableau 2-7 pour différentes valeurs de températures.

Température en K	**375**	**395**	**535**	**555**	**575**
dR/dt (inertiel) en m/s	2,2	8,79	62,96	75,17	89,06
dR/dt (diffusif) en m/s	$2{,}26e\text{-}3*t^{-0,5}$	$1{,}36e^{-2}*t^{-0,5}$	$6e\text{-}3*t^{-0,5}$	$5{,}15e\text{-}3*t^{-0,5}$	$4{,}5e\text{-}3*t^{-0,5}$
Temps de transition en s	4,22e-6	9,61e-6	3,63e-8	1,88e-8	1,02e-8
Rayon de transition en m	1.86e-5	1,69e-4	4,57e-6	2,82e-6	1,8e-6

Tableau 2-7 : *Temps de transition entre le régime inertiel et diffusif à différentes températures.*

On voit que dans nos conditions de travail (575K), la durée de régime inertiel est extrêmement courte et que l'essentiel de la croissance se fait certainement en régime diffusif.

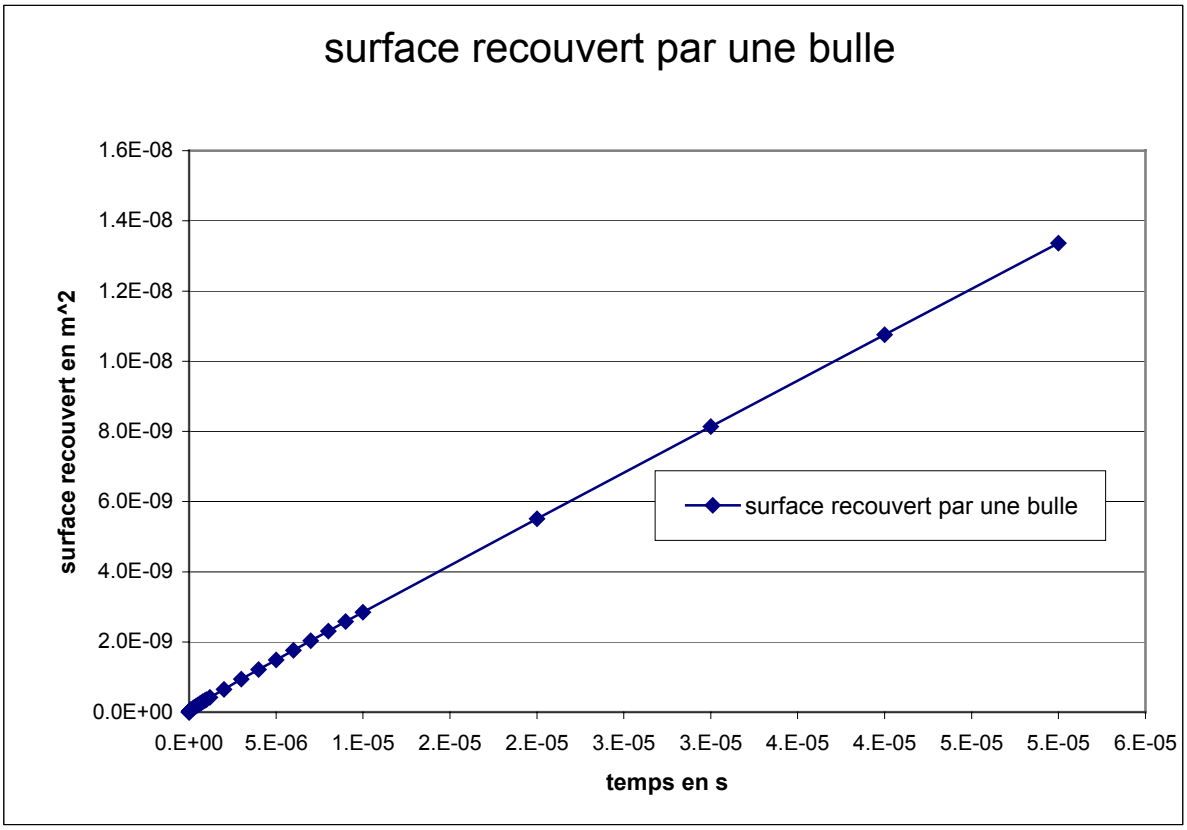


Figure 2-19 : *Surface recouverte par la bulle gazeuse en fonction du temps.*

Nous avons vu dans le paragraphe 3-3, que le temps nécessaire pour qu'un film gazeux recouvre la surface de la résistance est donné par la solution de l'équation :

$$Sh = n(t)\pi \dot{R}^2 t^2$$

où S_h est la surface de chauffe ($3{,}6.10^{-9}m^2$), et $\dot{R}$ la vitesse de croissance. La figure 2-19 nous donne la surface recouverte par une bulle en fonction du temps. Nous y voyons que le temps nécessaire à une bulle de vapeur pour recouvrir la surface chauffante est de 13,5µs, et qu'en superposant ce temps au nombre de nucléi générés (voir tableau 2-6), nous n'aurons pas, dans nos conditions de travail, formation instantanée d'un film de vapeur mais plutôt formation, croissance et coalescence de plusieurs bulles de vapeur. C'est donc ce modèle de croissance que nous allons utiliser pour nos calculs.

Le tableau 2-8 nous donne les temps nécessaires à la formation des bulles à 15, 20, 25 et 30V. Sur le tableau 2-9, nous donne le temps de recouvrement de la surface chauffante pour différentes tensions.

$n^{ième}$ bulle		*1*	*2*	*3*	*4*	*5*	*6*	*7*	*8*	*9*	*10*
Temps de formation en µs à 15V	***q30%***	*7,03*	*9,95*	*12,19*	*14,10*	*15,79*	*17,33*	*18,76*	*20,10*	*21,37*	*22,58*
	q70%	*5,56*	*8,08*	*9,97*	*11,47*	*12,72*	*13,78*	*14,70*	*15,53*	*16,26*	*16,92*
Temps de formation en µs à 20V	***q30%***	*5,90*	*8,34*	*10,19*	*11,72*	*13,04*	*14,21*	*15,27*	*16,24*	*17,13*	*17,96*
	q70%	*3,80*	*5,37*	*6,58*	*7,59*	*8,47*	*9,27*	*10,00*	*10,67*	*11,30*	*11,89*
Temps de formation en µs à 25V	***q30%***	*4,92*	*6,97*	*8,59*	*10,01*	*11,32*	*12,56*	*13,79*	*15,03*	*16,33*	*17,77*
	q70%	*3,26*	*4,64*	*5,68*	*6,54*	*7,28*	*7,93*	*8,52*	*9,05*	*9,54*	*9,99*
Temps de formation en µs à 30V	***q30%***	*3,80*	*5,39*	*6,63*	*7,67*	*8,60*	*9,43*	*10,21*	*10,93*	*11,61*	*12,16*
	q70%	*3,05*	*4,30*	*5,27*	*6,09*	*6,84*	*7,52*	*8,17*	*8,79*	*9,39*	*9,98*

Tableau 2-8 : *Temps de formation des bulles pour 15, 20, 25 et 30V.*

		Temps de recouvrement en µs	**Nombre de bulle**	**Volume généré en m^3**	**Temps global d'impulsion en µs**
15V	***q30%***	*14,03*	*3*	$1{,}016.10^{-13}$	*2558,93*
	q70%	*11,97*	*4*	$9{,}49.10^{-14}$	*479,47*
20V	***q30%***	*12,24*	*4*	$9{,}46.10^{-14}$	*817,44*
	q70%	*8,89*	*5*	$8{,}35.10^{-14}$	*156,79*
25V	***q30%***	*10,81*	*4*	$9{,}11.10^{-14}$	*340,61*
	q70%	*7,98*	*6*	$7{,}99.10^{-14}$	*68,58*
30V	***q30%***	*9,03*	*5*	$8{,}27.10^{-14}$	*168,13*
	q70%	*7,6*	*6*	$7{,}87.10^{-14}$	*36,8*

Tableau 2-9 : *Temps de recouvrement de la surface chauffante pour 15, 20, 25 et 30V.*

D'après les résultats regroupés dans ces tableaux, nous voyons que la tension appliquée joue un rôle important et détermine la durée d'impulsion nécessaire : plus on augmente la tension plus le nombre d'embryons gazeux devient important et le recouvrement plus rapide.

5-3. Troisième étape : l'éjection

Les modèles d'éjection de fluide présentés au paragraphe 3-4, montrent que :

- Les paramètres influençant l'éjection sont les caractéristiques du fluide (viscosité, densité, tension de surface), la géométrie de l'éjecteur (diamètre et longueur de la buse), les conditions expérimentales (surpression générée, durée de l'impulsion).

- L'éjection est effective lorsque le nombre de Weber :

$$\mathbf{We} = \frac{\boldsymbol{\rho} \mathbf{U}_{\infty}^{2} \mathbf{R}_{0}}{\boldsymbol{\sigma}}$$

  est supérieur à 1.

- Le volume traversant le trou d'éjection et la vitesse peuvent être approchés par les formules (9) et (11).

La vitesse d'éjection, lorsque le régime stationnaire est atteint, est donnée par :

$$U_{\infty} = \frac{\Delta P R_0^2}{8 \mu L} \text{ avec } \Delta P = \frac{P}{V} \frac{4}{3} \pi \, R^3{}_{(\Delta t)} \, n_{(\Delta t)}$$

ou $R_{(\Delta t)}$ et $n_{(\Delta t)}$ sont respectivement le rayon d'une bulle gazeuse et le nombre de bulle gazeuse à l'instant Δt correspondant à $t\text{-}t_0$, où t_0 est le temps initial de la formation de la première bulle. On a alors :

$$U_{\infty} = n_{(\Delta t)} \frac{(12 a_l)^{3/2}}{6\sqrt{\pi}} \frac{R_0{}^2}{\mu L} \frac{P}{V} Ja^3 \, (\Delta t)^{3/2}$$

et

$$\mathbf{We} = \frac{\boldsymbol{\rho} \, \mathbf{n}_{(\Delta t)}^{2} (\mathbf{12 a_l})^3 \, \mathbf{R_0}^5 \, \mathbf{P}^2 \, \mathbf{Ja}^5 \, (\boldsymbol{\Delta} \mathbf{t})^3}{\boldsymbol{\sigma} \, \mathbf{36} \, \boldsymbol{\pi} \boldsymbol{\mu}^2 \mathbf{L}^2 \, \mathbf{V}^2}$$

Le volume traversant le trou d'éjection en régime stationnaire donné par :

$$\boldsymbol{\psi} \equiv \frac{\mathbf{V}}{\mathbf{V}_{\infty}} = \mathbf{1} - \frac{\mathbf{0{,}166} \boldsymbol{\rho} \mathbf{R}_0^2}{\mathbf{t_p} \boldsymbol{\mu}} \left[\mathbf{1} - \mathbf{exp}\left(- \frac{\mathbf{5{,}77 t_p} \boldsymbol{\mu}}{\boldsymbol{\rho} \mathbf{R}_0^2} \right) \right]$$

nous permet d'estimer le volume éjecté.

Bien que, en toute rigueur, le survolume généré par la bulle ne puisse pas être exprimé en terme de surpression, on peut toutefois estimer un nombre de We. Pour une surface chauffante de $3{,}6.10^{-9}m^2$; d'après l'équation (10) en prenant R_0=20E-6m, μ=0.00089Pa.s, L=40E-6m, ρ=997.048kg.m^{-3}, Volume de la chambre = 3,3e-12m^3 et σ=71.99E-3N.m^{-1}, nous avons calculé le nombre de Weber, la vitesse et le volume de l'éjection. Tous les résultats pour 15, 20, 25 et 30V sont regroupés dans le tableau 2-10.

V	15		20		25		30	
	q30%	q70%	q30%	q70%	q30%	q70%	q30%	q70%
Temps d'impulsion	2558,93µs	479,47µs	817,44µs	156,79µs	340,61µs	68,58µs	168,13µs	36,8µs
We	5,31	4.64	4,61	3,59	4,28	3,29	3,52	3,19
U_∞ (vitesse) en m/s	4,38	4,09	4,08	3,6	3,93	3,44	3,57	3,40
V_∞ (volume) m^3	9,56e-14	6,92e-14	7,14e-14	3.82e-15	5,65e-15	3,1e-15	3,87e-15	2,84e-15

Tableau 2-10 : *Nombre de Weber, vitesse et volume de l'éjection pour différents tension et temps d'impulsion.*

Les différents résultats, présentés dans les divers tableaux, montrent les temps d'impulsions que nous devons appliquer pour les tensions de 15, 20, 25 et 30V afin d'obtenir une éjection dans un régime de nucléation homogène. Nous voyons dans le tableau 2-10 que les volumes éjectés pour 15V sont supérieurs aux volumes éjectés à 30V, cela s'explique par un temps d'impulsion plus long à 15V donc des volumes de gaz générés plus importants. Les résultats pour 12 et 20V sont tout de même à nuancer dans la mesure où les temps d'impulsions pour obtenir l'éjection sont assez longs, or pour nous situer dans des conditions de nucléation homogène, il faut que ce temps soit très court (impulsion<100µs). Pour 25 et 30V nous voyons qu'il est tout à fait possible d'éjecter le liquide dans des conditions de nucléation homogène. Les volumes éjectés sont de l'ordre du pico litre pour des vitesses de l'ordre du m/s.

6. Conclusions

La décomposition en plusieurs étapes du phénomène d'éjection, nous a permis de voir les points essentiels qu'il faut maîtriser pour concevoir un micro-injecteur capable d'éjecter du liquide. Ainsi, nous avons vu qu'un des paramètres à maîtriser est l'échauffement du

liquide à des températures proches de la limite de surchauffe cinétique et amener ce liquide à ces températures très rapidement de façon à prohiber la nucléation hétérogène. Nous avons donc conçu les micro-injecteurs afin de pouvoir atteindre les températures désirés et cela le plus rapidement possible. Afin d'atteindre cet objectif, les points sur lesquels nous nous sommes concentrés sont le dessin de la résistance chauffante, la nature de la résistance chauffante et le structure générale du composant. Nous avons opté pour des résistances en polysilicium dopé que nous avons intégrées sur une membrane diélectrique SiN_x/SiO_2. Le comportement thermique des résistances chauffantes, en fonction des tensions appliquées, a été simulé sous le logiciel ConventorWare. Ces simulations en stationnaire nous ont confirmé la possibilité d'atteindre les températures limites de surchauffe cinétique pour l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile. Les calculs que nous avons effectué à partir de ces résultats nous ont montré qu'une telle structure pouvait permettre l'éjection. Nous allons maintenant présenter les étapes technologiques de réalisation du micro-injecteur.

REFERENCES (Chapitre II)

[1] J.C. Smith et al., ”Development of a Color Graphics Printer”, Hewlett-Packard Journal, August 1988, 16-21.

[2] R.A. Askeland et al., “The Second-Generation Thermal InkJet Structure”, Hewlett-Packard Journal, August 1988, 28-31.

[3] W.A. Buskirk et al., “Development of a High-Resolution Thermal Inkjet Printhead”, Hewlett-Packard Journal, October 1988, 55-61.

[4] A. Asai, T. Hara and I. Endo, “One-Dimensional Model of Bubble Growth and Liquid Flow in Bubble Jet Printers”, Japanese Journal Of Applied Physics, 1987, vol. 26, No. 10, 1794-1801.

[5] M. O’Horo et al., “Micro Electro Mechanical System Technology for Commercial Thermal Inkjet Document Output Products”, Eurosensor X, Leuven, Belgium, 8-11 September 1996, 431-435.

[6] R.R. Allen et al., “Thermodynamics and Hydrodynamics of Thermal Ink Jets”, Hewlett-Packard Journal, May 1985, 21-27.

[7] S. Van Stralen et R. Cole, “Boiling Phenomena”, Edited by E. Millman and J.B. Gandy, Hemisphere Publishing Corporation, 1979.

[8] M. Blander and J.L. Katz, “Bubble nucleation in liquids”, AIChE Journal, 1975, Vol. 21 (5), 833-848.

[9] C.T. Avedisian, “The Homogeneous Nucleation Limits of Liquids”, 1985, J. Phys. Chem. Ref. Data, 1985, Vol. 14 (3), 695-729.

[10] A. Asai, “Application of the Nucleation Theory to the Design of Bubble Jet Printers”, Japanese Journal of Applied Physics, 1989, Vol. 28, 909-915.

[11] M.S. Plesset et S.A. Zwick, “The Growth of Vapour Bubbles in Superheated Liquid”, Journal of Applied physics, 1954, Vol. 25, 493-500.

[12] L.E. Scriven, “On the Dynamics of Phase Growth”, Chem. Engng. Sci., 1959, Vol. 1, 1-13.

[13] E. Ruckenstein et E. James Davis, “The Effet of Bubble Translation on Vapor Bubble Growth in Superheated Liquid”, Int. J. Heat Mass Transfer, 1971, Vol. 14, 939-952.

[14] A. Asai et al., “Bubble Generation Mechanism in the Bubble Jet Recording Process”, Journal of Imaging Technology, 1988, Vol. 14, 120-124.

[15] A. Asai, “Bubble dynamics in Boiling Under High Heat Flux Pulse Heating”, Journal of Heat Transfer, 1991, Vol. 113, 973-979.

[16] A. Asai, “Three-Dimensional Calculation of Bubble Growth and Drop Ejection in a Bubble Jet Printer”, Transactions of the ASME, 1992, Vol. 114, 638-641.

[17] S. Middleman, “Modeling Axisymmetric Flows”, Academic Press, Inc., 1995.

[18] C. Rossi et al., “Realization and Performance of Thin $Si0_2/SiN_x$ Membrane for Microheater Applications”, Sensors and Actuators A, 1998, Vol. 64, 241-245.

[19] http://www.conventorware.com.

[20] I. Simon et al., “Micromachined Metal Oxide Gas Sensor : Apportunities to Improve Sensor Performance”, Sensors and Actuators B, 2001, Vol. 73, 1-23.

[21] http://webbook.nist.gov/chemistry/fluid/

[22] J.F. Sacadura et al., “Initiation aux transferts thermiques”, Edition Technique et Document, 4e tirage 1993.

[23] S. Astie, "Intégration d’un capteur de gaz à oxyde semi-conducteur sur silicium", Thèse au LAAS-CNRS, 1998.

Chapitre III

Réalisation technologique des micro-injecteurs

1. Introduction

La réalisation d'un micro injecteur passe par l'utilisation des technologies de micro usinage du silicium. Nous allons, dans ce chapitre, présenter les différentes étapes technologiques qui ont été choisies pour sa fabrication et en expliquer les raisons. Comme nous l'avons vu au chapitre précédent, la matrice d'éjecteur doit être réalisée sur une membrane diélectrique thermiquement isolante afin de confiner la chaleur produite par un initiateur thermique autour de celui-ci, et de limiter les interactions thermiques entre éjecteurs voisins. Cette membrane doit respecter certaines conditions. Elle doit être suffisamment résistante mécaniquement pour ne pas se briser en cours de fabrication ou en cours d'utilisation, elle doit aussi être résistante aux produits chimiques utilisés lors de l'éjection. La tenue mécanique de la membrane constitue certainement un des points critiques dans le choix de la technologie utilisée.

2. Les véhicules tests et le procédé de buse

Les dispositifs dans les configurations finales doivent pouvoir adresser chacun des éjecteurs par un adressage (xy). Cet adressage est étudié parallèlement sur la base de simples jonctions PN en silicium associées à chaque éjecteur. Cette combinaison : éjecteurs-diodes, n'est pas difficile à réaliser sur un substrat massif mais, dans notre éjecteur, le choix d'une membrane oblige à envisager l'usage de jonctions réalisées en couches minces. C'est la raison du choix du polysilicium comme élément chauffant car cela préserve la possibilité, à terme, de rester sur une technologie homogène pour réaliser les diodes.

Nous sommes, dans notre projet, au stade de la mise au point du procédé. C'est une grande simplification de ne pas introduire aujourd'hui les contraintes de l'adressage. Sans adressage, il faut pouvoir gérer l'encombrement des fils de connexion qui doivent atteindre chaque résistance chauffante sur chaque éjecteur. Nous avons choisi de travailler sur 2 types de structure : un micro injecteur matriciel comportant 10*10 éjecteurs et un micro injecteur linéaire comportant 30 buses en ligne. Le design que nous avons choisi est présenté schématiquement sur la figure 3-1.

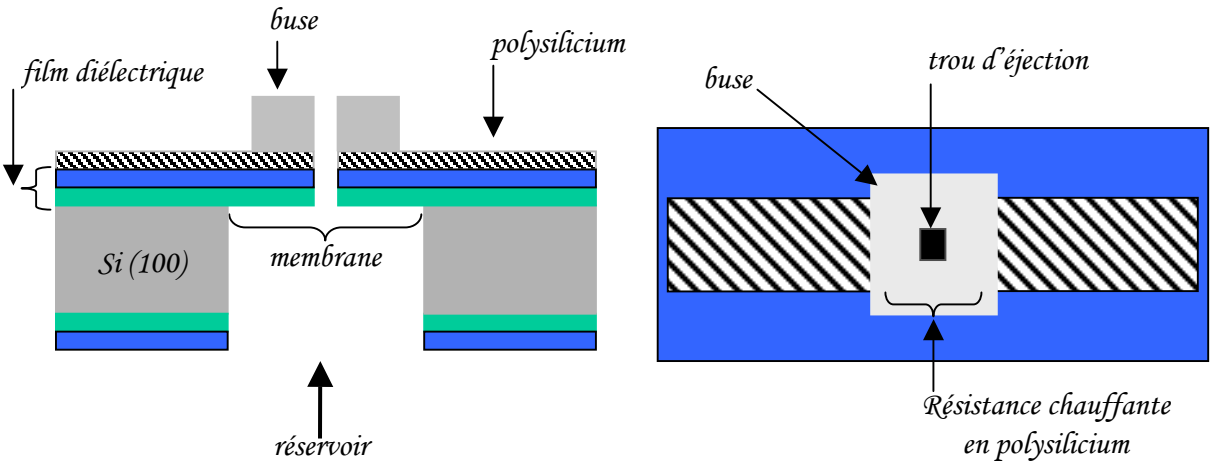


Figure 3-1 : *Schéma de la structure d'un micro-injecteur en vu en coupe et de dessus.*

Nous y retrouvons :

- Le réservoir, réalisé par micro usinage en silicium. Il alimente tous les éjecteurs en liquide.
- La membrane : avant d'être libérée du substrat, la membrane est adhérante au substrat.
- La résistance chauffante, déposé sur la membrane.
- Les buses d'éjections.

Définir une filière technologique de fabrication, c'est définir et mettre au point des opérations technologies successives qui doivent être compatibles. Compatible signifie ici que les opérations doivent restées indépendantes les unes des autres. Plusieurs modes d'interférences sont possibles :

- Mode thermique lorsque la température utilisée à une opération de rang n, modifie les caractéristiques des opérations antérieures
- Mode mécanique lorsque l'opération induit des contraintes sur les couches sous jacentes ou sur le substrat.
- Mode chimique lorsque les couches ou les procédés mettent en œuvre des agents chimiques qui dégradent les couches antérieures.

La difficulté majeur de notre dispositif se situe dans la mise au point d'une technologie sur membrane qui suppose de résoudre des problèmes de contraintes. Cette mise au point est d'autant plus difficile que nous devons le percer pour l'orifice d'éjection. La règle d'or a suivre est de réaliser les premières opérations sans qu'elles induisent des contraintes sur le substrat, la problématique la plus importante était que la membrane soit sans contrainte.

Le perçage de l'orifice sur la membrane la fragilise dans la mesure où il intervient, quelles que soient les précautions que l'on a pris, des mécanismes de relaxations. Notre option est d'entourer préalablement le trou.

A priori, dans la mesure où on place toutes les opérations chaudes de dépôt en début de procédé, il n'y a pas d'incompatibilité thermique car les procédés de dépôts de résines et de micro usinage sont réalisés à froid.

Dans ces conditions, le procédé sera composé de 5 étapes successives :

a) La réalisation de la membrane support par dépôt de films minces diélectriques sur le substrat de silicium.
b) La réalisation de la résistance chauffante par dépôt de polysilicium fortement dopé.
c) Le préperçage des trous d'éjection alors que la membrane n'est pas libérée.

d) La libération de la membrane et la réalisation du réservoir qui sont deux opérations simultanées.

La figure 3-2 résume le déroulement du procédé complet.

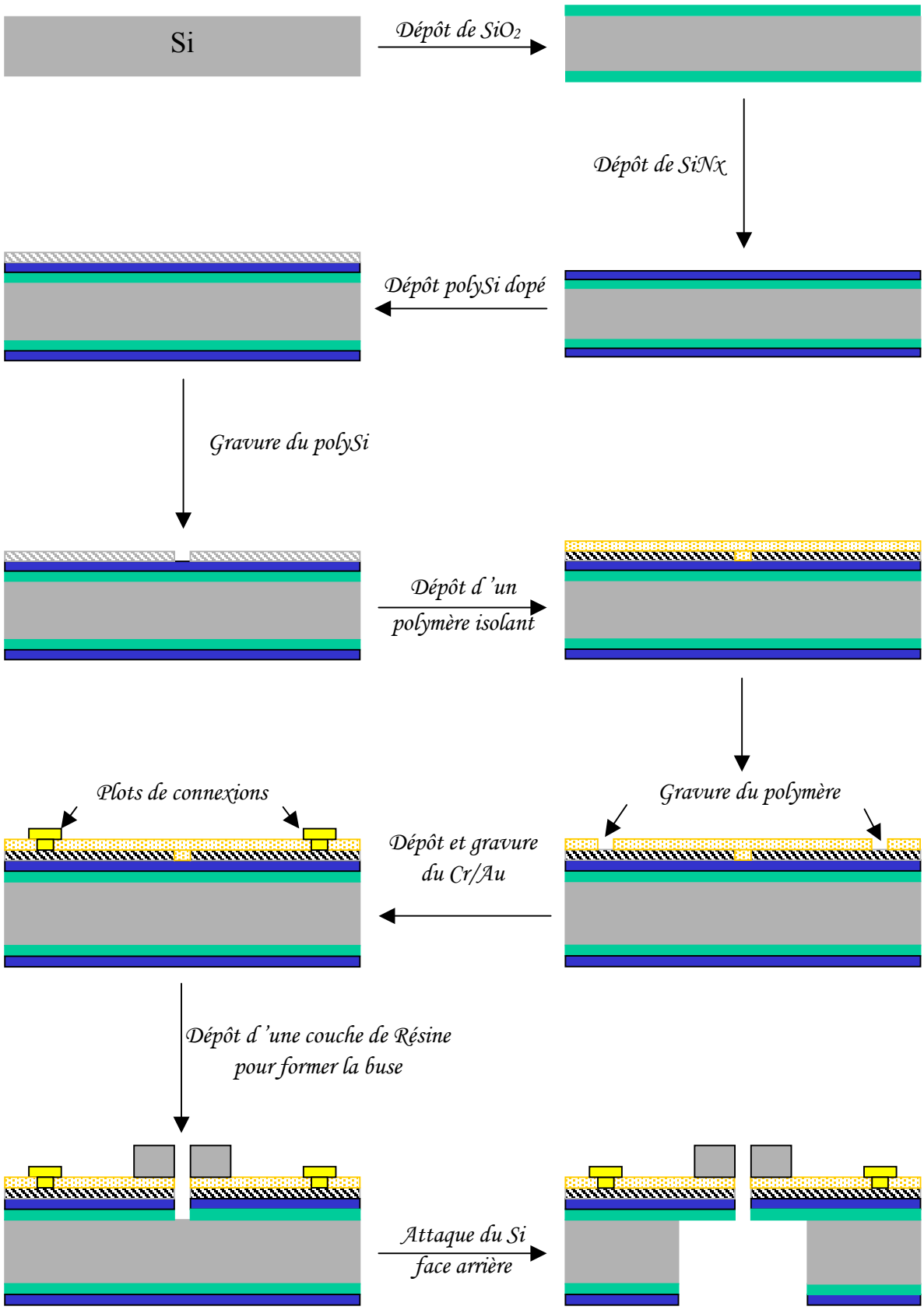


Figure 3-2 : *Présentation des différentes étapes technologiques pour la réalisation d'un micro injecteur.*

3. Mise au point de la membrane support

La membrane doit impérativement répondre aux trois contraintes suivantes :

- Etre en toute circonstance plane pour assurer une invariance des dimensions géométriques des circuits.

- Etre avant tout sans contraintes préexistantes qui la détruirait spontanément à la libération du substrat.

- Etre résistante vis-à-vis des contraintes mécaniques et chimiques qui pourraient intervenir lors de l'utilisation des éjecteurs

- Etre constituée de matériaux isolants électriquement et thermiquement pour limiter les interactions thermiques entre éjecteurs.

Il existe probablement plusieurs solutions pour réaliser ces membranes. L'usage de polymères est déjà envisagé dans d'autres applications. Nous avons préféré utiliser des doubles couches SiO_2/Si_3N_4 qui assurent une bonne tenue en température et qui ont été développées au LAAS dans d'autres applications. Des études systématiques ont été conduites pour réduire les contraintes. Ces études ont montré que la fragilité des membranes s'explique par l'existence de contraintes dans les films déposés sur le substrat silicium. Ces contraintes peuvent être de deux types [1-3] :

- <u>Les contraintes intrinsèques :</u>

  Les contraintes intrinsèques sont dues au procédé technologique [4-5]. Pendant la croissance du film sur le substrat, des défauts se créent. Ils sont dus à la différence de maille et de volume du cristal. Le niveau de contraintes intrinsèques dépend des conditions de dépôt et particulièrement de sa cinétique, du niveau de dopage et de la structure atomique des deux films.

- <u>Les contraintes extrinsèques ou thermiques [6] :</u>

Les contraintes extrinsèques ou thermiques sont dues à la différence des coefficients de dilatation thermique des matériaux du film et du substrat. Les dépôts étant réalisés à des températures élevées (Td>400°C), lorsque le wafer est ramené à température ambiante (Ta), il y a une dilatation thermique différente dans chacune des couches. La contrainte mécanique ainsi générée peut s'écrire :

$$\sigma_{th}^{f} = \frac{E^{f}}{1-\vartheta^{f}} \left(\alpha_{si} - \alpha_{f}\right) \left(T_{A} - T_{d}\right)$$

E^f et υ^f sont respectivement le module d'Young et le coefficient de poisson du film, α_{Si} et α_f sont les coefficients de dilatation du silicium et du film.

La contrainte thermique s'ajoute à la contrainte intrinsèque, nous avons :

$$\sigma^{f} = \sigma_{th}^{f} + \sigma_{i}^{f}$$

Si $\sigma^f > 0$, le film déposé est en tension, alors que si $\sigma^f < 0$, il est en compression. Dans les deux cas, la plaquette (substrat et film) se courbe sous l'effet de la contrainte (cf figure 3). Son rayon de courbure R est défini par la formule de Stoney [7] et s'écrit lorsque $t_f << t_{Si}$:

$$\sigma^{f} = -\frac{1}{6R} \frac{E_{Si}}{1-\upsilon_{Si}} \frac{t_{Si}^{2}}{t_{f}}$$

avec : E_{si}, le module d'Young du substrat de silicium

υ_{Si}, le coefficient de poisson du silicium

t_{Si}, l'épaisseur du substrat de silicium

t_f, l'épaisseur de film déposé

R, le rayon de courbure de la plaquette

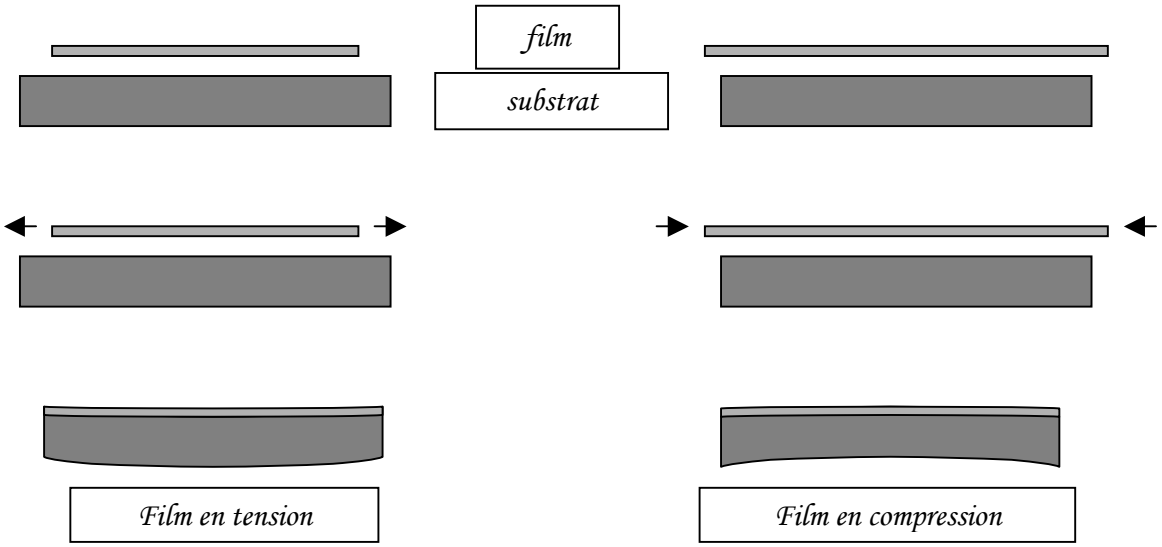


Figure 3-3 : *Apparition des différents types de courbure engendrées par les contraintes.*

Les films minces en tension ou en compression se relaxent lorsqu'on les libère et peuvent ainsi casser lorsqu'on atteint une contrainte critique, σ_c^f . Ce problème est la cause principale de la rupture des membranes diélectriques.

Les techniques utilisées pour déterminer les contraintes des dépôts sont diverses. Les plus courantes utilisent la mesure de la courbure, R, du substrat après dépôt du film. Elles peuvent être soit mécaniques, soit optiques. La technique mécanique est celle qui utilise un profilomètre. Un stylet enregistre la planéité et la courbure de la plaquette. Les méthodes optiques ont l'avantage d'être plus reproductibles et plus précises [8, 9] que la technique mécanique. Par contre, elles sont plus complexes à mettre en œuvre. La spectroscopie Raman permet, à partir de la forme et de la position du pic du spectre Raman, de détecter la présence de défauts structuraux dans la maille et de remonter au niveau de contrainte de la couche ainsi étudiée [10]. Une technique plus sophistiquée consiste à mesurer la position des pics de diffraction X du matériau. Par comparaison avec la valeur théorique, on peut en déduire la modification du réseau et, ainsi, remonter au niveau de contrainte induit. Les contraintes d'un dépôt peuvent aussi être déterminées à partir de films libérés du substrat [11-13]. La mesure de la déformation d'une membrane carrée lorsqu'on lui applique une pression P, permet de déterminer le niveau de contrainte contenu dans le film et son module d'Young. Pour des valeurs faibles de résolution, $\frac{\sigma}{E} \leq 10^{-3}$, la méthode du rayon de courbure est la plus précise.

La solution développée au LAAS-CNRS, pour résoudre le problème des contraintes résiduelles, consiste à réaliser un film bicouche oxyde de silicium/nitrure de silicium dont les contraintes se compensent. Le nitrure utilisé est non stœchiométrique ($SiN_{1,2}$ au lieu de Si_3N_4). L'oxyde est obtenu par oxydation thermique du silicium et le nitrure par dépôt LPCVD. Ces procédés permettent d'obtenir les valeurs de contraintes suivantes.

- La contrainte du film d'oxyde est relativement faible (-300 MPa) mais elle est compressive, d'où un risque de flambage de la membrane après libération, qui nuirait à la planéité des circuits.

- La contrainte du film de nitrure non stœchiométrique est en tension (+600 MPa) mais elle est relativement élevée, ce qui nuit à sa résistance mécanique.

L'association des deux types de film permet d'obtenir une contrainte résultante en tension suffisamment faible (<50 MPa). Le dépôt de nitrure se faisant à une température de 750°C très inférieure à celle de la croissance de la couche d'oxyde (1150°C), une modification des caractéristiques mécaniques de l'ensemble silicium/oxyde lors du dépôt du nitrure est évitée. La question, qui se pose alors, est celle du choix des épaisseurs respectives des 2 couches.

La contrainte résiduelle qui existe dans un film bicouche dépend non seulement de la contrainte individuelle de chaque couche mais également de l'épaisseur de celle-ci. Cette relation peut s'écrire sous la forme suivante [14]:

$$e_t = e_{ox} + e_{ni}$$

$$\sigma = \frac{e_{ox}}{e}\sigma_{ox} + \frac{e_{ni}}{e}\sigma_{ni}$$

Avec : σ_{ox} et σ_{ni}, valeurs des contraintes, respectivement, pour l'oxyde et le nitrure

e_{ox} et e_{ni}, épaisseurs, respectivement, des couches d'oxyde et de nitrure

La contrainte résultante ne dépend que du rapport des épaisseurs et non de leur valeur propre, ce qui est encore plus visible en mettant σ sous la forme :

$$\sigma = \frac{\sigma_{ox} + \frac{e_{ni}}{e_{ox}}\sigma_{ni}}{1 + \frac{e_{ni}}{e_{ox}}}$$

Nous devons noter que la contrainte résultante caractérise le film globalement, mais qu'une contrainte interne de cisaillement existe à l'interface des deux couches et doit être contenue par une bonne adhérence des deux matériaux.

A partir des formules précédentes, nous pouvons établir un abaque qui est présenté sur la figure 3-4. Cette abaque permet de choisir les épaisseurs individuelles pour une épaisseur globale et une contrainte globale fixée, sachant que les contraintes individuelles sont :

$$\sigma_{ox} = -300\text{MPa et } \sigma_{ni} = +600\text{MPa}$$

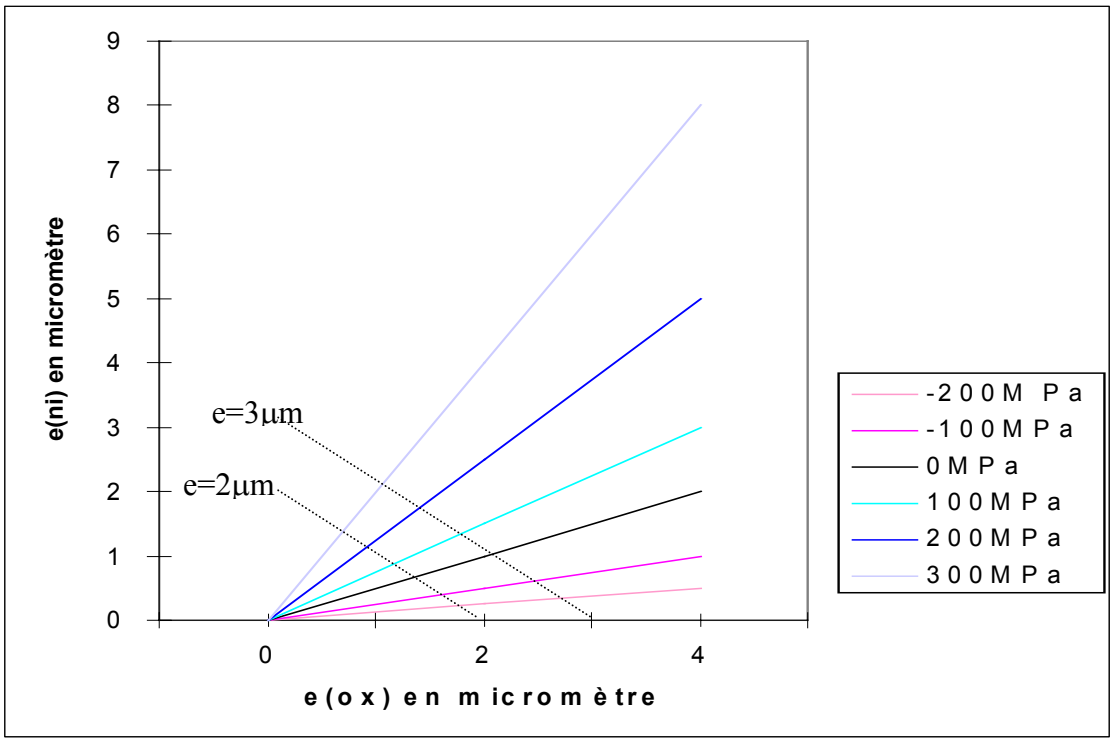


Figure 3-4 : *Abaque pour la détermination de l'épaisseur des couches d'oxyde et de nitrure pour une épaisseur globale donnée [1].*

Si l'on part sur la base d'une épaisseur totale de 2µm, on voit que d'après l'abaque, la couche de nitrure doit être de 0,6µm et celle de l'oxyde de 1,4µm. Des études antérieures ont montré que pour des épaisseurs de l'ordre de 2µm, nous obtenons des rendements, après libération du silicium, de l'ordre du 100%. De plus, la couche de nitrure sur laquelle est déposée la résistance doit être fine. Il a été montré que la consommation électrique des résistances est directement proportionnelle à l'épaisseur de la couche de nitrure sur une

membrane. Cette consommation augmente et la température générée par les résistances décroît avec l'épaisseur du nitrure.

- Les conditions opératoires sont pour l'oxydation :
  *Gaz : H_2 (1,8cc/min)/O_2 (1cc/min)
  *Température : 1150°C
  *Temps : 5h

- Les conditions opératoires sont pour le dépôt de nitrure :
  *Gaz : SiH_4 (75cc/min)/NH_3 (60cc/min)
  *Température : 750°C
  *Pression : 300 mTorr
  *Temps : 20min

4. La réalisation de la résistance chauffante

Nous avons indiqué en début de chapitre les raisons du choix du polysilicium liée aux extensions ultérieures des procédés pour y inclure les technologies de l'adressage. Par rapport à d'autres techniques de réalisation des résistances en filière mince, l'avantage est aussi que l'on maîtrise bien la technique de silicium polycristallin. Elle est obtenue par dépôt LPCV puis dopage et photogravure.

4-1. Le dépôt du film de polysilicium

La réalisation de la résistance chauffante se fait à partir d'une couche de polysilicium dopée au phosphore. Cette couche est déposée sur le film oxyde/nitrure. Le polysilicium est déposé dans un four par LPCVD à une température de 605°C. Cette température de dépôt assez basse s'explique par la nécessité d'éviter de faire apparaître une contrainte résiduelle sur le film oxyde/nitrure. En effet, à une température plus importante, nous risquons de modifier les caractéristiques mécaniques de celle-ci. De plus, des problèmes d'adhérence et de fissuration du nitrure déposé à 400°C ont été observés pour des épaisseurs de nitrure

supérieures à 0,25 µm quelle que soit l'épaisseur de la couche d'oxyde. Pour éviter ce phénomène, il est donc préférable de travailler à des températures proches de cette limite, étant donné que nous avons sur nos composants une épaisseur de nitrure de 0,6 µm.

Les conditions expérimentales sont les suivantes :

*Gaz : SiH_4 (100cc/min)

*Température : 605°C

*Pression : 300 mT

*Temps : 1h40

La mesure au profilomètre, de l'épaisseur de la couche, nous donne une valeur de 1 µm.

4-2. Le dopage

Le dopage du polysilicium se fait après le dépôt. Celui-ci peut se faire suivant deux techniques, soit par implantation ionique soit par diffusion. La différence entre les deux provient du taux de dopant qu'il est possible d'introduire dans le substrat. Dans le premier, il n'y a pas de limite, alors que dans le second, la limite correspond à la concentration saturante du dopant dans le substrat, soit à la solubilité limite du dopant dans le silicium (loi d'Henry). Pour notre part, nous avons opté pour une technique par diffusion.

Le mode opératoire du dopage est le suivant :

- Réalisation d'un oxyde de surface

  *Cette oxyde sert à protéger la couche de polysilicium contre le dichlore qui se forme lors de l'étape de dopage suivante.

  *Gaz : N_2 (800cc/min), O_2 (100cc/min)

  *Température : 905°C

  *Temps : 5 min

- Dopage au phosphore

  *Gaz : $POCl_3$ (5mg/min)

  *Température : 950°C

  *Temps : 10 min

  *Le $POCL_3$ réagit avec l'O_2 pour former du P_2O_5 et c'est celui-ci qui diffuse dans le silicium

- Redistribution

  *Le dopage se fait dans un premier temps en surface du polysilicium, il faut ensuite homogénéiser le plus possible la concentration du dopant dans le substrat.

  *Gaz : N2 (800cc/min)

  *Température : 950 °C

  *Temps : 10 min

La mesure de la résistivité de la plaquette dopée se fait à partir des mesures de V/I et x_j :

- Mesure de V/I par la méthode des quatre pointes

  $V/I \rightarrow R = 4{,}53\ V/I$

- Mesure de x_j par rodage ou au profilomètre, x_j étant l'épaisseur de polysilicium

  on connaît la relation : $R=\rho(l/S)$ avec $S=l*x_j$ donc

  $R=\rho/x_j$

- Détermination de la conductivité

  *Des deux relations précédentes, nous pouvons alors en déduire la valeur de la résistivité.

  $*\rho/x_j = 4{,}53\ V/I \Leftrightarrow \rho = 4{,}53\ V/I\ x_j$

  et $\sigma = 1/\rho$

nous avons mesuré : $\rho = 3{,}55.10^{-3}\ \Omega.cm$

4-3. La réalisation de la résistance

Pour réaliser la géométrie de la résistance, le polysilicium est gravé par gravure sèche au plasma. Le polysilicium face arrière est éliminé par gravure humide HNO_3/HF

- <u>Conditions de gravure sèche</u>

  *Photogravure face avant avec une résine positive

  *Développement et recuit

  *Gravure plasma sous SF_6 pendant 15 min

  *Contrôle de l'épaisseur gravée au profilomètre

- <u>Gravure humide</u>

  *Protection face avant, de la résistance, avec une cire soluble dans le *CH_2Cl_2 (dichlorométhane)

  *Bain d'HNO_3/ HF (49 ml / 1 ml)

  *Temps 30s

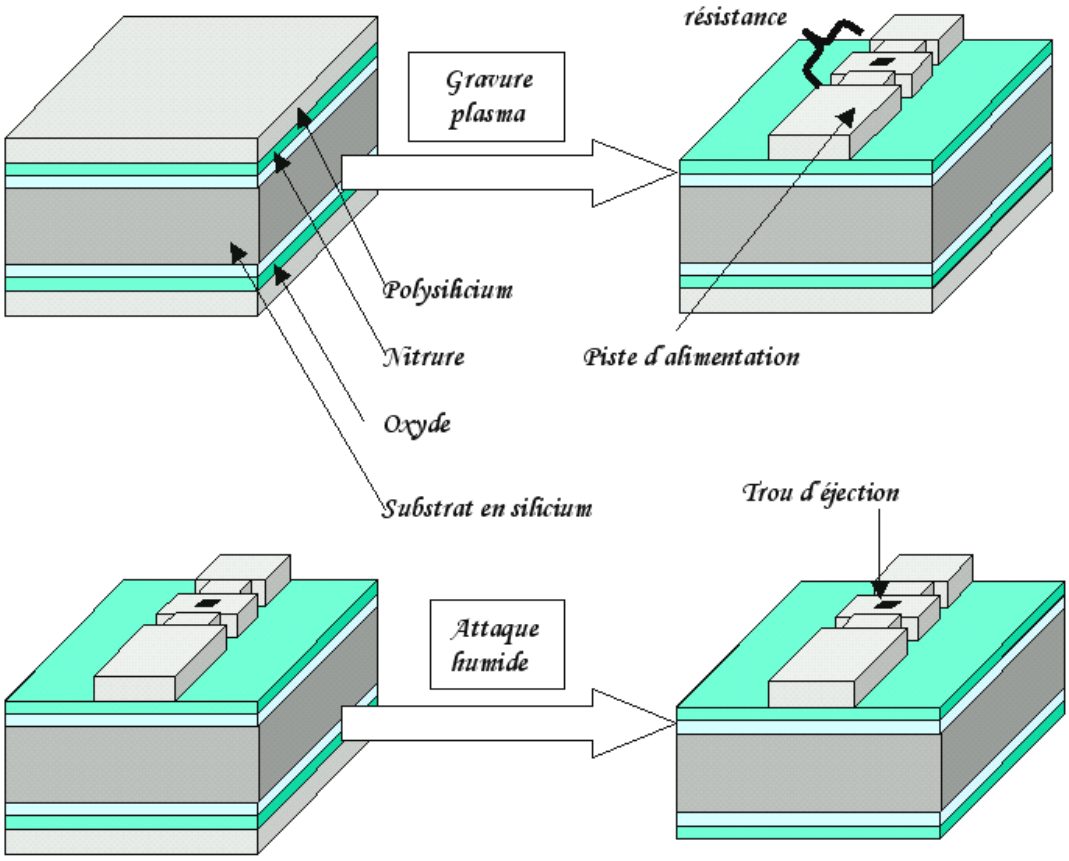


Figure 3-5 : *Dessin d'une résistance.*

4-4. La protection de la résistance chauffante et réalisation des contacts électriques

Une couche de SOG (Spin On Glass), qui est en fait un oxyde de silicium, est déposée sur l'ensemble de la plaquette afin de protéger les résistances ainsi que les pistes en polysilicium lors des étapes technologiques suivantes, surtout lors de l'étape de libération de la membrane par attaque du silicium au KOH.

- Conditions du dépôt :

  *Dépôt de trois couches successivement, avec entre chaque couche, une étape de recuit à 105°C pendant 5 min

  *Recuit du wafer à 900°C. Le cycle de recuit du SOG doit s'effectuer à une température supérieure à 800°C, sinon ce dernier ne résiste pas au bain de gravure du silicium. Ce cycle comprend un palier à 450°C pendant 1h, une montée en température de 450°C à 900°C pendant 1h, un palier d'1h à 900°C, une descente en température à 450°C pendant 1h et enfin un palier d'1h à 450°C.

  *La mesure au profilomètre de l'épaisseur du SOG déposée nous donne une valeur de 0,5 µm.

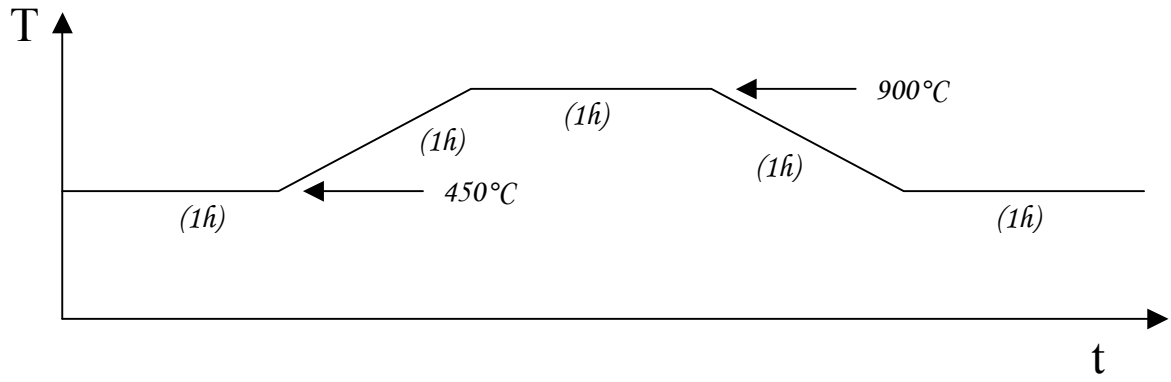


Figure 3-6 : *Graphique présentant le cycle de recuit du SOG.*

La couche de SOG est enfin ouverte afin de libérer une surface de polysilicium en bout de piste d'alimentation pour y faire une métallisation. La métallisation nous permet de réaliser des plots de contact qui nous serviront au câblage du composant.

- Mode opératoire :

  *Photogravure avec une résine positive

  *Gravure humide du SOG (oxyde de silicium) au buffer HF pendant 7min.

  *Dépôt de 500Å de Chrome par évaporation

  *Dépôt de 1µm d'or. L'or adhère mal au silicium, c'est pourquoi nous faisons, avant le dépôt d'or, un dépôt de chrome qui adhère beaucoup mieux.

  *Photogravure avec une résine positive

  *Attaque de l'or avec une solution I_2/I^-

  *Attaque du chrome

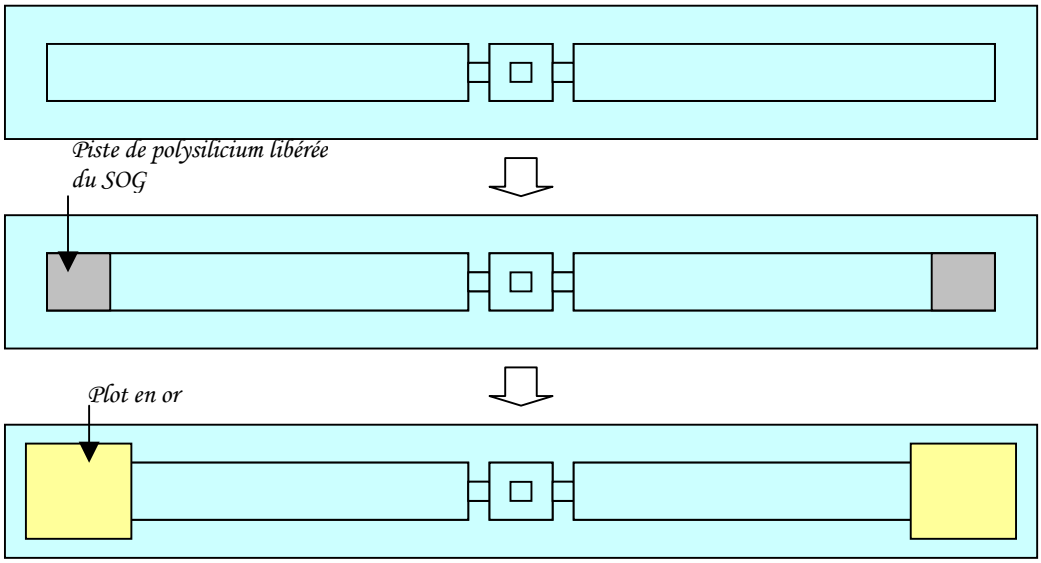


Figure 3-7 : *Vue du dessus d'une résistance.*

5. La réalisation de l'éjecteur

5-1. Le préperçage du trou d'éjection

Le perçage du trou d'éjection consiste à graver un trou de 20µm de diamètre au centre de la résistance. Pour effectuer cette opération, il faut attaquer le SOG, puis graver le nitrure et enfin attaquer l'oxyde.

Conditions :

*Photogravure avec une résine positive

*Attaque du SOG au buffer HF. Normalement cette attaque ne devrait durer que 7min mais il est nécessaire, compte tenu des faibles dimensions à graver, de le laisser plus longtemps dans le bain. Le problème que cela entraîne, est une surgravure du SOG. Cette sur gravure est liée à la nature isotrope de l'attaque chimique par le HF de l'oxyde. La vérification de la fin d'attaque se fait au microscope optique.

*gravure plasma du $SiN_{1,2}$ pendant 30min

*gravure humide de l'oxyde au buffer HF de l'oxyde pendant 20 à 25min

5-2. La réalisation des buses d'éjection

La SU8 est une résine négative translucide, avec laquelle, il est possible de réaliser des couches épaisses allant de 2µm à plusieurs centaines de micromètres. En plus de cette propriété, elle a aussi la caractéristique de se déposer d'une façon uniforme sur tout le wafer et d'être très résistante chimiquement. Nous utilisons donc ces caractéristiques pour nous permettre de former une buse au dessus de la résistance et en périphérie du trou d'éjection. Cette buse nous sert à orienter plus précisément le jet éjecté par la résistance. Elle nous sert aussi de réservoir d'éjections pour les éjecteurs. Nous avons donc réalisé dans un premier temps des buses de 40µm de hauteur.

Mode opératoire :

*Dépôt de SU8 liquide à la tournette (8ml)

*Recuit à 105°C (rampe de la température ambiante à 105, 1H à 105°C puis rampe jusqu'à température ambiante)

*Insolation sous UV

*Révélation puis post recuit, 3 min à 115°C

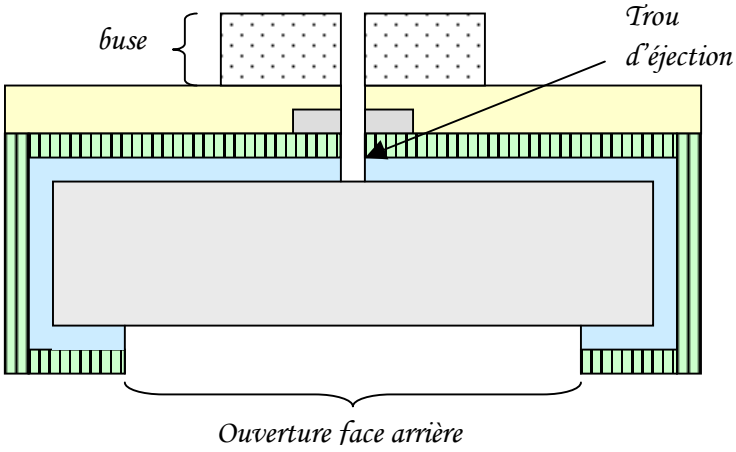


Figure 3-8 *: résultat après les trois étapes précédentes.*

5-3. La libération de la membrane

5-3-1. L'attaque anisotrope du silicium par KOH

Cette étape permet de réaliser la membrane $SiO_2/SiN_{1,2}$. Elle consiste à attaquer la face arrière du wafer dans un bain KOH. Pour cela, il faut d'abord penser à protéger la face avant du wafer afin d'éviter l'attaque des plots de connections en or et le décollement de la SU8. C'est pourquoi nous collons à l'aide d'une cire, sur la face avant de la plaquette, un disque en verre.

<u>Conditions expérimentales :</u>

*collage de la face avant du wafer sur une paquette en verre à l'aide d'une cire

*fixation sur un porte échantillon en téflon permettant de protéger la face arrière et les cotés du wafer

*bain KOH 30% à 85°C

Les problèmes technologiques rencontrés lors de cette étape sont de deux ordres :

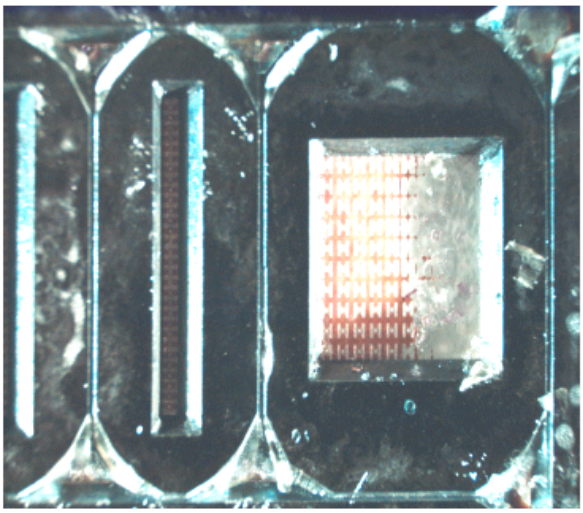
- Le procédé que nous utilisons donne une gravure inhomogène sur le wafer. La gravure se fait plus rapidement sur le bas du wafer. En effet, l'utilisation d'un support en téflon nous fait plonger le wafer en position verticale. Dans le bain, nous pouvons supposer que le gradient de température est très faible entre le

bas et le haut. Cette différence de cinétique de gravure s'explique par un dégagement gazeux formé lors de l'attaque du silicium par l'ion hydroxyde. Ce gaz remonte à la surface en perturbant le contact liquide/silicium ce qui ralentit la gravure. Ce problème est très important car notre membrane étant percée au centre des résistances, nous ne pouvons pas nous permettre de laisser trop longtemps le composant dans la solution KOH une fois la gravure terminée. Si nous faisons cela, alors le KOH passe par les trous et attaque la face avant de nos structures.

- L'autre problème que nous rencontrons avec le bain est que la colle utilisée pour la protection de la face avant se liquéfie à 85°C, elle se dilate et va jusqu'à fissurer le wafer fragilisé par la gravure. A cause de cela, la face avant n'est alors plus protégée et les structures ainsi que les plots de contact sont ainsi détériorés. De plus, cette cire, qui est déposée lors du collage sur un wafer chaud, se dénature parfois à cause d'une température trop importante. Il devient alors difficile de l'enlever après gravure.

La première solution a été d'utiliser le bain à des températures inférieures à 85°C : nous avons essayé de travailler à température ambiante et à 50°C pour d'une part diminuer la vitesse de gravure et par conséquent diminuer les perturbations liées à la formation trop rapide de bulles gazeuses et d'autre part, éviter le problème de dilatation de la colle. Les résultats ne furent pas satisfaisants. En effet, la cinétique de gravure du silicium par le KOH n'est pas linéaire avec la température, à l'ambiante et à 50°C, le temps de gravure devient beaucoup trop long. De plus, lorsque nous laissons le wafer trop longtemps dans le bain, les joints du porte wafer perdent de leur étanchéité, la colle se retrouve alors en contact avec la soude qui la dégrade et détériore la face avant du wafer.

(a) Photo de la face avant après une attaque au KOH face arrière. Dégradation de cette face à cause de l'infiltration du KOH par les trous d'éjection.



(b) Photo de la face arrière après une attaque au KOH.

Figure 3-9 : *Photo d'un wafer attaqué face avant lors de la gravure KOH, la première est une vue de la face avant (a,) la deuxième est une vue de la face arrière en contact avec le KOH (b).*

5-3-2. L'attaque par gravure plasma

Afin de résoudre les problèmes rencontrés lors de la gravure humide du silicium, nous avons choisi de remplacer cette étape par une gravure plasma profonde. Par cette technique nous pouvons graver 400µm de silicium sans problème si une résine adéquate est utilisée. La gravure RIE est réalisée avec la STS (Surface Technology Systems) MULTIPLEX ICP.

<u>Conditions expérimentales :</u>

*Résine épaisse (12 à 20µm)

*Gaz : SF_6 (gaz de gravure) et C_4F_8 (gaz de passivation)

*Temps : ~2h

Par cette méthode, nous obtenons des rendements de fabrication de l'ordre du 100%. La différence avec la gravure humide est qu'ici, les réservoirs obtenus ont des flancs droits alors qu'avec la gravure humide nous avions des flancs obliques.

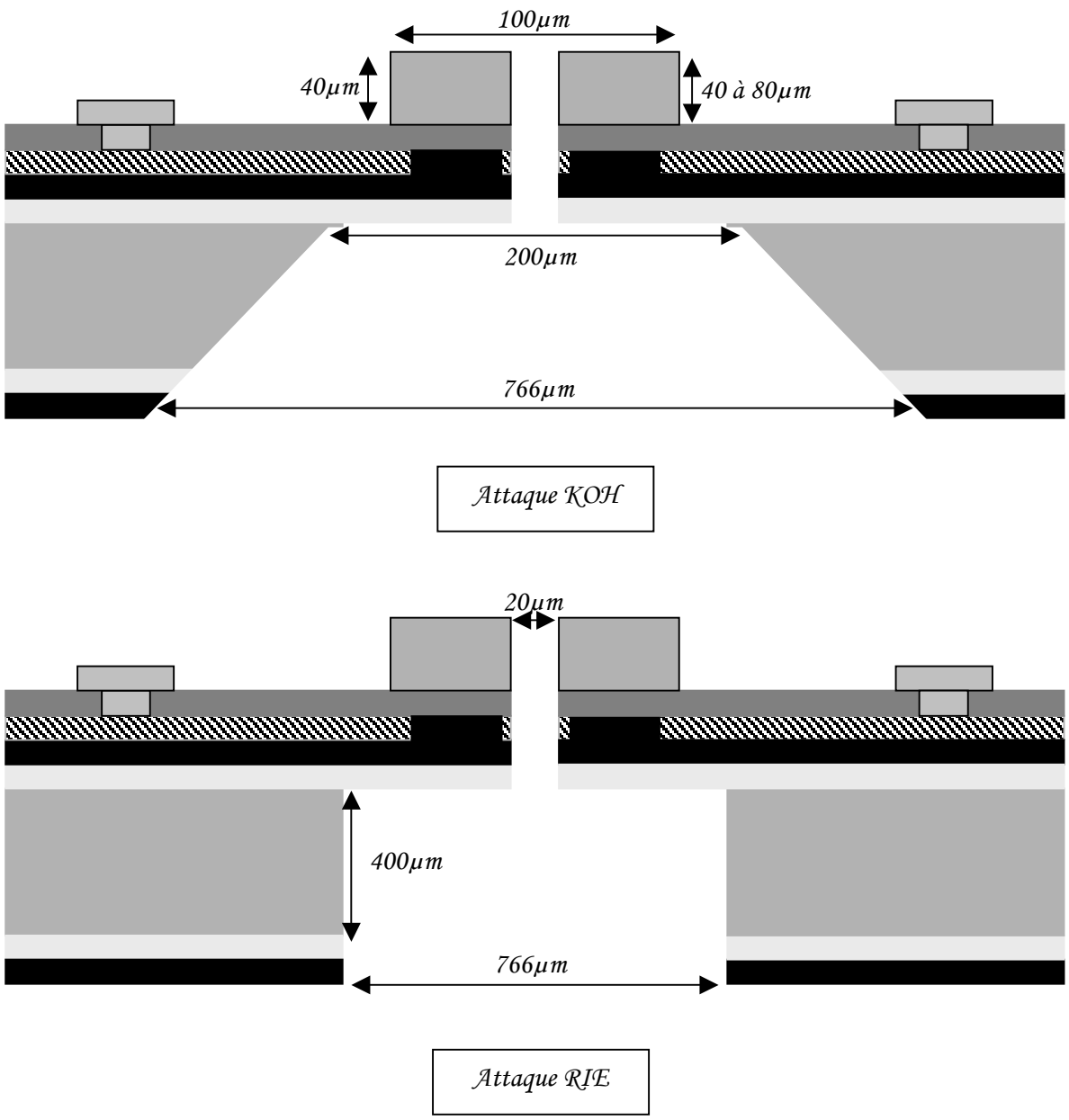


Figure 3-10 : *Différence de résultats entre les deux techniques.*

6. Caractérisation des réalisations technologiques

Les différentes photos de la figure 3-11 illustrent les premiers résultats obtenus. Nous voyons sur les images (a) et (b) la différence de résultat qu'entraîne le changement de technique pour la gravure face arrière. Avec l'attaque KOH, la membrane résultante est beaucoup plus petite que la membrane obtenue par RIE. L'utilisation de la gravure plasma permet d'augmenter considérablement le rendement de fabrication des composants par wafer.

D'un rendement aléatoire pour une gravure KOH, nous arrivons à atteindre des rendements proches de 100% à la gravure RIE.

On voit aussi sur les photos que les distances réduites entre chaque éjecteur, le nombre et les dimensions micrométriques d'un éjecteur montrent la difficulté qu'il y a de pouvoir adresser chacun d'eux de façon individuelle. Si pour les micro injecteurs linéaires cela est possible, cela devient carrément problématique pour les micro injecteurs matriciel surtout si on veut limiter l'encombrement spatial d'un tel système. Ce qui justifie la nécessité d'intégrer des diodes. Le point important que montre ces images, est qu'il est tout à fait possible de réaliser la structure que nous avons conçu et présenté dans le chapitre II. Les membranes supportent parfaitement la présence des éjecteurs et des pistes en polysilicium. Ces présences n'entraînent ni déformation ni cassure du film diélectrique.

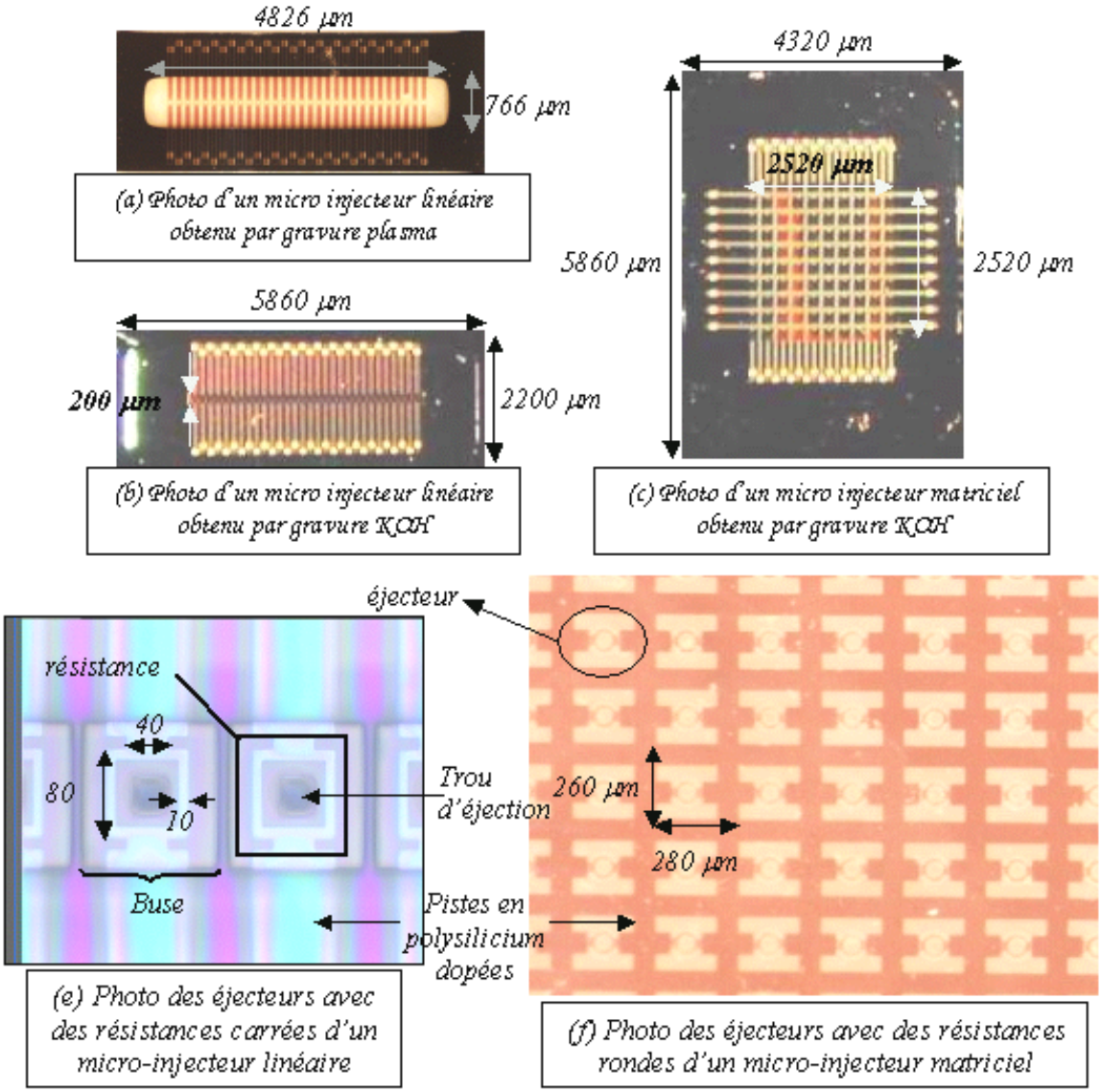


Figure 3-11 : *Micro éjecteurs linéaires et matriciels.*

7. Montage des composants

Celui-ci permet de mettre en place les connexions électriques et fluidiques. Pour faciliter le câblage de nos micro injecteurs linéaires et matriciels, nous avons opté pour la conception d'un intermédiaire de câblage en silicium. Cet intermédiaire permet de câbler chaque résistance indépendamment. Ce support a comme rôle supplémentaire de confiner le réservoir. Il est percé de deux trous pour permettre le collage de tube en silicone afin d'assurer l'arrivée de liquide. L'utilisation de ce support nous permet d'obtenir une alimentation en fluidique satisfaisante. Nous avons, aussi dans ces montages, utilisé une colle silicone pour protéger les fils d'or des détériorations possibles lors des différentes manipulations.

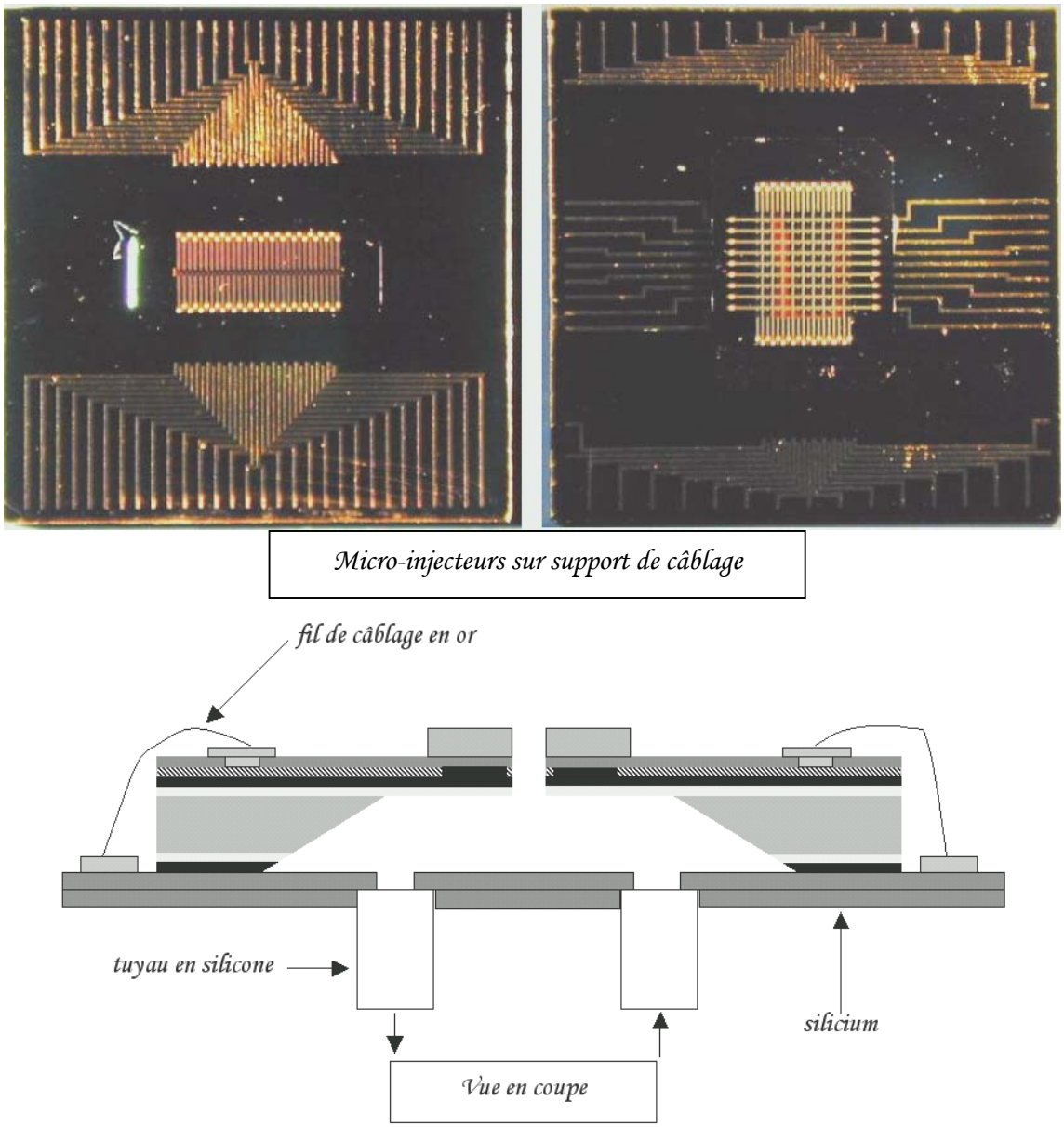


Figure 3-13a : *Montage de l'injecteur sur support silicium*

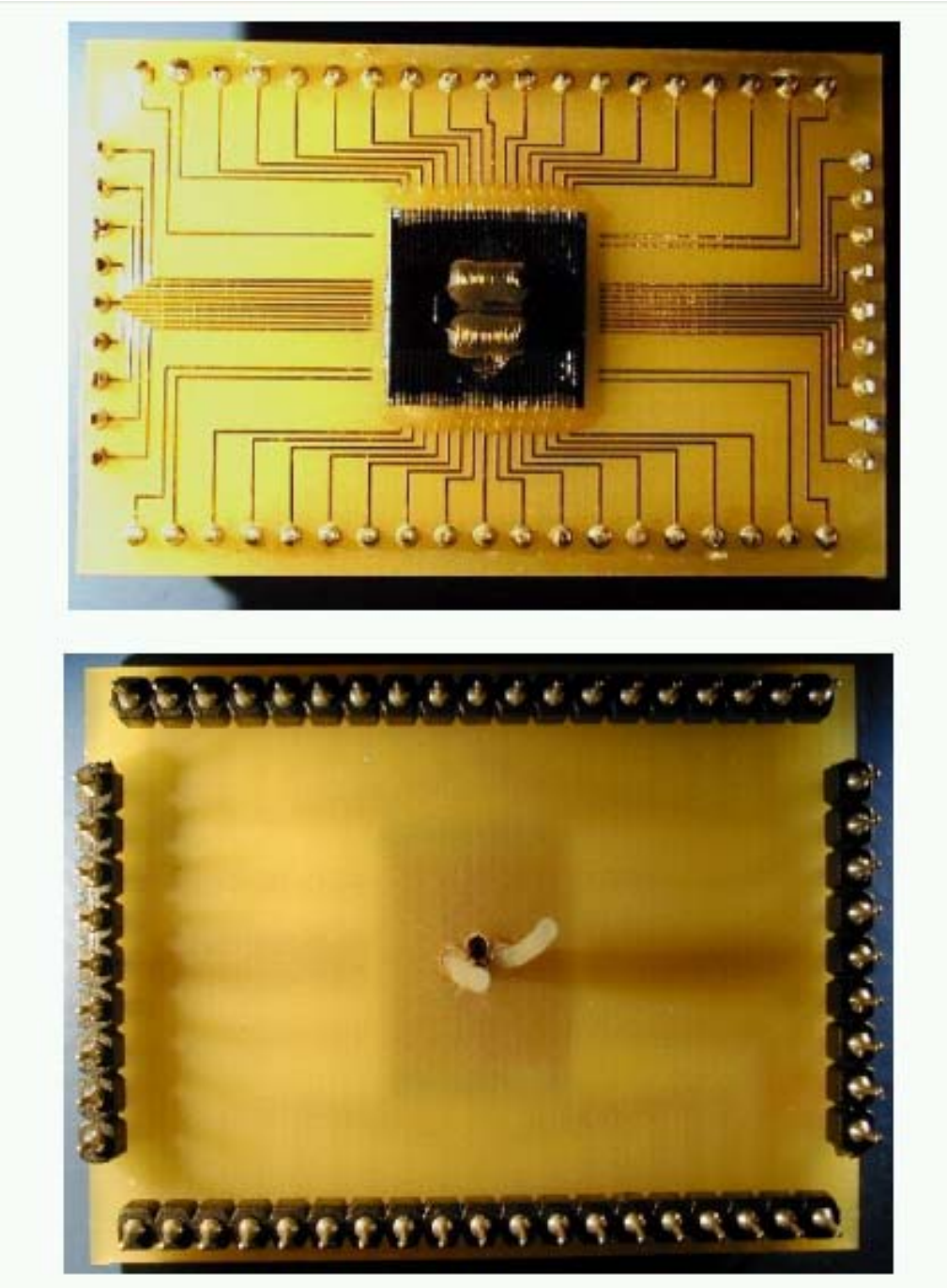


Figure 3-13b : *Montage final sur circuit imprimé*

Dans une seconde version, ultérieure, les pistes de collages ont été réalisées en totalité sur la partie injecteur.

8. Conclusions

A l'aide des différents équipements présents au LAAS-CNRS et en mettant à profit les études antérieures sur les membranes, nous avons réussi à réaliser des micro injecteurs de types linéaires et matriciels. Les membranes que nous avons obtenu, dont les contraintes résiduelles sont faibles, se sont montrées particulièrement résistantes. De plus, la réalisation de ces composants nous a montré qu'il est possible de percer des trous dans la membrane sans pour autant trop la fragiliser. La faisabilité technologique semble acquise et une première filière est mise en place.

REFERENCES (Chapitre III)

[1] E. Saint-Etienne, "Nouvelle filière technologique de circuits micro-ondes coplanaires à faibles pertes et à faible dispersion sur membrane composite d'oxyde et de nitrure de silicium", Thèse au LAAS-CNRS, 1998.

[2] C. Rossi, "Conception et réalisation d'un système de réhydratation pour patch transdermique à partir de micro actionneurs pyrotechniques", Thèse au LAA-CNRS, 1997.

[3] S. Astie, "Intégration d'un capteur de gaz à oxyde semi-conducteur sur silicium", Thèse au LAAS-CNRS, 1998.

[4] M. Stadtmüeller, "Mechanical stress of CVD-dielectrics", Journal of Electrochemical Society, 1996, Vol. 139 (12), 3669-3674.

[5] S.D. Brotherton et al., "Surface charge and stress in the Si/SiO_2 system", Solid-State Electronics, 1973, Vol. 16, 1367-1375.

[6] A.K. Sinha et al., "Thermal stress and cracking resistance of dielectric films (SiN, Si_3N_4 and SiO_2) on Si substrates", Journal of Applied Physics, 1978, Vol. 49 (4), 2423-2426.

[7] G.C. Stoney, Proceeding of the royal society of London, 1909, Vol. 9, 172.

[8] E. Bonotte et al., "An interferometric method for characterizing the mechanical properties of thin films by bulging tests", Proceedings of the SPIE – The International Society for Optical Engineering, 1996, Vol. 2782, 685-695.

[9] E.I. Bromley et al., "A technique for the determination of stress in thin film", Journal of Vacuum Science and Technology B, Microelectronics Processing and Phenomena, 1983, Vol. 1 (4), 1364-1366.

[10] M.S. Benrakkad et al., "Stress measurement by microRaman spectroscopy of polycristalline silicon structures", Journal of Micromechanics and Microengineering, 1995, Vol. 5, 132-135.

[11] K.E. Crowe et al., "A new technique for determination of tensile stress in thin films", Journal of the Electrochemical Society, 1989, Vol. 136, 1566-1568.

[12] M.G. Allen et al., "Microfabricated structures for the in situ measurement of residual stress, Young's modulus and ultimate starin of thin films", Applied Physics Letters, 1987, Vol. 51 (4), 241-243.

[13] O. Tabata et al., "Mechanical property measurements of thin films using load-deflection of composite rectangular membranes", Sensors and Actuators A, 1989, Vol. 20, 135-141.

[14] P.H. Townsend et al., "Elastic relationships in layered composite media with approximation for the case of thin films on a stick substrate", Journal of Applied Physics; 1987, Vol. 62 (11), 4438-4444.

Chapitre IV

Caractérisations et premiers tests d'éjection

1. Introduction

Les micro injecteurs que nous avons conçus et réalisés sont des dispositifs dont le fonctionnement est complexe : ils associent des phénomènes thermiques à des écoulements de fluides. Le couplage d'une impulsion électrique à la thermique et la fluidique rend la caractérisation des micro-injecteurs particulièrement délicate et la rapidité des phénomènes est une difficulté supplémentaire. Nous avons vu au chapitre II, combien les caractéristiques de l'échauffement pouvaient influencer le mode d'ébullition et donc l'éjection elle-même. Notre premier travail a donc été d'identifier, aussi précisément que possible, le comportement thermique d'un éjecteur : élévation de température en fonction de la puissance appliquée, mais aussi tenue thermique des différentes parties intégrées sur la résistance. En ce qui concerne la partie fluidique, à travers l'observation de l'éjection nous avons tenté de déterminer la quantité éjectée mais aussi la vitesse et la direction du jet. Les tests ont été réalisés avec trois liquides : l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile.

Dans ce chapitre, nous allons présenter les caractérisations électriques, thermiques et fluidiques de notre éjecteur. Les premiers résultats nous ont poussé à apporter quelques modifications au design du micro injecteur. Ces modifications seront présentées en fin de chapitre.

2. Caractérisations des initiateurs thermiques

L'étalonnage des initiateurs thermiques se révèle d'une grande importance et constitue notre premier travail. Il est utile de connaître les propriétés des résistances afin de maîtriser l'éjection de liquide. Il nous faut connaître impérativement la puissance à appliquer, ainsi que la durée de l'impulsion, afin d'atteindre les températures d'éjections souhaitées. Pour cela nous disposons de deux moyens, l'un est une méthode électrique utilisant les variations de résistivité du polysilicium en fonction de la température et l'autre, une méthode utilisant la microscopie infrarouge.

2-1. Les effets de la convection

Dans nos simulations, nous avons observé que sur des dispositifs tels que les nôtres, dont les dimensions sont de l'ordre d'une centaine de micromètres, la dissipation thermique par convection est très faible. Nous avons voulu confirmer ou infirmer ce résultat. Pour cela, nous avons fait fonctionner nos éjecteurs à l'air, et dans une enceinte à vide. Nous avons relevé les variations de la résistance chauffante en fonction de la tension appliquée, dans les deux situations. Comme le montre la figure 4-1, les courbes que nous avons obtenues sous vide se superposent presque parfaitement aux courbes obtenues à pression atmosphérique. On remarque toutefois que pour des tensions appliquées élevées (>7V), un petit écart apparaît entre les deux courbes. Cette zone étant au-delà de notre domaine de travail, nous pouvons déduire et nous considèrerons qu'avec les dimensions très faibles des initiateurs thermiques, la part de la dissipation thermique par convection est négligeable par rapport à la dissipation par conduction.

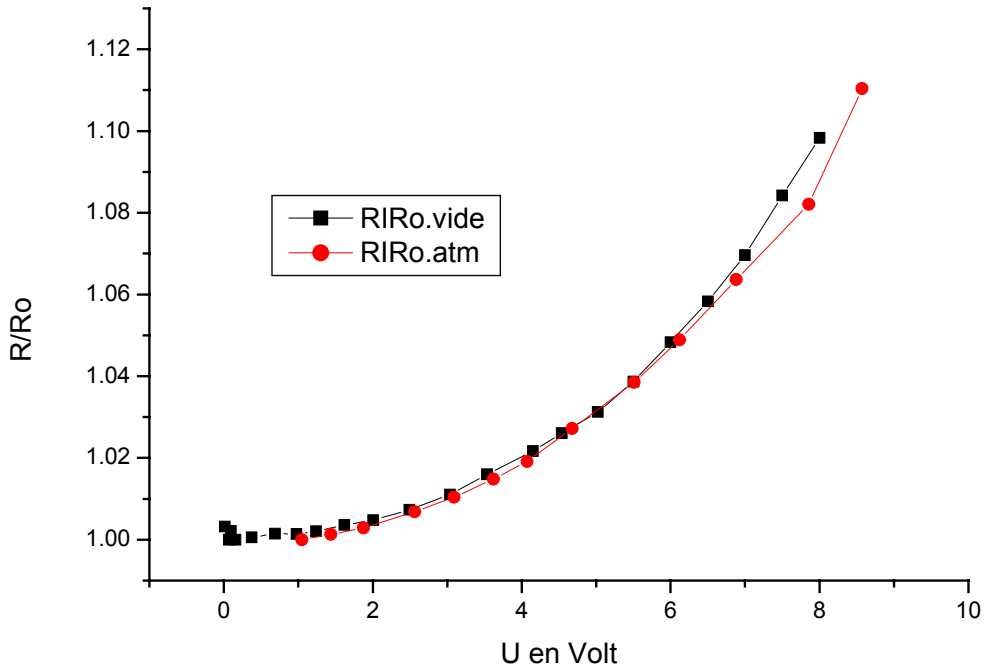


Figure 4-1 : *Courbes comparatives faites à l'étuve dans l'air et sous vide*

2-2. La caractérisation thermique par mesure de résistivité

La résistivité du polysilicium constituant la résistance chauffante varie en fonction de la température ou de la puissance appliquée. La caractérisation électrique consiste donc, d'une part, à relier la variation de la résistivité électrique à l'élévation de température et, d'autre part, la variation de cette résistivité à la puissance appliquée. Une fois ces résultats obtenus, nous pourrons corréler aisément les variations de température en fonction de la puissance appliquée. Comme les simulations nous le laissent prévoir , la température n'est pas homogène sur la résistance chauffante. Cette méthode présentera donc l'inconvénient de ne fournir qu'une élévation de température moyenne, mais permettra, par contre, de faire des mesures en transitoire.

La variation des résistances est étalonnée dans une étuve dont la température est régulée et contrôlée à l'aide d'un thermocouple. En règle générale, la résistance R varie avec la température T, suivant une loi du deuxième ordre :

$$\frac{R}{R_0} = aT^2 + bT + c \qquad (1)$$

R_o : valeur de la résistance électrique à température ambiante.

Afin de nous affranchir du phénomène de vieillissement des résistances en polysilicium, plutôt que de prendre en compte uniquement la valeur de R, nous travaillerons avec la valeur relative R/Ro. En effet, la valeur Ro pour une résistance donnée que nous mesurons avant échauffement, varie après chaque cycle de chauffage. Cette variation est communément appelée "vieillissement du polysilicium". et est due à un phénomène de redistribution des atomes de dopant dans le polysilicium. Ce phénomène est lié à la méthode choisie pour doper le silicium. En effet, le dopage par diffusion ne permet par d'avoir toujours une densité de dopant homogène en profondeur malgré une étape de redistribution des charges. Un autre facteur d'instabilité de la résistivité du polysilicium peut également être une pollution par la couche de SOG déposée au-dessus de celui-ci. Nous avons remarqué, qu'après quelques cycles d'échauffement, la résistance se stabilise.

La figure 4-2 donne les variations de la résistance du polysilicium en fonction de la température.

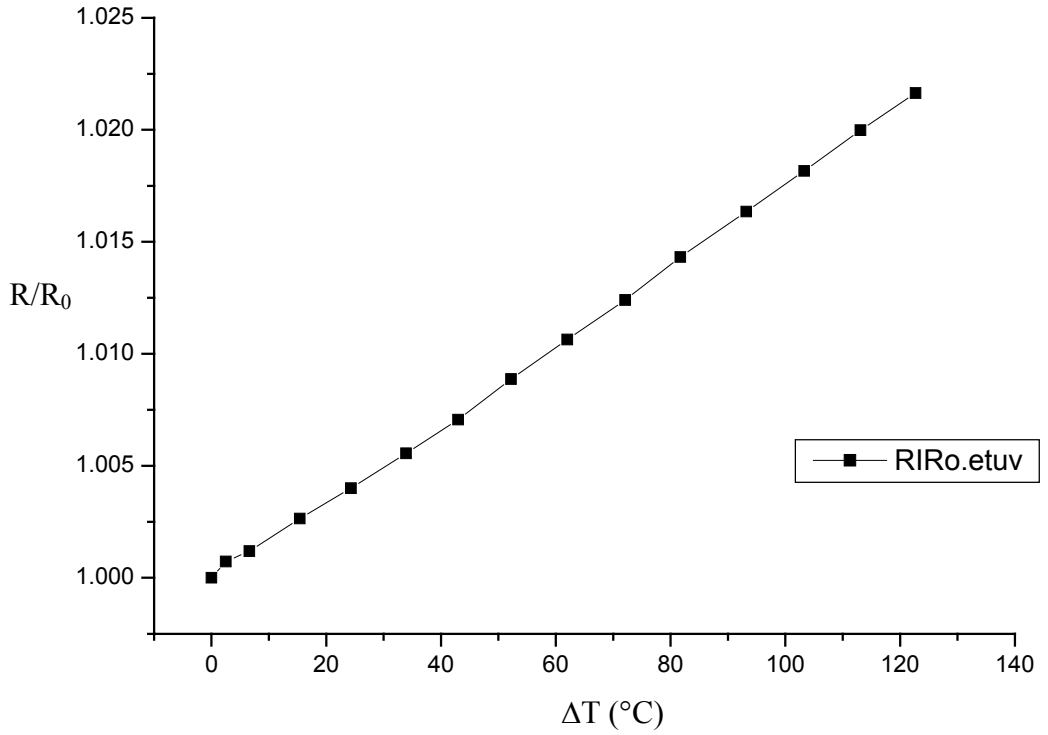


Figure 4-2 : *Variation de la résistivité du polysilicium en fonction de la température (To=23°C) pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires petites membranes.*

Les paramètres a, b et c de la relation (1) ont été calculés pour les différentes résistances. Nous avons obtenu :

$$a \approx 1E\text{-}7 \; ; \quad b \approx 1E\text{-}4; \quad c=1$$

La courbe est quasiment droite dans la plage de température allant de 20 à 200°C. Les courbes d'étalonnage en étuve nous donnent la température en fonction de la résistance du polysilicium, la mesure de la variation de la résistance en fonction de la puissance électrique va donc nous permettre de connaître la température moyenne de la résistance chauffante (température du polysilicium sur la membrane) en fonction de la puissance électrique délivrée.

La résistance est alimentée en tension continue par une alimentation stabilisée. La figure 4-4 nous donne $\Delta T_{moy}=f(P_{élect})$, pour des injecteurs non remplis (To=23°C). Les raisons pour lesquelles ces caractérisations n'ont pas été effectuées avec les réservoirs remplis est que, aussi bien pour l'eau que pour l'éthanol et l'acétonitrile, les phénomènes d'ébullition et

d'évaporation se produisent très rapidement et nuisent considérablement à cet étalonnage. Par contre, nous verrons plus tard que des mesures avec liquide ont été effectuées en régime impulsionnel. Sur la figure 4-4, ont également été reportées les valeurs de ΔT_{moy} obtenues par simulation.

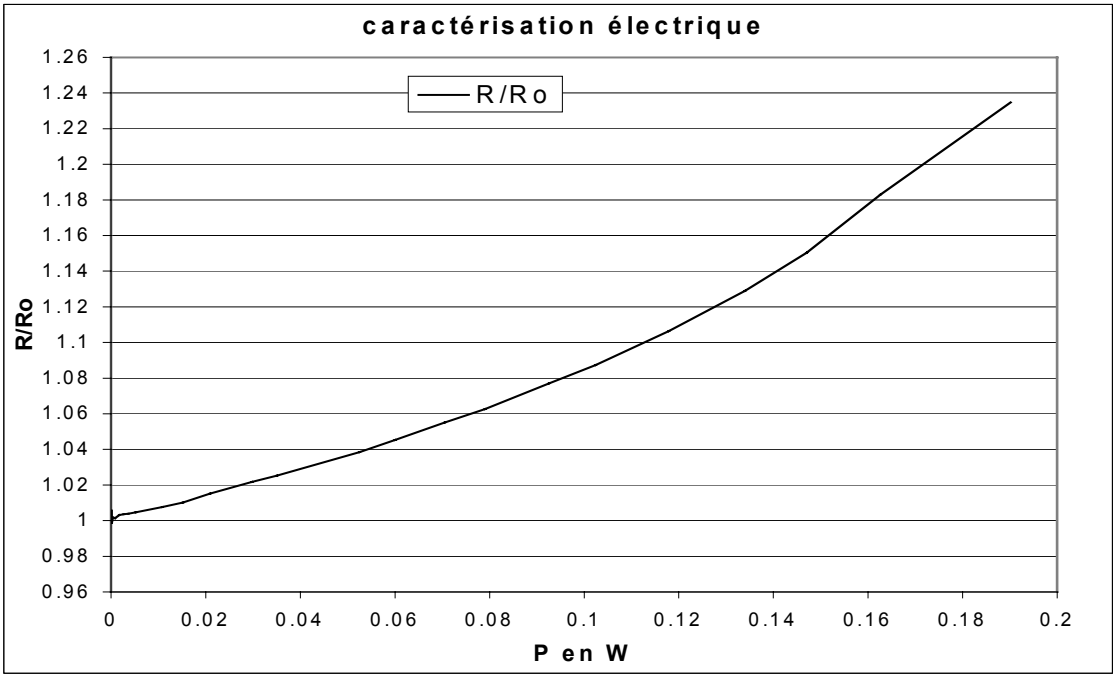


Figure 4-3 : *Variation de la résistance électrique en fonction de la puissance appliquée pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires.*

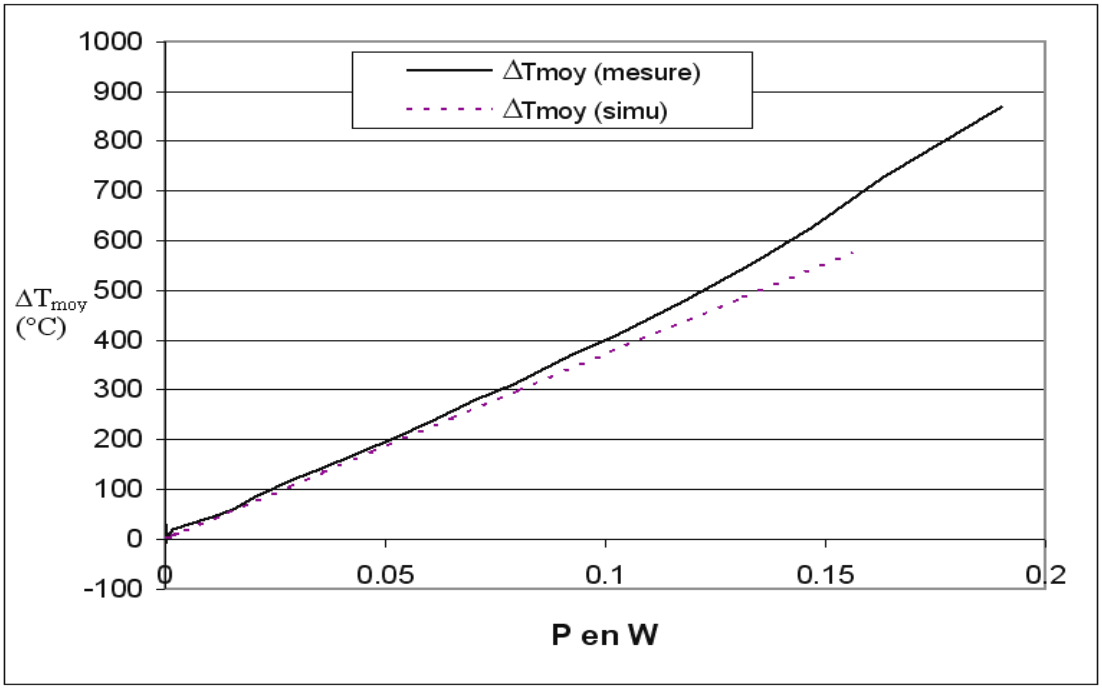


Figure 4-4 : *Elévation de température moyenne (température moyenne du polysilicium sur la membrane ΔT_{moy}) en fonction de la puissance appliquée, déduite de l'étalonnage en étuve et de la mesure électrique (To=23°C) pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires.*

La comparaison de ces résultats avec ceux obtenus par simulation montre que les valeurs sont très proches et valide les simulations que nous avons effectuées. Toutefois, l'écart entre les deux courbes tend à croître légèrement avec la puissance et devient de l'ordre de 10% au delà de ΔT_{moy}=500K soit P=0,125mW. Cet écart peut s'expliquer par le fait, que dans les simulations, la variation de la conductivité thermique en fonction de la température est introduite par une équation linéaire alors qu'expérimentalement, cette variation est du second degré. La validation de la simulation, pour la température moyenne sur la résistance, nous permet de connaître le profil de la répartition de la chaleur sur la membrane et ainsi de pouvoir estimer la température moyenne sur la résistance chauffante ($T_{résistance}$).

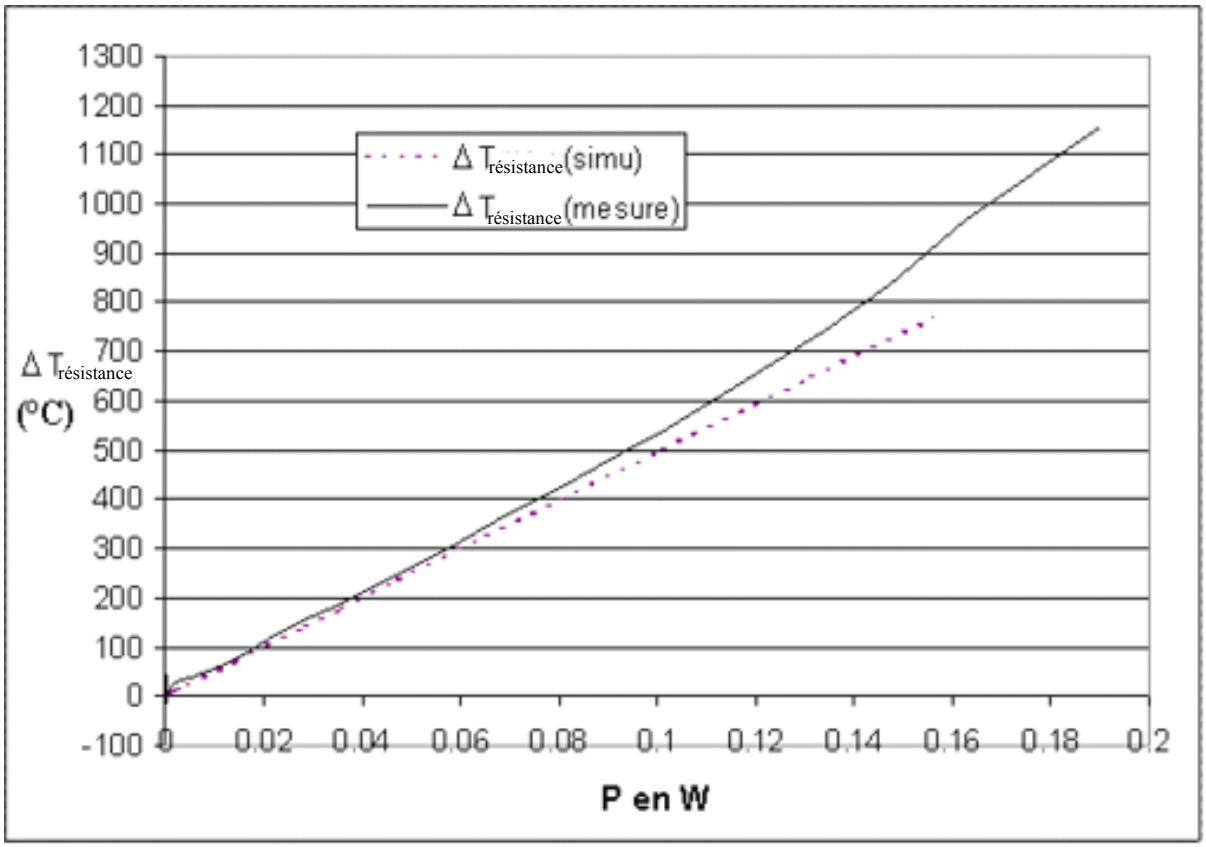


Figure 4-5 : *Elévation de température sur la résistance $\Delta T_{résistance}$ en fonction de la puissance appliquée, déduite de l'étalonnage en étuve et de la mesure électrique (To=23°C) pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires petites membranes.*

L'observation de la courbe de la figure 4-5 montre qu'il est possible d'atteindre des températures très élevées avec nos éjecteurs. Pour une puissance de 50mW, on arrive à atteindre des températures de 275°C, pour 75mW, on atteint 423°C. Ces éjecteurs sont donc susceptibles de surchauffer les liquides suffisamment pour qu'il y ait une nucléation homogène. Les simulations nous ont montré toutefois, qu'il serait nécessaire d'appliquer des tensions d'actionnement beaucoup plus importantes quand les réservoirs seront remplis.

2-3. La caractérisation thermique par caméra infrarouge

2-3-1. La mise en place du dispositif de mesure

La caractérisation par microscopie infrarouge permet de mesurer directement la distribution de la température sur la résistance en fonction de la puissance appliquée. Le microscope IR a l'avantage, par rapport aux mesures électriques, de montrer la distribution de la température sur les résistances et la répartition thermique sur l'ensemble du dispositif. Nous avons utilisé une caméra infrarouge AVIO TVS 2100. Elle permet, en mesurant les rayonnements infrarouges émis par un objet, de connaître la répartition spatiale et l'évolution de sa température en fonction du temps. Le résultat de cette mesure est une carte thermique appelée thermogramme ou thermographie. Elle représente un instantané mesurable d'un phénomène thermique qui peut être aussi bien statique que dynamique. Le facteur qui est limitant par cette méthode de cartographie est la résolution de la camera ; sur l'écran de visualisation, le pixel défini une surface de 12,5*20µm, ce qui est juste en comparaison des dimensions de nos résistances. Nos résistances chauffantes représentent en effet à peu près entre 4*7 pixels et 5*8 pixels, ce qui laisse prévoir une résolution médiocre.

2-3-2. Principe de la mesure

La matière émet un rayonnement thermique. Considérons le cas idéal d'un corps noir qui est un absorbeur parfait de tous rayonnements incidents et un émetteur parfait [1-2]. Le corps noir obéit à la loi de Planck : la brillance énergétique spectrale W_λ (énergie rayonnée par un corps noir) par unité de surface dans un intervalle de longueur d'onde unité, dans un angle solide de 2π est, à la température absolue (T) :

$$W_\lambda = \frac{C_1}{\lambda^5 \exp(C_2 / \lambda T) - 1}$$

avec (si la longueur d'onde λ est exprimée en centimètre) :

C_1=3,741.10^{-12} W.cm^2 et C_2=1,438.10^{-12} W.cm^2

Pour des températures inférieures à 3000K, les longueurs d'ondes de ce rayonnement thermique se situent principalement dans l'infrarouge. Dans le cas d'un objet réel, celui-ci se comporte macroscopiquement en absorbeur, en réflecteur et en transmetteur du rayonnement incident (I). Si $\alpha(\lambda)$ est le facteur d'absorption, $\rho(\lambda)$ le facteur de réflexion et $\tau(\lambda)$ le facteur de transmission, la loi de conservation de l'énergie donne :

$$I = \alpha(\lambda)\, I + \rho(\lambda)\, I + \tau(\lambda)\, I \quad \text{soit} \quad \alpha(\lambda) + \rho(\lambda) + \tau(\lambda) = 1$$

A l'équilibre thermodynamique avec son environnement et pour un rayonnement de longueur d'onde donnée, l'objet doit émettre autant d'énergie électromagnétique qu'il en absorbe, soit : $\alpha(\lambda) = \varepsilon(\lambda)$, facteur d'émission ou émissivité spectrale. Par définition, à une longueur d'onde donnée, cette émissivité spectrale vaut :

$$\varepsilon(\lambda) = (W_{\lambda,T})_R \,/\, (W_{\lambda,T})_{CN}$$

R qualifie l'objet réel et CN le corps noir.

Si l'on étend cette formule à un $\Delta\lambda$ donné, l'émissivité spectrale est égale à :

$$\varepsilon(\Delta\lambda) = \frac{\int_{\Delta\lambda} (W_{\lambda,T})_R \, d\lambda}{\int_{\Delta\lambda} (W_{\lambda,T})_{CN} \, d\lambda} = \frac{W(T)_R}{W(T)_{CN}}$$

La technique de la thermographie infrarouge permet la mesure de $W(T)_R$, grandeur proportionnelle à la puissance du rayonnement. Connaissant $\varepsilon(\lambda)$, on pourra déterminer la température T, à partir de $W(T)_{CN}$, suite à la mesure de $W(T)_R$.

2-3-3. Les résultats

Pour faire des mesures fiables, il faut donc connaître la valeur de l'émissivité ε des différents matériaux à la surface des micro-injecteurs. Le matériau qui nous intéresse le plus est la SU8 puisque celle-ci recouvre la zone chauffante que nous voulons observer. Malheureusement, ni la littérature, ni les fiches techniques du fabricant, ne nous donne la

valeur de l'émissivité de la Su8. Afin de nous affranchir de cette inconnu, nous avons, dans un premier temps, étudié des éjecteurs sans buses dont la résistance est couverte de SOG. Son émissivité de 0,7 est connue. Les figures qui suivent présentent les différents résultats que nous avons obtenus.

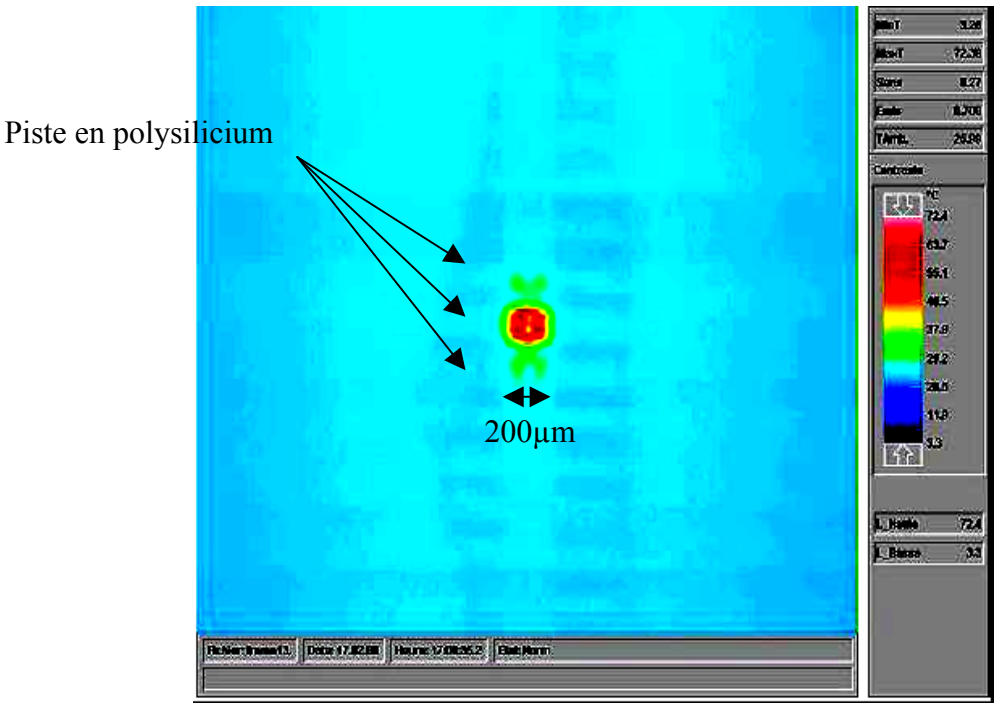


Figure 4-6 : *Thermogramme infrarouge pour un éjecteur sans Su8 à 3 volts pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires petites membranes.*

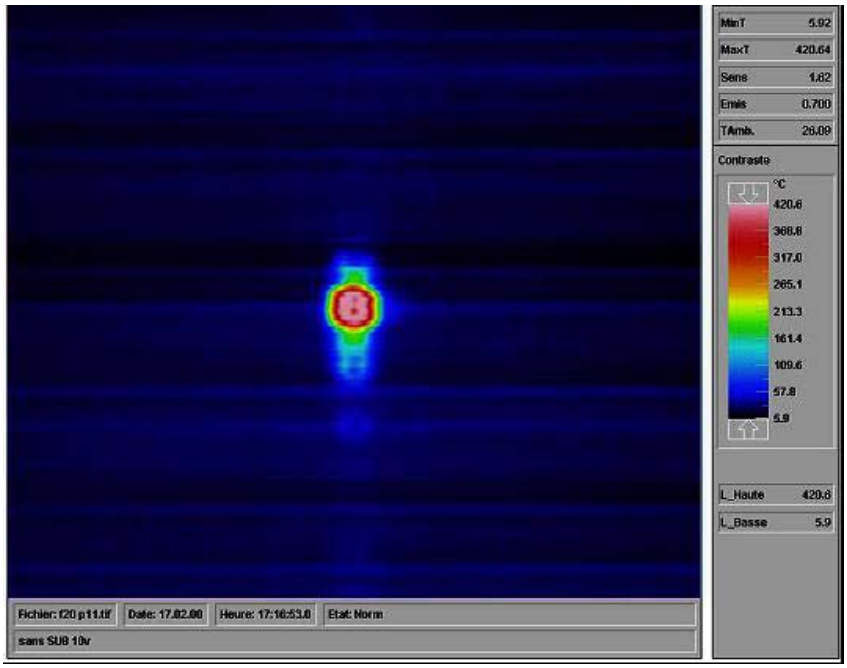


Figure 4-7: *Thermogramme infrarouge pour un éjecteur sans Su8 à 10 volts pour le lot n°1 de micro injecteurs linéaires petites membranes.*

Les thermogrammes des figures 4-6 et 4-7 montrent la répartition de la chaleur sur un injecteur linéaire du lot n°1 pour une résistance sans SU8 à des tensions appliquées de 3 et 10 volts et une émissivité de 0,7. Sur la thermographie 4-6 nous pouvons distinguer la zone chauffante mais aussi les pistes voisines. Si on compare les thermographies expérimentales à la simulation, présentée figure 4-8, nous voyons que la répartition de la chaleur est proche de celle observée sur la figure 4-7. L'intensité de l'échauffement est maximum au niveau de la résistance et décroît quand on s'éloigne de cette zone. Sur la figure 4-6, pour une température de 70°C au sur la résistance actionnée, les températures sur les résistances voisines sont d'environ 25°C et sur la figure 4-7 la température sur la résistance actionnée est de 414°C alors que sur les résistances voisines, elle est de 50 à 100°C. De ces images nous pouvons tirer deux informations importantes. La chaleur est confinée essentiellement au niveau de la membrane et ne se propage que très peu sur les éjecteurs voisins. D'autre part, nous voyons que nous arrivons, avec des éjecteurs vides, à atteindre les températures de surchauffe (414°C) des différents liquides que nous utilisons.

Toutefois, ces valeurs de température sont légèrement inférieures aux résultats de simulations et de mesures électriques. La raison de ceux-ci est liées aux dimensions de l'éjecteur par rapport à la résolution de la caméra.

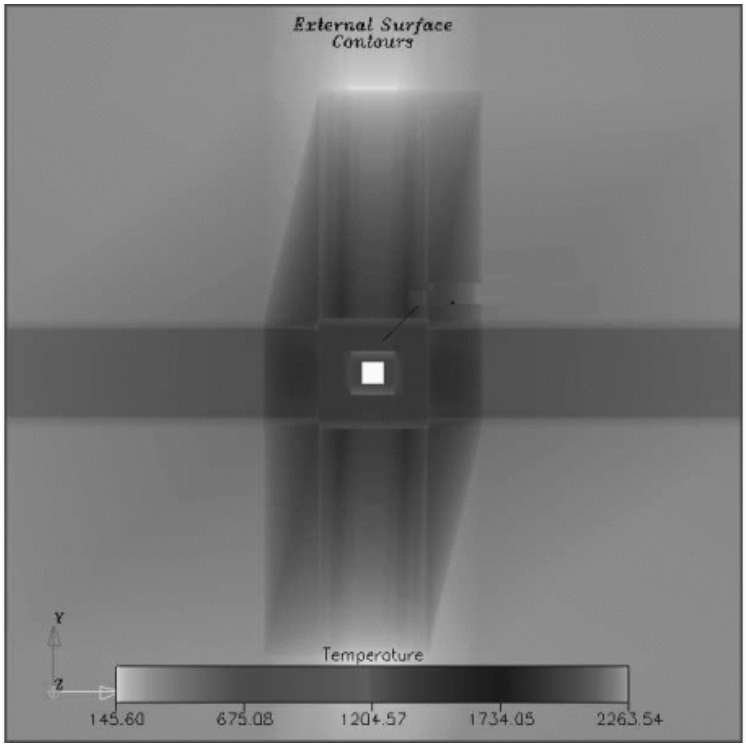


Figure 4-8 : *Thermogramme obtenu par simulation pour un éjecteur à 10 volts.*

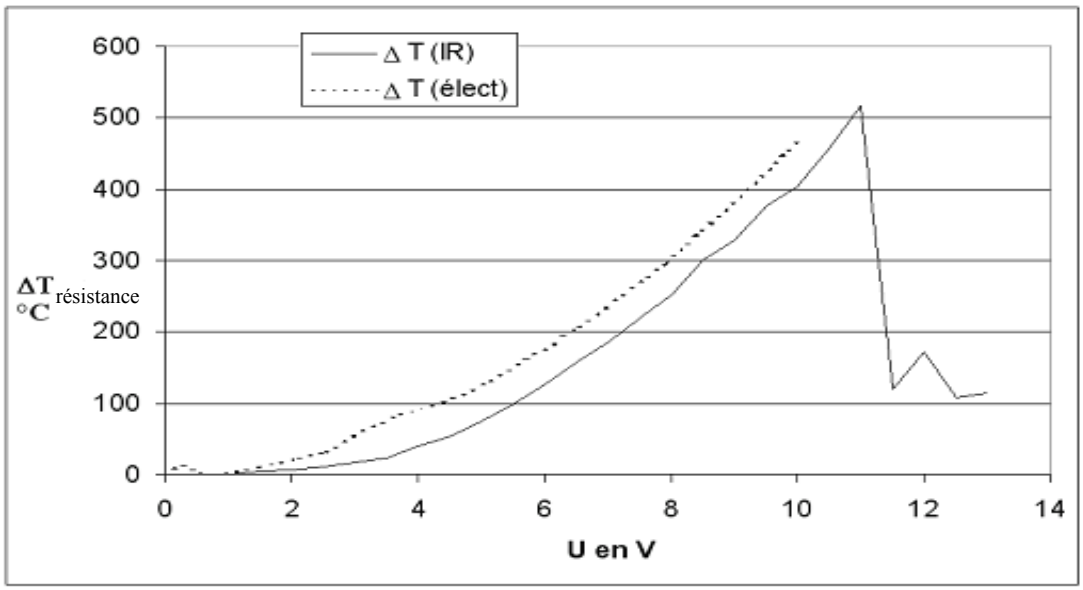


Figure 4-9 : *Comparaison des échauffements mesurés par IR et par la méthode de la conductivité.*

Sur la figure 4-9, la mesure a été faite sur une résistance dépourvue de Su8 pour une émissivité de 0,7 avec un micro injecteur du lot n°2 de micro injecteurs petites membranes. Nous observons qu'entre 0 et 2 volts la valeur de $\Delta T_{résistance}$ évolue très peu alors qu'entre 2 et 11 volts la variation est bien plus importante, de plus sur ce graphique nous voyons qu'à 11V (~0,25W), la résistance est détériorée car la puissance appliquée est trop importante ou alors la température atteinte par la résistance détériore le matériau. Le décalage que nous observons entre la courbe simulée et la courbe obtenue par mesure IR s'explique par la faible résolution spatiale du microscope IR. Le pixel a en effet une taille de 12,5*25μm^2 et recouvre donc obligatoirement une zone plus large que celle de la résistance. De part les faibles dimensions de nos résistances et de la faible conductivité thermique de la membrane, on se retrouve alors avec une moyenne de température observée plus faible.

Afin de travailler sur des structures complètes, nous avons déterminé expérimentalement l'émissivité de la Su8. Pour faire cela nous avons procédé de la manière suivante ; nous avons travaillé avec des wafers de silicium recouverts complètement de Su8 ou avec des éjecteurs également complètement recouverts de Su8. L'échantillon est chauffé, de façon homogène, par un peltier. La température à la surface du Su8 étant mesurée avec un thermocouple, la mesure concomitante de la température par IR, nous permet de déterminer l'émissivité de la Su8. Nous avons ainsi obtenu une émissivité de 0,84. Cette valeur est proche des valeurs proposées dans la littérature pour des matériaux polymères (de l'ordre de 0,9).

En fixant cette valeur d'émissivité, les valeurs des températures obtenues, pour un micro injecteur linéaire à petite membrane du lot n°2, sont présentées sur la figure 4-10. Sur ce graphique figurent aussi les courbes pour des émissivités de 0,7 et 0,14. Nous voyons comme précédemment, un écart important entre la mesure avec une émissivité de 0,84 et la courbe électrique, alors que la mesure pour une émissivité de 0,14 est proche de celle réalisée électriquement. Trois raisons peuvent expliquer cette différence : la première est comme nous l'avons vu la faible résolution spatiale du microscope. La deuxième est la faible conductivité thermique du Su8 qui génère un fort gradient de température entre le bas et le haut de la buse. Sur les simulations, la différence de température entre le bas de la buse en SU8 (au contact avec la résistance) et le haut de la buse est de 30°C. La dernière raison est liée à la température de dégradation du Su8, qui est de 380°C. Lorsque l'on se rapproche de cette température, le Su8 se dégrade, son émissivité devient différent de 0,84.

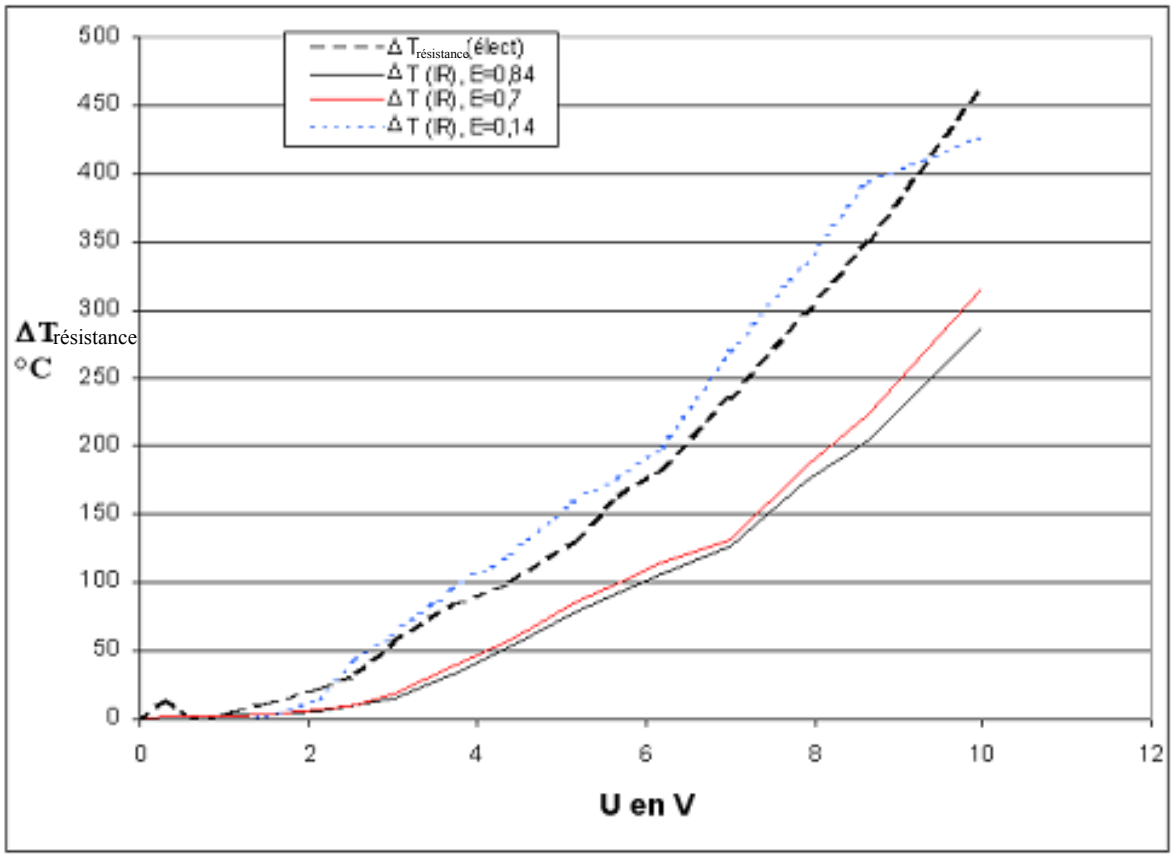


Figure 4-10 : *Courbes comparatives entre des mesures électriques et à l'infrarouge pour une même résistance pour le lot n°2 de micro injecteurs linéaires petites membranes.*

Les résultats que nous venons de présenter, nous montre que la caractérisation par IR sur les structures complètes n'est pas utilisable compte tenu de la résolution spatial de la camera et du gradient de température dans la Su8.

2-4. Les caractérisations en transitoire

L'utilisation des micro-injecteurs se fait par application d'une impulsion électrique. Cette impulsion, que nous avons fait varier de 5µm à 50ms, doit permettre aux résistances d'atteindre des températures suffisantes pour provoquer la nucléation homogène et la croissance de la bulle gazeuse jusqu'à l'éjection de liquide. Pour les trois liquides testés : eau, éthanol et acétonitrile, les températures de limite de surchauffe cinétique pour une nucléation homogène sont respectivement de 575K, 471K et 497K à pression atmosphérique. Il nous faut donc connaître les puissances à appliquer, pour une durée d'impulsion donnée, pour atteindre les différentes températures de surchauffe des liquides. Nous avons vu dans le paragraphe 2-2, que nous n'avions pas pu vérifier expérimentalement les élévations de températures atteintes avec le réservoir rempli, en régime stationnaire.

Les simulations sont un bon guide de réflexion, mais les logiciels ne prenant pas en compte les changements de phase, leur domaine de validité s'arrête à la génération des premiers embryons gazeux. Il nous a donc semblé intéressant de mesurer les variations de résistivité du polysilicium lors des transitoires de montée en température et de regarder s'ils pouvaient nous apporter quelques informations le long du cycle complet, nucléation gazeuse, croissance du film et éjection.

La méthode consiste à envoyer un pulse de courant aux bornes de la résistance et de visualiser la réponse en tension sur un oscilloscope où, en l'occurrence ici, un écran d'ordinateur [3]. Le montage utilisé, qui est schématisé sur la figure 4-11, est constitué de :

- Deux générateurs de tension, le premier (METRIX, AX502) sert à alimenter le convertisseur tension/courant, le deuxième (P. Fontaine, ALS 6015C) sert à alimenter la résistance chauffante.
- Un boîtier de conversion tension/courant.
- Un générateur d'impulsion (TTi, TGP110, 10Mhz Pulse Generator) permettant de faire des impulsions de 5 à 500ms, de formes différentes. Ces impulsions peuvent être enclenchées manuellement ou en continu.
- Un PC muni d'une carte d'acquisition. L'ordinateur nous permet de stocker les informations concernant les variations de tension et de courant, les acquisitions

peuvent se faire à des fréquences allant de 1kHz à 100kHz pour des courants impulsés allant de 0 à 28mA (~0 à 400mW).

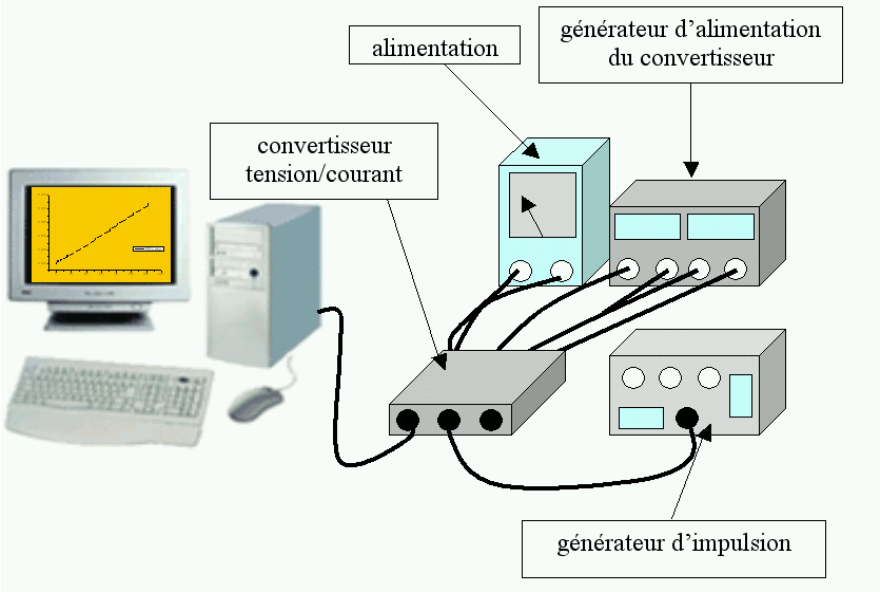


Figure 4-11 : *montage pour les mesures, en impulsion, de la variation de la tension.*

Comme précédemment, les mesures ont été effectuées réservoir vide, puis rempli à l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile. Nous avons effectué les mesures pour des impulsions de 50 et 500ms et des puissances délivrées de 20 à 300mW. Les figures 4-12 et 4-13 donnent les variations de R/Ro pour des impulsions de500ms et 50ms.

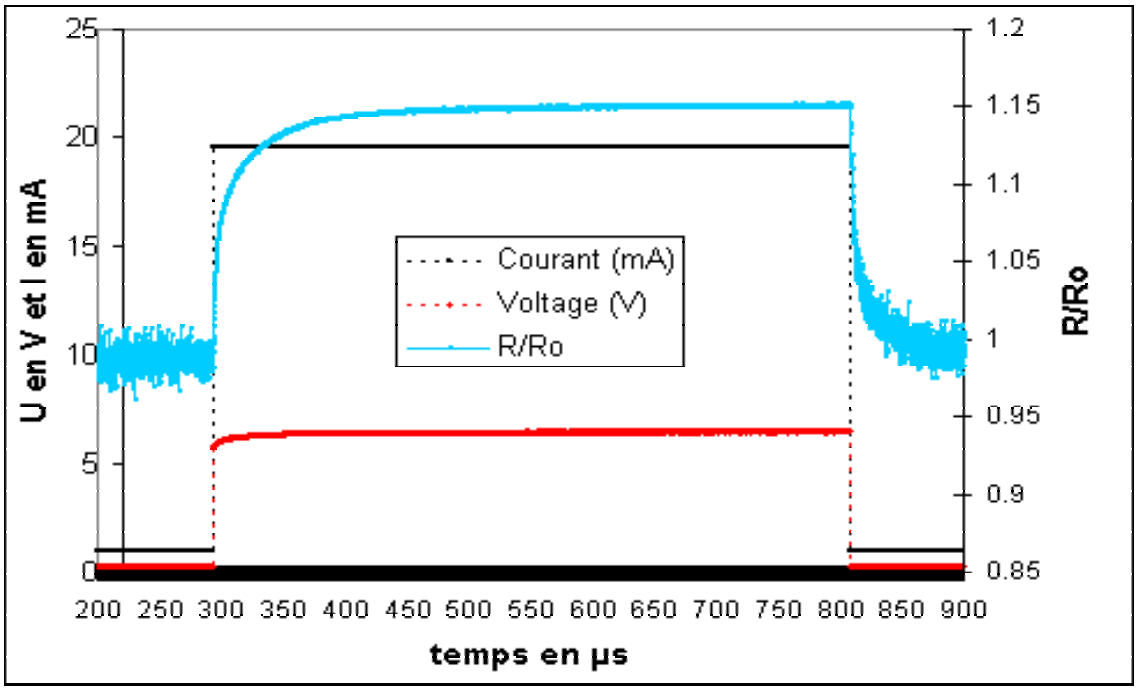


Figure 4-12 : *Variation de tension et de résistance pour une impulsion en courant de 19mA (6,64V et 126,2 mW) d'une durée de 500ms pour le lot n°1 de micro injecteurs, mesures effectuées à vide.*

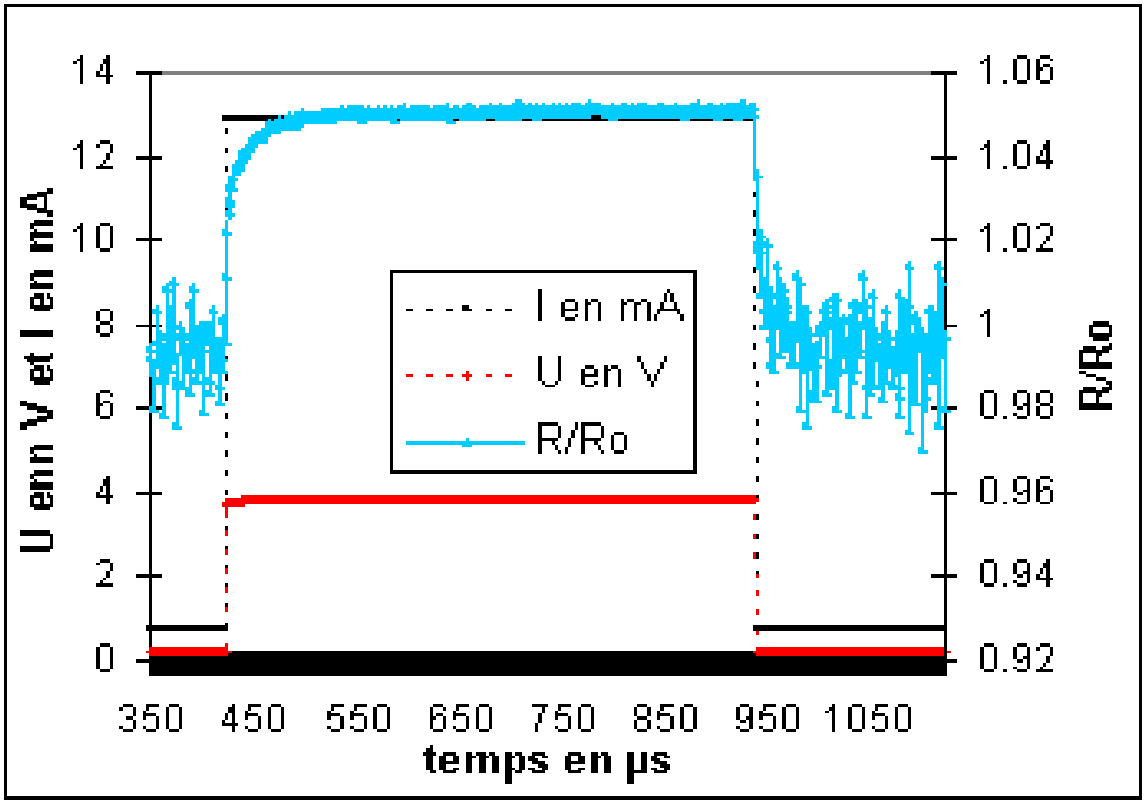


Figure 4-13 : *Variation de tension et de résistance pour une impulsion en courant 12mA (4,12V et 49,4mW) d'une durée de 500ms pour le lot n°1 de micro injecteurs, mesures effectuées à vide.*

D'après les premiers résultats obtenus sur des micro injecteurs vides, nous voyons que pour deux puissances différentes, le temps de stabilisation de la résistance, c'est-à-dire le temps correspondant à l'établissement du régime stationnaire thermique est légèrement inférieur à 100ms. A partir de ces courbes nous pouvons tirer une autre information qui est le temps de retour à température ambiante de la résistance, ce phénomène est surtout visible sur la figure 4-12 où la ligne de base est moins bruitée. Ce temps de relaxation total est d'au moins 100ms aussi. Les temps observés sont longs par rapport aux temps d'impulsion de 10 à 500µs nécessaires à l'éjection. Nous pouvons, à partir de ces résultats et en utilisant les résultats des mesures électriques antérieures, déterminer l'évolution thermique de la résistance. La comparaison des valeurs de R/Ro, sur les plateaux des figures 4-12 et 4-12 avec les valeurs présentées sur la figure 4-3 (mesures stationnaires) sont quasiment semblables pour des puissances similaires. A 49,4mW, on trouve le plateau à R/Ro≈1,05 alors qu'en stationnaire on a R/Ro≈1,04,. Pour 126,2mW, le plateau est à R/Ro≈1,15 en transitoire alors qu'en stationnaire, on a R/Ro≈1,13. Cette information, nous permet donc de dire qu'à environ 100ms, nous nous situons bien en régime stationnaire.

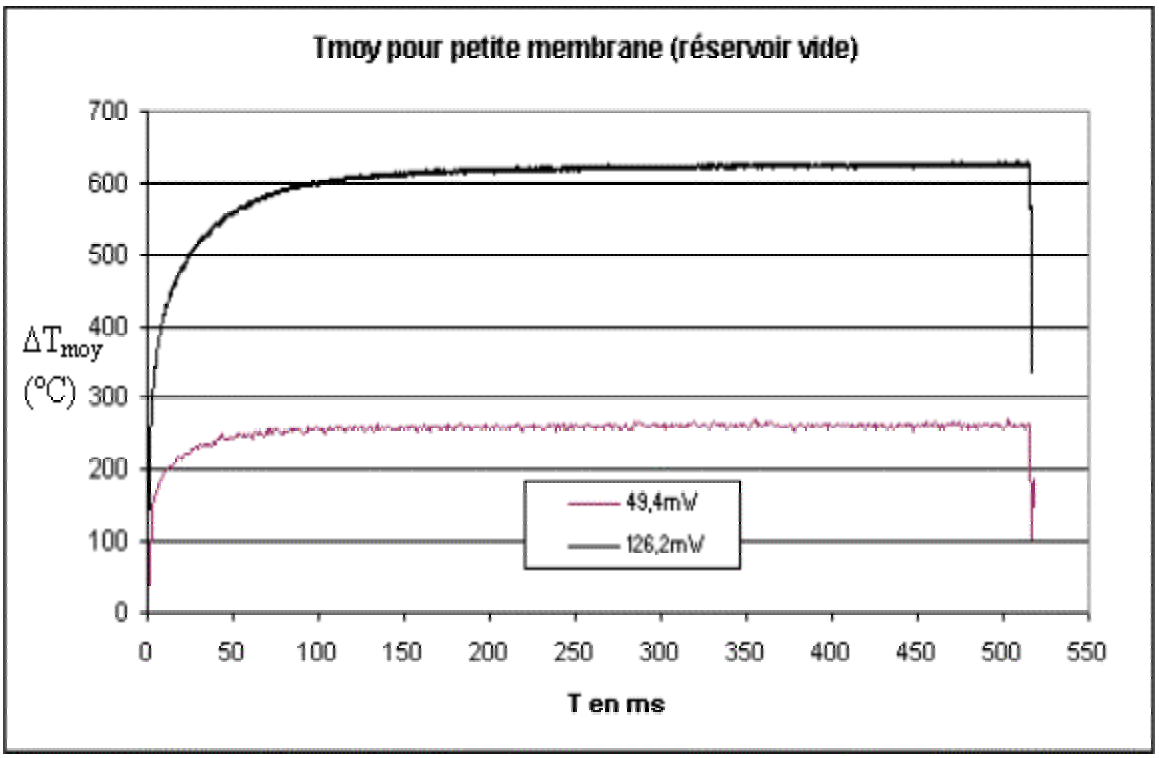


Figure 4-14 : *Variation de la température(température moyenne du polysilicium sur la membrane) pour des puissances de 49.4mW (4,12V et 12mA), 126.2mW (6,64V et 19mA) et des impulsions de 500ms pour le lot n°1 de micro injecteurs, à vide.*

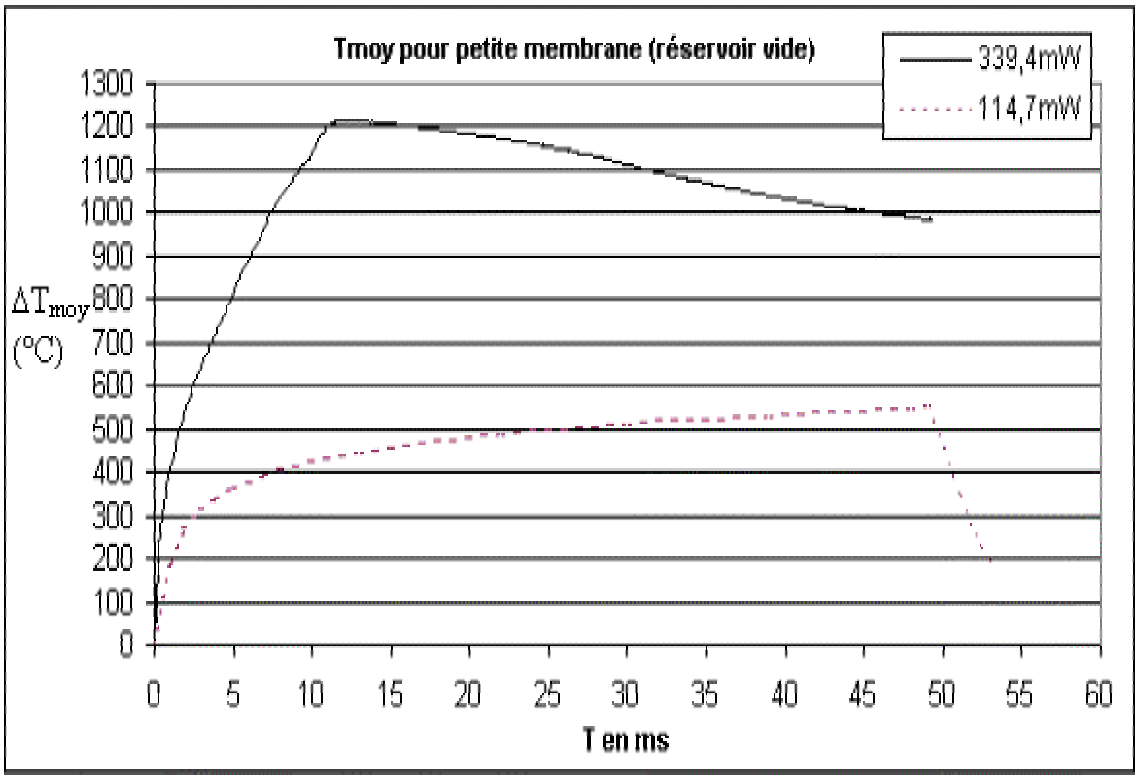


Figure 4-15 : *Variation de la température(température moyenne du polysilicium sur la membrane) pour des puissances de 113.7mW (6,32V et 18mA), 339.4mW (12,12V et 28mA) et des impulsions de 50ms pour le lot n°1 de micro injecteurs, à vide.*

Sur les courbes de la figure 4-14 et 4-15, nous voyons que les régimes en transitoires permettent d'atteindre les températures de surchauffe limite des différents liquides que nous utilisons. Pour l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile ces températures sont respectivement de 575.2°C, 471.5°C et 497°C.

La même série de mesures a été effectuée pour des micro injecteurs dont la taille des membranes est supérieure. Cette deuxième série nous montre l'importance des dimensions de la membrane dans le confinement de la chaleur. Ces résultats sont reportés sur la figure 4-16.

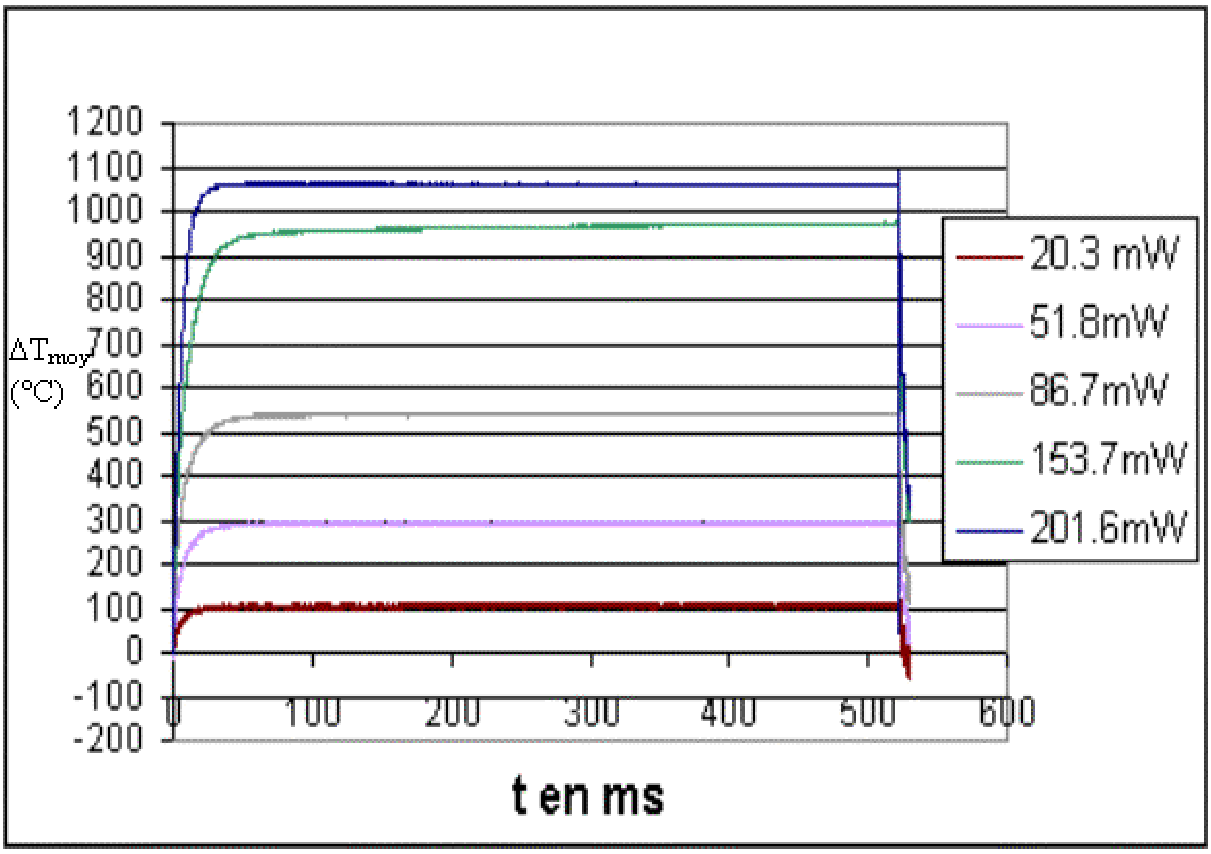


Figure 4-16 : *Variation de la température à différentes puissances 10mW (7.,5mA), 51.8mW (11.5mA), 86.7mW (14.3mA), 153.7mW (17.,3mA) et 201.6mW (19.4mA), et des impulsions de 500ms pour un injecteur à grande membrane vide pour le lot n°3.*

Si on compare la figure 4-16 avec les figures 4-14 et 4-15, on voit deux choses intéressantes : les températures atteintes par les résistances sur les grandes membranes sont plus importantes que sur les petites membranes, pour une puissance de 50mW, on atteint, sur petite membrane, un ΔT de 260°C alors que ce ΔT est de 300°C sur grande membrane. On voit aussi, au travers de cette comparaison, que les temps de stabilisation en température sont, dans le cas de l'injecteur à membrane large, bien plus court que pour la petite membrane. Ainsi, au bout de 50ms, les températures ont atteint leur valeur stationnaire. Ces phénomènes

sont facilement explicable par le fait que, plus la membrane est grande, plus elle oppose une résistance thermique importante à la dissipation de l'énergie par conduction dans la structure. Cette constatation attire toutefois notre attention sur le fait que, premièrement, le dimensionnement de la membrane devra être pris en compte lors de l'optimisation des éjecteurs finaux, deuxièmement, le comportement thermique d'un éjecteur individuel pourra être légèrement modifié selon son emplacement au sein de la matrice. Le système de commande des éjecteurs devra donc impérativement permettre de compenser cette caractéristique.

La même série de mesure a été effectuée réservoirs remplis. Les courbes de variation de la température à différentes puissances et des impulsions de 500ms pour des éjecteurs à grande membrane sont représentées sur les figures 4-17, 4-18 et 4-19. Ces figures donnent les variations de températures de la résistance chauffante, pour des impulsions de 500ms, avec les réservoirs remplis d'eau, d'éthanol et d'acétonitrile à plusieurs puissances d'actionnement.

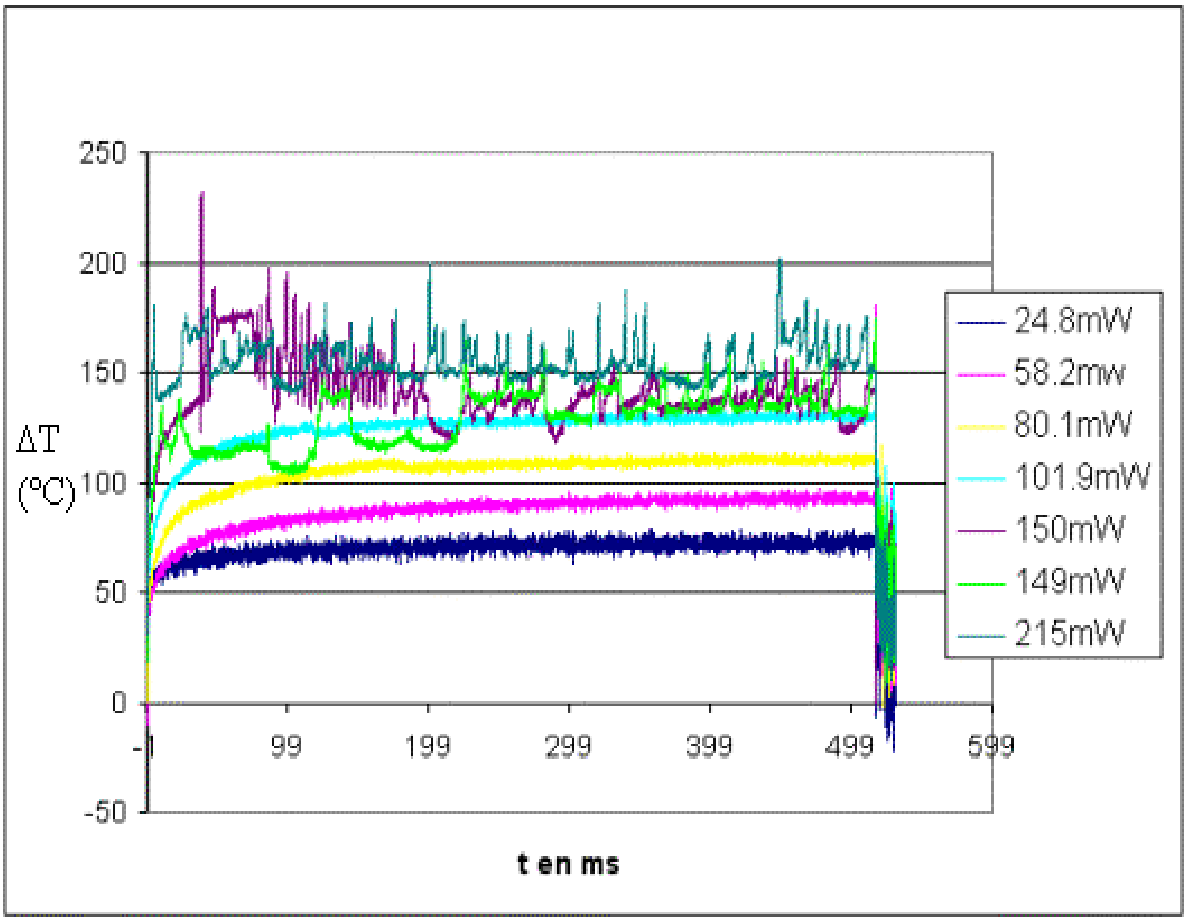


Figure 4-17 : *Variation de la température à différentes puissances et des impulsions de 500ms pour un injecteur du lot n°3, à grande membrane, rempli d'eau.*

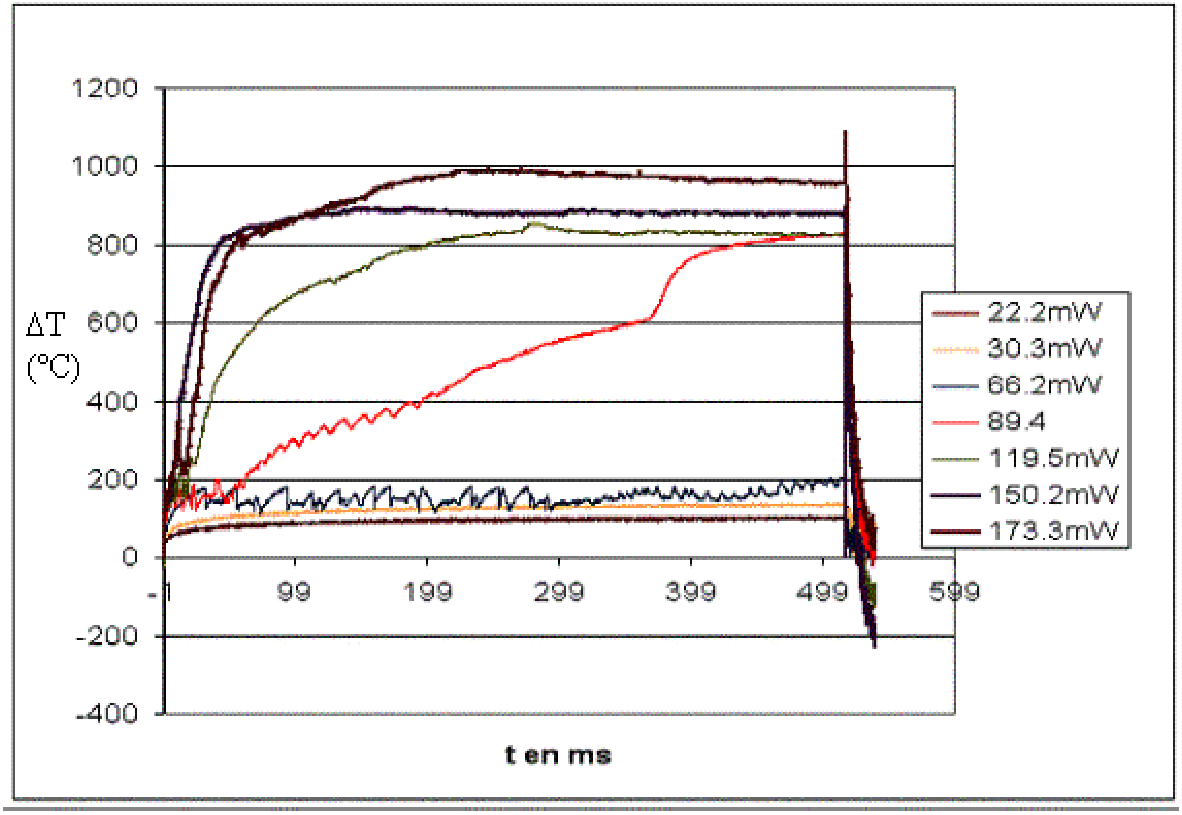


Figure 4-18 : *Variation de la température à différentes puissances et des impulsions de 500ms pour un injecteur du lot n°3, à grande membrane, rempli d'éthanol.*

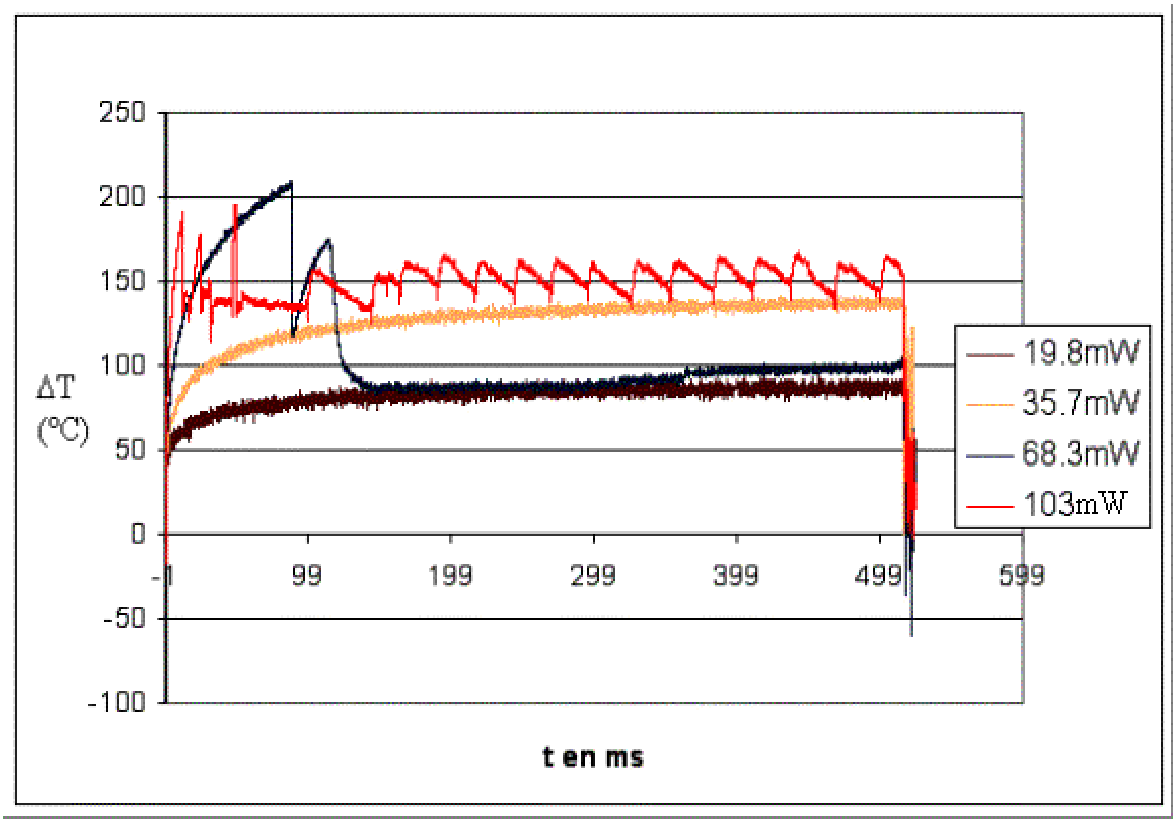


Figure 4-19 : *Variation de la température à différentes puissances et des impulsions de 500ms pour un injecteur du lot n°3, à grande membrane, rempli.*

L'analyse des figures 4-16 à 4-19 nous montre que la présence de liquide dans le réservoir modifie de façon importante le comportement thermique de l'éjecteur. La température d'une résistance en présence de liquide est fortement perturbée. Au-delà d'une certaine puissance d'actionnement, la résistance n'arrive pas à se stabiliser en température alors qu'à vide, quelle que soit la puissance appliquée, la température d'échauffement croit de façon rapide jusqu'à atteindre un plateau qui correspond au de régime stationnaire. Avec le liquide, au-dessus d'une certaine puissance, ce régime n'est plus atteint. Le signal devient chaotique, laissant deviner que l'ébullition du liquide est engagée. Les résultats sont regroupés dans le tableau 4-1.

Puissance en mW	**<35**	**58,2**	**68,3<P<102**	**103<P<120**	**>150**
Eau	NON	*NON*	*NON*	*NON*	*OUI*
Ethanol	*NON*	*?*	***OUI***	***OUI***	***OUI***
Acétonitrile	*NON*	*NON*	*OUI*	*OUI*	*OUI*

Tableau 4-1 : *Récapitulatif des observations. Dans le tableau : oui pour observation d'ébullition et non : pour non ébullition, en italique les puissances pour lesquelles les températures sont supérieures aux températures d'ébullition des liquides et en surligné, les températures permettant la nucléation homogène.*

La raison de ce comportement est l'apparition des phénomènes d'ébullition. Nous avons, dans le chapitre II, présenté une courbe de transfert de chaleur en fonction de la température (figure 2-8). Cette courbe peut nous donner une explication de ce comportement thermique. En effet, pour l'eau par exemple, pour des surchauffes de 10°C, on observe des ébullitions qui correspondent à la zone où le transfert de chaleur est assez important. C'est typiquement ce que nous observons sur la courbe des mesures pour l'eau pour une surchauffe avoisinante. La courbe 149mW de la figure 4-17, par exemple, devient irrégulière à partir du moment où l'ébullition commence lorsque la résistance chauffante atteint ~150°C. A partir de cette température, nous voyons que, quelles que soient les puissances appliquées, nous n'arrivons pas à atteindre des ΔT supérieurs à 200°C. Cette information nous confirme qu'un temps d'impulsion long pour un flux électrique faible ne permet pas d'atteindre un régime de nucléation homogène car les phénomènes d'ébullition hétérogène perturbent et limitent la montée en température (R.R. Allen, chapitre 2).

Pour l'éthanol, dès 66mW, l'ébullition est observée mais contrairement à l'acétonitrile et à l'eau, nous voyons qu'à partir de 119,5mW, les températures atteintes par les résistances sont assez proches des températures à vide même si la montée en température est bien moins régulière. La raison qui pourrait expliquer cela, est qu'à partir d'une certaine température, nous ne somme plus dans une situation d'ébullition hétérogène mais dans une situation où il y a formation d'un film de gaz sur la zone chauffante. Cette zone de gaz, qui est plus isolante que le liquide régule la température et élimine les effets d'ébullition localisés.

A partir des résultats présentés, nous pouvons dire qu'en présence de liquide, les résistances chauffantes sont capables d'atteindre des températures de surchauffe très importantes. Pour l'éthanol et l'acétonitrile, des puissances supérieures à respectivement 89.4mW (figure 4-18) et 68.3mw (figure 4-19) permettent d'avoir des nucléations homogènes, alors que pour l'eau, nous n'atteignons pas les températures suffisantes car les flux électriques plus importants seront nécessaires pour atteindre l'ébullition homogène.

Il est toutefois important de noter que :

- Les températures qui sont indiquées sont des températures moyennes sur la zone chauffante alors que les températures maximales au niveau de la résistance sont plus élevées.

- L'utilisation des éjecteurs ne se fait non pas à des temps d'impulsion de 500ms mais à des temps d'impulsion de plusieurs dizaines de microsecondes pour des puissances plus élevées. Nous avons essayé de faire des mesures sur un temps d'impulsion de quelques dizaines de microsecondes. Les résultats ne se sont pas montrés très concluants, la raison de ceci étant le faible nombre des points de mesures pour des temps aussi courts. Cependant, ces résultats sont encourageants. Ils montrent que, en améliorant les caractéristiques d'acquisition, on doit pouvoir parfaitement, d'une part contrôler la montée en température de l'éjecteur et d'autre part détecter la première ébullition. L'approche doit donc être poursuivie et améliorée.

3. Caractérisations fluidiques

3-1. Introduction

La maîtrise du phénomène d'éjection est déterminante dans le cadre de la fonctionnalisation des bio puces. Il est important de connaître les volumes éjectés, la direction du jet et sa vélocité. Pour maîtriser tous ces paramètres, il nous faut tout d'abord pouvoir les quantifier. Cette quantification peut être faite par l'observation des éjections. Pour cela, plusieurs techniques d'observations sont possibles, nous pouvons en dénombrer au moins trois qui sont usuellement utilisées :

- Méthode stroboscopique

Cette technique permet d'observer des phénomènes rapides en utilisant une camera CCD classique combinée à un éclairage stroboscopique. Elle consiste à synchroniser l'éclairage d'une source lumineuse avec les impulsions électriques appliquées pour l'éjection. Une LED peut servir de source lumineuse. La manipulation consiste à éjecter les gouttelettes avec une durée et une fréquence d'impulsion constante, à fréquence fixe. Les images d'éjection sont figées par les flashs lumineux générés par LED qui sont déclenchés à une fréquence fixe mais inférieure à celle des pulses d'éjection.

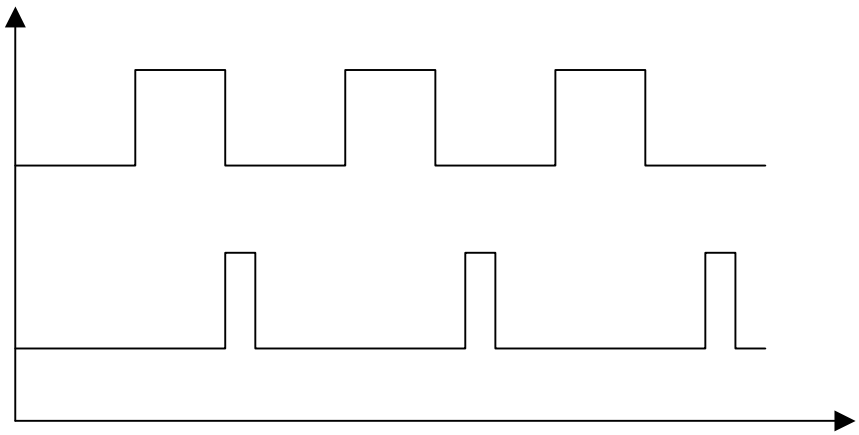


Figure 4-20 : *Visualisation des impulsions pour l'alimentation de l'éjecteur (courbe du haut) et de la LED (courbe du bas).*

Avec cette technique, il est possible de reconstituer une séquence d'éjection entière en capturant les images de plusieurs éjections à des temps différents. Elle est très souvent utilisée pour les micro-injecteurs [4]. Pour pouvoir la mettre en place, il faut que

le phénomène filmé soit parfaitement reproductible d'une éjection à l'autre. Considérant que cette condition n'était pas garantie, nous avons préféré opter, dans un premier temps, pour un autre moyen d'observation.

- Méthode optique classique

Cette méthode est celle que nous avons utilisée pour faire les premières caractérisations fluidiques. L'objectif premier de l'observation était de savoir si il y avait éjection ou non et si les quantités éjectées correspondaient à nos attentes. Cette technique d'observation présente de nombreux avantages tels que la facilité d'utilisation et le coût peu élevé de l'équipement. Nous avons mis au point un banc d'optique avec un microscope permettant de visualiser, de façon nette, des éléments de dimensions micrométriques. Le microscope est combiné à une caméra CCD à 25 images par seconde. Cette technique ne permet pas d'observer directement l'éjection de la goutte mais à l'aide d'une lame de verre posé perpendiculairement à l'éjection, il est possible d'observer l'impact de la goutte ou des gouttes (gouttelette principale et gouttelettes satellites) et ainsi de connaître de façon approximative les quantités éjectées.

- Méthode avec caméra rapide [5-7]

Le microscope combiné à une camera rapide (jusqu'à 10 000 à 30 000 images par seconde) permet de filmer l'intégralité de l'éjection puis de la visionner image par image. Avec cette méthode, il est possible de quantifier le volume de la goutte et de connaître la vitesse d'éjection. Un inconvénient de cette technique est le coût élevé des caméras. De plus, pour avoir des images claires à des vitesses de saisie d'images importantes, il est nécessaire d'avoir une source lumineuse puissante. A ces vitesses élevées, le champ d'observation devient extrêmement réduit ainsi que le temps d'acquisition de l'image. De plus, l'utilisation d'une source très puissante génère de la chaleur qui peut être problématique par rapport au phénomène d'ébullition des liquides. Des essais ont cependant été faits et sont présentés dans ce chapitre.

3-2. Le banc optique mis en place

Notre priorité est de déterminer si il y a éjection effective ou non et dans le cas d'une éjection, si il y a formation de gouttelettes satellites. Le banc optique que nous avons mis en place combine un objectif équipé d'un zoom à une camera CCD. Le grossissement du zoom peut varier 0,8 à 4. La camera ne nous permet pas d'observer le jet de liquide qui est bien trop rapide, les vitesses d'éjection pouvant atteindre 4 à 10ms^{-1}. L'éjecteur est placé tête vers le bas. A l'aide d'une lame de verre placée perpendiculairement au jet, nous observons l'impact du liquide sur la lame de verre. L'observation est effectuée par l'intermédiaire d'un miroir de renvoi situé au dessous de la lame de verre. La quantité de liquide éjecté est déduite à partir des dimensions de l'impact. Cette méthode nous permet de déterminer s'il y a ou non existence de gouttelettes satellites. L'inconvénient principal de ce banc d'optique est qu'il ne permet que des mesures de faibles précisions. Il est représenté schématiquement sur la figure suivante.

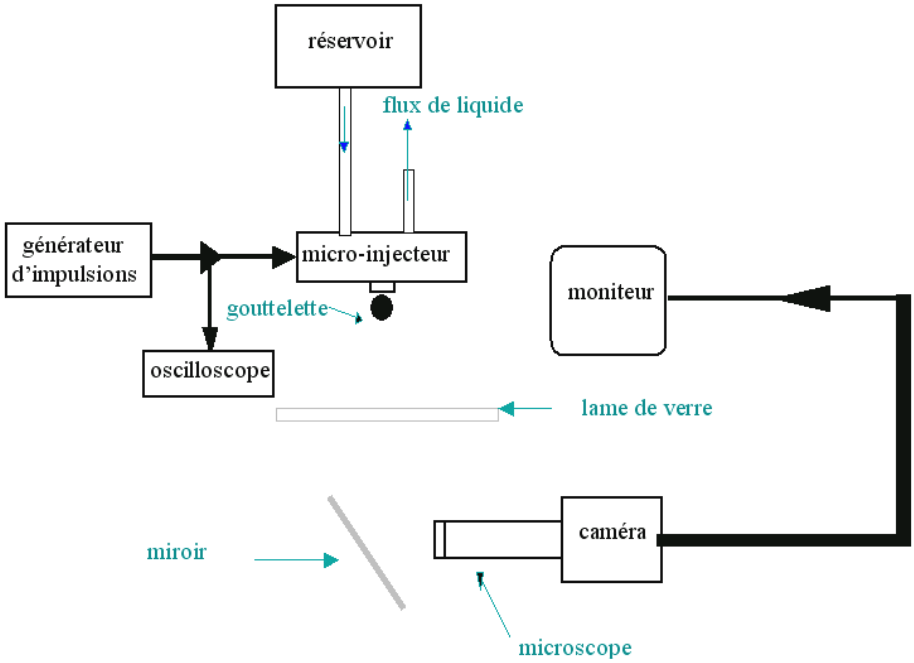


Figure 4-21 : *Banc optique pour l'éjection et l'observation des gouttelettes.*

3-3. Remplissage et pression de travail

La première question est de savoir si l'éjecteur peut travailler avec une alimentation en fluide restant à pression atmosphérique ou si l'on doit appliquer une surpression pour

permettre l'éjection. Dans ce dernier cas, la surpression ne doit pas provoquer le débordement des buses. La pression limite que nous pouvons appliquer dans le réservoir peut être calculée de façon approximative en appliquant l'équation :

$$We=\frac{\rho P R^5}{\sigma 8^2 \mu^2 L^2}$$

avec ρ la densité du liquide, σ la tension superficielle, μ la viscosité, P la pression,, L la hauteur de le buse et R le rayon du trou d'éjection. Pour qu'il n'y ai pas débordement, il faut que le nombre de weber We<1.

On peut aussi calculer cette pression limite, à partir de l'équation :

$$P = 2\sigma/R + P_{atm}$$

Les valeurs calculées sont reportées dans le tableau 4-2.

liquides	eau	éthanol	acétonitrile
Pression limite	108527Pa	103527Pa	104196Pa

Tableau 4-2 : *les pressions limites applicables pour différents liquides.*

D'après ces résultats, nous voyons que nous pouvons appliquer une surpression de 7197Pa, 2197Pa et 2866Pa pour respectivement l'eau, l'éthanol et l'acétonitrile à l'intérieur du réservoir pour alimenter celui-ci en liquide, sans provoquer le débordement. Pour cela, une solution a été de maintenir une surpression gazeuse dans la bouteille d'alimentation en liquide. La pression fournie par le gaz est contrôlée par une valve, une restriction et un détendeur. En utilisant ce montage d'alimentation, le système est alimenté de façon continue. Malheureusement, nous avons observé que dans ces conditions de travail, il y avait débordement du liquide par les buses à la suite de la première éjection. Ce phénomène n'a pas pu être expliqué clairement. Nous avons donc préféré travailler en contrôlant la surpression appliquée par l'intermédiaire de la hauteur de la colonne de liquide au dessus de l'éjecteur. Cette méthode s'est avérée beaucoup plus précise que la précédente et nous a permis d'éliminer complètement les débordements indésirables. La surpression appliquée est typiquement de 480 à 2000 Pa.

3-4. Les tests d'éjection

Le montage électrique, dont nous disposons, permet de générer des impulsions avec des tensions allant jusqu'à 30 Volts. Les durées d'impulsion applicables sont de 5µs, 50µs, 500µs, 5ms, 50ms et 500ms. Les premiers résultats que nous avons trouvé pour l'eau se sont montrés conformes à nos attentes. Ils sont présentés dans le tableau 4-3.

Temps d'impulsion	Tension appliquée	Observation des impacts sur la lame de verre	Volume total approximatif	Énergie totale dissipée
50 ms	*éjection observée sur la lame de verre à partir d'une tension de 5 V*	*éjection principale et satellites : D = 100µm*	*2,6 nL*	*$2,5.10^{-3}$ J*
5 ms	*éjection observée sur la lame de verre à partir d'une tension de 7 V*	*éjection principale : D = 10µm, satellites : D = 5-10 µm*	*2.6 pL*	*$4,9.10^{-4}$ J*
500 µs	*éjection observée sur la lame de verre à partir d'une tension de 10 V*	*éjection principale : D = 10µm*	*<1 pL*	*1.10^{-4} J*
50 µs	*éjection observée sur la lame de verre à partir d'une tension de 25 V*	*éjection : D = 5µm,*	*<0,1 pL*	*$6,25.10^{-5}$ J*
5 µs	*éjection non observé, mais cela ne signifie pas qu'il n'y a pas eu d'éjection*			

Tableau 4-3 : *Résultats d'éjection pour l'eau pour le lot n°3 de micro injecteurs.*

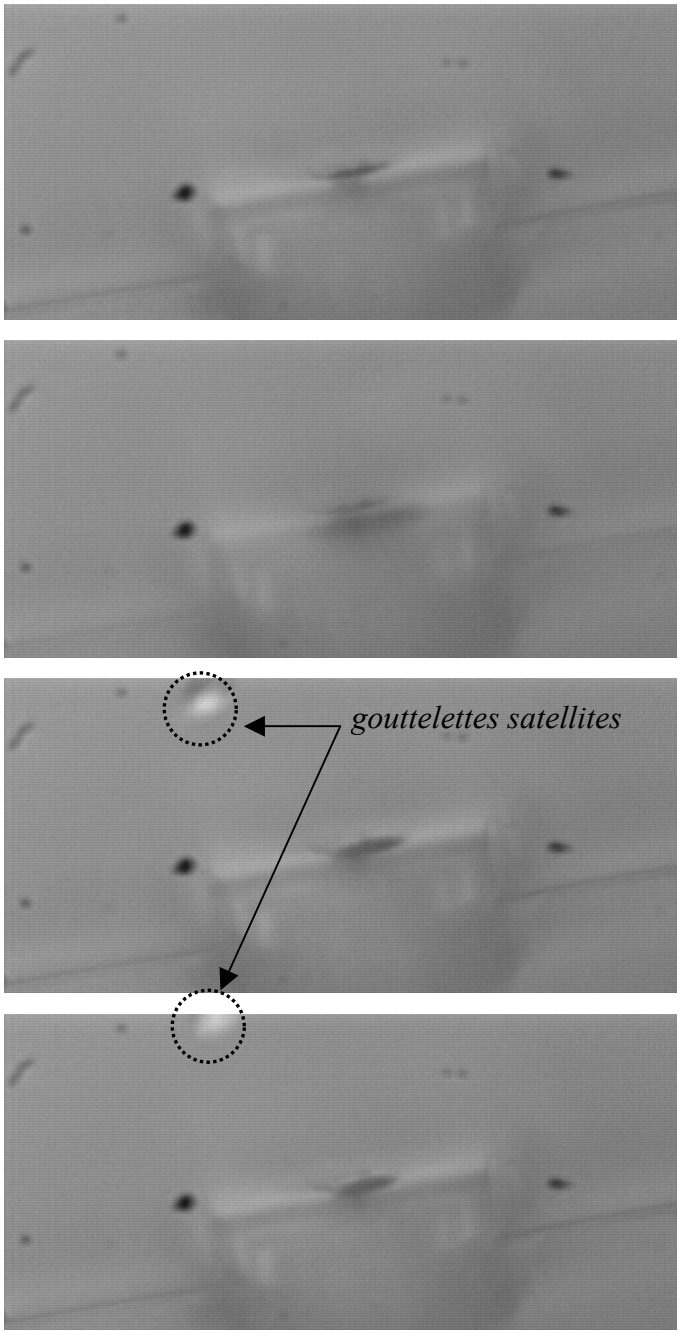
Les tests d'éjections ont été effectués pour des tensions allant de 5 à 25 volts et des temps d'impulsions de 50µs à 50ms. Pour des tensions appliquées de 5 et 7 volts, l'observation de gouttelettes satellites et d'une distribution aléatoire des éjections confirment que les faibles vitesses de montée en température et les faibles températures générées à ces voltages (à 5V on s'attend à atteindre environ 100°C et à 7V environ 150°C) ne permettent pas d'atteindre les conditions pour des nucléations gazeuses homogènes et des éjections reproductibles. Pour des tensions de 10 et 25 volts et des durées d'impulsion de respectivement 5ms et 50µs, des éjections sans gouttelettes satellites ont été observées. Pour des temps d'impulsions inférieurs à 50µs, il n'a pas été possible d'observer les éjections. Plusieurs raisons peuvent expliquer que rien n'est observé : on peut citer l'évaporation rapide de la gouttelette après impact, la faible quantité éjectée, la directionnalité de l'éjection, etc.... Mais les valeurs observées ici sont en accord avec les résultats du chapitre 2. Les calculs du chapitre 2 ont en effet montré qu'en dessous de 25V, la nucléation homogène ne pouvait apparaître qu'au delà de 60µs et 330µs pour respectivement q70% et q30%. Ces calculs ont

aussi montré qu'aux faibles tensions (3<V<15V), la montée en température nécessite plusieurs centaines de µs. Ceci confirme donc bien que les éjections observées à 5, 7 et 10V sont plutôt dues à de la nucléation hétérogène. D'autre part, nous avons calculé dans le chapitre 2, on peut dire aussi que d'après ces résultats, nous avons la confirmation que le flux thermique transféré au liquide correspond à une valeur proche de 70%. En effet, ici, à 25V, pour une puissance de ~1,25W, nous avons besoin de 50µs d'impulsion pour l'éjection alors que dans le chapitre 2, à 25V pour une puissance de ~1,04W il nous fallait 69µs si on considérait q70%. Alors que si on considérait q30% il fallait 341µs.

Nous avons également filmé, à l'aide de caméras rapides, l'éjection des gouttes, le but de cette observation étant d'une part, de déterminer la vitesse d'éjection de la goutte et d'autre par de déterminer la quantité éjectée avec présence ou non de gouttelettes satellites. D'après la littérature, la vitesse d'éjection à la sortie de la buse est supérieure au mètre par seconde [4, 8]. Si on part de cette ordre de grandeur, pour un champ de visualisation de 200µm*200µm, il nous faut, pour observer la gouttelette s'éjecter, une vitesse d'acquisition d'au moins 5000 images par seconde. A 5000 images par seconde, pour un champs d'observation de 200µm*200µm qui correspond à l'ordre de dimension de la buse d'éjection, l'éclairage doit être relativement puissant. Le problème d'un éclairage puissant est la génération de chaleur qui provoque des phénomènes d'ébullition incontrôlables dans le liquide. Une solution pour s'affranchir de cette génération de chaleur, serait de travailler dans le proche UV, ce qui n'est pas compatible avec l'utilisation de cameras CCD qui fonctionnent dans le visible.

Les observations que nous avons effectuées pour l'éthanol, bien qu'elles ne nous donnent pas d'image de l'éjection principale, nous ont, tout de même, apporté quelques informations intéressantes. Sur les figures qui suivent, nous présentons deux séries d'images résultant de ces observations. La première série est une séquence d'images obtenues à 500 images/s. A cette vitesse, nous ne pouvons pas observer l'éjection principale mais nous sommes arrivés à isoler l'image de deux gouttelettes satellites. Sur cette première série, la puissance appliquée est de 116mW pour un temps d'impulsion de 50ms. Les temps indiqués sur les images ont pour point initial un temps 0 pris arbitrairement. A t=2ms, La puissance fournie électriquement permet de chauffer suffisamment la résistance pour qu'il y ait nucléation homogène. On devine, de par la modification du contraste et de l'image, que des phénomènes se produisent. A t=6ms et t=8ms, On observe des gouttelettes. La possibilité de voir ces gouttelettes à 500 images/s, laisse à penser qu'il s'agit de gouttelettes satellites qui

s'éjectent ou retombent, et confirme que l'éjection s'est produite lors de la variation de contraste de l'image. Les deux gouttelettes peuvent représenter également une seule et même goutte en phase montante puis descendante. Si ces gouttelettes s'avèrent provenir de 2 éjections différentes, alors, on peut souligner le fait que leurs positionnements sont remarquablement proches. L'estimation du volume observé est d'environ 16pL.



t=0s

t=2ms : Contraste brouillé.

t=6ms :Présence d'une gouttelette dans le champ d'observation.

t=8ms : O*bservation d'une autre gouttelette satellite.*

Figure 4-22 : *Séquence d'image filmée à une vitesse de 500 images/seconde pour le lot n°3 de micro injecteurs.*

Pour tirer profit de la capacité de la camera à filmer les phénomènes rapides, nous avons cherché à observer la croissance du film gazeux. Cette observation s'avère moins problématique que celle de l'éjection, puisque la croissance du film se fait de façon localisée. Pour cela, nous avons choisi de faire des tests sur des injecteurs démunis de buse en SU8 afin d'avoir de meilleures images. La vitesse d'acquisition de la caméra est de 3000 images/s, la puissance appliquée est de 116mW pour un temps d'impulsion de 50ms. Il faut signaler que pour les temps d'impulsion et les puissances que nous appliquons ici, nous ne sommes pas dans les conditions d'utilisation souhaitées de nos éjecteurs (50µs, ~1.25W), c'est pourquoi le rayon maximum de la bulle observé dans la figure 4-23(e) est aussi important. A t=333µs, on voit l'apparition d'un film gazeux sous la résistance chauffée. Il y a également présence d'une gouttelette qui a du être éjectée par la formation du film gazeux et est retombée sur la membrane. Cette apparition soudaine, nous confirme la rapidité du phénomène d'éjection. A t=6ms, la bulle gazeuse croit de façon rapide, on est en régime diffusif. A t=18ms, la bulle continue de croître plus lentement. Et enfin, la bulle atteint sa taille maximale à t=48ms, elle va ensuite collapser. La gouttelette, qui est retombée sur la membrane, s'est complètement évaporée.

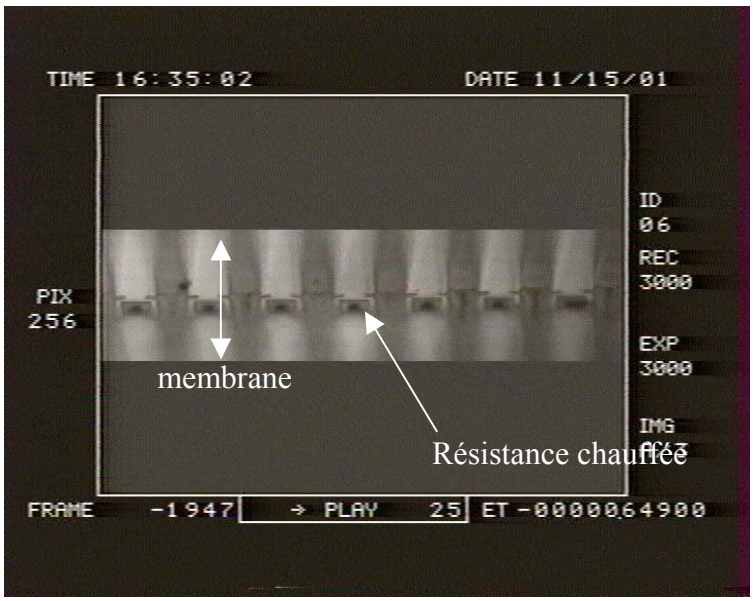


Figure 4-23a : *t=0s (arbitraire)*

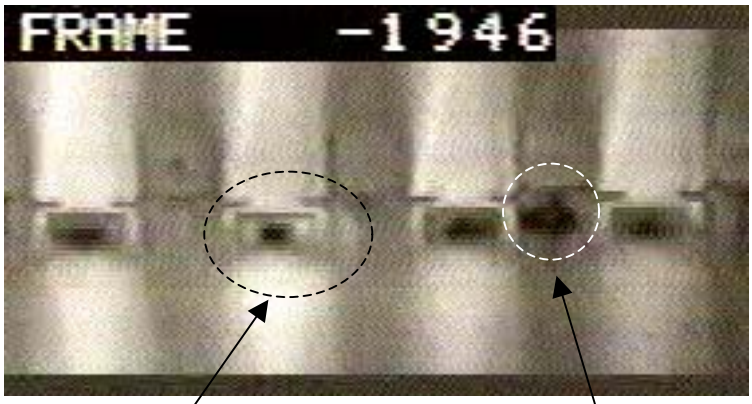


Figure 4-23b : *t=333µs*

Bulle de gaz visible par transparence

Gouttelette retombé sur la membrane

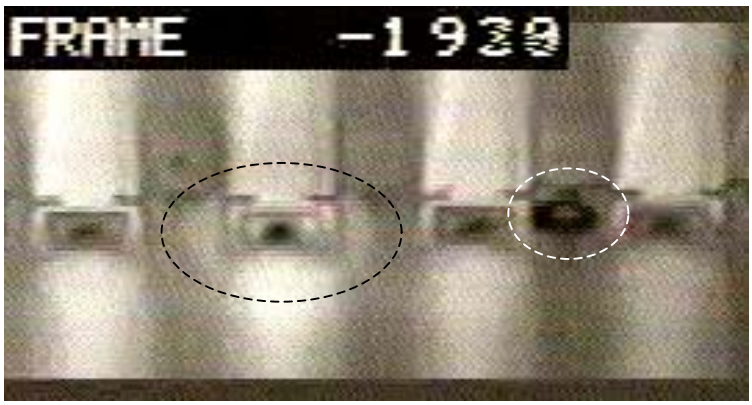


Figure 4-23c : *t=6ms*

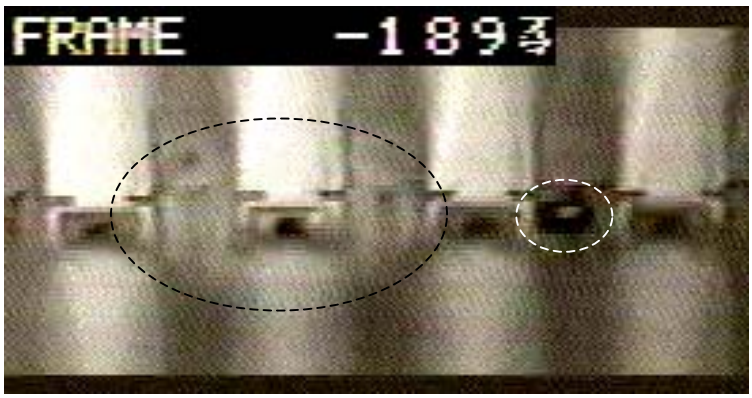


Figure 4-23d : *t=18ms*

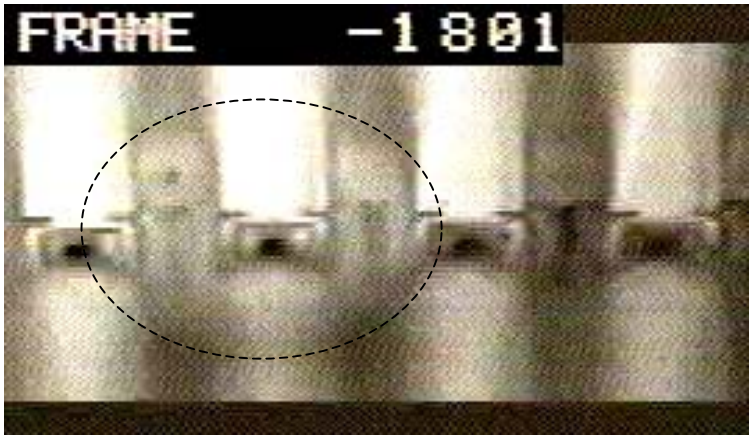


Figure 4-23e : *t=48ms*

4. Optimisation du dispositif

Les résultats que nous avons obtenus, se sont montrés encourageants mais il reste certains points à améliorer comme la directionnalité du jet, la dégradation de la Su8 à haute température, la facilité du montage etc… Nous avons, pour résoudre ces différents problèmes, modifié le design de nos micro injecteurs.

4-1. L'amélioration pour faciliter le montage

Pour faciliter le montage de nos micro-injecteurs, nous avons, dans un premier temps, conçu un support qui permet de facilité le câblage (cf figure 3-13). Ce support sert aussi à confiner la chambre du réservoir. Par la suite, pour éviter une étape de câblage support-injecteur, nous avons intégré les pistes d'or du support sur le micro-injecteur. Cela se traduit par des micro-injecteurs de taille plus grande mais aussi des étapes de montages en moins.

4-2. Les modifications de design pour améliorer l'éjection

Pour améliorer la directionnalité du jet, nous avons modifié le design de la résistance, nous avons remplacé les résistances carrées par des résistances rondes.

Figure 4-24 : *schématisation des deux types de design.*

L'intérêt principal de ce changement est de permettre un échauffement homogène du liquide autour de la résistance. Les résultats IR et de simulations ont montré que l'uniformité de l'échauffement n'était pas parfaite avec un design carré. De plus, un trou d'éjection circulaire offre une plus grande symétrie qu'un trou carré et limite les causes d'instabilité du jet. Ce facteur joue un rôle important dans le contrôle de la directionnalité du jet.

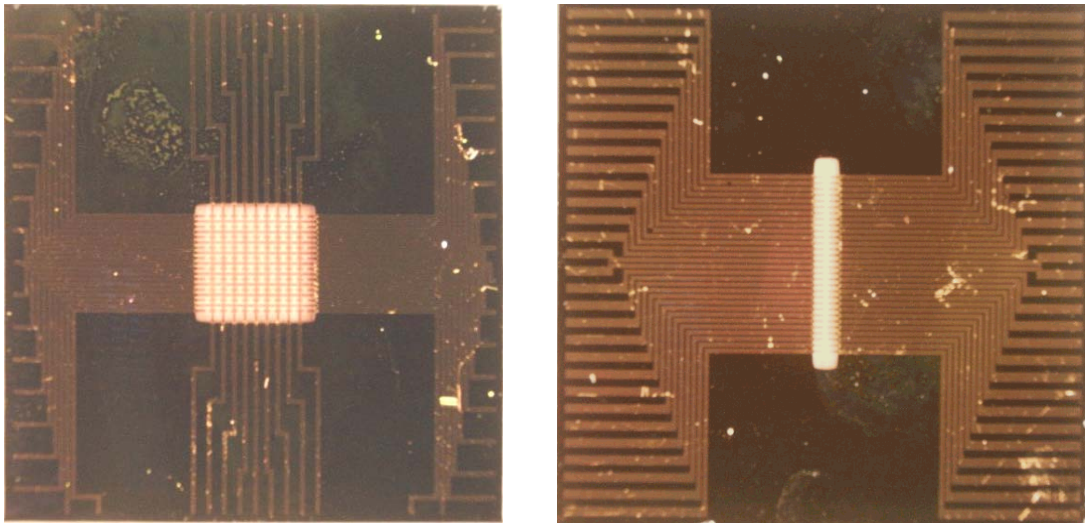


Figure 4-25 : *photos des micro-injecteurs linéaire et matriciel pour le design à résistances rondes.*

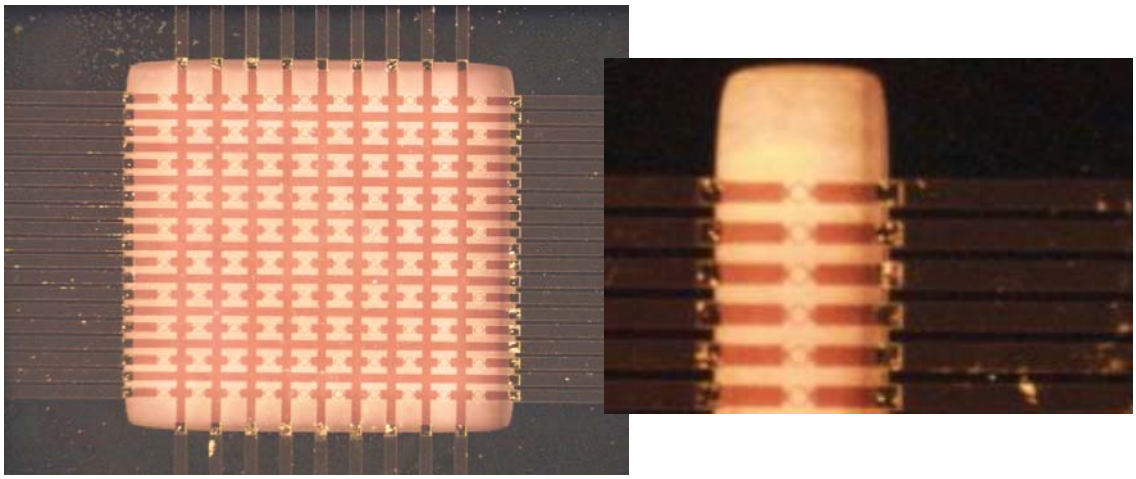


Figure 4-26 : *gros plan sur les membranes des injecteurs.*

Les premières caractérisations électriques de ces nouveaux dispositifs ont été effectuées. Les résultats de ces caractérisations sont présentées sur la figure 4-27. Nous voyons que ces résultats préliminaires confirment les prédictions de la simulation. Les températures obtenues avec le nouveau design sont proches des températures obtenues avec les premières générations d'injecteur.

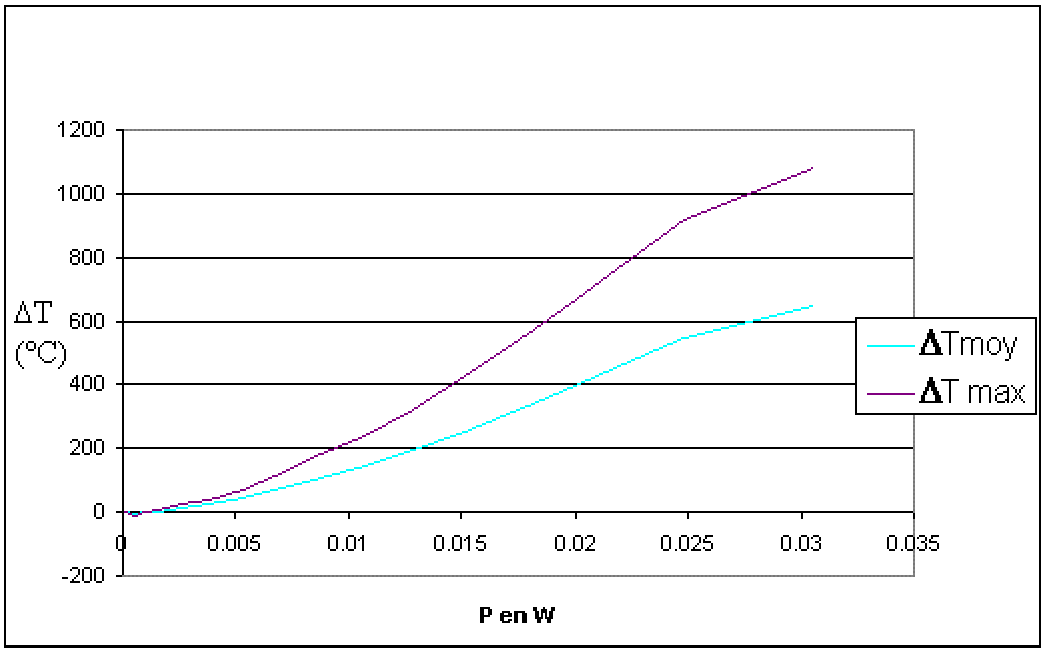


Figure 4-27 : *Caractérisation des éjecteurs ronds, courbes dT=f(P) déduites de la caractérisation à l'étuve et de la caractérisation électrique.*

5. Conclusions

Les caractérisations que nous avons effectuées portent sur deux aspects essentiels du fonctionnement d'un micro-injecteur. La première chose que nous avons entrepris, a été de caractériser précisément le comportement thermique des résistances chauffantes que nous avons intégrées sur membrane diélectrique. Ensuite nous avons étudié ce comportement en transitoire afin de déterminer si la montée de température de la résistance était suffisamment rapide pour atteindre les limites cinétiques de surchauffe des différents liquides utilisés et cela pour des temps d'impulsion extrêmement courts. Nous avons, ensuite, validé que l'éjection était possible avec une telle structure. Une fois l'éjection confirmée, la problématique a été d'en donner les caractéristiques essentielles, c'est-à-dire les volumes éjectés, la vitesse d'éjection, la croissance de la bulle de vapeur etc… Ces caractérisations nécessitent d'observer des phénomènes microscopiques à fortes vitesses. Afin d'évaluer le volume éjecté, nous avons observé l'impact de la goutte sur une lame de verre, nous avons pu ainsi quantifier de façon approximative, l'éjection. Pour le reste, nous avons utilisé des caméras rapides : les résultats, bien qu'intéressants ne sont pas probants.

Il nous reste aujourd'hui à trouver un moyen performant d'observation en utilisant par exemple un éclairage stroboscopique. Il nous faut aussi, travailler sur des fonctions de commandes différentes et améliorer la partie fluidique etc…

REFERENCES (Chapitre IV)

[1] User manual, Infrared camera AVIO TVS 2100.
[2] D. Pajani, P.Bremond, “Thermographie Infrarouge”, Techniques de l’ingénieur, fiche R 2740, 1-16.
[3] C. Rossi, “Conception et réalisation d’un système de réhydratation pour patch transdermique à partir de micro actionneurs pyrotechniques”, Thèse INSA Toulouse, 1997.
[4] C. Rembe et al. “Thermal ink jet dynamics : modeling, simulation, and testing”, Microelectronics Reliability, 2000, vol. 40, 525-532.
[5] C. Rembe et al., “Investigations of Nonreproducible Phenomena in Thermal Ink Jets with Real High-Speed Cine Photomicrography”, Journal of Imaging Science and Technology, 1999, vol. 43 (4), 325-331.
[6] C. Rembe et al., “Realcinematographic Visualization of Droplet Ejection in Thermal Ink Jets”, Journal of Imaging Science and Technology, 1996, vol. 40, 400-404.
[7] P. Krehl et al., “High-Speed Visualization, a Powerful Diagnostic tool for microactuators – Retrospect and Prospect”, 1999, vol. 5, 113-132.
[8] M. O’Horo et al., “Micro Electro Mechanical System Technology for Commercial Thermal Inkjet Document Output Products”, 8-11 September 1996, Eurosensors X, Leuven, Belgium.

Conclusions et perspectives

Ces premiers travaux ont montré qu'il était, à plusieurs titres, possible de réaliser un micro-injecteur matriciel permettant de délivrer à la demande des gouttes de faible volume.

- Le principe d'actionnement retenu, de type thermique
- La structure même de l'éjecteur
- La technologie de réalisation
- sont parfaitement compatibles et adaptés à l'application visée

Une première structure prototype a été conçue à partir de l'étude du mécanisme de l'éjection et à l'aide de ConventorWare qui est un logiciels de simulation. Un procédé technologique de réalisation à été mis en place : il fait appel à la réalisation d'une membrane diélectrique non contrainte, constituée d'un film bicouche SiO_2/SiN_x de contraintes opposés dont la contrainte résiduelle est nulle et à l'utilisation de résines photolithographiques épaisses (SU8). L'intégration des résistances chauffantes sur une telle membrane nous permet d'atteindre des températures d'échauffement élevées tout en ayant un confinement de la chaleur dans la zone actionnée. Ce point là est particulièrement important car, d'une part, il assure la reproductibilité des mécanismes d'ébullition et l'indépendance d'actionnement des éjecteurs individuels.

Les premiers essais ont montré que la structure était opérationnelle. Le gradient thermique est maintenu au voisinage immédiat du trou d'éjection, sans interaction avec le voisin immédiat. Des gouttes de quelques picolitres à quelques nanolitres sont éjectées, pour des tensions d'alimentation variant de 5V à 25V et des impulsions de 50ms à 50µs. Cependant, ces travaux font apparaître, la difficulté de garantir un jet de directionnalité reproductible. Il est donc nécessaire de renforcer l'étude, par une approche théorique plus poussé et par la mise en place de moyens de caractérisation plus performants.

Les axes de recherche sur lesquels nous nous orientons afin d'apporter une amélioration au fonctionnement des éjecteurs et à leurs caractérisations sont les suivants :

- **Optimisation de la structure**

Nous avons vu que le design de la résistance chauffante jouait un rôle fondamental sur les températures atteintes ainsi que sur les dimensions et la répartition des zones surchauffées. Nous avons conclu, en fin de document, qu'il était indispensable de travailler avec une résistance chauffante à symétrie circulaire. Ce sera-là le premier point d'évolution de la structure. Il convient alors, d'en optimiser les dimensions, le niveau de dopage du silicium afin de garantir une nucléation homogène au sens thermodynamique du terme mais également spatialement.

Nous avons vu également que le choix du SOG comme couche supérieure isolante pouvait être à l'origine d'une certaine instabilité de la résistivité du polysilicium. Cette couche de SOG va donc être immédiatement remplacée par une couche d'oxyde de silicium PECVD.

A travers les différents tests effectués sur les injecteurs, nous avons observé que la buse en Su8 pouvait, dans certaines conditions se dégrader. La température de transition vitreuse (Tg) de la Su8 est de 200°C et la température de dégradation est de 380°C environ. On voit, d'après les résultats de caractérisations que les résistances chauffantes sont capables d'atteindre des températures très élevées, que se soit en stationnaire ou en transitoire. Les températures atteintes peuvent être donc, pour certaines puissances appliquées, supérieures à la température de dégradation de la Su8. Un autre aspect important de cette dégradation, est qu'elle peut modifier la valeur de l'émissivité du Su8 et donc gêner les caractérisations IR. Pour Résoudre ce problème de dégradation possible, nous envisageons d'apporter quelques modifications. Nous envisageons, pour protéger la SU8, de faire croître une couche épaisse d'oxyde de silicium, non contraint, par PECVD. Cette oxyde aurait pour rôle de protéger thermiquement la SU8. Des simulations en intégrant cette modification ont déjà été effectuées et montrent son intérêt. Des modifications sur la hauteur de la buse ont aussi été envisagées. En effet, pour un meilleur contrôle de la directionnalité du jet, il est nécessaire que la hauteur de la buse soit d'au moins 2 fois supérieures au diamètre du trou d'éjection. Or sur nos composant, même si le trou au travers de la membrane fait 20µm de coté, le trou dans la buse fait 40µm, pour une hauteur de buse de 40µm. Nous devons donc accroître la hauteur des

buses. Pour obtenir cette proportion de 2 qui nous permettait d'avoir un meilleur contrôle sur la direction du jet.

- **Amélioration des fonctions de commandes**

L'un des objectifs prioritaires de nos recherches, porte sur la possibilité d'adresser individuellement les micro-injecteurs matriciels. La difficulté de faire cela réside dans la forte densité et les faibles dimensions des éjecteurs intégrés en matrice et sur le fait que la matrice est supportée par une fine membrane diélectrique. Il n'est donc pas aisé dans ces conditions d'alimenter individuellement chaque éjecteur. La solution, vers laquelle nous nous orientons, est d'intégrer, sur cette matrice d'éjecteurs, des diodes anti-retour, réalisées en polysilicium et qui permettront de minimiser autant que possible l'encombrement de la connectique électrique. Ces recherches d'intégration de diodes sont actuellement effectuées dans le Groupe MIS, sous la responsabilité de Thierry Camps.

En ce qui concerne la l'impulsion électrique que nous appliquons pour l'éjection, elle a actuellement la forme élémentaire d'un créneau. Le signal de commande n'est certainement pas optimal et nous allons pour nos prochains tests, étudier l'influence qu'aurait une impulsion de formes plus complexes.

- **Caractérisations**

La caractérisation fluidique de nos dispositifs a été une difficulté récurrente de notre travail. Les différents essais que nous avons faits avec des caméras rapides (500 et 3000 images/s) se sont montrés peu concluants. Il s'agit donc de reprendre le travail, avec une approche stroboscopique dès que la qualité de l'éjection nous le permettra, et sur des lames de verres fonctionnalisées (hydrophiles, hydrophobes).

- **Validation chimique**

Enfin, le dernier point et le plus important est la validation du système pour la synthèse chimique. Cette dernière étape implique l'intégration du micro-injecteur dans un synthétiseur.

Même si beaucoup de travail a été fourni pour en arriver à ces premiers résultats, on voit que ce qui reste à accomplir est encore très important. Une deuxième thèse est déjà engagée sur le sujet, qui reprendra point par point, les perspectives de travail ouverte ci-dessous, et qui, nous l'espérons, mènera à terme ce projet.

Design and realization of an ejectors micro-array for In-Situ Oligonucleotide Synthesis on DNA Chip

Abstract :

The aim of this thesis has been to design and fabricate a matrix of ejectors for in-situ synthesis of oligonucleotides on DNA chip. The approach we propose consists using a matrix of ejectors in order to deposit locally droplets of nucleotides on hybridization cells and to synthesize the required oligonucleotide sequences step by step in parallel. The difficulty of this technique lies on the ability of the micro injector head to eject from any ejector independently from each other. The advantages of the method we propose are the low cost and high flexibility of equipment, and the high density of hybridization units that can be fonctionnalised using this approach.

Different actuation principles existing in ejection field have been investigated and finally, the thermal actuation has been chosen. This injection working principle is based on the thermal ink jet printing technique. A heater resistor, in close contact with the liquid to be ejected, generates the nucleation of a gas bubble in the fluid. When the pulse current goes through the heater with a sufficient during and power, the bubble growths until to eject a small droplet through the nozzles of the injectors. The particularity of the matrix of ejectors that we have designed, resides in the ability to actuate any ejector independently without thermal interactions between neighboured heaters. With these considerations, simulations have been realized with FEM simulation under ConventorWare software. The final design integrates on a thin dielectric and stress free membrane, polysilicon heater resistors, and SU8 photopolymerised nozzles.

The first characterisations of the devices have shown that ejection occurs with pulse durations and tension intensity from 50µs (25V) to 50ms (5V) and that the ejected volume ranges from 0.1pl to 3nl.

Keys words : DNA chip, injector, Homogeneous gaseous nucleation, FEM electro thermal simulation, dielectric membrane.

AUTEUR : Ty PHOU

TITRE : Conception et réalisation d'un micro-injecteur matriciel pour la fonctionnalisation des biopuces.

DIRECTEUR DE THESE : Anne Marie Gué

LIEU ET DATE DE SOUTENANCE : 26 mai 2003, au LAAS-CNRS, salle de conférence

Résumé :

Cette thèse porte sur la conception et la réalisation d'un microsystème d'éjection matriciel pour la fonctionnalisation in-situ des puces à ADN. L'objectif est de concevoir et réaliser un système flexible, peu onéreux et performant permettant le dépôt localisé de micro-gouttes de réactifs (nucléotides en solution dans l'acétonitrile en l'occurrence) sur la surface de la biopuce afin de synthétiser les séquences d'oligonucléotides in-situ. Les avantages d'un tel système sont le faible coût de l'équipement, une grande flexibilité dans le choix des séquences synthétisées et la possibilité de réaliser des puces à fortes densités d'unités d'hybridation.

Après examen des différentes possibilités d'actionnement, l'éjection par actionnement thermique a été retenue. Le principe s'inspire du jet d'encre thermique mais la difficulté essentielle vient du fait que les éjecteurs sont disposés de façon matricielle avec une très grande densité et doivent être commandables individuellement les uns des autres. La conception du micro-injecteur passe par la compréhension du mécanisme d'éjection et nous a amené à traiter des aspects théoriques de l'ébullition et de l'éjection. Une première structure a été conçue et réalisée, devant répondre au cahier des charges imposé par l'application ainsi qu'à l'impératif d'une bonne reproductibilité de l'éjection. A ces fins, différentes simulations par des méthodes à éléments finis ont été effectuées à partir du logiciel CoventorWare. La structure retenue intègre des résistances chauffantes sur une fine membrane diélectrique et les buses d'éjection sont réalisées en résine photosensible SU8. Les propriétés du dispositifs permettent d'atteindre localement des températures suffisamment importantes pour provoquer la nucléation homogène des bulles gazeuses tout en confinant la chaleur générée autour d'une buse d'éjection, sans interaction thermique avec les voisines.

Les éjecteurs réalisés ont été caractérisés et il a ainsi été montré que des gouttelettes de 0,1pl à 3nl pouvaient être éjectées lorsque la tension d'alimentation varie entre 25V et 5V et l'impulsion électrique d'alimentation durait de 50µs à 50ms.

Mots clefs : Puce à ADN, injecteur, Nucléation gazeuse homogène, FEM simulation électrothermique, Membrane diélectrique.

DICIPLINE ADMINISTRATIVE : Génie électrique

ADRESSE DU LABORATOIRE : LAAS-CNRS, 7 avenue du Colonel Roche – 31077 Toulouse cedex 4