



HAL
open science

Influence de l'hydrodynamique sur les régimes de capture à une surface solide

Donatien Mottin

► **To cite this version:**

Donatien Mottin. Influence de l'hydrodynamique sur les régimes de capture à une surface solide. Physique [physics]. École normale supérieure de Rennes, 2021. Français. ⟨NNT : 2021ENSR0027⟩. ⟨tel-03334410⟩

HAL Id: tel-03334410

<https://theses.hal.science/tel-03334410v1>

Submitted on 3 Sep 2021

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.



HAL Authorization

Thèse de Doctorat de

ECOLE NORMALE SUPÉRIEURE DE RENNES

ECOLE DOCTORALE N° 601

Mathématiques et Sciences et Technologies
de l'Information et de la Communication

Spécialité : Électronique

Donatien MOTTIN

Influence de l'hydrodynamique sur les régimes de capture à une surface solide

Thèse présentée et soutenue à l'Université de Rennes 1, le 12 juillet 2021

Unité de recherche : IPR - SATIE

Rapporteurs avant soutenance :

José BICO
Marie FRÉNÉA-ROBIN

Maître de Conférence, PMMH
Maître de Conférence, Laboratoire Ampère

Composition du Jury :

Président :

Olivier FRANÇAIS

Professeur des Universités, ESIEE

Examineurs :

José BICO

Maître de Conférence, PMMH

Marie FRÉNÉA-ROBIN

Maître de Conférence, Laboratoire Ampère

Anne-Marie GUÉ

Directrice de Recherche, LAAS

Stéphanie DESCROIX

Directrice de Recherche, Institut Curie

Olivier FRANÇAIS

Professeur des Universités, ESIEE

Dir. de thèse :

Florence RAZAN

Professeure des Universités, SATIE

Marie-Caroline JULLIEN

Directrice de Recherche, IPR

Invité :

Frédéric KANOUI

Directeur de Recherche, ITODYS

*À Tristan,
qui m'a accompagné chaque jour de cette thèse,
et qui continue d'illuminer chaque jour de ma vie.*

REMERCIEMENTS

J'ai passé trois années de thèse très intenses, à l'IPR et à l'ENS de Rennes, remplies de moments forts et de personnes qui m'ont marquée, et je souhaite les remercier ici.

Mes premières pensées vont d'abord à mes deux directrices de thèses.

Tout d'abord Caroline, sans qui je n'aurais probablement pas découvert le magnifique environnement scientifique rennais. Merci de m'avoir proposé cette thèse et de m'avoir accompagné durant ces trois ans, remplis de science, de lift et d'infusions. Même si nos relations ont parfois été difficiles, comme dans toute thèse, nous avons réussi à affronter cela ensemble, et cela a mené sur de très belles réussites. Merci de ton travail, de ton engagement et de ton humanité.

Ensuite, bien sûr Florence. Tu as été la première personne à m'accueillir quand je suis arrivé sur Rennes, et tu as été la personne vers qui je me tournais quand je me sentais perdu ou que je doutais. J'ai eu le sentiment que tu avais parfois l'impression d'être moins présente que Caroline dans ma thèse. Entre doctorants de l'IPR, on dit souvent que pour réussir une thèse, il faut surmonter quelques difficultés scientifiques et beaucoup de difficultés personnelles. Tu as toujours été là au moment où j'ai eu besoin de toi, donc s'il existait encore quelques doutes, je voulais te dire que ma thèse se serait beaucoup moins bien passé sans toi.

Vous avez été, toutes les deux, fondamentales dans la réussite de ce projet!

J'aimerais ensuite remercier mes collaborateurs. Frédérick Kanoufi, qui a été le premier à mesurer un écart à la théorie de de Squires *et al.* avec des particules. Claude Noguès, qui m'a accueilli dans son laboratoire plusieurs fois et qui m'a très fortement aidé à réaliser les expériences de captures de molécules biologiques. Et enfin Fabienne Gauffre et son équipe, qui m'ont accueilli dans leur laboratoire, m'ont expliqué leur technologie de fabrication de capsules et m'ont permis de la modifier pour l'adapter à mes expériences. Merci à eux trois, sans lesquels aucun des chapitres de cette thèse n'auraient vu le jour.

Je souhaitais ensuite remercier mon jury, Marie Frénéa-Robin, José Bico, Olivier Français, Anne-Marie Gué, Stéphanie Descroix, et Frédéric Kanoufi, pour leur présence, leurs questions pertinentes et la discussion intéressante que nous avons eu au cours de ma soutenance. Je souhaite tout particulièrement remercier mes deux rapporteurs, Marie Frénéa-Robin et José Bico, pour leur travail très complet.

Je tenais également à remercier Laurent Courbin et Florence Geneste pour m'avoir suivi au sein de mon Comité de Suivi Individuel durant ces trois ans.

Merci à tous ceux qui m'ont donné un environnement de travail agréable, et propice à la discussion et à l'épanouissement. Je pense notamment à toute la direction de l'IPR, Jean-Christophe,

Bénédicte, Eric et Arnaud, qui font le maximum pour que les doctorants se sentent bien à l'IPR, et avec qui j'ai eu le plaisir d'interagir et de discuter durant ces trois ans. Merci également à Nathalie M., Nathalie G., Valérie, Dominique, Amandine et Marielle, qui font un travail absolument fantastique. On ne remercie que trop peu ces fonctions *supports*, sans qui la recherche ne pourrait pas se faire! Merci infiniment à elles.

Merci à tous les doctorants, post-doctorants et stagiaires avec qui j'ai passé de supers moments tout au long de ces trois ans. Mes pensées vont tout particulièrement à certains d'entre eux. À Teïva, et à tes plaintes incessantes envers le temps, les étudiants, ou tout ce qui arrive, qui vont vraiment me manquer. À Nolwenn, ma comparse de thèse depuis le début, qui est devenue une véritable amie en trois ans. À Alexis, à qui je souhaite tous mes voeux de réussite dans son ambitieux projet. À Charlène, dont j'aurais aimé que le bureau soit moins éloigné du mien, pour la voir plus souvent durant ces trois ans! À Lucas et Jeanne, mes comparses représentants, à qui je laisse l'animation de l'IPR entre de très bonnes mains! À Théo, certainement mon ami le plus ancien de l'IPR, que le hasard a remis sur ma route, pour faire grandir notre amitié à un tout autre niveau.

Je tenais à remercier ceux qui ont fait de Rennes ma nouvelle maison, qui m'ont permis de reformer rapidement un cercle d'amis similaire à celui que j'avais à Paris, et me sentir à ma place, ici, à Rennes. Je pense, d'un côté, à Ludovic, Steven et Antoine, et de l'autre à toute la Compagnie Felicita, qui m'a accueilli en son sein, au coeur de cette famille, notamment à Cassandra, Olivier, Virginie, Aurélie, Denis, Damien, Camille, Marjory, et plein d'autres!

Je tiens également à remercier ma famille. Mes grands-parents bien sûr, mais particulièrement mes parents qui m'ont donné le meilleur environnement possible pour que je puisse développer au mieux mes compétences et devenir la personne que je suis aujourd'hui. Malgré tout, ces trois années n'auront pas été faciles. Nos relations ont été parfois très tendues. Cependant, nous avons réussi à dépasser cela, comme nous n'avions jamais réussi à le faire auparavant au sein de notre famille : par un dialogue vrai où chacun a osé exposer ses sentiments, sans animosité. Le travail continue, jour après jour, mais cela a été la première pierre vers une famille plus sereine, avec plus de dialogue et d'acceptation, et rien que pour ça, toute cette thèse en valait la peine.

Enfin, ma dernière pensée va à mon petit poussin, qui m'a accompagné chaque jour de ces trois années. Tu as été là pour partager mes joies, pour rassurer mes doutes, pour calmer mes angoisses, pour sécher mes larmes, pour m'écouter divaguer ... et aussi pour servir d'oreiller quand je m'endormais sur ton épaule au retour du laboratoire. Tu es une personne formidable, gentille, drôle, sans la moindre once de jugement et toujours de bon conseil (même si je ne t'écoute jamais et que je devrais). En plus tu as une super maman avec toutes les mêmes qualités! Je n'ai jamais été aussi heureux que depuis que je suis avec toi, et je ne souhaite qu'une chose : que cela continue!

Merci à tous pour ces trois années et tout ce qu'elles m'ont apportée, en pleurs et en joies, en compétences et en enseignements, en relations et en amis!

Merci pour tout!

Donatien

ARTICLES ET CONFÉRENCES

Articles

- Donatien Mottin, Florence Razan, Claude Nogues, et Marie-Caroline Jullien. "Out-of-Equilibrium Measurements of Kinetic Constants on a Biosensor." *Analytical Chemistry*. 2021

Conférences

- Donatien Mottin, Florence Razan, et Marie-Caroline Jullien. "To Stick or Not To Stick: Predicting Particle Capture in a Microchannel." *MicroTAS 2020*
- Donatien Mottin, Florence Razan, Frédéric Kanoufi et Marie-Caroline Jullien. "Using Hydrodynamic Forces to Tune the Particle Adhesion on Microchannel Walls." *DFD 2020*
- Donatien Mottin, Florence Razan, et Marie-Caroline Jullien. "Capture de particules solides par une surface en microcanal." *24ème Congrès Français de Mécanique*. 2019

TABLE DES MATIÈRES

Introduction	1
1 La capture sous écoulement : applications, modélisation et limitations	3
1.1 Introduction : les applications de la capture sous écoulement	3
1.2 Le modèle de Squires <i>et al.</i> : une vision universelle issue d'un siècle de recherche . . .	4
1.3 Cas où la quantité d'objets capturés est limitée par la transport de masse	5
1.3.1 Capture totale	6
1.3.2 Capture partielle	7
1.4 Cas où la quantité d'objets capturés est limitée par la réaction	10
1.5 Choisir le modèle pertinent	11
1.6 Les limites du modèle de Squires <i>et al.</i>	12
1.6.1 Prise en compte des effets de portance inertielle	12
1.6.2 Prise en compte de la déformabilité	13
1.6.3 Prise en compte de la dispersion de Taylor-Aris	13
1.7 Conclusion	14
Pour résumer	15
Références	16
2 Capture de particules sous écoulement	19
2.1 Introduction	19
2.1.1 Applications de la capture de particules sous écoulement à la bioalyse	19
2.1.2 Objectifs du chapitre	21
2.2 Présentation de l'expérience	21
2.2.1 Principe de l'expérience	21
2.2.2 Fabrication du système	24
2.2.3 Mesure optique, traitement d'image et post-traitement	25
2.3 Résultats expérimentaux	27
2.3.1 Gamme expérimentale	27
2.3.2 Hypothèse nécessaire due aux limites de la microfabrication	27
2.3.3 Comparaison des résultats à la théorie convecto-diffusive	28
2.3.4 Vérification de l'hypothèse de régime dilué	29
2.4 Modélisation de l'influence du lift inertielle	29
2.4.1 La focalisation inertielle	29
2.4.2 Non pertinence du nombre de Reynolds	31
2.4.3 Vitesse, force et énergie de lift	32

2.4.4	Fabrication du Nombre Lifto-Diffusif	33
2.4.5	Calcul du profil de concentration théorique	34
2.5	Simulation Lagrangienne	34
2.5.1	Eulérien ou Lagrangien : choix de la stratégie de simulation	34
2.5.2	Calcul de la trajectoire des particules	35
2.5.3	Choix du pas de temps	37
2.5.4	Simulation du profil de concentration à l'équilibre en fonction de \mathcal{N}_{LD}	37
2.6	Établissement d'une loi de capture sous focalisation inertielle	38
2.6.1	Loi théorique	38
2.6.2	Vérification expérimentale	40
2.6.3	Utilisation simplifiée	40
2.7	Analyse du régime transitoire	41
2.8	Effet des forces attractives de courte portée	42
2.8.1	Résultats expérimentaux supplémentaires	43
2.8.2	Discussion	43
2.9	Développement du logiciel LiDi : faciliter l'utilisation de l'effet de focalisation inertielle	45
2.10	Conclusion du chapitre	47
	Pour résumer	48
	Références	49
3	Capture de capsules sous écoulement	51
3.1	Introduction	51
3.2	Capture de capsules sous lift élastique : théorie	52
3.2.1	Origine universelle des forces de lift	52
3.2.2	Les deux lift élastiques	54
3.2.3	Vitesses, forces et énergies de lift élastique	54
3.2.4	Profil de concentration des capsules au sein du canal	55
3.2.5	Proposition d'une loi de capture	56
3.2.6	Sens physique du Nombre Lifto-Diffusif élastique	56
3.2.7	Quantification de la loi de capture	57
3.3	Simulations Lagrangiennes de capture de particules	58
3.3.1	Modifications apportées à la simulation par rapport au chapitre 2	58
3.3.2	Résultats numériques	61
3.4	Discussion sur la compétition entre lift inertiel et lift élastique	62
3.5	Conception des capsules	64
3.5.1	Capsules d'alginate	64
3.5.2	Hybdridosomes [®]	65
3.5.3	L'effet Ouzo	65
3.5.4	Protocole classique de fabrication des hybridosomes [®]	67
3.5.5	Modification de la taille des hybridosomes [®]	67
3.5.6	Ajout d'un fluorophore	70
3.5.7	Protocole final	71
3.6	Expérimentation	71

3.6.1	Observation des capsules	71
3.6.2	Résultats expérimentaux	74
3.7	Conclusions et perspectives	77
	Pour résumer	79
	Références	80
4	Capture de molécules biologiques sous écoulement	81
4.1	Introduction : méthode de l'isotherme de Langmuir	82
4.1.1	Nomenclature	82
4.1.2	Réalisation pratique	82
4.1.3	Intérêt de la mise en écoulement	83
4.1.4	Mise en équation	84
4.2	Objectifs du chapitre	85
4.3	Expérimentation	86
4.3.1	Principe de l'expérience	86
4.3.2	Protocole : fabrication, injection, régénération	87
4.3.3	Mesure et traitement du signal	89
4.3.4	Gamme expérimentale	90
4.3.5	Résultats expérimentaux : influence de la dispersion de Taylor-Aris	91
4.4	Simulations	93
4.4.1	Présentation générale des simulations	93
4.4.2	Caractéristiques de la simulation Eulérienne COMSOL®	94
4.4.3	Caractéristiques de la simulation Lagrangienne	95
4.4.4	Résultats numériques	96
4.5	Construction d'une nouvelle loi de capture hors équilibre	96
4.5.1	Approche en loi d'échelle	96
4.5.2	Approche analytique	98
4.5.3	Ajout d'une composante hydrodynamique à la cinétique de Langmuir hors- équilibre	100
4.5.4	Vérification du modèle théorique	102
4.6	Discussion sur l'amélioration de l'efficacité	104
4.7	Dispersion dans le microcanal rectangulaire	104
4.8	Discussion sur la gamme de validité en débit	105
4.8.1	Haut débit : limite de Taylor-Aris	105
4.8.2	Bas débit : limite de Damköhler	105
4.9	Conclusion du chapitre	106
	Pour résumer	108
	Références	109
	Conclusion générale	113
	Annexe : Out-of-Equilibrium Measurements of Kinetic Constants on a Biosensor	116

SYMBOLES ET ACRONYMES

Symboles latins

a	m	Rayon des particules/capsules
\tilde{a}	-	Rayon des capsules adimensionnée par la hauteur du canal
b	m	Distance entre une paroi et le centre d'une capsule
c	mol m^{-3}	Concentration locale
c^*	mol m^{-3}	Concentration vue par la surface captatrice
c_0	mol m^{-3}	Concentration initiale en particules/capsules/molécules cibles
D	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	Coefficient de diffusion
D_{TA}	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	Coefficient de diffusion apparent de Taylor-Aris
D_{TA}^*	$\text{m}^2 \text{s}^{-1}$	Coefficient de diffusion apparent de Taylor-Aris dans un canal rectangulaire
Da	-	Nombre de Damköhler
dt	s	Pas de temps des simulations
E_{el}	J	Énergie potentielle locale de lift élastique
E_{el}^*	J	Énergie potentielle typique de lift élastique
E_{lift}	J	Énergie potentielle locale de lift inertiel
E_{lift}^*	J	Énergie potentielle typique de lift inertiel
\mathcal{E}	Pa	Module d'Young des membranes des capsules
erf	-	Fonction erreur
f	-	Profil universel de vitesse de lift inertiel
F_{el}	N	Force locale de lift élastique
F_{lift}	N	Force locale de lift inertiel
F_{lift}^*	N	Force typique de lift inertiel
g	-	Profil universel d'énergie potentielle de lift inertiel
h	m	Épaisseur de la membrane des capsules
H	m	Hauteur du canal
\mathcal{H}	m	Couche limite de lift
j	$\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$	Taux de capture local
J	mol s^{-1}	Taux de capture
J_0	mol s^{-1}	Taux de capture convecto-diffusif
J_r	mol s^{-1}	Taux de capture limité par la réaction
J_t	mol s^{-1}	Taux de capture limité par le transport de masse
k_{off}	s^{-1}	Constante cinétique de dissociation
k_{on}	$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	Constante cinétique de complexation

\widetilde{k}_{on}	$\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$	Constante cinétique de dissociation apparente
k_B	J K^{-1}	Constante de Boltzmann
K_D	mol m^{-3}	Constante de dissociation
l_d	m	Longueur de déplétion
L	m	Longueur de la surface captatrice
L_0	m	Longueur initiale de l'échantillon
L_1	m	Longueur que doit parcourir l'échantillon pour atteindre la surface captatrice
\mathcal{N}_{LD}	-	Nombre Lifo-Diffusif
\mathcal{N}_{LDel}	-	Nombre Lifo-Diffusif élastique
P	Pa	Pression
Pe	-	Nombre de Péclet
Pe_s	-	Nombre de Péclet relatif à la surface captatrice
Q	$\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	Débit d'injection
Q_c	$\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	Débit critique d'injection avant apparition des effets inertiels
Q_{\max}	$\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	Débit d'injection maximal pour garantir la validité du modèle
Q_{\min}	$\text{m}^3 \text{s}^{-1}$	Débit d'injection minimal pour garantir la validité du modèle
r	m	Distance au centre du tube
R	m	Rayon du tube
Re	-	Nombre de Reynolds
s	mol m^{-2}	Concentration surfacique en complexes
s^*	mol m^{-2}	Concentration surfacique en complexes à l'équilibre
s_m	mol m^{-2}	Concentration surfacique initiale en ligands
t	s	Temps
T	K	Température absolue
U	m s^{-1}	Vitesse moyenne du liquide dans le canal
U_m	m s^{-1}	Vitesse maximale du liquide dans le canal
V_{el}	m s^{-1}	Vitesse locale de lift élastique
V_{el}^*	m s^{-1}	Vitesse typique de lift élastique
V_{lift}	m s^{-1}	Vitesse locale de lift inertielle
V_{lift}^*	m s^{-1}	Vitesse typique de lift inertielle
V_0	m^3	Volume initial de l'échantillon
v_x	m s^{-1}	Vitesse locale du liquide dans le canal
W_c	m	Largeur du canal
W_s	m	Largeur de la surface captatrice
x	m	Position selon la direction de l'écoulement
x_0	m	Position d'initialisation des objets dans les simulations
y	m	Position selon la largeur du canal
z	m	Position selon la hauteur du canal
\tilde{z}	-	Position selon la hauteur du canal, adimensionnée par la hauteur du canal

Symboles grecs

δ	m	Longueur de dilution
Δ	m^{-2}	Opérateur laplacien
∇	m^{-1}	Opérateur nabla
η	$kg\ m^{-1}\ s^{-1}$	Viscosité dynamique
λ_D	m	Longueur de Debye
ν	$m^2\ s^{-1}$	Viscosité cinématique
$\tilde{\nu}$	-	Coefficient de Poisson
ξ	-	Correction multiplicative à la théorie convecto-diffusive
ρ	$kg\ m^{-3}$	Masse volumique du liquide
ψ	-	Facteur de dilution

Acronymes

ADN	Acide DésoxyriboNucléique
BHT	HydroxyToluène Butylé
BODIPY	4,4-Difluoro-8-(4-trimethylsilylethynylphenyl)-1,3,5,7-tetramethyl-2,6-diethyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacene
Eau DI	Eau DéIonisée
PAA	PolyAcide Acrylique
PBS	Phosphate-Buffered Saline
PDMS	PolyDiMethylSiloxane
PECVD	PlasmaEnhanced Chemical Vapor Deposition
PEI	PolyEthileneImine
QCM	Quartz Crystal Microbalance
QD	Quantum Dot
SDS	Sodium Dodecyl Sulfate
SPR	Résonance de Plasmon de Surface
SPRi	imagerie par Résonance de Plasmon de Surface
TEM	Microscopie Electronique en Transmission
THF	TétraHydroFurane

INTRODUCTION

Au cours des deux siècles passés, l'amélioration de la santé s'est faite via l'apport de technologies de rupture. Par exemple, la mise en place des techniques d'asepsie, vers les années 1850, a permis l'amélioration de la réussite des actes de chirurgie. Vers la fin du 19^{ème} siècle, le développement de la radiographie a permis d'imager l'intérieur du corps des patients pour avoir des informations plus précises sur certaines de leurs séquelles que par simple palpations. Au 20^{ème} siècle, la chimie organique a permis de traiter de nombreuses maladies en développant des molécules adaptées, comme par exemple la pénicilline ou les antidépresseurs.

En ce début de 21^{ème} siècle, la compréhension et l'utilisation des écoulements aux petites échelles, la microfluidique, semble se dessiner comme l'une des nouvelles technologies de rupture pour la santé. En effet, les nouvelles techniques de bioanalyses ont pour objectifs d'être plus sélectives et plus rapides, ou encore de pouvoir être réalisées directement au chevet du patient, (les analyses *point-of-care*). Toutes ces propriétés nécessitent, d'une part, une miniaturisation des appareils, et, d'autre part, une compréhension fine des écoulements se produisant au sein de l'appareil d'analyse. C'est pourquoi la compréhension des écoulements confinés est devenue l'objet d'un engouement des laboratoires académiques tant les enjeux sociétaux apparaissent importants.

Ce travail de thèse se focalise sur l'étude d'un système bioanalytique très classique : la capture d'objets sur une surface fonctionnalisée située au sein d'un écoulement laminaire. Largement répandu, que ce soit, par exemple, pour les tests immunologiques, les protocoles de marquage par nanoparticules fluorescentes ou encore la détection de cellules cancéreuses, il n'en reste pas moins un système encore rempli de questionnements : est-il possible, pour n'importe quel échantillon, compte tenu de la chimie de la surface fonctionnalisée et des paramètres hydrodynamiques et géométriques de l'environnement, de prévoir la quantité d'objets qui vont s'accrocher sur la surface au fil du temps ?

Ce travail de thèse se structure en quatre chapitres :

- Dans le chapitre 1, les principales théories existantes seront présentées. Nous montrerons au travers de quelques exemples que ces théories sont incomplètes pour décrire un grand nombre de systèmes. Notamment nous expliquerons ce qui a motivé les études conduites durant ce travail de thèse et détaillées dans les trois chapitres qui suivent.
- Dans le chapitre 2, nous nous intéressons à la capture de particules, des objets micrométriques solides et sphériques, qui sont soumis à des forces hydrodynamiques transverses à l'écoulement : les forces de lift inertiel. Ces recherches ont été réalisées en discussion avec Frédéric Kanoufi, du laboratoire ITODYS, à Paris.
- Dans le chapitre 3, nous nous intéressons à la capture de capsules, des objets composés d'une enveloppe élastique et d'un coeur liquide, soumis à des forces d'origine élastique. Ces recherches ont été menées en collaboration avec Fabienne Gauffre, du laboratoire ISCR, à Rennes.

- Enfin, dans le chapitre 4, nous nous intéressons à la très classique capture de molécules biologiques, mais en prenant en compte un effet pour le moment absent des modèles, rendant leur utilisation actuelle bien contraignante : la dispersion de Taylor-Aris. Ces recherches ont été menées avec la collaboration de Claude Noguès, du laboratoire LBPA, à Saclay.

LA CAPTURE SOUS ÉCOULEMENT APPLICATIONS, MODÉLISATION ET LIMITATIONS

1.1 Introduction : les applications de la capture sous écoulement

Ce travail de thèse se concentre sur la capture d'objets sous écoulement laminaire. La capture d'objets sous écoulement consiste à acheminer, à une vitesse donnée, une solution (contenant des molécules, des cellules, des particules, ...) vers une surface captatrice au contact de laquelle ces objets sont immobilisés.

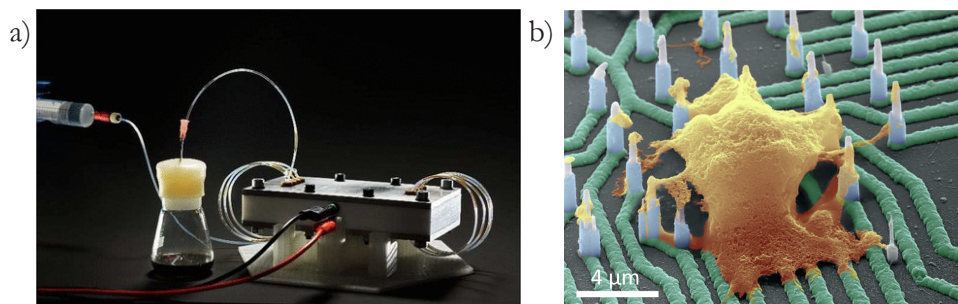


FIGURE 1.1 – (a) Image d'un appareil d'électrochimie continue sous écoulement, reproduite depuis [1]. (b) Exemple de *nanowires* (en vert) utilisés pour suivre l'activité d'un neurone (en jaune). Image de microscopie électronique colorisée, reproduite depuis [2].

Ce procédé possède de nombreuses applications. Il est par exemple utilisé dans les appareils d'électrochimie continue sous écoulement [1], comme celui représenté en figure 1.1a. Les objets considérés ici sont les molécules d'une réaction électrochimique et les surfaces de capture sont les anodes et cathodes de cette réaction. On peut citer également des exemples moins évidents comme de la capture de chaleur sous écoulement avec l'exemple des *nanowires*, des fils conducteurs d'un diamètre typique de 100 nm, dont un exemple est représenté sur la figure 1.1b. Avec l'évolution des organes sur puces et de l'instrumentation miniaturisée, être capable de connaître l'évolution ther-

mique d'un environnement sous écoulement en présence de *nanowires* sous tension peut se révéler critique lors de leur utilisation sur des organismes vivants.

Enfin, cette question est centrale dans le domaine de la bioanalyse. En effet, de nombreux protocoles impliquent des étapes d'adsorption d'objets biologiques sous écoulement à deux moments clés. Tout d'abord au moment de la préparation des surfaces captatrices, via l'injection d'anticorps ou de nanoparticules proche de surfaces. Ils doivent s'y adsorber pour leur conférer des propriétés de capture spécifique. Ensuite, lors des étapes de détection, comme représentée en figure 1.2, où un analyte est injecté au dessus d'une telle surface captatrice. Il est alors est détecté dans le cas où il s'y accroche.

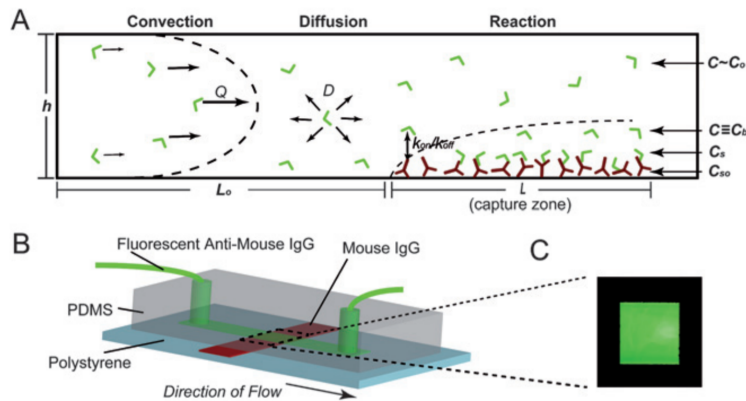


FIGURE 1.2 – Exemple d'une étape de détection, issue du protocole de [3].

Cependant, le dimensionnement du système d'analyse est une question critique pour la mise en place d'un tel procédé. Quelle taille de canal choisir? A quel débit injecter la solution? Quelle fraction de l'analyte va s'accrocher sur la surface captatrice? Quelle va être la durée de l'analyse? Autant de questions dont les réponses nécessitent une compréhension fine de l'hydrodynamique du système.

Nous verrons au cours de ce chapitre qu'il existe un modèle universel permettant de prédire les résultats d'expériences pour des objets ponctuels. Ce modèle est abordé en détail au cours de ce chapitre d'introduction. L'objet de cette thèse a été d'étendre cette étude à des situations plus complexes à décrire (objets non ponctuels, déformables et échantillons de taille limitée) mais qui sont de plus en plus communes suite à l'essor notable des systèmes miniaturisés.

1.2 Le modèle de Squires *et al.* : une vision universelle issue d'un siècle de recherche

La littérature concernant la capture d'objets sur une surface réactive dans un écoulement laminaire est particulièrement riche. Il est parfois difficile de choisir entre les différents modèles qui peuplent la littérature, depuis les premiers résultats de Langmuir sur la cinétique d'adhésion d'objets sur une paroi en 1918 jusqu'aux récents résultats de l'équipe d'Amatore sur la limite convecto-diffusive du signal électrochimique en 2007, en passant par les travaux industriels de Damköhler en 1930 et les conclusions thermiques des équipes de Newman et d'Ackerberg dans les années 1970. Unifier l'ensemble de ces travaux pour en proposer une théorie cohérente était nécessaire et a été réalisé par Squires *et al.* [4]. Dans cette thèse, nous nous référerons souvent au modèle de Squires *et*

al., mais c'est sans vouloir faire ombrage au travail des dizaines de scientifiques qui y ont contribué au cours du siècle passé et que nous allons désormais présenter au cours de ce chapitre.

Objectif du modèle

On se place dans la géométrie présentée en figure 1.3. Une solution d'objets ponctuels (que nous assimilerons pour le moment à une solution de molécules) à une concentration c_0 , est injectée dans un microcanal, de hauteur H et de largeur $W_c \gg H$, à un débit Q . On se place à bas nombre de Reynolds $Re = \frac{U_m H}{\nu}$, où U_m est la vitesse maximale dans le canal et ν est la viscosité cinématique du liquide. Ainsi, un profil de Poiseuille s'établit selon la plus petite dimension du canal, ici la hauteur. La vitesse moyenne de l'écoulement est $U = \frac{Q}{HW_c}$. Sur le fond du canal est placée une surface réactive de longueur L et de largeur W_s , en vert sur la figure, sur laquelle les molécules peuvent réagir. Les molécules réagissent (s'accrochant alors sur la surface) soit dès le contact avec la surface réactive, soit selon un mécanisme plus complexe que l'on détaillera dans la suite.

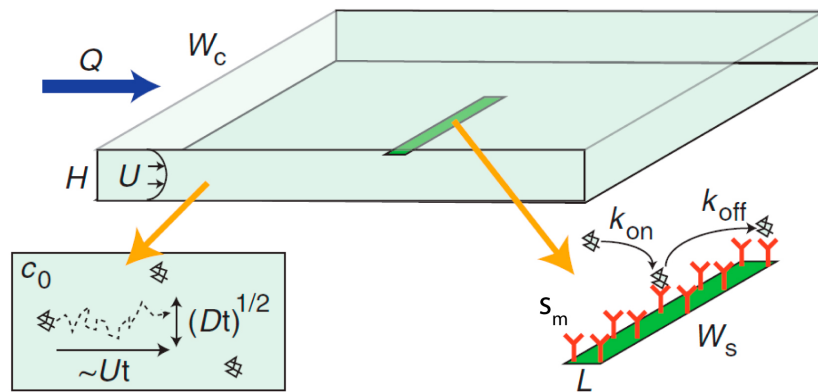


FIGURE 1.3 – Géométrie du modèle de Squires *et al.*. Figure reproduite depuis [4].

La question à laquelle cherche à répondre ce modèle est la suivante. Quel est, quantitativement, le nombre de molécules qui réagissent sur la surface à chaque instant en fonction des paramètres expérimentaux?

Afin de simplifier le problème, on se limitera dans toute cette thèse à décrire le cas $W_s \approx W_c$, c'est à dire le problème bidimensionnel, qui suffit pour la majorité des applications.

1.3 Cas où la quantité d'objets capturés est limitée par la transport de masse

Dans un premier temps, considérons qu'une molécule qui rentre en contact avec la surface réactive réagit immédiatement. Ce qui limite le nombre de molécules qui réagissent est donc le nombre de molécules qui peuvent atteindre la surface. Deux mécanismes de transport de masse rentrent en jeu : la convection des molécules par l'écoulement du liquide et la diffusion.

Notion de convection

Le terme **convection** ne dispose pas d'une définition unique dans la littérature. Nous décrivons dans cette thèse par le terme convection, **le transport d'objets ou de chaleur par le mouvement d'un fluide, mis en mouvement par un actionnement extérieur comme une pompe ou un contrôleur de pression**, qui est la définition de la convection utilisée par Guyon *et al* [5]. Ce mécanisme est parfois appelé convection forcée ou advection. Nous ne décrivons pas par convection tout mouvement du fluide déclenché par un gradient thermique, parfois appelé convection naturelle.

Notons que dans toute cette thèse, ainsi que dans le modèle de Squires *et al.*, l'écoulement est strictement parallèle à la surface captatrice. Ainsi, la convection est uniquement dirigée selon une seule direction, notée x . C'est uniquement la diffusion, selon la direction z , qui permet aux molécules d'atteindre la surface captatrice.

1.3.1 Capture totale

Considérons tout d'abord la diffusion seule. Durant une durée t , une molécule, de coefficient de diffusion D , va explorer par diffusion une région éloignée de sa position d'origine d'une distance $d \sim \sqrt{Dt}$. Ainsi, si on attend un temps t_{diff} suffisant pour que les molécules explorent une distance $d \simeq H$, toutes les molécules initialement situées au-dessus de la surface réactive auront eu le temps d'entrer en contact avec elle et auront donc réagi. Ce temps typique s'écrit :

$$t_{\text{diff}} \sim \frac{H^2}{D} \quad (1.1)$$

Si on considère désormais la convection, on peut se demander quelle durée passe une molécule au-dessus de la surface réactive avant d'être éloignée en aval de celle-ci par convection :

$$t_{\text{conv}} \sim \frac{L}{U} \sim \frac{LHW_c}{Q} \quad (1.2)$$

Grâce à ces deux temps caractéristiques, il est possible de définir deux régimes. Si $t_{\text{diff}} \ll t_{\text{conv}}$, les molécules ont eu le temps de parcourir l'épaisseur du canal par diffusion lors de leur trajet au dessus de la surface par convection. Les molécules atteignent donc toutes la surface réactive, c'est ce qu'on appelle le régime de capture totale, représenté en figure 1.4.



FIGURE 1.4 – Simulation de Squires *et al.* représentant le régime de capture totale. Le code couleur pour la concentration en molécules est le suivant : rouge pour les fortes concentrations et bleu foncé pour les concentrations nulles. La surface réactive est en vert. Figure reproduite depuis [4].

A l'inverse si $t_{\text{diff}} \gg t_{\text{conv}}$, seule une fraction des molécules atteint la surface et peut réagir durant leur trajet au dessus de celle-ci. C'est ce qu'on appelle le régime de capture partielle, que l'on détaille dans la section suivante.

Afin de prédire simplement si l'on est dans le régime de capture totale, Squires *et al.* construisent le nombre de Péclet de l'écoulement, à partir des deux temps caractéristiques mis en évidence :

$$\text{Pe} = \frac{t_{\text{diff}}}{t_{\text{conv}}} = \frac{QH}{LDW_c} \quad (1.3)$$

On est dans le cas de capture totale si $t_{\text{diff}} \ll t_{\text{conv}}$, c'est à dire si $\text{Pe} \ll 1$. Dans ce régime, le nombre de molécules qui réagissent par secondes J est simplement égal au nombre de molécules injectées dans le microsystème par secondes, à savoir :

$$J = c_0 Q \quad (1.4)$$

1.3.2 Capture partielle

Supposons désormais que $\text{Pe} \gg 1$, c'est à dire que seule une fraction des molécules arrive à atteindre la surface réactive. Appelons l_d la distance à la surface réactive appauvrie en molécules en régime stationnaire. Cette longueur, qui représente l'épaisseur de la zone en bleu sur la figure 1.5, est appelée longueur de déplétion l_d dans la littérature.

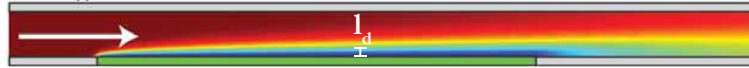


FIGURE 1.5 – Simulation de Squires *et al.* représentant le régime de capture partielle dans le cas $\text{Pe}_S \gg 1$. l_d est la distance à la surface réactive sur laquelle la solution est appauvrie en molécules. Le code couleur pour la concentration en molécules est le suivant : rouge pour les fortes concentrations et bleu foncé pour les concentrations nulles. La surface réactive est en vert. Figure reproduite depuis [4] et modifiée.

Le champ de vitesse, dans un profil de Poiseuille, adopte la forme suivante :

$$v_x(z) = 6 \frac{Q}{W_c H} \frac{z}{H} \left(1 - \frac{z}{H}\right) \quad (1.5)$$

où z représente la position selon hauteur du canal, dont l'origine $z = 0$ se trouve sur la surface réactive, et x la direction dans le sens de l'écoulement. On se place proche de la surface, soit $z \ll H$. Il est alors usuel, dans le cas d'un profil de Poiseuille, de faire l'approximation d'un écoulement de cisaillement simple :

$$v_x(z) = 6 \frac{Q}{W_c H^2} z \quad (1.6)$$

La hauteur l_d est déterminée par l'équilibre entre la diffusion des molécules vers la surface réactive et leur convection par le liquide. Les molécules situées à cette distance de la surface réactive ont tout juste le temps de l'atteindre par diffusion durant leur trajet convectif au dessus d'elle.

Quantitativement, les molécules situées à une distance l_d de la surface réactive mettent un temps τ_{diff} à l'atteindre par diffusion :

$$\tau_{\text{diff}} \sim \frac{l_d^2}{D} \quad (1.7)$$

De même, elles restent un temps τ_{conv} au dessus de la surface réactive :

$$\tau_{\text{conv}} \sim \frac{L}{v_x(l_d)} \sim \frac{LW_c H^2}{Q l_d} \quad (1.8)$$

Ainsi, on peut trouver une loi d'échelle de l_d en égalisant les deux expressions :

$$\frac{L^3}{l_d^3} \sim \frac{QL^2}{H^2 DW_c} \quad (1.9)$$

On reconnaît dans le terme de droite un nombre très similaire au nombre de Péclet $Pe = \frac{QH}{LDW_c}$ définit précédemment grâce au rapport d'un temps convectif et diffusif à l'échelle du canal. On a ici un nouveau nombre de Péclet qui apparaît, mais définit par rapport à des mécanismes se déroulant à proximité de la surface réactive, que Squires *et al.* nomment Pe_S :

$$\boxed{Pe_S = \frac{QL^2}{H^2 DW_c}} \quad (1.10)$$

On obtient alors :

$$\boxed{l_d \sim L Pe_S^{-1/3}} \quad (1.11)$$

On remarque ici que ce nombre de Péclet nous donne une information sur la portée d'influence l_d de la surface captatrice relativement à sa taille L . A l'intérieur même du régime de capture partielle, deux sous-régimes apparaissent. Si $Pe_S \gg 1$ alors $l_d \ll L$, tandis que si $Pe_S \ll 1$ alors $l_d \gg L$.

La convection domine proche de la surface réactive : cas $Pe_S \gg 1$, $l_d \ll L$

Ce régime a été étudié par de nombreuses équipes depuis les années 60 [6-8], et une vision unifiée a été proposée par l'équipe d'Amatore en 2007 [9-11]. Ce modèle est d'une utilité fondamentale dans les problèmes d'adhésion de nano et de micro-particules sur des surfaces réactives, comme nous le détaillerons dans le chapitre 2, car il correspond à la majorité des expériences réalisées avec ce type d'objets.

Dans ce cas de figure, $Pe_S \gg 1$, la zone de déplétion possède une épaisseur l_d bien plus faible que la longueur de la surface réactive. De fait, elle adopte une forme très plate, comme illustrée en figure 1.5.

Pour calculer le flux de molécules réagissant par seconde, il faut intégrer le flux diffusif local. Au bord de la couche de déplétion, ce flux diffusif local j , vaut :

$$j = -D \nabla c \sim D \frac{c_0}{l_d} \quad (1.12)$$

En intégrant ce flux local sur toute la couche de déplétion, on obtient le flux total vers la surface réactive :

$$J \sim \int_S j \, dx \, dy \quad (1.13)$$

$$\sim L W_s j \quad (1.14)$$

$$\sim L W_s D \frac{c_0}{l_d} \quad (1.15)$$

Or, $l_d \sim L Pe_S^{-1/3}$:

$$\boxed{J \sim c_0 W_s D Pe_S^{1/3}} \quad (1.16)$$

Amatore *et al.* ont réalisé le calcul exact, obtenant le préfacteur 1.5 :

$$J = 1.5 c_0 W_s D Pe_S^{1/3} \quad (1.17)$$

Cette loi a été vérifiée, par simulation et expérimentalement, par l'équipe d'Amatore, mais également par de nombreuses équipes [12-16], et est désormais reconnue comme un des modèles standards de la bioanalyse.

La diffusion domine proche de la surface réactive : cas $Pe_S \ll 1, l_d \gg L$

Ce régime a été étudié pour la première fois par les équipes de Newman [17] et d'Ackerberg [18], respectivement en 1973 et 1978, dans le contexte de la diffusion de la chaleur. La question à l'époque n'était pas à quelle vitesse des objets atteignent une surface réactive, mais à quelle vitesse une surface évacue de la chaleur dans un environnement sous écoulement. D'un point de vue étude des phénomènes de transport convecto-diffusif cela revient strictement au même.

l_d est la distance à la surface réactive en dessous de laquelle le phénomène de transport majoritaire est la diffusion. Or, dans ce cas de figure, $l_d \gg L$, cette distance est plus grande que la longueur de la surface réactive. Ainsi, la zone de déplétion ne reste pas confinée au dessus de la surface réactive, mais peut diffuser en amont et en aval de celle ci, comme représenté en figure 1.6.

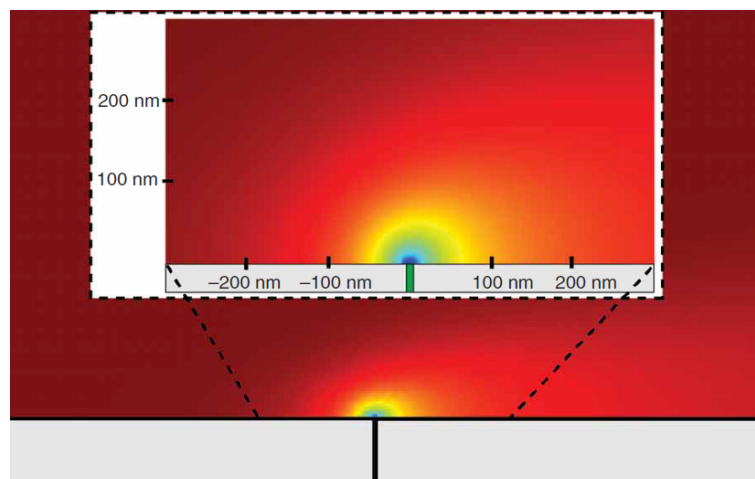


FIGURE 1.6 – Simulation de Squires *et al.* représentant le régime de capture partielle dans le cas $Pe_S \ll 1$. Le code couleur pour la concentration en molécules est le suivant : rouge pour les fortes concentrations et bleu foncé pour les concentrations nulles. La surface réactive étant très petite par rapport à la hauteur du canal, celui ci n'est représenté que partiellement. Figure reproduite depuis [4].

Il est important de rappeler qu'on ne se placera que dans des cas 2D dans le cadre de cette thèse ($W_s \approx W_c$). La zone de déplétion est donc une sorte de demi-cylindre au-dessus de la zone réactive, assez complexe à décrire finement. Certaines équipes se sont intéressées aux cas plus complexes de surfaces réactives carrées $W_s \approx L$ qui génèrent des zones de déplétion en demi-boules [19-21] qui ne seront pas abordées ici.

Au niveau de la limite de la couche de déplétion, le flux diffusif local j vaut toujours $j \sim D \frac{c_0}{l_d}$. Par contre, contrairement au cas précédent, la surface de la zone de déplétion sur laquelle on intègre a désormais une aire $2\pi l_d W_s$, ce qui mène à :

$$J \sim Dc_0 W_s \quad (1.18)$$

Ainsi dans ce régime, jusqu'à des ordres assez élevés, le nombre de molécules captées est indépendant des conditions d'écoulement et de la longueur de la surface réactive.

Comme dit précédemment, ce régime a été historiquement étudié dans le contexte du transfert de chaleur. En effet, atteindre ce régime nécessite que la convection domine dans le canal ($Pe \gg 1$), mais que la diffusion domine à l'échelle de la surface réactive ($Pe_S \ll 1$). En pratique cela nécessite des surfaces nanométriques. Des capteurs de cette dimension sont assez rares car ils nécessitent des environnements très peu bruités pour que le signal soit exploitable. Par contre, les *nanowires*, présentés au début de chapitre, remplissent parfaitement les critères d'utilisation de ce modèle, mais en tant que source de chaleur. Ces modèles sont ainsi principalement utilisés dans ce contexte.

1.4 Cas où la quantité d'objets capturés est limitée par la réaction

Nous avons décrit ce que la littérature prévoyait dans le cas où la capture de molécules était limitée par leur transport jusqu'à la surface réactive et y réagissait ensuite instantanément. Considérons désormais le cas où ce qui limite la capture de molécules n'est plus le transport de masse mais la cinétique de la réaction à la surface, décrit notamment par Langmuir [22], en 1918.

Dans ce cas de figure, les molécules sont présentes à proximité de la surface réactive et ne seront jamais consommées suffisamment rapidement pour que la diffusion ou la convection n'arrive pas à réhomogénéiser leur concentration à la concentration d'origine c_0 . En effet, ce n'est pas parce qu'elles entrent en contact avec la surface réactive qu'elles réagissent instantanément. Un modèle cinétique qui décrit ce qui passe à la surface est nécessaire. De très nombreux modèles existent, mais le plus couramment utilisé est le modèle cinétique de Langmuir au premier ordre.

Dans ce modèle, la surface est caractérisée par un nombre de sites de réaction, avec une concentration surfacique s_m . A chaque fois qu'une molécule réagit avec la surface, elle vient occuper un site de réaction. La concentration en sites occupés est notée s . Le nombre de molécules qui se lient à la surface par seconde est proportionnel à la concentration en molécules libres c_0 et au nombre de sites libres $s_m - s$. Le coefficient de proportionnalité est noté k_{on} :

$$\left. \frac{ds}{dt} \right|_{on} = k_{on}(s_m - s)c_0 \quad (1.19)$$

Dans le même temps, les molécules déjà liées à la surface peuvent se délier. Le nombre de molécules qui se délient par seconde est proportionnel au nombre de sites occupés s et le coefficient de proportionnalité est noté k_{off} :

$$\left. \frac{ds}{dt} \right|_{off} = -k_{off}s \quad (1.20)$$

Ce qui donne l'équation de Langmuir au premier ordre :

$$\boxed{\frac{ds}{dt} = k_{on}(s_m - s)c_0 - k_{off}s} \quad (1.21)$$

Lorsque la surface ne possède encore aucune molécule adsorbée ($s = 0$), le taux de réaction est maximal et vaut alors :

$$\left. \frac{ds}{dt} \right|_{\max} = k_{\text{on}} s_m c_0 \quad (1.22)$$

Ainsi, on peut calculer le nombre de molécules adsorbées par secondes en intégrant cette quantité sur toute la surface réactive $W_s L$, ce qui donne :

$$J = W_s L k_{\text{on}} s_m c_0 \quad (1.23)$$

Comme attendu, le taux de réaction est indépendant des paramètres hydrodynamiques. Ces équations seront abordées plus en détail dans le chapitre 4.

1.5 Choisir le modèle pertinent

Une fois les deux cas limites présentés (limité par le transport de masse et limité par la réaction), il reste à déterminer le modèle à utiliser en fonction des paramètres expérimentaux. On peut par exemple connaître la valeur k_{on} , qui indique à quelle vitesse les molécules réagissent, et chercher à savoir si on alimente suffisamment vite pour que cette réaction ne soit pas limitée par le transport des molécules jusqu'à la surface.

Cette question a été résolue par Damköhler [23], en 1930, qui, bien avant que les modèles d'Amatore, d'Ackerberg et de Newman soient mis au point, avait proposé une méthode pour trancher cette question quels que soient les modes de transport considérés.

Pour simplifier, considérons un équilibre possible entre la situation de Langmuir et celle d'Amatore (figure 1.5), qui sont les deux situations les plus courantes en bioanalyse et les deux seules que nous rencontrerons dans cette thèse. Les deux flux mis en jeu sont donc, d'un côté le flux limité par le transport :

$$J_t = 1.5 c_0 W_s D \text{Pe}_S^{1/3} \quad (1.24)$$

et de l'autre, le flux limité par la réaction :

$$J_r = c_0 W_s L k_{\text{on}} s_m \quad (1.25)$$

Le nombre de Damköhler Da est construit comme le rapport de ces deux flux :

$$Da = \frac{J_r}{J_t} = \frac{L k_{\text{on}} s_m}{1.5 D \text{Pe}_S^{1/3}} \quad (1.26)$$

En fonction de la valeur du nombre de Damköhler, on peut estimer quel flux va être limitant. Si $Da \ll 1$, le flux réactif sera beaucoup plus faible que le flux de transport de masse. Ainsi, la convection et la diffusion n'auront aucun mal à homogénéiser la concentration à proximité de la surface réactive. C'est donc l'équation (1.23), issue du cas où la réaction est limitante, qui doit être utilisée. Dans le cas contraire, si $Da \gg 1$, le flux associé au transport de masse est très faible devant le flux réactif. Les molécules réagissent instantanément au contact de la surface réactive en comparaison du temps qu'elles ont mis à l'atteindre. C'est donc l'équation (1.17), issu du cas où le transport est limitant, qui doit être utilisée.

Bien évidemment, le nombre de Damköhler, tout comme la plupart des nombres sans dimension, doit être adapté pour le rendre pertinent à chaque situation. Dans cette thèse, c'est l'expression

que nous avons écrite en équation (1.26) qui est pertinente et que nous utiliserons quand cela sera nécessaire.

Pour résumer, le modèle de Squires *et al.* peut être schématisé par la figure 1.7.

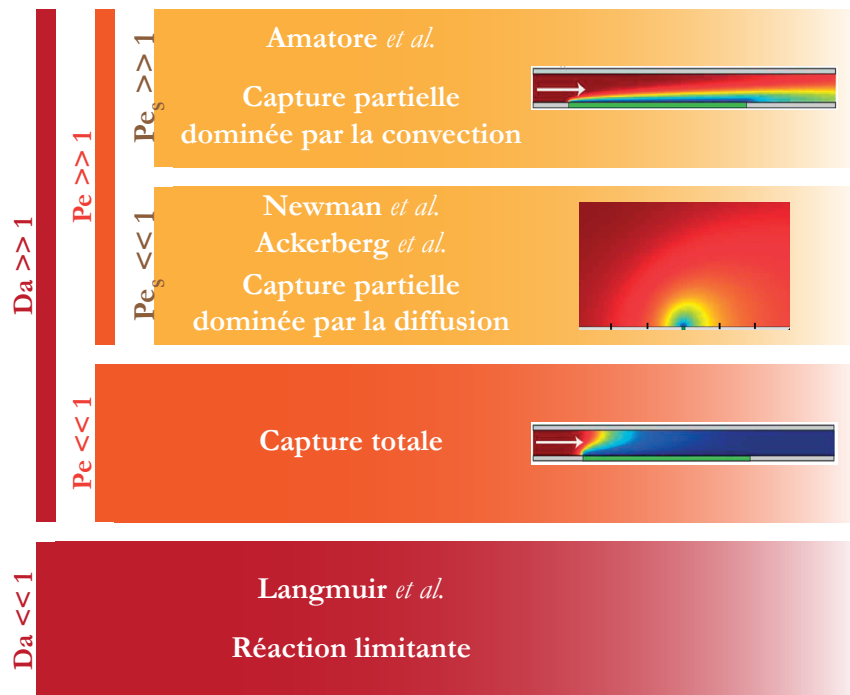


FIGURE 1.7 – Illustration schématique du modèle unificateur de Squires *et al.*

1.6 Les limites du modèle de Squires *et al.*

Les travaux de Squires *et al.* ont permis d’unifier les différentes théories décrites dans la littérature dans un ensemble cohérent. Ces travaux pionniers ont permis une avancée significative, notamment en électrochimie. Ce modèle est cependant parfois utilisé dans des situations pour lesquelles il n’a pas été prévu, à défaut de l’existence d’autres modèles plus adaptés dans la littérature, ce qui peut parfois mener à des erreurs ou à des fausses interprétations. L’objectif de cette thèse est d’identifier certaines de ces situations, de réaliser des expériences et des simulations, et de proposer des modèles de capture plus adaptés à ces situations particulières.

Nous avons, au cours de cette thèse, considéré trois situations qui nous semblent particulièrement importantes au vu de l’évolution de la bioanalyse aujourd’hui, mais qui ne dispose pas, actuellement, de modèle de capture adapté.

1.6.1 Prise en compte des effets de portance inertielle

Jusqu’à présent, le problème de convection-diffusion-réaction n’a été abordé qu’avec des molécules ou de la chaleur. Aucune loi de capture quantitative n’existe pour des objets plus complexes que des molécules, comme des particules, c’est à dire des sphères solides, micrométriques ou nanométriques, qui sont pourtant couramment utilisées dans de nombreux protocoles d’analyse biologique.

Si un expérimentateur souhaite prédire le taux de capture de particules sur une surface fonctionnalisée, il est pour le moment contraint d'utiliser le modèle d'Amatore et d'assimiler les particules à des grosses molécules. Cependant, un effet supplémentaire affecte les particules qui s'écoulent dans un écoulement de Poiseuille : l'effet de portance inertielle. Celui-ci, induit par la perturbation de l'écoulement par la présence d'un objet massif, telle qu'une particule, a tendance à empêcher l'adhésion de ces objets en les repoussant loin des parois. Ceci peut bien évidemment fausser les protocoles de traitement de surface ou biaiser les résultats d'analyses biologiques.

Chapitre 2 : Capture de particules sous écoulement

Dans le chapitre 2 de cette thèse, on se propose d'étudier la capture de particules sur une surface fonctionnalisée dans un écoulement laminaire. Des expériences couplées à des simulations numériques viendront soutenir une modélisation théorique afin de déterminer une nouvelle loi de capture spécifique à cette situation.

Deux régimes seront mis en lumière. Un régime dans lequel l'effet de portance est négligeable et où les particules peuvent être assimilées à des molécules pour les lois de capture, et un autre régime dans lequel l'effet de portance domine : les particules sont repoussées loin des parois et le taux de capture est fortement réduit. Connaître et prendre en compte cet effet peut se révéler crucial pour de nombreux protocoles ou analyses mettant en jeu des particules, ceux-ci pouvant en effet être biaisés par la non adhésion des particules aux parois à cause d'effets hydrodynamiques.

1.6.2 Prise en compte de la déformabilité

Une fois la question traitée pour des particules, qui diffèrent des molécules de par leur taille, on peut s'intéresser à des objets encore plus complexes, comme des capsules. Une capsule ressemble à une particule, mais elle est composée d'une enveloppe élastique et d'un cœur liquide. En effet, des théories prévoient qu'en plus des effets de lift, des effets liés à la déformabilité de ces objets pourraient modifier davantage leur loi de capture sur une surface. A ce jour la littérature manque de données expérimentales.

Chapitre 3 : Capture de capsules sous écoulement

Dans le chapitre 3 de cette thèse, on se propose d'étudier la capture de capsules sous écoulement. Nous présenterons des conclusions préliminaires issues d'expériences et des résultats théoriques actuellement disponibles dans la littérature. Nous présenterons également les expériences que nous avons dû mener pour adapter le protocole de fabrication des capsules afin de pouvoir réaliser des expériences adéquates.

Mieux connaître les conditions dans lesquelles des objets déformables sont repoussés loin des parois sous écoulement pourrait permettre d'adapter les protocoles biologiques afin d'optimiser la capture des objets biologiques déformables, comme les cellules.

1.6.3 Prise en compte de la dispersion de Taylor-Aris

Le modèle de Langmuir utilisé actuellement par de nombreux laboratoires de bioanalyse a fait ses preuves. Cependant, contrairement à ce que le modèle de Langmuir suppose, l'échantillon n'est pas

injecté en continu mais sous forme d'un échantillon de volume donné. Lors de son trajet au sein des tubes d'analyse, un tel échantillon de volume fini subit alors un effet hydrodynamique connu sous le nom de dispersion de Taylor-Aris, une surdiffusion au sein du liquide porteur. De fait, la concentration de l'échantillon au moment où il atteint la surface réactive est fortement modifiée. Afin de s'affranchir de cet effet, et pouvoir obtenir des mesures reproductibles et exploitables, les biologistes analytiques se placent empiriquement dans un domaine expérimental où cet effet n'apparaît pas. Malheureusement, cela consomme énormément de volume d'échantillon.

Chapitre 4 : Capture de molécules biologiques sous écoulement

Dans le chapitre 4 de cette thèse, on se propose d'étudier la capture de molécules biologiques, dans le cas où la réaction est limitante, tout en prenant en compte l'effet de taille finie de l'échantillon. Tout comme le chapitre 2, des expériences et des simulations nous permettront de proposer une nouvelle loi permettant de prédire le taux de réaction d'un échantillon en fonction des paramètres biologiques et hydrodynamiques du système.

Cette nouvelle loi permettra de pouvoir explorer librement la gamme de paramètres expérimentaux lors d'analyses biologiques, et ainsi de ne plus être contraint au régime où la dispersion de Taylor-Aris est négligeable. Pour certaines molécules d'intérêt cela réduira fortement la quantité d'analytes consommée à chaque mesure. De nombreuses recherches ou analyses impliquant des molécules chères, rares ou difficiles à prélever en grandes quantités pourraient être grandement facilitées.

1.7 Conclusion

Dans ce chapitre d'introduction, après avoir discuté des différents domaines d'application de la capture d'objets sous écoulement, nous nous sommes intéressés en détail au modèle unificateur de Squires *et al.*. Celui-ci met en jeu plusieurs nombres sans dimension dont la valeur permet de choisir la formule du taux de capture la plus pertinente afin de prédire le comportement d'un système expérimental.

Cependant, ce modèle possède des limites. Certains cas rencontrés, typiquement en recherche biologique ou en bioanalyse, ne sont, pour l'instant, pas décrits dans la littérature. Les expérimentateurs sont donc contraints d'utiliser ce modèle qui n'est pas adapté à leur situation.

L'objectif de cette thèse est de proposer des modèles plus adaptés à certaines de ces situations. Dans le chapitre suivant, nous nous intéressons à la première d'entre elles : la capture de particules sous écoulement. En effet, le modèle de Squires *et al.* n'est, pour le moment, adapté qu'aux molécules, c'est-à-dire à des objets dont la taille n'influe pas sur leur environnement hydrodynamique immédiat.

Pour résumer

- La capture par une surface d'objets contenus dans un écoulement laminaire est une question centrale dans de nombreux domaines scientifiques, comme l'électrochimie, les transferts de chaleur ou encore la bioanalyse.
- Plusieurs modèles de capture, issus de ces différents domaines de recherche, ont été proposés depuis les années 1900. Squires *et al.* ont proposé une vision unificatrice en 2008 permettant de comprendre la coexistence de ces modèles, et ainsi prédire le taux de capture à la surface dans chaque cas de figure.
- Deux régimes limites se dégagent : soit la cinétique de capture est limitée par le transport des objets jusqu'à la surface, soit elle est limitée par leur vitesse de réaction à la surface (qui permet aux objets de s'y accrocher, de réagir, de se complexer, etc). Pour le savoir, on utilise un nombre adimensionné, le nombre de Damköhler, qui compare le nombre d'objets transportés jusqu'à la surface au nombre d'objets consommés par la réaction :

$$Da = \frac{Lk_{on} s_m}{1.5DPe_S^{1/3}} \quad (1.27)$$

- **Si $Da \gg 1$, c'est le transport de masse qui limite la capture**, il faut comparer l'intensité des deux mécanismes de transport en présence, la convection et la diffusion, pour en déduire la valeur quantitative du taux de capture J . On utilise pour cela deux nombres de Péclet :

$$Pe = \frac{QH}{LDW_c} \quad Pe_S = \frac{QL^2}{H^2DW_c} \quad (1.28)$$

- Si $Pe \ll 1$, tous les objets sont capturés, $J = Qc_0$.
- Si $Pe \gg 1$ et $Pe_S \gg 1$, seule une fraction des objets est capturée et la convection domine à proximité de la surface, $J = 1.5c_0 W_s DPe_S^{1/3}$.
- Si $Pe \gg 1$ et $Pe_S \ll 1$, seule une fraction des objets est capturée et la diffusion domine à proximité de la surface, $J \sim Dc_0 W_s$.
- **Si $Da \ll 1$, c'est la cinétique de réaction qui limite la capture**. Dans ce cas, $J = W_s Lk_{on} s_m c_0$.
- Cependant ce modèle, qui cherche à être le plus universel possible, ne décrit pas encore tous les cas de figure. Le but de cette thèse est de s'intéresser à certains cas encore non décrits par ce modèle, afin de l'enrichir, notamment :
 - Les objets non ponctuels : chapitre 2
 - Les objets déformables : chapitre 3
 - Les échantillons de taille finie : chapitre 4

Références

1. NOËL, T., CAO, Y. & LAUDADIO, G. The fundamentals behind the use of flow reactors in electrochemistry. *Accounts of chemical research* **52**, 2858-2869 (2019).
2. LIU, R. *et al.* High density individually addressable nanowire arrays record intracellular activity from primary rodent and human stem cell derived neurons. *Nano letters* **17**, 2757-2764 (2017).
3. PARSA, H. *et al.* Effect of volume- and time-based constraints on capture of analytes in microfluidic heterogeneous immunoassays. *Lab on a Chip* **8**, 2062-2070 (2008).
4. SQUIRES, T. M., MESSINGER, R. J. & MANALIS, S. R. Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors. *Nature Biotechnology* **26**, 417 (2008).
5. GUYON, E., HULIN, J.-P. & PETIT, L. *Hydrodynamique physique* (EDP sciences, 2021).
6. COMPTON, R. G., FISHER, A. C., WELLINGTON, R. G., DOBSON, P. J. & LEIGH, P. A. Hydrodynamic voltammetry with microelectrodes: channel microband electrodes; theory and experiment. *The Journal of Physical Chemistry* **97**, 10410-10415 (1993).
7. UNWIN, P. R. & COMPTON, R. G. in *Comprehensive Chemical Kinetics* 173-296 (Elsevier, 1989).
8. LEVICH, V. G. *Physicochemical hydrodynamics* (Prentice-Hall Inc., 1962).
9. AMATORE, C., DA MOTA, N., SELLA, C. & THOUIN, L. Theory and experiments of transport at channel microband electrodes under laminar flows. 1. Steady-state regimes at a single electrode. *Analytical chemistry* **79**, 8502-8510 (2007).
10. AMATORE, C. *et al.* Theory and experiments of transport at channel microband electrodes under laminar flows. 2. Electrochemical regimes at double microband assemblies under steady state. *Analytical chemistry* **80**, 9483-9490 (2008).
11. AMATORE, C., DA MOTA, N., SELLA, C. & THOUIN, L. Theory and experiments of transport at channel microband electrodes under laminar flow. 3. Electrochemical detection at electrode arrays under steady state. *Analytical chemistry* **82**, 2434-2440 (2010).
12. ZEBDA, A. *et al.* Electrochemical performance of a glucose/oxygen microfluidic biofuel cell. *Journal of Power Sources* **193**, 602-606 (2009).
13. RASSAEI, L., MATHWIG, K., GOLUCH, E. D. & LEMAY, S. G. Hydrodynamic voltammetry with nanogap electrodes. *The Journal of Physical Chemistry C* **116**, 10913-10916 (2012).
14. BRANAGAN, S. P., CONTENTO, N. M. & BOHN, P. W. Enhanced mass transport of electroactive species to annular nanoband electrodes embedded in nanocapillary array membranes. *Journal of the American Chemical Society* **134**, 8617-8624 (2012).
15. SANSUK, S. *et al.* Ultrasensitive detection of dopamine using a carbon nanotube network microfluidic flow electrode. *Analytical chemistry* **85**, 163-169 (2013).
16. ANDERSON, M. J. & CROOKS, R. M. High-efficiency generation-collection microelectrochemical platform for interrogating electroactive thin films. *Analytical chemistry* **86**, 9962-9969 (2014).
17. NEWMAN, J. The Fundamental Principles of Current Distribution and Mass Transport in Electrochemical Cells in *Electroanalytical Chemistry*, Vol. 6, AJ Bard, ed. *Bard, ed., Marcel Dekker, Inc. New York* (1973).

18. ACKERBERG, R., PATEL, R. & GUPTA, S. The heat/mass transfer to a finite strip at small Péclet numbers. *Journal of Fluid Mechanics* **86**, 49-65 (1978).
19. STONE, H. A. Heat/mass transfer from surface films to shear flows at arbitrary Peclet numbers. *Physics of Fluids A: Fluid Dynamics* **1**, 1112-1122 (1989).
20. PHILLIPS, C. G. Heat and mass transfer from a film into steady shear flow. *The Quarterly Journal of Mechanics and Applied Mathematics* **43**, 135-159 (1990).
21. BOOTH, J. *et al.* Hydrodynamic Voltammetry with Channel Electrodes: Microdisk Electrodes. en. *The Journal of Physical Chemistry* **99**, 10942-10947. ISSN : 0022-3654, 1541-5740. <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/j100027a038> (2018) (juil. 1995).
22. LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical society* **40**, 1361-1403 (1918).
23. INGER, G. R. Scaling Nonequilibrium-Reacting Flows: The Legacy of Gerhard Damköhler. *Journal of Spacecraft and Rockets* **38**, 185-190 (2001).

CAPTURE DE PARTICULES SOUS ÉCOULEMENT

2.1 Introduction

Dans ce chapitre, on va s'intéresser à la capture de particules au sein d'un écoulement laminaire sur une surface captatrice solide. Cette configuration est rencontrée très couramment en biologie, que ce soit en recherche biologique ou lors de bio-analyses, et c'est pourquoi y apporter un regard d'hydrodynamicien nous semble important. En effet, bien que les modèles de capture pour les molécules soient très répandus dans la littérature, les modèles de capture de particules sont moins présents. Le but de ce chapitre est de fournir des données expérimentales, numériques et des interprétations théoriques permettant de mieux comprendre la capture de particules dans cette configuration classique, et ainsi d'améliorer les systèmes de bioanalyse.

Définition

Dans toute cette thèse, on décrira par le mot **particule** une sphère solide, pleine et non déformable, de taille micrométrique (**microparticule**) ou sub-micrométrique (**nanoparticule**). Ces particules sont parfois fluorescentes. Elles peuvent également être recouvertes d'un traitement de surface dans le but de leur conférer des propriétés d'adhésion envers un groupement chimique particulier (on parle alors de **fonctionnalisation de surface**).

2.1.1 Applications de la capture de particules sous écoulement à la bioanalyse

L'adsorption de microparticules ou de nanoparticules sur une surface fonctionnalisée est une étape critique dans de nombreux protocoles de bioanalyse. Afin d'illustrer ce qui a motivé les travaux qui ont été réalisés, nous présentons deux applications dans lesquelles la capture de particules sur des surfaces sous écoulement joue un rôle central :

Le suivi des cancers et des maladies neurodégénératives [1-5]. Ces maladies, au coeur des enjeux de santé publique actuel, sont difficiles à détecter. Au sein de l'organisme, le nombre de marqueurs est très réduit, et le signal mesuré au cours d'analyses conventionnelles est donc faible. L'objectif des na-

no/microparticules est d'amplifier ces signaux. L'une des stratégies [1], illustrée en figure 2.1, a pour but de quantifier la présence de kinases, une protéine spécifique impliquée dans le développement de certains cancers. Le principe est de réaliser une fonctionnalisation de surface à l'aide de couches multiples. Le traitement se termine par l'adhésion de nanoparticules d'or qui ne peut réussir qu'en présence de kinase. La quantité de nanoparticules présentes est alors mesurée par voltamétrie, ce qui donne une information quantitative sur le nombre de kinases dans l'échantillon. Les nanoparticules étant bien plus grandes que les kinases, le signal obtenu est moins bruité que si on avait cherché à mesurer directement le nombre de kinases liées à la surface. Ces expériences peuvent être réalisées en volume dans les laboratoires de recherche ou d'analyse, mais sont de plus en plus réalisées sous écoulement à l'intérieur de puces microfluidiques afin de réduire les volumes utilisés. Cependant, on peut se demander si l'écoulement induit un biais lors de la mesure? Les particules s'accrochent-elles aussi facilement lors de l'expérience en volume ou lorsqu'elle est réalisée en microfluidique sous écoulement?

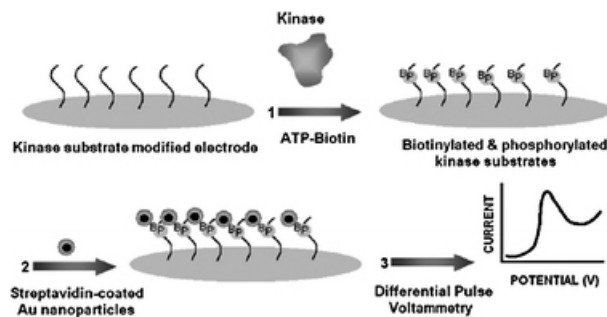


FIGURE 2.1 – Processus de fabrication d'une couche sensible pour la détection de cellules cancéreuses impliquant l'adhésion de particules. Reproduit depuis [1].

La seconde utilisation majeure des particules concerne **les test immunologiques sur puces** [6-10]. Ceux-ci visent à détecter la présence d'antigènes dans un échantillon et ont des applications extrêmement nombreuses en bioanalyse. Là encore, les stratégies impliquant l'adhésion de particules sur des surfaces sont multiples. Citons par exemple la stratégie de Gupta *et al.* [6] illustrée en figure 2.2. A l'intérieur d'une puce microfluidique, des particules recouvertes de l'anticorps complémentaire à l'antigène recherché sont continuellement injectées sous écoulement près d'une surface, elle même recouverte de ces anticorps. De part et d'autre de cette surface se trouvent les deux électrodes d'un système électrochimique. En temps normal un courant électrochimique est mesuré. En présence des antigènes cibles, les particules fonctionnalisées se lient de manière multiple aux antigènes, créant des agrégats. Ceux-ci se lient également à la surface, créant des obstacles au courant électrochimique. Celui-ci chute alors, indiquant la présence des antigènes recherchés. Cependant, encore une fois, on peut se poser la question de l'influence de l'hydrodynamique et de l'écoulement sur les performances de capture des particules à la surface fonctionnalisée?

Au cours de ce chapitre, nous verrons que négliger l'écoulement lors de la réalisation d'expériences dans lesquelles on cherche à capturer des particules sur une surface, en présence d'écoulement, peut fortement biaiser les résultats et perturber l'interprétation du signal recueilli.

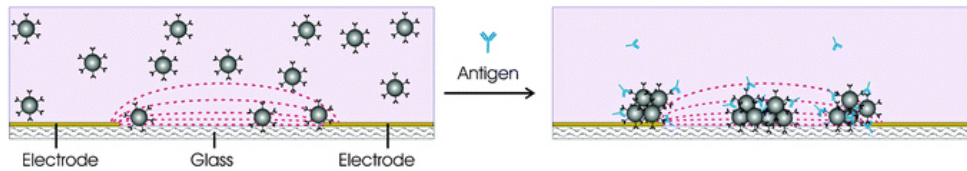


FIGURE 2.2 – Illustration du test immunologique de Gupta *et al.*, reproduit depuis [6].

2.1.2 Objectifs du chapitre

Quelle que soit l'application visée, le signal final recueilli dépend du nombre de particules qui ont adhéré à la surface, ce qui pose la question de leur transport jusqu'à la surface fonctionnalisée. Les lois théoriques existantes dans la littérature prédisant le nombre d'objets qui adhèrent à une surface fonctionnalisée en présence de convection et de diffusion (détaillées dans le chapitre 1) ne sont pas spécifiquement conçues pour des particules mais pour des molécules.

Or, la majorité des expérimentateurs et des concepteurs de systèmes d'analyse ou de protocoles utilisent le modèle de Squires *et al.* en le supposant vrai pour des particules [11-13].

Cependant, une différence majeure entre une particule et une molécule, outre un coefficient de diffusion plus faible, est que les particules peuvent être soumises à des effets particuliers, notamment l'effet de portance inertielle, (souvent appelé lift inertiel par anglicisme). Celui-ci peut modifier drastiquement le profil de concentration des particules au sein d'un canal, comme l'avait déjà observé, en 1962, Segré et Silberberg. [14-19]. Négliger cet effet de lift inertiel peut évidemment conduire à un biais dans l'interprétation des données expérimentales.

Dans ce chapitre, nous proposons de décrire le rôle des forces de lift inertielles dans l'efficacité de capture de microparticules sur une surface fonctionnalisée. A l'aide d'expériences, nous montrons tout d'abord que les modèles convecto-diffusifs ne suffisent pas à prédire convenablement le taux d'adhésion de tels objets sur une surface fonctionnalisée. Ensuite, après avoir détaillé le concept de lift inertiel, nous proposons un modèle théorique permettant de prédire la répartition des particules au sein du canal, que nous validons à l'aide de simulations. Nous en déduisons une nouvelle loi de capture spécifiquement conçue pour les particules, que nous vérifions expérimentalement. Pour finir, nous discutons de deux points particuliers : le régime transitoire et l'impact des forces électrostatiques. Enfin, nous présentons un outils numérique développé pour aider les concepteurs de nouveaux systèmes bioanalytiques à utiliser ce travail.

2.2 Présentation de l'expérience

2.2.1 Principe de l'expérience

Le but de l'expérience menée ici est de mesurer le nombre de particules qui s'adsorbent sur une surface fonctionnalisée par unité de temps en fonction des différents paramètres géométriques et hydrodynamiques du système : débit du liquide Q , géométrie du canal (hauteur H et largeur W_c), géométrie de la surface de capture (longueur L et largeur W_s), rayon des particules a , etc. Pour se faire, on se placera dans le cadre de la microfluidique car les gammes de taille de canaux impliqués dans la

bioanalyse sont comparables à ceux utilisés en microfluidique ($H \approx 50 - 100 \mu\text{m}$). Ainsi, sur une des parois d'un canal microfluidique droit, représenté en figure 2.3, on place une surface fonctionnalisée. Ensuite, une solution diluée de microparticules possédant une fonctionnalisation complémentaire à cette surface est injectée. On suit, grâce à une caméra montée sur un microscope, le nombre de particules adsorbées sur la surface à chaque instant. Les détails de l'expérience sont fournis dans la suite du chapitre.

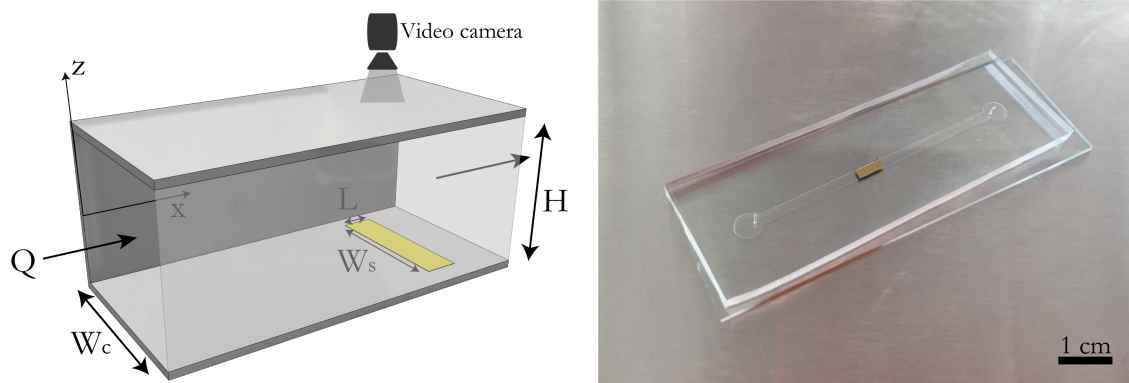


FIGURE 2.3 – Géométrie du canal utilisé. (Gauche) La surface fonctionnalisée (en jaune), de largeur W_s et de longueur L , est placée sur le fond d'un canal de largeur W_c et de hauteur $H \ll W_c$. Un écoulement chargé en particules s'effectue selon la direction x à un débit Q . (Droite) Photo du microsystème en PDMS et de la surface de capture.

Dans ce chapitre, on souhaite étudier uniquement l'effet de l'objet d'étude, à savoir la particule. Il est donc nécessaire de s'affranchir de tout autre effet qui pourrait influencer le taux de capture, notamment une faible réactivité de la fonctionnalisation de surface, comme décrit en section 1.4. Nous discuterons longuement de cet effet dans le chapitre 4. Ainsi, la fonctionnalisation choisie devra assurer une adhésion instantanée lors d'un contact entre une particule et la surface fonctionnalisée. Une adhésion électrostatique a donc été choisie, comme dans les expériences de Lemineur *et al.* [13]. Les particules choisies (micromod Partikeltechnologie GmbH) sont des particules de PolyStyrène, de densité 1.03, qui possèdent une fonctionnalisation COOH en surface. Le pKa du couple COOH/COO⁻ est de 5, donc, dans l'eau DÉIonisée DI à pH 7, le COOH se déprotone en COO⁻. Les particules possèdent donc une charge de surface négative. La surface de capture est, quant à elle, recouverte d'une couche de PolyEthileneImine PEI, représentée en figure 2.4. Le pKa du couple NH3⁺/NH2 est de 11, les fonctions NH2 sont donc principalement sous la forme NH3⁺. La surface de capture possède ainsi une charge de surface positive.

Via ces fonctionnalisations de surface, les particules adhèrent à la surface de capture par interaction électrostatique sans aucune des limitations cinétiques décrites dans la section 1.4. Cependant, ces interactions ont une certaine portée, d'un peu moins d' $1 \mu\text{m}$ dans de l'eau DI, ce qui pourrait biaiser le mécanisme de capture. Afin de s'en affranchir, nous ajoutons dans certaines de nos expériences 10^{-2}M de NaCl dans les solutions de particules, ce qui réduit la portée des interactions électrostatiques à une dizaine de nanomètres [20]. Une discussion sur l'influence de ces interactions est présentée en fin de chapitre, dans la section 2.8

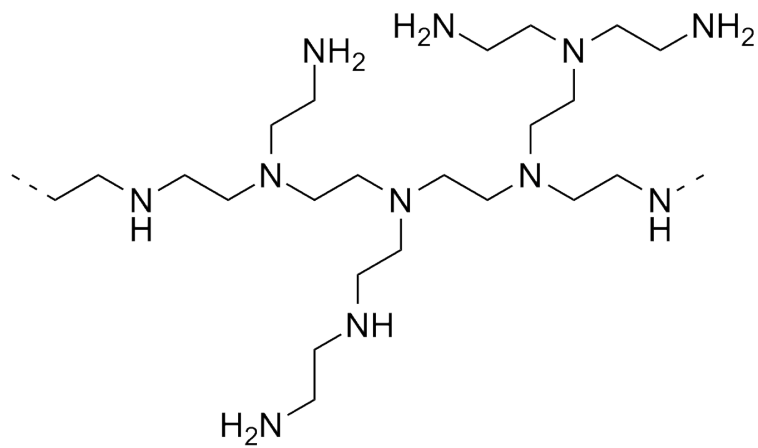


FIGURE 2.4 – La molécule de PolyEthyleneImine PEI utilisée pour la fonctionnalisation de la surface de capture.

2.2.2 Fabrication du système

Le système expérimental est représenté en figure 2.5. Chaque partie du système nécessite une étape de fabrication spécifique, qui est résumée brièvement ci-dessous.

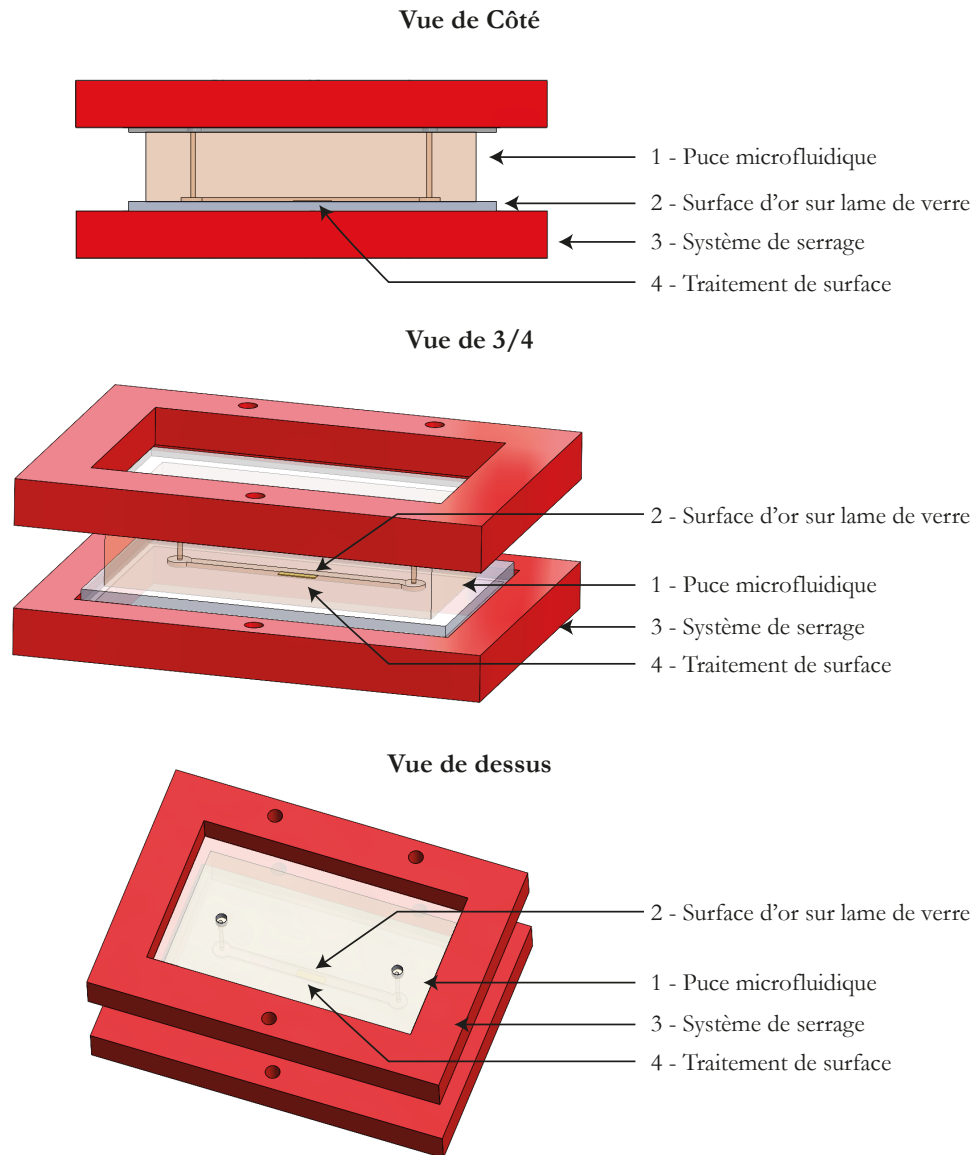


FIGURE 2.5 – Schéma du système expérimental.

1. Fabrication de la puce microfluidique - Technologie Silicium et PDMS

La puce microfluidique est fabriquée grâce aux techniques classiques de microfabrication conçues originellement par le groupe de Whitesides [21]. Le principe est de fabriquer un moule, d'épaisseur contrôlée entre 10 et 100 μm , en résine, sur un wafer de silicium, puis de couler un polymère thermoreticulable, le PDMS (PolyDiMethylSiloxane), dessus. Une fois chauffé et démoulé, on obtient le négatif du moule qui représente notre microcanal. Il suffit alors de venir percer les entrées et les sorties d'injection du liquide. La taille du canal est mesurée par profilométrie mécanique sur le moule en résine.

2. Dépôt localisé d'une surface d'or sur la lame de verre -Technologie PECVD et Lift-off

Pour déposer une surface d'or sur une lame de verre, on utilise un appareil de PECVD (*Plasma-Enhanced Chemical Vapor Deposition* ou Dépôt chimique en phase vapeur assisté par plasma) Alliance Concept EVA 300. Le concept est de placer la lame de verre dans une enceinte à proximité d'une cible d'or pur. Un plasma d'argon vient alors arracher des atomes à la cible d'or et vient les déposer progressivement sur la lame de verre^a. Afin de sélectionner la zone de dépôt, on utilise une surface protectrice adhésive en kapton qui recouvre la lame de verre aux endroits où l'on ne souhaite pas déposer de l'or. En fin de dépôt, on retire l'adhésif (désormais recouvert d'or), laissant apparaître la lame de verre vierge aux endroits protégés, et recouvert d'or ailleurs. C'est la technique dite de lift-off.

Dans un processus de microfabrication classique, les deux parties sont normalement collées par plasma, rendant le système à usage unique. Cependant, les surfaces d'or demandent beaucoup de temps pour être fabriquées. Afin d'accélérer les expériences, le système a été scellé via une pression mécanique réversible. Cela permet de pouvoir récupérer la surface d'or en fin d'expérience pour pouvoir la nettoyer, enlever proprement les particules adsorbées, et recommencer une nouvelle expérience sans devoir fabriquer une nouvelle surface à chaque fois. Cette solution est possible ici car les pressions impliquées sont faibles, typiquement entre 10^{-4} et 0.1 bar, permettant d'éviter les fuites malgré l'absence de collage.

3. Fabrication du système de serrage - Impression 3D, Découpeuse Laser

L'armature principale a été réalisée en impression 3D. Les dimensions sont conçues de manière à s'ajuster facilement à un microsystème de la taille d'une lame de verre. Le bas du microsystème repose déjà sur une surface solide (la lame de verre avec la surface d'or), mais le haut du microsystème est en PDMS, qui est un élastomère. Afin de plaquer les deux morceaux entre eux, on réalise un plafond solide et transparent, percé à deux endroits correspondant aux entrées/sorties de liquide du microsystème, à partir d'une plaque de plexiglas découpée avec une découpeuse laser Trotec Speedy 400. Le tout est finalement placé en sandwich et le serrage est assuré par un système de vis en trois points.

4. Traitement de surface - PEI

Enfin, on réalise le traitement de surface de la surface d'or. On utilise pour cela une solution de PolyEthileneImine PEI à 0.2% en masse. On injecte cette solution dans le microsystème à $50 \mu\text{L}/\text{min}$ pendant 5 min, puis on rince en injectant de l'eau DÉIonisée DI dans le microsystème à $50 \mu\text{L}/\text{min}$ pendant 5 min également. Le PEI va se lier spécifiquement à la surface d'or via des interactions NH-Au.

2.2.3 Mesure optique, traitement d'image et post-traitement

L'expérience consiste à injecter la solution de particules dans le microsystème, préalablement rempli d'eau DI, à débit contrôlé à l'aide d'un pousse-seringue. Le nombre de particules accrochées à la surface fonctionnalisée en fonction du temps est mesuré par observation optique. Les particules de $1 \mu\text{m}$ et $5 \mu\text{m}$ étant de taille supérieure aux longueurs d'ondes du visible, elles peuvent être imagées

^a. En pratique, ce procédé nécessite deux dépôts : un dépôt de titane, qui sert à améliorer l'adhésion de l'or, puis un dépôt d'or.

directement au microscope optique. Le système microfluidique est installé sur un microscope droit Karl Suss utilisé en réflexion et éclairé en lumière blanche, raccordé à une caméra Pixelink PL-B625. Au début de l'expérience, la lumière est réfléchiée par la surface d'or (2.6.a). Cependant, les particules accrochées ne réfléchissent pas la lumière aussi bien, et apparaissent noires sur l'image (2.6.b). On enregistre des images régulièrement au cours de l'expérience, que l'on soustrait une à une, grâce au logiciel ImageJ [22, 23], à une image de référence prise avant l'injection de la solution contenant les particules. Ces images sont ensuite seuillées (2.6.c). Enfin, la fonction Analyse Particule d'ImageJ permet de détecter et de compter le nombre de particules accrochées à la surface à chaque instant en supprimant les éventuels artefacts optiques omis lors des étapes de traitements précédentes (2.6.d).

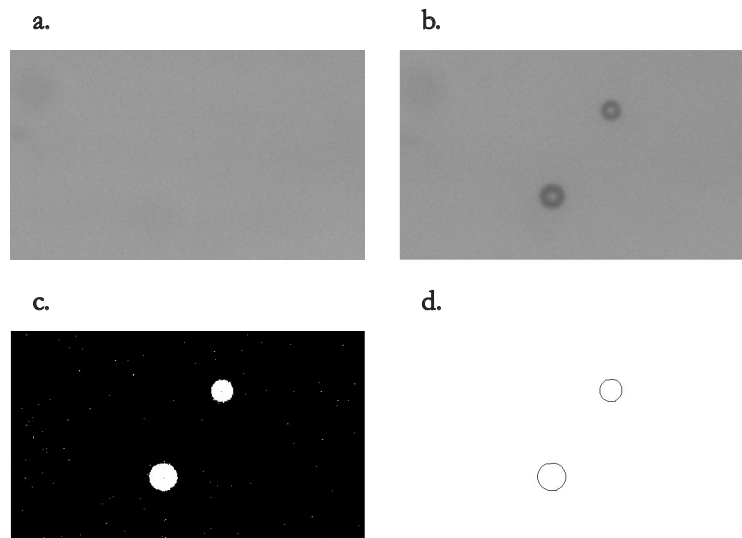


FIGURE 2.6 – Méthode de traitement d'images pour des microparticules. **(a)** Image de référence. **(b)** Image enregistrée après que des particules se soient accrochées. **(c)** Soustraction des images précédentes et seuillage. **(d)** Résultat de la fonction Analyse Particule.

On obtient ainsi la figure 2.7 qui représente le nombre de particules adsorbées sur la surface à chaque instant. On observe une première partie où le nombre de particules adsorbées croît linéairement, puis une saturation progressive du signal.

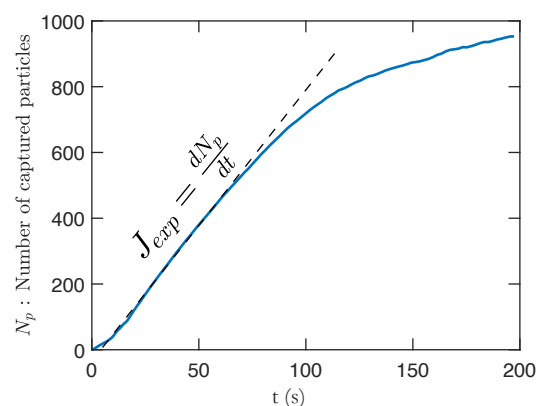


FIGURE 2.7 – Exemple de mesure de l'évolution du nombre de particules capturées. Le taux de capture J est mesuré dans le régime stationnaire. Les particules sont injectées à $t = 0$. La saturation du signal à temps long est due à la saturation de la surface.

Cette saturation a déjà été observée par le passé [12, 24-27] et est appelée *shadow effect* dans la littérature. Cet effet est illustré en figure 2.8. Les particules étant toutes chargées positivement, si une particule s’approche d’une autre déjà adsorbée, elle risque d’être repoussée de sa trajectoire initiale. Il lui faudra donc un certain temps, c’est à dire une certaine distance, pour atteindre de nouveau la paroi par diffusion. Ainsi, chaque particule adsorbée possède une zone d’ombre (*a shadow zone*) en aval d’elle même dans laquelle aucune particule ne peut s’adsorber. Par conséquent, la quantité maximale de particules adsorbées est faible, typiquement entre 1 et 5% de recouvrement de la surface, bien moindre de ce qu’on attend pour un remplissage stérique aléatoire, 54.6%. Nos expériences montrent un remplissage moyen de 2%, ce qui est cohérent avec le *shadow effect*.

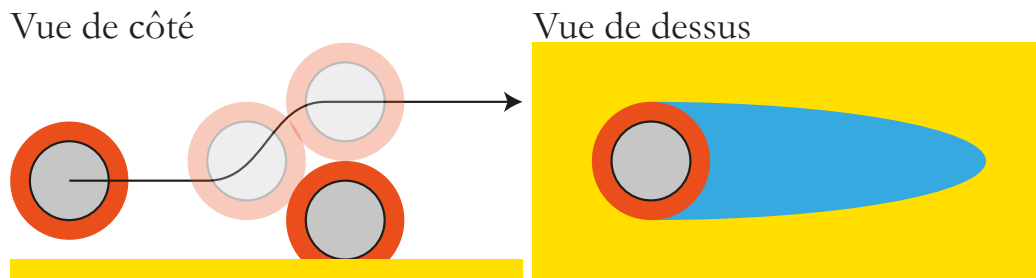


FIGURE 2.8 – Schéma illustrant le *shadow effect*. (Gris) Particules. (Orange) Portée des interactions électrostatiques répulsives. (Bleu) *Shadow zone*, zone sur la surface de capture inaccessible à toutes les autres particules.

Le taux de capture $J = \frac{dN_p}{dt}$, indiquant le nombre de particules capturées par seconde, est mesuré en réalisant une régression linéaire sur la partie de la courbe correspondant au régime stationnaire. Notons qu’aucun événement de désorption n’a été observé, et que la pente de la courbe correspond bien uniquement aux événements d’adsorption et non pas à une différence entre adsorption et désorption.

2.3 Résultats expérimentaux

2.3.1 Gamme expérimentale

Le liquide porteur est de l’eau DI, avec une concentration en NaCl (SigmaAldrich) ajouté de 0 M ou de 10^{-2} M. Le rayon a des particules est de 500 nm ou de $2.5\mu\text{m}$ et leur concentration c_0 varie entre 10^{13} et 10^{14} particules par m^3 , ce qui correspond à un pourcentage massique en solution de l’ordre de 0.001% pour les particules de 500 nm et de 0.1% pour les particules de $2.5\mu\text{m}$. Le débit d’injection de la solution de particules varie entre 100 et 20000 $\mu\text{L}/\text{h}$. Les expériences sont menées dans des canaux droits de largeur $W_c \in [0.5; 2]$ mm et de hauteur $H \in [50; 75]$ μm ($\ll W_c$), ce qui génère un écoulement de Poiseuille développé selon la hauteur du canal. La surface de capture est de largeur $W_s \in [0.5; 2]$ mm et sa position par rapport à l’entrée du canal droit est de 5 mm ou de 50 mm.

2.3.2 Hypothèse nécessaire due aux limites de la microfabrication

Pour des questions de microfabrication, dues au Lift-off, il est difficile de contraindre une petite longueur L et une petite largeur W_s pour la surface d’or. Ainsi, la longueur de la surface d’or est bien

supérieure à la zone d'observation de la caméra, qui elle est typiquement de l'ordre du mm. Cependant, cela n'est, pour nous, pas un problème. En effet, on se trouve dans le régime des hauts Pe_S et Pe : $Pe_S = \frac{QL^2}{DW_c H^2} \in [10^4; 10^9]$ et $Pe = \frac{QH}{DW_c L} \in [3 \cdot 10^4; 7 \cdot 10^7]$. Dans ce régime, il est impossible pour un objet de remonter le courant, quelle que soit la hauteur à laquelle il se situe (cf section 1.3.2 - cas $Pe_S \gg 1$). Donc, ce qu'il se passe dans le champ de la caméra est indépendant des adhésions et du champ de concentration en aval de celui-ci. Ainsi, en prenant soin de toujours avoir la partie la plus amont du capteur dans le champ de la caméra, on considérera pour toutes nos expériences que la longueur visible du capteur dans le champ de la caméra est la longueur L sur laquelle il peut capter des particules. Cette hypothèse est cohérente avec les valeurs quantitatives que l'on mesure dans nos expériences.

2.3.3 Comparaison des résultats à la théorie convecto-diffusive

La figure 2.9 représente le taux de capture J mesuré pour des particules en fonction du Pe_S de chaque expérience. Ce taux de capture est normalisé par Dc_0W_s , qui est le taux de capture typique dans le cas d'une capture convecto-diffusive. La droite noire représente la formule théorique issue d'un équilibre entre convection et diffusion développée pour des molécules : $\frac{J_0}{Dc_0W_s} = 1.5 Pe_S^{1/3}$ (cf section 1.3.2). On observe qu'une partie des résultats est très bien reproduite par la théorie convecto-diffusive, notamment pour les plus bas nombres de Péclet. Cependant, une grande majorité des mesures expérimentales présentent des taux de capture beaucoup plus faibles que ce qui est prévu par la théorie, qui semble donc surestimer certains résultats expérimentaux. Un effet supplémentaire, spécifique aux particules et non présent dans le cas standard de la capture de molécules, doit entrer en jeu et réduire le taux de capture.

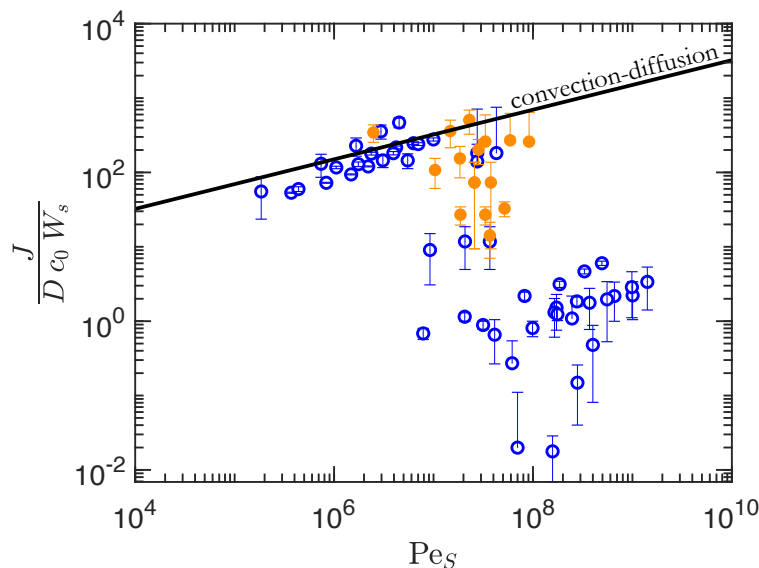


FIGURE 2.9 – Taux de capture adimensionné $\frac{J}{Dc_0W_s}$ en fonction du nombre de Péclet $Pe_S = \frac{QL^2}{DW_c H^2}$. (◦) Expériences pour une surface de capture située à 5 mm en aval de l'entrée du canal, avec $[NaCl]=10^{-2}$ M dans la solution de particules. (◌) Expériences pour une surface de capture située à 50 mm en aval de l'entrée du canal, sans ajout de NaCl dans la solution de particules. Les expériences n'ayant mené à aucune capture de particules ne sont pas représentées. (Droite noire) Modèle convecto-diffusif $\frac{J_0}{Dc_0W_s} = 1.5 Pe_S^{1/3}$.

2.3.4 Vérification de l'hypothèse de régime dilué

Jusqu'à maintenant, on a supposé les particules en régime dilué, c'est à dire qu'on a considéré qu'elles n'interagissent pas entre elles, ni par des forces électrostatiques de courte portée, ni par des interactions hydrodynamiques. Cependant, à la différence des molécules, les particules ont cette caractéristique de pouvoir influencer de manière significative leur environnement proche. Avant d'aller plus loin, nous souhaitons vérifier expérimentalement que les résultats précédents ne sont pas liés à un effet collectif. Pour un ensemble donné de paramètres expérimentaux, nous avons mesuré le taux de capture en faisant varier uniquement la concentration c_0 entre chaque expérience. Le résultat de ces expériences est représenté en figure 2.10. L'ajustement par une loi de puissance donne un exposant 1.07 ± 0.2 . La distance moyenne entre particules a été évaluée comme variant de 8 à 60 diamètres. Ces deux arguments tendent à confirmer la linéarité entre concentration et taux de capture. Cela signifie que, dans la gamme de concentration utilisée, il n'y a pas d'effet d'interaction entre les particules affectant le taux de capture.

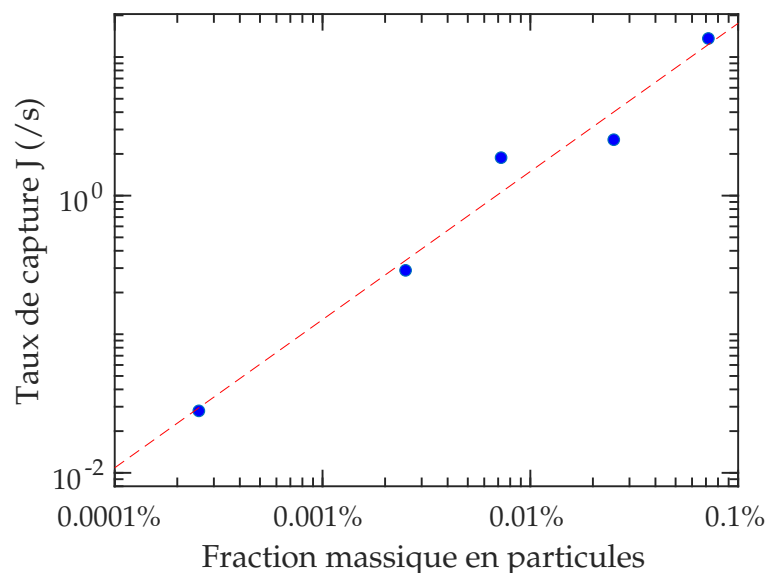


FIGURE 2.10 – (Points bleus) Évolution du taux de capture expérimental en fonction de la fraction massique en particule dans la solution injectée pour un set de paramètres expérimentaux donnés ($a = 500$ nm). (Ligne pointillée rouge) Ajustement par une loi de puissance (exposant 1.07 ± 0.2).

C'est donc un autre mécanisme qu'un effet collectif qui est responsable de cette chute du taux de capture.

2.4 Modélisation de l'influence du lift inertiel

2.4.1 La focalisation inertielle

À la lumière de ces résultats expérimentaux, des effets supplémentaires doivent être pris en compte. D'un point de vue purement hydrodynamique, des particules dans un écoulement de Poiseuille sont soumises à des forces qui se développent transversalement à la direction principale de la trajectoire de l'objet : les forces de portances inertielles, ou lift inertiel. L'existence de telles forces dans un écou-

lement laminaire a été largement étudiée depuis leur découverte par Segré et Silberberg en 1962 [14, 15].

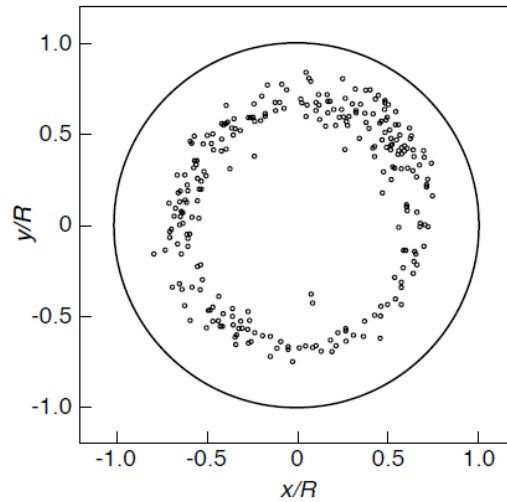


FIGURE 2.11 – Reproduction de l’expérience de Segré et Silberberg par Matas, Morris et Guazzelli. Des particules en écoulement dans un tube se focalisent sur un cercle de rayon environ égal à 0.6 fois le rayon du tube. Les observations ont été réalisées par nappe laser. Reproduit depuis [17].

Dans leurs expériences, Segré et Silberberg ont injecté une suspension de particules dans un tube. Ils ont observé qu’à la sortie du tube toutes les particules étaient localisées sur un cercle centré par rapport au tube et de rayon environ 0.6 fois le rayon du tube (cf figure 2.11). Nous soupçonnons ces forces d’entrer en jeu dans notre expérience. En effet, en éloignant les particules des parois du canal et en vidant le voisinage de la surface de capture des particules, les forces de lift pourraient réduire drastiquement le taux de capture.

Ces forces sont compliquées à expliquer simplement. La littérature a pour le moment réussi à calculer leur expression, mais sans vraiment comprendre physiquement leur origine. Elles sont nommées *inertielle*s car il est nécessaire de résoudre l’équation de Navier-Stokes entière, avec le terme d’inertie, pour les faire apparaître. Résoudre l’équation de Stokes, à *Reynolds nul*, les fait disparaître du problème.

La littérature s’accorde sur la présence de deux forces de lift inertiel. Toutes deux apparaissent en raison de la déformation du profil d’écoulement de Poiseuille $\left(v_x(z) = \frac{6Q}{W_c H^3} \left(z - \frac{H}{2}\right)^2\right)$ autour d’une particule mobile, en prenant en compte l’inertie du liquide. La première est calculée loin de toute paroi, et conduit à une force repoussant la particule vers les zones de cisaillement élevé, donc loin du centre du canal [16]. La seconde résulte d’une interaction supplémentaire avec la paroi, qui déforme différemment le champ de vitesse, générant une force qui repousse la particule loin de la paroi [18]. L’équilibre mécanique est atteint lorsque ces deux forces opposées sont de même magnitude, ce qui entraîne la focalisation des particules à des positions d’équilibre, situées entre le centre et les parois des canaux, comme illustré sur la figure 2.12.

Ainsi, on pourrait supposer que la présence de la focalisation inertielle, de part sa capacité à repousser les particules loin des parois et donc loin de la surface de capture, pourrait expliquer la diminution du taux de capture observée dans certaines de nos expériences.

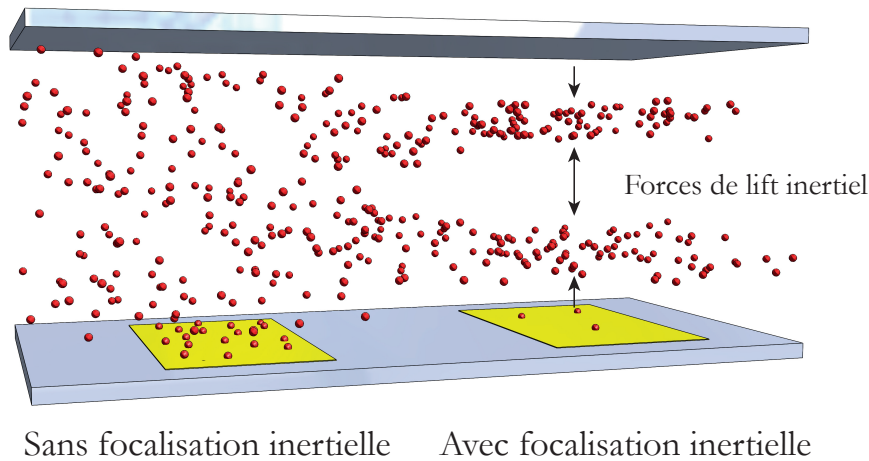


FIGURE 2.12 – Illustration du comportement attendu des particules dans le canal (à gauche) sans tenir compte des forces de lift inertiel et (à droite) en présence de ces forces.

2.4.2 Non pertinence du nombre de Reynolds

Les forces que l'on soupçonne ici tirant leur origine du terme inertiel de l'équation de Navier-Stokes, il serait légitime d'analyser l'influence du nombre de Reynolds $Re = \frac{U_m H}{\nu}$ (avec U_m la vitesse maximale du liquide au centre du canal et ν la viscosité cinématique). La figure 2.13 présente le taux de capture expérimental, normalisé par le taux de capture convecto-diffusif, tracé en fonction du nombre de Reynolds $Re \in [10^{-2}; 15]$.

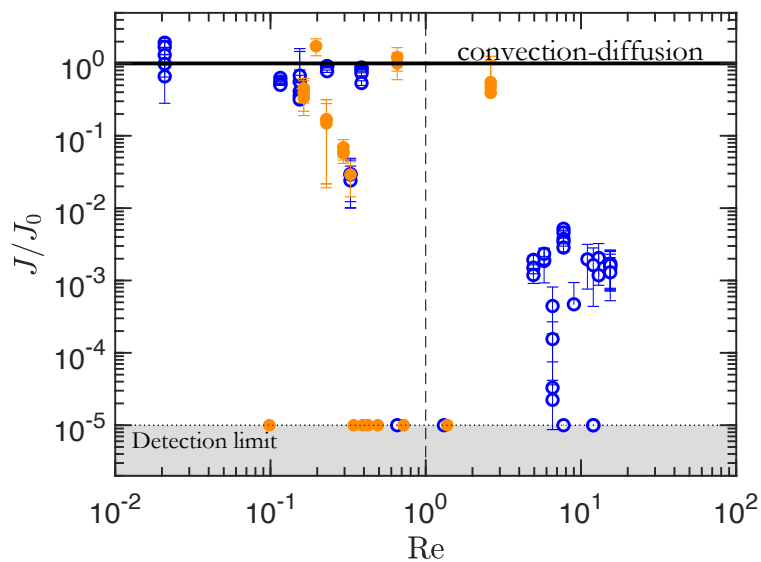


FIGURE 2.13 – Evolution du taux de capture expérimental, adimensionné par le taux de capture prévu par la théorie convecto-diffusive, en fonction du nombre de Reynolds. (◦) Expériences pour une surface de capture située à 5 mm en aval de l'entrée du canal, avec $[NaCl]=10^{-2}$ M dans la solution de particules. (◐) Expériences pour une surface de capture située à 50 mm en aval de l'entrée du canal, sans ajout de NaCl dans la solution de particules. Les expériences n'ayant mené à aucune capture de particules sont représentées à la limite de détection.

Sur cette figure, bien que le taux de capture semble globalement diminuer quand le nombre de

Reynolds augmente (comme on l'a observé avec le nombre de Péclet), aucune tendance ne peut être extraite. Par exemple, si l'on compare des expériences conduites à $Re = 3$ et $Re = 0.3$, on pourrait s'attendre à ce que la capture soit plus efficace à $Re = 0.3$, ce qui n'est pas observé de manière systématique expérimentalement. On peut donc affirmer que le nombre de Reynolds, qui compare l'intensité relative de l'inertie et de la viscosité, n'est pas le nombre pertinent pour décrire ce phénomène. Un autre nombre sans dimension, plus adapté au problème, doit être construit.

2.4.3 Vitesse, force et énergie de lift

Schonberg et Hinch ont proposé un modèle théorique résolu numériquement, permettant de calculer la valeur de la force de lift inertielle globale en différents points d'une section d'un canal [16]. Nous pouvons ajuster leur solution numérique globale par la fonction suivante :

$$V_{\text{lift}}(\tilde{z}) = V_{\text{lift}}^*(2.18\tilde{z} - 21.23\tilde{z}^3) = V_{\text{lift}}^*f(\tilde{z}) \quad (2.1)$$

où :

$$\tilde{z} = z/H \quad (2.2)$$

et où V_{lift}^* est la vitesse transverse caractéristique de lift :

$$V_{\text{lift}}^* = \frac{9}{4} \frac{a^3 Q^2}{\nu W_c^2 H^4} \quad (2.3)$$

La vitesse v est dirigée selon l'axe z car la force de lift s'exerce uniquement dans la direction du profil de Poiseuille, c'est à dire selon la direction transverse à l'écoulement où la dimension du canal est la plus faible, z dans notre cas.

La fonction $f(\tilde{z}) = 2.18\tilde{z} - 21.23\tilde{z}^3$ est représentée en figure 2.14 et présente 2 positions d'équilibre stables à $\tilde{z} \approx \pm 0.32$. Ainsi, dans un système où il n'y a pas de diffusion, toutes les particules sont déplacées latéralement par la force de lift jusqu'à l'une de ces deux positions de focalisation.

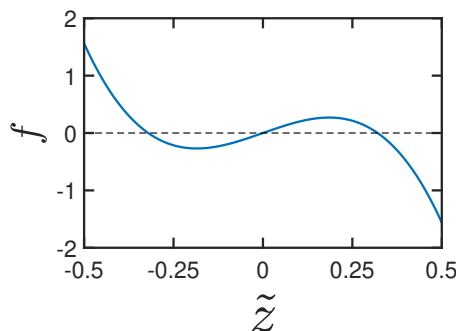


FIGURE 2.14 – Courbe de f , profil universel de vitesse transverse de lift selon la plus petite dimension du canal, en fonction de la position adimensionnée de la particule $\tilde{z} = z/H$ dans le canal.

L'expression de f est strictement valide pour des nombres de Reynolds $Re \leq 15$. Au delà, comme a pu l'observer expérimentalement Matas *et al.* [28], les positions de focalisations dépendent de la

valeur du nombre de Reynolds. Nous n'aborderons pas ce régime ici. Cependant, l'amplitude globale de la vitesse de lift reste inchangée tant que le profil de Poiseuille est maintenu.

On peut alors calculer l'expression de la force de lift en considérant l'équilibre des forces sur une particule, la force de lift étant en équilibre avec la force de traînée visqueuse $6\pi\eta a v$:

$$F_{\text{lift}} = 6\pi\eta a V_{\text{lift}}(\bar{z}) = F_{\text{lift}}^* f(\bar{z}) \quad (2.4)$$

où $F_{\text{lift}}^* = 6\pi\eta a V_{\text{lift}}^* = \frac{27\pi}{2} \frac{a^4 \rho Q^2}{H^4 W_c^2}$ est l'amplitude caractéristique de la force de lift, η est la viscosité dynamique du liquide et ρ sa masse volumique. Au vu du grand nombre d'objets en présence, il sera plus facile de travailler avec une représentation statistique des particules. Pour cela, calculons le profil d'énergie potentielle généré par le lift :

$$E_{\text{lift}} = - \int_0^{\bar{z}} F_{\text{lift}}(u) du = E_{\text{lift}}^* g(\bar{z}) \quad (2.5)$$

où $E_{\text{lift}}^* = F_{\text{lift}}^* H = \frac{27\pi}{2} \frac{a^4 \rho Q^2}{H^3 W_c^2}$ et $g(\bar{z}) = - \int_0^{\bar{z}} f(u) du = -1.09 \bar{z}^2 + 5.31 \bar{z}^4$. La forme de cette énergie, g , est représentée sur la figure 2.15. Deux minimums d'énergie sont présents en $\bar{z} = \pm 0.32$, qui correspondent aux positions d'accumulations des particules sous focalisation inertielle.

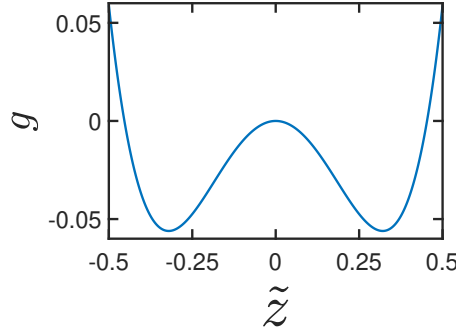


FIGURE 2.15 – Courbe de g , profil universel d'énergie potentielle de lift selon la plus petite dimension du canal, en fonction de la position adimensionnée de la particule $\bar{z} = z/H$ dans le canal.

2.4.4 Fabrication du Nombre Lifto-Diffusif

Deux temps typiques apparaissent alors. D'un côté, le temps nécessaire à une particule pour se déplacer jusqu'aux points de focalisation $t_{\text{lift}} \sim H/V_{\text{lift}}$, c'est à dire le temps nécessaire pour déformer le profil de concentration depuis un profil homogène jusqu'à un profil bi-modal, où les particules sont concentrées à deux hauteurs de focalisation. De l'autre, le temps nécessaire pour qu'une particule diffuse sur la hauteur du canal $t_{\text{diff}} \sim H^2/D$, c'est à dire le temps nécessaire pour récupérer un profil de concentration homogène. Il est alors possible de construire un nombre sans dimension basé sur le rapport entre ces deux temps caractéristiques du système. Ce nombre est appelé dans la suite le *Nombre Lifto-Diffusif* \mathcal{N}_{LD} :

$$\mathcal{N}_{LD} = \frac{t_{\text{diff}}}{t_{\text{lift}}} = \frac{27\pi}{2k_B T} \frac{Q^2 \rho a^4}{W_c^2 H^3} = \frac{E_{\text{lift}}^*}{k_B T} \quad (2.6)$$

où k_B est la constante de Boltzmann et T est la température absolue, qui sont issues de la formule de Stokes-Einstein $D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a}$. Ce nombre sans dimension peut être vu comme un nombre de Péclet explicitement écrit en fonction de la vitesse de lift inertiel.

Ce nombre permet de prendre en compte les deux mécanismes en compétition que nous avons identifié, et de prédire quel effet domine entre le lift inertiel et la diffusion. Pour $\mathcal{N}_{LD} \ll 1$, la diffusion est beaucoup plus rapide que la focalisation inertielle. Le profil devrait donc être homogène. À l'inverse, pour $\mathcal{N}_{LD} \gg 1$, les particules sont attirées aux points de focalisation bien plus vite qu'elles ne peuvent diffuser hors de celui-ci. Le profil devrait donc être piqué autour de ces deux positions. Pour des valeurs intermédiaires de \mathcal{N}_{LD} , il faut tenir compte des deux contributions, ce qui conduit à un continuum de profils de concentration entre ces deux cas extrêmes, que nous proposons de calculer explicitement dans la suite.

2.4.5 Calcul du profil de concentration théorique

Nous cherchons ici à calculer le profil de concentration des particules à l'équilibre dans un canal lorsqu'elles sont soumises à la diffusion et aux forces de lift inertiel. Nous considérons pour le moment qu'aucune surface captatrice n'est présente dans le canal.

Les particules sont considérées en régime dilué, c'est-à-dire qu'elles n'interagissent pas entre elles. Bien qu'elles soient dans un fluide porteur liquide, une statistique de Maxwell-Boltzmann, permet de traduire la compétition entre la diffusion et une force qui agit sur cet ensemble d'objets indépendants. Cette distribution semble être l'outil le plus adapté pour prédire le profil de concentration à l'équilibre. Ce profil $c(\tilde{z})$ résulte de la compétition entre l'énergie potentielle de lift $E_{\text{lift}}(\tilde{z}) = E_{\text{lift}}^* g(\tilde{z}) = \mathcal{N}_{LD} k_B T g(\tilde{z})$ et l'énergie thermique $k_B T$:

$$c(\tilde{z}) = c_0 \frac{\exp\left(-\frac{E_{\text{lift}}(\tilde{z})}{k_B T}\right)}{\int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} \exp\left(-\frac{E_{\text{lift}}(u)}{k_B T}\right) du} = c_0 \frac{\exp(-\mathcal{N}_{LD} g(\tilde{z}))}{\int_{-\frac{1}{2}}^{\frac{1}{2}} \exp(-\mathcal{N}_{LD} g(u)) du} \quad (2.7)$$

On observe que la concentration ne dépend que de \mathcal{N}_{LD} et de \tilde{z} . La figure 2.16 présente cette fonction tracée pour différentes valeurs de \mathcal{N}_{LD} . Pour $\mathcal{N}_{LD} \ll 1$ le profil de concentration tend à être homogène, alors que pour $\mathcal{N}_{LD} \gg 1$ il ressemble plus à une distribution bi-modale, ce qui est en accord avec l'interprétation que nous avons faite du Nombre Lifo-Diffusif. Entre ces deux cas extrêmes, nous voyons qu'il existe un continuum de distributions.

Afin d'étayer ces premières interprétations théoriques, ainsi que d'autres qui seront expliquées tout au long de manuscrit, nous avons développé un outil de simulations numériques Lagrangiennes présenté dans la section suivante.

2.5 Simulation Lagrangienne

2.5.1 Eulérien ou Lagrangien : choix de la stratégie de simulation

La stratégie Eulérienne

Les simulations de type éléments finis, comme celles réalisées classiquement avec le logiciel COMSOL[®], sont basées sur une approche Eulérienne, c'est à dire qu'on résout des champs (de vitesse, de concentration, ...) plutôt que de suivre chaque particule le long de sa trajectoire. Pour se faire, on découpe le volume simulé en une multitude de petits volumes élémentaires, à l'intérieur desquels on suppose les quantités (vitesse, concentration, ...) homogènes (la plupart du temps). L'avantage

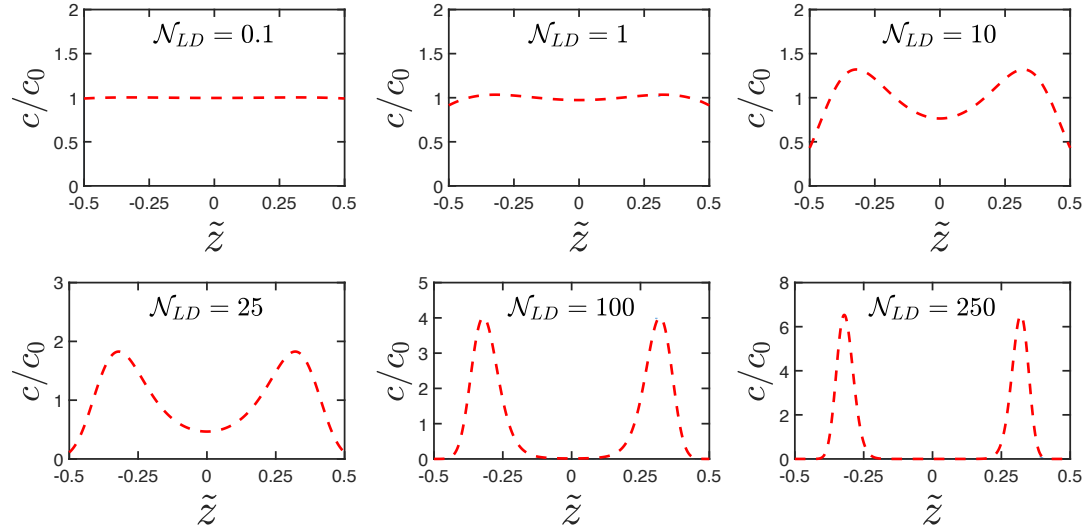


FIGURE 2.16 – Profils de concentration théorique à l’équilibre, tracés pour différentes valeurs du Nombre Lifto-Diffusif \mathcal{N}_{LD}

de cette technique est sa rapidité d’exécution. Cependant, elle est fondée sur de nombreuses hypothèses numériques implicites : quelle taille d’élément choisir, comment lisser entre les éléments, quelles conditions aux bords prendre, ... Cette technique nécessite donc d’avoir beaucoup de recul numérique sur le sujet afin de comprendre les impacts, pas toujours évidents, de ces paramètres sur les résultats. Cette solution n’a donc pas été retenue pour une première approche.

La stratégie Lagrangienne

Le but des simulations présentées ici était originellement de fournir un outil simple pour vérifier nos modèles théoriques afin de cibler les expériences les plus pertinentes à réaliser. Un outil qui engendre le moins de doute sur la véracité de ces résultats était donc à privilégier. Voici pourquoi nous nous sommes tourné vers un modèle Lagrangien.

Une simulation Lagrangienne consiste à suivre individuellement la trajectoire de chaque objet, localisé exactement dans l’espace. A chaque pas de temps, les forces appliquées sur chaque objet sont calculées puis l’objet est déplacé en fonction. C’est ce qui est fait, par exemple, à l’échelle atomique dans le cas de la dynamique moléculaire. L’avantage de ces simulations est qu’une fois les ingrédients choisis, le nombre de paramètres numériques à ajuster est très restreint : l’absence de maillage enlève déjà de nombreuses complications, les calculs sont explicites, ce qui empêche toute divergence du code (pas d’inversion de matrice), et c’est globalement un pas de temps suffisamment fin qui va régir la justesse des résultats.

2.5.2 Calcul de la trajectoire des particules

Les particules sont considérées indépendantes les unes des autres et n’interagissent pas entre elles. Elles sont toutes initialisées à une distance $-x_0$, identique pour toutes, et à une hauteur z comprise aléatoirement^b entre $H/2$ et $-H/2$. Leur emplacement selon la direction y n’a pas d’importance

^b. La fonction *rand* de matlab a été utilisée pour générer les positions de départ.

et ne sera pas prise en compte dans la simulation. A chaque pas de temps dt , chaque particule est soumise aux mouvements suivants, dans cet ordre :

Convection

Les particules évoluent dans un liquide dont le champ de vitesse a un profil de Poiseuille. En connaissant la position de chaque particule au début du pas de temps, il est possible d'en déduire leur vitesse. A chaque pas de temps, les particules avancent selon la direction x d'une distance :

$$dx = \frac{6Q}{WH^3} \left(\frac{H}{2} + z \right) \left(\frac{H}{2} - z \right) dt \quad (2.8)$$

Focalisation inertielle

On calcule ensuite le mouvement des particules via les forces de lift. A chaque pas de temps, les particules sont déplacées selon la direction z d'une distance :

$$dz = \frac{9}{4} \frac{a^3 Q^2}{\nu W_c^2 H^4} f\left(\frac{z}{H}\right) dt \quad (2.9)$$

Diffusion

Pour simuler un mouvement diffusif, chaque particule bouge d'un pas de longueur $\sqrt{6Ddt}$ dans une direction 3D aléatoire. La valeur du coefficient de diffusion des particules est calculé via la loi de Stokes-Einstein [29] :

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta a} \quad (2.10)$$

Afin que le mouvement de la particule reproduise bien un mouvement diffusif, il est essentiel de vérifier :

- Que l'on tire une direction aléatoire dans un espace 3D. Même si la simulation se fera généralement en 2D, la direction y n'ayant pas d'importance, il se peut que la particule diffuse intégralement selon la direction y , menant à un mouvement nul sur les axes x et z . Ce genre de comportement ne pourrait pas arriver en tirant une direction 2D aléatoirement.
- Que les directions tirées soient réparties de manière homogène dans l'espace 3D. La manière la plus simple de le faire est de tirer aléatoirement les angles θ et ϕ des coordonnées sphériques pour choisir la direction de diffusion.

Gestion des particules hors limite

Dans cette simulation, on cherche uniquement à calculer le profil de concentration. Aucune surface réactive n'est présente et aucune adsorption n'est autorisée. Cependant, après la diffusion, il est possible que des particules se retrouvent à des positions $z > H/2$ ou $z < -H/2$, comme si elles avaient diffusé à travers la paroi. Cette situation ne représente rien de physique et est juste le fruit d'un biais numérique qu'il faut supprimer via le choix d'une règle pour ré-intégrer les particules dans le volume simulé. Différentes règles peuvent être envisagées notamment annuler le dernier mouvement, ou retenter jusqu'à trouver un mouvement valide. Après test, l'annulation du dernier mouvement mène à des biais statistiques très importants, notamment à des surconcentrations en objets près des parois. Retenter jusqu'à trouver un mouvement valide est une règle qui n'amène pas de biais statistique mais qui peut allonger notablement le temps de calcul, notamment sur Matlab car cela oblige à adopter une notation en boucle for et non une notation matricielle, beaucoup plus rapide. La règle optimale

est la condition miroir, qui reproduit les statistiques de "retenter jusqu'à trouver un mouvement valide", mais qui s'exécute beaucoup plus rapidement. Si une particule termine son mouvement en $H/2 + \epsilon$ (respectivement $-H/2 - \epsilon$), elle est alors déplacé en $H/2 - \epsilon$ (respectivement $-H/2 + \epsilon$).

Sortie du canal

Les particules ont été initialisées en $-x_0$. Si des particules ont dépassés $x = 0$ à ce moment de l'algorithme, leur position selon z est enregistrée comme position finale et elles sont effacées de la population des objets simulés afin d'accélérer le temps de calcul de la fin du code. Une fois toute les particules effacées, le code s'arrête et calcule l'histogramme de la position de sortie des particules.

2.5.3 Choix du pas de temps

Le pas de temps est calculé automatiquement par l'algorithme afin de s'assurer que ni le mouvement par convection, ni le mouvement par diffusion, ni le mouvement dû au lift ne soient sous échantillonnés. Pour cela, le code détermine tout d'abord la distance la plus contraignante pour chaque mouvement : H pour le lift, x_0 pour la convection et $\min(H, x_0)$ pour la diffusion. On considère qu'aucun mouvement ne doit déplacer un objet de plus de 1% de cette distance durant dt afin de l'échantillonner correctement. On calcule donc les pas de temps qui génèrent un déplacement de cette distance pour chaque type de mouvement.

Pour la convection :

$$dt_{\text{conv}} = \frac{x_0}{100U_m} \quad (2.11)$$

Pour le lift :

$$dt_{\text{lift}} = \frac{\nu H^3}{100 f a^3 U_m^2} \quad (2.12)$$

f étant une variable de z , on prend son maximum, 1.5, ce qui donne :

$$dt_{\text{lift}} = \frac{\nu H^3}{150 a^3 U_m^2} \quad (2.13)$$

Et pour la diffusion :

$$dt_{\text{diff}} = \frac{(\min(H, x_0))^2}{6 \cdot 10^4 D} \quad (2.14)$$

Ainsi, le pas de temps qui assure qu'on ne sous-échantillonne aucun mouvement est calculé automatiquement par l'algorithme comme étant le minimum de ces trois pas de temps.

2.5.4 Simulation du profil de concentration à l'équilibre en fonction de \mathcal{N}_{LD}

Ce code a été utilisé pour simuler le profil de concentration à l'équilibre calculé théoriquement en équation (2.7). Pour chaque jeu de paramètres expérimentaux choisis (débit Q , rayon des particules a , hauteur H et largeur W_c du canal), correspondant à une valeur de \mathcal{N}_{LD} donnée, la simulation a été réalisée pour différentes longueurs de canal x_0 , de valeur croissante, jusqu'à convergence du résultat. En procédant de cette manière, on s'assure de calculer le profil à l'équilibre.

On obtient typiquement les résultats présentés en figure 2.17, qui sont en excellent accord avec les profils calculés théoriquement avec l'équation (2.7). Cela nous permet de conclure que nous savons comment le lift inertiel déforme le profil de concentration au sein du microcanal. Afin de prouver que c'est bien le lift qui est responsable de la chute du taux de capture observée précédemment, il faut désormais relier quantitativement cette déformation du profil aux performances de capture pour pouvoir comparer notre modèle aux résultats expérimentaux.

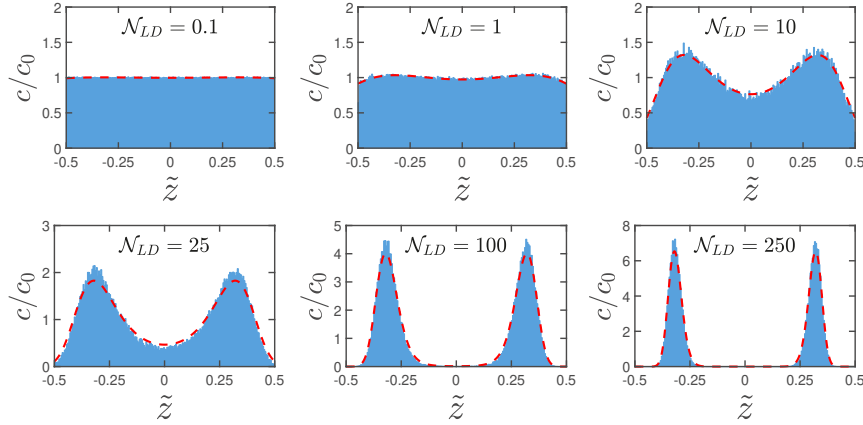


FIGURE 2.17 – Profils de concentration à l'équilibre pour différentes valeurs du Nombre Lifto-Diffusif \mathcal{N}_{LD} obtenus (histogramme bleu) par simulations Lagrangiennes ou (courbe pointillée rouge) par l'équation (2.7).

2.6 Établissement d'une loi de capture sous focalisation inertielle

2.6.1 Loi théorique

On cherche ici à déterminer quantitativement le taux de capture de particules en prenant en compte la convection, la diffusion et le lift inertiel. Le taux de capture de référence $J_0 = 1.5c_0DW_S\text{Pe}_S^{1/3}$ est calculé dans le cas d'un profil de concentration homogène en amont de la surface captatrice. En tenant compte du lift inertiel ($\mathcal{N}_{LD} > 1$), la région proche des parois ($\tilde{z} \simeq \pm 1/2$) en amont de la surface de capture est appauvrie en particules, comme illustré en figure 2.18. La concentration globale c_0 doit donc être remplacée par la concentration réelle en particules c^* entrant au voisinage de la surface de capture, $c^* = c(\tilde{z} = -1/2) = \xi c_0$, où :

$$\xi = \frac{c(\tilde{z} = -\frac{1}{2})}{c_0} = \frac{\exp(-0.059 \mathcal{N}_{LD})}{\int_{u=-\frac{1}{2}}^{+\frac{1}{2}} \exp(-\mathcal{N}_{LD} g(u)) du} \quad (2.15)$$

La loi de capture est alors modifiée comme suit :

$$J = \left(1.5DW_S\text{Pe}_S^{\frac{1}{3}}\right) c^* = \xi J_0 \quad (2.16)$$

ξ correspond donc à une correction multiplicative par rapport à la théorie classique de la capture sous convection-diffusion. La table 2.1 indique l'évolution de la valeur de ξ en fonction de \mathcal{N}_{LD} , son seul paramètre.

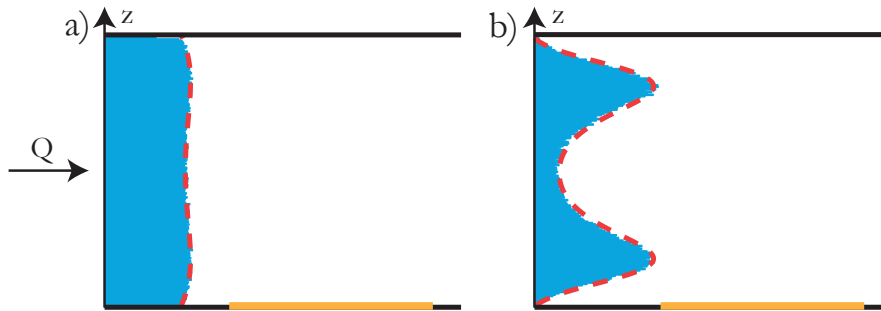


FIGURE 2.18 – Illustration schématique du mécanisme de réduction du taux de capture par focalisation inertielle. **(a)** Situation à bas \mathcal{N}_{LD} . **(b)** Situation à haut \mathcal{N}_{LD} .

\mathcal{N}_{LD}	ξ
0,01	9,99E-01
0,1	9,92E-01
1	9,19E-01
3	7,76E-01
5	6,53E-01
7	5,48E-01
10	4,20E-01
15	2,67E-01
20	1,67E-01
25	1,04E-01
30	6,39E-02
35	3,89E-02
40	2,36E-02
45	1,42E-02
50	8,46E-03
60	2,97E-03
70	1,03E-03
80	3,51E-04
90	1,19E-04
100	3,98E-05
150	1,57E-07
200	5,77E-10

TABLE 2.1 – Variation de ξ en fonction du Nombre Lifo-Diffusif \mathcal{N}_{LD} .

2.6.2 Vérification expérimentale

Afin de vérifier ce modèle nous avons tracé, sur la figure 2.19, le taux de capture expérimental J normalisé par le taux de capture prévu par la théorie convecto-diffusive J_0 , c'est à dire ξ (cf équation (2.16)), en fonction de \mathcal{N}_{LD} . On remarque que le modèle prédit les résultats expérimentaux sans aucun paramètre d'ajustement, et ce sur plus de 4 décades de valeurs de \mathcal{N}_{LD} , ce qui montre que l'écart observé par rapport à une description purement convecto-diffusive s'explique très bien grâce aux forces de lift inertiel.

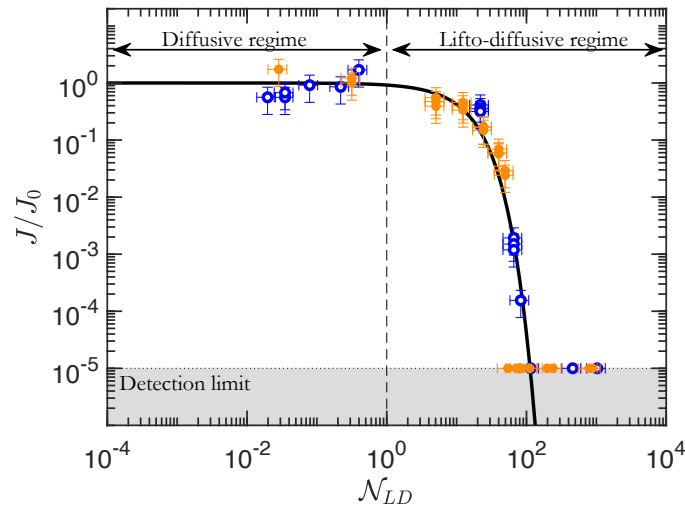


FIGURE 2.19 – Taux de capture adimensionné J/J_0 en fonction du Nombre Lifo-Diffusif \mathcal{N}_{LD} . (◦) Expériences pour une surface de capture située à 5 mm en aval de l'entrée du canal, avec $[\text{NaCl}] = 10^{-2}$ M dans la solution de particules. (◐) Expériences pour une surface de capture située à 50 mm en aval de l'entrée du canal, sans ajout de NaCl dans la solution de particules. Les expériences n'ayant mené à aucune capture de particules sont représentées à la limite de détection.

Il est intéressant de noter que le comportement de capture présenté ici est fortement abrupte et non linéaire. Alors que dans la région $\mathcal{N}_{LD} < 1$ le taux de capture est stable, rendant cette zone expérimentale idéale pour des applications d'analyse, dans la région $\mathcal{N}_{LD} > 1$, le taux de capture chute très rapidement. Par exemple, partant d'une expérience originellement réalisée à $\mathcal{N}_{LD} = 30$, le simple fait de doubler le débit, amenant le \mathcal{N}_{LD} à 120, divise son taux de capture par 15 000^c. Cette chute brutale du taux de capture à $\mathcal{N}_{LD} > 1$ peut être un atout pour des applications où l'adhésion de particules doit être évitée.

2.6.3 Utilisation simplifiée

L'utilisation de l'équation (2.15) ou encore de la table 2.1 peut être fastidieuse au quotidien. Pour un usage en routine, tant que $\mathcal{N}_{LD} \leq 70$, les valeurs de ξ peuvent être approximées à moins de 15 % d'erreur^d par :

$$\xi \simeq \exp(-0.096 \mathcal{N}_{LD}) \quad (2.17)$$

c. Dans ce raisonnement, on fait l'approximation J_0 constant pour simplifier l'explication, ce qui reste raisonnable quand Q est multiplié par 2 car $J_0 \sim Q^{1/3}$.

d. L'erreur est d'autant plus grande que le \mathcal{N}_{LD} est grand.

De manière pratique, nous pouvons aussi définir le débit critique $Q_c = Q(\mathcal{N}_{LD} = 1)$ au-delà duquel des effets de lift apparaissent dans un système :

$$Q_c = \sqrt{\frac{2k_B T W_c^2 H^3}{27\pi\rho a^4}} \quad (2.18)$$

Ainsi, pour une géométrie de canal donnée, un utilisateur peut calculer le débit maximal qu'il ne doit pas dépasser s'il veut s'affranchir de tout effet de lift.

2.7 Analyse du régime transitoire

Nous avons, jusqu'à présent, supposé que le profil de concentration avait atteint sa valeur d'équilibre lorsqu'il atteignait la surface de capture. Cependant, le profil de concentration évolue d'un profil homogène à l'entrée du canal, vers le profil d'équilibre, c'est donc un phénomène progressif. A bas Reynolds, la vitesse du liquide est dépendante de z , suivant un profil de Poiseuille : les particules proches de la paroi parcourent une distance plus faible que les particules au centre pendant la même durée. Dit autrement, dans une section du canal le temps de résidence est plus élevé près des parois qu'au centre du canal. Ainsi, si on suppose qu'un volume de liquide a besoin d'un temps fixe pour relaxer vers sa concentration d'équilibre, on comprend bien que le centre du canal ($z \approx 0$, où les particules vont vite) va atteindre sa concentration d'équilibre bien plus loin de l'entrée que le volume proche de la paroi ($z \approx \pm H/2$, où les particules vont lentement).

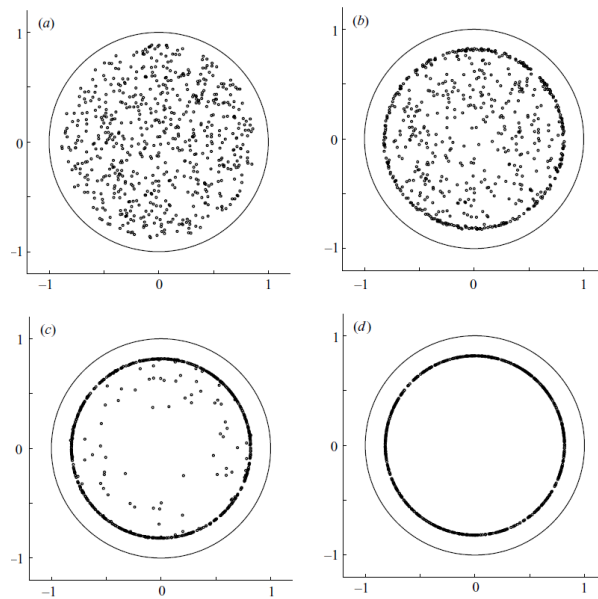


FIGURE 2.20 – Mesures expérimentales de la position de particules au sein d'un cylindre sous écoulement, observées par une nappe laser. L'observation est réalisée (a) à l'entrée du tube, (b) après 6 diamètres, (c) après 25 diamètres et (d) après 50 diamètres. Figure reproduite depuis [28]

Ce phénomène a déjà été observé expérimentalement par Matas, Morris et Guazzelli [28] pour des $\mathcal{N}_{LD} \gg 1$ (focalisation totale), dans un tube cylindrique, illustrée en figure 2.20. Dans leur expérience, au vu de la valeur du \mathcal{N}_{LD} , le profil d'équilibre correspond à une absence de particules en dehors des points de focalisation. On observe que la zone proche des parois présente très vite peu de particules,

alors que le centre du canal atteint sa concentration d'équilibre beaucoup plus loin dans le tube. On peut d'ailleurs observer que sur la figure 2.20a, où les auteurs observent la répartition des particules à l'entrée du tube, la zone toute proche de la paroi est déjà vidée de ses particules.

On peut illustrer cela de manière plus quantitative grâce aux simulations Lagrangiennes. Nous avons réalisé une même simulation plusieurs fois en changeant uniquement la longueur de canal. En figure 2.21 sont représentés les résultats de la simulation sur lesquels est superposée la courbe analytique de la concentration d'équilibre.

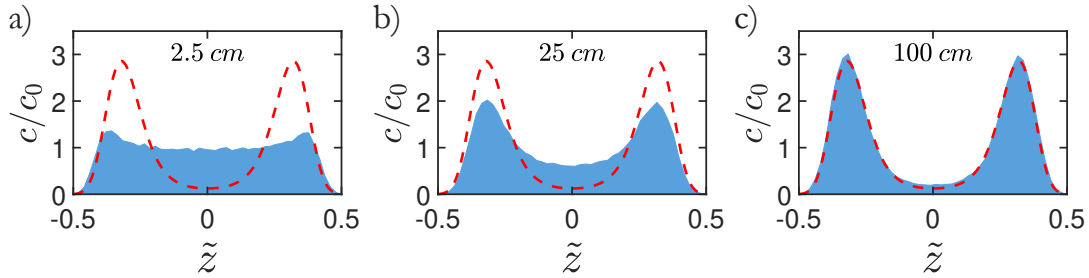


FIGURE 2.21 – Profil de concentration des particules pour différentes positions x le long du canal. (a) $x = 2.5$ cm (b) $x = 25$ cm (c) $x = 100$ cm (Histogramme bleu) Simulations Lagrangiennes pour $\mathcal{N}_{LD} = 56$, $Q = 5 \mu\text{L}/\text{min}$, $a = 500$ nm, $H = 20 \mu\text{m}$ et $W_c = 100 \mu\text{m}$. (Ligne pointillée rouge) Profil théorique à l'équilibre.

Considérons une zone où la concentration a atteint sa valeur d'équilibre dû aux forces de lift uniquement sur une distance $\mathcal{H}(x)$ de la paroi (représenté sur la figure 2.22). Nous appellerons dans la suite cette distance $\mathcal{H}(x)$ couche limite de lift. Le temps d'équilibre nécessaire pour créer cette zone est typiquement de $t \simeq \frac{\mathcal{H}}{V_{\text{lift}}}$, où $V_{\text{lift}} = \frac{9}{4} \frac{a^3 Q^2}{v W_c^2 H^4}$ est la vitesse transversale typique des particules soumises aux forces de lift inertiel. Dans le même temps, la particule se déplace sur une distance typique $x = v_x t \simeq \frac{Qh}{W_c H^2} t \simeq \frac{W_c H^2 v}{a^3 Q} \mathcal{H}^2$. L'évolution de la couche limite de lift \mathcal{H} est donc donnée par :

$$\mathcal{H}(x) \simeq \left(\frac{a^3 Q}{W_c H^2 v} x \right)^{1/2} \quad (2.19)$$

Ce qu'il est fondamental de noter, c'est qu'il n'est pas nécessaire d'atteindre le profil d'équilibre pour que la théorie de la capture présentée précédemment soit valable. En effet, l'équation (2.19) montre clairement que le profil de concentration près de la surface de capture ($\mathcal{H} \simeq 0$) atteint l'équilibre dès l'entrée du canal ($x \simeq 0$), ce qui est effectivement observé sur les simulations Lagrangiennes (figure 2.21) et les expériences de Matas et Guazzelli (figure 2.20). Cette propriété essentielle implique que, même si l'équilibre n'est pas atteint sur toute l'épaisseur du canal, les effets de lift inertiel affectent l'adhésion sur la surface. D'un point de vue pratique, il n'est pas nécessaire de fabriquer des systèmes de plusieurs dizaines de centimètres, l'équilibre inertio-diffusif près des parois est atteint dès l'entrée du canal. Par conséquent, le modèle est valable quelle que soit la position de la surface de capture le long du canal.

2.8 Effet des forces attractives de courte portée

Actuellement, le modèle considère que les particules ne subissent pas d'interactions attractives ou répulsives avec la surface captatrice. Cependant, il peut arriver que des interactions à courte dis-

tance, comme les interactions électrostatiques, entrent en jeu et modifient l'analyse ci-dessus [20, 30, 31]. En effet, dans nos expériences, les particules sont chargées négativement et la surface de capture est chargée positivement, d'où la présence d'interactions électrostatiques attractives. Leur amplitude varie avec $e^{(-d/\lambda_D)}$ où d est la distance entre les deux surfaces chargées et λ_D est appelée la longueur de Debye [20]. Cette longueur diminue dans l'eau de $1 \mu\text{m}$ à 1 nm lorsque la concentration en ion augmente, en particulier en ion NaCl ($\lambda_D \sim 1/\sqrt{[\text{NaCl}]}$). Cette longueur représente la portée typique des forces électrostatiques. Ces forces vont avoir pour effet d'attirer les particules dans leur portée jusqu'à la surface de capture. En quoi la présence de ces forces modifie les conclusions précédentes?

2.8.1 Résultats expérimentaux supplémentaires

Des expériences ont été réalisées dans différents cas de figure et les résultats sont tracés sur la figure 2.23. Les expériences représentées par des cercles noirs ont été réalisées sans sel et proche de l'entrée du canal (figure 2.22 zone a). D'autres expériences, représentées par des cercles bleus, ont été réalisées en plaçant la surface de capture plus loin de l'entrée, laissant ainsi une plus grande distance à la couche limite de lift \mathcal{H} pour se propager (figure 2.22 zone c). Enfin, une dernière série d'expériences, représentée par des cercles oranges, a été réalisée proche de l'entrée, mais en ajoutant du sel à la solution, réduisant ainsi λ_D (figure 2.22 zone b).

On observe que les résultats réalisés sans sel à l'entrée du canal (cercles noirs) donnent dans l'ensemble des taux de capture supérieurs, voir très supérieurs à ce qui est attendu avec notre modèle, alors que les autres expériences sont parfaitement reproduites par le modèle.

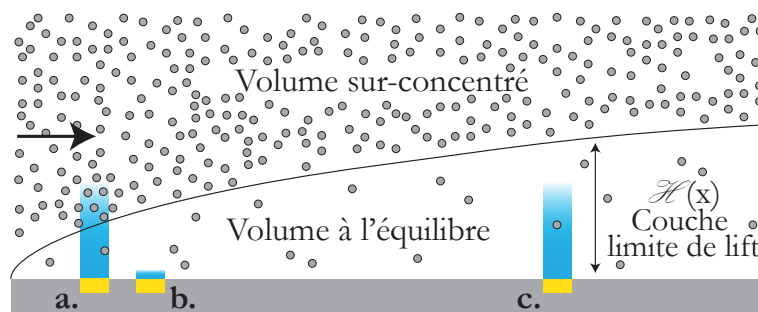


FIGURE 2.22 – Effet des interactions électrostatiques sur la capture des particules. Les surfaces de capture sont représentées en jaune et la portée d'attraction des interactions électrostatiques (la longueur de Debye λ_D) en bleu. L'écoulement se fait de la gauche vers la droite. La ligne pleine représente la couche limite de lift \mathcal{H} sur laquelle la concentration est à l'équilibre, prédite par l'équation (2.19). (a) $\lambda_D > \mathcal{H}$. (b-c). Régime lifto-diffusif. Dans les deux cas, $\mathcal{H} > \lambda_D$, soit à cause de la réduction de λ_D par ajout de sel (b), soit en plaçant la surface de capture loin de l'entrée, ce qui augmente \mathcal{H} (c).

2.8.2 Discussion

Pour des raisons de clarté, on rappelle ici les différentes longueurs vues jusqu'à présent :

- λ_D : la longueur de Debye. Les particules situées à une distance inférieure à λ_D de la surface captatrice y sont attirées.
- l_d : la longueur de déplétion. La distance à la surface captatrice en dessous de laquelle la diffusion l'emporte sur la convection. Toutes les particules situées à une distance de la surface captatrice inférieure à l_d sont captées par diffusion.

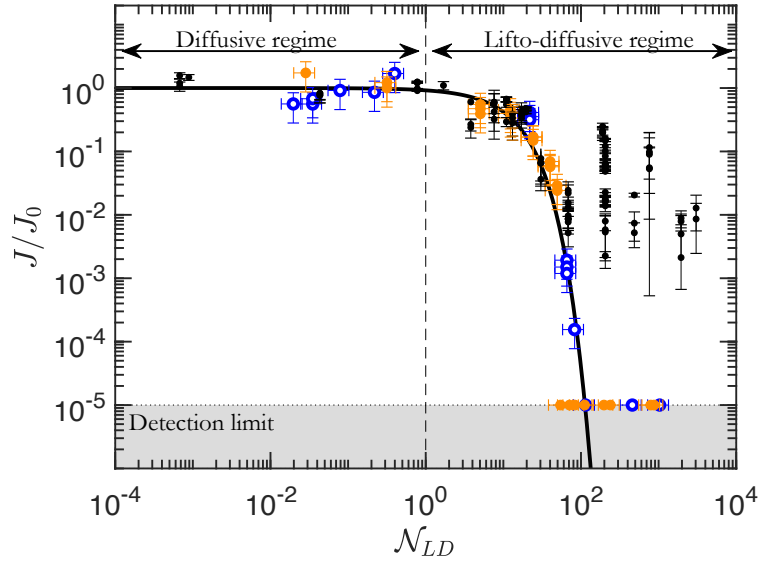


FIGURE 2.23 – Taux de capture adimensionné J/J_0 en fonction du Nombre Lifto-Diffusif \mathcal{N}_{LD} . (◦) Expériences pour une surface de capture située à 5 mm en aval de l’entrée du canal, sans ajout de NaCl dans la solution de particules. (◐) Expériences pour une surface de capture située à 5 mm en aval de l’entrée du canal, avec $[\text{NaCl}] = 10^{-2}$ M dans la solution de particules. (◑) Expériences pour une surface de capture située à 50 mm en aval de l’entrée du canal, sans ajout de NaCl dans la solution de particules. Les expériences n’ayant mené à aucune capture de particules sont représentées à la limite de détection.

- $\mathcal{H}(x)$: la couche limite de lift. Le profil de concentration est à l’équilibre en tout point plus proche qu’une distance $\mathcal{H}(x)$ de la paroi.

Pour comprendre le rôle joué par les interactions électrostatiques, il est nécessaire de comparer la longueur de la portée des ces interactions (λ_D) aux deux longueurs associées à l’équilibre actuel : la convection/diffusion (l_d) et le lift (\mathcal{H}).

- Dans nos expériences, la hauteur de la couche de déplétion $l_d = \left(\frac{LDH^2W_c}{6Q}\right)^{1/3}$, décrite dans la section 1.3.2, est en moyenne de 2 à 3 μm pour nos expériences. Pour rappel, l_d est la distance en dessous de laquelle une particule atteint forcément la surface de capture par diffusion durant son passage au dessus de la surface. Étant donné que $\lambda_D < 1\mu\text{m}$, $\lambda_D < l_d$. Ainsi, même si les forces électrostatiques attirent les particules situées à 1 μm de la surface, ces particules l’auraient atteint d’elle même par diffusion. Il faut donc comparer λ_D et \mathcal{H} .
- Si $\lambda_D > \mathcal{H}$, (figure 2.22 zone a), la force d’attraction peut agir sur des particules hors équilibre lorsqu’elles passent au dessus de la surface de capture. Sans attraction électrostatique, ces particules devraient être éloignées de la paroi par la force de lift et ne devraient théoriquement pas être capturées. La présence d’une nouvelle force dans la balance change l’équilibre des forces. En ayant une portée λ_D plus importante que l’épaisseur de la couche limite de lift \mathcal{H} , les forces électrostatiques peuvent attirer des particules qui se trouvent au delà de cette couche limite et augmenter ainsi le signal de capture. Calculer quantitativement le nombre de particules qui vont être capturées demande une analyse plus fine qui n’est pas abordée ici, mais elle sera de fait supérieure à ce que nous annonçons. C’est notamment ce qui se passe ici avec les expériences réalisées proches de l’entrée du canal (cercles noirs).

- Dans le cas contraire, si $\lambda_D < \mathcal{H}$ (figure 2.22 zone b et c), les forces attractives ne peuvent attirer que des particules à l'équilibre, à $1 \mu\text{m}$ ou moins de la surface, qui l'auraient atteint par diffusion de toutes façons comme nous l'avons vu ci-dessus. Les forces électrostatiques ne changent donc pas l'équilibre des effets en présence dans ce cas de figure. C'est ce qu'on observe avec les expériences réalisées loin de l'entrée du canal, permettant d'augmenter fortement le valeur de \mathcal{H} (cercles oranges) ou avec les expériences réalisées avec du sel, proches de l'entrée du canal, ce qui réduit fortement la valeur de λ_D (cercles bleus). Les résultats de ces deux groupes d'expériences sont parfaitement prédits par le modèle lifto-diffusif.

En somme, notre approche reste valide tant que la surface captatrice est placée dans une zone où l'épaisseur de la couche de Debye λ_D est plus petite que la couche limite de lift \mathcal{H} .

2.9 Développement du logiciel LiDi : faciliter l'utilisation de l'effet de focalisation inertielle

Afin de faciliter l'utilisation de la focalisation inertielle dans le développement de nouveaux systèmes de bioanalyse, nous avons développé un logiciel avec une interface utilisateur, *LiDi*, basé sur les résultats présentés dans ce chapitre. Celui ci permet, sans besoin d'un ordinateur puissant ni de licence particulière, de calculer automatiquement les valeurs de \mathcal{N}_{LD} , de ξ et de Q_c d'une configuration expérimentale particulière, ainsi que le profil de concentration à l'équilibre et transitoire à n'importe quel endroit du canal, sans besoin d'aucune intervention technique de l'utilisateur. Ce logiciel est disponible gratuitement à l'adresse <http://lidi.ens-rennes.fr/download>.

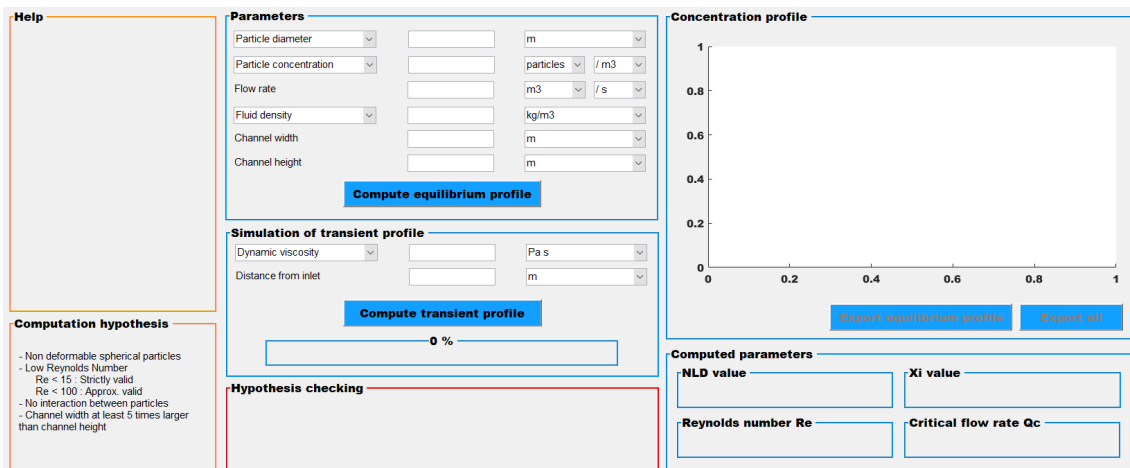


FIGURE 2.24 – Interface du logiciel LiDi.

Nous détaillons succinctement ici les différentes possibilités offertes par l'interface de *LiDi*, représentée en figure 2.24, composée de 7 panneaux (de gauche à droite) :

- Le panneau **Help** affiche des informations sur tout élément sur lequel le pointeur de la souris se trouve.
- Le panneau **Computation hypothesis** rappelle les hypothèses physiques à respecter sous lesquelles le logiciel donne des résultats corrects.

- c Le panneau **Parameters** est rempli par l'utilisateur. Chaque paramètre dispose de plusieurs unités disponibles pour s'adapter aux usages de chacun. L'utilisateur peut ensuite cliquer sur le bouton *Compute equilibrium profile* pour lancer le calcul, ce qui va afficher le profil de concentration d'équilibre ainsi que les valeurs de \mathcal{N}_{LD} , ξ et Q_c correspondant aux paramètres expérimentaux indiqués.
- d Le panneau **Simulation of transient profile** permet à l'utilisateur de rentrer les paramètres supplémentaires nécessaires pour calculer un profil de concentration transitoire. Une fois les paramètres rentrés, l'utilisateur peut cliquer sur le bouton *Compute transient profile*. Ce calcul se base sur une simulation. Il est donc plus long et n'est pas forcément nécessaire à chaque fois, d'où un onglet séparé. Une barre de progression indique l'avancement de la simulation une fois celle-ci lancée.
- e Le panneau **Hypothesis checking** affiche des messages d'avertissement après le calcul si des paramètres rentrés par l'utilisateur ne semblent pas physiques ou entrent en contradiction avec les hypothèses décrites dans le panneau *Computation hypothesis*.
- f Le panneau **Concentration profile** affiche le profil de concentration à l'équilibre (via une courbe bleu foncée) et transitoire (via un histogramme bleu clair). Une fine ligne rouge pointillée est tracée pour représenter le profil initial plat, afin de se représenter aisément l'échelle. Un exemple de résultat est présenté en figure 2.25. Deux boutons permettent l'exportation des profils (à l'équilibre uniquement ou les deux profils). Les paramètres correspondants sont également enregistrés.
- g Le panneau **Computed parameters** affiche les valeurs de \mathcal{N}_{LD} , ξ , Q_c et Re .

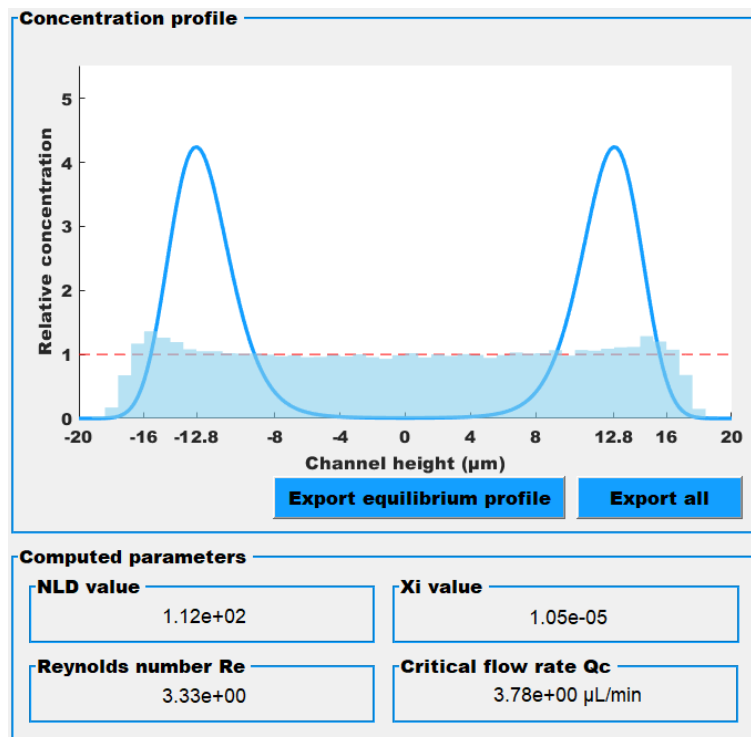


FIGURE 2.25 – Exemple de résultats calculés par le logiciel LiDi. Les valeurs exacts des profils peuvent être obtenus sous différents formats de fichiers.

2.10 Conclusion du chapitre

Dans ce chapitre, nous avons présenté une étude expérimentale, numérique et théorique concernant l'adhésion de particules diluées sur une surface fonctionnalisée, soumises à la convection, à la diffusion et au lift inertiel dans un écoulement de Poiseuille à faible nombre de Reynolds. Nous avons montré que le paramètre sans dimension pertinent pour décrire le problème est le Nombre Lifto-Diffusif \mathcal{N}_{LD} , qui régit la forme du profil de concentration d'équilibre des particules au sein du canal.

Deux régimes de capture ont été prédits et observés. Le premier régime, $\mathcal{N}_{LD} \ll 1$ optimise la capture des particules, tandis que dans l'autre, $\mathcal{N}_{LD} \gg 1$, l'hydrodynamique repousse les particules loin de la surface et empêche leur adhésion. Nous avons montré l'existence d'un continuum entre ces deux cas extrêmes. Le régime effectif peut être modifié en changeant la valeur du \mathcal{N}_{LD} , ce qui correspond, pour un canal donné, à modifier la valeur du débit. Nous pensons que pouvoir prévoir et régler le régime dans lequel fonctionne un dispositif d'analyse peut-être un outil d'aide important pour garantir son efficacité, que ce soit pour optimiser la capture des particules ou, au contraire, pour empêcher leur adhésion.

Cependant, des questions restent encore en suspens :

- Les particules étudiées ici ont une densité très proche de celle du liquide porteur (3 % d'écart). Dans le cas contraire, la sédimentation pourrait être un nouvel effet à prendre en compte dans l'équation. Jusqu'à quelle densité peut-on encore la négliger? Quelle rôle joue t-elle sur le taux de capture après cela?
- Que deviendraient les lois de capture si la surface réactive n'était pas solide, mais liquide, comme dans le cas des émulsions de pickering? Deux mécanismes seraient très probablement impliqués :
 - l'interaction hydrodynamique entre les particules et la paroi déformable (d'une autre nature que le lift inertiel).
 - la mobilité des particules au sein même de l'interface.
- Que se passe t-il si la particule elle-même est déformable? C'est l'objet du chapitre suivant.

Pour résumer

- Le nombre de particules qui s'adsorbent par seconde sur une surface fonctionnalisée sous écoulement est mesuré expérimentalement.
- Une différence est observée par rapport à la théorie convecto-diffusive. Certaines valeurs sont beaucoup plus faibles que prévues.
- Théoriquement, le lift inertiel pourrait être responsable d'un appauvrissement de la concentration en particules proche de la surface de capture, expliquant ces mesures. Les particules sont également soumises à la diffusion qui tend à homogénéiser leur concentration. Le nombre sans dimension pertinent pour décrire la compétition de ces deux mécanismes est donné par :

$$\mathcal{N}_{LD} = \frac{27\pi}{2k_B T} \frac{Q^2 \rho a^4}{W_c^2 H^3}$$

- Un outil de simulation Lagrangienne est développé, et confirme l'interprétation théorique. Pour des $\mathcal{N}_{LD} > 1$, le voisinage de la surface est appauvri en particules.
- Une loi de capture est proposée, prenant en compte cet effet, et est vérifiée expérimentalement, sans aucun paramètre d'ajustement. Pour les particules, un facteur correctif multiplicatif ξ doit être ajouté dans la loi de capture convecto-diffusive :

$$\xi = \frac{J}{J_0} = \frac{\exp(-0.059 \mathcal{N}_{LD})}{\int_{u=-\frac{1}{2}}^{+\frac{1}{2}} \exp(-\mathcal{N}_{LD} g(u)) du} \simeq \exp(-0.096 \mathcal{N}_{LD})$$

- Le profil de concentration d'équilibre proche des parois étant atteint dès l'entrée du canal, la loi précédente reste valide même si le régime d'équilibre n'est pas atteint sur toute la section du canal.
- Cependant, afin que les résultats précédents restent valides, la longueur de Debye λ_D doit être inférieure à la longueur de la couche limite de lift $\mathcal{H}(x)$ sur laquelle les particules sont à la concentration d'équilibre.
- Un logiciel en accès libre *LiDi* a été conçu afin d'aider les développeurs de nouveaux systèmes d'analyse dans leurs étapes de dimensionnement.

Références

1. KERMAN, K., CHIKAE, M., YAMAMURA, S. & TAMIYA, E. Gold nanoparticle-based electrochemical detection of protein phosphorylation. *Analytica chimica acta* **588**, 26-33 (2007).
2. ZHENG, X. T. & LI, C. M. Single living cell detection of telomerase over-expression for cancer detection by an optical fiber nanobiosensor. *Biosensors and Bioelectronics* **25**, 1548-1552 (2010).
3. DING, L. *et al.* A label-free strategy for facile electrochemical analysis of dynamic glycan expression on living cells. *Chemical Communications*, 7161-7163 (2009).
4. DING, L., JI, Q., QIAN, R., CHENG, W. & JU, H. Lectin-based nanoprobe functionalized with enzyme for highly sensitive electrochemical monitoring of dynamic carbohydrate expression on living cells. *Analytical chemistry* **82**, 1292-1298 (2010).
5. LIU, G. *et al.* Aptamer- nanoparticle strip biosensor for sensitive detection of cancer cells. *Analytical chemistry* **81**, 10013-10018 (2009).
6. GUPTA, S., KILPATRICK, P. K., MELVIN, E. & VELEV, O. D. On-chip latex agglutination immunoassay readout by electrochemical impedance spectroscopy. *Lab on a Chip* **12**, 4279-4286 (2012).
7. TARN, M. D. & PAMME, N. in *Microchip Diagnostics* 69-83 (Springer, 2017).
8. TESTE, B. *et al.* Microchip integrating magnetic nanoparticles for allergy diagnosis. *Lab on a Chip* **11**, 4207-4213 (2011).
9. TESTE, B. *et al.* A chemometric approach for optimizing protein covalent immobilization on magnetic core-shell nanoparticles in view of an alternative immunoassay. *Talanta* **81**, 1703-1710 (2010).
10. TESTE, B. *et al.* Kinetic analyses and performance of a colloidal magnetic nanoparticle based immunoassay dedicated to allergy diagnosis. *Analytical and bioanalytical chemistry* **400**, 3395-3407 (2011).
11. KUZMICHEV, A., SKOLNIK, J., ZYBIN, A. & HERGENRÖDER, R. Absolute analysis of nanoparticle suspension with surface plasmon microscopy. *Analytical Chemistry* **90**, 10732-10737 (2018).
12. ADAMCZYK, Z., SIWEK, B., ZEMBALA, M. & BELOUSCHEK, P. Kinetics of localized adsorption of colloid particles. *Advances in Colloid and Interface Science* **48**, 151-280 (1994).
13. LEMINEUR, J.-F. *et al.* Optical Nanoimpacts of Dielectric and Metallic Nanoparticles on Gold Surface by Reflectance Microscopy: Adsorption or Bouncing? *Journal of Analysis and Testing* **3**, 175-188 (2019).
14. SEGRÉ, G. & SILBERBERG, A. Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow Part 1. Determination of local concentration by statistical analysis of particle passages through crossed light beams. *Journal of Fluid Mechanics* **14**, 115-135 (1962).
15. SEGRÉ, G. & SILBERBERG, A. Behaviour of macroscopic rigid spheres in Poiseuille flow Part 2. Experimental results and interpretation. *Journal of Fluid Mechanics* **14**, 136-157 (1962).
16. SCHONBERG, J. A & HINCH, E. Inertial migration of a sphere in Poiseuille flow. *Journal of Fluid Mechanics* **203**, 517-524 (1989).

17. MATAS, J., MORRIS, J. & GUAZZELLI, E. Lateral forces on a sphere. *Oil & Gas Science and Technology* **59**, 59-70 (2004).
18. YAHIAOUI, S. & FEUILLEBOIS, F. Lift on a sphere moving near a wall in a parabolic flow. *Journal of Fluid Mechanics* **662**, 447-474 (2010).
19. MUTLU, B. R., EDD, J. F. & TONER, M. Oscillatory inertial focusing in infinite microchannels. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **115**, 7682-7687 (2018).
20. ISRAELACHVILI, J. N. *Intermolecular and surface forces* (Academic press, 2011).
21. XIA, Y. & WHITESIDES, G. M. Soft lithography. *Annual Review of Materials Science* **28**, 153-184 (1998).
22. SCHNEIDER, C. A., RASBAND, W. S. & ELICEIRI, K. W. NIH Image to ImageJ: 25 years of image analysis. *Nature Methods* **9**, 671 (2012).
23. RUEDEN, C. T. *et al.* ImageJ2: ImageJ for the next generation of scientific image data. *BMC bioinformatics* **18**, 529 (2017).
24. KO, C.-H. & ELIMELECH, M. The 'shadow effect' in colloid transport and deposition dynamics in granular porous media: measurements and mechanisms. *Environmental Science & Technology* **34**, 3681-3689 (2000).
25. JOHNSON, P. R. & ELIMELECH, M. Dynamics of colloid deposition in porous media: Blocking based on random sequential adsorption. *Langmuir* **11**, 801-812 (1995).
26. BRADFORD, S. A., SIMUNEK, J., BETTAHAR, M., van GENUCHTEN, M. T. & YATES, S. R. Modeling colloid attachment, straining, and exclusion in saturated porous media. *Environmental Science & Technology* **37**, 2242-2250 (2003).
27. SHEN, C., HUANG, Y., LI, B. & JIN, Y. Predicting attachment efficiency of colloid deposition under unfavorable attachment conditions. *Water Resources Research* **46** (2010).
28. MATAS, J.-P., MORRIS, J. F. & GUAZZELLI, É. Inertial migration of rigid spherical particles in Poiseuille flow. *Journal of Fluid Mechanics* **515**, 171-195 (2004).
29. EINSTEIN, A. Über die von der molekularkinetischen Theorie der Wärme geforderte Bewegung von in ruhenden Flüssigkeiten suspendierten Teilchen. *Annalen der physik* **322**, 549-560 (1905).
30. HAMAKER, H. C. The London-van der Waals attraction between spherical particles. *Physica* **4**, 1058-1072 (1937).
31. LI, Q., RUDOLPH, V. & PEUKERT, W. London-van der Waals adhesiveness of rough particles. *Powder Technology* **161**, 248-255 (2006).

CAPTURE DE CAPSULES SOUS ÉCOULEMENT

3.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la prise en compte de la structure de l'écoulement autour d'un objet pouvait entraîner la création d'une force menant au déplacement de cet objet. Dans ce chapitre, nous allons nous intéresser à la création de mouvement issue de la déformation de l'objet lui-même.

En effet, la majorité des objets biologiques sont déformables : les cellules, les membranes, les globules, les vésicules, ... Nombre d'entre eux sont des marqueurs de certaines pathologies, et leur déformabilité peut nous donner des informations sur l'état du patient. Par exemple, les Cellules Tumorales Circulantes ont des propriétés élastiques différentes des cellules saines [1]. Ainsi, connaître dans quel régime un objet déformable est le mieux capturé par une surface peut avoir un intérêt lors du développement de systèmes de bionalyse, afin d'améliorer leur conception pour les adapter au mieux à ce que l'on cherche à détecter.

Les types d'objets déformables sont très nombreux, et les forces qui s'appliquent sur chacun d'entre eux varient. Afin de restreindre notre étude, nous nous limitons ici à un des archétypes de l'objet déformable qu'est la **capsule**. Une **capsule**, selon la définition de Barthes-Biesel [2], est un **liquide newtonien** entouré par une **membrane élastique** d'épaisseur h , de module d'Young \mathcal{E} et de rayon au repos a . Lorsqu'elle est soumise à des forces, celle-ci peut se déformer en étirant ou comprimant sa surface, mais tout en ne pouvant modifier son volume interne, le liquide étant incompressible. Si la force qui la maintient dans sa nouvelle forme est dissipée, l'élasticité de sa membrane lui redonne une forme sphérique.

Une capsule ne doit pas être confondue avec d'autres archétypes de l'objet biologique déformable, comme par exemple les gouttes (dont la forme est maintenue par la tension de surface), les vésicules (qui sont des auto-assemblage de protéines lipidiques sous-tension) ou les cellules (qui sont des macro-vésicules avec un squelette interne).

Il est important d'être conscient qu'aucun objet biologique n'est une capsule pure. C'est un modèle physique qui permet d'illustrer certaines propriétés de ces objets. Par exemple, un globule rouge

peut être assimilé à une capsule dont la forme au repos n'est pas sphérique. L'intérêt d'étudier le comportement de capsules physiques modèles est de comprendre l'impact de la déformabilité d'objets élastiques sur leur taux de capture. D'autres études pourront ensuite venir enrichir le sujet. Par exemple le taux de capture d'objets non rond. Cela permettra, par combinaison de venir s'approcher au plus près d'un modèle du comportement d'un globule rouge sous écoulement.

Il n'y a pas de données expérimentales sur la capture de capsules en présence d'un écoulement laminaire dans la littérature. Quelques articles théoriques sur les forces en présences et de très nombreuses simulations sur le comportement de capsules au sein d'un canal sont par contre présents. Les capsules semblent soumises à une force de lift assez similaire à celle présentée au chapitre précédent pour les particules, mais liée à leur déformabilité. Cette force étant liée à l'élasticité de leur membrane, elle est nommée force de lift élastique.

Dans ce chapitre, nous analysons quelques articles théoriques dans le but de concevoir une loi de capture pour guider nos expériences. Ensuite, nous réalisons des simulations à l'aide de l'outil de simulations Lagrangiennes présenté au chapitre 2. Nous fabriquons alors les capsules utilisées dans nos expériences à l'aide d'un protocole utilisé dans un laboratoire partenaire, que nous adaptions pour augmenter la taille des objets produits. Enfin, nous présentons les résultats préliminaires que nous obtenons sur ces recherches.

3.2 Capture de capsules sous lift élastique : théorie

Dans cette partie, nous présentons certaines des théories majeures sur les forces de lift qui s'appliquent sur des capsules en écoulement. Ensuite, nous en déduisons, avec un modèle dont la construction est inspiré de celui du chapitre précédant, une loi théorique de capture de capsules sur une surface fonctionnalisée.

3.2.1 Origine universelle des forces de lift

Dans le chapitre précédent, les forces de lift avaient une origine inertielle. C'est l'origine la plus commune des forces de lift, typiquement celle qui s'applique sur des avions et leur permet de voler. Cependant, les forces abordées dans ce chapitre sont beaucoup moins communes, et il nous paraît pertinent de discuter physiquement de l'origine universelle de toutes les forces de lift, sans équation. Cette discussion s'inspire de l'article de Matas *et al* [3].

Revenons à l'équation de Stokes, valable en régime laminaire :

$$\eta \Delta \vec{v} = \vec{\nabla} p \quad (3.1)$$

Cette équation possède une propriété de réversibilité issue de sa linéarité. Si on inverse le sens du gradient de pression, la vitesse est également de signe opposé. Démontrons ici, par l'absurde, que l'équation de Stokes est incompatible avec toute force de lift. Considérons un objet à proximité d'une paroi dans un champ de vitesse, issu d'un champ de pression composé d'une surpression P^+ à gauche et une dépression P^- à droite. Supposons que ce champ de vitesse génère une force de lift qui éloigne l'objet de la paroi, comme représenté en figure 3.1a. Nous allons imaginer deux transformations du système différentes et nous allons observer la force de lift qui en résulte :

- La première transformation que nous allons opérer est d'inverser les pressions P^+ et P^- depuis la figure 3.1a, comme représenté en figure 3.1b. Par propriété de réversibilité, toutes les vitesses s'inversent, et la force de lift change de sens.
- La seconde transformation que nous allons opérer est de faire tourner le canal de la figure 3.1a de 180° le long de l'axe z , ce qui donne la figure 3.1c. De cette manière, pour notre oeil d'observateur, les pressions P^+ et P^- semblent inversées, mais la force de lift n'a pas changé de sens puisque nous sommes exactement dans la même configuration expérimentale que celle de la figure 3.1a.

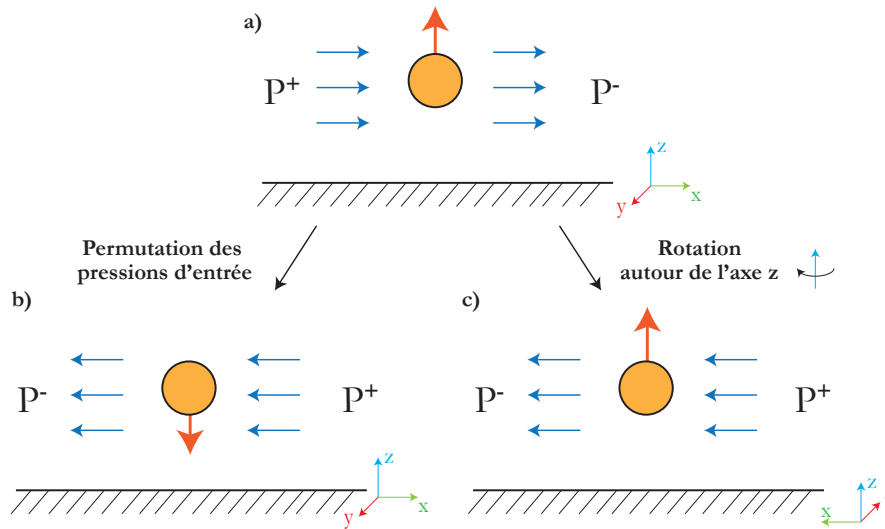


FIGURE 3.1 – Schéma illustrant, par l'absurde, l'incompatibilité de l'existence d'une force de lift avec la propriété de réversibilité de l'équation de Stokes. (Bleu) Champ de vitesse issu du champ de pression. (Rouge) Force de lift générée par le champ de vitesse. (a) Cas de référence. Une force de lift vers le haut est générée par un champ de vitesse allant vers la droite. (b) Cas issu de la propriété de réversibilité. Inverser les pressions inverse le sens du champ de vitesse, ce qui inverse le sens de la force de lift. (c) Cas issu d'une simple rotation du cas de référence. Les pressions sont inversées, le champ de vitesse est inversé, mais la force de lift est toujours vers le haut. Les cas (b) et (c) sont évidemment incompatibles.

On remarque que l'on obtient deux résultats différents pour des conditions de pressions identiques. L'hypothèse de départ, l'existence d'une force de lift, est donc absurde. Les forces de lift n'existent pas dans une situation de Stokes parfaite.

C'est ici la propriété de réversibilité de l'équation de Stokes qui a mené à cette incohérence. On peut ainsi généraliser cette conclusion :

Les forces de lift sont générées par l'irréversibilité d'un écoulement.

En calculant l'intégrale des contraintes sur la surface d'un objet, on montre que la somme des contributions est nulle pour un écoulement réversible. En revanche, lors d'une brisure de réversibilité, cette intégrale devient non nulle et le résultat est la force de lift.

Dans le chapitre précédent, c'est l'introduction d'une contribution inertielle qui générerait cette irréversibilité. Dans ce chapitre, c'est l'introduction d'un objet déformable qui va briser la symétrie de l'écoulement, sa réversibilité, et ainsi créer une force de lift.

3.2.2 Les deux lift élastiques

Les capsules sous écoulement sont donc soumises à des forces de lift lorsqu'elles se déforment. Deux types de forces sont mentionnées dans la littérature pour les écoulements laminaires.

Tout d'abord, les forces liées à la présence d'un cisaillement, comme par exemple un profil de Poiseuille [2]. Dans ce cas, la capsule est déformée par le frottement visqueux de manière asymétrique en fonction de la vitesse locale de l'écoulement. Dans un profil de Poiseuille, elle adopte une configuration ovoïdale à 45° par rapport à l'axe de l'écoulement. Cette forme génère un écoulement local qui attire la capsule au centre de l'écoulement à la vitesse suivante ^a :

$$V = \frac{5\tilde{\nu} - 17}{6} \frac{U_m^2 \eta a^3}{\mathcal{E} h R^3} \frac{r}{R} \quad (3.2)$$

avec $\tilde{\nu}$ le coefficient de Poisson de la membrane ^b, R le rayon du tube et r la distance au centre du tube.

Cependant, Singh *et al.*[4] remarquent que cet effet ne permet pas de décrire ce qui se passe dans le cas des capsules biologiques sous écoulement. En effet, la majorité d'entre elles sont soumises à une déplétion en proche paroi. Pour réussir à modéliser cet effet, il est nécessaire de considérer les interactions capsule-paroi, négligées dans le modèle précédent. Ici, la capsule se déforme via une interaction hydrodynamique entre son champ de vitesse et la paroi. Cela génère une vitesse d'expulsion de la particule qui diverge quand la distance capsule-paroi tend vers zero :

$$V_{el} = 46.8 (1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta a^4}{W_c^2 H^4 b^2 \mathcal{E} h} \quad (3.3)$$

avec b la distance entre une paroi et le centre de la capsule. Cet effet divergent domine devant le premier à proximité des parois. Dans l'objectif d'étudier la capture des capsules à une paroi nous ne considérerons que cet effet dans ce chapitre.

3.2.3 Vitesses, forces et énergies de lift élastique

La vitesse de lift élastique de l'équation (3.3) est trop complexe pour être calculée analytiquement et est issue de simulations numériques. On peut supposer que la force de Stokes-Einstein qui s'applique sur une capsule déformée est environ celle qui s'applique sur un objet de rayon moyen a . On peut ainsi en déduire une expression de la force de lift élastique, en équilibrant celle-ci avec la force de Stokes-Einstein :

$$F_{el} = 6\pi\eta a V_{el} \quad (3.4)$$

$$F_{el} \simeq 882(1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^5}{W_c^2 H^4 b^2 \mathcal{E} h} \quad (3.5)$$

Où voit ici très clairement que cette force diverge en proche paroi ($b \simeq 0$). On peut désormais définir une énergie de lift élastique, via $F_{el} = -\frac{dE}{db}$, en prenant comme référence une énergie nulle à l'infini :

^a. Les travaux de [2] sont basés sur des écoulements de Poiseuilles cylindriques.

^b. Le coefficient de Poisson décrit la contraction de la matière perpendiculairement à la direction de traction/élongation. Il varie de -1 à $1/2$. Les matériaux courant ont des valeurs typiques compris entre 0.2 (béton, verre) et 0.5 (caoutchouc, argile).

$$E_{\text{el}} = 882(1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^5}{W_c^2 H^4 b \mathcal{E} h} \quad (3.6)$$

Afin de simplifier les notations, on notera :

$$E_{\text{el}}^* = 882(1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^5}{W_c^2 H^5 \mathcal{E} h} \quad (3.7)$$

Ce qui donne :

$$E_{\text{el}} = E_{\text{el}}^* \frac{H}{b} \quad (3.8)$$

Cette notation permet de faire apparaître l'énergie potentielle typique de lift élastique E_{el}^* ainsi que sa dépendance spatiale $\frac{H}{b}$. Cependant, cette expression est l'énergie générée par l'interaction entre une capsule et une seule paroi. Pour prendre en compte le profil total, il faut sommer les énergies dues aux deux parois : la paroi supérieure du canal (en $z = H/2$) et la paroi inférieure du canal (en $z = -H/2$) :

$$E_{\text{el}} = E_{\text{el}}^* \frac{H}{-H/2 - z} + E_{\text{el}}^* \frac{H}{H/2 - z} \quad (3.9)$$

3.2.4 Profil de concentration des capsules au sein du canal

Afin de pouvoir déduire la quantité de capsules qui s'accroche à la surface à chaque instant, nous allons, comme dans le chapitre 2, calculer la concentration en proche paroi. Pour ce faire, une statistique de Maxwell-Boltzmann qui compare énergie potentielle de lift et diffusion va être de nouveau utilisée, car nous sommes toujours dans le cas d'un système dilué et nous considérons un gaz de capsules dans un liquide porteur :

$$c(z) = c_0 \frac{\exp\left(-\frac{E_{\text{el}}^*}{k_b T} \frac{H}{-H/2+z} - \frac{E_{\text{el}}^*}{k_b T} \frac{H}{H/2-z}\right)}{\int_{-H/2+a}^{H/2-a} \exp\left(-\frac{E_{\text{el}}^*}{k_b T} \frac{H}{-H/2-u} - \frac{E_{\text{el}}^*}{k_b T} \frac{H}{H/2-u}\right) du} \quad (3.10)$$

Les capsules entrent en contact avec la paroi lorsque leur distance à la paroi est égale à leur rayon a . C'est ce qui nous permet de restreindre les bornes d'intégrations à $[-H/2 + a; H/2 - a]$ (au lieu de $[-H/2; H/2]$), et ainsi éviter la divergence de l'intégrale. Cette formule conduit à un profil de concentration typique représenté en figure 3.2. On voit que dans ce cas, les capsules ont tendance à se concentrer au centre du canal et non à des points de focalisation symétriques comme dans le cas de particules, non déformables.

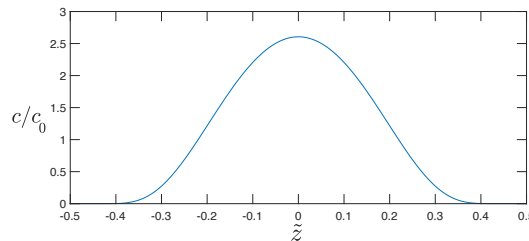


FIGURE 3.2 – Exemple de profil de concentration selon la hauteur du canal, calculé via l'équation (3.10).

3.2.5 Proposition d'une loi de capture

Afin de pouvoir prédire le nombre de capsules qui s'accrochent à la surface à chaque instant, dans un régime limité par le transport de masse, il faut, comme pour le chapitre précédent, calculer la concentration à la paroi, c'est à dire ici en $z = -H/2 + a$:

$$c(z = -H/2 + a) = c_0 \frac{\exp\left(-\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{a} - \frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{H-a}\right)}{\int_{-H/2+a}^{H/2-a} \exp\left(-\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{-H/2-u} - \frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{H/2-u}\right) du} \quad (3.11)$$

On se place dans l'hypothèse $a \ll H$. Dans ce cas de figure, le terme en $\frac{H}{H-a}$ est négligeable. En effet, la répulsion due à la paroi la plus éloignée est négligeable quand on se trouve quasiment au contact d'une autre paroi. L'expression se simplifie donc en :

$$c(z = -H/2 + a) = c_0 \frac{\exp\left(-\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{a}\right)}{\int_{-H/2+a}^{H/2-a} \exp\left(-\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{-H/2-u} - \frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{H/2-u}\right) du} \quad (3.12)$$

Dans le chapitre 2, nous avons mis en évidence un nombre sans dimension, le nombre Lifto-Diffusif \mathcal{N}_{LD} , dont seul dépendait la concentration en proche paroi. Ici, cet exercice semble plus complexe. En effet, le numérateur semble dépendre d'un unique paramètre $\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{a}$, alors que le dénominateur semble dépendre indépendamment de différentes combinaisons des 4 paramètres du problèmes E_{el}^* , $k_b T$, H et a .

Cependant, si on regarde le dénominateur plus précisément, on remarque que c'est l'intégrale d'une fonction dont l'argument aux bornes prend la valeur, au premier ordre en a/H :

$$-\frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{-H+a} - \frac{E_{el}^*}{k_b T} \frac{H}{a} \simeq -\frac{E_{el}^* H}{k_b T a} \quad (3.13)$$

Ainsi, on peut se douter que la concentration en proche paroi ne dépend, dans le cas où $a \ll H$, que de cette quantité sans dimension $\frac{E_{el}^* H}{k_b T a}$. Cette quantité ressemble au nombre Lifto-Diffusif, en ce sens où elle compare l'énergie potentielle de lift élastique E_{el}^* , la diffusion $k_B T$, mais également un facteur géométrique a/H .

On appellera ce nombre le Nombre Lifto-Diffusif élastique $\mathcal{N}_{LD_{el}}$:

$$\mathcal{N}_{LD_{el}} = \frac{E_{el}^* H}{k_b T a} = 882(1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^4}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h k_b T} \quad (3.14)$$

On peut vérifier cette hypothèse en traçant la valeur théorique de la concentration en proche paroi pour différentes valeurs de $\tilde{a} = a/H$ en fonction de $\mathcal{N}_{LD_{el}}$, comme représenté en figure 3.3. On remarque que cette expression ne dépend effectivement pas des valeurs de $E_{el}^*/k_b T$ ou de a/H indépendamment, mais bien du Nombre Lifto-Diffusif élastique.

3.2.6 Sens physique du Nombre Lifto-Diffusif élastique

De manière analogue au nombre Lifto-Diffusif, la concentration en proche paroi diminue lorsque le nombre Lifto-Diffusif élastique devient plus grand que 1, comme le montre la figure 3.3. D'un point de vue physique, on peut expliquer que le taux de capture chute avec cette quantité de la manière suivante :

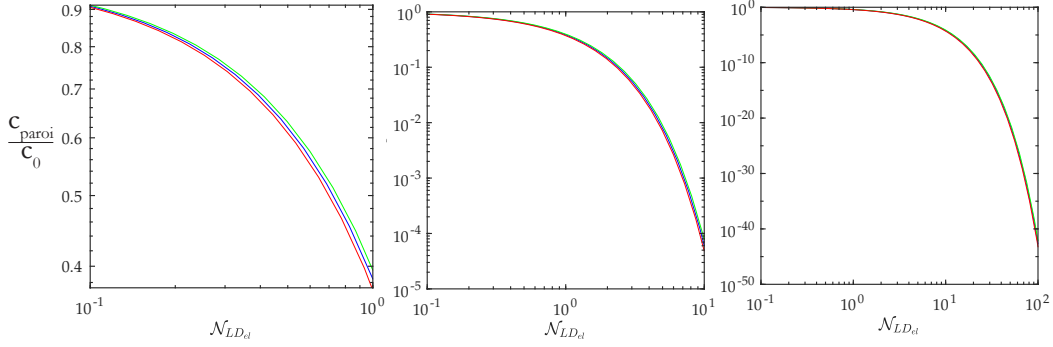


FIGURE 3.3 – Calcul théorique de la valeur de $\frac{c(z=-H/2+a)}{c_0}$ en fonction de $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ pour différentes valeurs de \tilde{a} : (vert) $\tilde{a} = 0.01$, (bleu) $\tilde{a} = 0.005$ et (rouge) $\tilde{a} = 0.001$. Les graphes représentent différentes décades pour plus de lisibilité. On voit que, tant que $\tilde{a} \ll 1$, la valeur de $\frac{c(z=-H/2+a)}{c_0}$ est indépendante de cette grandeur \tilde{a} .

La vitesse de lift élastique diverge lorsque la capsule se rapproche des parois. Cependant, elle ne peut se rapprocher à moins d'une distance a . La vitesse maximale à laquelle elle est soumise est donc $V_{el}(b=a) \sim \frac{Q^2 \eta a^2}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h}$.

L'échelle typique du problème est a . Pour repousser une capsule d'une longueur a , le lift a besoin d'un temps $t_L \sim \frac{a}{V_{el}(b=a)} \sim \frac{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h}{Q^2 \eta a}$. Durant le même temps, une capsule peut rediffuser vers la paroi, et écranter cette force de répulsion. Pour cela, il faut donc qu'elle diffuse en un temps plus court. Une capsule diffuse sur une longueur a en un temps typique $t_D \sim \frac{a^2}{D}$. Ainsi, pour savoir si les capsules peuvent vaincre la répulsion, il faut comparer ces deux temps typiques :

$$\frac{t_D}{t_L} \sim \frac{Q^2 \eta a^3}{D W_c^2 H^4 \mathcal{E} h} \quad (3.15)$$

Avec la formule de Stokes-Einstein, $D = \frac{k_b T}{6\pi\eta a}$:

$$\frac{t_D}{t_L} \sim \frac{Q^2 \eta^2 a^4}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h k_b T} \sim \mathcal{N}_{LD_{el}} \quad (3.16)$$

Ce nombre décrit donc bien le rapport relatif entre lift élastique et diffusion.

3.2.7 Quantification de la loi de capture

Finalement, la loi de capture théorique concernant les capsules peut se déduire de la même manière que pour les particules :

$$J = \frac{c(z=H/2-a)}{c_0} J_0 \quad (3.17)$$

où c_0 est la concentration en capsules injectées et J_0 est le taux de capture selon la théorie convection-diffusive présentée au chapitre 1. Ainsi, on obtient, après adimensionalisation :

$$J = (1 - 2\tilde{a}) \frac{\exp(-\mathcal{N}_{LD_{el}})}{\int_{-1/2+\tilde{a}}^{1/2+\tilde{a}} \exp(-\mathcal{N}_{LD_{el}} \tilde{a} (\frac{1}{1/2-u} - \frac{1}{1/2+u})) du} J_0 \quad (3.18)$$

où $\tilde{a} = a/H$. Avant de chercher à confirmer ou à infirmer cette loi par l'expérience, nous allons tenter de la reproduire numériquement, afin de vérifier si $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ est un paramètre pertinent pour décrire le

problème. Si tel est le cas, cela permettra de mieux cibler les expériences pertinentes à réaliser et de mieux choisir les capsules à utiliser.

3.3 Simulations Lagrangiennes de capture de particules

Afin de vérifier la loi précédente, nous avons réalisé des simulations de capture sous écoulement, avec prise en compte du lift élastique, et comparé ces résultats à notre loi théorique. Pour cela, on se base sur le code Lagrangien décrit en section 2.5, avec les modifications décrites dans la sous-section suivante :

3.3.1 Modifications apportées à la simulation par rapport au chapitre 2

Ajout d'une force de lift élastique

Une force de lift élastique vient remplacer la force de lift inertiel présente dans les simulations présentées au chapitre 2. Pour cela, il est nécessaire de décrire la membrane des capsules via leur épaisseur h , leur module d'Young \mathcal{E} et leur coefficient de poisson $\tilde{\nu}$. La vitesse de lift implémentée est alors :

$$V_{\text{el}} = 46.8 (1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta a^4}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h} \left(\frac{1}{(H/2 - z)^2} - \frac{1}{(-H/2 - z)^2} \right) \quad (3.19)$$

On notera dans la suite, pour plus de simplicité :

$$V_{\text{el}}^* = 46.8 (1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta a^4}{W_c^2 H^6 \mathcal{E} h} \quad (3.20)$$

De fait :

$$V_{\text{el}} = V_{\text{el}}^* \left(\frac{1}{(1/2 - \tilde{z})^2} - \frac{1}{(-1/2 - \tilde{z})^2} \right) \quad (3.21)$$

où $\tilde{z} = z/H$.

Nouveau pas de temps

Pour rappel, chaque type de mouvement (convectif/diffusif/de lift) est associé à un pas de temps maximal au dessus duquel il est sous échantillonné. Le code choisit automatiquement le plus petit de tous les pas de temps comme pas de temps global du code. Les pas de temps de la convection axiale, de la diffusion et du lift inertiel ont été calculés en s'assurant que les objets ne se déplaçaient de pas plus d'1% de l'espace accessible (H ou L en fonction des cas). Dans le cas du lift élastique, le même critère a été retenu, ce qui donne le pas de temps suivant :

$$dt_{\text{el}} = \frac{H}{100 V_{\text{el}}^*} \quad (3.22)$$

En pratique, dans nos simulations, c'est ce pas de temps qui est le plus petit et qui fixe l'échantillonnage temporel.

Gestion particulière du mouvement par force de lift élastique

Cette sous-section concerne une spécificité de mon algorithme. Elle concerne des aspects techniques précis, mais sa compréhension n'est pas nécessaire à la suite du chapitre.

La force de lift inertielle ne montre pas de variations brusques de son profil de vitesse : la vitesse vue par une particule en deux hauteurs proches $V_{\text{lift}}(z)$ et $V_{\text{lift}}(z + dz)$ est relativement de même valeur. C'est pourquoi il était possible de linéariser le déplacement d'une particule par $V_{\text{lift}}(z)dt$ car V_{lift} variait peu avec z .

Comparons désormais avec le lift élastique. On sait que la vitesse de lift élastique diverge aux parois, ce qui signifie que la vitesse varie très fortement en fonction de z . Linéariser le mouvement d'un objet signifie considérer que sa vitesse durant tout son pas de temps est égal à sa vitesse au début du pas de temps. Ainsi, on comprend bien pourquoi, avec une vitesse de lift variant si brutalement, linéariser le mouvement d'une capsule peut mener à de très fortes erreurs numériques.

Afin d'éviter cela, nous utilisons une autre stratégie. Nous résolvons numériquement, en début de simulation, l'équation du mouvement d'une capsule soumise au lift élastique. Nous disposons alors de la hauteur $\tilde{z}(\tilde{z}_0)$ à laquelle il faut déplacer une capsule initialement à une hauteur z_0 pour simuler correctement l'influence du lift élastique pendant un pas de temps dt , et ce pour un nombre fini de hauteurs initiales z_0 . Ensuite, nous ajustons ces points par un polynôme impair d'ordre 5 afin de pouvoir calculer $\tilde{z}(\tilde{z}_0)$ pour tous les \tilde{z}_0 compris entre $-1/2$ et $1/2$. Par cette méthode, on obtient des courbes comme celle de la figure 3.4

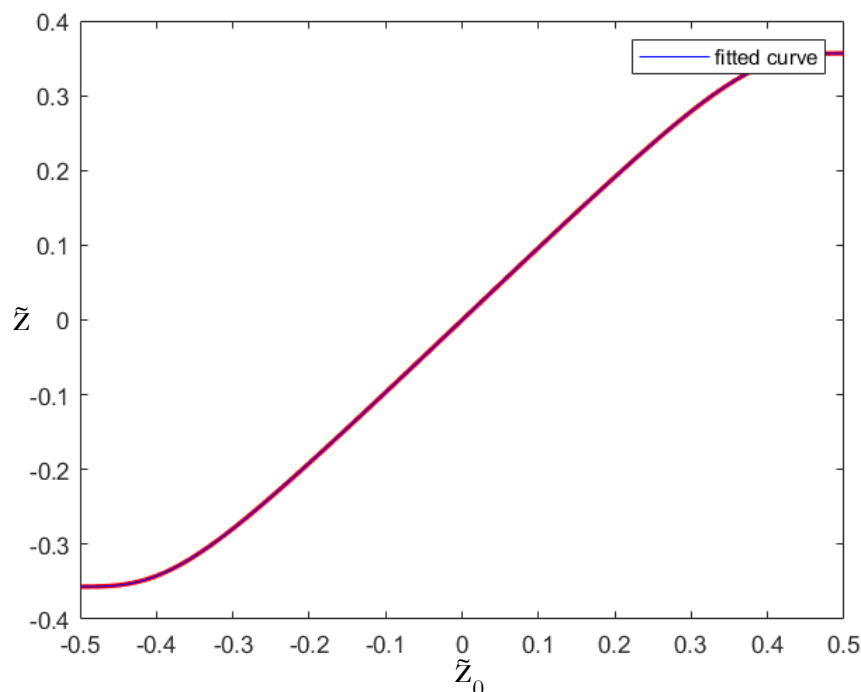


FIGURE 3.4 – (Courbe rouge) Exemple de calcul de la position d'une capsule après un temps dt en fonction de sa position initiale suite à l'action de la force de lift élastique. Obtenu par résolution numérique de l'équation (3.24). (Courbe bleue) Ajustement par un polynôme impair d'ordre 5.

Pour information, l'équation du mouvement s'obtient en écrivant l'expression de la vitesse :

$$\frac{d\tilde{z}}{dt} = \frac{V_{el}^*}{H} \left(\frac{1}{(1/2 - \tilde{z})^2} - \frac{1}{(-1/2 - \tilde{z})^2} \right) \quad (3.23)$$

En intégrant cette équation entre 0 et dt, le pas de temps de la simulation, on obtient l'équation du mouvement :

$$\tilde{z}(z_0) = \tilde{z}_0 + \frac{V_{el}^*}{H} \int_0^{dt} \left(\frac{1}{(1/2 - \tilde{z}(u))^2} - \frac{1}{(-1/2 - \tilde{z}(u))^2} \right) du \quad (3.24)$$

où $\tilde{z}(t = u)$ est la valeur de la hauteur de la capsule, qui varie donc au cours de l'intégration (et qui dépend de \tilde{z}_0 , qui est sa valeur en $t = 0$).

Cette équation est impossible à résoudre analytiquement, mais est très facile à résoudre par une intégration numérique en cascade. Notons :

$$v(x) = \frac{1}{(1/2 - x)^2} - \frac{1}{(-1/2 - x)^2} \quad (3.25)$$

Il suffit d'implémenter l'algorithme suivant :

$$\begin{aligned} \tilde{z}_0 &= \tilde{z}_0 \\ \tilde{z}_1 &= \tilde{z}_0 + \frac{V_{el}^*}{H} v(\tilde{z}_0) \frac{\Delta t}{N} \\ \tilde{z}_2 &= \tilde{z}_1 + \frac{V_{el}^*}{H} v(\tilde{z}_1) \frac{\Delta t}{N} \\ \tilde{z}_3 &= \dots \\ \tilde{z}_{N-1} &= \tilde{z}_{N-2} + \frac{V_{el}^*}{H} v(\tilde{z}_{N-2}) \frac{\Delta t}{N} \\ \tilde{z} &= \tilde{z}_{N-1} + \frac{V_{el}^*}{H} v(\tilde{z}_{N-1}) \frac{\Delta t}{N} \end{aligned}$$

On obtient alors la valeur de \tilde{z} pour une valeur de \tilde{z}_0 . On réitère cet algorithme sur un nombre donné de valeur de \tilde{z}_0 , avant d'ajuster les résultats par un polynôme impair d'ordre 5.

Présence d'une surface captatrice

Une zone de capture a été implémentée dans la simulation, située entre $x = 0$ et $x = L$, avec L un paramètre choisi par l'expérimentateur. Lorsque les capsules se trouvent au dessus de cette zone, et à une distance inférieure à a de la paroi inférieure, elles sont considérées comme capturées. Elles disparaissent alors de la simulation et on enregistre l'instant où elles ont été capturées.

En fin de simulation, on effectue la régression linéaire du nombre d'objets capturés en fonction du temps, analogue à ce qui a été fait expérimentalement pour le chapitre précédent, détaillé en section 2.2.3, et on en extrait un taux de capture numérique J .

Initialisation non homogène des capsules

Contrairement à la simulation du chapitre 2, où on attendait l'établissement du régime stationnaire, ici les capsules ne restent qu'une durée finie dans la simulation. L'initialisation a donc beaucoup d'importance sur la justesse des résultats.

Pour rappel, les capsules n’interagissent pas entre elles dans la simulation. Ainsi, les initialiser toutes d’un coup ou petit à petit revient au même. Dans une expérience, l’injection serait réalisée en continu et, à cause du profil de Poiseuille, il y aurait plus de capsules injectées au centre du canal que près des parois. D’un point de vue numérique cependant, il est plus efficace d’initialiser toutes les capsules d’un coup, à $t = 0$, en $x_0 = -10^{-4}$ mm. Afin de prendre en compte le fait qu’une plus grande proportion de capsules soit injectée au centre du canal qu’à proximité des parois, on initialisera les capsules suivant un profil parabolique.

Pour ce faire, une distribution numérique de 10 millions de positions, réparties aléatoirement suivant une distribution parabolique entre $\tilde{z} = -1/2$ et $1/2$, a été calculée une seule fois^c. Ensuite, en début de simulation, la position de chaque capsule est déterminée aléatoirement parmi ces 10 millions de positions. La distribution obtenue est donc toujours parabolique.

3.3.2 Résultats numériques

Les simulations numériques réalisées correspondent à des situations dans lesquelles le rapport entre la taille des capsules et la hauteur du canal se situe dans la gamme $\tilde{a} \in [10^{-3}; 510^{-3}]$. Les nombres Lifo-Diffusif élastiques explorés s’étendent de $4 \cdot 10^{-5}$ à 20.

Les résultats sont présentés en figure 3.5. On peut faire deux remarques. Premièrement les résultats numériques montrent un écart par rapport à la théorie. Malheureusement il semble difficile de pouvoir dire d’où provient l’erreur à l’heure actuelle. Aucun argument ne nous permet de corriger une approche plus que l’autre.

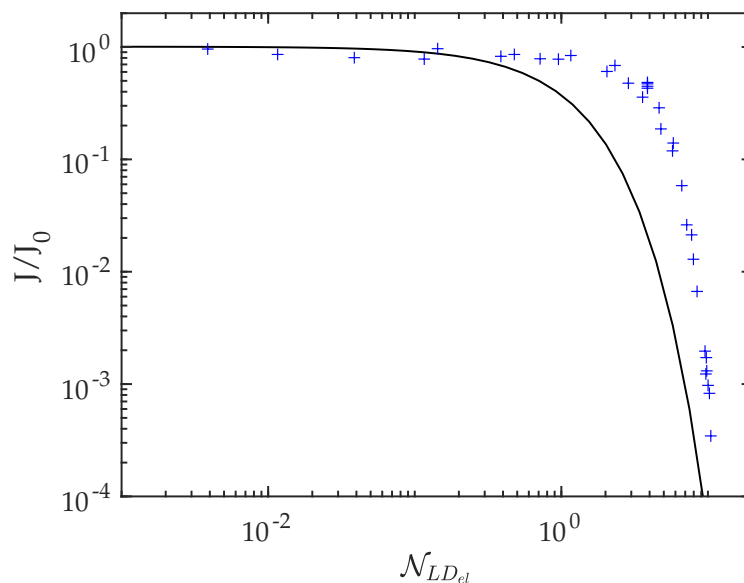


FIGURE 3.5 – Simulations d’expériences de capture de capsules sous écoulement. (Courbe noire) Modèle théorique, d’après l’équation (3.18). (Croix bleues) Simulations Lagrangiennes. La théorie prévoit une chute du taux de capture à partir de $\mathcal{N}_{LD_{el}} = 0.2$ alors que les simulations l’observent à partir de $\mathcal{N}_{LD_{el}} = 2$.

Cependant, les résultats numériques, tracés en fonction du nombre Lifo-Diffusif élastique, semblent tous se regrouper sur une courbe maîtresse, bien que ce ne soit effectivement pas la courbe maîtresse

^c. La génération des nombres aléatoires a été réalisée via la fonction *rand* de matlab. La distribution parabolique a été inversée via la fonction *root* de matlab.

attendue. Cette courbe numérique ressemble fortement à la courbe théorique avec un décalage d'une décade au niveau de la transition. Nous pouvons donc penser que le nombre Lifo-Diffusif élastique est un paramètre pertinent pour prédire le taux de capture des capsules sur une surface captatrice lorsque c'est le transfert de masse qui limite la capture.

Une explication qui pourrait permettre de comprendre ce décalage est, qu'en plus d'être déformable, les capsules sont des objets quasi-sphériques possédant une certaine taille. Il est donc probable qu'elles soient également soumises aux effets de lift inertiels présentés au chapitre 2. Une courte discussion sur les domaines expérimentaux pour lesquels l'effet dominant est inertiel et ceux où l'effet dominant est l'élasticité semble nécessaire avant de concevoir le système expérimental.

3.4 Discussion sur la compétition entre lift inertiel et lift élastique

Afin de déterminer la prévalence de chacun des mécanismes, nous proposons de construire une énergie potentielle totale, combinant l'énergie de lift inertiel, décrite au chapitre 2, et de lift élastique, décrite dans ce chapitre :

$$E = E_{\text{el}}^* \frac{H}{-H/2 - z} + E_{\text{el}}^* \frac{H}{H/2 - z} + E_p^* g(z) \quad (3.26)$$

On peut calculer un profil de concentration global, prenant en compte ces deux énergies grâce, à nouveau, à une statistique de Maxwell-Boltzmann. Nous avons tracé ces profils pour différentes valeurs des deux nombres pertinents ici, à savoir les nombres Lifo-Diffusif \mathcal{N}_{LD} et le nombre Lifo-Diffusif élastique $\mathcal{N}_{LD\text{el}}$. Les résultats sont représentés en figure 3.6.

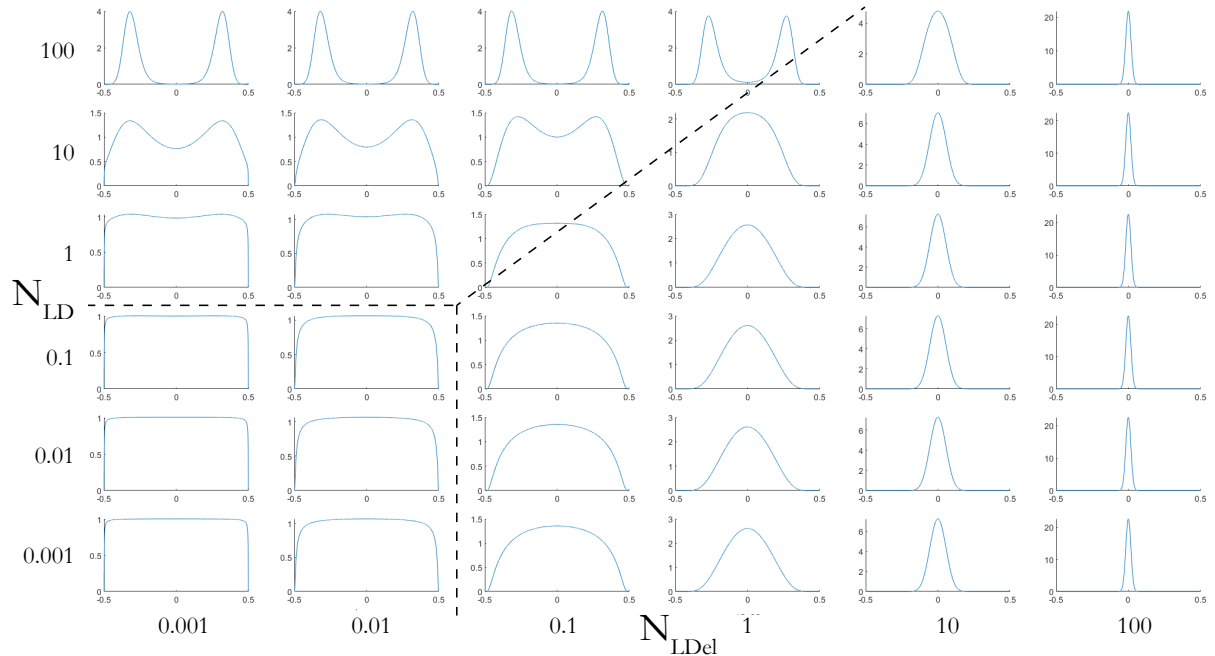


FIGURE 3.6 – Evolution du profil de concentration théorique en fonction de la valeur des nombres Lifo-Diffusif \mathcal{N}_{LD} et Lifo-Diffusif élastique $\mathcal{N}_{LD\text{el}}$. Les traits indiquent qualitativement les domaines dans lesquels le profil de concentration est déterminé par des mécanismes de transport dominants différents, respectivement, par la diffusion (faibles \mathcal{N}_{LD} et $\mathcal{N}_{LD\text{el}}$), le lift inertiel ($\mathcal{N}_{LD} > 1$ et $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LD\text{el}}} \geq 100$) ou le lift élastique ($\mathcal{N}_{LD\text{el}} > 0.1$ et $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LD\text{el}}} \leq 10$).

On observe qu'en fonction des valeurs relatives de ces deux nombres, la forme du profil de concentration n'est pas la même, ce qui indique que le mécanisme dominant varie. Lorsque deux pics sont présents, c'est le lift inertiel qui domine. Dans le cas contraire, quand un seul pic est présent, c'est le lift élastique, où les deux parois tendent à repousser les capsules, qui domine. Lorsqu'aucun pic n'est clairement visible, c'est la diffusion qui domine sur ces deux effets.

On observe que la transition entre le domaine dominé par l'inertie et celui dominé par l'élasticité semble se faire entre $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}} = 10$ et $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}} = 100$, représenté par une ligne pointillée noire sur la figure 3.6.

Ce comportement devra être vérifié expérimentalement, en se plaçant à différentes valeurs de \mathcal{N}_{LD} et de \mathcal{N}_{LDel} . Une difficulté importante pour la réalisation des expériences est que ces deux nombres varient sensiblement en fonction des mêmes quantités, pour rappel :

$$\mathcal{N}_{LD} \sim \frac{Q^2 \rho a^4}{k_b T W_c^2 H^3} \quad (3.27)$$

$$\mathcal{N}_{LDel} \sim (1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^4}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h k_b T} \quad (3.28)$$

Ainsi :

$$\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}} \sim (1 + \tilde{\nu}) \frac{\rho H \mathcal{E} h}{\eta^2} \quad (3.29)$$

La majorité de ces quantités ne sont pas modifiables facilement. $1 + \tilde{\nu}$ est constitutif du matériau et ne varie qu'entre 1.2 et 1.5 pour les matériaux usuels. ρ est la masse volumique du liquide, et ne peut être modifié sans déclencher de nombreux problèmes supplémentaires, comme de la sédimentation forcée. h , l'épaisseur de la membrane peut être modifiable en fonction du processus choisi. Comme nous le verrons dans la suite, le processus choisi forme des membranes de 5 nm d'épaisseur. h est donc déjà à la taille limite. E , le module d'Young de la membrane est constitutif du protocole de fabrication.

Les deux paramètres les plus simples sur lesquels agir restent donc H et η . Pour ce qui est de la viscosité, plusieurs choix ont été envisagés, notamment viscosifier l'eau par l'ajout de glycérol, de sirop de glucose de laboratoire, ou de Ucon, un lubrifiant industriel aqueux remarquable pour ses propriétés viscosifiantes.

Après des tests avec le glycerol, il a été observé qu'il empêchait les capsules de s'accrocher à la surface. La raison exacte n'a malheureusement pas été identifiée. Les autres solutions viscosifiantes n'ont pas été testées, par faute de temps. On ne sait donc pas encore à l'heure actuelle si ce critère sur $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}}$ est correct pour discriminer l'effet de lift dominant.

3.5.2 Hybridosomes®

Les capsules qui ont été choisies sont les hybridosomes® [9-13], représentés en figure 3.8. Ce sont des capsules de 80 nm de diamètre, dont la membrane poreuse est composée de Quantum Dots (QD), des particules solides monodisperses de quelques nanomètres de diamètres, liées entre eux par un polymère. Cette capsule présente de nombreux intérêts :

- Elle est suffisamment petite pour être utilisée en microfluidique, ce qui permet de réutiliser quasiment tout le système expérimental du chapitre 2.
- Elle peut être rendue fluorescente, ce qui sera un atout précieux pour sa visualisation, comme nous le verrons plus loin.
- Sa membrane est très fine ($h = 5$ nm) et de module d'Young connu ($\mathcal{E} \approx 1$ MPa [12]), ce qui permet d'exacerber les effets élastiques par rapports aux effets inertiels.
- Elle possède des charges négatives COO^- en surface, tout comme les particules du chapitre précédent, rendant le procédé d'adhésion identique.

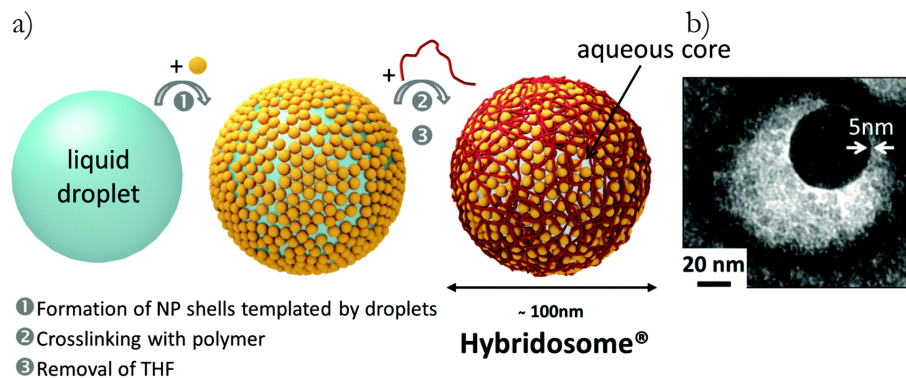


FIGURE 3.8 – (a) Vision schématique des hybridosomes® et de leur protocole de fabrication. (b) Observation par Microscopie Electronique en Transmission. Figure reproduite depuis [11].

Cependant, le protocole pré-existant au début des expériences menait à la formation de capsules de 80 nm. $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ variant en a^4 , toutes les prévisions montraient qu'il était raisonnablement impossible de dépasser $\mathcal{N}_{LD_{el}} = 1$ avec une capsule aussi petite, bien qu'elle soit fortement déformable. Afin que $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ soit supérieur à 1 il est nécessaire d'augmenter la taille des capsules d'un facteur 2, ce qui augmenterait le $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ d'un facteur $2^4 = 16$. Pour ce faire, je me suis rendu pendant quelques semaines dans l'équipe de recherche de Fabienne Gauffre (Institut des Sciences Chimiques de Rennes) qui travaille sur le développement des hybridosomes®, afin de comprendre leur protocole et de le modifier pour obtenir des capsules plus grandes.

3.5.3 L'effet Ouzo

Le protocole de fabrication des hybridosomes® repose sur l'effet Ouzo [14, 15]. C'est un effet, encore non expliqué aujourd'hui, de démixion spontanée dans un mélange ternaire composé d'eau, d'une huile, et d'une troisième molécule partiellement soluble dans l'huile et l'eau (par exemple un alcool dans le cas de la boisson Ouzo, à l'origine du nom de l'effet). Nous appellerons cette molécule, la molécule hybride.

Si les trois composants sont présents dans des proportions aléatoires, il y a une séparation de phase classique qui mène à des gouttelettes hautement polydisperses, voire à des phases continues (cf figure 3.9a). Mais, si on se place dans des proportions bien spécifiques (dépendantes de chaque triplet d'espèces choisies) l'ensemble demixe en formant des gouttelettes monodisperses (composées d'huile et de molécules hybrides) dans une phase continue (composée d'eau et de molécules hybrides). Via cet effet, on peut ainsi former une grande quantité de gouttes monodisperses de manière reproductible. Ce mécanisme est schématisé en figure 3.9b.

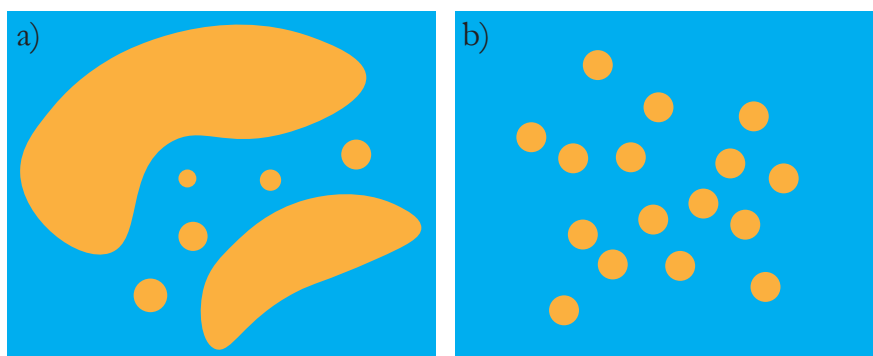


FIGURE 3.9 – Schéma illustrant le résultat du mélange de trois espèces, en différentes proportions : de l'eau, une molécule organique et une molécule hybride partiellement soluble dans les deux autres espèces. (Orange) Huile et molécule hybride. (Bleu) Eau et molécule hybride. (a) Résultat du mélange dans des proportions aléatoires. (b) Résultat du mélange dans des proportions spécifiques au domaine Ouzo. Des gouttes monodisperses se forment naturellement.

Dans notre protocole, l'huile est le Tétrahydrofurane (THF), représenté en figure 3.10a, et la molécule hybride est de l'HydroxyToluène Butylé (BHT), représenté en figure 3.10b, présent nativement dans le THF commercial.

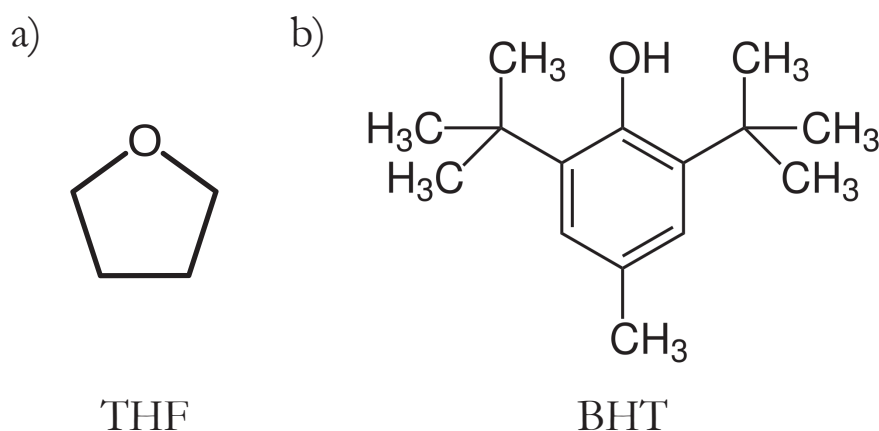


FIGURE 3.10 – Structures chimiques des molécules impliquées dans le protocole de fabrication des hybridosomes® : (a) Tétrahydrofurane (THF) (b) HydroxyToluène Butylé (BHT)

3.5.4 Protocole classique de fabrication des hybridosomes®

Le protocole conventionnel pour fabriquer les hybridosomes® est le suivant :

- Dans un flacon fermé, on mélange 250 μL d'eau, 725 μL de THF (qui contient 318 ppm de BHT natif) et 25 μL d'une solution de QD^d dans du THF.
- On place le flacon sur un vortex pendant quelques secondes pour homogénéiser le mélange. A la fin de cette étape, le flacon contient un ensemble de gouttelettes de {THF + BHT} monodisperses, dans une phase continue {eau + BHT}. La surface des gouttes est recouverte de QD.
- On ajoute 10 μL d'une solution de PolyAcide Acrylique (PAA, à 455 000 g/mol) à 1 M en Acide Acrylique. Les polymères viennent se lier aux QD, les liant les uns par rapport aux autres.
- On place le flacon pendant une nuit dans un bain sec pour faire évaporer le THF. Les QD forment une membrane et restent en place malgré la disparition progressive du liquide intérieur. La membrane étant poreuse, l'eau remplace au fur et à mesure le THF.
- Afin de caractériser la distribution produite en fin de protocole, on utilise un NTA (Nanoparticle Tracking Analysis). Étant submicronique, il est impossible d'imager les capsules car elles sont plus petites que les longueurs d'onde du domaine visible. Cependant, on peut observer pour chacune une tache de diffusion sous éclairage et repérer le mouvement de leur centre au cours du temps. Le NTA mesure ainsi le coefficient de diffusion de chaque particule et, via la formule de Stokes-Einstein, remonte au diamètre de chaque particule. Il est alors possible d'estimer la distribution de taille au sein de l'échantillon.

3.5.5 Modification de la taille des hybridosomes®

La taille des capsules est déterminée par la taille des gouttes. Cependant, comme l'effet Ouzo est encore mal compris, il est difficile de savoir ce qui fixe cette taille. L'équipe de recherche de Fabienne Gauffre n'a encore jamais cherché à augmenter la taille de ces capsules. Les variables du protocole sont :

- La concentration en BHT (la molécule hybride)
- La concentration en QD
- La quantité de THF par rapport à l'eau

d. Quantum Dots de type Cadmium Selenide/Zinc Sulfide core/shell fournis par Cytodiagnostic

Expérience 1 : Modification de la concentration en BHT

Pour réaliser ces expériences, nous avons réalisé le protocole classique, mais en ajoutant à la solution commerciale de THF du BHT supplémentaire par rapport à la concentration native. Les résultats, présentés en figure 3.11, montrent que l'ajout de BHT n'augmente que très peu la taille des capsules, mais augmente beaucoup la polydispersité. C'est donc une solution à proscrire pour notre étude.

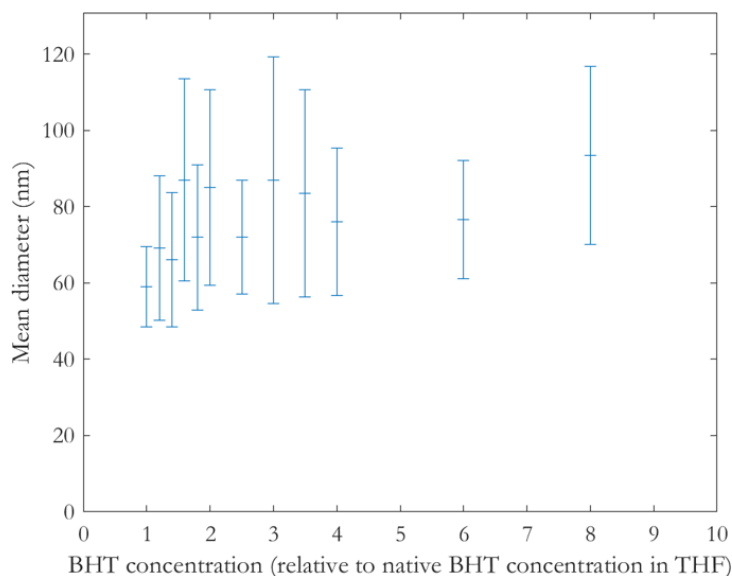


FIGURE 3.11 – Variation de la taille des capsules en fonction de la quantité de BHT dans le THF. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type mesuré au sein d'un seul échantillon.

Expérience 2 : Modification de la concentration en QD

Dans ces expériences, nous avons ajouté une quantité variable de solution de QD dans le THF, tout en ajustant le volume de THF sans QD afin de garder le volume total de THF dans le mélange constant. Cependant, le laboratoire s'est retrouvé en pénurie de QD que nous utilisons. Nous avons décidé d'utiliser d'autres QD que l'équipe de Fabienne Gauffre avait identifié comme une alternative intéressante aux QD actuels et qu'ils souhaitent tester dans leur protocole. Ces QD sont de type Octadecylamine coated Cadmium Selenide/Zinc Sulfide core/shell, fournis par SigmaAldrich. Les résultats sont présentés en figure 3.12. La quantité de QD n'a pas d'influence sur la taille des capsules. Cependant, à notre grande surprise, le type de QD a modifié drastiquement la taille moyenne de toutes les expériences, passant de 80 nm environ à 200 nm. Ce protocole se révélant positif pour la production de capsules de plus grande taille, c'est celui-ci que nous avons conservé pour la suite.

Par ailleurs, nous avons également remarqué qu'augmenter la quantité de QD augmente la quantité d'objets formés (données non présentées sur la figure), mais peut, au delà d'une certaine quantité, mener à une polydispersité importante (à partir de 120 $\mu\text{g}/\text{mL}$). Afin d'avoir le plus d'objets possibles, sans perte de monodispersités, on se placera donc à 80 $\mu\text{g}/\text{mL}$ dans la suite.

Expérience 3 : Modification de la quantité de THF par rapport à l'eau

Enfin, nous avons tenté de réaliser le protocole (avec les modifications précédentes) en faisant varier le rapport de volume entre eau et THF, qui est de 75/25 dans le protocole de base. Les résultats

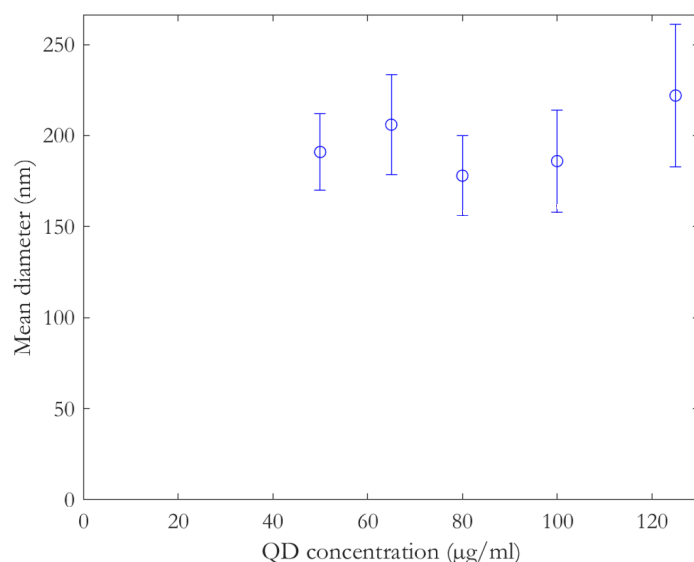


FIGURE 3.12 – Variation de la taille des capsules en fonction de la quantité de QD ajoutée (de type Octadecylamine coated Cadmium Selenide/Zinc Sulfide core/shell, fournis par SigmaAldrich). Les barres d'erreur indiquent l'écart-type mesuré au sein d'un seul échantillon.

sont présentés en figure 3.13.

On observe que, tant que la fraction de THF est de 25% ou moins, la distribution est centrée autour d'un seul pic. En revanche, à partir de 25,5%, la distribution se divise en plusieurs pics, avec des objets de très grande taille qui font artificiellement augmenter le diamètre moyen. Cela est probablement dû à la fin du domaine Ouzo, qui était garant de la monodispersité. On évitera donc de se placer au delà de 25% de THF lors des expériences.

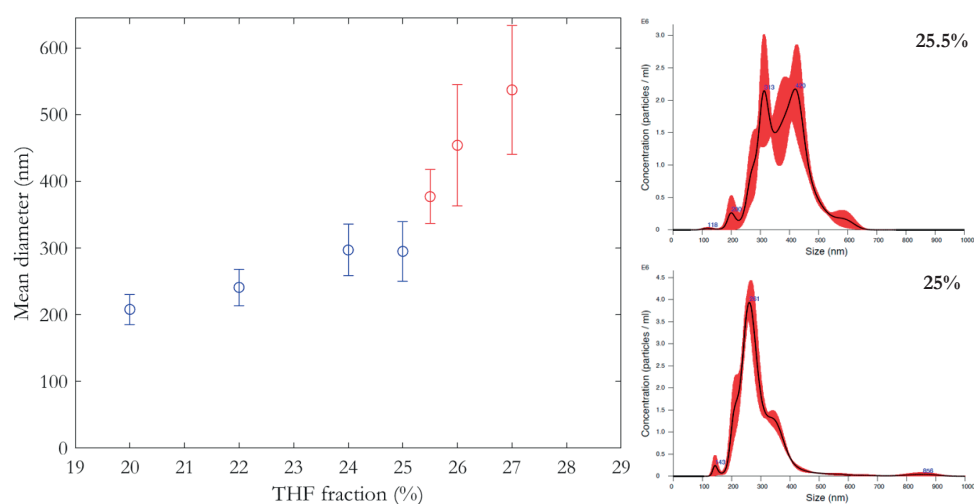


FIGURE 3.13 – (Gauche) Variation de la taille des capsules en fonction de la quantité de THF ajoutée. Les barres d'erreur indiquent l'écart-type mesuré au sein d'un seul échantillon, mais ne suffisent pas pour se rendre compte de la polydispersité. (Droite) Distribution en taille de la population de capsules pour 25% de THF et 25.5% de THF. La population à 25.5% présente une distribution multimodale, contrairement à celle à 25%. Sur le graphe de gauche, les distributions monomodales sont représentées en bleue, et les distributions multimodales en rouge.

On peut remarquer que les résultats de l'expérience précédente donnaient des diamètres moyens de 200 nm, alors que cette série d'expériences, pour des fractions en THF à 25% (donc les mêmes paramètres expérimentaux) donne des diamètres moyens d'environ 300 nm. C'est un comportement connu de ce protocole. Il est nécessaire de mesurer à chaque préparation le diamètre exact des capsules produites. En effet, bien que chaque échantillon soit assez monodisperse, le diamètre moyen peut légèrement varier entre deux échantillons issus d'un protocole identique. Par exemple, bien que le protocole classique donne des distributions de capsules monodisperses, chaque préparation possède un diamètre moyen aléatoirement compris entre 60 et 100 nm.

3.5.6 Ajout d'un fluorophore

Comme nous le verrons un peu plus tard, nous avons besoin de rendre les capsules fluorescentes. Cela peut être fait en utilisant des QD fluorescents. Cependant, nous avons remarqué que cela n'était pas suffisant pour les observer. Nous avons donc ajouté un fluorophore, le 4,4-Difluoro-8-(4-triméthylsilyléthynylphényl)-1,3,5,7-tetraméthyl-2,6-diéthyl-4-bora-3a,4a-diaza-s-indacène, représenté en figure 3.14, que nous appellerons BODIPY dans la suite. Celui-ci, initialement sous forme de cristal, est dissout en solution dans le THF.

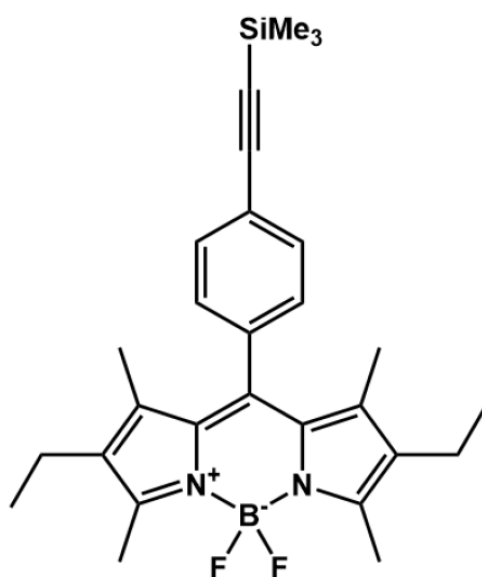


FIGURE 3.14 – Structure du fluorophore BODIPY

Lorsque le THF s'évapore, le BODIPY cristallise et se retrouve enfermé au sein de la capsule. Ainsi la capsule possède un nano-cœur de cristal extrêmement fluorescent, permettant de l'imager. Il est connu que le BODIPY peut influencer la taille des gouttes. Le mélange est désormais quinaire (Eau/THF/BHT/QD/BODIPY). Des interactions chimiques complexes peuvent avoir lieu et la variation de la taille des gouttes en fonction de la quantité de BODIPY n'a aucune raison d'être monotone. Nous avons donc testé le protocole précédent pour plusieurs quantités de BODIPY ajouté. Les résultats, présentés en figure 3.15 montrent que l'ajout de 75 $\mu\text{mol/L}$ de BODIPY permet d'obtenir les capsules les plus grandes et les échantillons les plus propres. Au delà de 125 $\mu\text{mol/L}$, il n'y a quasiment pas de capsules dans l'échantillon.

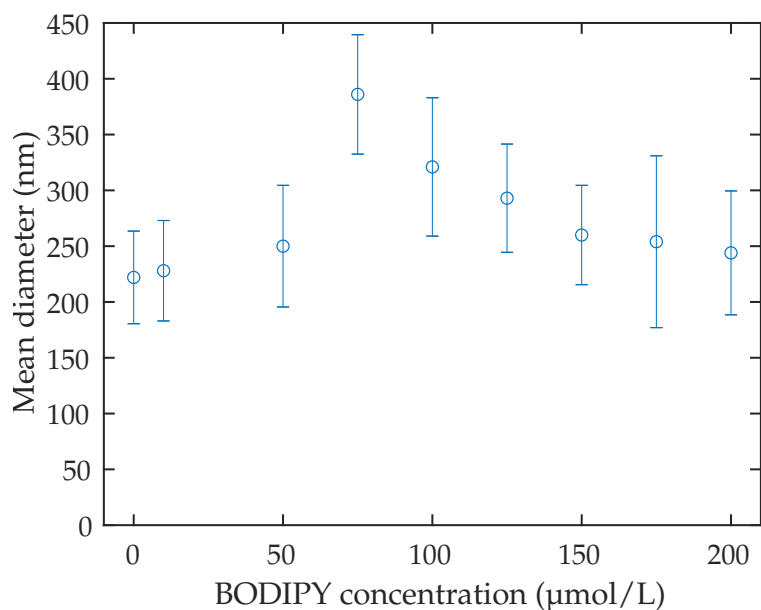


FIGURE 3.15 – Variation de la taille des capsules en fonction de la quantité de BODIPY ajoutée. Les barres d’erreur indiquent l’écart-type mesuré au sein d’un seul échantillon.

3.5.7 Protocole final

Pour résumer, voici le mélange final que nous avons utilisé pour fabriquer les capsules de ce chapitre :

- Eau - fraction volumique : 75%
- THF (avec une concentration native en BHT de 318 ppm) - fraction volumique : 25%
- QD de type Octadecylamine coated Cadmium Selenide/Zinc Sulfide core/shell (SigmaAldrich) en solution dans du THF - Concentration dans le mélange final : 80 µg/mL
- BODIPY en solution dans du THF - Concentration dans le mélange final : 75 µmol/L

Cela permet de fabriquer des capsules de 386 nm de diamètre (soit un rayon de $a = 193$ nm) pour une déviation de 107 nm, soit un coefficient de variation de 27%. Une image d’une des capsules observée par Microscopie Electronique en Transmission (TEM) est présentée en figure 3.16.

3.6 Expérimentation

Des capsules de taille supérieure à celles du protocole original ayant été produites avec succès, nous pouvons maintenant réaliser les expériences de capture.

3.6.1 Observation des capsules

Les capsules étudiées ici sont sub-microniques, c’est à dire que leur diamètre typique est largement inférieure à un micron. Les objets sub-microniques ne peuvent pas être observés directement au microscope optique. En effet, la taille de l’objet étant inférieure aux longueurs d’onde du domaine visible, ils apparaissent sous la forme d’une tâche d’environ 1 µm et sont très peu contrastés en réflexion. Afin de pouvoir les imager, ils sont souvent observés par fluorescence, ce qui a été réalisé ici.

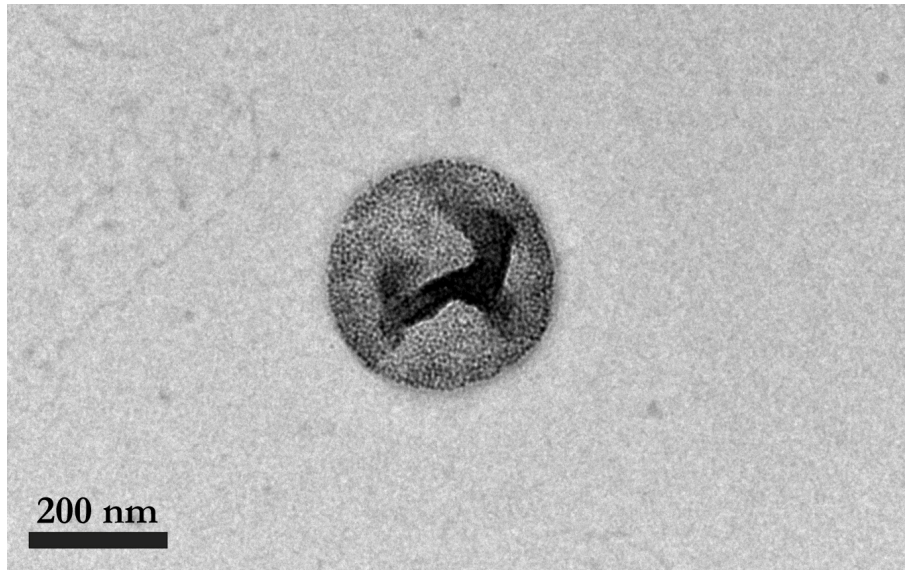


FIGURE 3.16 – Image d'une capsule observée par Microscopie Electronique en Transmission. La capsule a été séchée et peut donc sembler plus petite qu'en réalité à cause de repliements.

Le principe de mesure est le suivant, schématisé en figure 3.17. Une lampe à large spectre, typiquement une lampe à vapeur de mercure, illumine un objet fluorescent. Sur la course de cette lumière, deux filtres sont placés. Un premier filtre, le filtre d'excitation, placé avant l'objet, va couper la moitié supérieure du spectre de la lampe (les hautes longueurs d'ondes). Le second filtre, le filtre d'émission, va couper la seconde moitié du spectre (les basses longueurs d'ondes). En l'absence d'objet fluorescent entre les deux filtres, l'expérimentateur ne voit donc rien.

Par contre, si un objet fluorescent est placé entre les deux filtres, il reçoit une longueur d'onde qui n'a pas été coupé par le premier filtre. Cette longueur d'onde va être absorbée par le fluorophore et va être ré-émise, par fluorescence, en une longueur d'onde plus élevée. Cette longueur d'onde arrive jusqu'au second filtre, et, par un choix judicieux du second filtre, continue à se propager vers le détecteur. Elle arrive ainsi jusqu'à la caméra de l'expérimentateur, et est le seul signal mesuré. Cette technique permet donc de distinguer les objets sub-microniques, qui d'habitude émettent très peu de lumière. Pour de la microscopie, elle est souvent mise en pratique via un cube filtre qui contient deux filtres et un miroir semi-réfléchissant. Deux cubes filtres ont été utilisés :

- Pour les capsules, elles fluorescent grâce aux cristaux de BODIPY, fournis par O. Mongin (ISCR, Rennes). Le spectre du BODIPY n'a pas été mesuré, mais il fluoresce dans le vert, donc entre 500 et 550 nm. Le cube filtre utilisé est le cube U-MWB2 d'Olympus, dont le spectre est représenté en figure 3.18.
- Des particules de 250 nm ont également été utilisées dans les expériences. Elles fluorescent grâce à la protéine tdTomato, dont le spectre est représenté en figure 3.19. Le cube filtre TLV-U-MF2-TOM de Thorlabs est utilisé, dont le spectre est représenté en figure 3.20.

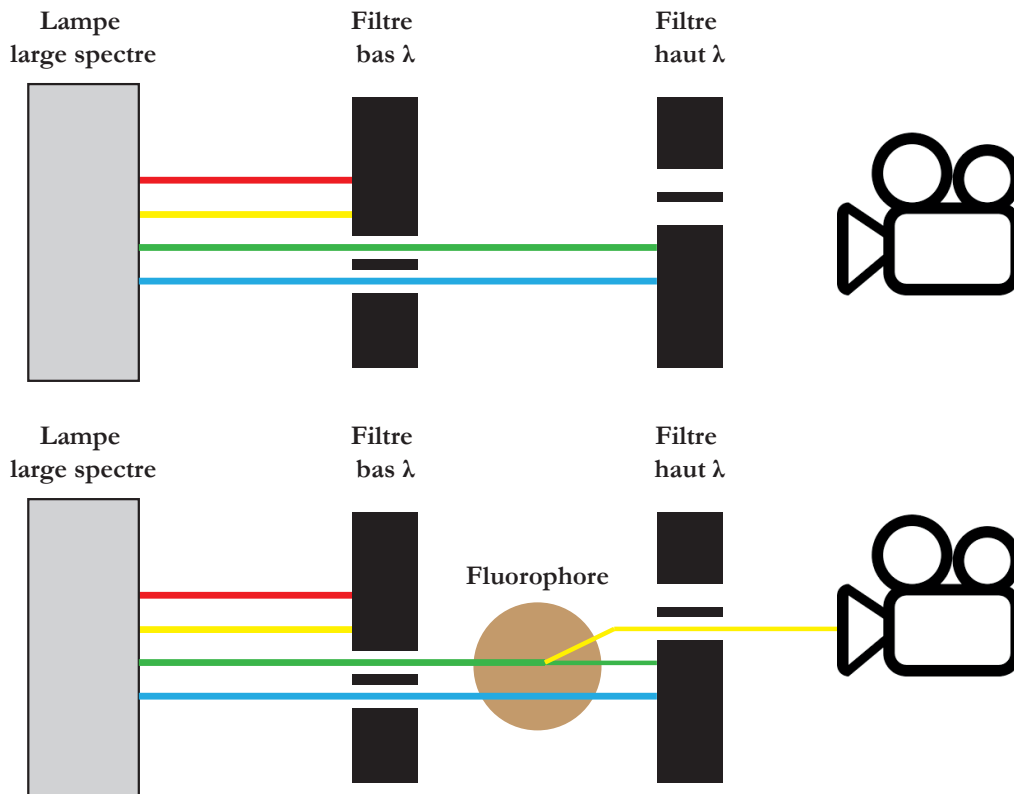


FIGURE 3.17 – Schéma du montage optique permettant d’observer les objets fluorescents en supprimant les informations lumineuses provenant des sources non fluorescentes.

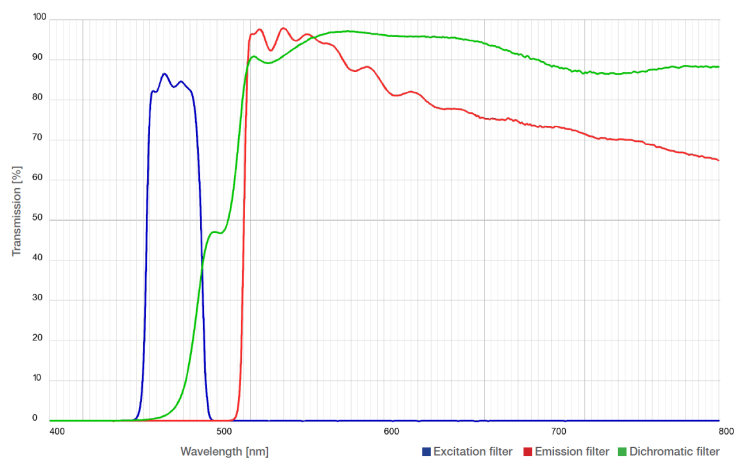


FIGURE 3.18 – Spectre des filtres du cube U-MWB2 d’Olympus utilisé lors des expériences avec les capsules.

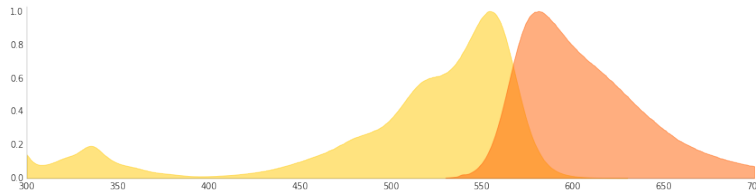


FIGURE 3.19 – Spectre de la protéine fluorescente tdTomato présente dans les particules utilisées dans ce chapitre. (Jaune) Spectre d'excitation (Rouge) Spectre d'émission.

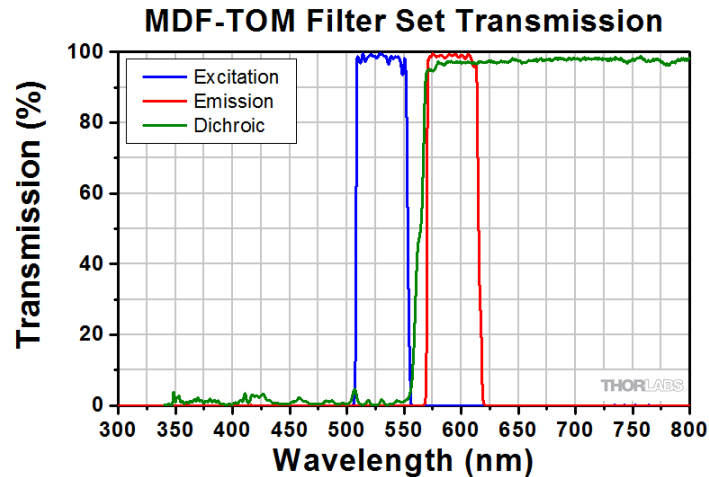


FIGURE 3.20 – Spectre des filtres du cube TLV-U-MF2-TOM de Thorlabs utilisé lors des expériences avec des particules dans ce chapitre.

3.6.2 Résultats expérimentaux

Répétabilité

Les résultats présentés dans cette section ont été obtenus en fin de thèse. De fait, ils n'ont pas été grandement répétés, voir pas répétés du tout. Ils sont donc à considérer avec précaution, et sont analysés en conséquence.

Les capsules (de rayon $a = 193$ nm) précédemment présentées sont injectées dans un canal de hauteur $H = 75$ μm et de largeur $W_c = 420$ μm , pour des débits Q variant entre 100 et 3 000 $\mu\text{L}/\text{min}$, suivant le même protocole que les particules du chapitre 2. Elles sont observées par fluorescence. Leur contour étant flou, les algorithmes de détection de contour utilisés pour les particules fonctionnent mal, et il devient difficile de les compter sans augmenter fortement le nombre d'erreurs. On va donc considérer que le nombre de capsules capturées est proportionnel à l'intensité lumineuse totale collectée, normalisée par l'intensité lumineuse moyenne du fond avant l'arrivée de la première capsule^e.

^e. Bien que tout le spectre est, théoriquement, coupé par le couple de filtres en l'absence d'objets fluorescents, une caméra sensible est utilisée sur le système expérimental. Ainsi, une faible fraction de la lumière de la lampe est tout de même détectée. Il est donc possible de mesurer les variations d'intensité lumineuse de la lampe UV en fonction des expériences.

Normalisation des graphes

Dans le chapitre 2, J était une mesure en particules/s qui nous renseignait directement sur le taux de capture. Ici, J mesure désormais l'évolution du signal fluorescent lumineux par seconde. Bien que corrélée à la mesure en particules/s, il nous manque une information pour obtenir des valeurs quantitatives. Une normalisation est nécessaire.

Il est probable que, pour des valeurs de $\mathcal{N}_{LD_{el}} \ll 1$ et $\mathcal{N}_{LD} \ll 1$, $J = J_0$, les objets suivant alors le modèle convecto-diffusif. Donc, pour chaque série d'expériences, le point ayant les plus faibles valeurs de $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ et \mathcal{N}_{LD} (tous deux inférieurs à 1) verra sa valeur de J/J_0 renormalisé à 1. Tous les autres points seront renormalisés en conséquences.

Expériences avec les capsules

On injecte en premier lieu une solution de capsule dans de l'eau DI. On obtient les résultats présentés en rouge sur la figure 3.21. Ces résultats ne semblent pas en accord avec les précédentes prédictions ou avec les simulations. On observe que, non seulement le taux de capture ne chute pas lorsque $\mathcal{N}_{LD_{el}} > 0.1$, mais il augmente avant de commencer à descendre de nouveau. Jusqu'à présent, le seul mécanisme qui a tendance à faire augmenter le taux de capture sont les forces électrostatiques entre surfaces chargées. Au vu de leur portée typique ($\lambda_D = 1 \mu\text{m}$ dans l'eau DI) et de la petite taille des capsules ici ($a = 193 \text{ nm}$), il se peut que cette force joue un rôle important.

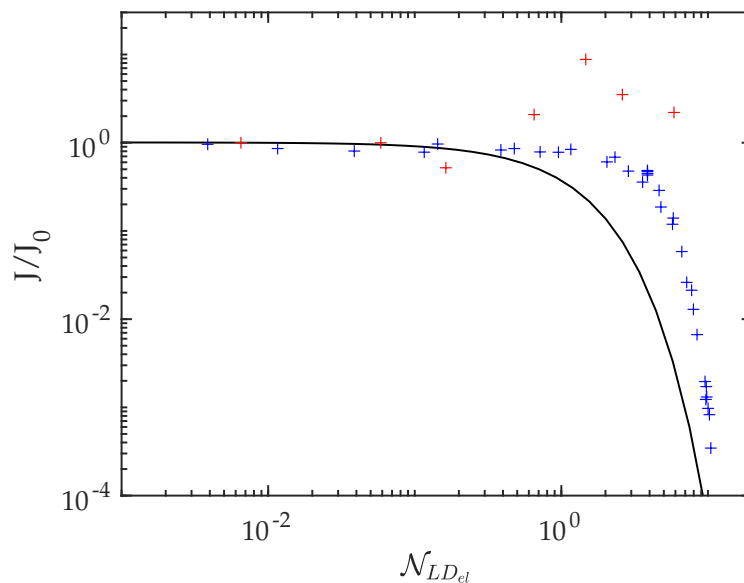


FIGURE 3.21 – Résultats des expériences de capture de capsules en fonction du nombre Lifto-Diffusif élastique. Les expériences ont été réalisées à $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LD_{el}}} = 14$. (Croix rouges) Résultats expérimentaux. (Croix bleues) Simulations numériques et (ligne noire) théorie pour comparaison. Le coefficient de Poisson de la membrane étant inconnu (mais probablement compris entre 0.2 et 0.5), il a été pris égal à celui d'un caoutchouc (0.5) pour le calcul de $\mathcal{N}_{LD_{el}}$.

La normalisation par l'intensité lumineuse moyenne du fond permet de corriger une éventuelle modification du signal de fluorescence lié à un changement de puissance de la lampe.

Expériences avec les capsules dans de l'eau avec NaCl

On reproduit donc les expériences précédentes en ajoutant 10^{-2} M de NaCl dans la solution de capsule, réduisant ainsi la portée des interactions électrostatiques λ_D à une dizaine de nanomètres. Les résultats sont représentés en rouge sur la figure 3.22

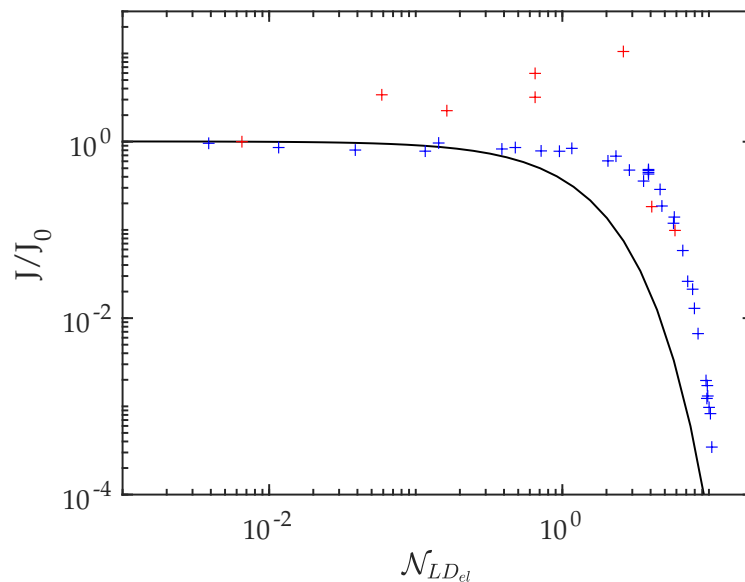


FIGURE 3.22 – Résultats des expériences de capture de capsules dans de l'eau salée (10^{-2} M de NaCl) en fonction du nombre Lifto-Diffusif élastique. Les expériences ont été réalisées à $\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}} = 14$. (Croix rouges) Résultats expérimentaux. (Croix bleues) Simulations numériques et (Ligne noire) théorie pour comparaison.

On remarque que le profil se rapproche des résultats de la simulation. Cependant, il possède toujours un comportement inexplicable autour de $\mathcal{N}_{LDel} \simeq 1$.

Les capsules font 386 nm de diamètre. Peut-être que, indépendamment de leur caractère déformable, un autre effet lié à leur petite taille joue un rôle. Or, aucune expérience n'a été effectuée dans cette thèse sur des objets aussi petits, dans le cas des particules (non déformables).

Expériences avec des particules dans de l'eau avec NaCl

Afin de savoir si cet effet provient de la taille de l'objet, des expériences similaires ont été reproduites mais avec des particules fluorescentes de taille au moins aussi petite que les capsules considérées. Des particules de 250 nm de diamètre et de traitement de surface identique que celles du chapitre 2 ont été choisies. Les résultats sont présentés en figure 3.23 et sont comparés à la théorie Lifto-Diffusive du chapitre 2.

Cette expérience a été particulièrement peu reproduite. Il est difficile à l'heure actuelle, au vu du faible nombre de résultats, de dire avec certitude si les particules de 250 nm suivent ou non la théorie Lifto-Diffusive ou si un nouvel effet rentre en jeu à cette échelle. Des expériences complémentaires sont nécessaires. De fait, nous ne concluons pas sur la question, qui nécessiterait une recherche plus approfondie pour apporter une réponse éclairée et fiable.

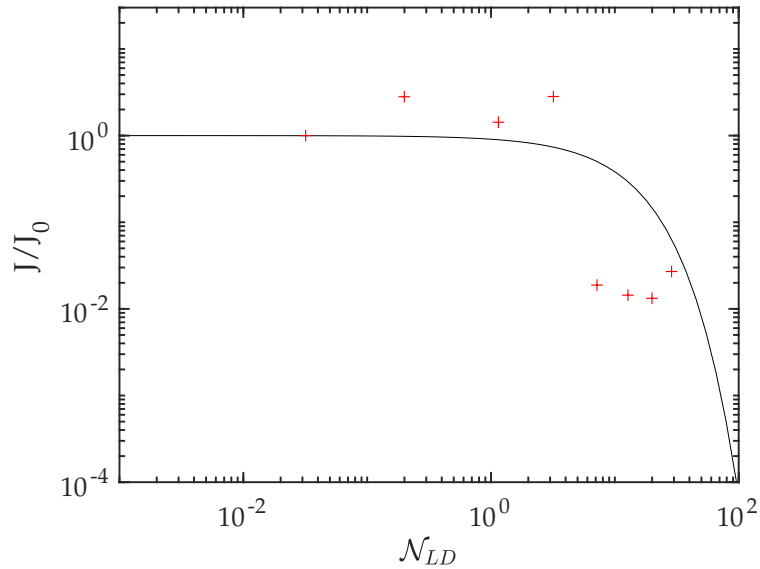


FIGURE 3.23 – Résultats des expériences de capture de particules de 250 nm de diamètre dans de l’eau salée (10^{-2} M de NaCl) en fonction du nombre Lifto-Diffusif. (Ligne noire) Théorie lifto-diffusive.

3.7 Conclusions et perspectives

Dans ce chapitre, nous avons abordé la question de la capture d’objets déformables sous écoulement, en nous intéressant plus particulièrement au cas des capsules. Celle-ci peuvent être repoussées des parois par des forces qui s’appliquent sur elles une fois déformées.

Nous avons dans un premier temps proposé un modèle, reposant principalement sur un nombre sans dimension, le nombre Lifto-Diffusif élastique $\mathcal{N}_{LD_{el}}$ issu des travaux théoriques de la littérature. Des simulations ont ensuite été réalisées, grâce à notre outil de simulations Lagrangiennes adapté au problème considéré. Les simulations sont en désaccord partiel avec le modèle proposé, mais en accord avec le nombre sans dimension proposé. Les capsules utilisées pour cette recherche ont ensuite été fabriquées. Cela a nécessité la prise en main d’un protocole dans un autre laboratoire et des tests pour le modifier jusqu’à obtenir des capsules de la taille désirée. Enfin, quelques expériences ont été réalisées.

Les résultats montrent qu’un effet encore non compris ou qu’un biais non détecté est présent ici. Cependant, le faible nombre d’expériences conduites ne nous a pas permis de l’identifier. Plusieurs pistes sont cependant à envisager :

- Comme cela a déjà été abordé, il y a-t-il un effet non détecté lié à la taille des objets, indépendamment des lift inertiels et élastiques?
- Les capsules sont-elles bien en régime dilué, sans interactions possibles entre elles? Bien qu’en concentration plus faible que les particules, elles sont déformables. Une interaction hydrodynamique de plus grande portée, notamment entre les capsules déjà accrochées et celles en volume, est peut-être présente.
- Il y a-t-il bien une linéarité entre le signal de fluorescence mesuré et le nombre de capsules présentes? Des phénomènes d’auto-quenching, par exemple, pourraient-ils fausser le signal?
- Enfin, peut-être que la répétition des expériences, qui nous permettrait de quantifier la dispersion des données, nous montrerait un écart-type inférieur à l’écart observé sur nos résultats,

indiquant ainsi un bruit important sur notre dispositif actuel.

Cependant, il serait intéressant d'étudier d'autres objets partageant des caractéristiques proches pour observer leur différence de comportement et leur similitude par rapport aux capsules. Qu'en est-il de la capture d'autres objets déformables, comme des vésicules, des cellules, des gouttes armurées, ou encore le comportement d'objets non déformables, mais dont la forme n'est pas ronde?

Jusqu'à présent, on s'est intéressé à ce qui se passait lorsque le taux de capture était limité par le nombre d'objets qui arrivaient à atteindre la surface captatrice. Le modèle de Squires *et al.* possède cependant un autre régime qui est le lieu de nombreuses applications biomédicales : le régime où le taux de capture est limité par la vitesse de la réaction à la surface captatrice. Ce sont les limites du modèle de Squires *et al.* dans ce régime qui vont nous intéresser dans le chapitre suivant.

Pour résumer

- Un taux de capture théorique pour les capsules est proposé. Il se base sur un nombre sans dimension, le nombre Lifo-Diffusif élastique, qui compare la diffusion des capsules et une force de répulsion au paroi issue de la déformation de ces mêmes capsules. Un facteur géométrique est également impliqué.

$$\mathcal{N}_{LDel} = \frac{E_{el}^* H}{k_b T a} = 882(1 + \tilde{\nu}) \frac{Q^2 \eta^2 a^4}{W_c^2 H^4 \mathcal{E} h k_b T} \quad (3.30)$$

- Des simulations sont effectuées, via l'outil de simulations Lagrangiennes présenté dans le chapitre 2. En léger désaccord avec le modèle théorique, il valide cependant l'expression du nombre Lifo-Diffusif comme paramètre pertinent pour l'adimensionnement.
- La domination du lift élastique par rapport au lift inertiel en fonction des paramètres est discuté. D'un point de vue théorique, le lift élastique semble dominer lorsque :

$$\frac{\mathcal{N}_{LD}}{\mathcal{N}_{LDel}} \leq 10 \quad (3.31)$$

- Les hybridosomes[®] sont choisis comme capsules les plus adaptées aux expériences. Des modifications sont apportées à leur protocole de fabrication pour augmenter leur taille. Le choix des Quantum Dots qui composent leur membrane semble être le facteur dominant. Les hybridosomes[®] finalement utilisés dans les expériences font 386 nm de diamètre, contre 80 nm pour ceux classiquement produits en utilisant le protocole originel.
- Quelques expériences de capture sont effectuées avec ces capsules, avec et sans ajout de NaCl, et avec des nanoparticules avec ajout de NaCl pour comparaison. Les résultats présentent des comportements inattendus, témoins d'un phénomène encore mal compris. Des expériences complémentaires sont nécessaires pour interpréter complètement ces résultats.

Références

1. JIMÉNEZ-ZENTENO, A. K. & CERF, A. Liquid Biopsy Based on Circulating Cancer-Associated Cells: Bridging the Gap from an Emerging Concept to a Mainstream Tool in Precision Medicine. *Advanced biosystems* **4**, 1900164 (2020).
2. HELMY, A & BARTHES-BIESEL, D. Migration of a spherical capsule freely suspended in an unbounded parabolic flow. *Journal de Mécanique théorique et appliquée* **1**, 859-880 (1982).
3. MATAS, J., MORRIS, J. & GUAZZELLI, E. Lateral forces on a sphere. *Oil & Gas Science and Technology* **59**, 59-70 (2004).
4. SINGH, R. K., LI, X. & SARKAR, K. Lateral migration of a capsule in plane shear near a wall. *Journal of Fluid Mechanics* **739**, 421-443 (2014).
5. UTADA, A. S. *et al.* Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device. *Science* **308**, 537-541 (2005).
6. DOMÉJEAN, H. *Formation de capsules d'hydrogel à coeur aqueux par fragmentation d'un jet composé de fluides complexes* thèse de doct. (Paris 6, 2014).
7. UTECH, S. *et al.* Microfluidic generation of monodisperse, structurally homogeneous alginate microgels for cell encapsulation and 3D cell culture. *Advanced healthcare materials* **4**, 1628-1633 (2015).
8. CHOI, C.-H. *et al.* Generation of monodisperse alginate microbeads and in situ encapsulation of cell in microfluidic device. *Biomedical microdevices* **9**, 855-862 (2007).
9. GOUBAULT, C. *L'effet ouzo pour l'élaboration de nanocapsules hybrides (Hybridosomes®), l'encapsulation de composés hydrophobes par nanopréciipitation et la radiothérapie* thèse de doct. (Université Rennes 1, 2020).
10. GOUBAULT, C. *et al.* The Ouzo effect: A tool to elaborate high-payload nanocapsules. *Journal of Controlled Release* **324**, 430-439 (2020).
11. SCIORTINO, F. *Nouveau procédé d'élaboration de nanocapsules inorganiques et hybrides (Hybridosomes®): des films multifonctionnels aux applications biomédicales* thèse de doct. (Université Rennes 1, 2017).
12. SCIORTINO, F. *et al.* Structure and elasticity of composite nanoparticle/polymer nanoshells (hybridosomes®). *Soft Matter* **13**, 4393-4400 (2017).
13. SCIORTINO, F. *et al.* Simple Engineering of Polymer–Nanoparticle Hybrid Nanocapsules. *ChemNanoMat* **2**, 796-799 (2016).
14. VITALE, S. A. & KATZ, J. L. Liquid droplet dispersions formed by homogeneous liquid- liquid nucleation: "The Ouzo effect". *Langmuir* **19**, 4105-4110 (2003).
15. GANACHAUD, F. & KATZ, J. L. Nanoparticles and nanocapsules created using the ouzo effect: spontaneous emulsification as an alternative to ultrasonic and high-shear devices. *ChemPhysChem* **6**, 209-216 (2005).

CAPTURE DE MOLÉCULES BIOLOGIQUES SOUS ÉCOULEMENT

De nombreux mécanismes biologiques sont le fruit d'une réaction de complexation entre deux (ou parfois trois) molécules : l'interaction anticorps-antigène pour la réaction immunitaire [1] ou l'hybridation d'ADN simple brin complémentaire pour former une double hélice d'ADN [2] pour n'en citer que quelques-uns. La réaction de complexation est un élément clé de nombreux protocoles modernes de bioanalyse tels que les *immuno-assays* sur puce[3-7], les analyses "au chevet du patient" (*point-of-care*) pour les analyses cancéreuses [8, 9] ou, plus généralement, la biodétection [10-12].

Ces applications cherchent à mesurer les différentes grandeurs biologiques permettant d'obtenir des informations sur l'état d'un patient ou d'un échantillon. Parmi elles se trouvent les informations sur la dynamique de complexation de deux molécules d'intérêt.

Une interaction entre deux molécules d'intérêt est décrite quantitativement par trois grandeurs : la constante cinétique de complexation k_{on} , qui décrit la rapidité avec laquelle deux molécules en interaction forment un complexe à une concentration donnée, la constante cinétique de dissociation k_{off} , qui décrit le temps nécessaire à un complexe pour se dissocier, et la constante de dissociation $K_D = \frac{k_{off}}{k_{on}}$ qui décrit l'affinité entre les deux molécules en interaction.

Différentes stratégies ont été développées pour mesurer ces constantes, comme les méthodes statiques et les méthodes sous flux, pour n'en citer que quelques-unes. Un exemple typique de méthode statique est le test ELISA, qui peut être réalisé en greffant l'une des deux molécules sur le fond des puits d'une plaque de microtitration, l'autre molécule étant libre en solution à différentes concentrations. La mesure du K_D est réalisée à l'équilibre par des mesures colorimétriques[13-18]. Concernant les méthodes sous flux, il existe principalement deux approches. Dans une première approche, les molécules ne sont plus greffées sur une surface. C'est ce qui est fait notamment dans la méthode d'électrophorèse capillaire où on compare la différence de mobilité entre les molécules et les complexes sous un champ électrique [19-24]. Dans la seconde approche, l'une des deux molécules est greffée sur une surface, tandis que l'autre est injectée à l'aide d'un flux et passe à proximité de la surface captatrice. Dans ce chapitre, nous nous concentrons sur cette dernière stratégie, majoritairement représentée par la méthode de l'isotherme de Langmuir, dont nous allons ici exposer les bases

nécessaires pour la compréhension de la fin de cette thèse.

4.1 Introduction : méthode de l'isotherme de Langmuir

4.1.1 Nomenclature

Cette stratégie met en jeu un **ligand**, c'est à dire une molécule greffée sur une surface via une fonctionnalisation. Cette surface est appelée une **biopuce** ou une **surface sensible**. Cette surface sensible est mise en contact avec une solution de l'autre molécule du couple, qui est appelée la **molécule cible**. Le but de cette méthode est de mesurer l'évolution du nombre de **complexes** qui se forment sur la surface. Pour résumer :



4.1.2 Réalisation pratique

La méthode de l'isotherme de Langmuir est très classique et est réalisée via un montage expérimental typique schématisé en figure 4.1. Un échantillon (en rouge) constitué des molécules cibles est poussé continuellement le long d'un tube par son solvant (en bleu) jusqu'à une puce microfluidique où se trouve une surface sensible recouverte de ligand (en jaune). En mesurant le nombre de complexes qui se forment sur la surface sensible, on peut remonter aux valeurs des constantes cinétiques.

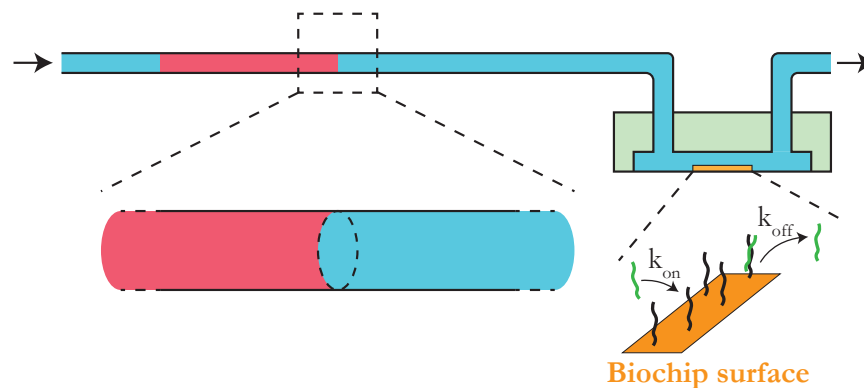


FIGURE 4.1 – Schéma du système expérimental. (Rouge) Échantillon de molécules cibles. (Bleu) Solvant. (Jaune) Surface sensible située dans la chambre microfluidique, recouverte de ligands. Un système d'analyse contrôle la quantité de complexes formés en fonction du temps. La figure n'est pas à l'échelle.

Pour ce faire, on réalise un **sensorgramme**, comme illustré en figure 4.2 qui est une courbe du nombre de complexes formés en fonction du temps. Les méthodes pour mesurer le nombre de complexes formés à une surface varient en fonction des équipes, mais les plus courantes sont :

- La méthode d'imagerie par Résonance de Plasmon de Surface (SPRi), que l'on détaillera dans la suite de ce chapitre [25-28].

- Les microbalances à Quartz (Quartz Crystal Microbalance QCM) qui sont des résonateurs piézoélectriques dont la fréquence de résonance varie en fonction de la masse accrochée à leur surface [29, 30].
- Les systèmes électrochimiques, qui utilisent des réactions électrochimiques, aisément mesurables par voltamétrie, déclenchées par la formation des complexes.

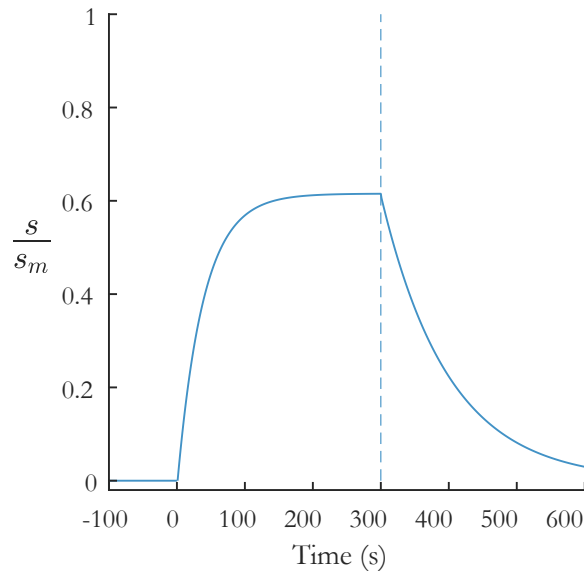


FIGURE 4.2 – Sensorgramme typique réalisé lors de la caractérisation de molécules biologiques. La concentration surfacique s en complexes formés sur la concentration initiale s_m en ligand est tracé en fonction du temps. s/s_m peut également être vu comme la fraction de complexes formés par rapport au nombre de complexes sur une surface saturée. L'échantillon atteint la biopuce en $t = 0$ s et la quitte en $t = 300$ s. Entre temps, le nombre de complexes augmente jusqu'à atteindre une valeur d'équilibre, fruit de la compétition entre complexation et dissociation. Après $t = 300$ s, la dissociation agit seule pour faire diminuer la quantité de complexes en surface.

4.1.3 Intérêt de la mise en écoulement

Supposons que l'on soit dans une situation expérimentale dans laquelle il n'y a pas d'écoulement. Au bout d'un certain temps, toutes les molécules proches de la surface ont réagi. Cela va demander un temps supplémentaire de diffusion pour que des molécules situées plus loin atteignent la surface. A ce moment là, le taux de formation du complexe n'est alors plus fonction de k_{on} mais bien de cette cinétique de diffusion. Les mesures expérimentales ne donnent donc plus aucune information sur les constantes de réaction. C'est tout l'intérêt de réaliser les mesures sous écoulement. En renouvelant sans cesse la population de molécules cibles à proximité de la surface sensible, on est assuré de ne jamais se trouver dans le cas d'un régime limité par le transport de masse. En effet, contrairement à ce qui a été abordé dans les chapitres précédents, afin de pouvoir mesurer k_{on} , ce qui doit limiter le taux de capture ici doit être la vitesse de complexation à la surface (fonction de k_{on}) et non le transport des molécules jusqu'à la surface sensible.

4.1.4 Mise en équation

Cette méthode est basée sur le modèle classique utilisé pour décrire la liaison et la dissociation des molécules cibles sur une surface recouverte de ligands, connue sous le nom de cinétique de Langmuir du premier ordre[31] :

$$\frac{ds}{dt} = k_{\text{on}}c_0(s_m - s) - k_{\text{off}}s \quad (4.1)$$

où l'évolution temporelle du nombre de complexes s formés par rapport au nombre total de ligands s_m résulte de deux mécanismes. La complexation, proportionnelle à la concentration en molécules cibles dans le volume c_0 et la concentration surfacique en ligands restés libres $s_m - s$:

$$\left. \frac{ds}{dt} \right|_{\text{on}} = k_{\text{on}}c_0(s_m - s) \quad (4.2)$$

et la dissociation des complexes, proportionnelle à la concentration surfacique en complexes formés s :

$$\left. \frac{ds}{dt} \right|_{\text{off}} = -k_{\text{off}}s \quad (4.3)$$

À l'équilibre, les deux contributions s'équilibrent et la somme de ces deux taux est égale à zéro :

$$\frac{s^*}{s_m} = \frac{c_0}{c_0 + k_{\text{off}}/k_{\text{on}}} \quad (4.4)$$

Quantitativement, la méthode de l'isotherme de Langmuir consiste à mesurer le nombre de complexes à l'équilibre s^* pour différentes concentrations initiales c_0 , comme illustrée en figure 4.3. $K_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, la constante de dissociation, apparaît alors comme le seul paramètre d'ajustement de la courbe.

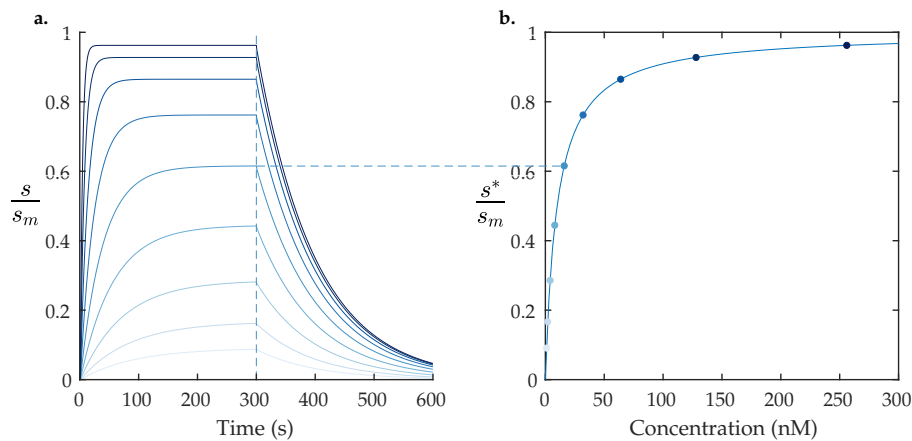


FIGURE 4.3 – Méthode de l'isotherme de Langmuir. **(a)** Plusieurs expériences sont réalisées pour différentes concentrations c_0 en molécules cibles. On mesure alors la fraction de remplissage de la surface en complexe à l'équilibre s^*/s_m . **(b)** Courbe de la fraction de remplissage de la surface à l'équilibre s^*/s_m en fonction de la concentration en molécules cibles c_0 . Les points expérimentaux sont alors ajustés par l'équation (4.4) avec $k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$ comme seul paramètre d'ajustement.

Bien que cette méthode fournisse des mesures précises, travailler à l'équilibre nécessite un volume d'échantillon croissant à mesure que k_{on} diminue. En effet, plus la valeur de k_{on} est faible, plus

le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est long. Travaillant sous écoulement continu, des expériences plus longues équivalent à des plus grands volumes consommés. Ainsi, cette méthode nécessite des quantités massives d'échantillons pour des couples de molécules avec des k_{on} particulièrement faibles. Cela peut être un frein important pour les analyses ou la recherche quand les échantillons sont très chers ou disponibles en très faible quantité. Des ordres de grandeur seront présentés en fin de chapitre.

4.2 Objectifs du chapitre

Dans ce chapitre, une méthode de mesure hors-équilibre de la constante cinétique de complexation k_{on} d'un couple de molécules est proposée. Cette méthode est dédiée en particulier aux couples à faible valeur de k_{on} ($\leq 10 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$), qui sont mal adaptés à la méthode actuelle. Typiquement, dans notre gamme de paramètres, le gain en temps d'analyse est d'environ 200 et le gain en volume est d'environ 40.

Au lieu de se concentrer sur la valeur finale atteinte par la courbe, on étudie la valeur initiale de sa pente $\frac{ds}{dt}$. Notre méthode se place dans un cadre de travail loin de l'équilibre, c'est à dire que le nombre de complexes formé est à tout moment négligeable par rapport à celui atteint une fois à l'équilibre :

$$\frac{s}{s_m} \ll \frac{s^*}{s_m} = \frac{c_0}{c_0 + k_{off}/k_{on}} \quad (4.5)$$

Ce qui revient à :

$$k_{on} c_0 s + k_{off} s \ll k_{on} c_0 s_m \quad (4.6)$$

Ainsi, loin de l'équilibre, on remarque que deux des trois termes de l'équation (4.1) sont négligeables. Elle se simplifie donc et devient :

$$\frac{ds}{dt} = k_{on} c_0 s_m \quad (4.7)$$

Au lieu de s'appuyer uniquement sur la mesure des valeurs à l'équilibre, cette équation montre qu'une mesure hors équilibre peut donner des informations sur la valeur de k_{on} . C'est ici la mesure de l'évolution du nombre de complexes aux cours du temps qui va permettre d'en extraire les valeurs de k_{on} . Comme il s'agit d'une mesure qui s'effectue sur le début de la courbe, elle peut être réalisée avec de plus faibles volumes. Cependant, cette méthode a un inconvénient. L'échantillon étant de plus faible volume, il est soumis a un effet hydrodynamique qui était négligeable auparavant, la dispersion de Taylor-Aris. Cet effet résulte du profil parabolique de l'écoulement de Poiseuille et génère une diffusion effective bien plus grande que la diffusion simple. Cet effet est expliqué qualitativement en figure 4.9. Nous proposons dans ce chapitre une méthode d'analyse qui permet d'interpréter les mesures en prenant ces effets en compte. Grâce à cette nouvelle approche, le temps d'analyse et le volume de l'échantillon peuvent être réduits de manière significative, en particulier pour les couples de molécules pour lesquels les valeurs de k_{on} sont les plus basses.

Dans ce chapitre, nous présentons tout d'abord le système expérimental et les résultats obtenus. Ensuite, nous présentons des simulations numériques reproduisant les mesures expérimentales et nous permettant de confirmer qu'aucun biais, autre que la dispersion de Taylor-Aris, ne vient biaiser

les mesures. Cela nous permet de construire un nouveau modèle de capture hors équilibre décrit dans la troisième partie. Enfin, nous discutons de la gamme de validité du modèle.

Pour des questions d'homogénéité, nous utiliserons les unités du Système International pour k_{on} dans tout le chapitre ($m^3 mol^{-1} s^{-1}$) et non son unité usuelle ($L mol^{-1} s^{-1}$).

4.3 Expérimentation

Les expériences présentées dans ce chapitre ont été développées et réalisées en collaboration avec Claude Noguès, Chargée de Recherche au Laboratoire de Biologie et Pharmacologie Appliquée (LBPA), à l'ENS Paris-Saclay.

4.3.1 Principe de l'expérience

La procédure expérimentale est très classique et est décrite sur la figure 4.1, que nous reproduisons ici en figure 4.4 pour clarifier la lecture. Un échantillon (en rouge sur le schéma) de volume V_0 , de longueur L_0 et de concentration en molécules cibles $c_0 = 50$ nM dans une solution saline tamponnée au phosphate à 400 mM (*Phosphate-Buffered Saline* PBS, pH = 7.4), est injecté dans un tube de rayon $R = 300 \mu m$. Initialement sous forme de *bouchon*, il est poussé par une solution de PBS (en bleu sur le schéma) sans molécules cibles, dans un tube de longueur $L_1 = 28.4$ cm à un débit Q . Il atteint finalement un système microfluidique, de hauteur $H = 1.75$ mm et de largeur $W_c = 8.9$ mm dans lequel une biopuce fonctionnalisée avec des ligands (en jaune) est présente. La température est fixée à $25.0^\circ C$ proche de la biopuce.

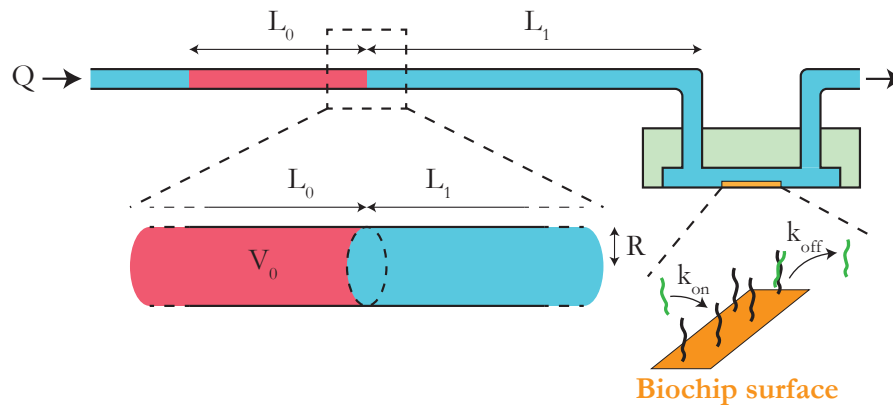


FIGURE 4.4 – Schéma du système expérimental. (Rouge) Échantillon de volume V_0 , de longueur L_0 et de concentration en molécules cibles c_0 , injecté dans un tube de rayon R à un débit Q . (Bleu) Tampon phosphate PBS. (Jaune) Surface sensible située dans la chambre microfluidique, recouverte de ligands. Un système d'analyse contrôle la quantité de complexes formés en fonction du temps. La figure n'est pas à l'échelle.

Selon l'équation (4.7), le nombre de complexes évolue linéairement avec le temps tant que l'on se place loin de l'équilibre de la réaction. Ainsi, la valeur de k_{on} peut être extraite de la mesure du taux de formation des complexes $\frac{ds}{dt}$. Dans ce qui suit, nous notons k_{on} la valeur intrinsèque de la constante cinétique de complexation, indépendante du protocole expérimental et d'analyse. Inversement, la constante cinétique de complexation apparente mesurée à partir du taux de complexation expérimental (ou numérique) sera notée \widetilde{k}_{on} et sera calculée via :

$$\widetilde{k}_{\text{on}} = \frac{1}{c_0 s_m} \frac{ds}{dt} \quad (4.8)$$

Contrairement à k_{on} , cette valeur peut être l'objet de plusieurs biais, tels que des biais expérimentaux ou dus au post-traitement des données.

4.3.2 Protocole : fabrication, injection, régénération

Choix des molécules cibles et des ligands

Les molécules cibles choisies sont de l'ADN composé d'un seul brin (single-stranded DNA : ssDNA) et les ligands, fixés sur la surface fonctionnalisée, sont l'ADN simple brin complémentaire. Ils se complexent entre eux via hybridation de l'ADN complémentaire. Nous avons choisi cette réaction de complexation pour trois raisons :

- L'hybridation de l'ADN est une réaction très bien connue qui sert de référence dans le domaine de la bioanalyse. Utiliser cette réaction permet de limiter les risques de non reproductibilité des résultats liés à l'objet d'étude.
- L'hybridation de l'ADN fait partie des réactions avec de très faibles valeurs de k_{on} ($\approx 1 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, [2, 32]), ce qui est exactement le type de système pertinent pour cette étude. De plus, $k_{\text{off}} = 0$: cela ne change rien au problème étudié, mais cela augmente la valeur de s^* , ce qui élargit la gamme du régime hors équilibre (cf équation (4.5)).
- L'ADN double brin se dissocie immédiatement et à 100% d'efficacité en présence d'une solution de tensioactif SDS (Sodium Dodecyl Sulfate). Cette technique, appelée régénération, permet de détacher tous les complexes formés sur la biopuce et de retrouver une biopuce prête à l'emploi. Ainsi, il n'est pas nécessaire de changer de biopuce au cours d'une journée d'expérience. On peut recommencer des mesures en étant sûr de la non variabilité de la surface sensible, celle-ci étant toujours la même et montée de la même façon dans l'appareil d'analyse.

Choix des séquences d'ADN

Les séquences d'ADN (Eurogentec) ont été générées de manière aléatoire, avec vérification de l'absence d'autocomplémentarité pour éviter que l'ADN ne se replie sur lui-même. Le brin d'ADN fixe (le ligand) est long de 50 bases et possède une fonction thiol SH à son extrémité 5', lui permettant de se lier à la biopuce. Le brin d'ADN libre est long de 26 bases qui sont complémentaires aux 26 bases à l'extrémité 3' de l'ADN fixe.

ADN libre : 5'-CGA GTC GCA AGA TGG CGG ATC CGA GTG ACA GAT GG-3'

ADN fixe : SH-C6H12- T5-5' CCA TCT GTC ACT CGG ATC CGC CAT CTT GCG ACT CG-3'

Fabrication de la couche sensible

La couche sensible de la biopuce est réalisée de la manière suivante. Une biopuce Horiba SPRi™, composée d'un prisme en verre à haut indice de réfraction recouvert d'une couche d'or ($\approx 100 \text{ nm}$), est soumise à différents traitements successifs : lavage à l'eau milliQ, séchage à l'argon, exposition à l'ozone UV pendant 5 minutes pour la nettoyer, suivie d'une immersion directe dans l'éthanol absolu pendant au moins 20 minutes (figure 4.5a). Après séchage à l'argon, une solution d'ADN simple brin

thiolé (SH-ssDNA) à une concentration d'environ $5 \mu\text{M}$ dilué dans 400 mM de tampon phosphate est déposée sous forme de gouttes de $0,2 \mu\text{L}$ sur la surface de la biopuce fraîchement traitée. Les gouttes d'ADN sont laissées à incuber pendant la nuit dans une atmosphère saturée en humidité (figure 4.5b). La biopuce est ensuite directement introduite dans l'instrument de mesure : un SPRi-Plex Horiba, présenté en figure 4.6. La surface est ensuite soigneusement rincée via une injection de tampon PBS avant toute mesure.

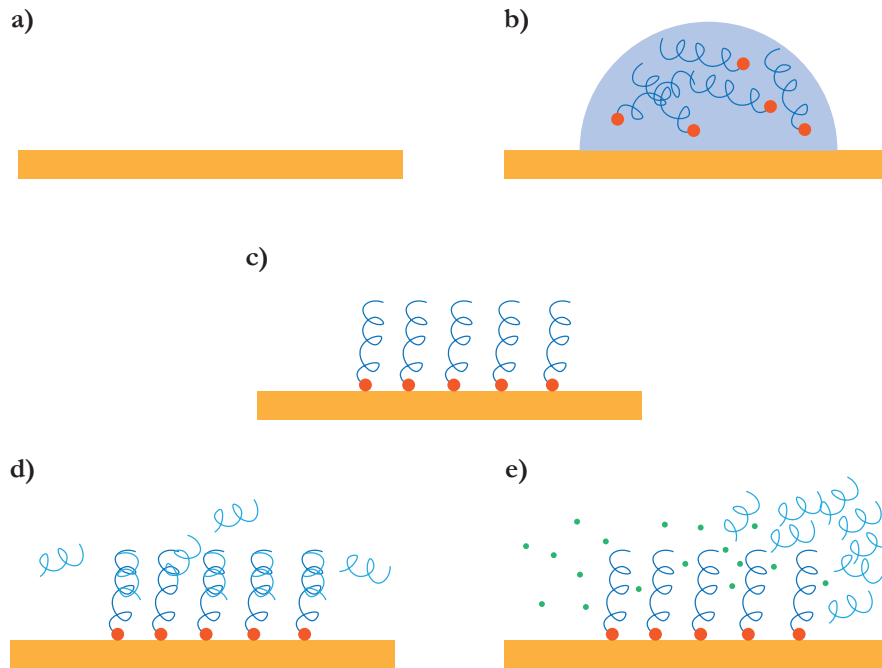


FIGURE 4.5 – Schéma du protocole expérimental. **(a)** Surface d'or, préalablement nettoyée. **(b)** Dépôt de gouttes de la solution de ligands d'ADN thiolés. **(c)** Les ADN simple brin thiolés s'organisent en monocouches via une interaction thiol-or. **(d)** Injection des molécules cibles : hybridation de l'ADN suivi par SPRi. **(e)** Régénération de la surface par injection d'une solution de SDS.

Les zones où des gouttes ont été déposées sont désormais fonctionnalisées : via une interaction thiol-or les brins d'ADN simple brin forment une mono-couche d'ADN bien orientée (figure 4.5c). Les zones qui n'ont pas reçues de gouttes sont inertes et vont servir de références lors de la mesure.

Injection de l'échantillon

Le SPRi-Plex Horiba nous permet, grâce à un système de vannes commandées par ordinateur, d'injecter un volume V_0 choisi à un débit Q choisi. Cet échantillon traverse le tube de rayon R et de longueur L_1 , avant d'atteindre le système microfluidique qui contient la biopuce (figure 4.5d). Pendant ces étapes, l'échantillon est continuellement poussé par le tampon phosphate PBS à un débit Q .

Régénération de la surface sensible

Après chaque expérience, la surface de la biopuce est régénérée (figure 4.5e). Tous les complexes à la surface de la biopuce sont dissociés par l'injection de $200 \mu\text{L}$ d'une solution de Sodium Dodecyl Sulfate (SDS) à $0,1\%$ en masse [33] dans de l'eau milliQ injectée à $50 \mu\text{L}/\text{min}$. La valve d'injection, le

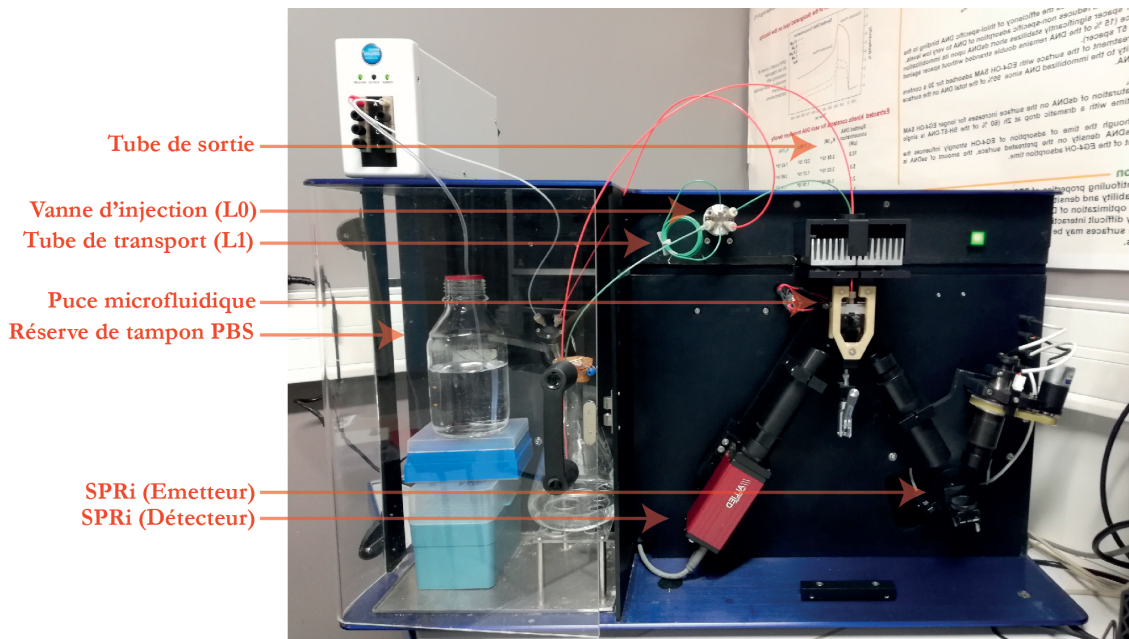


FIGURE 4.6 – Photo du montage expérimental.

tube de transport et le système microfluidique sont ensuite consciencieusement lavés par plusieurs injections de tampon phosphate PBS. On procède alors à l'expérience suivante directement, sans changer de biopuce.

4.3.3 Mesure et traitement du signal

Mesure SPRi

Le nombre de complexes présents à la surface à chaque instant est mesuré par SPRi (*Surface Plasmon Resonance imaging*, ou imagerie par Résonance des Plasmons de Surface), une technique optique couramment utilisée en recherche biologique [34-36]. En quelques mots, un rayon lumineux est envoyé sur la surface de la biopuce, sous un angle de réflexion totale. Le rayon lumineux est réfléchi, mais une faible onde évanescente est cependant envoyée dans la surface de la biopuce, générant une perte d'énergie entre l'onde incidente et l'onde réfléchie. L'amplitude de cette perte d'énergie est fonction de la masse déposée sur la surface. Cela permet de remonter, connaissant la masse d'une molécule cible, au nombre de complexes présents sur la surface. Cette technique de mesure est couramment employée pour la réalisation d'isothermes de Langmuir [1, 32, 37-39].

C'est également via cette méthode que l'on détermine s_m , la concentration en ligand sur la surface sensible. Avant l'injection de toute molécule cible, on mesure la différence de masse surfacique entre une surface fonctionnalisée et une surface non fonctionnalisée adjacente. A cet instant, les seules molécules présentes sur les surfaces fonctionnalisées sont les ligands d'ADN simple brin. Connaissant la masse d'une molécule d'ADN, via leur formule chimique, on peut alors calculer la concentration surfacique en ligand s_m .

Traitement du signal

Dans notre expérience, un signal typique enregistré est présenté sur la figure 4.7a (en bleu). Celui-ci est bruité par les perturbations, notamment lumineuses, de l'environnement. En soustrayant à ce signal bruité un signal enregistré simultanément dans une zone adjacente non fonctionnalisée, soumise aux mêmes perturbations (figure 4.7a, en rouge), un signal débruité, représenté sur la figure 4.7b, est obtenu. Le taux de formation des complexes $\frac{ds}{dt}$ est extrait en mesurant la pente dans la partie linéaire de la courbe (partie jaune de 4.7c et d). Une fois le taux de formation des complexes mesuré, la constante cinétique de complexation apparente \widetilde{k}_{on} est calculée grâce à l'équation (4.8).

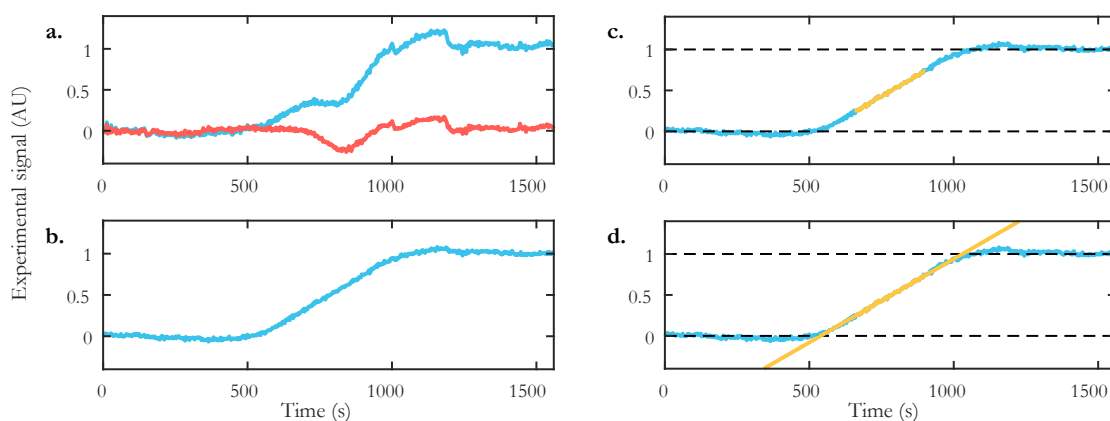


FIGURE 4.7 – Traitement du signal expérimental. **(a)** Signal enregistré, pendant l'injection de l'échantillon (bleu) au niveau d'une surface fonctionnalisée ou (rouge) au niveau d'une surface vierge adjacente. **(b)** Soustraction des deux signaux précédents pour supprimer le bruit. **(c)** (jaune) Détection automatique de la partie linéaire de la courbe comme étant la partie comprise entre 25% et 75% du signal maximal. **(d)** Régression linéaire : mesure de ds/dt .

4.3.4 Gamme expérimentale

Nous avons effectué des expériences en réglant le débit d'injection $Q \in [3; 500] \mu\text{L}/\text{min}$ et le volume injecté $V_0 \in [2; 500] \mu\text{L}$, tandis que tous les autres paramètres sont fixes (traitement de surface, concentration du ligand ssDNA $s_m = 2.6 \cdot 10^{-7} \text{ mol}/\text{m}^2$, concentration en molécules cibles ssDNA $c_0 = 50 \text{ nM}$, longueur du tube $L_1 = 28.4 \text{ cm}$, rayon du tube $R = 300 \mu\text{m}$, géométrie de la chambre microfluidique de hauteur $H = 1.75 \text{ mm}$ et de largeur $W_c = 8.9 \text{ mm}$). Chaque ensemble de conditions expérimentales (débit Q et volume injecté V_0) est reproduit 7 fois. Le nombre de Reynolds de nos expériences $Re = 2Q/(\pi R^2 \nu)$ varie entre $8 \cdot 10^{-2}$ et 13, ce qui assure un écoulement laminaire.

4.3.5 Résultats expérimentaux : influence de la dispersion de Taylor-Aris

La figure 4.8 montre les différentes valeurs de \widetilde{k}_{on} mesurées pour chacune des 29 conditions expérimentales $\{Q; V_0\}$ testées. On observe que les valeurs mesurées varient sur deux décades. Cela signifie que soit il y a un biais dans les expériences, soit la variation des conditions d'écoulement Q et V_0 , les seuls paramètres variables, jouent un rôle majeur non pris en compte dans l'équation actuelle. Notre hypothèse est que, dans ces conditions hors équilibre, l'hydrodynamique joue un rôle prépondérant qui n'est pas pris en compte. La diffusion seule ne peut être responsable d'une dilution suffisamment

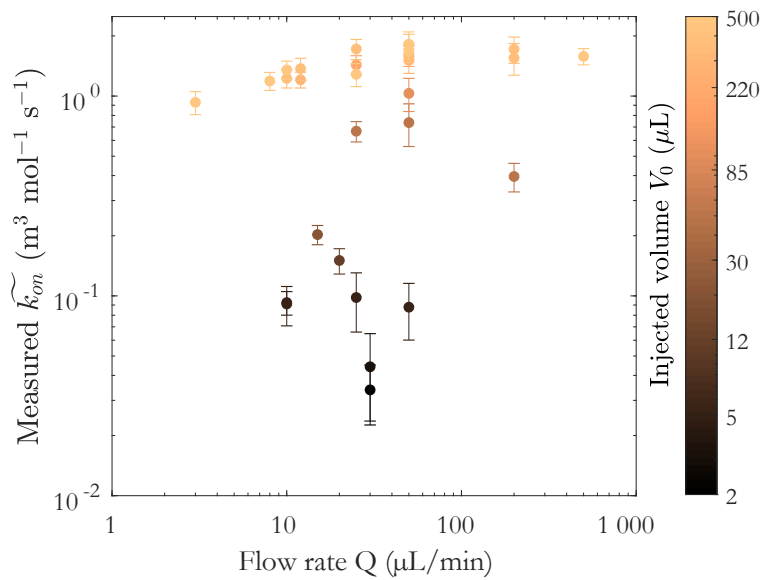


FIGURE 4.8 – Mesures expérimentales de la constante cinétique de complexation \widetilde{k}_{on} calculée via l'équation (4.8) pour différentes valeurs de Q et de V_0 . Chaque point représente le résultat moyen de 7 expériences et les barres d'erreur représentent leur écart type.

rapide pour biaiser les mesures telles qu'elles sont observées. En effet, si on considère un échantillon dans un liquide au repos (comme représenté en figure 4.9a), de volume $V_0 = 10 \mu\text{L}$, constitué de molécules avec un coefficient de diffusion de $D \approx 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (la valeur typique pour nos molécules cibles), dans un tube de rayon $300 \mu\text{m}$, celui-ci occupe une longueur de tube $L_0 = \frac{V_0}{\pi R^2} \approx 3.5 \text{ cm}$. Pour diffuser sur une distance $\delta \approx L_0$, ce qui signifie une dilution dans le double du volume initial, il faut un temps de diffusion typique $t \approx \frac{L_0^2}{D} \approx 10^6 \text{ s}$, c'est à dire plus d'une semaine. Pour la plupart des molécules biologiques, comme les anticorps, le coefficient de diffusion est de l'ordre de $10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$, conduisant à un temps de diffusion de l'ordre d'une année. Dans les deux cas, cela signifie qu'en considérant uniquement la diffusion, la concentration en molécules cibles ne change pas pendant l'expérience.

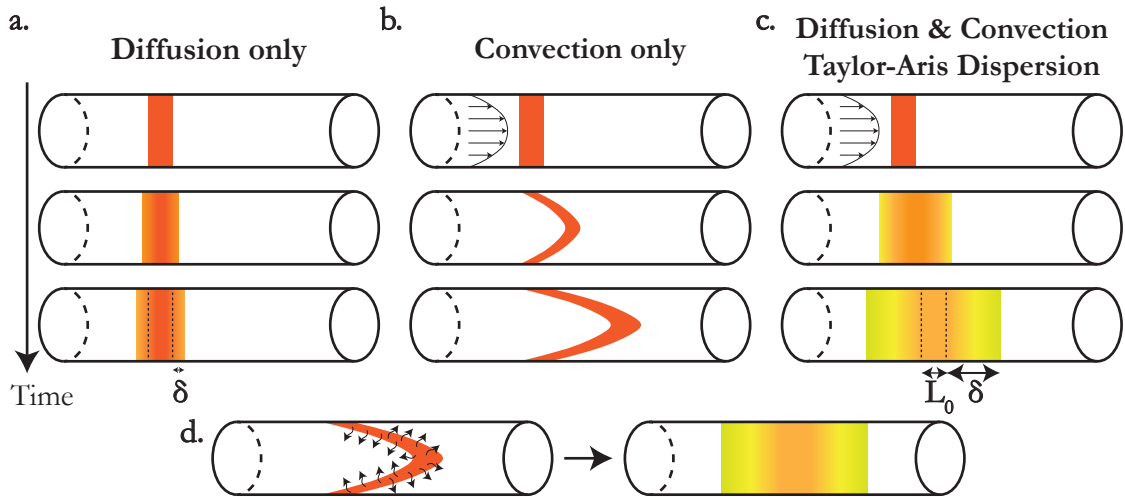


FIGURE 4.9 – Illustration de la dispersion de Taylor-Aris. Un échantillon est transporté dans un tube où il est soumis à la fois à la diffusion et à la convection par le liquide environnant. La couleur représente la concentration de la cible à l'intérieur de l'échantillon (plus la cible est concentrée, plus la couleur est rouge). δ est la longueur de dilution, c'est-à-dire l'augmentation de la longueur de l'échantillon due à son passage dans le tube. **a. Diffusion pure.** Si le fluide est au repos, le seul mécanisme de transport est la diffusion. Les molécules cibles diffusent lentement dans le tube. **b. Convection pure.** Si le liquide est en mouvement, un profil de vitesse d'écoulement parabolique se développe dans le tube. Les molécules cibles situées au centre du tube se déplacent beaucoup plus vite que celles situées près des parois. L'échantillon est donc déformé par l'écoulement du liquide. **c. Diffusion et convection : dispersion de Taylor-Aris :** Lorsque les deux effets sont pris en compte, l'échantillon est déformé par convection, puis les cibles diffusent sur toute la hauteur du tube par diffusion. De cette façon, l'échantillon se dilue beaucoup plus vite que par diffusion pure. **d. Vision simplifiée du mécanisme.**

Cependant, il ne faut pas oublier que l'échantillon est mis en mouvement par l'écoulement. Pour un écoulement à faible nombre de Reynolds, comme c'est le cas ici, le profil de vitesse a une forme parabolique : la vitesse est maximale au centre du tube et nulle sur les parois, de sorte qu'un échantillon initialement sous forme de *bouchon* est déformé comme le montre la figure 4.9b. Une fois déformé, l'échantillon va diffuser dans toute la section du canal comme le montre la figure 4.9d. Contrairement à une diffusion sur toute sa longueur ($t \approx D/L_0^2$), une diffusion sur le rayon du tube, beaucoup plus petit, peut se faire beaucoup plus rapidement ($t \approx D/R^2$ avec $R \ll L$). La combinaison de ces deux effets entraîne une diffusion accrue appelée dispersion de Taylor-Aris [40, 41].

Notre hypothèse est que la dispersion des mesures observée en figure 4.8 provient d'échantillons plus ou moins dilués par cet effet, modifiant de fait la concentration de la solution arrivant au niveau de la surface sensible. Avant de proposer un modèle théorique, nous souhaitons vérifier que l'écart constaté sur la mesure des valeurs de $\widetilde{\kappa_{on}}$ provient bien de cet effet de dilution et non d'un biais expérimental que nous n'aurions pas détecté. Pour cela, nous avons effectué des simulations numériques, présentées dans la section suivante, afin de vérifier que cette dispersion peut être reproduite numériquement.

4.4 Simulations

Afin de vérifier que la dispersion des résultats obtenus expérimentalement n'est pas due à un biais non contrôlé, nous avons réalisé des simulations numériques de nos expériences. Chaque condition expérimentale a été reproduite en tenant compte uniquement des mécanismes impliqués dans la dispersion de Taylor-Aris (convection axiale et diffusion) et de la réaction de complexation à la surface. Pour effectuer ces simulations numériques, nous avons implémenté une valeur de k_{on} dans le code et nous mesurons, en sortie des simulations, la valeur de $\widetilde{k_{on}}$ obtenue à partir du sensorgramme simulé. Si les résultats obtenus par la simulation sont identiques aux résultats expérimentaux, cela prouve que la dispersion mesurée expérimentalement ne provient pas d'un biais expérimental mais de l'effet hydrodynamique dont nous avons discuté auparavant.

Deux stratégies numériques différentes sont utilisées afin de s'assurer de l'absence de biais numériques. La première utilise COMSOL Multiphysics®, un logiciel basé sur une approche numérique Eulérienne où on résout des champs (de vitesse, de concentration, ...), tandis que la seconde utilise le code de simulations Lagrangiennes présenté en section 2.5, avec quelques modifications pour l'adapter à ce nouveau problème.

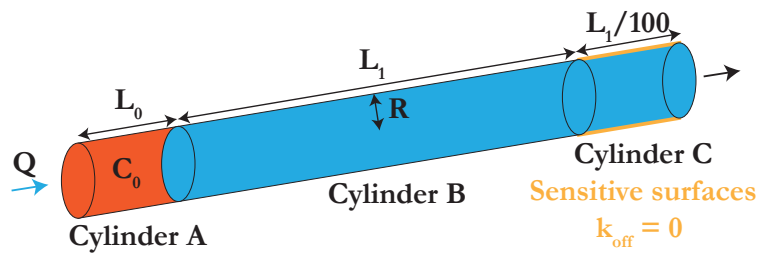


FIGURE 4.10 – Géométrie des simulations. L'échantillon est initialement situé dans le cylindre A, à une concentration c_0 , tandis que les cylindres B et C sont exempts de molécules cibles. A $t = 0$, un liquide, sans molécules cibles, entre dans le système par le cylindre A à un débit Q et pousse l'échantillon. La paroi latérale du cylindre C est sensible et imite la surface de la biopuce. La complexation des cibles suit l'équation (4.7).

4.4.1 Présentation générale des simulations

La géométrie choisie pour simuler le système expérimental dans les deux approches est représentée en figure 4.10. Elle est composée de trois cylindres coaxiaux séquentiels de rayon R :

- Le cylindre A représente la position initiale de l'échantillon, non encore déformé par le profil de Poiseuille. Il est de longueur $L_0 = \frac{\pi R^2}{V_0}$. Le cylindre contient une entrée où un liquide est injecté à un débit Q et une sortie reliée au cylindre B. Sa paroi latérale est une surface rigide non réactive.
- Le cylindre B est de longueur L_1 et représente les connexions fluidiques entre la position initiale de l'échantillon et le système microfluidique. Il contient une entrée connectée au cylindre A et une sortie connectée au cylindre C. Sa paroi latérale est également une surface rigide non réactive.
- Le cylindre C, d'une longueur $L_1/100$, imite le système microfluidique. Il contient une entrée connectée au cylindre B et une sortie. Sa paroi latérale est une surface sensible avec une concentration initiale de ligand s_m , une constante cinétique de complexation k_{on} et une constante

cinétique de dissociation $k_{\text{off}} = 0$. La cinétique de complexation suit la cinétique de Langmuir du premier ordre décrite dans ce chapitre.

Le modèle géométrique du cylindre C ne reproduit pas exactement la géométrie expérimentale. Normalement, le tube connecteur, représenté par le cylindre B, est relié à une puce microfluidique conventionnelle avec un canal rectangulaire. On a donc un changement de géométrie de l'écoulement qui n'est pas simple à gérer numériquement. Afin de simplifier la simulation, nous avons opté pour cette géométrie simplifiée. En effet, nous sommes actuellement dans un régime de capture limité par la vitesse de réaction à la surface, et non par le transport des objets à capturer jusqu'à la surface. Or dans ce régime la géométrie n'a aucune influence sur le taux de capture, seule la surface totale du capteur compte. Cette géométrie simplifiée facilite ainsi grandement le problème sans pour autant altérer les résultats finaux.

4.4.2 Caractéristiques de la simulation Eulérienne COMSOL®

Dans une première approche, des simulations COMSOL® sont réalisées. Dans cette simulation le problème est décrit en termes de champ de concentration en molécules cibles : c'est ce qu'on appelle généralement un description Eulérienne.

Conditions initiales

Concentration nulle partout, sauf dans le cylindre A où elle est égale à c_0 .

Conditions aux limites

Du solvant sans molécules cibles, est injecté à l'entrée du cylindre A avec un débit Q . La pression en sortie du cylindre C est nulle. L'échantillon, initialement en forme de bouchon, s'écoule dans le cylindre B. Au cours de ce trajet l'échantillon est déformé suite à la dispersion de Taylor-Aris et atteint le cylindre C avec une concentration diluée c . Près des parois réactives du cylindre C, la vitesse de complexation est calculée à l'aide de l'équation (4.7) en prenant la valeur du champ de concentration locale c à la place de la concentration moyenne c_0 .

Procédure numérique

1. Calcul à l'état stationnaire : résolution des écoulements en régime laminaire
2. Calcul séquentiel : transport des molécules cibles
 - Convection (d'après le champ de vitesse calculé à l'étape précédente)
 - Diffusion
 - Réaction sur les surfaces réactives
3. Post-traitement du sensorgramme simulé : extraction d'une valeur de $\widetilde{k}_{\text{on}}$
4. Nouvelle simulation avec un maillage plus fin, jusqu'à convergence de la valeur de $\widetilde{k}_{\text{on}}$.

On rappelle que k_{on} est un paramètre de la simulation et que $\widetilde{k}_{\text{on}}$ est une mesure (ici numérique) de k_{on} via l'équation (4.8).

4.4.3 Caractéristiques de la simulation Lagrangienne

Dans une seconde approche, afin de confirmer les résultats obtenus via COMSOL[®], nous avons effectué ces mêmes simulations en utilisant le code de simulation Lagrangienne détaillé en section 2.5. Pour rappel, une approche Lagrangienne consiste à suivre chaque objet (ici chaque molécule cible) le long de sa trajectoire.

Conditions initiales et limites

- Le cylindre A est initialement rempli de manière homogène de molécules cibles ponctuelles de coefficient de diffusion D à une concentration c_0 .
- La condition miroir empêchant les molécules cibles de sortir de la zone de simulation s'applique sur les parois du tube (en $\sqrt{y^2 + z^2} = R$).
- Si une molécule cible quitte le volume de simulation par la sortie du cylindre C, elle est retirée de la simulation.

Modification dans le calcul des trajectoires par rapport à la simulation du chapitre 2

- Un profil de vitesse de Poiseuille cylindrique (et non rectangulaire) est calculé analytiquement en utilisant Q et R et est utilisé pour le mouvement convectif.
- Aucun mouvement de lift n'est calculé.

Ajout d'une étape de réaction

Après l'étape de miroir, chaque molécule cible se situant à moins d'une longueur de diffusion $\sqrt{6Ddt}$ d'une paroi du cylindre C (ce qui signifie qu'elle a probablement heurté la paroi par une marche aléatoire pendant le temps dt) a une chance ξ de se lier à la paroi. La valeur de la probabilité de réaction ξ est issue d'une conversion de sa représentation statistique :

$$\frac{ds}{dt} = k_{on} c_0 s_m \quad (4.9)$$

en une représentation discrète et ponctuelle, testée pour chaque molécule cible au voisinage de la surface réactive. Selon l'équation (4.9), durant un temps dt , le nombre de molécules cibles dN qui se lient à une surface réactive d'aire S est :

$$dN = k_{on} c_0 s_m S dt \quad (4.10)$$

Or, la probabilité de complexation est testée sur les N molécules cibles qui peuvent atteindre la surface en effectuant un mouvement de diffusion $\sqrt{6Ddt}$ pendant dt :

$$N = c_0 S \sqrt{6Ddt} \quad (4.11)$$

Ainsi, pour imiter l'équation (4.9) avec la valeur correcte de k_{on} , la valeur ξ doit être choisie de sorte que dN molécules cibles sur N se lient à la surface pendant un temps dt . Ainsi :

$$\xi = \frac{dN}{N} = k_{on} s_m \sqrt{\frac{dt}{6D}} \quad (4.12)$$

C'est donc cette valeur qui a été implémentée dans le code. Tout comme la convection et la diffusion, cette étape ne doit pas être sous échantillonnée : toutes les cibles proches du capteur ne doivent pas réagir en même temps. Cela ajoute donc un nouveau pas de temps maximal à ne pas dépasser dt_r , défini par $\xi(dt_r) = 1\%$:

$$dt_r = \frac{6 \cdot 10^{-4} D}{k_{on}^2 s_m^2} \quad (4.13)$$

Cette nouvelle contrainte va faire augmenter très fortement la durée des simulations Lagrangiennes. Afin de rendre ces simulations réalisables, il serait pertinent d'augmenter dt_r afin de pouvoir accélérer la simulation.

Afin de rester au plus près des conditions expérimentales, nous avons conservé les valeurs de s_m et de D , et nous avons modifié les valeurs de k_{on} pour rendre le calcul faisable. Typiquement, dans nos simulations, k_{on} varie de 10^{-12} à $10^{-8} \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$, ce qui est beaucoup plus faible que les valeurs typiques expérimentales (environ $1 \text{ m}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ pour l'hybridation de l'ADN). Ainsi, modifier la valeur de k_{on} est essentiel, car cela permet d'augmenter le pas de temps des simulations d'environ un facteur $(\frac{1}{10^{-10}})^2 = 10^{10^2} = 10^{20}$.

Cependant, on cherche à savoir si la dispersion observée dans les expériences provient d'un effet hydrodynamique ou d'un biais expérimental. La valeur intrinsèque de k_{on} ne joue pas de rôle dans la compréhension de l'hydrodynamique. C'est en traçant pour chaque simulation la valeur numérique mesurée par rapport à la valeur imposée dans le code $\widetilde{k_{on}}/k_{on}$ que l'on va pouvoir observer si une déviation numérique apparaît ou pas, indépendamment de la valeur intrinsèque de k_{on} imposée dans le code.

4.4.4 Résultats numériques

La figure 4.11 présente les résultats obtenus par les deux approches, Eulérienne (en vert foncé) et Lagrangienne (en vert clair). Les deux simulations reproduisent clairement la dispersion des valeurs de $\widetilde{k_{on}}$ observées expérimentalement. Les simulations ne prenant en compte que les éléments de la dispersion de Taylor-Aris (convection et diffusion), on peut affirmer que c'est le seul mécanisme responsable de la dispersion des valeurs obtenues expérimentalement. Sur la base de cette hypothèse, nous pouvons désormais établir un modèle théorique et le comparer aux résultats expérimentaux et numériques.

4.5 Construction d'une nouvelle loi de capture hors équilibre

Nous allons ici chercher à modéliser l'effet de la dispersion de Taylor-Aris sur la cinétique de complexation hors équilibre. Notre objectif est de comprendre quantitativement l'origine de la dispersion des données expérimentales et numériques mesurées hors-équilibre, afin de l'utiliser à notre avantage.

4.5.1 Approche en loi d'échelle

La dispersion de Taylor-Aris, qui agit via la combinaison de la convection axiale et de la diffusion transverse, est très bien modélisée par un coefficient de surdiffusion effectif égal à [40, 41] :

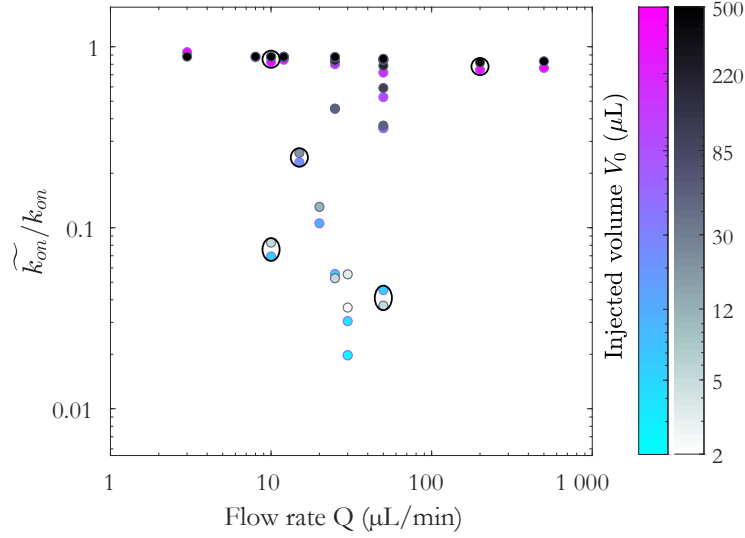


FIGURE 4.11 – Mesures numériques de la constante cinétique de complexation \widetilde{k}_{on} calculée via l'équation (4.8) pour différentes valeurs de Q et de V_0 . Les résultats des simulations COMSOL[®] (noir/blanc) et Lagrangiennes (violet/bleu) sont normalisés par les valeurs de k_{on} implémentées dans chaque simulation. Afin de montrer que les deux simulations donnent des résultats comparables, des cercles ont été tracés autour de quelques résultats obtenus pour les mêmes conditions, mais avec des schémas numériques différents.

$$D_{TA} = D \left(1 + \frac{Q^2}{48\pi^2 D^2 R^2} \right) \quad (4.14)$$

Dans nos expériences, le coefficient de diffusion typique est de $D \simeq 10^{-10}$ m²/s [42, 43]. Pour un débit d'environ $Q \geq 1$ $\mu\text{L}/\text{min}$, le premier terme est négligeable tant que $R \ll 1$ cm. Pour des anticorps, dont le coefficient de diffusion est de l'ordre de $D \simeq 10^{-12}$ m²/s, et pour le même débit, le premier terme est négligeable tant que $R \ll 1$ m. Le rayon des tubes typiques utilisés dans les systèmes d'analyse standards est bien plus petit que ces deux valeurs. La diffusion effective se réduit donc à :

$$D_{TA} \simeq \frac{Q^2}{48\pi^2 D R^2} \quad (4.15)$$

Il est ainsi possible de calculer la concentration réelle de l'échantillon lorsqu'il atteint la surface de la biopuce, en tenant compte de cette dilution hydrodynamique. La longueur de l'échantillon est initialement de L_0 et le centre de l'échantillon se déplace sur une distance de $L_1 + L_0/2$ avant d'atteindre la surface de la biopuce. Avec une vitesse de déplacement moyenne $U = Q/\pi R^2$, il faut un temps typique $\tau \simeq \frac{L_1 + L_0/2}{U}$ pour atteindre la surface de la biopuce. Pendant ce temps, l'échantillon diffuse sur une distance δ (représentée sur la figure 4.9) :

$$\delta \sim \sqrt{D_{TA}\tau} \sim \sqrt{\frac{D_{TA}(L_1 + L_0/2)\pi R^2}{Q}} \quad (4.16)$$

Cette relation représente l'extension du bouchon initial par l'hydrodynamique (convection et diffusion). Ainsi, en loi d'échelle :

$$c \sim c_0 \frac{L_0}{\delta + L_0} \quad (4.17)$$

$\frac{L_0}{\delta + L_0}$ tient le rôle d'un facteur de dilution. Ce facteur dépend de l'hydrodynamique, et donc du débit (*via* δ , équation (4.16)), et du volume initial (*via* L_0). Pour $\delta \ll L_0$, $c = c_0$, il n'y a pas de dilution, tandis que pour $\delta \gg L_0$, $c = \frac{L_0}{\delta} c_0 \ll c_0$, l'échantillon est dilué et la concentration au-dessus de la surface de la biopuce est nettement réduite par rapport à un cas non dilué.

4.5.2 Approche analytique

Pour la suite, il sera néanmoins nécessaire de connaître l'expression exacte du facteur de dilution. On cherche ici à calculer la concentration au dessus de la biopuce au moment où le barycentre de l'échantillon l'atteint.

Les systèmes d'axes utilisés pour ce calcul sont définis en figure 4.12. Nous considérons un tube de longueur $L_0 + L_1$ et de rayon R . x est l'axe du tube, lié au référentiel du laboratoire et orienté de l'entrée du tube à sa sortie. Son origine est située à la position initiale du barycentre de l'échantillon. X est un axe parallèle à x , mais dont l'origine est associée au barycentre de l'échantillon à tout moment.

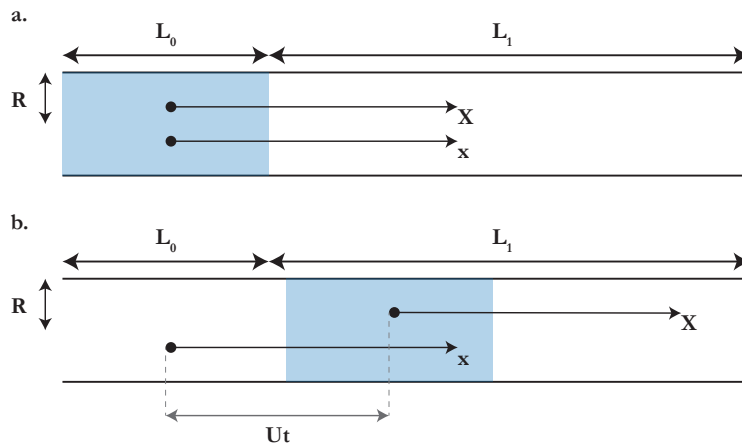


FIGURE 4.12 – Géométrie du calcul et définition des axes. La zone bleue est une vue schématique de l'échantillon. Sa dispersion n'est pas représentée. **a.** À $t = 0$, les axes x et X sont identiques. **b.** À $t > 0$, les deux axes sont décalés de Ut .

Par l'effet de dispersion de Taylor-Aris, la diffusion homogénéise la concentration dans la section transverse. La concentration ne dépend donc que de x et t . Le problème se réduit ainsi à un problème de diffusion à une dimension avec un coefficient de diffusion effectif D_{TA} . Nous calculons d'abord la diffusion dans l'axe en mouvement X lié à l'échantillon, ce qui permet de s'affranchir de la convection, puis nous reviendrons au système d'axe du laboratoire x pour prendre en compte la convection.

Diffusion dans le système d'axe X de l'échantillon

À $t = 0$, le profil de concentration est :

$$c(X, t = 0) = \begin{cases} c_0 & \text{si } X \in [-L_0/2; L_0/2] \\ 0 & \text{sinon} \end{cases} \quad (4.18)$$

Un source ponctuelle monodimensionnelle, située en X_0 , diffuse selon la loi :

$$c_{X_0}(X, t) = \frac{A}{\sqrt{D_{TA}t}} \exp\left(-\frac{(X - X_0)^2}{4D_{TA}t}\right) \quad (4.19)$$

où A est un facteur de normalisation. Ainsi, pour obtenir le profil complet, il faut intégrer sur l'ensemble des sources ponctuelles, entre $-L_0/2$ et $L_0/2$:

$$c(X, t) = \int_{-L_0/2}^{L_0/2} c_{X_0}(X, t) dX_0 \quad (4.20)$$

$$= \frac{A}{\sqrt{D_{TA}t}} \int_{-L_0/2}^{L_0/2} \exp\left(-\frac{(X - X_0)^2}{4D_{TA}t}\right) dX_0 \quad (4.21)$$

ce qui donne, après normalisation :

$$c(X, t) = \frac{c_0}{2} \left[\operatorname{erf}\left(\frac{L_0/2 - X}{2\sqrt{D_{TA}t}}\right) + \operatorname{erf}\left(\frac{L_0/2 + X}{2\sqrt{D_{TA}t}}\right) \right] \quad (4.22)$$

où erf est la fonction erreur, représentée en figure 4.13, dont l'expression mathématique est, pour rappel :

$$\operatorname{erf}(x) = \frac{2}{\sqrt{\pi}} \int_0^x e^{-t^2} dt \quad (4.23)$$

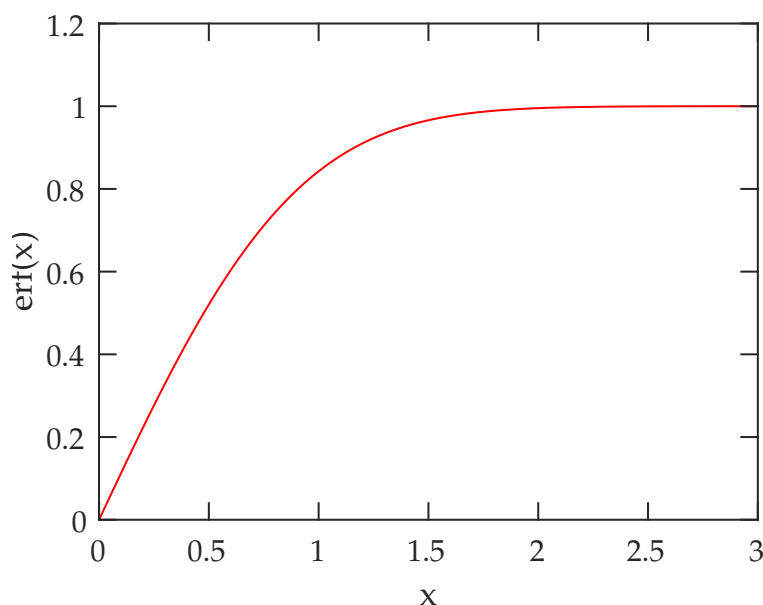


FIGURE 4.13 – Évolution de la fonction erreur entre 0 et 3. Elle est équivalente à $y \approx x$ pour des $x \ll 1$ et à $y \approx 1$ pour des $x \gg 1$.

Prise en compte de la convection : retour dans le système d'axe du laboratoire

Dans l'axe du laboratoire $x = X + Ut$ avec $U = \frac{Q}{\pi R^2}$. On a donc :

$$c(x, t) = \frac{c_0}{2} \left[\operatorname{erf}\left(\frac{L_0/2 - x + Ut}{2\sqrt{D_{TA}t}}\right) + \operatorname{erf}\left(\frac{L_0/2 + x - Ut}{2\sqrt{D_{TA}t}}\right) \right] \quad (4.24)$$

Avec nos définitions géométriques, le barycentre de l'échantillon atteint la biopuce après avoir parcouru une distance $x = L_0/2 + L_1$ pendant un temps correspondant $t = \frac{L_0/2+L_1}{U}$. La concentration à la surface sensible c^* est alors donnée par :

$$c^* = c \left(\begin{array}{l} x = L_0/2 + L_1, \\ t = \frac{L_0/2+L_1}{U} \end{array} \right) \quad (4.25)$$

$$c^* = c_0 \operatorname{erf} \left(\frac{L_0}{4} \sqrt{\frac{U}{D_{TA}(L_0/2 + L_1)}} \right) \quad (4.26)$$

En injectant l'expression de U , on remarque :

$$\sqrt{\frac{U}{D_{TA}(L_0/2 + L_1)}} = \sqrt{\frac{Q}{D_{TA}\pi R^2(L_0/2 + L_1)}} = \frac{1}{\delta} \quad (4.27)$$

Ce qui donne :

$$\boxed{c^* = c_0 \operatorname{erf} \left(\frac{L_0}{4\delta} \right)} \quad (4.28)$$

Le comportement asymptotique de cette fonction est :

- si $\frac{L_0}{4\delta} \ll 1$, $\operatorname{erf} \left(\frac{L_0}{4\delta} \right) \simeq \frac{L_0}{4\delta}$ *i.e.* $c^* \simeq c_0 \frac{L_0}{4\delta} \ll c_0$
- si $\frac{L_0}{4\delta} \gg 1$, $\operatorname{erf} \left(\frac{L_0}{4\delta} \right) \simeq 1$ *i.e.* $c^* \simeq c_0$

Ces comportements asymptotiques sont cohérents avec la solution trouvée à l'aide du modèle en loi d'échelle (équation (4.17)) :

- si $\frac{L_0}{4\delta} \ll 1$, $c^* \ll c_0$
- si $\frac{L_0}{4\delta} \gg 1$, $c^* \simeq c_0$

4.5.3 Ajout d'une composante hydrodynamique à la cinétique de Langmuir hors-équilibre

En somme, de par son voyage au sein du tube, l'échantillon peut être dilué au moment où il atteint la surface sensible. On définit le facteur de dilution ψ de la manière suivante :

$$\boxed{\psi = \frac{4\delta}{L_0} = \frac{R^2}{V_0} \sqrt{\frac{\pi Q \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right)}{3D}}} \quad (4.29)$$

Ce qui donne :

$$c^* = c_0 \operatorname{erf}(1/\psi) \quad (4.30)$$

La valeur de ψ fournit une indication quantitative sur le fait qu'un échantillon a été ou non dilué hydrodynamiquement pendant son parcours, comme le montre la figure 4.14a. Si $\psi \ll 1$, $\delta \ll L_0$: le volume final occupé par l'échantillon n'a presque pas changé durant son trajet. Sa concentration reste donc égale à c_0 . A l'inverse, pour $\psi \gg 1$, $\delta \gg L_0$: le volume de l'échantillon augmente pendant le temps de parcours, l'échantillon est dilué. Schématiquement, un facteur de dilution $\psi < 1$, signifie que l'échantillon n'est pas dilué hydrodynamiquement, tandis qu'un facteur de dilution $\psi > 1$ signifie

que l'échantillon est dilué par un facteur ψ . Par exemple, pour $\psi = 10$, l'échantillon est 10 fois moins concentré lorsqu'il atteint la surface de la biopuce que lors de son injection dans le système d'analyse.

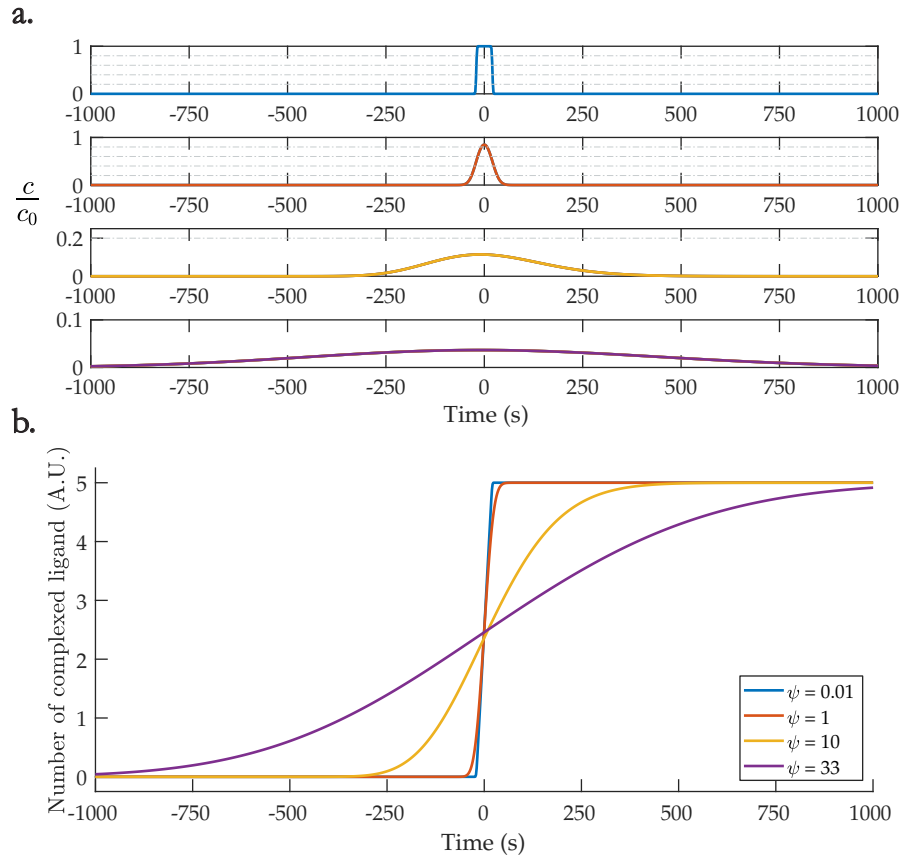


FIGURE 4.14 – Prévisions analytiques pour différentes valeurs de ψ . Le code couleur représente la valeur de ψ . À $t = 0$, le barycentre de l'échantillon atteint la biopuce. **a.** Évolution temporelle de la concentration au-dessus de la biopuce. Pour un facteur de dilution $\psi < 1$, le profil de concentration n'est pas du tout altéré, alors que pour $\psi > 1$ l'échantillon est dispersé. **b.** Sensorgrammes pour différentes valeurs de ψ , permettant, depuis les pentes, d'extraire le taux de formation des complexes ds/dt . Pour les facteurs de dilution $\psi < 1$, l'échantillon n'est pas dilué, la pente de la courbe est raide. À l'opposé, pour $\psi > 1$, l'échantillon est dilué, ce qui donne une pente plus faible pour la même concentration d'injection c_0 . Si la formule de \widetilde{k}_{on} est utilisée sans la correction hydrodynamique de l'équation (4.31), plusieurs valeurs de k_{on} peuvent être trouvées pour le même échantillon.

Les mesures hors équilibre ne nécessitent pas de saturer la surface et mettent donc en jeu des volumes de molécules cibles plus faibles que les mesures à l'équilibre. Cet avantage a un coût : le volume des échantillons étant plus faible, ils occupent des longueurs L_0 moindre dans les tubes. Cela signifie qu'une faible augmentation δ de leur longueur totale via la dispersion de Taylor-Aris a plus d'impact sur leur concentration moyenne et fausse plus vite les résultats que pour des échantillons plus larges. C'est notamment pour cette raison que les biologistes favorisent les mesures à l'équilibre quand ils travaillent sous flux. Le large volume consommé permet de négliger la dispersion de Taylor-Aris.

Afin de pouvoir réaliser des mesures hors-équilibre, avec des faibles volumes, il est donc important de modifier l'équation (4.7) afin qu'elle prenne en compte cet effet. Comme le montre la figure 4.14b, pour un même échantillon, injecté différemment, la dispersion de Taylor-Aris modifie drasti-

quement le nombre de complexes formés par seconde, qui est la grandeur suivie pour en déduire la valeur de k_{on} . Pour tenir compte de cet effet, c_0 , la concentration initiale injectée, doit être remplacée par la concentration effective vue par la surface sensible $c^* = c_0 \text{erf}(1/\psi)$:

$$\frac{ds}{dt} = k_{on} s_m c_0 \text{erf}(1/\psi) \quad (4.31)$$

On suppose ici, sans le dire, que tout l'échantillon se trouve désormais à une concentration moyenne c^* , sans tenir compte des variations selon x qu'un phénomène diffusif pourrait amener. C'est un modèle au premier ordre. Des raffinements pourrait être envisagés, mais on va voir dans la suite que ce modèle est suffisant.

Cette nouvelle équation prend en compte la réaction de complexation en surface, comme le faisait déjà l'équation (4.7), mais aussi la dispersion hydrodynamique de Taylor-Aris, via le facteur ψ que nous avons introduit. On peut donc obtenir k_{on} en mesurant la pente $\frac{ds}{dt}$ et en calculant le facteur de dilution hydrodynamique ψ à l'aide de l'équation (4.29), qui ne dépend que de paramètres expérimentaux connus :

$$k_{on} = \frac{1}{s_m c_0 \text{erf}(1/\psi)} \frac{ds}{dt} \quad (4.32)$$

4.5.4 Vérification du modèle théorique

Afin de vérifier le modèle proposé dans la section précédente, il est intéressant de noter que les valeurs expérimentales et numériques \widetilde{k}_{on} obtenues sans prendre en compte la dispersion de Taylor-Aris peuvent être reliées à la valeur théorique k_{on} par la relation suivante :

$$\widetilde{k}_{on} = k_{on} \text{erf}(1/\psi) \quad (4.33)$$

La figure 4.15 présente les données expérimentales tracées en fonction de ψ au lieu de Q . On remarque que les points sont parfaitement reproduits par la fonction erf donnée dans l'équation (4.33), avec k_{on} comme seul paramètre d'ajustement. Nous mesurons une valeur de k_{on} égale à $1,6 \pm 0,2 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$. Cette valeur est cohérente avec les mesures d'autres systèmes biologiques analogues obtenues par plusieurs auteurs en utilisant la méthode de l'isotherme de Langmuir [2, 32]. Ce graphique montre clairement qu'en utilisant l'équation (4.33), il n'y a plus de variabilité sur la valeur de k_{on} . Il est ainsi possible de tirer parti des mesures hors équilibre, ce qui permet d'obtenir des résultats précis en utilisant un volume d'échantillon beaucoup moins important que les mesures standards, réalisées à l'équilibre.

Il est intéressant de noter que la division de l'équation (4.33) par k_{on} génère une courbe universelle, c'est-à-dire indépendante du système :

$$\frac{\widetilde{k}_{on}}{k_{on}} = \text{erf}(1/\psi) \quad (4.34)$$

La figure 4.16 présente les données expérimentales et numériques normalisées par la valeur de k_{on} , soit obtenues expérimentalement soit implémentées dans la simulation. Afin de vérifier l'universalité de cette formule, des résultats numériques supplémentaires, qui dépasse de notre gamme expérimentale, ont été réalisés. Ils sont inclus dans cette figure et correspondent à des débits $Q \in [1 ; 50\,000] \mu\text{L}/\text{min}$ et des volumes d'échantillons $V_0 \in [0.2 ; 17\,000] \mu\text{L}$. La plupart des données se rassemblent sur une seule courbe, ce qui montre l'universalité de l'approche.

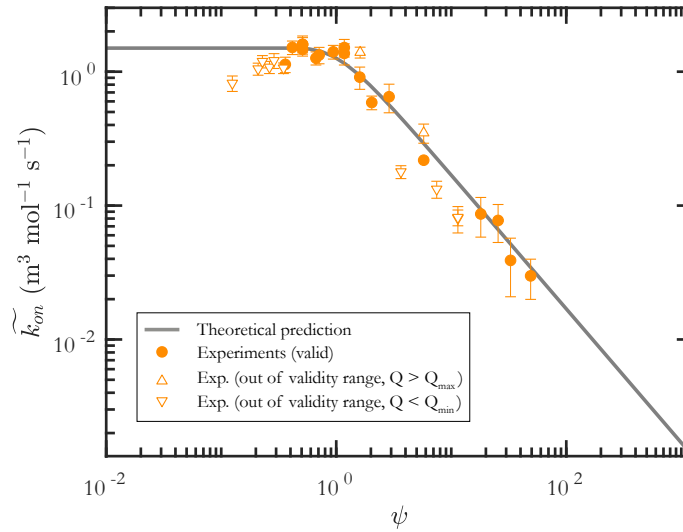


FIGURE 4.15 – Mesures expérimentales de la constante cinétique de complexation \widetilde{k}_{on} tracées en fonction du facteur de dilution ψ . Les données sont identiques à celles de la figure 4.8. (Ligne pleine) Prédiction théorique $\widetilde{k}_{on} = k_{on} \text{erf}(1/\psi)$. (Triangles vides) Données expérimentales hors de la gamme de validité du modèle, soit parce que $Q < Q_{min}$ (triangles pointant vers le bas) soit parce que $Q > Q_{max}$ (triangles pointant vers le haut), et donc s'écartant de la prédiction théorique (voir section 4.8).

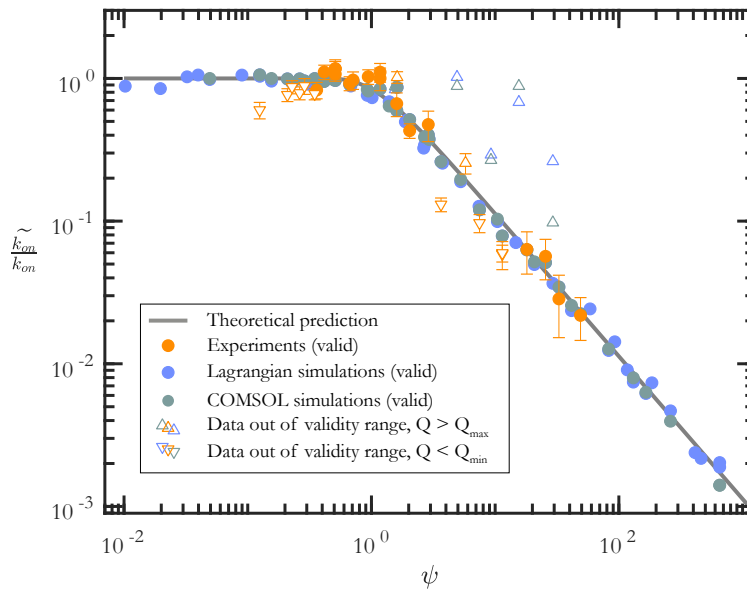


FIGURE 4.16 – Mesures expérimentales et numériques de la constante cinétique de complexation redimensionnée $\widetilde{k}_{on}/k_{on}$ tracée en fonction du facteur de dilution ψ . (Points orange) Données expérimentales redimensionnées par la valeur de k_{on} extraite de la figure 4.15 (Points gris/bleu) Données numériques redimensionnées par la valeur de k_{on} implémentées dans les simulations COMSOL® (gris) ou Lagrangiennes (bleu). (Ligne pleine) Prédiction théorique $\widetilde{k}_{on}/k_{on} = \text{erf}(1/\psi)$. (Triangles vides) Données hors de la gamme de validité du modèle, soit parce que $Q < Q_{min}$ (triangles pointant vers le bas) soit parce que $Q > Q_{max}$ (triangles pointant vers le haut), et donc s'écartant de la prédiction théorique (voir section 4.8).

4.6 Discussion sur l'amélioration de l'efficacité

Dans la méthode de l'isotherme de Langmuir, une seule mesure nécessite d'atteindre l'équilibre, ce qui correspond, en ordre de grandeur, à s_m complexes formés^a. Le taux de complexe formé est de l'ordre de $k_{\text{on}}c_0s_m$, donc le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre est donné par $\frac{1}{k_{\text{on}}c_0}$ et le volume nécessaire est $\frac{Q}{k_{\text{on}}c_0}$. En utilisant les valeurs typiques de notre expérience ($k_{\text{on}} = 1,6 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, $c_0 = 50 \text{ nm}$, $Q = 100 \text{ } \mu\text{L}/\text{min}$), cela conduit à un temps d'analyse de 3.5 h et un volume d'échantillon consommé de 20 mL pour une seule mesure.

En utilisant notre méthode, nous avons montré que des mesures valides de k_{on} pouvaient être obtenues en utilisant des volumes d'échantillon allant de 2 à 500 μL et des débits de 25 à 500 $\mu\text{L}/\text{min}$. Cela conduit à un temps d'analyse typique d'environ une minute. Le gain est d'environ d'un facteur 200 en terme de temps et d'un facteur 40, au minimum, en terme de volume d'échantillon, dans notre configuration expérimentale. Cela démontre l'intérêt de notre méthode, par rapport à la méthode de l'isotherme de Langmuir, pour les couples de molécules à faibles valeurs de k_{on} .

4.7 Dispersion dans le microcanal rectangulaire

Dans tout ce chapitre, nous nous sommes concentrés sur le comportement de l'échantillon dans le tube et avons occulté ce qu'il se passait un fois l'échantillon dans le microcanal rectangulaire, supposant de fait que sa concentration ne variait alors plus. Cette hypothèse est valable tant que la dispersion de Taylor-Aris est beaucoup plus importante dans le tube que dans le microsystème. Pour quantifier ce critère, écrivons le coefficient de diffusion de Taylor-Aris dans le tube capillaire :

$$D_{TA} = \frac{Q^2}{48\pi^2 DR^2} \quad (4.35)$$

et dans le canal à section rectangulaire :

$$D_{TA}^* = \frac{Q^2}{210DW_c^2} \quad (4.36)$$

Pour que notre approximation fonctionne, il est nécessaire que le coefficient de diffusion de Taylor-Aris soit beaucoup plus grand dans le tube capillaire que dans le microcanal, ce qui correspond à :

$$\frac{D_{TA}}{D_{TA}^*} \approx 0.44 \frac{W_c^2}{R^2} \gg 1 \quad (4.37)$$

Cela qui revient à la condition suivante :

$$W_c \gg R$$

Dans notre étude, $W_c = 8.9 \text{ mm}$ et $R = 300 \mu\text{m}$. Cette condition est donc largement vérifiée, ce qui valide notre approche à posteriori. Dans le cas contraire, il faudrait résoudre un problème hydrodynamique beaucoup plus complexe d'un point de vue théorique, qui dépasse le cadre de ce chapitre.

a. $s^* = s_m \frac{c_0}{c_0 + k_{\text{off}}/k_{\text{on}}}$ pour être exact, mais dans le cadre de la méthode de l'isotherme de Langmuir on travaille toujours avec des $c_0 \approx k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, donc s^* et s_m sont du même ordre de grandeur.

4.8 Discussion sur la gamme de validité en débit

Pour conclure ce chapitre, nous discutons ici de la gamme de validité de l'analyse précédente en examinant les données qui dévient du modèle, représentées par des triangles vides dans les figures 4.15 et 4.16. Deux hypothèses sont importantes pour que le modèle soit valide :

- l'échantillon diffuse suivant la dispersion de Taylor-Aris
- la réaction de complexation n'est pas limitée par l'apport de molécules cibles jusqu'à la surface de la biopuce.

4.8.1 Haut débit : limite de Taylor-Aris

Pour que le modèle soit valide, l'échantillon doit diffuser suivant la théorie dérivée par Taylor-Aris. Pour cela, les molécules cibles doivent avoir le temps de diffuser le long de la section transverse c'est-à-dire sur une distance de l'ordre du rayon du tube, avant d'atteindre la surface de la biopuce. Dans le cas contraire, le profil de concentration dans le tube devient beaucoup plus complexe que prévu par la théorie, affichant un profil de concentration hybride entre ceux de la figure 4.9b et 4.9c. Ce régime dépasse le cadre de notre étude.

Notre modèle est donc valable tant que le temps nécessaire à la diffusion de la molécule cible sur le rayon du tube $\frac{R^2}{2D}$ est égal ou inférieur au temps nécessaire au barycentre de l'échantillon pour se déplacer jusqu'à la surface de la biopuce $\frac{(L_1+L_0/2)\pi R^2}{Q}$, ce qui donne la condition suivante :

$$\frac{R^2}{2D} \leq \frac{(L_1 + L_0/2)\pi R^2}{Q} \quad (4.38)$$

On peut en déduire un débit maximal Q_{\max} au delà duquel cette analyse n'est plus valide :

$$Q_{\max}^{\text{theo}} = 2\pi \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right) D \quad (4.39)$$

Pour des débits en-dessous de cette valeur, l'échantillon aura eu le temps de se diluer convenablement via le mécanisme de Taylor-Aris et la forme globale du profil de concentration sera proche du profil décrit en figure 4.9c, permettant d'utiliser notre analyse sans problème. En pratique, on remarque que la valeur expérimentale du débit critique, au delà duquel on observe une déviation des mesures, est environ 5 fois plus grande que la valeur théorique, ce qui donne :

$$Q_{\max} = 10\pi \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right) D \quad (4.40)$$

Nous n'avons pas d'explications sur l'origine de ce facteur 5. Cependant des recherches précédentes ont mis en évidence une diffusion accrue par le cisaillement [44, 45], ce qui pourrait expliquer cette observation. Les expériences et les simulations réalisées à des débits supérieurs à Q_{\max} sont représentées par des triangles vides pointant vers le haut dans les figures 4.15 et 4.16.

4.8.2 Bas débit : limite de Damköhler

La deuxième hypothèse est que la vitesse de la réaction de complexation à la surface de la biopuce n'est pas limitée par l'apport de molécules cibles jusqu'à elle. Pour valider cette hypothèse, il suffit de réutiliser le nombre de Damköhler Da que nous avons défini dans l'introduction, en section 1.5. Celui

ci compare précisément deux flux : d'un côté le flux de molécules cibles consommées par la réaction en supposant leur transport jusqu'à la surface infiniment rapide J_r (réaction limitée par la cinétique chimique) :

$$J_r = k_{\text{on}} s_m c W_s L \quad (4.41)$$

et de l'autre le flux de molécules cibles qui atteignent la surface en supposant leur disparition du volume infiniment rapide à son contact J_t (réaction limitée par le transport de masse), calculé au chapitre 1 :

$$J_t = 1.5 c W_s D \left(\frac{QL^2}{DH^2 W_c} \right)^{1/3} \quad (4.42)$$

où L est la longueur de la surface de la biopuce (dans la direction du flux), W_s sa largeur, H est la hauteur du microcanal et W_c sa largeur (avec $W_c \gg H$). Le critère pour s'assurer que l'on sonde bien la vitesse de réaction k_{on} et non le transport des molécules cibles jusqu'à la surface s'écrit alors :

$$\text{Da} = \frac{J_r}{J_t} = \frac{k_{\text{on}} s_m L^{1/3} H^{2/3} W_c^{1/3}}{1.5 D^{2/3} Q^{1/3}} \ll 1 \quad (4.43)$$

Ainsi, ce critère contraint un débit minimum, qui permet d'alimenter la surface en molécules cibles, en dessous duquel notre modèle ne donne plus de résultat pertinent :

$$Q_{\text{min}} = 3 (k_{\text{on}} s_m)^3 \frac{LH^2 W_c}{D^2} \quad (4.44)$$

Q_{min} a été calculé en prenant 10 fois la solution Q de l'égalité de l'équation (4.43) afin de s'assurer de la validité de l'inégalité. Pour $Q < Q_{\text{min}}$, le taux de capture est limité par le transport des molécules cibles et non par la réaction, ce qui fausse les résultats.

Dans nos expériences, la longueur de la surface sensible est de $L = 1,5$ mm, ce qui nous donne un débit critique $Q_{\text{min}} = 25 \mu\text{L}/\text{min}$. Les points correspondant à des données expérimentales se situant en dessous de ce débit critique sont représentés par des triangles vides pointant vers le bas dans les figures 4.15 et 4.16. Ils sont tous en dehors de la courbe universelle, ce qui valide ce critère.

En conclusion, l'utilisation de la méthode basée sur les équations (4.29) et (4.32) nécessite de s'assurer que le débit soit compris entre les valeurs données par les équations (4.40) et (4.44) afin que les résultats soient exploitables.

4.9 Conclusion du chapitre

Le travail décrit dans ce chapitre s'inscrit dans l'optique du développement de nouvelles techniques d'analyse hors équilibre avec un faible volume d'analyte disponible. Nous avons quantifié l'effet de la dilution d'un échantillon par l'écoulement lors de son transport vers la surface sensible, à la fois expérimentalement et numériquement. Sans une analyse détaillée de ces effets de dilution, les techniques classiques utilisées pour déterminer les constantes cinétiques peuvent donner des résultats biaisés si elles sont utilisées hors équilibre. Dans ce contexte, nous montrons que la compréhension et la modélisation de ces effets de dilution permettent de travailler hors équilibre, avec de faibles volumes d'échantillon, tout en déterminant ces constantes cinétiques avec précision. Nous

proposons un modèle qui peut être facilement mis en oeuvre avec les équipements actuellement disponibles dans les laboratoires. En utilisant de faibles volumes, cette approche ouvre des perspectives importantes pour les applications bioanalytiques et la recherche médicale. En effet, de nombreuses maladies, dont le cancer, impliquent des protéines à liaison lente, telles que les métalloprotéines, dont les constantes cinétiques sont pour le moment difficiles à mesurer simplement avec les techniques actuelles. Il a été montré que développer des médicaments qui ciblent les métalloprotéines clés afin de modifier leurs constantes cinétiques seraient un moyen prometteur pour ralentir l'activité de nombreux cancers [46-51]. Pouvoir mesurer la constante de complexation et connaître l'influence de chaque traitement sur ces protéines pourrait conduire à une grande amélioration de la compréhension de ce type de pathologie et à de nouveaux traitements, plus ciblés, plus efficaces et avec moins d'effets secondaires.

Pour résumer

- Le taux de formation de complexes sous écoulement est mesuré expérimentalement. Une grande dispersion des résultats est observée.
- Des simulations Eulériennes et Lagrangiennes sont réalisées afin de sonder le rôle de l'écoulement dans la dispersion des résultats. Une dispersion similaire est observée excluant la piste du biais expérimental non reproductible.
- La dispersion de Taylor-Aris, menant à une dilution des échantillons de faibles volumes, est responsable de la dispersion des mesures. Le facteur de dilution des échantillons est calculé analytiquement :

$$\psi = \frac{R^2}{V_0} \sqrt{\frac{\pi Q \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right)}{3D}}$$

- Un nouveau modèle théorique, prenant en compte la réaction à la surface et la dilution hydrodynamique due à la dispersion de Taylor-Aris, est développé :

$$k_{\text{on}} = \frac{1}{s_m c_0} \frac{ds}{\text{erf}(1/\psi) dt}$$

- Les résultats expérimentaux et numériques sont retracés en utilisant cette nouvelle loi. Tous les résultats se regroupent sur une courbe maîtresse reproduite par le modèle.
- Pour les molécules considérées, une amélioration de l'efficacité est observée, par rapport à la méthode de l'isotherme de Langmuir, d'un facteur 200 en temps de mesure et d'un facteur 40 en volume d'échantillon.
- La gamme de validité de cette loi est discutée. La dispersion doit se dérouler essentiellement dans le tube et non dans le microsysteme, et le débit d'injection de l'échantillon doit être suffisamment rapide pour renouveler régulièrement les molécules cibles à proximité de la biopuce, mais suffisamment lent pour laisser à la dispersion de Taylor-Aris le temps de s'établir :

$$R \ll W_c$$

$$Q_{\text{min}} = 3 (k_{\text{on}} s_m)^3 \frac{LH^2 W_c}{D^2}$$

$$Q_{\text{max}} = 10\pi \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right) D$$

Références

1. DINH, T. L., NGAN, K. C., SHOEMAKER, C. B. & WALT, D. R. Using antigen-antibody binding kinetic parameters to understand single-molecule array immunoassay performance. *Analytical chemistry* **88**, 11335-11339 (2016).
2. KAMBHAMPATI, D., NIELSEN, P. E. & KNOLL, W. Investigating the kinetics of DNA-DNA and PNA-DNA interactions using surface plasmon resonance-enhanced fluorescence spectroscopy. *Biosensors and Bioelectronics* **16**, 1109-1118 (2001).
3. GUPTA, S., KILPATRICK, P. K., MELVIN, E. & VELEV, O. D. On-chip latex agglutination immunoassay readout by electrochemical impedance spectroscopy. *Lab on a Chip* **12**, 4279-4286 (2012).
4. TARN, M. D. & PAMME, N. in *Microchip Diagnostics* 69-83 (Springer, 2017).
5. TESTE, B. *et al.* Microchip integrating magnetic nanoparticles for allergy diagnosis. *Lab on a Chip* **11**, 4207-4213 (2011).
6. TESTE, B. *et al.* A chemometric approach for optimizing protein covalent immobilization on magnetic core-shell nanoparticles in view of an alternative immunoassay. *Talanta* **81**, 1703-1710 (2010).
7. TESTE, B. *et al.* Kinetic analyses and performance of a colloidal magnetic nanoparticle based immunoassay dedicated to allergy diagnosis. *Analytical and bioanalytical chemistry* **400**, 3395-3407 (2011).
8. CHANDRA, P., NOH, H.-B. & SHIM, Y.-B. Cancer cell detection based on the interaction between an anticancer drug and cell membrane components. *Chemical Communications* **49**, 1900-1902 (2013).
9. TRAN, V., WALKENFORT, B., KÖNIG, M., SALEHI, M. & SCHLÜCKER, S. Rapid, quantitative, and ultrasensitive point-of-care testing: A portable SERS reader for lateral flow assays in clinical chemistry. *Angewandte Chemie International Edition* **58**, 442-446 (2019).
10. ZENG, X., ANDRADE, C. A., OLIVEIRA, M. D. & SUN, X.-L. Carbohydrate-protein interactions and their biosensing applications. *Analytical and bioanalytical chemistry* **402**, 3161-3176 (2012).
11. SONG, Y. *et al.* Recent progress in microfluidics-based biosensing. *Analytical chemistry* **91**, 388-404 (2018).
12. KIM, D. C. & KANG, D. J. Molecular recognition and specific interactions for biosensing applications. *Sensors* **8**, 6605-6641 (2008).
13. BEAVIS, K. G. *et al.* Evaluation of the EUROIMMUN Anti-SARS-CoV-2 ELISA Assay for detection of IgA and IgG antibodies. *Journal of Clinical Virology* **129**, 104468 (2020).
14. VERMA, M. S. *et al.* Sliding-strip microfluidic device enables ELISA on paper. *Biosensors and Bioelectronics* **99**, 77-84 (2018).
15. LEE, K. H. & ZENG, H. Aptamer-based ELISA assay for highly specific and sensitive detection of Zika NS1 protein. *Analytical chemistry* **89**, 12743-12748 (2017).
16. ALI-CHERIF, A., BEGOLO, S., DESCROIX, S., VIOVY, J.-L. & MALAQUIN, L. Programmable Magnetic Tweezers and Droplet Microfluidic Device for High-Throughput Nanoliter Multi-Step Assays. *Angewandte Chemie* **124**, 10923-10927 (2012).

17. BOBROVNIK, S. Determination of antibody affinity by ELISA. Theory. *Journal of biochemical and biophysical methods* **57**, 213-236 (2003).
18. MACDONALD, R. A., HOSKING, C. S. & JONES, C. L. The measurement of relative antibody affinity by ELISA using thiocyanate elution. *Journal of immunological methods* **106**, 191-194 (1988).
19. STEIN, M., HASELBERG, R., MOZAFARI-TORSHIZI, M. & WÄTZIG, H. Experimental design and measurement uncertainty in ligand binding studies by affinity capillary electrophoresis. *Electrophoresis* **40**, 1041-1054 (2019).
20. VOETEN, R. L., VENTOURI, I. K., HASELBERG, R. & SOMSEN, G. W. Capillary electrophoresis: trends and recent advances. *Analytical chemistry* **90**, 1464-1481 (2018).
21. KRAIT, S., SALGADO, A., CHANKVETADZE, B., GAGO, F. & SCRIBA, G. K. Investigation of the complexation between cyclodextrins and medetomidine enantiomers by capillary electrophoresis, NMR spectroscopy and molecular modeling. *Journal of Chromatography A* **1567**, 198-210 (2018).
22. GIRARDOT, M., LI, H.-Y., DESCROIX, S. & VARENNE, A. Determination of binding parameters between lysozyme and its aptamer by frontal analysis continuous microchip electrophoresis (FACMCE). *Journal of Chromatography A* **1218**, 4052-4058 (2011).
23. OKHONIN, V., BEREZOVSKI, M. & KRYLOV, S. N. Sweeping capillary electrophoresis: a non-stopped-flow method for measuring bimolecular rate constant of complex formation between protein and DNA. *Journal of the American Chemical Society* **126**, 7166-7167 (2004).
24. CHU, Y.-H. & CHENG, C. Affinity capillary electrophoresis in biomolecular recognition. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS* **54**, 663-683 (1998).
25. RICH, R. L. & MYSZKA, D. G. BIACORE J: a new platform for routine biomolecular interaction analysis. *Journal of Molecular Recognition* **14**, 223-228 (2001).
26. KOBAYASHI, H. *et al.* Evaluation of the interaction between β -cyclodextrin and psychotropic drugs by surface plasmon resonance assay with a Biacore® system. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis* **54**, 258-263 (2011).
27. LEONARD, P., HEARTY, S., MA, H. & O'KENNEDY, R. in *Protein Chromatography* 339-354 (Springer, 2017).
28. O'SHANNESY, D. J., BRIGHAM-BURKE, M. & PECK, K. Immobilization chemistries suitable for use in the BIACore surface plasmon resonance detector. *Analytical biochemistry* **205**, 132-136 (1992).
29. MACDONALD, H. *et al.* Influence of aptamer surface coverage on small target recognition: A SPR and QCM-D comparative study. *The Journal of Physical Chemistry C* **123**, 13561-13568 (2019).
30. RICKERT, J., BRECHT, A. & GÖPEL, W. QCM operation in liquids: constant sensitivity during formation of extended protein multilayers by affinity. *Analytical chemistry* **69**, 1441-1448 (1997).
31. LANGMUIR, I. The adsorption of gases on plane surfaces of glass, mica and platinum. *Journal of the American Chemical Society* **40**, 1361-1403 (1918).
32. LIEBERMANN, T., KNOLL, W., SLUKA, P. & HERRMANN, R. Complement hybridization from solution to surface-attached probe-oligonucleotides observed by surface-plasmon-field-enhanced fluorescence spectroscopy. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* **169**, 337-350 (2000).

33. PEH, W. Y., REIMHULT, E., TEH, H. F., THOMSEN, J. S. & SU, X. Understanding ligand binding effects on the conformation of estrogen receptor α -DNA complexes: A combinational quartz crystal microbalance with dissipation and surface plasmon resonance study. *Biophysical journal* **92**, 4415-4423 (2007).
34. JONSSON, U *et al.* Real-time biospecific interaction analysis using surface plasmon resonance and a sensor chip technology. *Biotechniques* **11**, 620-627 (1991).
35. KARLSSON, R., MICHAELSSON, A. & MATTSSON, L. Kinetic analysis of monoclonal antibody-antigen interactions with a new biosensor based analytical system. *Journal of immunological methods* **145**, 229-240 (1991).
36. MAILLART, E. *Imagerie par résonance des plasmons de surface pour l'analyse simultanée de multiples interactions biomoléculaires en temps réel* thèse de doct. (2004).
37. YUAN, B.-f., ZHUANG, X.-y., HAO, Y.-h. & TAN, Z. Kinetics of base stacking-aided DNA hybridization. *Chemical communications*, 6600-6602 (2008).
38. GOTOH, M., HASEGAWA, Y., SHINOHARA, Y., SHIMIZU, M. & TOSU, M. A new approach to determine the effect of mismatches on kinetic parameters in DNA hybridization using an optical biosensor. *DNA Research* **2**, 285-293 (1995).
39. KUZMICHEV, A., SKOLNIK, J., ZYBIN, A. & HERGENRÖDER, R. Absolute analysis of nanoparticle suspension with surface plasmon microscopy. *Analytical Chemistry* **90**, 10732-10737 (2018).
40. TAYLOR, G. I. Dispersion of soluble matter in solvent flowing slowly through a tube. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* **219**, 186-203 (1953).
41. ARIS, R. On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* **235**, 67-77 (1956).
42. YOUNG, M., CARROAD, P. & BELL, R. Estimation of diffusion coefficients of proteins. *Biotechnology and bioengineering* **22**, 947-955 (1980).
43. SMITH, M. H. *Molecular weights of proteins and some other materials including sedimentation, diffusion, and frictional coefficients and partial specific volumes* 74 (CRC Press, 2018).
44. MARY, P., STUDER, V. & TABELING, P. Microfluidic droplet-based liquid-liquid extraction. *Analytical chemistry* **80**, 2680-2687 (2008).
45. SALMON, J.-B. & AJDARI, A. Transverse transport of solutes between co-flowing pressure-driven streams for microfluidic studies of diffusion/reaction processes. *Journal of applied physics* **101**, 074902 (2007).
46. GUO, F. *et al.* Matrix metalloprotein-triggered, cell penetrating peptide-modified star-shaped nanoparticles for tumor targeting and cancer therapy. *Journal of Nanobiotechnology* **18**, 1-16 (2020).
47. LEE, C.-Y. *et al.* Antimetastatic effects of Terminalia catappa leaf extracts on cervical cancer through the inhibition of matrix metalloprotein-9 and MAPK pathway. *Environmental toxicology* **34**, 60-66 (2019).
48. LIU, Y. & WANG, C. Predicting cracks in metalloproteins. *Nature Machine Intelligence* **1**, 553-554 (2019).

49. YANG, Y. *et al.* Metalloprotein inhibitors for the treatment of human diseases. *Current topics in medicinal chemistry* **16**, 384-396 (2016).
50. OH, S. *et al.* Miniaturized asymmetrical flow field-flow fractionation: Application to biological vesicles. *Journal of separation science* **30**, 1082-1087 (2007).
51. ROUFFET, M. & COHEN, S. M. Emerging trends in metalloprotein inhibition. *Dalton Transactions* **40**, 3445-3454 (2011).

CONCLUSION GÉNÉRALE

Dans cette thèse, nous nous sommes intéressés à la capture d'objets sur une surface en présence d'un écoulement laminaire. Le modèle de Squires *et al.* fait référence dans le domaine. L'objectif de cette thèse a été, par des expériences, des simulations numériques et des modélisations théoriques, d'étendre ce modèle à trois situations caractéristiques de la recherche en biologie et de la bioanalyse. Dans cette conclusion, nous revenons, pour chacune de ces situations, sur les résultats majeurs que nous avons obtenus, et sur les futures perspectives qu'ils ouvrent, autant en termes d'applications potentielles qu'en termes de futurs axes de recherches.

La première situation concerne les objets dont la présence perturbe l'écoulement dans leur environnement proche. Cela concerne tous les objets dont la taille ne peut plus être négligée, comme les particules, couramment utilisées dans de nombreux protocoles biologiques. Deux approches ont ici été proposées. D'une part, un système expérimental, basé sur la microfluidique, a été réalisé. D'autre part, un code de simulations Lagrangiennes a été conçu. Grâce à ces deux approches, nous avons montré que les lois de capture des particules ne pouvaient être complètes sans la prise en compte des forces de lift inertiel, des forces qui focalisent les particules à des hauteurs particulières dans les canaux microfluidiques, loin des parois. Un nouveau nombre sans dimension, le nombre Lifo-Diffusif, qui compare ces forces de lift et la diffusion, a été créé. Nous avons montré que sa valeur est le seul paramètre nécessaire pour prédire le profil de concentration en particules au sein d'un canal ainsi que la variation du taux de capture par rapport au modèle convecto-diffusif. Un phénomène de capture hautement non-linéaire a été mis en lumière, où une faible variation des paramètres expérimentaux entraîne une grande variation du taux de capture. Grâce à cette recherche, il est désormais possible de prévoir, grâce au calcul de la valeur du nombre Lifo-Diffusif, si les particules sont focalisées ou non, et la valeur de leur taux de capture. Un logiciel, LiDi, a été développé afin d'aider les concepteurs de systèmes d'analyse dans leurs étapes de dimensionnement.

Dans la seconde situation, les objets déformables, extrêmement courants dans la biologie, ont été étudiés. C'est le cas des capsules, des objets composés d'un coeur liquide et d'une membrane élastique, qui a été choisi comme système modèle. Ceux-ci, d'après la littérature, seraient également soumis à des forces de lift. Contrairement aux particules, ces forces de lift sont issues de leur nature déformable. Dans un premier temps, nous avons proposé un nombre sans dimension, le nombre Lifo-Diffusif élastique, construit à partir de considérations théoriques et de simulations numériques, qui serait le paramètre pertinent pour prédire le taux de capture. Afin de réaliser les expériences associées, des capsules répondants à un cahier des charges précis devaient être obtenues. Pour cela, en collaboration avec l'ISCR, nous avons fabriqué des capsules nanométriques et augmenté la taille de celles habituellement produites. Enfin, des expériences de capture de capsules ont été réalisées. Ces résultats ont été faiblement répétés, mais les expériences permettent d'observer une tendance qui va dans le sens attendu, ainsi que des résultats moins prévisibles. Des expériences complémentaires

sont nécessaires afin d'affiner ces observations et de comprendre l'origine de l'écart à ce que nous attendions.

Enfin, nous nous sommes penchés sur le cas des échantillons de volumes finis dont le taux de capture est limité par la vitesse de réaction à la surface. Cette situation est très courante en bioanalyse, mais n'est pas décrite dans la littérature. Pour cette étude, des expériences ont été réalisées dans un laboratoire partenaire. Nous avons montré que mesurer des constantes cinétiques de complexation hors équilibre, c'est-à-dire avec des échantillons de plus faibles volumes que dans des analyses conventionnelles, pouvait biaiser les résultats. Grâce à des simulations, nous avons montré que la dispersion de Taylor-Aris était responsable de ce biais. Grâce à une prise en compte théorique de cet effet hydrodynamique dans les modèles réactifs, il a été possible de supprimer ce biais, et ainsi de réaliser des mesures de constantes cinétiques en réduisant fortement le volume d'échantillon nécessaire. Ce nouveau modèle pourrait permettre de faciliter les analyses dans le cas de molécules rares, chères, ou complexes à prélever dans de grandes quantités.

Ce travail de thèse a donc permis d'étendre les modèles actuellement disponibles dans la littérature pour la capture d'objets sur des surfaces solides en présence d'écoulements laminaires à certains cas très communs du monde de la recherche biologique et de la bioanalyse. Cependant, de nombreux mécanismes, situations ou effets restent encore non décrits, et permettraient de mieux comprendre les phénomènes de capture de certains objets complexes. L'impact de la densité des objets sur le taux de capture, en présence d'autres effets comme le lift, est pour moi l'une des recherches les plus importantes, car faisant partie des situations les plus couramment rencontrées. Cependant, elle peut notamment complexifier le problème. L'étude de la capture d'objets en présence de parois déformables fixes peut avoir un fort impact, en collaboration avec le développement des organes sur puces, afin de mieux comprendre et prédire le comportement d'objets dans l'organisme. Enfin, étudier plus en détail le comportement d'autres catégories d'objets déformables ou déformés (vésicules, cellules, globules rouges, ...) pourraient avoir des retombées biologiques très larges.

Out-of-Equilibrium Measurements of Kinetic Constants on a Biosensor

Donatien Mottin, Florence Razan, Claude Nogues, and Marie-Caroline Jullien*



Cite This: <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.1c00543>



Read Online

ACCESS |



Metrics & More

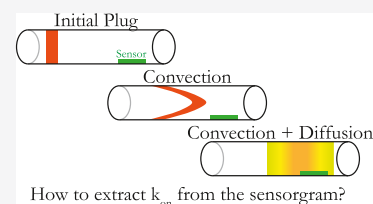


Article Recommendations



Supporting Information

ABSTRACT: Conventional measurements of kinetic constants currently in use are performed at equilibrium and may require large volumes, especially at a low association rate constant k_{on} . If the measurements are made out of equilibrium, the values obtained may be biased by dilution of the sample with the flow of the running buffer. In some applications, the available sample volume can be very critical and requires the development of tools to measure kinetic constants with low volumes. In this paper, by combining an experimental, numerical and modeling approach, we propose a surface plasmon resonance-based method that relies on an out-of-equilibrium measurement using the effect of dilution by flow to its advantage. This new method should have a significant impact in biochemistry and medical research.



INTRODUCTION

The efficiency of a complex formed from two interacting molecules is intrinsically linked to the characteristic time of formation of the complex. Many biological mechanisms are based on complexation: antibody–antigen interaction for immune reaction¹ or complementary single-stranded DNA hybridization to form a DNA double helix,² for instance. In this context, the complexation reaction is a key element of many modern bioanalysis protocols such as immunoassays on chip,^{3–7} cancer point-of-care diagnostics,^{8,9} or, more generally, biosensing.^{10–12} This reaction is quantitatively described through three quantities: the association rate constant k_{on} , which describes how fast two interacting molecules form a complex at a given concentration, the dissociation rate constant k_{off} , which describes the time it takes for a complex to dissociate, and the equilibrium dissociation constant $K_{\text{D}} = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, which describes the affinity between the two interacting molecules.

Different strategies have been developed to measure these constants like static methods and methods under flow, to cite a few. A typical example of static methods is the enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) that can be performed by grafting one of the two molecules on plate wells, the other one being in solution at various concentrations. The measure of K_{D} is performed at equilibrium using colorimetric measurements.^{13–18} Concerning methods under flow, we can cite two approaches. In a first one, both molecules are no longer grafted on a surface, such as in the capillary electrophoresis method, in which the analysis is based on the mobility difference between the molecules and the formed complexes under an electrical field.^{19–24} In the second approach, one of the two molecules is grafted on a surface, while the second one is injected using a flow and passed through the biochip surface. In this paper, we focus on this last strategy.

The methodology is based on grafting a ligand on a sensitive surface and flowing an interacting target continuously above this surface. By analyzing the time evolution of the number of complexes that are formed, named sensorgram, one can thus extract k_{on} and k_{off} values. Classical methods used to obtain such sensorgrams are typically based on surface plasmon resonance (SPR),^{25–28} quartz crystal microbalance,^{29,30} electrochemistry,^{31,32} or other label-free methods.³³ However, sample plugs can be distorted by the flow and, combined with diffusion, this leads to Taylor–Aris dispersion,^{34,35} a classical hydrodynamic effect that modifies the bulk concentration and tends to bias the sensorgrams. Generally, this hydrodynamic effect can be disregarded by working at equilibrium, typically using the Langmuir isotherm method.

The Langmuir isotherm method is based on the classical model used to describe association and dissociation of targets on a ligand-recovered surface known as the first-order Langmuir kinetics

$$\frac{ds}{dt} = k_{\text{on}}c_0(s_m - s) - k_{\text{off}}s \quad (1)$$

in which the temporal evolution of the number of complexes s formed over the initial total number of free ligands s_m results from two mechanisms: association $\left. \frac{ds}{dt} \right|_{\text{on}} = k_{\text{on}}c_0(s_m - s)$ and dissociation of complexes $\left. \frac{ds}{dt} \right|_{\text{off}} = -k_{\text{off}}s$ at a given target

Received: February 5, 2021

Accepted: April 27, 2021

concentration c_0 . At equilibrium, the two contributions balance and the sum of these two rates is equal to zero, that is, $s_{\text{eq}} = s_m \frac{c_0}{c_0 + k_{\text{off}}/k_{\text{on}}}$. In practice, the number of complexes s_{eq} at equilibrium is measured for different initial concentrations c_0 , and $K_D = k_{\text{off}}/k_{\text{on}}$, the equilibrium dissociation constant, then appears as a fitting parameter of the curve.

Although this method provides accurate measurements, working at equilibrium can require an increasing volume of the sample, while k_{on} decreases. In fact, working under flow implies continuous injection and thus a continuous target supply. The smaller the k_{on} value, the longer it takes to reach equilibrium. Thus, equilibrium methods may require massive amounts of sample for especially low k_{on} molecules. To lower the sample volume, the first strategy consists in flowing a small volume sample back and forth above the sensing surface, still working at equilibrium.³⁶

In this paper, we propose a second strategy built on an out-of-equilibrium SPR-based method to calculate the k_{on} value of a given complex. Instead of relying solely on the equilibrium measurements, we take advantage of a dynamical measurement for which the number of formed complexes increases with time in order to extract the k_{on} values. As this is an out-of-equilibrium measurement, the Taylor–Aris dispersion, explained in the paper, plays a significant role. We propose a method of analysis which makes it possible to interpret the measurements by taking this mechanism into account. Reaching the equilibrium is thus no longer required to get accurate k_{on} values. With this new method, the analysis time and the sample volume can be significantly reduced, especially for the lowest k_{on} . Typically, in our parameter range, the gain in the analysis time is about 200 and the gain in the volume is about 40. This method can have a huge impact on the kinetics analysis of slowly interacting proteins, such as the metalloproteins, that is, low k_{on} metal-binding proteins, that have been identified as an essential element in cancer pathology.^{37–42}

In this paper, we first present our experimental results, probing the influence of Taylor–Aris dispersion on out-of-equilibrium measurements. Then, we present numerical simulations reproducing the experimental measurements. The agreement between experimental and numerical results allows us to confirm our hypothesis on the effect of Taylor–Aris dispersion, leading to a new model described in the third part. Finally, we discuss the range of validity of the model. In routine use, it is simply necessary to solve two equations which depend only on the parameters of the experiment (geometry, hydrodynamic parameters, concentration, and surface density of ligands), which make the measurement very simple.

For sakes of homogeneity, we use the SI units for k_{on} throughout the paper ($\text{m}^3 \text{mol}^{-1} \text{s}^{-1}$) and not its usual unit ($\text{L mol}^{-1} \text{s}^{-1}$).

EXPERIMENTAL SECTION

Injection Protocol. The experiments are performed using a SPRi-Plex Horiba apparatus. The procedure is sketched in Figure 1. A sample (in red) of volume V_0 , length L_0 , and target concentration $c_0 = 50 \text{ nM}$ in a 400 mM phosphate-buffered saline aqueous solution (PBS, $\text{pH} = 7.4$) is injected in a capillary tubing of radius $R = 300 \mu\text{m}$. This plug is pushed by a target-free PBS solution through a capillary tubing of radius R and length $L_1 = 28.4 \text{ cm}$ at a flow rate Q and reaches a microfluidic system of height $H = 1.75 \text{ mm}$ and width $W = 8.9$

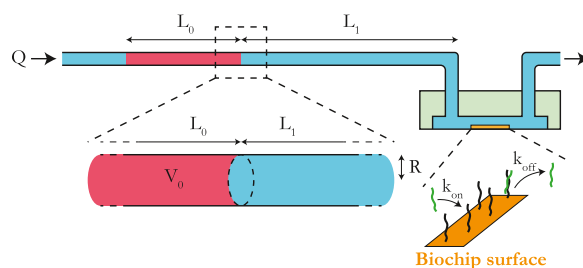


Figure 1. Sketch of the measurement system. (Red) Sample of volume V_0 , length L_0 , and target concentration c_0 injected in a capillary tubing of radius R at a flow rate Q . (Blue) Buffer. (Yellow) Biochip sensitive surface located in the microfluidic chamber, recovered by ligands. An analysis system monitors the amount of formed complex versus time. The sketch is not to scale.

mm, in which a functionalized gold biochip surface (sensitive surface) has been integrated (in yellow on Figure 1). The temperature is fixed at $25.0 \text{ }^\circ\text{C}$ near the biochip surface.

The sample solution contains the target, free single-strand DNA (ssDNA), while the ligand, complementary ssDNA, is grafted on the biochip surface (see the Supporting Information for the DNA sequences). The complex number versus time is measured by SPRi (surface plasmon resonance imaging),^{43–45} an optical technique commonly used for biological kinetics measurement.^{1,46–49} After each experiment, the biochip surface is regenerated: all complexes on the biochip surface are dissociated by injecting $200 \mu\text{L}$ of sodium dodecyl sulfate solution ($0.1\% \text{ w/v}^{50}$) in Milli-Q water at $50 \mu\text{L}/\text{min}$. DNA regeneration allows a total dissociation of complexes, thus allowing repeated experiments on nonaltered surfaces. The SPRi injection valve system and the microfluidic system are then thoroughly washed by several injections of PBS.

Biochip Surface Treatment. A Horiba SPRi-Biochip, composed of a high refractive index glass prism coated with a thin gold film, is subjected to different successive treatments: Milli-Q water washing, drying with argon, exposition to UV ozone for cleaning during 5 min, followed by a direct immersion in absolute ethanol for a least 20 min. After drying under argon, a 5' thiolated single-stranded DNA (SH-ssDNA) at $10 \mu\text{M}$ diluted in 400 mM PBS is spotted as $0.2 \mu\text{L}$ drops on the freshly treated gold biochip surface. The ssDNA drops are then left to incubate overnight in a humid chamber. The biochip is further directly introduced in the SPRi instrument, and the surface is thoroughly rinsed with the running buffer (PBS).

Experimental Results. As stated in the introduction, working out-of-equilibrium means that the final state in (1), $s_{\text{eq}} = s_m \frac{c_0}{c_0 + k_{\text{off}}/k_{\text{on}}}$, is not reached. The number of complexes is thus negligible compared to the equilibrium one: $s \ll s_{\text{eq}}$. Formally, this leads to

$$k_{\text{on}}c_0s + k_{\text{off}}s \ll k_{\text{on}}c_0s_m \quad (2)$$

Then, far from equilibrium, the total complexation rate in eq 1 reduces to

$$\frac{ds}{dt} = k_{\text{on}}c_0s_m \quad (3)$$

where c_0 is the target concentration. According to (3), the number of complexes evolves linearly with time. As such, the k_{on} value can be extracted from the measure of the complex formation rate ds/dt . In the following, we note k_{on} its intrinsic

value, independent of the experimental and analysis protocols. Experiments and numerical simulations are performed by varying the experimental parameters, and the measured constants are noted, \tilde{k}_{on} , obtained using

$$\tilde{k}_{\text{on}} = \frac{1}{c_0 s_m} \frac{ds}{dt} \quad (4)$$

for which a bias can be introduced either by the experimental protocol or the analysis method.

DNA hybridization is used as a model complexation in this study. Its particularly low k_{on} value^{2,47} and its zero dissociation rate constant ($k_{\text{off}} = 0$) make working out-of-equilibrium possible. Note that working out-of-equilibrium does not require necessarily $k_{\text{off}} = 0$.

Experiments are performed by tuning the injection flow rate $Q \in [3; 500] \mu\text{L}/\text{min}$ and the injected volume $V_0 \in [2; 500] \mu\text{L}$, while all other parameters are set fixed (surface treatment, ssDNA ligand concentration s_m , ssDNA target concentration c_0 , capillary tubing length L_1 , microfluidics chamber geometry, ...). Each set of flowing conditions (flow rate Q and injected volume V_0) is reproduced seven times. The Reynolds number $\text{Re} = 2Q/(\pi R^2 \nu)$ varies between 8×10^{-2} and 13, with ν the kinematic viscosity of the carrier liquid, ensuring laminar flow.

A typical recorded signal is shown in Figure 2a. By subtracting the background signal, a typical sensorgram is

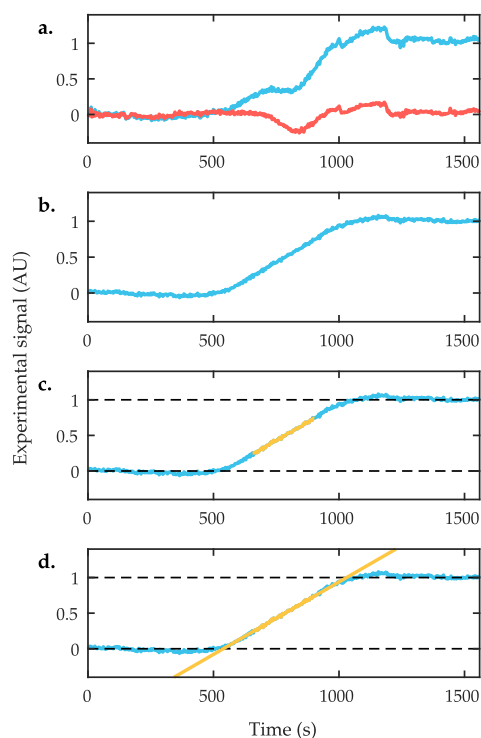


Figure 2. Signal analysis process. Experimental signal obtained for $R = 300 \mu\text{m}$, $L_1 = 28.4 \text{ cm}$, $D = 1.27 \times 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$, $Q = 10 \mu\text{L}/\text{min}$, and $V_0 = 5 \mu\text{L}$. The sample is injected at $t = 0$ and travels above the biochip surface between $t \approx 500 \text{ s}$ and $t \approx 1000 \text{ s}$. (a) Raw data. (Blue) sample signal and (red) reference signal, recorded at a nearby reference ligand-free surface. (b) Background subtraction. (c) Selection of the data points forming the linear part of the signal (yellow points). (d) Linear fitting of the complex formation rate ds/dt .

recovered as shown in Figure 2b. The complex formation rate ds/dt is extracted by measuring the slope in the linear part of the curve (yellow part of Figure 2c,d).

Once the complex formation rate is measured, \tilde{k}_{on} is computed following (4). Figure 3 displays the different values

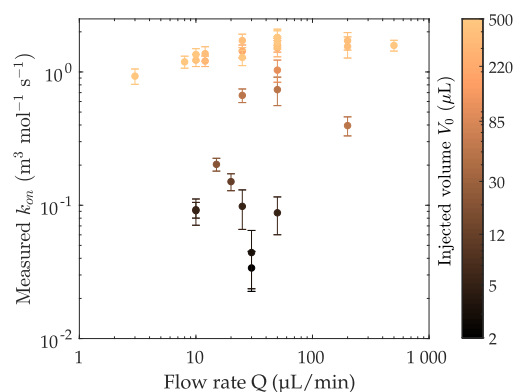


Figure 3. Variation of the out-of-equilibrium measured \tilde{k}_{on} for various injection flow rates Q and injected sample volume V_0 . Each point represents the mean result of seven experiments with the same parameter sets. Error bars represent the standard deviation among these seven experiments.

of the measured \tilde{k}_{on} for each of the 29 set of flowing conditions. The fact that the measured values vary over two decades shows that either our experiment has a bias or that the flow conditions Q and V_0 , the only varying parameters, play a major role. We assume that hydrodynamics must be considered when working out-of-equilibrium. Indeed, diffusion alone cannot be responsible for a sufficiently fast dilution to bias the measurements as observed. For example, a sample in a liquid at rest (see Figure 4a) of volume $V_0 = 10 \mu\text{L}$ with a diffusion coefficient of $D \sim 10^{-10} \text{ m}^2/\text{s}$ (a typical value for the target we use) in a capillary tubing of radius $300 \mu\text{m}$ occupies a capillary tubing length $L_0 = \frac{V_0}{\pi R^2} \approx 3.5 \text{ cm}$. To diffuse over a distance $\delta \approx L_0$, which means diluting twice its initial volume, it takes a typical diffusive time $t \sim L_0^2/D \sim 10^6 \text{ s}$, that is, over a week. For most biological molecules, such as antibodies, the diffusion coefficient is about $\sim 10^{-12} \text{ m}^2/\text{s}$ leading to a diffusion time of about a year. This means that, without a flow, the target concentration does not change during the experiment.

At this stage, it is necessary to consider mass transport in the system, including the combination of both convection in the direction of the flow and diffusion transverse to the flow; see Figure 4. Indeed, for a flow at a low Reynolds number, the velocity profile has a parabolic shape and the velocity is maximum at the centre of the pipe and zero at the walls, so that a plug sample is distorted as shown in Figure 4b. Then, the target sample diffuses over the cross section of the channel as depicted in Figure 4d. The combination of these two effects results in an enhanced diffusion called the Taylor–Aris dispersion.^{34,35} Our working hypothesis is that the discrepancy of the measurements comes from samples more or less diluted by this dispersion modifying the concentration of the solution arriving at the sensor.

Before deriving a model, we performed numerical simulations, reported in the next section, in order to check

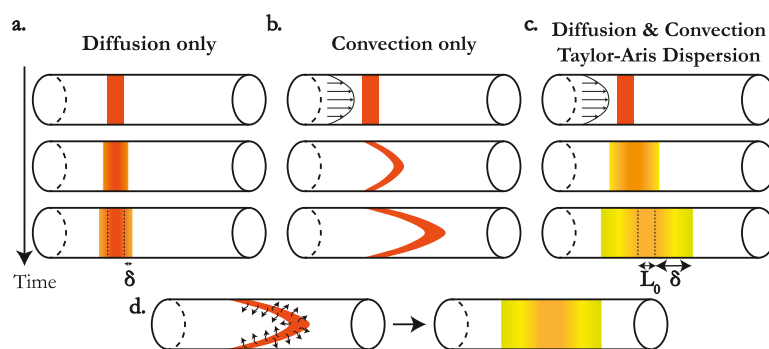


Figure 4. Illustration of the Taylor–Aris dispersion mechanism. A sample is transported in a capillary tubing where it is submitted to both diffusion and convection by the surrounding liquid. The color represents the target concentration inside the sample (the more concentrated the target, the redder the color). δ is the dilution length, *i.e.*, the sample length increases due to its journey in the capillary tubing. (a) Diffusion only. If the fluid is at rest, the only transport mechanism is diffusion. Targets slowly diffuse in the capillary tubing. (b) Convection only. If the liquid is in motion, a parabolic flow velocity profile develops in the capillary tubing. Targets in the center of the capillary tubing move much faster than those near the walls. The sample is therefore deformed by the liquid flow. (c) Diffusion and convection: Taylor–Aris dispersion. When both effects are considered, the sample is deformed by convection, and then targets spread over the entire height of the capillary tubing by diffusion. This way, the sample dilutes itself way faster than by pure diffusion. (d) Simplified sketch of the mechanism.

that the discrepancy found in the measured association rate constants come from this effect and not from another bias.

Numerical Results. Each experimental condition is reproduced numerically using two different numerical approaches, taking into account only the Taylor–Aris dispersion and the surface complexation. To perform these numerical simulations, we implement a k_{on} value, and the output of the simulations is the measured \tilde{k}_{on} value obtained from the simulated sensorgram. Two different numerical strategies are used in order to ensure the absence of numerical bias. The first one uses COMSOL Multiphysics, while the second one uses a code developed in our laboratory. This home-made code is a Lagrangian numerical strategy which consists in computing the trajectory of each target at each time step.

In order to simplify the reading of the paper, the details of these simulations are reported in the [Supporting Information](#). Indeed, the results of these simulations allow us to establish our working hypothesis, but the details of their practical realization is not in the scope of this paper.

Figure 5 displays the results obtained by the two approaches detailed in the [Supporting Information](#). Remarkably, the two simulations reproduce the dispersion of \tilde{k}_{on} values observed experimentally.

Since the simulations only take into account the Taylor–Aris dispersion, we hypothesize that it is the only mechanism responsible for the dispersion of the experimentally obtained values. Based on this hypothesis, we will establish a model in the following section and compare it with the experimental and numerical results.

Data Analysis Model. In this section, we propose to rationalize the effect of Taylor–Aris dispersion on the out-of-equilibrium complexation kinetics. From Taylor–Aris dispersion, combining axial convection and transverse diffusion results in an effective diffusion coefficient^{34,35}

$D_{\text{TA}} = D \left(1 + \frac{Q^2}{48\pi^2 D^2 R^2} \right)$. In our experiments with $D \sim 10^{-10}$ m^2/s , for a flow rate about $Q \geq 1$ $\mu\text{L}/\text{min}$, the first term is negligible as long as $R \ll 1$ cm. For antibodies, the diffusion coefficient is about $D \sim 10^{-12}$ m^2/s ,^{51,52} and for the same flow rate, the first term is negligible as long as $R \ll 1$ m. The radius

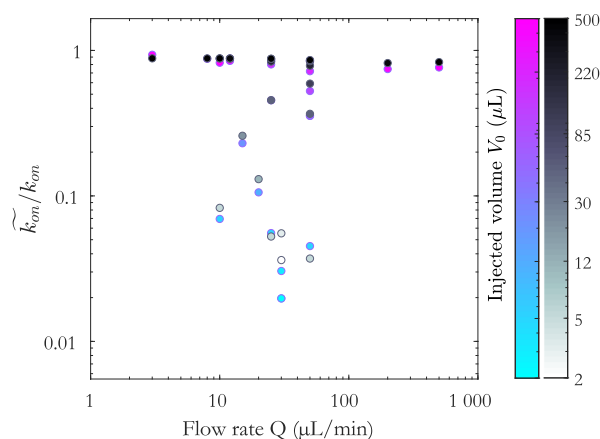


Figure 5. Variation of the out-of-equilibrium simulated \tilde{k}_{on} value for various injection flow rates Q and injected sample volume V_0 . COMSOL simulation results (black/white) and Lagrangian simulation results (purple/blue) are both normalized by the input k_{on} value.

that is used on a standard analysis system is much smaller than the two values we found. The effective diffusion thus reduces to

$$D_{\text{TA}} \approx \frac{Q^2}{48\pi^2 DR^2} \quad (5)$$

It is thus possible to compute the real concentration of the sample when it reaches the biochip surface, taking this hydrodynamic dilution into account. The sample length is initially L_0 , and the center of the sample travels over a distance $L_1 + L_0/2$ before reaching the biochip surface (see [Figure 1](#)). With a mean travel velocity $U = Q/\pi R^2$, it takes a typical time $\tau \approx \frac{L_1 + L_0/2}{U}$ to reach the biochip surface. During this time, the sample plug diffuses over a distance δ (see [Figure 4](#))

$$\delta = \sqrt{D_{\text{TA}}\tau} = \sqrt{\frac{D_{\text{TA}}(L_1 + L_0/2)\pi R^2}{Q}} \quad (6)$$

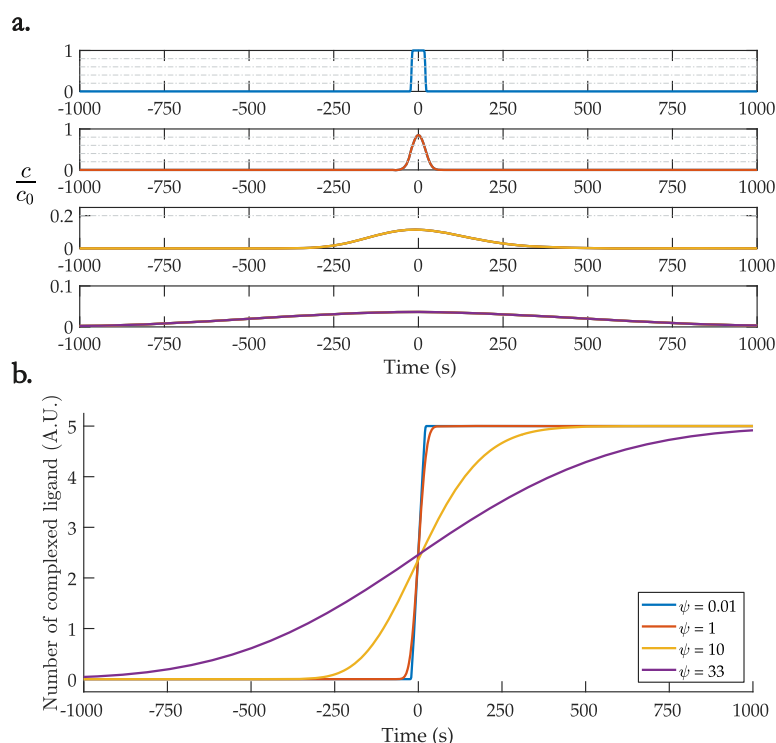


Figure 6. Analytic predictions for different ψ values. Color codes for ψ value are represented in the inset of plot (b). At $t = 0$, the barycenter of the sample reaches the biochip. (a) Temporal evolution of the concentration c of the sample above the biochip. For dilution factor $\psi < 1$, the concentration profile is not distorted at all, while for $\psi > 1$, the sample is diluted. (b) Sensorgram allowing to extract the complex formation rate ds/dt from the slopes at different ψ values. For dilution factor $\psi < 1$, the sample is highly concentrated and the slope of the curve is steep. On the opposite, for $\psi > 1$, the sample is diluted, which results in a smaller slope for the same injection concentration c_0 .

It is clear from this equation that the flow is responsible for the expansion of the initial plug. A scaling law describing the mean concentration c of the sample above the biochip surface then writes

$$c \sim c_0 \frac{L_0}{\delta + L_0} \quad (7)$$

where $\frac{L_0}{\delta + L_0}$ is the dilution factor. This dilution factor therefore depends on the flow rate (*via* δ) and the initial volume (*via* L_0). For $\delta \ll L_0$, $c = c_0$, and there is no dilution, while for $\delta \gg L_0$, $c = \frac{L_0}{\delta} c_0 \ll c_0$, and the sample is diluted; the concentration above the biochip surface is way reduced compared to a nondiluted case.

The exact computation leads to (see the [Supporting Information](#))

$$c = c_0 \operatorname{erf}\left(\frac{L_0}{4\delta}\right) \quad (8)$$

where erf is the error function of asymptotic behavior $\operatorname{erf}\left(\frac{L_0}{4\delta} \ll 1\right) \simeq \frac{L_0}{4\delta}$ and $\operatorname{erf}\left(\frac{L_0}{4\delta} \gg 1\right) \simeq 1$. These asymptotic behaviors recover the solutions found using the scaling law model (7): $c \simeq c_0$ if $\delta \ll L_0$ and $c \ll c_0$ if $\delta \gg L_0$.

From (5), (6) and using $L_0 = \frac{V_0}{\pi R^2}$, we define the hydrodynamic dilution factor ψ as

$$\psi = \frac{4\delta}{L_0} = \frac{R^2}{V_0} \sqrt{\frac{\pi Q \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2}\right)}{3D}} \quad (9)$$

Then

$$c = c_0 \operatorname{erf}(1/\psi) \quad (10)$$

The value of ψ provides a quantitative indication of whether or not a sample has been hydrodynamically diluted during its traveling time as depicted in [Figure 6a](#). If $\psi \ll 1$, $\delta \ll L_0$: the final volume of the sample is almost equal to the initial volume. The concentration thus remains equal to c_0 . On the opposite, for $\psi \gg 1$, $\delta \gg L_0$: the sample volume increases during the traveling time, leading to a dilution. Schematically, a dilution factor $\psi < 1$ means the sample is not hydrodynamically diluted, while a dilution factor $\psi > 1$ means the sample is diluted by a factor ψ . For example, for $\psi = 10$, the sample is 10 times less concentrated when it reaches the biochip surface than during its injection in the analysis system.

[Equation 3](#) can now be amended in order to take hydrodynamic dilution into account. c_0 must be replaced by the actual concentration $c = c_0 \operatorname{erf}(1/\psi)$ when the sample reaches the biochip

$$\frac{ds}{dt} = k_{\text{on}} s_{\text{m}} c_0 \operatorname{erf}(1/\psi) \quad (11)$$

This new equation takes into account the surface complexation ([eq 3](#)) and also the Taylor–Aris hydrodynamic dispersion via the ψ factor we introduce (see [Figure 6b](#)). k_{on} can thus be obtained by measuring the slope ds/dt and by

calculating the hydrodynamic dilution factor ψ using (9). Finally

$$k_{\text{on}} = \frac{1}{s_{\text{m}}c_0} \frac{ds}{\text{erf}(1/\psi) dt} \quad (12)$$

Combining eqs 4 and 12 leads to

$$\tilde{k}_{\text{on}} = k_{\text{on}} \text{erf}(1/\psi) \quad (13)$$

The data points are the same as Figure 3. (Solid line) theoretical prediction $\tilde{k}_{\text{on}} = k_{\text{on}} \text{erf}(1/\psi)$. (Empty triangles) experimental data that are out of the model validity range either because $Q < Q_{\text{min}}$ (downward pointing triangles) or $Q > Q_{\text{max}}$ (upward pointing triangles) and therefore deviate from the theoretical prediction.

Figure 7 shows the experimental data plotted as a function of ψ instead of Q . Remarkably, the points are very well-fitted by

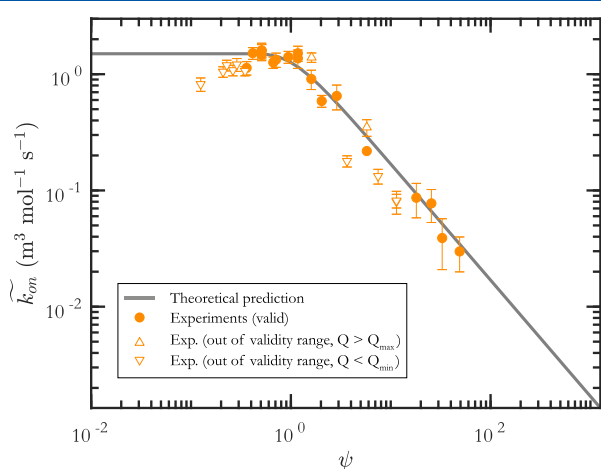


Figure 7. Variation of the measured \tilde{k}_{on} versus the dilution factor ψ .

the erf function given in eq 13, with k_{on} as a fitting parameter. We measure the k_{on} value as equal to $1.6 \pm 0.2 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, that is, with a variation coefficient of 12.5%. This value is consistent with the measures of other analogous biological systems obtained by several authors using the Langmuir isotherm.^{2,47} This plot clearly shows that using eq 13, there is no longer variability on the k_{on} value. This work demonstrates that it is possible to take advantage of out-of-equilibrium measurements, leading to accurate results using much less sample volume, than standard equilibrium measurements.

Interestingly, dividing eq 13 by k_{on} generates a universal curve that is system independent

$$\frac{\tilde{k}_{\text{on}}}{k_{\text{on}}} = \text{erf}(1/\psi) \quad (14)$$

Figure 8 displays the experimental and numerical data normalized by the k_{on} value. In order to check the universality, additional numerical results are included in this figure for Q in $[1; 50, 000] \mu\text{L}/\text{min}$ and V_0 in $[0.2; 17, 000] \mu\text{L}$. Remarkably, most of the data collapse on a single curve, showing the universality of the approach.

Discussion on the Efficiency Enhancement. In the Langmuir isotherm method, a single measurement is required to reach equilibrium at the surface, corresponding to s_{m} complexes formed. The corresponding rate of complex formed

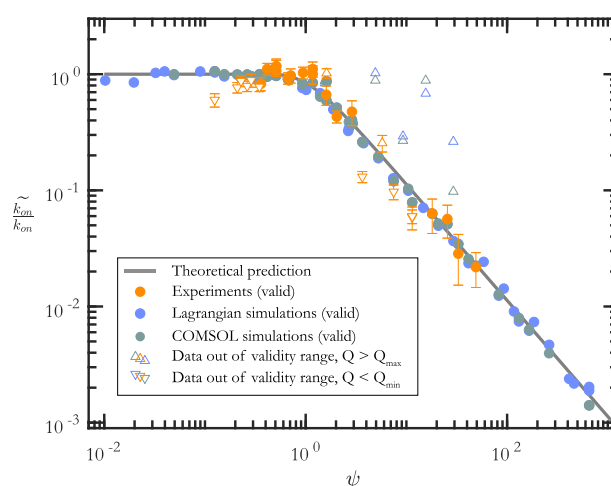


Figure 8. Variation of the rescaled \tilde{k}_{on} values versus the dilution factor ψ . (Orange points) experimental data rescaled by the k_{on} value extracted from Figure 7. (Blue/gray points) numerical data rescaled by the input k_{on} value, both from COMSOL simulations (gray) or from Lagrangian simulations (blue). (Solid line) theoretical prediction $\frac{\tilde{k}_{\text{on}}}{k_{\text{on}}} = \text{erf}(1/\psi)$. (Empty triangles) experimental or numerical data that are out of the model validity range either because $Q < Q_{\text{min}}$ (downward pointing triangles) or $Q > Q_{\text{max}}$ (upward pointing triangles) and therefore deviate from the theoretical prediction.

is $k_{\text{on}}c_0s_{\text{m}}$; the time needed to reach equilibrium is thus given by $\frac{1}{k_{\text{on}}c_0}$ and the required volume by $\frac{Q}{k_{\text{on}}c_0}$. Using the typical values of our experiment, $k_{\text{on}} = 1.6 \text{ mol}^{-1} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, $c_0 = 50 \text{ nm}$, and $Q = 100 \mu\text{L}/\text{min}$, this leads to an analysis time of 3.5 h and a sample volume of 20 mL.

Using our approach, we have shown that valid measures of k_{on} could be obtained using sample volumes ranging from 2 to 500 μL and flow rates from 25 to 500 $\mu\text{L}/\text{min}$. This leads to a typical time of analysis of about 1 min. The gain in terms of time is about 200 and in terms of volume about 40 in our experimental configuration.

Discussion on the Validity Range. Tube to Channel Geometry. Throughout the paper, we have neglected the dispersion effects in the microsystem. This assumption is valid as long as the Taylor–Aris dispersion is much larger in the capillary tubing compared to the one in the microsystem. To quantify this criterion, we write the Taylor–Aris dispersion coefficient in the capillary tubing

$$D_{\text{TA}} = \frac{Q^2}{48\pi^2DR^2} \quad (15)$$

and in the channel with a rectangular section

$$D_{\text{TA}}^* = \frac{Q^2}{210DW^2} \quad (16)$$

For the model to work, it is therefore necessary that Taylor–Aris dispersion takes place almost only in the capillary tubing, which corresponds to

$$\frac{D_{\text{TA}}}{D_{\text{TA}}^*} \simeq 0.44 \frac{W^2}{R^2} \gg 1 \quad (17)$$

which is equivalent to work with geometrical characteristics such that $W \gg R$. In our experiments $W = 8.9$ mm and $R = 300$ μm , validating the criterion.

Flow Rates. Finally, we discuss the range of validity of the method by examining the data falling outside of the model, represented by void triangles in Figures 7 and 8. Two hypotheses are important for the model to hold: (1) The plug sample diffuses following Taylor–Aris dispersion and (2) the target complexation is not limited by the target supply to the biochip surface.

The first hypothesis requires that the target has the time to diffuse along the cross section, that is, over at least a distance equal to the radius of the capillary tubing, before reaching the biochip surface.^{34,35} Otherwise, the concentration profile in the capillary tubing becomes much more complex displaying a concentration profile between Figure 4b,c. This regime lies beyond the scope of the paper. The Taylor–Aris hypothesis is valid as long as the time required for the target to diffuse over a distance R is equal to or smaller than the time required for the sample barycenter to travel up to the biochip surface

$$\frac{R^2}{2D} \leq \frac{(L_1 + L_0/2)\pi R^2}{Q} \quad (18)$$

This expression gives a maximum flow rate Q_{max} above which the method does not give reliable results anymore

$$Q_{\text{max}}^{\text{theo}} = 2\pi \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right) D$$

For flow rates above this value, the sample is expected to have no time to fully dilute via the Taylor–Aris mechanism, and the measured k_{on} is found higher than expected. Experimentally, we find that the critical flow rate is about 5 times the theoretical value

$$Q_{\text{max}} = 10\pi \left(L_1 + \frac{V_0}{2\pi R^2} \right) D \quad (19)$$

Discussing the prefactor value of 5 is out of the scope of this paper, but previous experiments and theories highlighted enhanced diffusion due to shear,^{53,54} favoring such an observation. The experiments or simulations performed at flow rates above Q_{max} are depicted as empty upward pointing triangles in Figures 7 and 8. These triangles are all out of the universal curve, thus validating this criterion.

The second assumption is that the association rate constant is limited by the surface complexation reaction and not by the transport of targets up to the capture surface.

To that end, the target consumption by the biochip surface J_r must be much lower than the target flux supplying the biochip surface J_t . Extensive details are given in the studies by Squires et al.⁵⁵ and Amatore et al.⁵⁶ The authors found

$$J_t = 1.5cW_s D \left(\frac{QL_s^2}{DH^2W} \right)^{1/3} \quad (20)$$

where L_s is the length of the biochip surface (along the direction of the flow) and W_s is its typical width; H is the microchannel height and W is its width (with $W \gg H$). The reaction flux writes $J_r = k_{\text{on}}s_m cW_s L_s$. Thus, the criterion to ensure probing the association kinetics writes

$$D_a = \frac{J_r}{J_t} = \frac{k_{\text{on}}s_m L_s^{1/3} H^{2/3} W^{1/3}}{1.5D^{2/3} Q^{1/3}} \ll 1 \quad (21)$$

which is the Damköhler number. Therefore, there is a minimum flow rate below which our model no longer works

$$Q_{\text{min}} = 3(k_{\text{on}}s_m)^3 \frac{L_s H^2 W}{D^2} \quad (22)$$

Q_{min} was computed by taking 10 times the Q solution of the equality of (21) to ensure the validity of the inequality. For $Q < Q_{\text{min}}$, the capture rate is limited by the target transport and not by the association, thus biasing the results. In our experimental conditions, the microfluidic system located above the biochip surface is of height $H = 1.75 \pm 0.05$ mm and width $W = 8.9 \pm 0.2$ mm, and the biochip surface length is $L_s = 1.5$ mm. Via SPRi, we measure $s_m = 2.6 \cdot 10^{-7}$ mol/m²; thus, $Q_{\text{min}} = 25$ $\mu\text{L}/\text{min}$. Experimental data points that lie below this critical flow rate are represented as empty downward pointing triangles in Figures 7 and 8. They are all out of the universal curve, validating this criterion.

In conclusion, the use of the method based on eqs 9 and 12 requires that the flow rate is between the values given by the eqs 19 and 22.

CONCLUSIONS

This work lies in the context of the development of new out-of-equilibrium analysis techniques with a low volume of available analyte. In this article, we have quantitatively demonstrated the effect of dilution of a sample by flow during its transport to the sensitive surface, both experimentally and numerically. Without a detailed analysis of these dilution effects, the classical techniques used to determine the kinetic constants give biased results. In this context, we show that understanding and modeling these dilution effects allow us to work out-of-equilibrium and to determine these kinetic constants accurately. We propose a model that is easily implemented using eqs 9 and 12. By using low volumes, this approach opens significant perspectives for bioanalytical applications and medical research. Indeed, many diseases, including cancer, involve slow-binding proteins, such as metalloproteins. Targeting key metalloproteins to modify their association rate is a way to slow down cancer activity.³⁸ Being able to measure their association kinetics and knowing the influence of each treatment on them could lead to a great improvement in the understanding of this type of pathology and to new treatments that are more targeted, more efficient, and with fewer side effects.

ASSOCIATED CONTENT

Supporting Information

The Supporting Information is available free of charge at <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.analchem.1c00543>.

Targets and ligand DNA sequences, details of the numerical procedures that are used to reinforce the experimental results and the model, and model used for the convection-diffusion of a sample plug (PDF)

AUTHOR INFORMATION

Corresponding Author

Marie-Caroline Jullien – Université Rennes 1, CNRS, IPR (Institut de Physique de Rennes) UMR 6251, F-35000

Rennes, France; orcid.org/0000-0002-5800-3111;
Phone: +33 2 23 23 78 52; Email: marie-caroline.jullien@univ-rennes1.fr

Authors

Donatien Mottin – Université Rennes 1, CNRS, IPR (Institut de Physique de Rennes) UMR 6251, F-35000 Rennes, France; ENS Rennes, SATIE, UMR-CNRS 8029, F-35170 Bruz, France

Florence Razan – ENS Rennes, SATIE, UMR-CNRS 8029, F-35170 Bruz, France

Claude Nagues – ENS Paris-Saclay, LBPA UMR-CNRS 8113, 91190 Gif-sur-Yvette, France; orcid.org/0000-0002-4189-080X

Complete contact information is available at:
<https://pubs.acs.org/10.1021/acs.analchem.1c00543>

Notes

The authors declare no competing financial interest.

ACKNOWLEDGMENTS

This work was supported by the CNRS, Université de Rennes 1, ENS de Rennes, Région Bretagne, Rennes Métropole and Agence Nationale de la Recherche (ANR) under the grant ANR-18-CE09-0029.

REFERENCES

- (1) Dinh, T. L.; Ngan, K. C.; Shoemaker, C. B.; Walt, D. R. *Anal. Chem.* **2016**, *88*, 11335–11339.
- (2) Kambhampati, D.; Nielsen, P. E.; Knoll, W. *Biosens. Bioelectron.* **2001**, *16*, 1109–1118.
- (3) Gupta, S.; Kilpatrick, P. K.; Melvin, E.; Velez, O. D. *Lab Chip* **2012**, *12*, 4279–4286.
- (4) Tarn, M. D.; Pamme, N. *Microchip Diagnostics*; Springer, 2017; pp 69–83.
- (5) Teste, B.; Malloggi, F.; Siaugue, J.-M.; Varenne, A.; Kanoufi, F.; Descroix, S. *Lab Chip* **2011**, *11*, 4207–4213.
- (6) Teste, B.; Vial, J.; Descroix, S.; Georgelin, T.; Siaugue, J.-M.; Petr, J.; Varenne, A.; Hennion, M.-C. *Talanta* **2010**, *81*, 1703–1710.
- (7) Teste, B.; Kanoufi, F.; Descroix, S.; Poncet, P.; Georgelin, T.; Siaugue, J.-M.; Petr, J.; Varenne, A.; Hennion, M.-C. *Anal. Bioanal. Chem.* **2011**, *400*, 3395–3407.
- (8) Chandra, P.; Noh, H.-B.; Shim, Y.-B. *Chem. Commun.* **2013**, *49*, 1900–1902.
- (9) Tran, V.; Walkenfort, B.; König, M.; Salehi, M.; Schlücker, S. *Angew. Chem. Int. Ed.* **2019**, *58*, 442–446.
- (10) Zeng, X.; Andrade, C. A. S.; Oliveira, M. D. L.; Sun, X.-L. *Anal. Bioanal. Chem.* **2012**, *402*, 3161–3176.
- (11) Song, Y.; Lin, B.; Tian, T.; Xu, X.; Wang, W.; Ruan, Q.; Guo, J.; Zhu, Z.; Yang, C. *Anal. Chem.* **2018**, *91*, 388–404.
- (12) Kim, D.; Kang, D. *Sensors* **2008**, *8*, 6605–6641.
- (13) Beavis, K. G.; Matushek, S. M.; Abeleda, A. P. F.; Bethel, C.; Hunt, C.; Gillen, S.; Moran, A.; Tesic, V. *J. Clin. Virol.* **2020**, *129*, 104468.
- (14) Verma, M. S.; Tsaloglou, M.-N.; Sisley, T.; Christodouleas, D.; Chen, A.; Milette, J.; Whitesides, G. M. *Biosens. Bioelectron.* **2018**, *99*, 77–84.
- (15) Lee, K. H.; Zeng, H. *Anal. Chem.* **2017**, *89*, 12743–12748.
- (16) Ali-Cherif, A.; Begolo, S.; Descroix, S.; Viovy, J.-L.; Malaquin, L. *Angew. Chem., Int. Ed.* **2012**, *124*, 10923–10927.
- (17) Bobrovnik, S. A. *J. Biochem. Biophys. Methods* **2003**, *57*, 213–236.
- (18) MacDonald, R. A.; Hosking, C. S.; Jones, C. L. *J. Immunol. Methods* **1988**, *106*, 191–194.
- (19) Stein, M.; Haselberg, R.; Mozafari-Torshizi, M.; Wätzig, H. *Electrophoresis* **2019**, *40*, 1041–1054.
- (20) Voeten, R. L. C.; Ventouri, I. K.; Haselberg, R.; Somsen, G. W. *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 1464–1481.
- (21) Krait, S.; Salgado, A.; Chankvetadze, B.; Gago, F.; Scriba, G. K. E. *J. Chromatogr. A* **2018**, *1567*, 198–210.
- (22) Girardot, M.; Li, H.-Y.; Descroix, S.; Varenne, A. *J. Chromatogr. A* **2011**, *1218*, 4052–4058.
- (23) Okhonin, V.; Berezovski, M.; Krylov, S. N. *J. Am. Chem. Soc.* **2004**, *126*, 7166–7167.
- (24) Chu, Y.-H.; Cheng, C. C. *Cell. Mol. Life Sci.* **1998**, *54*, 663–683.
- (25) Rich, R. L.; Myszka, D. G. *J. Mol. Recognit.* **2001**, *14*, 223–228.
- (26) Kobayashi, H.; Endo, T.; Ogawa, N.; Nagase, H.; Iwata, M.; Ueda, H. *J. Pharm. Biomed. Anal.* **2011**, *54*, 258–263.
- (27) Leonard, P.; Hearty, S.; Ma, H.; O’Kennedy, R. *Protein Expression and Purification*; Springer, 2017; pp 339–354.
- (28) O’Shannessy, D. J.; Brigham-Burke, M.; Peck, K. *Anal. Biochem.* **1992**, *205*, 132–136.
- (29) MacDonald, H.; Bonnet, H.; Van der Heyden, A.; Defrancq, E.; Spinelli, N.; Coche-Guérente, L.; Dejeu, J. J. *Phys. Chem. C* **2019**, *123*, 13561–13568.
- (30) Rickert, J.; Brecht, A.; Göpel, W. *Anal. Chem.* **1997**, *69*, 1441–1448.
- (31) Cheng, W.; Ding, S.; Li, Q.; Yu, T.; Yin, Y.; Ju, H.; Ren, G. *Biosens. Bioelectron.* **2012**, *36*, 12–17.
- (32) Gondran, C.; Dubois, M.-P.; Fort, S.; Cosnier, S.; Szunerits, S. *Analyst* **2008**, *133*, 206–212.
- (33) Hunt, H. K.; Armani, A. M. *Nanoscale* **2010**, *2*, 1544–1559.
- (34) Taylor, G. I. *Proc. R. Soc. London, Ser. A* **1953**, *219*, 186–203.
- (35) Aris, R. *Proc. R. Soc. London, Ser. A* **1956**, *235*, 67–77.
- (36) Abrantes, M.; Magone, M. T.; Boyd, L. F.; Schuck, P. *Anal. Chem.* **2001**, *73*, 2828–2835.
- (37) Guo, F.; Fu, Q.; Zhou, K.; Jin, C.; Wu, W.; Ji, X.; Yan, Q.; Yang, Q.; Wu, D.; Li, A.; et al. *J. Nanobiotechnol.* **2020**, *18*, 48.
- (38) Lee, C. Y.; Yang, S. F.; Wang, P. H.; Su, C. W.; Hsu, H. F.; Tsai, H. T.; Hsiao, Y. H. *Environ* **2019**, *34*, 60–66.
- (39) Liu, Y.; Wang, C. *Nat. Mach. Intell.* **2019**, *1*, 553–554.
- (40) Yang, Y.; Hu, X. Q.; Li, Q. S.; Zhang, X. X.; Ruan, B. F.; Xu, J.; Liao, C. *Curr. Top. Med. Chem.* **2016**, *16*, 384–396.
- (41) Oh, S.; Kang, D.; Ahn, S.-M.; Simpson, R. J.; Lee, B.-H.; Moon, M. H. *J. Sep. Sci.* **2007**, *30*, 1082–1087.
- (42) Rouffet, M.; Cohen, S. M. *Dalton Trans.* **2011**, *40*, 3445–3454.
- (43) Jönsson, U.; Fägerstam, L.; Ivarsson, B.; Johnsson, B.; Karlsson, R.; Lundh, K.; Löfås, S.; Persson, B.; Roos, H.; Rönnberg, I.; et al. *Biotechniques* **1991**, *11*, 620–627.
- (44) Karlsson, R.; Michaelsson, A.; Mattsson, L. *J. Immunol. Methods* **1991**, *145*, 229–240.
- (45) Maillart, E. *Imagerie par résonance des plasmons de surface pour l’analyse simultanée de multiples interactions biomoléculaires en temps réel*. Ph.D. Thesis, Université Paris Sud, 2004.
- (46) Yuan, B.-f.; Zhuang, X.-y.; Hao, Y.-h.; Tan, Z. *Chem. Commun.* **2008**, 6600–6602.
- (47) Liebermann, T.; Knoll, W.; Sluka, P.; Herrmann, R. *Colloids Surf., A* **2000**, *169*, 337–350.
- (48) Gotoh, M.; Hasegawa, Y.; Shinohara, Y.; Shimizu, M.; Tosu, M. *DNA Res.* **1995**, *2*, 285–293.
- (49) Kuzmichev, A.; Skolnik, J.; Zybin, A.; Hergenröder, R. *Anal. Chem.* **2018**, *90*, 10732–10737.
- (50) Peh, W. Y. X.; Reimhult, E.; Teh, H. F.; Thomsen, J. S.; Su, X. *Biophys. J.* **2007**, *92*, 4415–4423.
- (51) Young, M. E.; Carroad, P. A.; Bell, R. L. *Biotechnol. Bioeng.* **1980**, *22*, 947–955.
- (52) Smith, M. H. *Molecular Weights of Proteins and Some Other Materials Including Sedimentation, Diffusion, and Frictional Coefficients and Partial Specific Volumes*; CRC Press, 2018; p 74.
- (53) Mary, P.; Studer, V.; Tabeling, P. *Anal. Chem.* **2008**, *80*, 2680–2687.
- (54) Salmon, J.-B.; Ajdari, A. J. *Appl. Phys.* **2007**, *101*, 074902.
- (55) Squires, T. M.; Messinger, R. J.; Manalis, S. R. *Nat. Biotechnol.* **2008**, *26*, 417.

(56) Amatore, C.; Da Mota, N.; Sella, C.; Thouin, L. *Anal. Chem.* **2007**, *79*, 8502–8510.

Titre : **Influence de l'hydrodynamique sur les régimes de capture à une surface solide**

Mots-Clés : Microfluidique, Détection, Lift, Inertie, Diffusion, Microparticules, Taylor-Aris, SPRI, Capture, Déformation élastique, Convection

Résumé : La capture d'objets sur une surface solide dans un écoulement laminaire est impliquée dans de nombreuses applications, notamment en bioanalyse et en recherche biologique. Étudié depuis le début du 20^{ème} siècle, cette capture fait intervenir trois mécanismes : convection de l'objet par le liquide au-dessus de la surface captatrice, diffusion de l'objet vers cette surface et enfin cinétique de réaction à la surface. Jusqu'à présent, les modèles de capture présents dans la littérature sont conçus pour des molécules injectées en continu. Or, de nombreuses situations courantes en biotechnologie ne correspondent pas à ce cas de figure. Elles mettent en jeu, par exemple, des objets plus com-

plexes (nano/microparticules, objets déformables, ...) ou injectés sous forme de bouchons de faibles volumes. L'objectif de cette thèse est, grâce à des expériences, des simulations numériques, et des modèles théoriques, de proposer de nouvelles lois de captures adaptées à ces situations courantes de la bioanalyse moderne. On montrera notamment que trois phénomènes doivent respectivement être pris en compte dans ces nouvelles lois de capture pour comprendre la spécificité de chacune de ces situations : l'effet de lift inertiel (pour les particules), l'effet de lift élastique (pour les objets déformables) et la dispersion de Taylor-Aris (pour les échantillons de faibles volumes).

Title: **Influence of hydrodynamics on capture regimes at a solid surface**

Keywords: Microfluidics, Detection, Lift, Inertia, Diffusion, Microparticles, Taylor-Aris, SPRI, Capture, Elastic deformation, Convection

Abstract: The capture of objects on a solid surface in a laminar flow is involved in many applications, notably in bioanalysis and biological research. Studied since the beginning of the 20th century, this capture involves three mechanisms: convection of the object by the liquid above the capture surface, diffusion of the object towards this surface and finally reaction kinetics at the surface. Until now, the capture models present in the literature are designed for continuously injected molecules. However, many common situations in biotechnology do not correspond to this case. They involve, for example, more complex objects (nano/microparticles, deformable objects,

...) or objects injected as small plugs. The objective of this thesis is, thanks to experiments, numerical simulations, and theoretical models, to propose new capture laws adapted to these common situations of modern bioanalysis. It will be shown that three phenomena must respectively be taken into account in these new capture laws in order to understand the specificity of each of these situations: the inertial lift effect (for particles), the elastic lift effect (for deformable objects) and the Taylor-Aris dispersion (for small volume samples).