



HAL
open science

Développement d'un microsystème électrochimique pour l'étude de micro-objets circulants dans un canal microfluidique

Ines Amokrane

► **To cite this version:**

Ines Amokrane. Développement d'un microsystème électrochimique pour l'étude de micro-objets circulants dans un canal microfluidique. Dynamique des Fluides [physics.flu-dyn]. Sorbonne Université, 2022. Français. NNT : 2022SORUS049 . tel-03714132

HAL Id: tel-03714132

<https://theses.hal.science/tel-03714132v1>

Submitted on 5 Jul 2022

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.

Sorbonne Université

Ecole doctorale 388 – Chimie Physique et Chimie Analytique de Paris Centre
Laboratoire Interfaces et Systèmes Electrochimiques
Laboratoire de Réactivité de Surface

Développement d'un microsysteme électrochimique pour l'étude de micro-objets circulant dans un canal microfluidique

Par Ines AMOKRANE

Thèse de doctorat de Physique-Chimie

Dirigée par Kieu NGO

Soutenue le 18 mars 2022

Devant le jury composé de :

M. Olivier FRANÇAIS Professeur à l'ESIEE Paris	Rapporteur
M. Pierre JOSEPH Chargé de recherche au Laboratoire d'analyse de d'architecture des systèmes « LAAS »	Rapporteur
Mme. Claire SMADJA Professeur à l'Université Paris-Sud	Examinatrice
Mme. Manon GUILLE-COLLIGNON Maître de conférences à Sorbonne Université	Examinatrice
M. Vincent VIVIER Directeur de recherche au CNRS	Examineur
M. Kieu NGO Maître de conférences à Sorbonne Université	Directeur de thèse

Table des matières

I.	Introduction.....	1
II.	Synthèse bibliographique.....	5
II.1	La microfluidique	5
II.1.1	Physique des écoulements dans un système microfluidique.....	5
II.1.2	Phénomènes de perte de pression dans les canaux microfluidiques	7
II.1.3	Les phénomènes de transport de matière en microfluidique	10
II.1.4	Avantages et inconvénients des systèmes miniaturisés	11
II.2	Les écoulements diphasiques.....	12
II.2.1	L'écoulement à gouttelettes dans un système microfluidique	14
II.3	Techniques de caractérisation et de détection de micro-objets	27
II.3.1	Méthodes optiques	27
II.3.2	Méthodes non optiques	31
III.	Techniques de microfabrication.....	44
III.1	Salle blanche.....	44
III.2	Les techniques de microfabrication	45
III.2.1	Photolithographie.....	45
III.2.2	Fabrication de moules.....	46
III.2.3	La lithographie molle.....	50
III.2.4	Le lift-off.....	52
III.2.5	Le collage PDMS – verre.....	54
III.3	Génération de gouttelettes	59
III.3.1	Les fluides utilisés	59
III.3.2	Le dispositif expérimental	60
IV.	Techniques de mesure	65
IV.1	Spectroscopie d'Impédance Electrochimique	65
IV.1.1	Principe de la mesure.....	66

IV.1.2	Montage expérimental	67
IV.1.3	Conditions expérimentales de mesure	68
IV.1.4	Représentation graphique de l'impédance électrochimique	69
IV.2	Bruit électrochimique	73
IV.2.1	Principe	73
IV.2.2	Montage expérimental	78
IV.2.3	Acquisition du signal	79
IV.2.4	Choix de la fréquence d'échantillonnage	81
V.	La simulation numérique	84
V.1	Comsol Multiphysics	85
V.1.1	Géométrie et matériaux utilisés	85
V.1.2	Matériaux et conditions aux limites	87
V.1.3	Maillage	88
V.1.4	Etude et méthode de résolution	88
V.2	Résultats de simulation	89
V.2.1	Equation théorique	89
V.2.2	Les paramètres d'influence	90
VI.	Caractérisation de gouttelettes et de bulles générées dans un canal microfluidique	109
VI.1	Détermination de la taille des microparticules par traitement des vidéos et d'images	109
VI.2	Mesures de bruit électrochimique.....	110
VI.2.1	Vitesse d'écoulement de l'électrolyte.....	111
VI.2.2	La conductivité des fluides utilisés.....	112
VI.2.3	Influence de la pression des deux phases	114
VI.2.4	La taille des électrodes et la distance inter-électrodes.....	117
VI.3	Comparaison entre simulation et expériences	119
VI.4	Gouttelettes à la demande.....	120

VI.5	Technique de séparation	122
VII.	Conclusions et perspectives	130

Remerciements

Les travaux de la présente thèse n'auraient pas pu aboutir sans l'accompagnement et le soutien de certaines personnes que je souhaite remercier ici.

Mes remerciements s'adressent d'abord aux membres du jury qui m'ont fait l'honneur d'évaluer mon travail. Je citerais Messieurs Olivier Français et Pierre Joseph, lesquels en leur qualité de rapporteurs ont lu et évalué mon manuscrit et apporté des remarques pertinentes consignées dans leurs rapports, ce qui m'a permis d'améliorer ma présentation et d'éclaircir certains points de mon manuscrit. Leurs questions judicieuses m'ont permis d'apporter les explications nécessaires là où le manuscrit n'était pas suffisamment intelligible. Madame Claire Smadja, Madame Manon Guille-Collignon et Monsieur Vincent Vivier, quant à eux, je les remercie pour leurs judicieuses interventions en qualité d'examineurs, leurs remarques ont permis de mieux comprendre certains aspects de mon travail et ont ouvert la voie sur de nouvelles perspectives pour la poursuite des travaux de recherche sur le sujet en question.

Je tiens également à exprimer ma profonde reconnaissance à mon directeur de thèse, Monsieur Kieu Ngo, qui, grâce à son soutien indéfectible, ses mots toujours encourageants et son assistance scientifique, a rendu possible le bon état d'avancement de mon travail, dans la confiance et la sérénité.

J'exprime également ma profonde gratitude à Monsieur Hubert Perrot et Madame Hélène Pernot, respectivement, directeur du laboratoire interfaces et systèmes électrochimiques (LISE) et directrice du laboratoire de réactivité de surface (LRS), pour m'avoir accueillie si chaleureusement dans leurs laboratoires et d'avoir été autant soucieux du bien-être des étudiants. Je n'oublierai jamais vos encouragements et vos mots si réconfortants.

Mes remerciements s'adressent aussi aux chercheurs que j'ai eu la chance et l'honneur de côtoyer lors de mes trois années de thèse. Je pense bien évidemment, à Mireille Turmine, source intarissable en matière de thermodynamique, merci d'avoir toujours été là pour répondre à mes questionnements, même les plus aberrants. Merci pour tes encouragements (allez ma grande) et d'avoir toujours été à l'écoute quand j'en avais le plus besoin. Je remercie évidemment, Vincent Vivier, dont le soutien, tant moral que scientifique fut, pour moi, un vrai moteur lors de ces trois années. De simples mots ne peuvent traduire ma gratitude et le respect que j'éprouve à ton égard.

J'adresse également un grand merci à Daniel Rose, Axel Desnoyers, Damien Bricault, Stéphanie Delbrel et Cyrille Bazin, sans votre participation rien de tout cela n'aurait été possible. Merci encore pour votre travail admirable.

Je remercie également tous les permanent du LISE et du LRS : François Huet, Carlos, Ivan, Laure, Junsoo, Isabelle, Martine, Jérôme, Annie, Aurélien, Jean-Marc, Françoise, Leticia, Céline, Vincent, Laurent, Juliette, Omar ... merci pour tout, les échanges, les conseils, les bonjours, les bonsoirs, les sourires qui ont rendu ces trois années si riches et précieuses à mes yeux et parfois moins pénibles. Je remercie également Loïc Becerra et Erwan Dandeu de l'INSP, de m'avoir tant appris lors de mes manipulations en salle blanche et d'avoir toujours répondu présents pour m'apporter leur aide et assistance.

Je tiens à dire un grand merci aux doctorants et stagiaires que j'ai eu la joie et la chance de rencontrer : Nesrine, David, Selma, Rita, Guillaume, Youssef, Sophia, Alice, Aya, Gaby, Camille, Jad, Abdessadek, Sophie, Rafik, Abdelilah, Walid, Sidali, Pauline, Katia, Yuelin, Samantha, Antonin, Antoine Je ne saurais par où commencer pour remercier, merci pour les échanges scientifiques et les encouragements, merci de m'avoir fait rire aux éclats quand mon moral était au plus bas, merci d'avoir fait en sorte que ces trois ans soient pour moi, une expérience inoubliable et singulière qui restera à jamais gravée dans ma mémoire.

Bien évidemment je tiens à remercier deux collègues en particulier, qui au fil du temps sont devenus des amis inestimables, Z@k et Oumaïma. Je ne sais par où commencer ! Un simple merci me semble si insuffisant pour vous exprimer ma gratitude. Pendant trois années vous m'avez épaulé, encouragé, écouté me plaindre, rassuré mais aussi secoué quand cela était nécessaire. Ce lien indéfectible qui nous unit m'a permis de tenir le coup, de toujours me remettre en question et de m'améliorer. Alors ... merci. Merci pour les fous rires à en pleurer, pour les débats animés et merci d'avoir toujours mis de la lumière dans ma vie même dans les jours les plus sombres.

Je tiens également à remercier mes amis : Célia, Mimi, Neila, Kiki, Raouf, Hacène, Hamza, Mourad, Kader, Chakib, Tarek... d'avoir toujours été là quoi qu'il arrive et d'avoir trouvé les mots justes pour me changer les idées et me remonter le moral.

Evidemment, je tiens à remercier les personnes sans qui je ne serais pas là où je suis aujourd'hui, mes parents et mes sœurs. Les mots me manquent pour vous remercier tant vous m'avez épaulée, soutenue, étant la benjamine ; parfois même supportée tout au long de ma vie. Je vous remercie d'avoir toujours été une oreille attentive, une épaule pour pleurer et des bras

réconfortants quand tout allait de travers. Peu importe les difficultés à venir, je sais que j'y arriverai car en plus d'être mes anges gardiens, vous m'avez armée pour faire face à tout type de difficultés. Je remercie aussi mes beaux-frères pour leur soutien et mes neveux et nièces pour leur innocence qui m'a toujours réchauffée le cœur et apportée le calme et la sérénité dont j'avais besoin pour ma concentration.

Enfin, je tiens à remercier mon mari Farouk, de m'avoir supporté pendant ses trois années, de m'avoir toujours écouté et conseillé. Merci d'avoir été le phare qui m'indiquait la direction du port quand je risquais de m'égarer. Ta confiance en moi m'a permis d'aller toujours plus loin et tes conseils ont, pour moi, été précieux.

Liste des figures et tableaux

- Figure II-1 : Récapitulatif des expressions d'Hagen-Poiseuille pour un écoulement dans deux canaux avec deux résistances différentes R_1 et R_2 . A. En série. B. En parallèle 8
- Figure II-2 : A. Représentation d'un écoulement piston dans un canal microfluidique pour mettre en évidence le concept de capacité hydraulique $Chud$. B. Circuit électrique équivalent pour l'écoulement piston 9
- Figure II-3 : A. Représentation d'un mélangeur à chevron et ses conséquences sur la formation de vortex pour le mélange des fluides dans un système microfluidique . B. Schéma d'un mélangeur avec un tube en X pour le mélange de trois fluides . C. Mélangeur acoustique à l'aide de transducteurs intégrés 10
- Figure II-4 : Séparation par diffusion des particules en fonction du rayon dans un système microfluidique..... 11
- Figure II-5 : Ecoulement diphasique (eau et kérosène) dans un microcanal : A. Ecoulement stratifié. B. Ecoulement annulaire 13
- Figure II-6 : A. Formation de bouchons avec un jonction en T . B-E. Variation de la taille des gouttelettes formées dans un écoulement focalisé par variation du rapport des débits des deux phases 14
- Figure II-7 : Différentes manipulations possibles de gouttelettes. A. Le mélange ou la fusion. B. La scission. C. Le relargage. D. L'encapsulation ou l'incubation. E. La détection. F. La séparation 15
- Figure II-8 : A. Génération de gouttelettes dans une jonction en T pour une phase continue mouillante où la plus petite taille de gouttelette obtenue est de la même taille que le canal. B. Génération de gouttelettes dans une jonction en T pour une phase dispersée partiellement mouillante où la taille des gouttelettes obtenue est inférieure à la taille du canal 17
- Figure II-9 : Schéma représentatif de la génération de gouttelettes avec une jonction en croix 17
- Figure II-10 : Représentation d'une jonction en T pour la génération de gouttelettes d'eau dans de l'huile dans des canaux microfluidiques 18
- Figure II-11 : Génération de gouttelettes avec un co-écoulement 18
- Figure II-12 : Génération de gouttelettes d'eau dans de l'huile pour un écoulement focalisé 19
- Figure II-13 : Représentation des trois modes de génération de gouttelettes. A. Pour une jonction en T . B. pour une jonction en croix . C. Pour un écoulement focalisé 20

Figure II-14 : Génération de gouttelettes d'huile dans de l'eau dans un canal microfluidique. A. Avec un rapport de débit constant entre les phases et une augmentation du débit total. B. En augmentant le débit de la phase continue. C. En augmentant le débit de la phase dispersée	21
Figure II-15 : Effet du pourcentage de tensioactif (tween20) sur la taille de gouttelettes d'eau dans de l'huile générées pour un écoulement focalisé. (a) 1%. (b) 0.2%. (c) 0.01%. (d) 0.005%. (e) 0.001%. (f) 0%	23
Figure II-16 : Système microfluidique de mélange chaotique de gouttelettes	25
Figure II-17 : Dispositif microfluidique pour la cristallisation de protéines.....	26
Figure II-18 : Encapsulation de cellule pour la détection de cellules cancéreuses	26
Figure II-19 : Détection de la production de bêta-galactosidase par des cellules encapsulées dans des gouttelettes. L'intensité de la fluorescence traduit le degré de production bêta-galactosidase dans des gouttelettes d'eau générées dans de l'huile.....	28
Figure II-20 : Principe de fonctionnement de la diffraction laser	29
Figure II-21 : Fonctionnement du comptage optique.....	29
Figure II-22 : Dispositif de spectroscopie Raman exalté (SERS) pour l'analyse de cellule unique et la détection d'anticorps	30
Figure II-23 : Dispositif pour la caractérisation de particules par émissions acoustiques.....	32
Figure II-24 : Dispositif de caractérisation de gouttelettes par spectroscopie de masse couplé à un dispositif d'électro spray	33
Figure II-25 : Schéma d'un compteur Coulter pour la caractérisation de particules passant à travers l'ouverture.....	35
Figure II-26 : Dispositif de cytométrie d'impédance microfluidique pour l'analyse de cellules uniques	36
Figure II-27 : A. Schéma de la structure de la micropuce pour le passage et le piégeage des cellules par cytométrie d'impédance et mesure d'impédance électrochimique. Les électrodes pour la cytométrie d'impédance sont sous le canal principal et les électrodes pour la mesure d'impédance électrochimique sont sous le site de piégeage. B. Vu latérale du modèle électrique de cellule unique en suspension dans une solution.....	37
Figure II-28 : a) Schéma et b) image au microscope optique du capteur de gouttelettes avec microélectrodes d'or interdigitées. C. Signal idéal obtenu à partir du capteur pour les gouttelettes dans différentes positions.....	38

Figure II-29 : A. Schéma du dispositif miniaturisé et les différentes positions et les temps correspondants. B. Signal obtenu en ampérométrie avec les temps correspondant à chaque position	39
Figure III-1 : Etape de fabrication du masque soda-lime/chrome. (A) Dépôt de chrome et de résine positive sur le substrat en verre soda-lime. (B) Insolation UV de la résine positive. (C) Développement de la résine suite à son exposition aux rayons UV. (D) Gravure chimique pour retirer le chrome non protégé par de la résine (E) Retrait de la résine restante	46
Figure III-2 : Etape de photolithographie pour la fabrication du moule Si/SU8. (A) Dépôt de la résine photosensible négative sur le wafer en silicium. (B) Insolation par rayons UV à travers le masque soda-lime/chrome et réticulation de la résine. (C) développement de la résine non réticulée et obtention du moule	47
Figure III-3 : Observation au microscope électronique à balayage pour la vérification de la taille des canaux en PDMS	49
Figure III-4 : Etapes de l'impression 3D du moule. (A) Conception du moule sur Openscad. (B) Impression sur l'imprimante Form3 de Formlabs. (C) Nettoyage et recuit du moule (D) Exemple de moule en résine comportant les motifs des canaux.	50
Figure III-5 : Etape de lithographie molle. (A) Couler le PDMS liquide sur le moule. (B) mettre à l'étuve pendant 3h à 80°C. (C) démouler le PDMS réticulé contenant le motif des canaux	51
Figure III-6 : Réticulation du PDMS.....	51
Figure III-7 : Etapes du procédé lift-off. (A) Ecriture laser UV directe sur la résine positive déposée, puis développement de la résine. (B) Dépôt d'une couche de chrome par PVD. (C) Dépôt d'une couche d'or par PVD. (D) Retrait de la résine dans un bain d'acétone	53
Figure III-8 : A. Configuration des microélectrodes de caractérisation et de mesures et B. Configuration des électrodes de séparation par diélectrophorèse.....	54
Figure III-9: Collage des canaux en PDMS avec les microélectrodes sur substrat de verre. (A) Activation des deux surfaces par plasma O ₂ . (B) Les deux composés sont mis face à face pour procéder au collage. (C) Mise en contact des deux surfaces et dégagement des molécules d'eau. (D) Etape de consolidation du collage dans le four à 80°C	55
Figure III-10 : Dispositif d'alignement pour les puces microfluidiques.....	57

Figure III-11 : Dispositif de génération de gouttelettes dans une puce microfluidique à l'aide d'un contrôleur de pression (MZFCTM-EZ Fluigent) et d'une caméra pour les observations optiques.....	60
Figure IV-1 : Système électrochimique à trois électrodes	65
Figure IV-2 : Principe de mesure de la SIE à un point de fonctionnement déterminé sur la courbe courant-tension.....	67
Figure IV-3 : Système électrochimique à deux électrodes (ET1 et ET2)	68
Figure IV-4 : Représentation graphique de l'impédance électrochimique correspondant à l'impédance mesurée pour une réaction Red/Ox électrochimique. A. Diagramme de Nyquist avec la zone 1 représentant le domaine des hautes fréquences, la zone 2 celui des moyennes fréquences et la zone 3 le domaine des basses fréquences. B. Diagramme de Bode : 1. Variation de la phase en fonction de la fréquence. 2. Variation du module de l'impédance en fonction de la fréquence	70
Figure IV-5 : Circuit électrique équivalent de Randles permettant de modéliser les diagrammes d'impédance avec R_e la résistance de l'électrolyte, R_{ct} la résistance de transfert de charge, C_{dl} la capacité de double couche électrochimique et W_a l'impédance de Warburg pour décrire la diffusion semi-infinie	72
Figure IV-6 : Circuit électrique équivalent décrivant les phénomènes se produisant dans la puce microfluidique.....	72
Figure IV-7 : Dispositif expérimental de mesure de fluctuations de la résistance d'électrolyte en mode potentiostatique	75
Figure IV-8 : Exemple de courbe de calibration représentant la variation du potentiel en fonction de l'inverse de la résistance	76
Figure IV-9 : Diagramme de Nyquist représentant la variation de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle de l'impédance pour la phase continue (EMIMTFSI) en circulation dans un canal microfluidique de 100 μm pour des électrodes de 50 μm de large et 100 μm de long et une distance inter électrodes de 50 μm . B. Zoom sur la partie hautes fréquences du spectre d'impédance	77
Figure IV-10: Diagramme de Nyquist pour démontrer la relation entre l'impédance à 100 kHz et la valeur de la résistance d'électrolyte	78
Figure IV-11 : Circuit électrique test pour mesurer les fluctuations de résistance d'électrolyte. Avec $R_1 = 1 \text{ k}\Omega$, $R_2 = 100 \Omega$, $R_t = 700 \text{ k}\Omega$ et $C_{dl} = 1,2 \text{ nF}$	79

Figure IV-12 : A. Acquisition temporelle des variations du signal mesuré Δv_{Re} pour le circuit test avec l'ouverture et la fermeture de l'interrupteur périodiquement. B. Variation de la résistance R_e dont l'amplitude du pic correspond à la R_2 du circuit.....	80
Figure IV-13 : Densité spectrale de puissance du circuit test avec une fréquence de coupure de 200 Hz.....	80
Figure V-1 : Modèle 3D utilisé pour les mesures de résistances dans un canal microfluidique de 100 μm de hauteur et de profondeur, une sphère représentant la phase dispersée et les microélectrodes de mesure.	85
Figure V-2 : Géométrie mise en place pour décrire les bouchons de (A) PBS généré dans l'EMIMTFSI et (B) Azote dans l'EMIMTFSI, (C) forme de bouchon PBS et (D) forme de bouchon d'azote formés dans le liquide ionique « EMIMTFSI »	86
Figure V-3 : Conductivité électrique et permittivité relative des deux phases utilisées à partir des valeurs de la littérature et des mesures de conductivités à l'aide d'un conductimètre.....	87
Figure V-4 : Influence de la position d'une gouttelette suivant l'axe y sur la variation de la résistance d'électrolyte.....	91
Figure V-5 : Influence de la position d'une gouttelette suivant l'axe z sur la variation de la résistance d'électrolyte.....	92
Figure V-6 : Variation de la résistance d'électrolyte pour une sphère de 60 μm de diamètre en fonction de la position en z en comparaison avec une sphère de 70 μm , positionnée au centre du canal.....	93
Figure V-7 : Les différents régimes d'écoulement : A. Gouttelettes de taille égale ou inférieure à la taille du canal. B. Bouchons de taille inférieure à la zone de détection des électrodes. C. Bouchons de longueur très supérieure à la largeur de détection. .	94
Figure V-8 : Variations de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille des microparticules de 70 μm de diamètre à des bouchons de 1000 μm de largeur.	95
Figure V-9 : Variation maximale de la résistance d'électrolyte, $\Delta R_e, max$, en fonction de la taille des gouttelettes et de la longueur des bouchons	96
Figure V-10 : Largeur à mi-hauteur du pic de variation de résistance en fonction de la largeur des bouchons	97
Figure V-11 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la position d'une sphère de 80 μm de diamètre dans un canal microfluidique pour différentes distance inter-électrodes (25 μm et 50 μm)	98

Figure V-12 : Diagramme de Nyquist pour les deux distances inter-électrode (DIE) (25 μm et 50 μm) et zoom sur la partie hautes fréquences.....	100
Figure V-13: Variation de la résistance d'électrolyte en fonction du rapport entre taille d'électrodes et taille des bouchons (90, 130, 200 et 300 μm)	101
Figure V-14 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille d'électrode pour trois tailles de bouchon (90, 130 et 300 μm)	102
Figure V-15 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction du rapport DIE/Le pour plusieurs tailles d'électrodes (25, 50, 75 et 100 μm)	103
Figure V-16 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille des gouttelettes et des bouchons d'azote dans le liquide ionique EMIMTFSI.....	104
Figure VI-1 : Étalonnage sur « ImageJ » à l'aide d'une largeur connue de l'électrode pour déterminer la taille des gouttelettes.....	109
Figure VI-2 : Mesure de la longueur des 10 bouchons obtenus pour une pression de 200 mbar pour l'EMIM et 112 mbar pour le PBS et la moyenne calculée.	110
Figure VI-3 : Variation du module et de l'argument de l'impédance à 100 kHz en fonction de la pression de la phase continue.....	112
Figure VI-4 : Variations de la résistance d'électrolyte lors du passage de bulles d'azote de 900 μm de longueur dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm . Electrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	113
Figure VI-5 : Variations de la résistance d'électrolyte lors de passage d'une gouttelette d'un diamètre de 85 μm de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm . Electrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	113
Figure VI-6 : Variation de la résistance d'électrolyte pour un bouchon de PBS de 150 μm de longueur (A) et pour une gouttelette de 90 μm de diamètre (B) dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	115
Figure VI-7 : Variations de la résistance d'électrolyte en fonction de la largeur du bouchon d'azote dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm . avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	116
Figure VI-8 : Variation de la résistance d'électrolyte pour deux régimes de génération de bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI en fonction de la pression des deux phases dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	117

Figure VI-9 : Variation de la résistance d'électrolyte pour deux distances inter-électrodes pour un bouchon de 300 μm de largeur de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm	118
Figure VI-10 : Variation de la résistance d'électrolyte normalisée pour deux distances inter-électrodes pour un bouchon de 300 μm de largeur de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm	118
Figure VI-11 : Comparaison entre les valeurs théoriques et expérimentales de variation de la résistance d'électrolyte pour trois tailles de gouttelettes et bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm des électrodes de 50 μm et une DIE de 50 μm , le trait représentant les résultats expérimentaux et les points les résultats simulés	120
Figure VI-12 : Exemple de script pour la génération à la demande de gouttelettes de tailles différentes à l'aide du logiciel Automation de Fluent.....	121
Figure VI-13 : Variations de la résistance d'électrolyte pour deux bouchons d'azote générés dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm	122
Figure VI-14 : Schéma explicatif du dispositif de séparation par diélectrophorèse	123
Figure VI-15 : Dispositif de commande pour la séparation par diélectrophorèse en fonction d'un seuil de 0,24 V pour deux largeurs de bouchons d'azote dans l'EMIMTFSI (100 et 200 μm)	124
Figure VI-16 : Phénomène de coalescence de gouttelettes de PBS devant les électrodes de séparation	125
Figure VI-17 : Dégagement gazeux au niveau des électrodes de séparation par diélectrophorèse	126
Figure VI-18 : Détérioration des électrodes de séparation.....	126
Tableau I-1 : Expressions de la résistance R_h , la capacité C_h et la conductance hydraulique L_h obtenues à partir de l'analogie avec les systèmes électriques	9
Tableau II-1 : Paramètres imposés pour procéder à la photolithographie.....	48
Tableau II-2 : Composition du PBS utilisé	60
Tableau III-1 : Expression des impédances associées aux composants électriques couramment utilisés	71
Tableau V-1 : Tableau récapitulatif des conductivités électriques des phases utilisées	112

Tableau V-2 : Valeurs de résistances obtenues expérimentalement et à l'aide des simulations numériques pour différentes configuration d'électrodes	119
--	-----

Table des symboles et abréviations

CE : Contre électrode

CPE : Constant Phase Element

DEP : Diélectrophorèse

DIE : Distance Inter-Electrode

DSP : Densité Spectrale de Puissance

DWL : Direct Writing Laser

EMIMTFSI : 1-Ethyl-3-methylimidazolium bis(trifluoromethylsulfonyl)imide

FACS : Fluorescence-Activated Cell Sorting

MEMS : microelectro-mechanical systems

PBS : Phosphate Buffered Saline

PDMS : Polydiméthylsiloxane

REF : Electrode de référence

SIE : Spectroscopie d'Impédance Electrochimique

WE : Electrode de travail

a : Section de canal cylindrique (m)

Ca : Nombre capillaire

C : Capacité (F)

C_{dl} : Capacité de double couche (F)

C_h : Capacité hydraulique (F)

D_h : Diamètre hydraulique (m)

D : Coefficient de diffusion massique (m^2/s)

E : Potentiel faradique (V)

η : Viscosité dynamique (Pa.s)

ϵ_m^* : Permittivité complexe du milieu (F/m)

ϵ_p^* : Permittivité complexe de la particule (F/m)

f_{100} : Fréquence à 100 kHz

f_e : Fréquence d'échantillonnage (Hz)

f_{CM} : Facteur de Clausius-Mossotti

g : Accélération de la gravité (m/s²)

G : Gain amplificateur

γ : Tension superficielle (N/m)

Γ : Volume par unité de temps (m³/s)

I_{100} : Amplitude de courant alternatif à 100 kHz (A)

ΔI : Fluctuation du courant (A)

I_0 : Courant moyen (A)

L : Inductance (H)

L_h : Inductance hydraulique ((Pa .s²)/m³)

L_c : Longueur caractéristique (m)

λ : Périmètre mouillé de la section du canal (m)

ν : Viscosité cinématique (m²/s)

R : Résistance (Ω)

R_e : Résistance d'électrolyte (Ω)

R_t : Résistance de transfert de charge (Ω)

Pe : Nombre de Péclet

P : Pression (Pa)

P_c : Pression de la phase continue (Pa)

P_d : Pression de la phase dispersée (Pa)

φ : Rapport du débit de la phase continue et de la phase dispersée

Q : Débit (m³/s)

Q_c : Débit de la phase continue (m³/s)

Q_d : Débit de la phase dispersée (m³/s)

ρ : Masse volumique (kg/m³)

Re : Nombre de Reynolds

R_h : Résistance hydraulique (Pa.s.m⁻³)

ΔR_e : Fluctuation de la résistance d'électrolyte (Ω)

Sc : Nombre de Schmidt

S : Surface d'électrodes (m)

σ : Coefficient de Warburg ($\Omega \cdot s^{-1/2}$)

σ_m : Conductivité du milieu (S/m)

σ_p : Conductivité de la particule (S/m)

σ : Conductivité de l'électrolyte (S/m)

U : Vitesse moyenne du fluide (m/s)

v : Vitesse du fluide (m/s)

V : d.d.p entre électrode de travail et électrode de référence (V)

ΔV : Fluctuation du potentiel (V)

V_{100} : Composante sinusoïdale de la tension à 100 kHz (V)

We : Nombre de Weber

Z : Impédance

$|Z|_{100}$: Module de l'impédance à 100 kHz (Ω)

Z_j : Partie imaginaire de l'impédance (Ω)

Z_r : Partie réelle de l'impédance (Ω)

Introduction

I. Introduction

L'isolement et l'analyse d'une cellule unique sont des opérations intéressantes et courantes dans de nombreux domaines tels que la biologie cellulaire et la médecine. A ce jour, la majorité des méthodes sont basées sur des techniques optiques. La technique de tri cellulaire la plus connue et largement utilisée est le Fluorescence-Activated Cell Sorting (FACS). Les principaux avantages de ces techniques sont leur court temps de réponse et leur grande sensibilité. Cependant, ces systèmes sont limités par des conditions spécifiques et ne sont pas adaptés aux milieux sombres ou aux conceptions complexes qui empêchent la transmission et la mesure des faisceaux lumineux incidents et réfléchis. Par exemple, la distance focale du système nécessite un ajustement avant la mesure afin d'assurer la visibilité et pouvoir mesurer le volume des gouttelettes. En outre, des marqueurs de fluorescence doivent être utilisés dans certains cas. Le recours actuel se dirige vers des méthodes non-optiques, par exemple vers des méthodes électrochimiques basées sur l'intégration d'électrodes de mesure. Parmi les techniques disponibles, la technique la plus prometteuse actuellement est basée sur l'utilisation de systèmes microfluidiques à gouttelette. En effet, contrairement aux systèmes microfluidiques classiques qui concernent l'étude d'un fluide continu, la microfluidique à gouttelette consiste à introduire deux fluides non miscibles, permettant la génération de gouttelettes d'un volume allant de 1 fL à 1 nL à une fréquence allant jusqu'à 1 MHz. Chaque gouttelette générée peut être utilisée comme un microréacteur individuel permettant l'encapsulation de cellules uniques pour l'analyse. Il convient de mentionner que les techniques d'analyse de cellules uniques sont généralement calculées en moyenne sur une population de cellules. Il est donc nécessaire d'isoler une cellule unique et les gouttelettes utilisées comme microréacteur individuel pour l'encapsulation des cellules semblent être bien adaptées. D'autres part, l'intégration des microélectrodes permet d'appliquer des méthodes électrochimiques spécifiques telles que le bruit électrochimique ou l'impédance électrochimique afin de caractériser ces gouttelettes par exemple leur taille, leur forme ou encore leur contenu. L'objectif de ce travail de thèse est de développer un microsystème microfluidique capable de générer des gouttelettes ou des bouchons et de les caractériser à l'aide de techniques électrochimiques. Ce microsystème est également constitué d'un module de tri basé sur la diélectrophorèse afin de séparer des gouttelettes selon leur taille.

Le manuscrit est divisé en cinq chapitres. Le premier chapitre décrit de manière brève des généralités sur la microfluidique, les écoulements diphasiques en particulier l'écoulement à

gouttelettes. Les forces régissant l'écoulement à gouttelette ainsi que les paramètres mis en jeu seront décrits en détail. Y seront également décrits les différents domaines d'applications de la microfluidique à goutte avec quelques exemples illustrant l'importance et l'utilité de cette technique mais aussi les inconvénients qu'implique une réduction de l'échelle à une taille micrométrique. Enfin, une liste non exhaustive de techniques optique et non optiques de caractérisation et de détection des particules est donnée dans ce chapitre.

Dans le second chapitre, les techniques de microfabrication mises en œuvre pour la fabrication des microsystèmes microfluidiques ainsi que les paramètres utilisés seront décrits. Certaines problématiques rencontrées lors de la microfabrication sont également mises en évidence avec des solutions proposées et développées dans le cadre de cette thèse. Y seront également reportés dans ce chapitre les matériaux et les fluides utilisés ainsi que leurs caractéristiques. Une description détaillée du dispositif expérimental utilisé pour procéder aux expériences sera donnée à la fin du chapitre.

Les techniques de mesures électrochimiques utilisées dans ce travail, principalement la spectroscopie d'impédance et la technique du bruit électrochimique, seront décrites au troisième chapitre. Les bases théoriques régissant chacune de ces deux méthodes seront présentées et les paramètres utilisés lors des expériences seront détaillés ainsi que les problématiques rencontrées suite à la réduction de l'échelle de mesure.

Dans le chapitre quatre, le modèle utilisé pour la simulation numérique basé sur la méthode des éléments finis sera détaillé en mettant en évidence l'influence de plusieurs paramètres tels que la géométrie, les matériaux utilisés, la physique et le type d'étude. A l'aide de ce modèle, plusieurs paramètres ayant une influence sur la réponse théorique de la variation de l'impédance sont mis en évidence et discutés.

Enfin, le cinquième et dernier chapitre regroupe les résultats expérimentaux obtenus à partir des mesures d'impédance et de bruit électrochimique. Une comparaison entre les résultats expérimentaux et théoriques sera présentée et discutée. Le développement d'un dispositif pour la séparation des particules en fonction de leur taille par diélectrophorèse sera décrit en détail ainsi que les problématiques rencontrées lors de sa mise en œuvre.

Chapitre 1

Synthèse bibliographique

II. Synthèse bibliographique

II.1 La microfluidique

La microfluidique est la science étudiant l'écoulement de petites quantités de fluide dans des canaux dont l'une au moins des dimensions est micrométrique [1]. Cette technologie a connu un essor considérable depuis les années 1980 avec le développement des MEMS (microelectro-mechanical systems en anglais), puis dix ans plus tard, avec le concept de laboratoire sur puce (Lab-On-a-Chip) [2,3]. Depuis, les domaines d'applications de la microfluidique n'ont cessé de s'étendre, que ce soit en biologie, en chimie ou encore en médecine.

La technologie de laboratoire sur puce est l'une des technologies microfluidiques les plus intéressantes développées depuis ces vingt dernières années. Elle permet de miniaturiser des fonctions au sein d'un dispositif miniature comme l'analyse, la caractérisation et la séparation, et offre la possibilité de regrouper plusieurs de ces fonctions au sein d'un seul système complet. Pour ce faire, plusieurs méthodes, optiques ou non optiques peuvent être intégrées à ce type de système pour aboutir à un système complet portable.

Dans la première partie de ce chapitre nous allons nous intéresser aux phénomènes physiques mis en jeu dans le fonctionnement et la mise en œuvre d'un système microfluidique, les différents types d'écoulements qui peuvent avoir lieu et les différents domaines d'application de la microfluidique à gouttelette. Dans la seconde partie, les techniques de caractérisations de micro-objets seront décrites ainsi que leurs avantages, inconvénients et limites en fonction du domaine d'application.

II.1.1 Physique des écoulements dans un système microfluidique

Dans les systèmes microfluidiques, les lois d'écoulement restent inchangées par rapport à la mécanique des fluides classique. Cependant, certains phénomènes et principes peuvent être simplifiés en raison de la réduction de la taille des canaux dans lesquels s'écoulent les fluides.

En tout premier lieu, il est important de définir quel type d'écoulement peuvent avoir lieu au sein des microcanaux. En mécanique des fluides classique, il existe trois types d'écoulement qui sont : laminaire, intermédiaire et turbulent. Ces trois régimes sont définis à partir d'un nombre adimensionnel appelé « nombre de *Reynolds* », qui représente le rapport entre les contraintes liées à l'inertie d'un fluide et les contraintes visqueuses (ou frottement) :

$$Re = \frac{\rho U L_c}{\eta} \quad \text{Eq II-1}$$

où U et ρ représentent respectivement la vitesse moyenne et la masse volumique du fluide, η sa viscosité dynamique et L_c la longueur caractéristique.

Pour des valeurs de Re importantes ($Re > 2000$), les forces d'inertie régissent l'écoulement et engendrent un écoulement turbulent. Pour de petites valeurs du nombre de Reynolds, comme c'est le cas pour les systèmes microfluidiques pour lesquels $Re < 1$, les forces visqueuses l'emportent sur l'inertie ce qui donne lieu à un écoulement laminaire.

L'écoulement des fluides newtoniens incompressibles est décrit par l'équation de *Navier-Stokes* qui s'exprime selon :

$$\rho \left(\frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t} + (\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v} \right) = -\nabla P + \eta \nabla^2 \mathbf{v} + \rho \mathbf{g} \quad \text{Eq II-2}$$

où ρ est la masse volumique du fluide (kg/m^3), \mathbf{v} sa vitesse (m/s), η sa viscosité (Pa.s) et \mathbf{g} l'accélération de la gravité.

Plusieurs hypothèses liées à la miniaturisation peuvent être appliqués à cette équation. Tout d'abord, comme le nombre de Reynolds est faible dans les systèmes microfluidiques, le terme convectif « $(\mathbf{v} \cdot \nabla) \mathbf{v}$ » peut être négligé devant la prédominance du terme visqueux « $\eta \nabla^2 \mathbf{v}$ ». Il en est de même pour les termes de gravité « $\rho \mathbf{g}$ ». Cependant, un petit nombre de Reynolds n'implique pas forcément la stationnarité du profil de vitesse, mais il est toutefois possible de négliger le terme instationnaire « $\rho \frac{\partial \mathbf{v}}{\partial t}$ » car les variations de la vitesse dans un instant « t » se font par diffusion visqueuse sur une distance supérieure à la longueur caractéristique de l'écoulement au sein du canal [4].

Ces hypothèses ont permis d'aboutir à l'équation de *Stokes*. Cette équation relie le terme visqueux « $\eta \Delta \mathbf{v}$ » et les forces hydrauliques « ∇P » et permet de décrire les écoulements à l'échelle microscopique.

$$\nabla P = \eta \Delta \mathbf{v} \quad \text{Eq II-3}$$

Un autre nombre adimensionnel qui joue un rôle important est le nombre de Péclet (Pe). Il permet de comparer le transfert par convection au transfert par diffusion qu'ils soient massiques ou thermiques.

$$Pe = \frac{L_c v}{D} = Re Sc \quad Eq II-4$$

où D représente le coefficient de diffusion massique et Sc le nombre de Schmidt. Le nombre de Schmidt est aussi un nombre adimensionnel qui intervient dans des systèmes où l'écoulement est lié à la viscosité et au transport de matière en même temps. Il est calculé à partir de Eq II-5

$$Sc = \frac{\nu}{D} \quad Eq II-5$$

où ν est la viscosité cinématique du fluide (m^2/s) et D le coefficient de diffusion massique (m^2/s).

II.1.2 Phénomènes de perte de pression dans les canaux microfluidiques

Zheng et al. ont démontré que l'écoulement de Poiseuille, décrivant l'écoulement laminaire d'un fluide visqueux dans un tube cylindrique, est une bonne approximation pour les écoulements dans des canaux microfluidiques pour des rapports d'aspect inférieurs à 0,35 [5]. Le rapport d'aspect est déterminé en divisant la hauteur du canal par sa largeur. Le profil de vitesse caractéristique d'un écoulement de Poiseuille est parabolique associé à un gradient de pression. L'équation d'Hagen-Poiseuille décrit ce type de profil de vitesse :

$$\frac{\Delta P}{l} = R_h Q \quad Eq II-6$$

où R_h et Q sont respectivement la résistance hydraulique ($Pa.s.m^{-3}$) et le débit (m^3/s).

L'analogie entre loi d'Hagen-Poiseuille et la loi d'Ohm est claire ($\Delta V = RI$) : la perte de charge au sein du microcanal est similaire à la différence de potentiel, le débit auquel le fluide se déplace est associé au courant passant dans un câble et enfin la résistance hydraulique est similaire à la résistance électrique [3].

La résistance hydraulique est influencée par plusieurs paramètres. Tout d'abord la viscosité et la longueur du canal qui, en augmentant, conduiront à une valeur plus élevée de la résistance. Le diamètre hydraulique, étant directement lié à la section du canal (a) et au

périmètre mouillé de la section du canal (λ) ($D_h = 4a/\lambda$), est inversement proportionnelle à la résistance. En effet, plus la section du canal est petite, plus l'écoulement est difficile. La perte de pression étant proportionnelle à la résistance, les paramètres influençant la résistance vont, par conséquent, modifier la pression. Le débit d'écoulement du fluide lui aussi a une répercussion directe sur la vitesse du fluide. Dans ce cas, plus le fluide aura une grande vitesse d'écoulement, plus les forces de frottements seront importantes et ainsi la perte de pression augmente.

L'analogie entre les notions électrique et la mécanique des fluides ne s'arrête pas là. En effet, pour un nombre de Reynolds petit, l'écoulement dans une série de canaux de taille différente implique une valeur de R_h propre à chaque canal. La résistance totale est alors la somme des résistances en série (

Figure II-1.A). Pour des canaux en parallèle, l'inverse de la résistance hydraulique totale est égale à la somme de l'inverse des résistances hydrauliques locales (

Figure II-1.B). L'équation d'Hagen-Poiseuille pour l'écoulement dans deux canaux s'écrit alors pour les différents cas comme montrée dans la

Figure II-1.

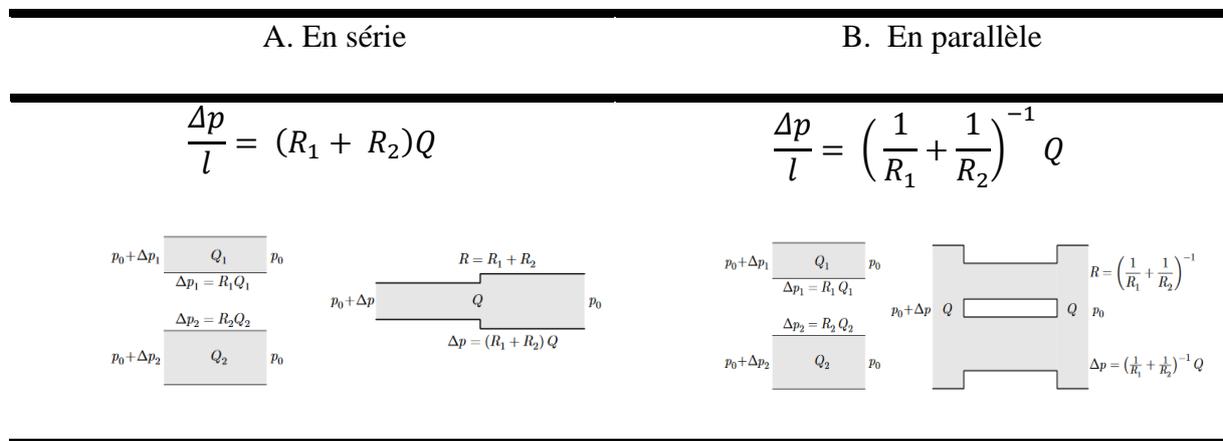


Figure II-1 : Récapitulatif des expressions d'Hagen-Poiseuille pour un écoulement dans deux canaux avec deux résistances différentes R_1 et R_2 . A. En série. B. En parallèle [3]

Bruus a détaillé d'avantage les phénomènes d'écoulements microfluidiques [3]. Il a démontré que les fluides en écoulement et les canaux ne sont pas complètement rigides et possèdent une certaine élasticité provoquant une modification de leurs volumes. Ainsi, le concept de capacité hydraulique prend tout son sens et peut alors s'exprimer en fonction du volume par unité de temps par rapport à la chute de pression :

$$C_h = -\frac{dV}{dp} \quad \text{Eq II-7}$$

où V est le volume par unité de temps par analogie à la charge q par unité de temps que l'on retrouve pour l'expression d'un condensateur en électrostatique $C = \frac{dq}{dV}$. Le signe moins traduit la diminution du volume quand la pression augmente.

D'autre part, il est possible de définir un circuit électrique équivalent qui traduit l'écoulement dans un canal et ainsi calculer l'impédance de chaque composant. L'impédance dans un circuit électrique est définie par :

$$Z = \frac{\Delta V}{\Delta I} \quad \text{Eq II-8}$$

La perte de pression et le débit étant respectivement analogue à la différence de potentiel et au courant (Figure II-2), l'expression de l'impédance dans le cas d'un système hydraulique devient alors :

$$Z = \frac{\Delta P}{\Delta Q} \quad \text{Eq II-9}$$

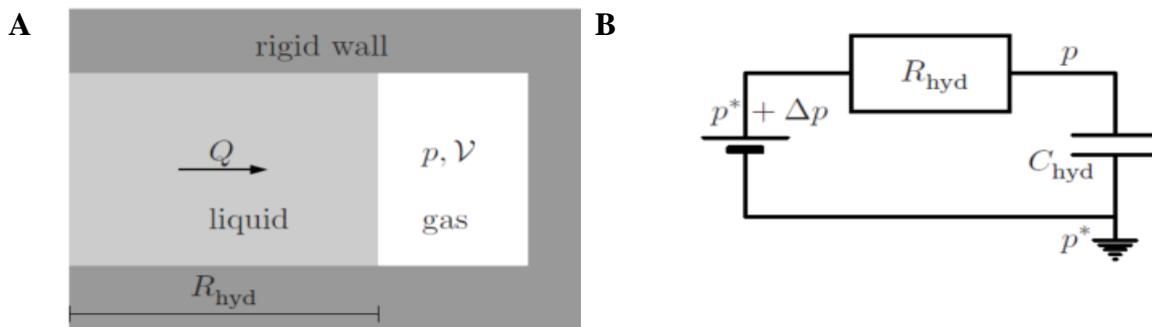


Figure II-2 : A. Représentation d'un écoulement piston dans un canal microfluidique pour mettre en évidence le concept de capacité hydraulique C_{hyd} . B. Circuit électrique équivalent pour l'écoulement piston [3]

En appliquant les lois de Kirchhoff sur ce type de système, on obtient les expressions détaillées dans le Tableau II-1 de l'impédance pour chaque composant.

Tableau II-1 : Expressions de la résistance R_h , la capacité C_h et la conductance hydraulique L_h obtenues à partir de l'analogie avec les systèmes électriques

Résistance hydraulique	Capacité hydraulique	Conductance hydraulique
------------------------	----------------------	-------------------------

$$Z_R = R_h$$

$$Z_C = \frac{1}{j\omega C_h}$$

$$Z_L = j\omega L_h$$

II.1.3 Les phénomènes de transport de matière en microfluidique

Comme mentionné précédemment, le nombre de Reynold est faible dans des systèmes microfluidiques, le régime y est donc majoritairement laminaire et le **mélange** entre les fluides dans les microcanaux devient alors un véritable défi. Dans ce cas, même si le nombre de *Péclet* (Pe) est élevé (signe d'une convection dominante), l'écoulement laminaire est un frein pour le mélange convectif entre les fluides, le mélange se fait alors par **diffusion**. Dans certains cas où le mélange doit se faire rapidement, à cause d'une cinétique de réaction rapide, une convection forcée peut être réalisée. Plusieurs méthodes ont été développées, des méthodes passives basées sur des géométries intelligentes telles que le mélangeur à chevrons [6] (Figure II-3.A), des mélangeurs à canaux en serpentins [7], torsadés ou en X [8] (Figure II-3.B) et bien d'autres encore [9]. *Bordbar et al.* ont utilisé un écoulement à bouchons pour forcer le mélange entre deux fluides [10]. Il existe également des méthodes dites actives en appliquant une énergie extérieure au système, par exemple une commande acoustique [11] (Figure II-3.C), magnétique [12], l'électromouillage [13], etc. Il est également possible d'obtenir un bon mélange pour des temps plus courts en variant les débits des deux phases.

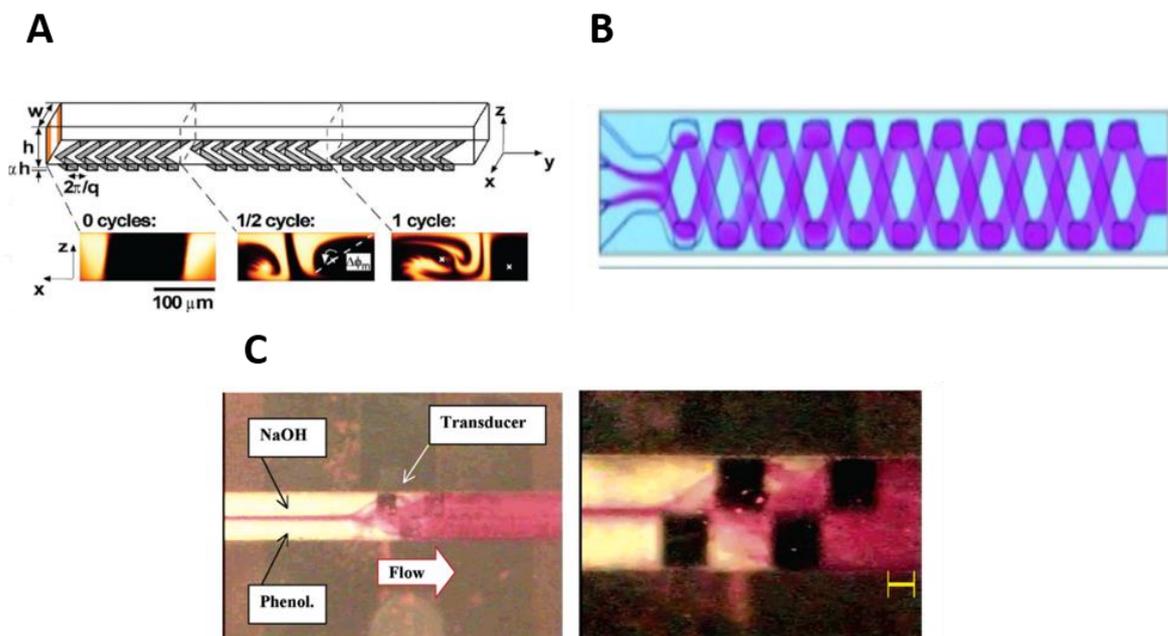


Figure II-3 : A. Représentation d'un mélangeur à chevron et ses conséquences sur la formation de vortex pour le mélange des fluides dans un système microfluidique [6]. B. Schéma d'un mélangeur avec un tube en X pour le mélange de trois fluides [8]. C. Mélangeur acoustique à l'aide de transducteurs intégrés [11]

En ce qui concerne la **diffusion**, elle peut être un avantage en fonction des applications. Par exemple, la diffusion lente permet de déplacer des plus petites particules d'un fluide vers un autre en les séparant des particules plus grandes qui mettront plus de temps à migrer étant donné que leur rayon est plus important (Figure II-4) [14]. *Qin et al.* ont exploité cette diffusion pour des extractions liquide-liquide et les applications sont encore nombreuses [15].

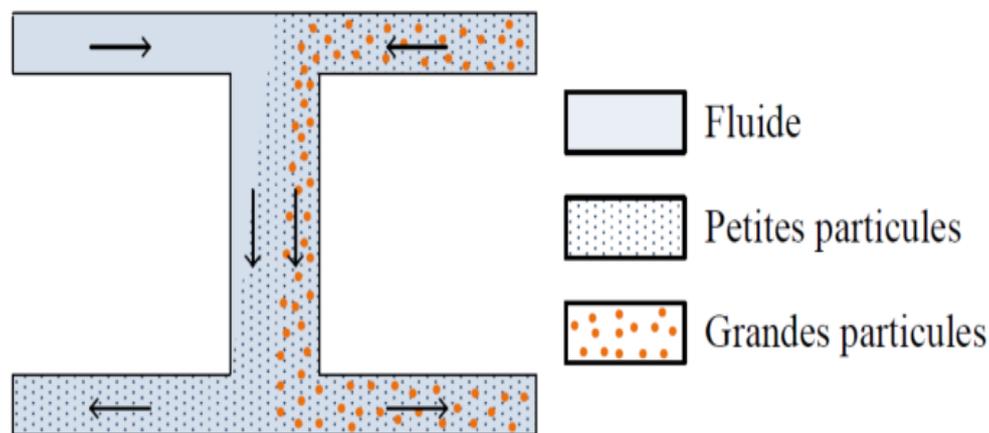


Figure II-4 : Séparation par diffusion des particules en fonction du rayon dans un système microfluidique [14]

II.1.4 Avantages et inconvénients des systèmes miniaturisés

Le principal avantage de la microfluidique est le fait d'utiliser un système de plus petite dimension, ce qui se traduit par des volumes réactionnels plus faibles et par conséquent des déchets générés moins importants. D'autre part, la prédominance des phénomènes de surface par rapport aux forces de gravité peut simplifier des opérations sur l'analyse des cellules. A contrario, lorsque les produits s'adsorbent de manière importante à la surface interne des canaux, on peut alors être confronté à un problème de pollution.

La miniaturisation est également un atout en matière de transport de chaleur. Dans le cas d'un dégagement de chaleur, cette dernière va s'évacuer plus rapidement dans un système à petite dimensions. *Asthana et al.* ont mis en évidence une augmentation du nombre de Nusselt (traduisant le transfert thermique entre un fluide et une paroi) pour des écoulements diphasiques dans des microcanaux de 100 μm [16]. En effet, plus le nombre de Nusselt sera élevé plus la

convection thermique sera efficace ce qui permet d'obtenir des systèmes de refroidissement plus performants par exemple en microélectronique.

Les phénomènes de transport de matière décrits précédemment peuvent s'avérer être à la fois un avantage et un inconvénient en fonction de la taille du système miniaturisé, de son application et du résultat recherché. Cependant, même si les avantages de systèmes miniaturisés sont nombreux, ils présentent également certains inconvénients. Les procédés de microfabrication d'une puce impliquent l'utilisation des appareils souvent coûteux et volumineux et des étapes de microfabrication en salle blanche. Les dimensions micrométriques des canaux impliquent qu'ils sont très sensibles aux petites particules donc un bouchage de canal qui se traduit par une puce qui devient à usage unique pour une opération donnée, le nettoyage des canaux étant fastidieux voire impossible.

Les systèmes microfluidiques, avec leurs avantages et leurs faiblesses, font l'objet de nombreuses applications en chimie, biologie, médecine ou encore physique. Bon nombre de ces systèmes font intervenir deux phases en écoulement dans des microcanaux. Une description détaillée de la physique, des différents types d'écoulement et des méthodes pour les obtenir est détaillée dans la suite.

II.2 Les écoulements diphasiques

Nombreux sont les procédés qui font appel à des écoulements diphasiques ou multiphasiques. La synthèse chimique, l'analyse de micro-objets en passant par l'émulsion ou encore l'extraction font toutes appel à une phase dispersée (liquide ou gazeuse) circulant dans une phase continue (liquide).

Dans le cas de deux fluides immiscibles, comme dans le cas que nous étudierons par la suite, c'est-à-dire un mélange liquide ionique et PBS (ou azote), ces écoulements donnent lieu à deux principaux régimes d'écoulement :

1/ L'écoulement stratifié : les deux phases sont en contact mais circulent de manière parallèle l'une à l'autre (Figure II-5.A). L'espace occupé par chacun des deux fluides va dépendre du rapport des débits, des propriétés physico-chimiques des fluides ainsi que des nombres adimensionnels (Re , Pe , Sc) qui décrivent les phénomènes physiques au sein des microcanaux. Dans certain cas, un écoulement dit annulaire est observé pour lequel l'une des

phases circule au milieu du canal entouré du second fluide qui lui circule près des parois (Figure II-5.B).

Lorsque deux fluides s'écoulent de façon laminaire, le transport de matière entre les deux phases est régi par la diffusion. Il est possible alors d'utiliser ce type d'écoulement dans beaucoup d'applications. Comme il a été cité précédemment, il est possible de séparer des particules en fonction de leurs tailles. *Bamgbopa et al.* ont mis en évidence l'utilité de ce type d'écoulement dans une batterie redox-flow sans membrane. L'écoulement des deux fluides immiscibles permet le transfert des espèces actives sans avoir recours à une membrane séparatrice entre eux [17]. *Yoon et al.* ont utilisé quant à eux un flux tri-laminaire pour la séparation chirale sélective. Le système était composé d'un milieu d'alimentation pour l'estérification enzymatique sélective, d'une couche aqueuse acide pour l'hydrolyse ; ces deux milieux sont séparés par une membrane liquide ionique comme couche intermédiaire [18]. Le rendement de séparation en utilisant cette méthode fut de 92,5 % pour une épaisseur de la membrane (liquide ionique) de 100 μm .

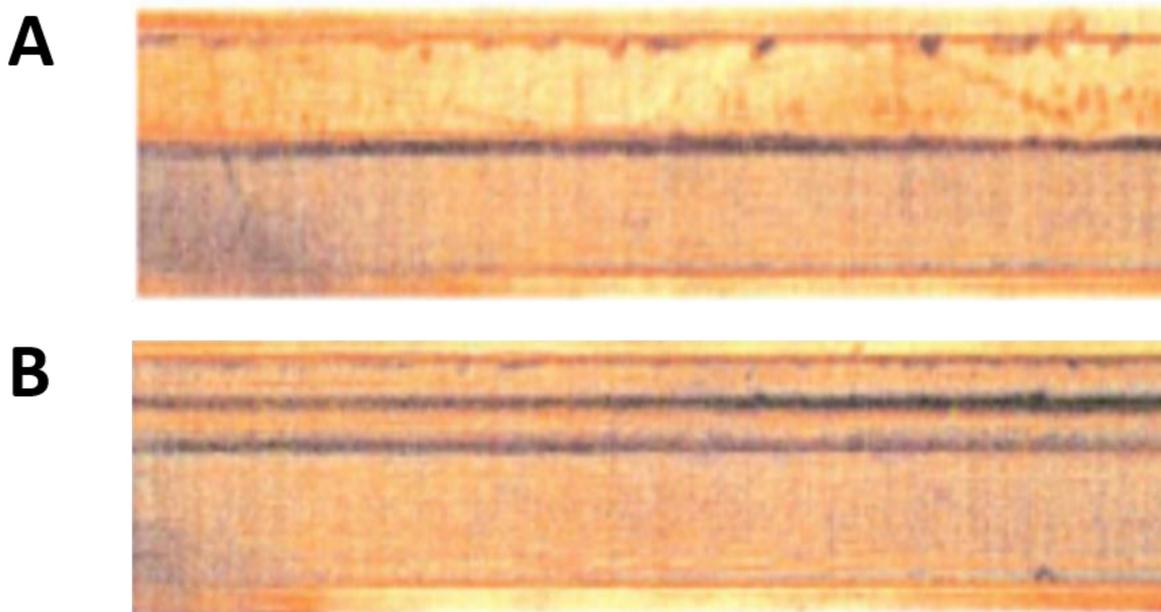


Figure II-5 : Écoulement diphasique (eau et kérosène) dans un microcanal : A. Écoulement stratifié. B. Écoulement annulaire [19]

2/ L'écoulement à gouttelette : les gouttelettes (ou les bulles pour une phase dispersée gazeuse) de la phase dispersée se forment quand la phase continue cisaille la phase dispersée de manière à former une gouttelette. Là aussi, en fonction du rapport des débits et des propriétés des fluides, il est possible d'obtenir des gouttelettes de taille supérieure à celle du canal dit

bouchons (Figure II-6.A) ou des gouttelettes de taille inférieure à celle du canal (Figure II-6.B-E).

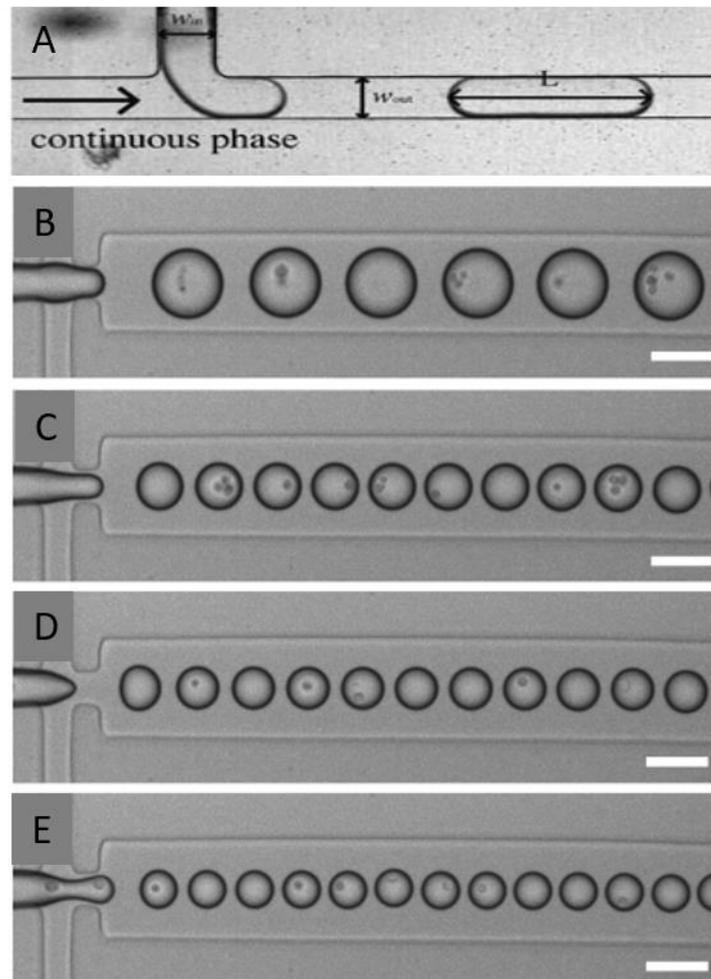


Figure II-6 : A. Formation de bouchons avec un jonction en T [19]. B-E. Variation de la taille des gouttelettes formées dans un écoulement focalisé par variation du rapport des débits des deux phases [20]

Dans le paragraphe suivant, l'écoulement à gouttelette et ses applications seront développés plus en détail puisque ce sont les écoulements à gouttelette pour un laboratoire sur puce qui font l'objet de cette thèse.

II.2.1 L'écoulement à gouttelettes dans un système microfluidique

La microfluidique à gouttelettes représente une partie très importante de la microfluidique. Ses applications sont nombreuses dans l'analyse, l'encapsulation ou encore la synthèse de composés chimiques (Figure II-7). Le volume des gouttelettes formées est de quelques picolitres et leur fréquence de production peut atteindre MHz [21].

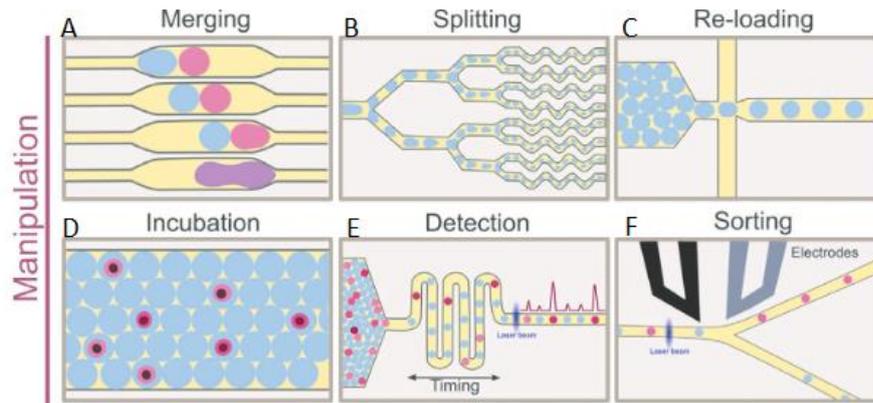


Figure II-7 : Différentes manipulations possibles de gouttelettes. **A.** Le mélange ou la fusion. **B.** La scission. **C.** Le rechargement. **D.** L'encapsulation ou l'incubation. **E.** La détection. **F.** La séparation [22]

Pour obtenir un écoulement à gouttelette, la phase continue vient cisailier la phase dispersée ce qui va augmenter l'aire de l'interface formée par les deux phases pour créer une gouttelette. Les nombres adimensionnels permettant de décrire les équilibres entre les forces, rendant le détachement de la gouttelette possible, seront décrits dans le paragraphe suivant.

II.2.1.a La physique de la génération des gouttelettes

La génération de gouttelettes est due à une concurrence entre les forces interfaciales et les forces visqueuses. La relation entre ces forces se traduit par le nombre capillaire (Ca), qui est un nombre adimensionnel et s'exprime selon :

$$Ca = \frac{\eta v}{\gamma} \quad \text{Eq II-10}$$

où η représente la viscosité du fluide (Pa.s), v sa vitesse (m/s) et γ sa tension superficielle (N/m).

Pour des systèmes microfluidiques, ce nombre est inférieur à l'unité, ce qui veut dire qu'une gouttelette circulant dans une phase continue va être peu déformée car les forces interfaciales dominent. Chacune des deux phases, circulant dans le dispositif, possède son propre nombre capillaire, Ca_d pour la phase dispersée et, Ca_c pour la phase continue.

Le phénomène de génération d'une goutte se produisant à l'interface, il semble donc logique de faire appel à un nombre adimensionnel comparant les forces d'inertie aux forces interfaciales. Ce nombre est le nombre de Weber (We) :

$$We = \frac{\rho v^2 L_c}{\gamma} \quad \text{Eq II-11}$$

où ρ est la masse volumique (kg/m^3), v la vitesse (m/s), L_c la longueur caractéristique (m) et γ la tension superficielle (N/m).

Comme pour le nombre capillaire, ses valeurs en microfluidique sont inférieures à 1 et chacune des deux phases se voit attribuer un nombre de Weber qui lui est propre.

Pour finir, le nombre adimensionnel φ , représentant le rapport des débits entre phase dispersée et phase continue est donné par :

$$\varphi = \frac{Q_d}{Q_c} \quad \text{Eq II-12}$$

où Q_d représente le débit de la phase dispersée et Q_c le débit de la phase continue.

Les phénomènes entrant en jeu pour expliquer la formation de gouttelettes peuvent être décomposés en deux théories.

La première a été proposée par l'équipe de *Ismagilov*, qui, à partir de la synthèse de nanoparticules de sulfure de cadmium, a mis en évidence la corrélation entre la taille des gouttelettes formées et le nombre capillaire d'un système diphasique où les viscosités des deux fluides sont comparables [23].

Garstecky et al., quant à eux, ont associé le phénomène de génération d'une gouttelette à la chute de pression dans le canal secondaire pour des systèmes à faible nombre capillaire, comme c'est le cas dans les systèmes microfluidiques. En effet, le passage d'une quantité de phase dispersée dans le canal principal engendre une chute de pression dans le canal secondaire et le gradient de pression dans le canal principal tend à créer une rupture entre les deux phases et ainsi à former une gouttelette [24]

Ces deux théories semblent complémentaires. En effet, les recherches menées par *Dreyfus et al.* ont montré l'impact à la fois de la mouillabilité complète ou partielle des fluides mais également le rapport de tailles entre les canaux de chacune des deux phases [25]. Dans le cas où le canal secondaire est plus petit que le canal principal, ou si la phase dispersée mouille en partie la paroi, alors le détachement de la gouttelette est probablement dû à la compétition entre les forces visqueuses et celles de la tension de surface. De plus, la taille des gouttelettes obtenues peut être inférieure au diamètre du canal principal comme le montrent les recherches de *Nisisako et al.* [26] (Figure II-8.B). En revanche, dans le cas où les canaux sont de même taille et que la phase continue mouille totalement le canal, alors la chute de pression enclenchera le détachement de la goutte à l'intérieur du canal principal. Ici on aura donc formation de

gouttelettes soit de même taille que le canal, soit de taille supérieure donc formation de bouchons (Figure II-8.A).

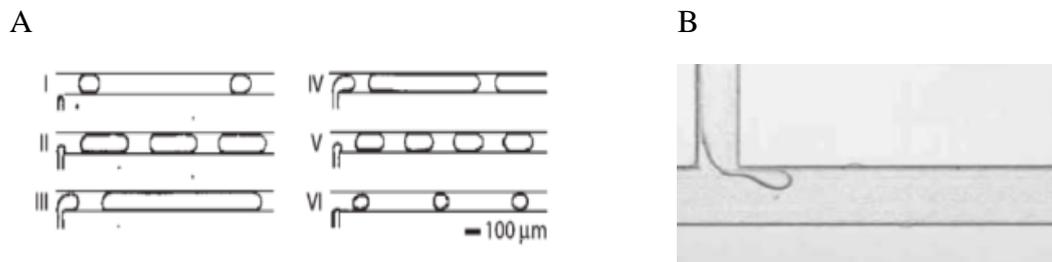


Figure II-8 : A. Génération de gouttelettes dans une jonction en T pour une phase continue mouillante où la plus petite taille de gouttelette obtenue est de la même taille que le canal [24]. B. Génération de gouttelettes dans une jonction en T pour une phase dispersée partiellement mouillante où la taille des gouttelettes obtenue est inférieure à la taille du canal [27]

Les différents paramètres impactant l'écoulement à gouttelettes seront détaillés par la suite. Mais avant cela, nous allons exposer les différentes géométries permettant de produire des gouttelettes.

II.2.1.b La géométrie des canaux

Les deux principales techniques de génération de gouttelettes sont les méthodes passives et les méthodes actives. Les méthodes passives permettent la génération de gouttelettes dans les microcanaux sans actionnement externe. Les méthodes actives quant à elles reposent soit sur un apport supplémentaire d'énergie magnétique, électrique ou encore centrifuge soit sur la modification des propriétés intrinsèques du fluide comme la viscosité, la tension interfaciale ou encore la mouillabilité du canal. Dans la suite de ce chapitre, nous avons choisi d'exposer les méthodes passives uniquement, elles présentent l'avantage d'être économiques et plus simples à mettre en place. Par conséquent ce sont elles que nous avons utilisées dans le cadre de ce projet.

II.2.1.b.i Jonction en croix

Comme son nom l'indique, le canal principal et les deux canaux secondaires forment une croix (Figure II-9). Les deux arrivées de la phase continue viennent cisailer la phase dispersée permettant de former des gouttelettes circulant dans le sens du flux de la phase dispersée [28].

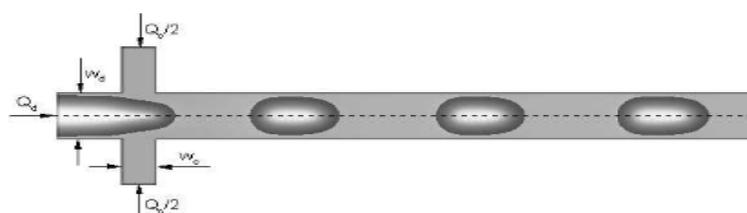


Figure II-9 : Schéma représentatif de la génération de gouttelettes avec une jonction en croix [29]

II.2.1.b.ii Jonction en T :

Ce dispositif a été proposé pour la première fois par *Thorsen* où la phase continue et la phase dispersée, circulant respectivement dans un canal principal et un canal secondaire, entrent en contact perpendiculairement (Figure II-10). La gouttelette se forme alors en conséquence de la compétition entre les forces visqueuses, tendant à cisailier la goutte pour la détacher, et les forces de tension de surface qui retiennent la goutte [30].

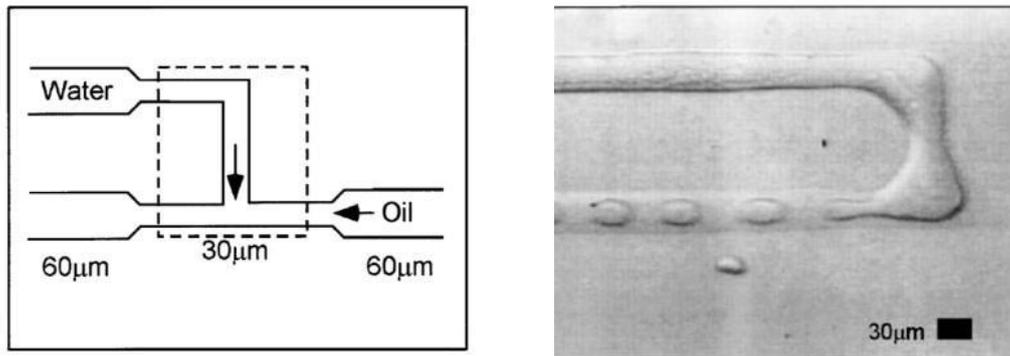


Figure II-10 : Représentation d'une jonction en T pour la génération de gouttelettes d'eau dans de l'huile dans des canaux microfluidiques [30]

Il existe également plusieurs variantes de cette jonction en faisant varier l'angle entre le canal principal et le canal secondaire comme par exemple la jonction Y.

II.2.1.b.iii Co-écoulement

Ce type d'écoulement est réalisé à partir d'un écoulement coaxial où la phase dispersée circule au milieu, ce qui permet de générer des gouttelettes en cisailant la phase dispersée par la phase continue (Figure II-11). La taille et la fréquence des gouttelettes vont dépendre de plusieurs paramètres notamment de la taille des deux canaux pour les deux phases ainsi que du rapport des débits entrants.

Cette méthode se révèle intéressante dans le cas où l'on souhaite générer des doubles émulsions dont la taille est plus petite que le canal [31].



Figure II-11 : Génération de gouttelettes avec un co-écoulement [31]

II.2.1.b.iv Jonction en écoulement focalisé (flow focusing)

Ce type de dispositif est une évolution de la jonction en croix. *Ganan-Cavlo* et *Gordillo* ont été les premiers à proposer ce type de dispositif pour générer des bulles d'air dans un fluide

[32]. Par la suite, *Anna et al.* l'ont adapté en 2003 pour former des gouttelettes d'eau dans de l'huile [33]. Pour ce dispositif, la phase dispersée est injectée perpendiculairement aux deux arrivées de phase continue. Les flux se heurtent ensuite à une constriction qui va affiner le jet et conduire à la formation de gouttelettes (Figure II-12).

Cette géométrie permet de générer des gouttelettes de manière très reproductible et à des fréquences allant jusqu'au kHz. Cependant, la formation des gouttelettes peut engendrer des gouttelettes plus petites, ce qui peut perturber certaines opérations de caractérisation ou d'analyse.

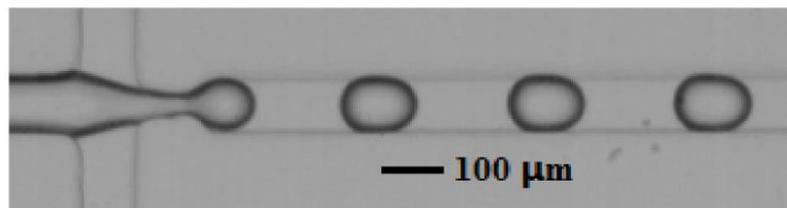


Figure II-12 : Génération de gouttelettes d'eau dans de l'huile pour un écoulement focalisé [33]

II.2.1.c Le mode génération

Dans la partie II.2.1, nous avons décrit l'écoulement à gouttelette et montré que cet écoulement pouvait donner lieu à plusieurs tailles de gouttelettes, allant du bouchon dont la longueur dépasse la largeur du canal, aux microgouttelettes donc la taille est inférieure à celle du canal. Ces différents régimes sont répertoriés en trois principaux modes où la frontière entre ces modes est déterminée par la taille des gouttelettes formées (Figure II-13).

II.2.1.c.i Le régime squeezing

Les gouttelettes ont une longueur supérieure au diamètre du canal. Par conséquent, les gouttelettes se déforment et prennent la forme d'un bouchon. Ce type d'écoulement est dû au rapport des débits entre les deux phases et à la chute de pression dans le canal secondaire. D'autre part, le nombre capillaire pour ce régime est plus faible que pour les deux autres régimes.

II.2.1.c.ii Le régime dripping

Dans ce cas, la taille des gouttelettes est approximativement la même que celle du canal. Les forces visqueuses de la phase continue viennent cisailer la phase dispersée et permettre à la gouttelette de se former. Cela correspond à un nombre capillaire $Ca < 0,1$ pour une jonction en croix.

II.2.1.c.iii Le régime jetting

Ce régime se traduit par la formation d'un jet de phase dispersée loin de l'intersection des deux fluides, au bout de ce jet sont générées des gouttelettes bien plus petites que le canal et le nombre capillaire est supérieur à 0,1. Ce mode de génération est lié aux instabilités de Rayleigh-Plateau. Cette instabilité est pilotée par la tension de surface du fluide. En effet, tout fluide en écoulement ondule pour minimiser son énergie de surface. Au fur et à mesure les ondulations s'accroissent elles séparent l'écoulement « cylindrique » du fluide en gouttelettes.

Nous retrouvons ces trois types d'écoulement pour les différentes géométries, c'est-à-dire, pour la jonction en T [34], la jonction en croix [35] et l'écoulement focalisé [36].

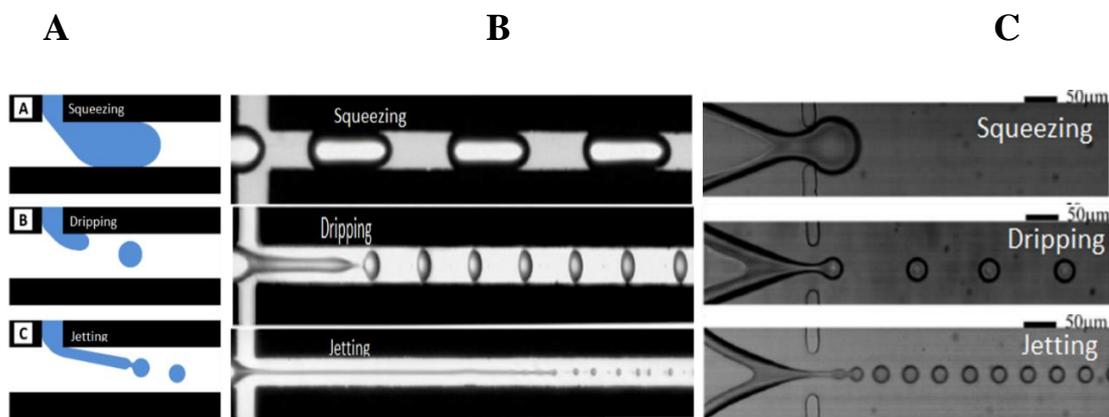


Figure II-13 : Représentation des trois modes de génération de gouttelettes. A. Pour une jonction en T [37]. B. pour une jonction en croix [35]. C. Pour un écoulement focalisé [36]

II.2.1.d Paramètres d'influence sur la taille des gouttelettes

La taille, la fréquence et le régime d'écoulement des gouttelettes dans un microcanal sont influencés par un ou plusieurs paramètres à la fois. En fonction des applications requises, il est intéressant de jouer sur ces paramètres pour obtenir la taille de gouttelette souhaitée, suivant un régime donné et dans une géométrie bien précise. Dans la suite de ce chapitre nous allons nous intéresser à ces paramètres et leurs degrés d'influence sur la génération des gouttelettes.

II.2.1.d.i Tailles des canaux

Comme il a été détaillé précédemment dans la section II.2.1.b les géométries des canaux sont nombreuses et donnent lieu à différentes tailles de gouttelette. Cependant pour chaque géométrie, la taille des canaux de la phase dispersée et la phase continue ainsi que le rapport entre ces deux dimensions jouent un rôle primordial dans la taille des gouttelettes générées. Les recherches menées par *Sugiura et al.* ont montré que le diamètre des gouttelettes est très peu influencé par la longueur et la largeur du canal de la phase dispersée [38]. Cependant, le temps

de détachement des gouttelettes est plus court donc la fréquence de génération de ces dernières est plus élevée. En ce qui concerne la phase continue, une diminution de la largeur de son canal conduit à une formation de gouttelettes plus petites [26].

Han et Chen de leur côté ont montré par simulation numérique l'impact du rapport hauteur/ largeur et l'angle de contacts entre les deux phases sur le diamètre de gouttelettes fusionnées. La simulation a permis de déterminer un angle critique de 60° et un rapport de hauteur/ largeur de la phase continue égale à 1 pour que la taille des gouttelettes soit la plus petite et la fréquence de génération soit la plus élevée [39].

II.2.1.d.ii Débits des deux fluides immiscibles

La rupture qui induit la formation de la gouttelette est liée à l'équilibre des forces interfaciales à l'intersection des deux phases. Cette compétition entre les forces est directement impactée par la vitesse d'écoulement des deux phases et donc par le débit de la phase continue (Q_c) et de la phase dispersée (Q_d). Plus le rapport des débits ($\varphi = \frac{Q_d}{Q_c}$) est élevé, plus les gouttelettes seront petites. En revanche, pour un rapport constant, avec une augmentation du débit total, les gouttelettes sont de plus en plus petites (Figure II-14.A) [40]. L'augmentation du débit de la phase continue engendre un cisaillement plus rapide et donc des gouttelettes plus petites à mesure que ce débit augmente (Figure II-14.B) [41]. Le débit de la phase dispersée, quant à lui en augmentant, engendre la génération de gouttelettes de diamètres plus élevés (Figure II-14) [24].

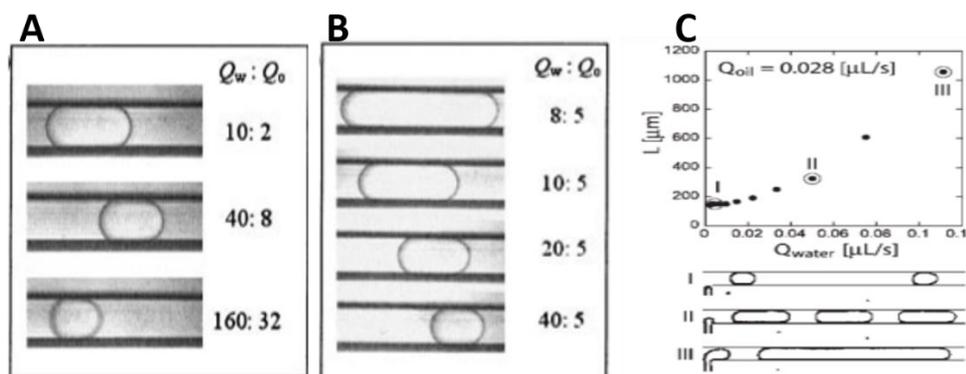


Figure II-14 : Génération de gouttelettes d'huile dans de l'eau dans un canal microfluidique. A. Avec un rapport de débit constant entre les phases et une augmentation du débit total. B. En augmentant le débit de la phase continue [40]. C. En augmentant le débit de la phase dispersée [24]

D'autres études ont été menées en contrôlant la pression plutôt que le débit. Par exemple, *Ward et al.* ont montré que la taille des gouttelettes augmente considérablement en multipliant par 2 la pression de la phase dispersée. En revanche, en multipliant le débit de la phase dispersée

par 10, la taille des gouttelettes ne change pratiquement pas mais la fréquence de génération des gouttelettes augmente [42].

II.2.1.d.iii La viscosité des fluides

Plusieurs études visant à prévoir le diamètre des gouttelettes dans des écoulements diphasiques ont été menées. La principale conclusion qu'il en découle est que le mécanisme de rupture des gouttelettes et leur diamètre sont liés non seulement aux paramètres cités précédemment mais également au nombre capillaire défini en II.2.1.a. Cela fait émerger la viscosité comme un paramètre primordiale dans la génération de gouttelettes.

Plus la viscosité d'un fluide est élevée plus la génération d'émulsion sera compliquée. Le rapport de viscosité entre la phase dispersée et la phase continue joue également un rôle [43]. Pour des valeurs élevées de ce rapport, la viscosité de la phase continue devient plus importante que celle de la phase dispersée : il devient donc plus facile de générer des gouttelettes. En dessous d'une valeur critique de ce rapport, la formation d'émulsion devient impossible [44], mais il est toutefois possible de modifier cette valeur critique en changeant la géométrie ou la taille des canaux. *Yao et al.* ont montré également un effet direct de la viscosité de la phase continue sur la vitesse de génération des gouttelettes et sur leurs tailles. En effet, sans appliquer de pression supplémentaire au dispositif, la vitesse de génération augmente et la taille des gouttelettes diminue [43]. En ce qui concerne la viscosité de la phase dispersée, elle est inversement proportionnelle à la taille des gouttelettes formées. *Muijlwijk et al.* ont montré que l'augmentation de la viscosité conduisait à un passage d'un régime « dripping » (bouchons) à un régime « jetting » donc à des tailles de gouttelettes plus petites [45].

D'autre part, il y a d'autres paramètres qui influencent également la viscosité des fluides tel que la température. Les conditions expérimentales doivent donc être prises en compte par exemple pour prédire le diamètre des gouttelettes dans les modèles de simulation.

II.2.1.d.iv Tension interfaciale

La compétition entre forces capillaires et forces de cisaillements est impactée par la tension interfaciale entre les fluides en écoulement. *Peng et al.* ont mis en évidence que la tension interfaciale est proportionnelle à la taille des gouttelettes d'eau dans de l'huile avec un écoulement focalisé. En effets, plus la tension interfaciale est élevée, plus les forces de cisaillement doivent être importantes pour aller à l'encontre des forces capillaires, ce qui va induire plus de difficultés à créer une rupture et donc créer une goutte plus volumineuse [46,47]. D'autres recherches ont été menées pour définir des modèles pour prédire la taille des émulsions

générees. Dans ces modèles, la tension interfaciale représente un paramètre essentiel pour décrire le mécanisme de rupture de la gouttelette [48–50].

Les méthodes expérimentales pour mesurer l'impact de la tension interfaciale font parfois appel à des surfactants pour favoriser la formation d'interfaces entre les deux fluides en contact [51]. Dans le cas de l'utilisation de ces tensioactifs, la tension interfaciale peut être considérée comme constante pour un pourcentage de tensioactif donné. Plus le pourcentage de tensioactif dans le fluide est important plus la tension interfaciale sera faible. Dans ce cas la force à appliquer pour détacher la gouttelette sera moins importante. Par conséquent, comme le montre la Figure II-15, il sera possible de générer des gouttelettes de plus en plus petites à mesure que le pourcentage de surfactant dans le fluide augmente. En effet, la taille des gouttelettes passe d'un diamètre de 40 μm (Figure II-15.f) pour 0,001% de tensioactif à 12 μm (Figure II-15.a) de diamètre pour 1% de tensioactif dans le fluide.

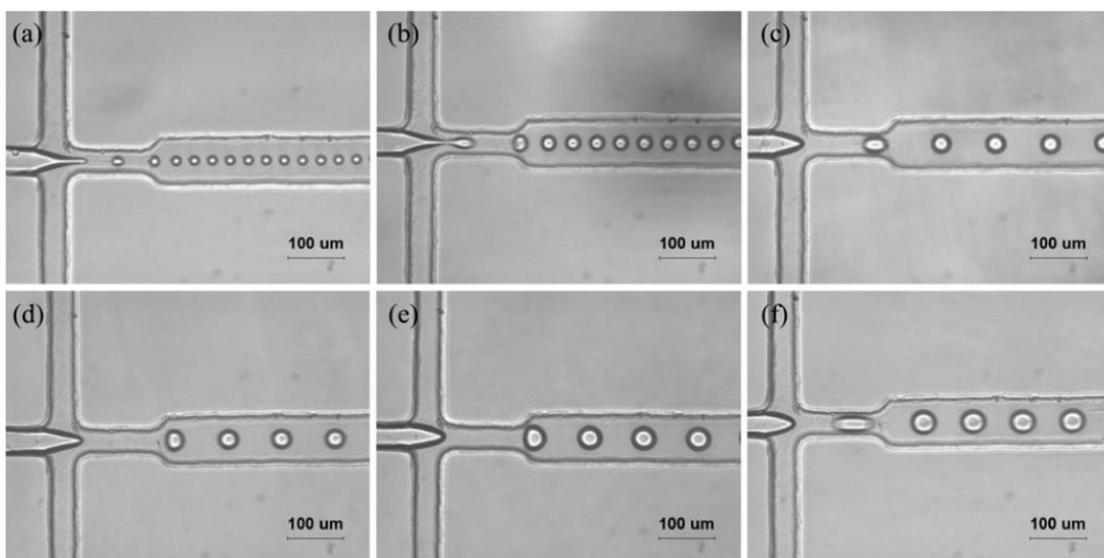


Figure II-15 : Effet du pourcentage de tensioactif (tween20) sur la taille de gouttelettes d'eau dans de l'huile générées pour un écoulement focalisé. (a) 1%. (b) 0.2%. (c) 0.01%. (d) 0.005%. (e) 0.001%. (f) 0% [46]

II.2.1.d.v Mouillabilité

La mouillabilité exprime les interactions entre un fluide et l'environnement directement en contact avec lui. Dans le cas des microcanaux, le rapport surface / volume est très élevé, ce qui signifie que la surface de contact entre le fluide et les parois du canal est très importante. *Dreyfus et al.* ont mis en évidence l'importance de la mouillabilité pour les écoulements diphasiques et son impact sur la taille des gouttelettes et leur mécanisme de rupture [25]. Pour une génération d'émulsion plus simple, il est préférable que la phase continue soit mouillante.

La phase dispersée quant à elle, ne doit pas l'être ou du moins être moins mouillante que la phase continue par rapport aux parois du canal dans lequel les fluides circulent.

D'autre part, l'ajout de tensioactifs, comme décrit précédemment, permettait de diminuer la tension interfaciale, peut également contribuer à augmenter la mouillabilité de la phase continue pour qu'elle adhère davantage aux parois en augmentant l'angle de contact.

Enfin, il est important de préciser que la mouillabilité d'un fluide par rapport à l'autre joue également un rôle primordial dans le détachement des gouttelettes et leur fréquence de formation. En effet, plus l'angle de contact entre les deux phases sera important, moins la phase dispersée adhérera à la phase continue, ainsi les gouttelettes se formeront plus facilement et à fréquence élevée [52].

Il faut également noter que l'écoulement à gouttelette peut être influencé par l'un des paramètres cités précédemment ou, comme c'est souvent le cas, par plusieurs paramètres en même temps. Certains sont interdépendants et sont reliés au nombre capillaire, comme la viscosité ou la tension interfaciale. Il est donc préférable de prendre ces paramètres dans leur ensemble afin de pouvoir prédire ou expliquer la taille de gouttelettes obtenues.

Après avoir décrit les mécanismes et les paramètres de générations de gouttelettes nous allons nous intéresser dans le paragraphe suivant aux potentielles applications de ce type d'écoulements.

II.2.1.e Domaines d'application des écoulements à gouttelettes

Les domaines d'application de la microfluidique à gouttelette sont nombreux en exploitant la possibilité de former des gouttelettes sur mesure, monodisperses, à fréquence et à vitesse constantes dont la taille et la composition peuvent être changées facilement en faisant varier les paramètres de génération. Le but ici n'est pas d'établir une liste exhaustive de ces domaines mais plutôt de mettre en évidence les secteurs faisant appel à cette méthode, sa contribution et l'intérêt qui en découle.

Les gouttelettes peuvent s'avérer utiles dans la génération d'émulsions et la synthèse de microparticules. Par exemple, *Zhang et al.* ont pu fabriquer des microparticules magnétiques de SiO₂ avec une structure complexe et interconnectée. Ces microparticules contiennent des pores de quelques nanomètres utilisés pour la décontamination de l'eau [53].

Les gouttelettes peuvent également être utilisées comme des **microréacteurs**. Dans ce cas, chaque gouttelette est considérée comme un réacteur à part entière. Ce type de technique

est très répandu dans la synthèse chimique, l'étude de la cinétique réactionnelle, l'analyse biologique ou médical ou encore la science des matériaux.

Les recherches menées en 2004 par *Ismagilov et al.* ont mis en évidence la possibilité de réaliser des mélanges de réactifs dans des gouttelettes. Lors de la formation de gouttelettes, une recirculation a lieu au sein du canal, ce qui permet de favoriser les mélanges et de s'affranchir des contraintes imposées par un écoulement laminaire. Cela peut être associée à une géométrie de canaux particulière pour réorienter les flux internes des gouttelettes et créer un mélange chaotique (Figure II-16). Ils mettent également en évidence l'importance de maîtriser le temps de mélange qui peut être injecté dans le modèle cinétique d'une réaction et d'obtenir des paramètres cinétiques plus précis [54].

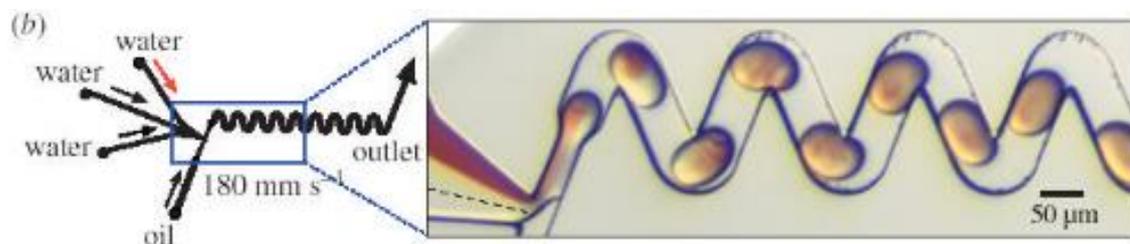


Figure II-16 : Système microfluidique de mélange chaotique de gouttelettes [54]

D'autre part, la cristallisation, souvent coûteuse et nécessitant des volumes importants de réactifs, tire de nombreux avantages de la microfluidique à gouttelettes. *Zheng et al.* ont mis en évidence la cristallisation de protéines dans une puce PDMS/verre. L'opération décrite sur la Figure II-17 permet de générer un cristal dans une gouttelette dans un capillaire en verre. Le PDMS étant perméable à l'eau, les recherches ont été réalisées par la suite dans des tubes en verre afin d'exploiter la diffusion de vapeur entre les gouttelettes pour provoquer la cristallisation des protéines [55]. Ils ont également été en mesure de mieux comprendre les étapes de cristallisation et de jouer sur les paramètres d'écoulement dans les microcanaux pour accélérer le processus ou modifier la concentration de protéines dans chaque gouttelette.

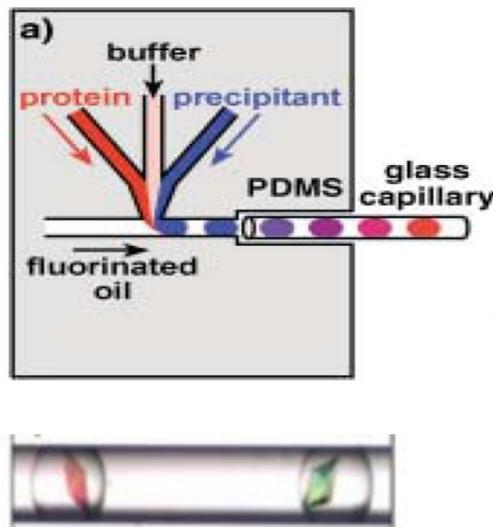


Figure II-17 : Dispositif microfluidique pour la cristallisation de protéines [56]

En ce qui concerne les domaines de la biologie ou de la médecine, les analyses effectuées sont moyennées sur un ensemble de cellules à la fois. L'émergence de techniques qui permettent l'analyse d'une cellule unique représente alors un réel avantage pour avoir accès à certaines caractéristiques des cellules individuelles. Pour un écoulement microfluidiques à gouttelette, ces dernières vont jouer le rôle de **microréacteurs** afin de séparer les cellules les unes des autres avant de les analyser [57]. Plusieurs études ont été également menées pour la détection de cellules cancéreuses. La Figure II-18 montre un exemple de détection par fluorescence des cellules cancéreuses où la production de lactate est plus importante pour les cellules malades par rapport à des cellules saines.

(a) Detection of cancer cells

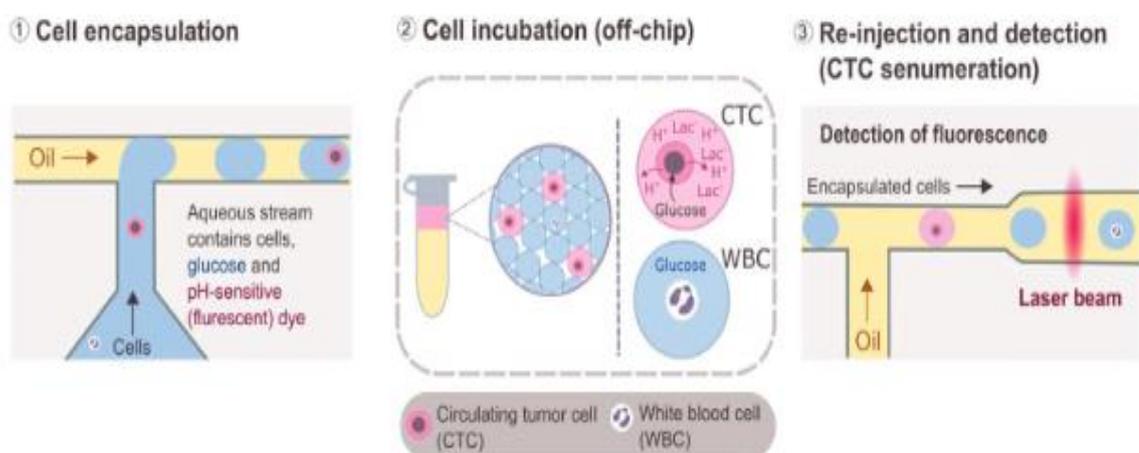


Figure II-18 : Encapsulation de cellule pour la détection de cellules cancéreuses [57]

En résumé, jusqu'à présent nous avons décrit la physique des écoulements à l'échelle micrométrique, les différents régimes d'écoulements et les avantages et inconvénients d'un système miniaturisé. Les écoulements diphasiques, en particulier l'écoulement à gouttelette, ont été détaillés ainsi que les paramètres qui influencent la formation de gouttelettes et les domaines d'application de ce type de système. Dans la suite de ce chapitre, nous allons nous intéresser aux techniques de détection et d'analyse de microparticules, en particulier celles circulant dans un canal microfluidique.

II.3 Techniques de caractérisation et de détection de micro-objets

Comme nous l'avons montré précédemment, les écoulements diphasiques, en particulier la microfluidique à gouttelette, entrent en jeu dans de nombreux procédés et d'applications. La taille des gouttelettes étudiées dans ce type de dispositifs étant de l'ordre d'une dizaine de micromètres, les techniques de caractérisation doivent être fiables et précises. Plusieurs méthodes [58] ont été utilisées et peuvent être répertoriées en deux catégories distinctes. La première regroupe les méthodes optiques qui sont le plus souvent utilisées. La deuxième catégorie inclut les méthodes non optiques qui, même si elles sont moins utilisées, peuvent présenter certains avantages en fonction de l'application. Dans cette section, nous allons nous intéresser aux méthodes les plus répandues et particulièrement à celles appliquées à des microsystèmes microfluidiques en particulier le dispositif de laboratoire sur puce.

II.3.1 Méthodes optiques

Les méthodes optiques sont souvent les méthodes les plus utilisées en laboratoire pour la caractérisation et l'analyse des microparticules dans un liquide. Elles ont l'avantage de posséder une bonne reproductibilité et une résolution spatiotemporelle fiable. Nous allons donc nous intéresser à leur mode de fonctionnement et aux applications possibles pour la caractérisation de particules dispersés dans une phase continue.

II.3.1.a La microscopie optique

La microscopie optique offre la possibilité de caractériser la taille, la forme ou la trajectoire de micro-objets de taille de l'ordre de 80 nm par analyse d'image [59]. En l'associant à une caméra rapide, cette méthode permet de caractériser des micro-objets en mouvement et leur composition avec une résolution temporelle inférieure à la milliseconde [60]. Malgré une

vitesse d'analyse élevée, cette méthode présente une faible sensibilité de détection de microparticules.

L'utilisation de cette technique avec une analyse par fluorescence permet d'augmenter la sensibilité des mesures et met en évidence, grâce à des marqueurs de fluorescence, les réactions ayant lieu au sein des gouttelettes (Figure II-19) ou leurs interactions avec le milieu [61,62]. Cependant, cette technique requiert une formation sur ce type d'appareil, l'utilisation de marqueur de fluorescence et une faible vitesse d'analyse [60].

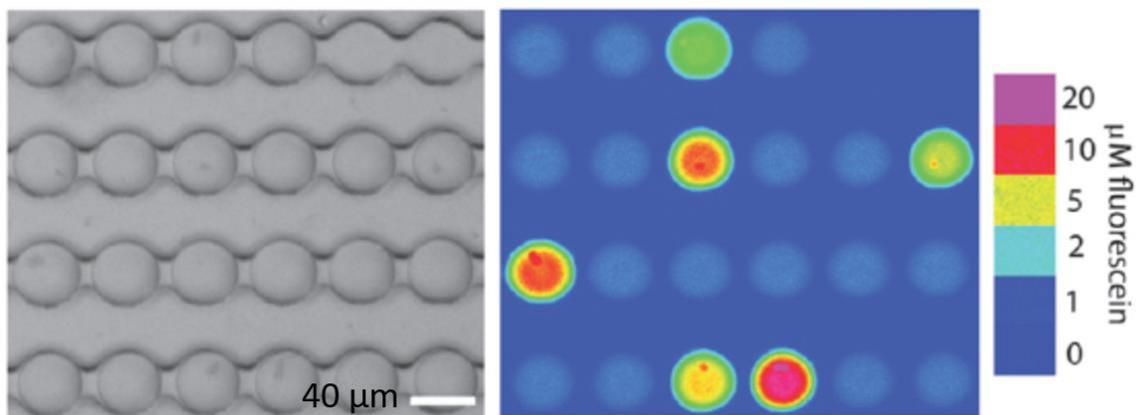


Figure II-19 : Détection de la production de bêta-galactosidase par des cellules encapsulées dans des gouttelettes. L'intensité de la fluorescence traduit le degré de production bêta-galactosidase dans des gouttelettes d'eau générées dans de l'huile [62]

II.3.1.b La diffraction laser

Cette technique repose sur la théorie de *Gustave Mie* sur la diffraction de la lumière par des particules sphériques. La distribution granulométrique de particules en suspension est mesurée en appliquant un faisceau lumineux sur ces particules (Figure II-20). La lumière est diffusée moins intensément et avec un angle plus grand par des particules de petite taille que par des particules plus grandes [63]. Cette technique présente de nombreux avantages comme une bonne sensibilité permettant d'atteindre une résolution de l'ordre du nanomètre, une bonne reproductibilité et des temps de mesure courts [64].

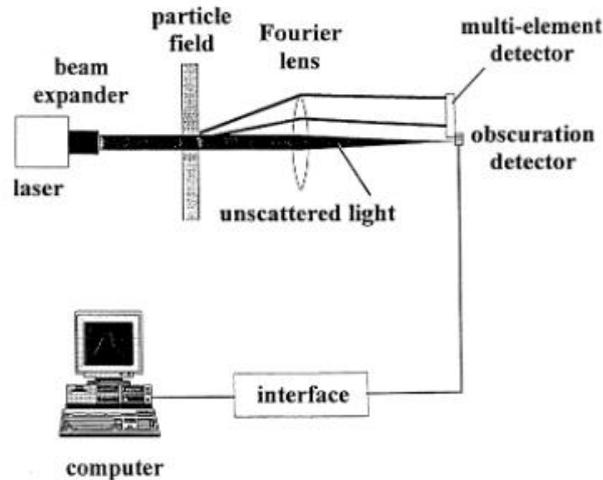


Figure II-20 : Principe de fonctionnement de la diffraction laser [64]

Une variante de la méthode par diffraction laser est l'utilisation de fibre optique pour le comptage optique (Figure II-21). *Nguyen et al.* ont démontré que la taille, la forme et la fréquence des gouttelettes d'eau dans de l'huile générées dans un canal de 340 μm de hauteur peuvent être déterminées [65]. Les gouttelettes sont détectées à l'aide de deux fibres optiques. La première fibre permet d'introduire le faisceau laser d'une longueur d'onde de 635 nm et la deuxième est connectée à un photomultiplicateur. Le réel avantage de cette technique réside dans sa grande sensibilité pour détecter des gouttelettes entre 0,5 et 300 μm et à des fréquences élevées où un couplage microscope/caméra rapide ne permettrait pas de réaliser une mesure fiable.

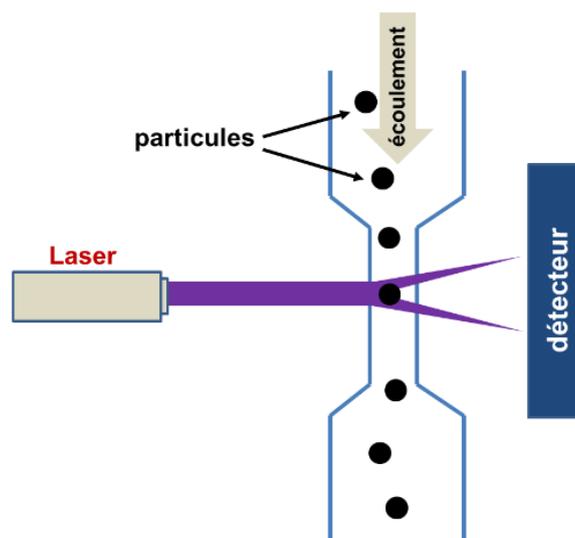


Figure II-21 : Fonctionnement du comptage optique [66]

II.3.1.c La spectroscopie Raman

C'est une spectroscopie de diffusion qui consiste à exciter un échantillon en émettant des photons à travers une source laser. La variation d'énergie entre les niveaux vibrationnels d'une molécule donne lieu à des spectres Raman qui, une fois analysés, renseigne sur certaines propriétés de l'échantillon (caractérisation chimique et structurale). Cette méthode est souvent associée à un dispositif microfluidique. *Wang et al.* ont intégré un système de spectroscopie Raman stimulé (CARS) à une puce microfluidique pour le comptage et la caractérisation de la taille d'adipocytes de souris en se basant sur le signal vibrationnel de CH_2 [67]. *Nolan et al.* ont, de leur côté, fait appel à la spectroscopie Raman exalté (SERS) pour l'analyse de cellules uniques et la détection d'anticorps en utilisant le dispositif de la Figure I-22 [68]. Dans ce dispositif, l'excitation est fournie par un laser à solide (660 nm et 400 mW) et la diffusion de la lumière à angle avant est collectée par la photodiode. La diffusion de la lumière à 90° est collectée d'un côté par une fibre optique connectée à un tube photomultiplicateur. De l'autre côté de la cellule, les signaux SERS sont transmis au spectrographe d'imagerie couplé à un détecteur à travers une fibre optique.

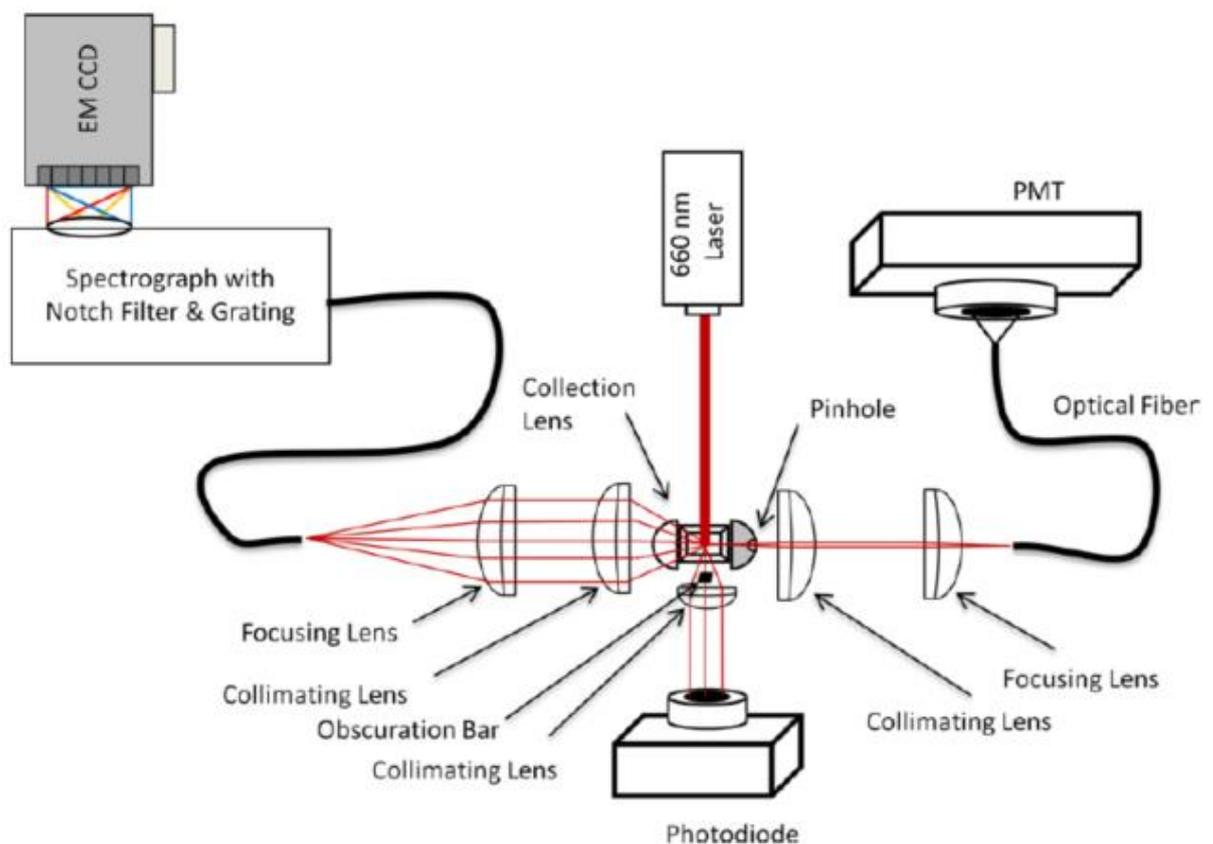


Figure II-22 : Dispositif de spectroscopie Raman exalté (SERS) pour l'analyse de cellule unique et la détection d'anticorps [68]

Malgré un champ d'application assez étendu, ce type d'analyse nécessite souvent un appareillage coûteux et volumineux, ainsi qu'une maîtrise de la technique d'analyse notamment pour l'interprétation des spectres obtenus.

II.3.2 Méthodes non optiques

Bien que les méthodes optiques soient efficaces pour caractériser et analyser des particules dans des systèmes microfluidiques, elles présentent cependant quelques inconvénients en fonction des applications. Tout d'abord, elles exigent une visibilité du volume à analyser ce qui implique un échantillon transparent ou qui n'absorbe pas la lumière. Les méthodes optiques dépendent fortement de la distance focale qu'il faut adapter au système, ce qui n'est pas toujours possible. De plus, certaines de ces techniques nécessitent l'utilisation de marqueurs comme les analyses par fluorescence. Ces marqueurs en fonction des applications peuvent être toxiques pour des cellules biologiques ou sélectifs où il sera possible de révéler un seul élément à la fois pour un échantillon donné sans compter que les températures élevées et la pressions rendent ce type d'analyse difficile à mettre en place.

Dans le but de pallier les contraintes imposées par les techniques optiques, d'autres techniques non optiques peuvent être utilisées. Dans la suite, nous allons décrire brièvement les techniques reportées dans la littérature pour la caractérisation de microparticules dans un liquide.

II.3.2.a Tamisage et sédimentation

Le tamisage est une méthode très répandue pour déterminer la distribution de taille pour des poudres ou des particules en suspension. Elle consiste à faire passer les échantillons à travers un ou plusieurs tamis dont l'ouverture correspond à la taille des particules à isoler. La mesure de la taille est réalisée ensuite par pesée [69]. Cependant le résultat obtenu offre une valeur moyennée et ne permet pas de caractériser chaque particule individuellement.

La sédimentation est également utilisée pour le dimensionnement de particules. Il existe deux types de sédimentation en fonction de la force qui est appliquée : gravitationnelle ou centrifuge. Cette technique, même si elle permet de mesurer des particules de 0,02 à 200 μm , nécessite de faibles concentrations en particules et une température contrôlée [70].

II.3.2.b Méthode magnétique

Cette technique est basée sur le phénomène de résonance magnétique (RMN) pour la caractérisation de microparticules. Grâce à son caractère non invasif et la facilité de préparation des échantillons, elle s'est imposée rapidement dans les domaines de la biologie et de la médecine pour l'analyse de cellules. Sa sensibilité, même à basses résolutions, et sa bonne reproductibilité ont permis de l'utiliser pour déterminer la taille et la distribution de gouttelettes d'eau et d'huile dans des émulsions dans le domaine alimentaire [71]. Cependant, la mesure en temps réel n'est pas possible puisque les particules doivent être statiques et une normalisation du signal doit être effectuée pour prévenir les contributions dues à la diffusion de gouttelettes [72]. De plus, la différence de sensibilité entre les différents matériaux qui constituent une micropuce et les phases en écoulement dans les canaux impliquent l'utilisation d'une raie plus large donc une perte en résolution de l'analyse RMN [73].

II.3.2.c Méthode acoustique

Cette méthode est également non invasive et repose sur l'émission d'ondes acoustiques pour la caractérisation de particules. Un émetteur envoie un signal acoustique qui est reçu par un détecteur [74,75]. En présence de particules, l'énergie émise par ce signal est modifiée permettant ainsi de remonter à la distribution en taille des particules étudiées (Figure II-23). Cependant, cette méthode ne permet pas une mesure propre à chaque particule [76].

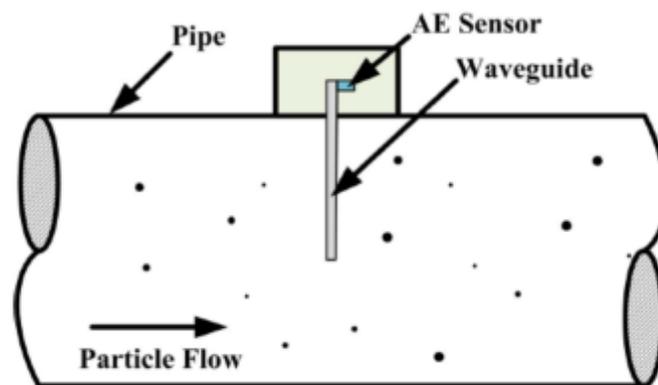


Figure II-23 : Dispositif pour la caractérisation de particules par émissions acoustiques [76]

D'autre part, des mesures à l'aide d'ultrasons peuvent être réalisées en excitant l'échantillon avec un signal ultrasonique. L'atténuation de ce signal est très sensible à la taille de particules mesurées et proportionnelle à leurs fractions volumiques [77]. Ainsi, il est possible d'obtenir une relation permettant de calculer la taille des micro-objets soumis aux ultrasons.

II.3.2.d Méthodes électrostatiques

Cette méthode permet de mesurer les charges électrostatiques qui découlent du mouvement des particules, les interactions entre elles ainsi que les chocs avec les murs d'une chambre pneumatique [78]. A partir de la mesure de la charge, une détermination de la taille des particules est alors possible. Cette méthode est toutefois très sensible aux changements de la vitesse d'écoulement et les mesures de taille peuvent être faussées. Par exemple, le détecteur électrostatique identifie une particule comme étant une charge, donc deux particules de taille différente mais possédant la même charge seront considérées comme identiques, ce qui est en réalité erroné [79].

II.3.2.e Spectroscopie de masse

La spectroscopie de masse est une technique de détection qui, en mesurant le ratio masse/charge, permet de caractériser des particules ionisées par le spectromètre de masse [80]. Pour des systèmes microfluidiques, les particules ou gouttelettes en écoulement dans les microcanaux passent à travers l'orifice du spectromètre de masse grâce à un procédé d'électrospray pour être analysées par l'appareil (Figure II-24). C'est une méthode sensible et ne nécessite pas de marqueurs [60]. Cependant, à cause de son caractère invasif, elle ne peut pas être appliquée à l'analyse de cellules vivantes comme c'est le cas en biologie ou en médecine.

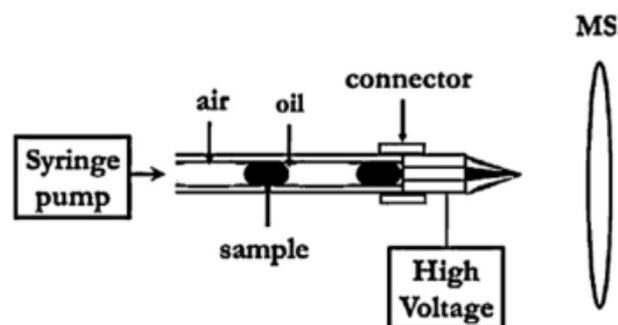


Figure II-24 : Dispositif de caractérisation de gouttelettes par spectroscopie de masse couplé à un dispositif d'électrospray [60]

Cependant, les méthodes non optiques citées précédemment permettent, comme résumé dans le Tableau II-2, d'obtenir une distribution de taille de particules dans un intervalle large et donnent accès à une valeur moyenne de la taille sur cet intervalle et non les caractéristiques de chaque particule individuellement. De plus, certaines de ces méthodes comme la méthode électrostatique est sensible à la vitesse d'écoulement et la spectroscopie de masse est invasive et donc non applicable à des cellules vivantes.

Tableau II-2 : Synthèse des avantages et inconvénients des différentes techniques de caractérisation

Techniques optiques	Avantages	Inconvénients	Techniques non optiques	Avantages	Inconvénients
Microscopie optique	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de l'ordre 80 nm - Résolution temporelle < ms 	<p>Applicable à des échantillons qui absorbent ou pas la lumière</p>	Sédimentation	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de l'ordre de 0,2 - 200 µm 	<ul style="list-style-type: none"> - Applicable à des faibles concentrations de particules - Caractérisation à température contrôlée
Diffraction laser Laser à fibre optique	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de l'ordre du nm - Temps de mesure court 	<p>Visualisation du volume à analyser</p> <p>Utilisation de marqueurs de fluorescence toxiques</p>	Magnétiques	<ul style="list-style-type: none"> - Non invasive - Résolution de 0,5 - 50 nm 	<ul style="list-style-type: none"> - Pas de mesures en temps réel - En présence de plusieurs matériaux nécessité d'utiliser une rai plus large donc une perte en résolution
Spectroscopie Raman	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de l'ordre de 1 – 10 µm 	<p>Distance focale à adapter à chaque échantillon</p> <p>Appareillage parfois couteux et nécessitant la maîtrise de la technique d'analyse</p>	Acoustiques	<ul style="list-style-type: none"> - Non invasive - Résolution de 20 - 250 µm 	<ul style="list-style-type: none"> - Distribution de taille de particule dans un intervalle large
			Electrostatique	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de 50 - 300 nm 	<ul style="list-style-type: none"> - Sensible à la vitesse d'écoulement - Sensibilité faible (deux particules possédant la même charge sont considérés comme identiques)
			Spectroscopie de masse	<ul style="list-style-type: none"> - Résolution de 50 -100 µm 	<ul style="list-style-type: none"> - Invasive donc non applicable à des cellules vivantes

Afin d'être en mesure de caractériser des micro-objets individuellement, nous nous sommes intéressés à la méthode dite du Coulter Counter ou de cytométrie à flux.

II.3.2.f La cytométrie en flux

Le principe de cette méthode est de faire circuler des microparticules en suspension à grande vitesse dans un canal pour procéder à leur comptage et leur caractérisation. Le premier cytomètre à flux fut le compteur Coulter (*Coulter Counter* en anglais) qui a révolutionné le comptage de cellules sanguines de façon automatique et à haut débit [81]. Comme le montre la Figure II-25, des microparticules en suspension passent du réservoir (1) au réservoir (2) à travers une ouverture d'environ 100 μm . Une tension continue est appliquée entre les deux électrodes plongées dans chacun des réservoirs et le passage des particules, une à une, modifie le flux de courant. La modification temporelle de ce courant se traduit par des transitoires de résistance dont l'amplitude est proportionnelle à la taille des microparticules [82]. De plus, les électrodes de mesure dans le réservoir (1) permettent d'arrêter le comptage pour un volume donné et ainsi d'obtenir le nombre de cellules par unité de volume.

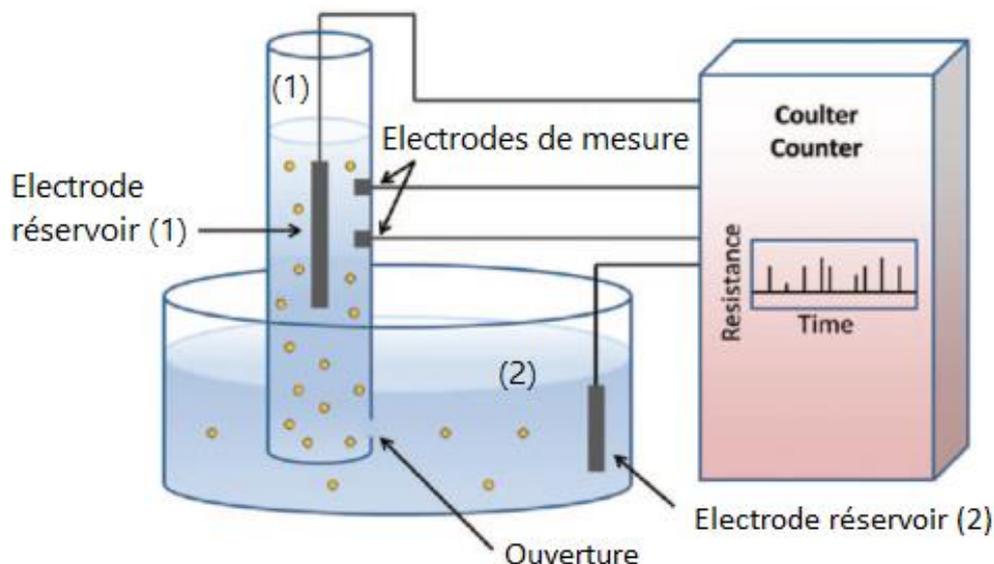


Figure II-25 : Schéma d'un compteur Coulter pour la caractérisation de particules passant à travers l'ouverture, adaptée à partir de [82]

Ce type de compteur de microparticules présente de nombreux avantages comme une large gamme de taille de particules (de 1 à 300 μm). Elle est simple à mettre en place et à calibrer et elle présente des temps d'analyse courts [58,63]. Cependant, les particules les plus volumineuses peuvent engendrer un bouchage de l'ouverture.

Cette méthode de comptage a pu, par la suite, être adaptée et utilisée dans des dispositifs microfluidiques. *Gawad et al.* ont été les premiers à proposer une cytométrie d'impédance microfluidique pour l'analyse de cellules uniques [83]. Ce dispositif (Figure II-26) repose sur la mesure de la variation différentielle de l'impédance à l'aide d'électrodes coplanaires. En appliquant un courant alternatif entre chaque couple d'électrodes, un champ électrique non uniforme est généré entre les électrodes et lors du passage d'une particule l'impédance dans le canal varie et est mesurée entre les électrodes A et C, impédance à laquelle est soustraite l'impédance du milieu mesurée entre les électrodes B et C. La vitesse d'écoulement de la particule peut être également calculée grâce à la mesure du temps entre les deux pics de d'impédance pour une distance parcourue connue [84]. Cependant, cette technique n'est pas applicable pour le passage de plusieurs microparticules en simultané. De plus, le calcul de la différentielle de l'impédance peut être faussé si les particules circulent à trop haute fréquence dans le microcanal.

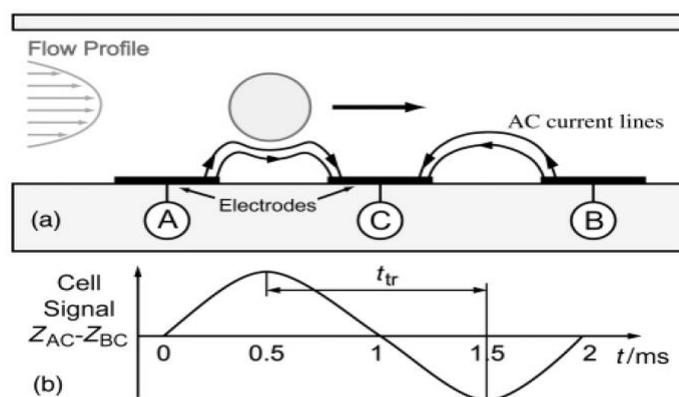


Figure II-26 : Dispositif de cytométrie d'impédance microfluidique pour l'analyse de cellules uniques [83]

Feng et al. ont utilisé la cytométrie d'impédance à flux couplée à une mesure d'impédance électrochimique pour caractériser des cellules cancéreuses encapsulées dans une solution phosphate-buffered saline (PBS) [85]. Les gouttelettes sont piégées grâce à une géométrie de canaux particulière (Figure II-27.A) qui s'écouleront suivant le chemin de moindre résistif suivant le débit Q_1 . La cytométrie d'impédance à flux permet, à partir de la variation de l'amplitude de l'impédance, le comptage et la caractérisation morphologique des différentes cellules. Les mesures d'impédance électrochimique quant à elles permettent d'extraire la conductivité du cytoplasme et la capacité spécifique de la membrane (C_{mem}) en utilisant le modèle électrique de la Figure II-27.B. Toutefois l'absence d'un système de séparation implique le piégeage de toutes les cellules sans distinction lors de leur passage dans le canal

microfluidique. Ainsi, toutes les cellules subissent une analyse par spectroscopie d'impédance là où seules les gouttelettes d'intérêt aurait pu être analysées.

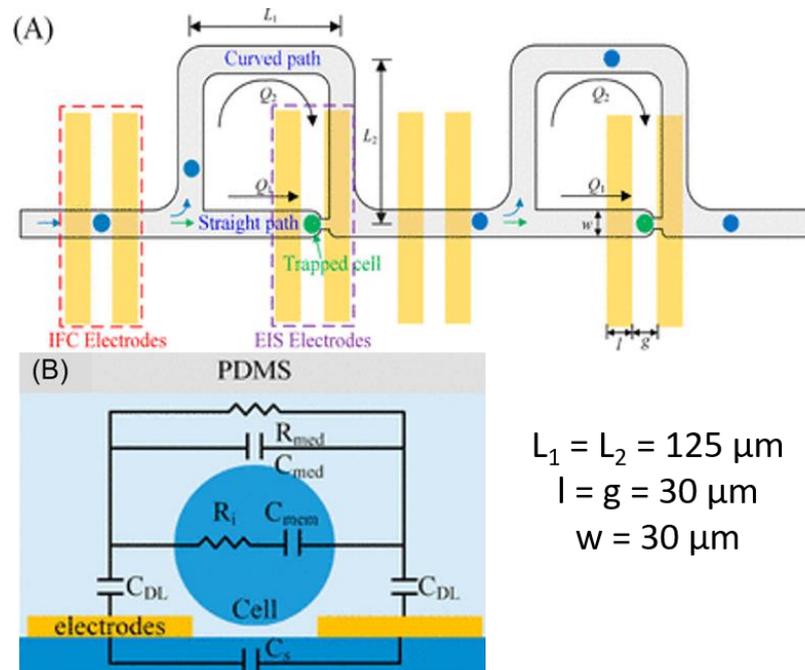


Figure II-27 : A. Schéma de la structure de la micropuce pour le passage et le piégeage des cellules par cytométrie d'impédance et mesure d'impédance électrochimique. Les électrodes pour la cytométrie d'impédance sont sous le canal principal et les électrodes pour la mesure d'impédance électrochimique sont sous le site de piégeage. B. Vue latérale du modèle électrique de cellule unique en suspension dans une solution [85].

En plus des cellules biologiques et sanguines, la mesure d'impédance peut être utilisée dans des dispositifs microfluidiques à gouttelette [86]. À l'aide d'électrodes intégrées au dispositif microfluidique, il est ainsi possible de remonter à la taille, la fréquence et la composition de gouttelettes circulant dans une phase continue [87,88]. Luo *et al.* ont généré des gouttelettes de solution aqueuse dans de l'huile dans un dispositif microfluidique comportant une jonction en T. Ils ont ainsi pu déterminer des concentrations allant de 0,02 à 1 mol/L dans des gouttelettes d'une dizaine de picolitres à l'aide de microélectrodes en or en imposant un signal carré de $1,8V_{c-c}$ (crête à crête) à une fréquence de 800 Hz [87]. Han *et al.*, de leur côté, ont réussi à mesurer la cinétique complète de la catalase en intégrant la méthode de détection électrochimique dans un système microfluidique à gouttelette [88].

Yakdi *et al.* ont également utilisé des microélectrodes en or pour mesurer les fluctuations de la résistance d'électrolyte entre deux microélectrodes intégrées dans un microcanal [89]. En effet, lors du passage d'une microparticule ou d'une gouttelette la résistance entre deux électrodes soit en augmentant (si la microparticule est plus résistive que le milieu) soit en diminuant (si la microparticule est plus conductrice que l'électrolyte). La réponse d'un tel

système se présente sous forme d'un pic de résistance dont l'amplitude est directement liée à la taille de la particule. Cependant, la phase dispersée utilisée dans ce cas est l'huile dans une phase continue aqueuse. L'huile n'étant pas un milieu viable pour des cellules sanguines par exemple, cet écoulement à gouttelette n'est donc pas applicable à l'encapsulation de cellules vivantes dans le but de procéder à leur analyse.

D'autres paramètres électrochimiques peuvent également permettre de caractériser des microparticules. Par exemple, *Sohn et al.* ont réalisé une cytométrie de capacité pour mesurer les variations de capacité en fonction des cellules soutenues dans un fluide en écoulement. Ils ont démontré l'existence d'une relation linéaire entre la capacitance et le contenu en ADN (pour une concentration de 10^5 cellules/ml) d'une cellule indépendamment d'espèces dont les cellules ont été analysées. La mesure de la capacité a pu être utilisée pour déterminer la composition de l'ADN à partir de cellules eucaryotes [90]. Les gouttelettes d'eau dans de l'huile circulant dans un canal microfluidique ont été détectées et leur taille et leur vitesse mesurées comme le montre les travaux de *Elbuken et al* [91]. En utilisant des électrode interdigitées (Figure II-28.a,b), il est possible de caractériser les gouttelettes passant devant les électrodes en mesurant leur capacité (Figure II-28.c).

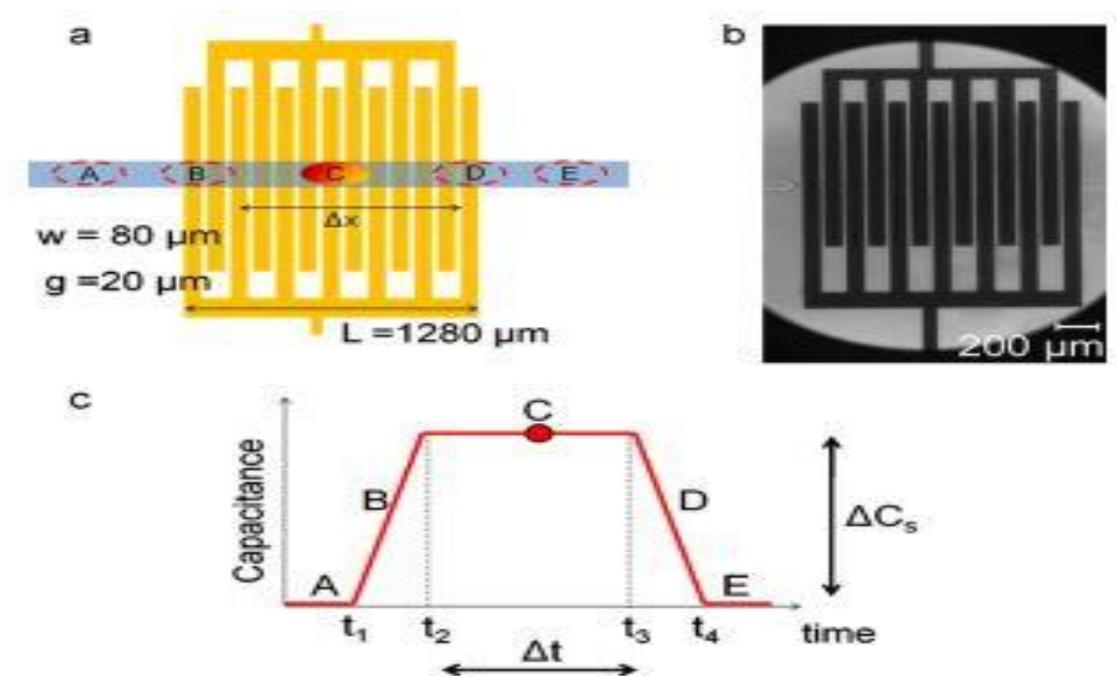


Figure II-28 : a) Schéma et b) image au microscope optique du capteur de gouttelettes avec microélectrodes d'or interdigitées. C. Signal idéal obtenu à partir du capteur pour les gouttelettes dans différentes positions [91]

Le suivi du courant peut être également utilisé pour déterminer la taille, la vitesse et la position de particules sphériques ou de gouttelettes [92,93]. Par exemple, *Lombardo et al.* ont

généralisé des gouttelettes de ferrocyanure de potassium mélangées à des chlorures de potassium dans une phase continue composée d'huile de silicone [94]. Le système de mesure utilisé est constitué de deux électrodes de travail (WE1 et WE2), une électrode de référence (RE) et une contre-électrode (CE), le tout dans un système miniaturisé (Figure II-29.A). Leurs expériences ont été menées pour suivre l'évolution du courant en fonction du temps (Figure II-29.B). Le signal obtenu permet de déduire la taille, la position et la vitesse des gouttelettes lors de leurs passages dans le canal. En effet, le temps t_0 correspond au moment où la gouttelette entre en contact avec la CE. Les temps t_1 et t_2 correspondent à l'instant où l'extrémité de la gouttelette quitte WE1 et WE2. Le courant chute à t_1 puis à t_2 et ces transitions correspondent à la fin de la contribution des deux électrodes de travail l'une après l'autre. La vitesse de la gouttelette est calculée à l'aide de l'intervalle $(t_2 - t_1)$ et la distance entre les deux électrodes de travail.

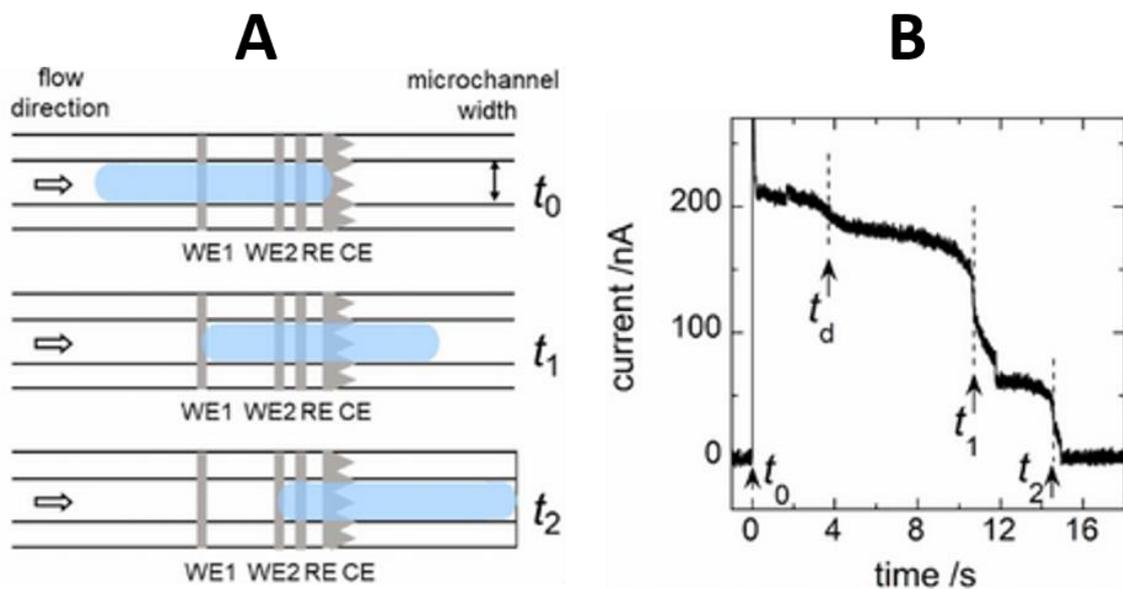


Figure II-29 : A. Schéma du dispositif miniaturisé et les différentes positions et les temps correspondants. B. Signal obtenu en ampérométrie avec les temps correspondant à chaque position [93]

Les exemples cités précédemment mettent en évidence l'utilisation de techniques reposant sur la mesure de grandeurs électrochimique pour la caractérisation de microparticules ou cellules dans des dispositifs microfluidiques. L'objectif de ce travail de thèse est de développer un système complet, représenté dans la Figure II-30, permettant la génération de gouttelettes, leur caractérisation, leur séparation et enfin l'analyse de leur contenu sur une seule puce microfluidique.

Dans un premier temps, des gouttelettes de PBS (phase dispersée) sont générées dans la phase continue qui est, dans notre cas, le liquide ionique « EMIMTFSI », choisi pour sa viscosité suffisamment importante pour permettre la génération de gouttelettes et sa conductivité mesurable, permettant de procéder aux mesures de résistance d'électrolyte.

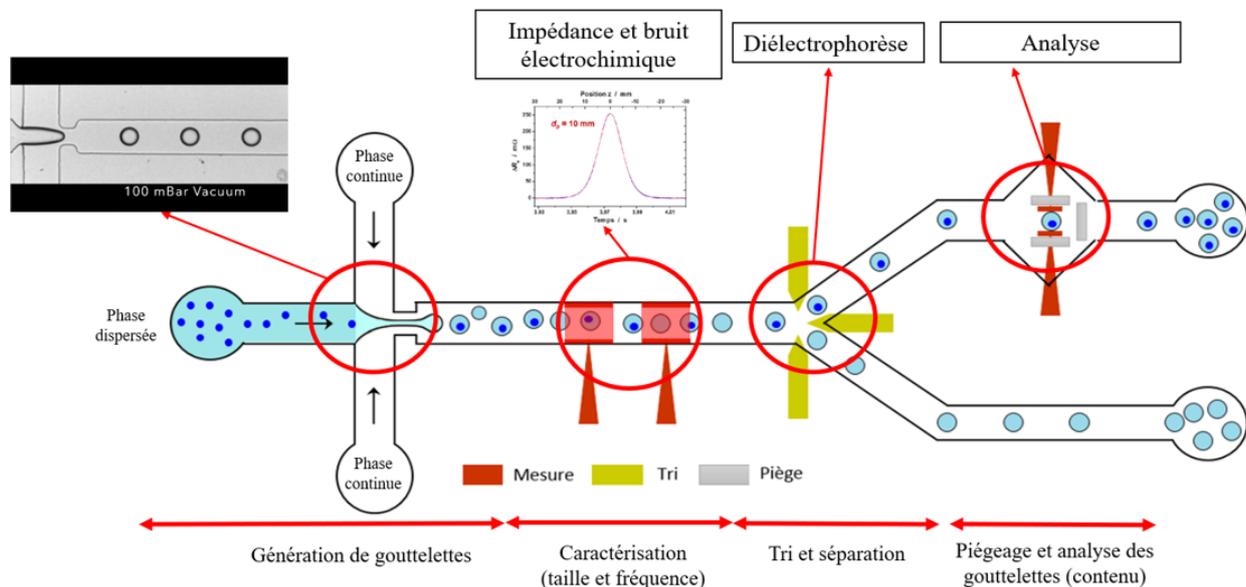


Figure II-30 : Configuration de la micropuce envisagée comportant la génération de gouttelettes, la caractérisation à l'aide de techniques électrochimiques, la séparation par diélectrophorèse et le piégeage en vue de l'analyse par spectroscopie d'impédance électrochimique de gouttelettes de phase dispersée en écoulement dans une phase continue.

Les gouttelettes sont ensuite caractérisées à l'aide de la technique dite du « bruit électrochimique ». En effet, à l'aide de microélectrodes coplanaire, cette technique permet de mesurer les variations de la résistance d'électrolyte en se plaçant à hautes fréquences (100 kHz). Un champ électrique non uniforme est généré entre les deux électrodes de caractérisation et l'écoulement de microparticules ou micro-objet perturbe les lignes de champ modifiant la résistance de l'électrolyte qui est mesurée par un couple d'électrodes. L'amplitude de la variation de la résistance d'électrolyte est reliée directement à la taille et la morphologie des gouttelettes, ce qui permet de caractériser ces gouttelettes en écoulement dans le microcanal en temps réel.

Les gouttelettes, une fois caractérisées, sont ensuite séparées, par taille, par diélectrophorèse en générant un champ électrique non uniforme permettant d'orienter les gouttelettes à analyser suivant la voie souhaitée.

Après la séparation, les gouttelettes sont immobilisées dans des pièges en PDMS afin de procéder à une analyse par spectroscopie d'impédance électrochimique et d'en déterminer le

contenu et différentier, par exemple, des cellules saines de cellules cancéreuses à partir de la conductivité du cytoplasme ou l'épaisseur de la membrane cellulaire de chaque cellule analysée.

Conclusion

Dans la première partie de ce chapitre, nous avons introduit la microfluidique. Pour cela, nous avons en premier lieu décrit la physique qui régit les phénomènes d'écoulement au sein des microcanaux. Par la suite, nous avons décrit les écoulements diphasiques et en particulier l'écoulement à gouttelette. Les différentes géométries de canaux et régime d'écoulement à gouttelette ont été détaillées et les principaux paramètres d'influence sur la génération des gouttelettes ont été explorés.

Dans la deuxième partie, les techniques de caractérisation de micro-objets circulant dans un canal microfluidique ont été présentées et nous nous sommes particulièrement intéressés à une méthode non optique qui est la technique électrochimique.

Cette technique est prometteuse pour de nombreuses applications notamment l'analyse de cellules unique. Elle présente l'avantage d'être non-invasive et, contrairement aux méthodes optiques, elle ne nécessite pas une visualisation du volume réactionnel.

Chapitre 2

Techniques de microfabrication

III. Techniques de microfabrication

Les techniques de microfabrication telles que la photolithographie et la lithographie ont littéralement révolutionné la fabrication de circuits intégrés à l'image de l'apparition des transistors à la fin du 20^{ème} siècle. Ceci a permis d'ouvrir la voie à un domaine appelé la microfluidique. En effet, de nombreuses recherches ont été menées afin d'adapter les techniques utilisées en microélectronique à des applications en microfluidique [95,96].

Le principal challenge fut de remplacer des matériaux durs comme le silicium largement utilisé en microélectronique par des matériaux plus souples ou élastiques comme le PDMS. La technique la plus répandue en microfluidique est la lithographie molle. Elle repose sur la fabrication d'un réplica par moulage à l'aide d'un moule comportant le motif à reproduire. D'autre part, des méthodes telles que la PVD (Physical Vapor Deposition) est utilisée pour le dépôt de métaux afin de procéder à la fabrication de microélectrodes utilisées pour les mesures électrochimiques.

Dans ce chapitre, les techniques utilisées seront détaillées et les différentes conditions de microfabrication telles que le travail en salle blanche seront évoquées. Les fluides utilisés pour la phase continue et la phase dispersée seront décrits. En outre, le dispositif expérimental permettant d'obtenir un écoulement à gouttelette dans la puce microfluidique sera mis en évidence.

III.1 Salle blanche

Les puces microfluidiques sont constituées de canaux de taille micrométrique, de l'ordre de 100 μm . Elles sont donc sensibles aux microparticules présentes dans l'air susceptibles de polluer ou de boucher les canaux. Par conséquent, la fabrication des puces s'effectue dans une salle blanche en milieu « propre » où le nombre de particules dans l'air est contrôlé et les pollutions extérieures minimisées.

De plus, certaines contaminations sont produites par le corps lui-même tel que des cheveux, les peaux mortes ou encore les poils. Afin de les minimiser, il est indispensable de porter les équipements spécifiques comme une combinaison, des gants et des surchaussures avant d'entrer en salle blanche.

Au cours de ce travail, les différentes étapes de fabrication ont été réalisées dans deux salles blanches différentes. La première est celle de l'Institut Pierre-Gilles de Gennes (IPGG)

qui est constituée d'une plateforme technologique. Les équipements qui sont mis à disposition permettent de réaliser les moules sur substrat en silicium soit à l'aide de dépôt de SU8 par spin coating, soit par l'utilisation de galettes sèches de résine (dry film).

La deuxième salle blanche est celle de l'Institut des Nano Sciences de Paris (INSP) sur le campus Pierre et Marie Curie de Sorbonne Université. Elle comporte deux zones, l'une en classe ISO6 et une autre en ISO7 [97]. C'est au sein de cette salle propre que s'effectue la lithographie molle pour la fabrication des canaux en PDMS ainsi que l'assemblage de la puce microfluidique grâce à un collage par plasma O₂.

III.2 Les techniques de microfabrication

La fabrication d'une puce microfluidique fait intervenir plusieurs techniques successives pour obtenir le résultat final souhaité. Dans la section suivante certaines techniques et étapes clés de la microfabrication seront décrites.

III.2.1 Photolithographie

III.2.1.a Principe de la technique

La photolithographie permet de reproduire un design sur un substrat recouvert de résine photosensible et d'obtenir, suite à l'insolation UV à travers un masque, un motif en négatif dans le moule [98]. Celui-ci permettra par la suite d'effectuer la lithographie molle pour obtenir un réplica en PDMS.

III.2.1.b Le masque

Un masque standard de photolithographie est constitué d'un substrat transparent aux rayonnements ultra-violet (verre soda-lime) sur lequel est déposé une fine couche d'un matériau opaque aux UV (chrome). Cette couche métallique opaque aux UV est préalablement structurée dans notre cas par écriture laser directe DWL (Direct Writing Laser) suivant un motif élaboré à l'aide du logiciel CleWin.

Ce type de masque est réalisé suivant plusieurs étapes (Figure III-1). Dans un premier temps, le substrat de verre soda-lime est recouvert d'une fine couche de chrome suivie d'une couche de résine photosensible. Suivant le motif souhaité, la tête du laser UV va se déplacer et venir insoler localement la résine. S'en suit une étape de développement de la résine insolée et une gravure chimique permettant de retirer le chrome non protégé par la résine. La solution utilisée est une solution aqueuse commerciale nommée « Cr etch » et composée d'un mélange de nitrate de cérium et d'ammonium avec de l'acide perchlorique. Enfin, la résine non insolée

est retirée dans un bain d'acétone. Le chrome restant sur le substrat représente alors les zones de masquage voulues pour la photographie par la suite.

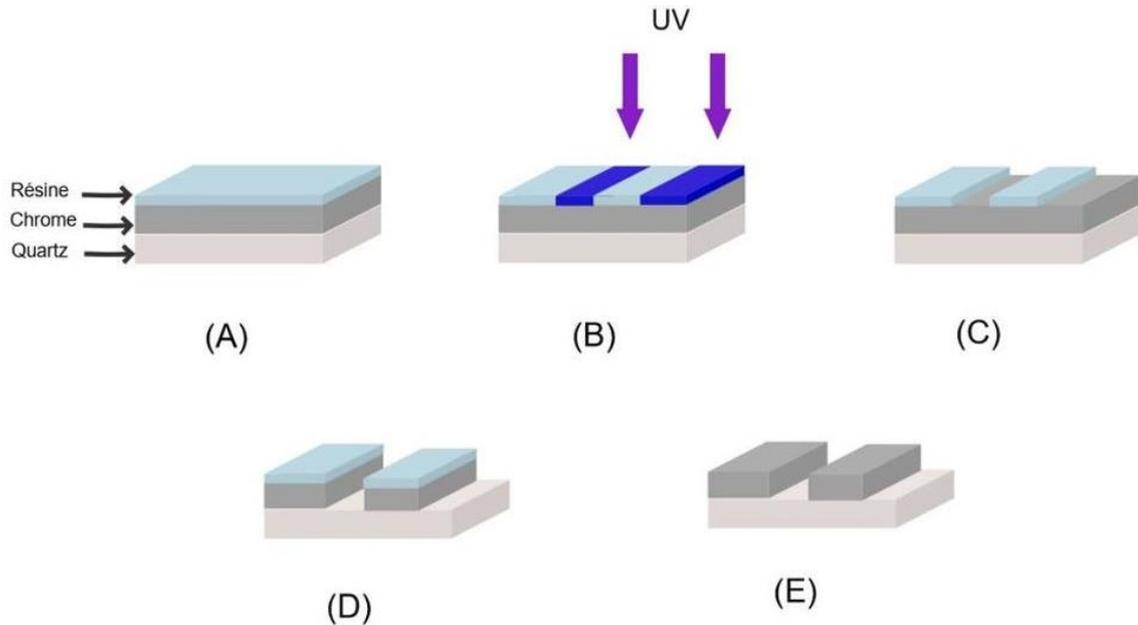


Figure III-1 : Etape de fabrication du masque soda-lime/chrome. (A) Dépôt de chrome et de résine positive sur le substrat en verre soda-lime. (B) Insolation UV de la résine positive. (C) Développement de la résine suite à son exposition aux rayons UV. (D) Gravure chimique pour retirer le chrome non protégé par la résine (E) Retrait de la résine restante

III.2.2 Fabrication de moules

III.2.2.a Fabrication du moule par photolithographie

La fabrication du moule contenant le motif souhaité se fait en plusieurs étapes [98] (Figure 2) :

- Le dépôt de la résine sur le substrat (Figure III-2.A) : cette étape est précédée d'un séchage du wafer, ou un bain dans une solution piranha, pour retirer toutes traces d'eau sur la surface. Pour déposer la résine sur le substrat, une goutte de résine photosensible (SU8 *MicroChem 2035*) est déposée au centre du wafer en silicium et est étalée par enduction centrifuge (spin coating). L'épaisseur de la couche de résine dépend de la vitesse de rotation du plateau tournant, de son accélération et de la durée de la rotation.
- Exposition aux UV : l'insolation se fait avec une lampe UV (Figure III-2.B). Le temps d'exposition aux UV est défini en fonction de l'intensité de la lampe, de la résine utilisée et de l'épaisseur souhaitée. Deux types de résine peuvent être utilisées : la résine positive qui se dissout après exposition au rayon UV et qui ainsi disparaît lors du développement, et la résine négative qui se réticule lors de l'insolation, provoquant ainsi la disparition des parties protégées par le masque lors du développement. La résine

utilisée dans ce projet est la SU8 (*MicroChem 2035*) qui est une résine négative. Avant l'étape de développement, le moule est soumis à une étape de recuit sur plaque chauffante à 65°C puis 95 °C afin de fixer la résine.

- Le développement de la résine : Le développement (Figure III-2.C) consiste à plonger le wafer et sa résine après insolation dans un bain de SU-developer vendu par le fournisseur, suivi d'un rinçage à l'isopropanol afin de retirer la résine restante et obtenir ainsi le motif qui servira de moule.

Les conditions d'enduction, d'insolation et de développement appliquées lors de la fabrication du moule sont données par le fournisseur et sont résumées dans le Tableau III-1.

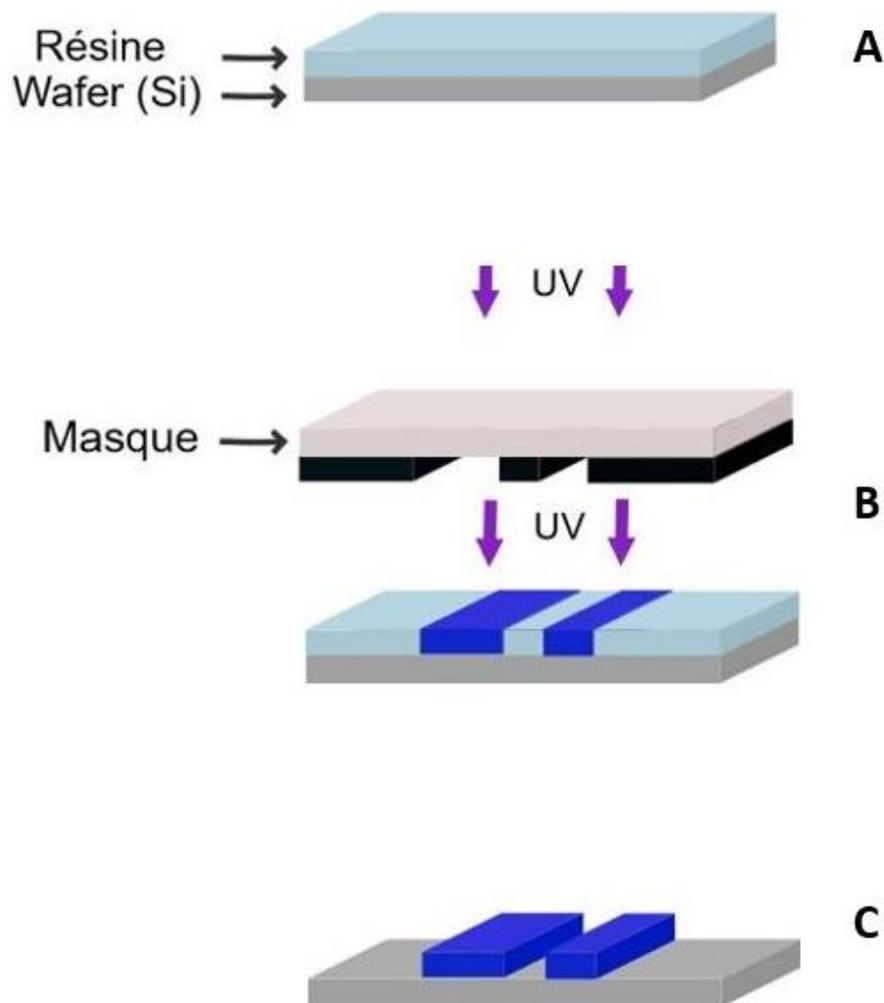


Figure III-2 : Etape de photolithographie pour la fabrication du moule Si/SU8. (A) Dépôt de la résine photosensible négative sur le wafer en silicium. (B) Insolation par rayons UV à travers le masque soda-lime/chrome et réticulation de la résine. (C) développement de la résine non réticulée et obtention du moule

Tableau III-1 : Paramètres imposés pour procéder à la photolithographie

1- Spin coating			
Etape	Tours par min	Durée	Accélération
1	300 tr	10 s	200 tr/min
2	1800 tr	30 s	300 tr/min
2- Recuit soft-bake			
Etape	Durée	Température	
1	3 min	65 °C	
2	7 min	95 C	
3- Exposition UV			
$\text{Temps d'exposition à l'UV} = \frac{\text{Puissance nécessaire pour la résine utilisée}}{\text{Puissance de la lampe} \times 70\%}$ <p>(Les 70 % permettent de prendre en considération les 30% de perte d'énergie)</p>			
4- Recuit post-bake			
Etape	Durée	Température	
1	2 min	65 °C	
2	6 min	95 °C	
5- Développement			
Etape	Durée	Solution	
1	8 min	SU-developer	
2	1 min	Isopropanol	
3	Séchage à l'air comprimé		

Par la suite plusieurs vérifications sont nécessaires pour vérifier la qualité du moule fabriqué. La résolution du motif est observée par microscopie optique et la hauteur de la résine déposée est mesurée à l'aide d'un microscope électronique à balayage (Figure III-3).

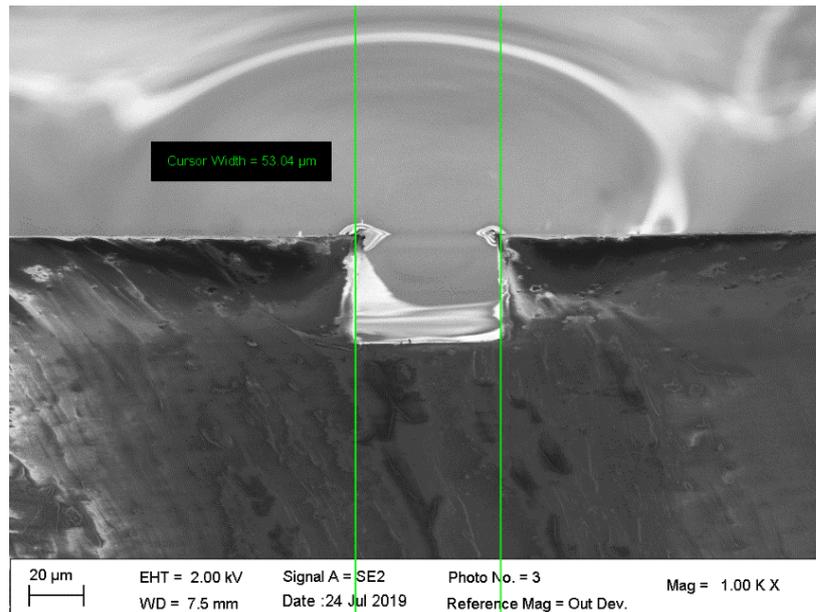


Figure III-3 : Observation au microscope électronique à balayage pour la vérification de la taille des canaux en PDMS

Il est également important de préciser que le dépôt de la résine par spin coating engendre une accumulation de la résine aux bords du wafer et donc une épaisseur plus importante limitant ainsi la zone exploitable sur le wafer. Pour s'affranchir de cette contrainte, une impression en 3D des moules a été réalisée.

III.2.2.b Fabrication de moule par impression 3D

L'impression des moules en 3D a été effectuée à l'aide d'une imprimante Form3 de la société Formlabs. Le principe de fonctionnement de cette imprimante repose sur la stéréolithographie. Cette méthode de fabrication additive permet d'obtenir un objet à partir de son prototype numérique réalisé avec un logiciel CAO. Le prototype est importé sur le logiciel d'impression pour apporter les réglages souhaités (épaisseur des couches, résolution, disposition, ...) et ensuite lancer l'impression directement (Figure III-4). La résine liquide est polymérisée à l'aide d'une source de lumière (laser) suivant une succession de couche 2D d'épaisseur fixée. L'addition de plusieurs couches en 2D permettra à la fin d'obtenir l'objet final en 3D. Une fois l'impression terminée, les pièces subissent une étape de rinçage dans un bain d'isopropanol pendant 15 minutes pour nettoyer la résine non polymérisée suivi d'une post polymérisation pour obtenir un dispositif résistant et stable.

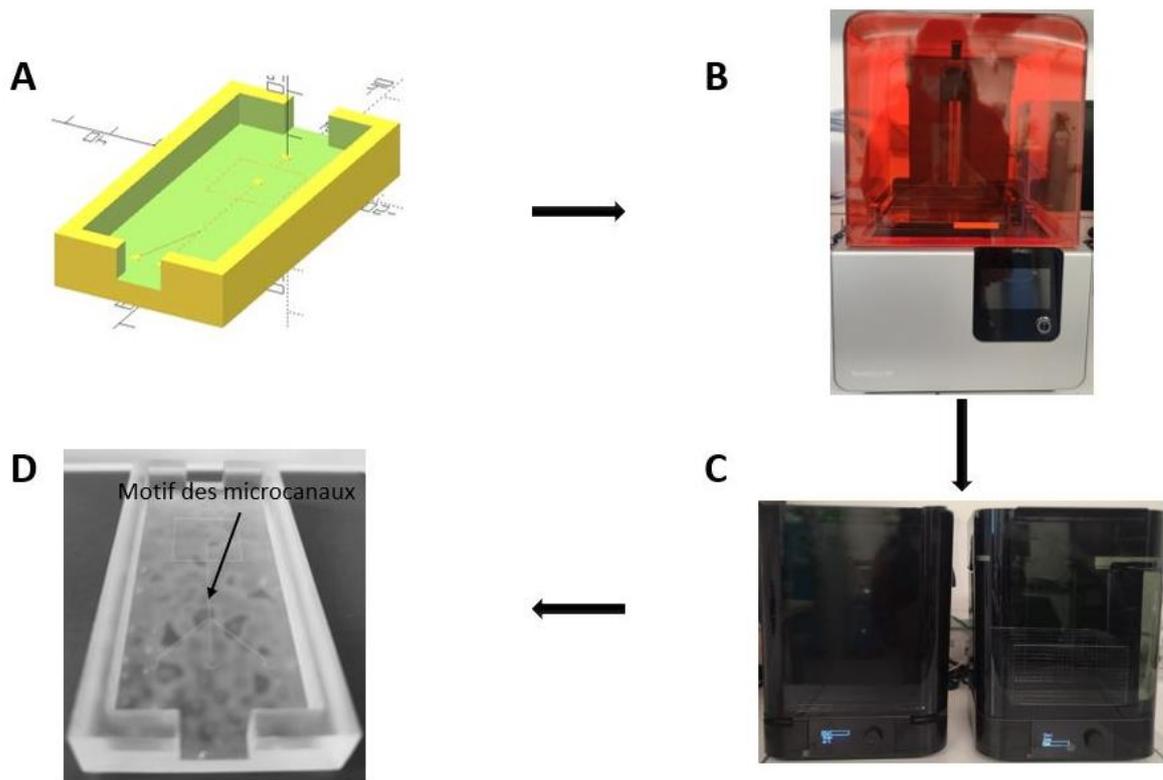


Figure III-4 : Etapes de l'impression 3D du moule. (A) Conception du moule sur Openscad. (B) Impression sur l'imprimante Form3 de Formlabs. (C) Nettoyage et recuit du moule (D) Exemple de moule en résine comportant les motifs des canaux.

Le principal avantage de la stéréolithographie est la rapidité d'impression. De plus, cette technique offre une polyvalence dans la création de différentes géométries de microcanaux.

Une fois le moule obtenu il est possible maintenant de fabriquer les microcanaux de la puce en suivant la méthode de la lithographie molle.

III.2.3 La lithographie molle

La lithographie molle est une méthode très utilisée en microfabrication [99]. Elle consiste à reproduire des microstructures à partir d'un moule ou d'un tampon à l'aide d'un matériau élastomère. La méthode de lithographie molle à laquelle nous avons eu recours est le *réplica par moulage*. Pour ce type de lithographie, le PDMS est l'élastomère le plus utilisé. A l'état liquide, il est mélangé à un agent réticulant dans un rapport de 10:1. En effet, l'ajout de l'agent réticulant permet d'obtenir un matériau élastique (Figure III-6) après le recuit. Le mélange est ensuite dégazé sous vide afin de se débarrasser des bulles d'air. Il est ensuite coulé sur le moule Si/SU8 ou le moule imprimé en 3D et est réticulé dans le four à 80°C pendant au moins 3h. La dernière étape consiste à décoller délicatement le PDMS réticulé du moule et obtenir les canaux

correspondant au relief de la résine du moule (Figure III-5). Les entrées et sorties des microcanaux sont réalisées à l'aide d'un emporte-pièce.

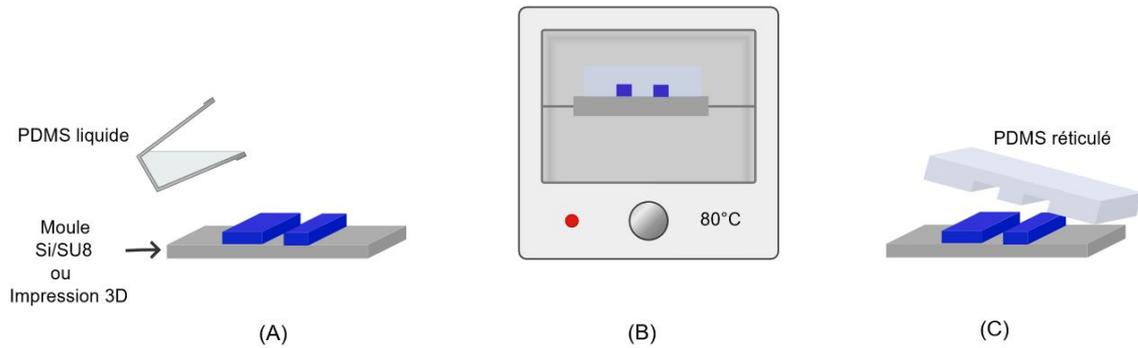


Figure III-5 : Etape de lithographie molle. (A) Couler le PDMS liquide sur le moule. (B) mettre à l'étuve pendant 3h à 80°C. (C) démouler le PDMS réticulé contenant le motif des canaux

Le PDMS a été utilisé pour son caractère hydrophobe, ce qui facilite la génération de gouttelettes de solution aqueuse dans des microcanaux. Il est également biocompatible [100]. De plus son coût est abordable et il est simple d'utilisation. Cependant, son principal inconvénient réside dans le fait qu'il est impossible de faire un dépôt métallique dessus. Les microélectrodes en or, nécessaires pour la caractérisation électrochimique et la séparation, doivent donc être déposées sur un autre substrat par exemple le verre et dans ce cas il est possible de coller le PDMS sur le verre. Le procédé de dépôt des microélectrodes est décrit dans la section suivante.

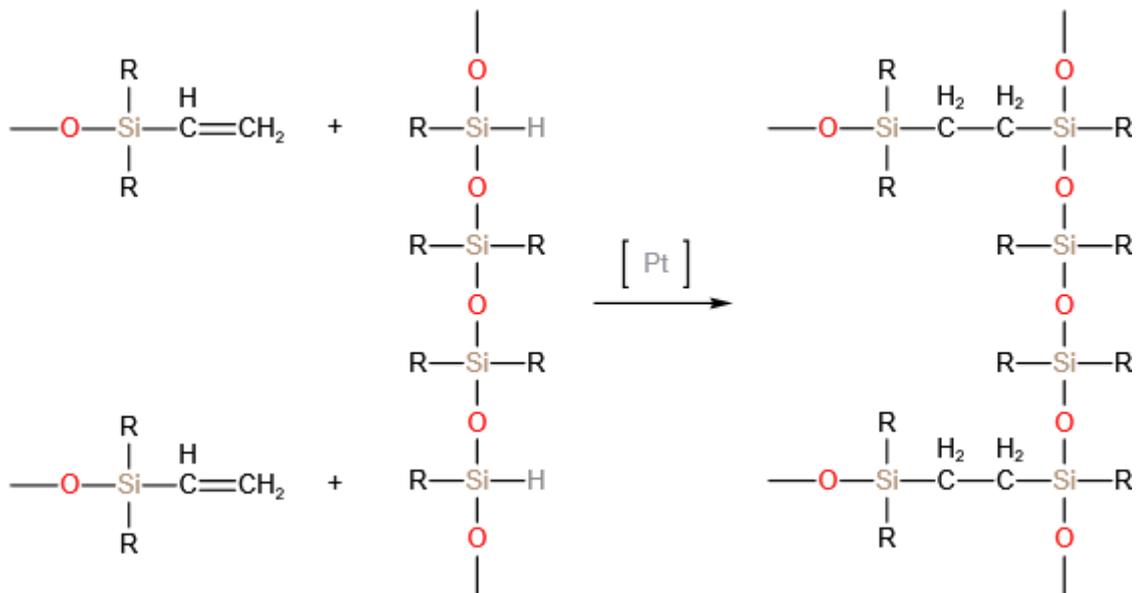


Figure III-6 : Réticulation du PDMS

III.2.4 Le lift-off

Le procédé lift-off permet de fabriquer les microélectrodes d'or sur un substrat en verre [96]. Le procédé se déroule en plusieurs étapes comme décrit dans la Figure III-7.

- Écriture laser UV directe et développement : Un appareil d'écriture laser UV directe (Heidelberg DWL 66fs) est utilisé et dans ce cas l'utilisation d'un masque de photolithographie n'est pas nécessaire. Ce dernier est remplacé par un fichier informatique qui permettra de piloter la machine. Son mode de fonctionnement repose sur le principe de photopolymérisation et offre une résolution pouvant atteindre le micron. Le rayon laser UV produit ($\lambda = 405\text{nm}$) insole localement la résine positive (AZ1512HS) déposée au préalable par spin coating sur la lame de verre. Une fois la résine exposée au rayonnement UV, elle se dissout lors du développement dans une solution d'AZ 351B 1 :4.
- Dépôt métallique : Un dépôt par évaporation thermique d'une couche d'accroche de 10 nm de chrome ou de titane est réalisé, suivie d'une couche d'or de 200 nm est effectué sur toute la surface de la lame de verre.
- Développement de la résine : La lame est ensuite plongée dans un bain d'acétone pour dissoudre la résine restante sur l'échantillon. La résine va alors entraîner avec elle les parties métalliques indésirables ne faisant pas partie des motifs voulus. On obtient ainsi une lame contenant le motif des microélectrodes souhaitées.

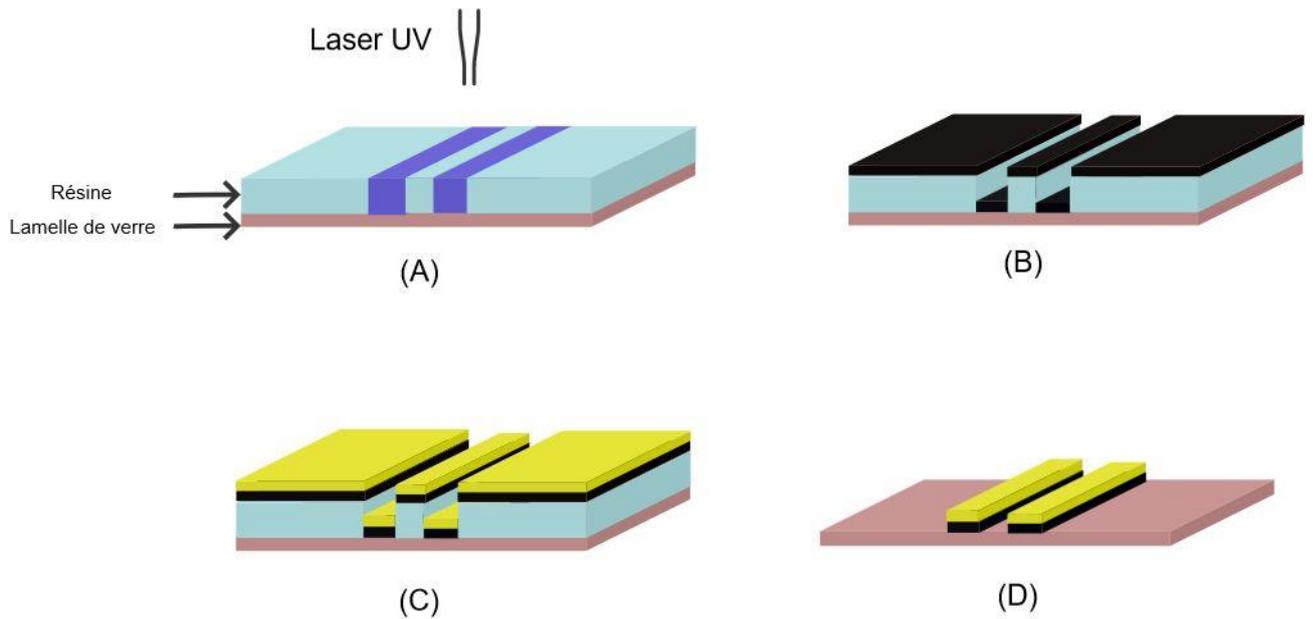


Figure III-7 : Etapes du procédé lift-off. (A) Écriture laser UV directe sur la résine positive déposée, puis développement de la résine. (B) Dépôt d'une couche de chrome par PVD. (C) Dépôt d'une couche d'or par PVD. (D) Retrait de la résine dans un bain d'acétone

Le procédé lift-off est précédé par une étape de nettoyage rigoureuse et indispensable des lames de verre vierges pour assurer un rendu le plus fiable possible au niveau des microélectrodes. Dans un premier temps les lames sont plongées dans une solution piranha (3 volumes d'acide sulfurique à 96% + 1 volume de peroxyde d'hydrogène à 30%) pendant 15 min. Elles sont ensuite rincées à l'eau et plongées dans un bain d'acétone sous ultrasons pendant 10 minutes, puis dans un second bain d'isopropanol pendant 10 minutes. Pour finir, elles passent par une étape de séchage à l'azote ainsi qu'une vérification visuelle rapide pour s'assurer qu'il n'y a pas d'impuretés ou de traces à la surface du verre.

En fonction de l'utilisation des microélectrodes, différentes configurations sont réalisées pour la caractérisation et la détection des microparticules. Les microélectrodes sont disposées côte à côte (électrodes coplanaires) comme le montre la Figure III-8.A. Différentes tailles et distances inter-électrode (DIE) peuvent être utilisées afin de montrer leur impact sur les résultats obtenus. Pour ce qui est de la séparation par diélectrophorèse un système de trois électrodes est utilisé. L'électrode du milieu qui en en commun est considérée comme la masse (Figure III-8.B)

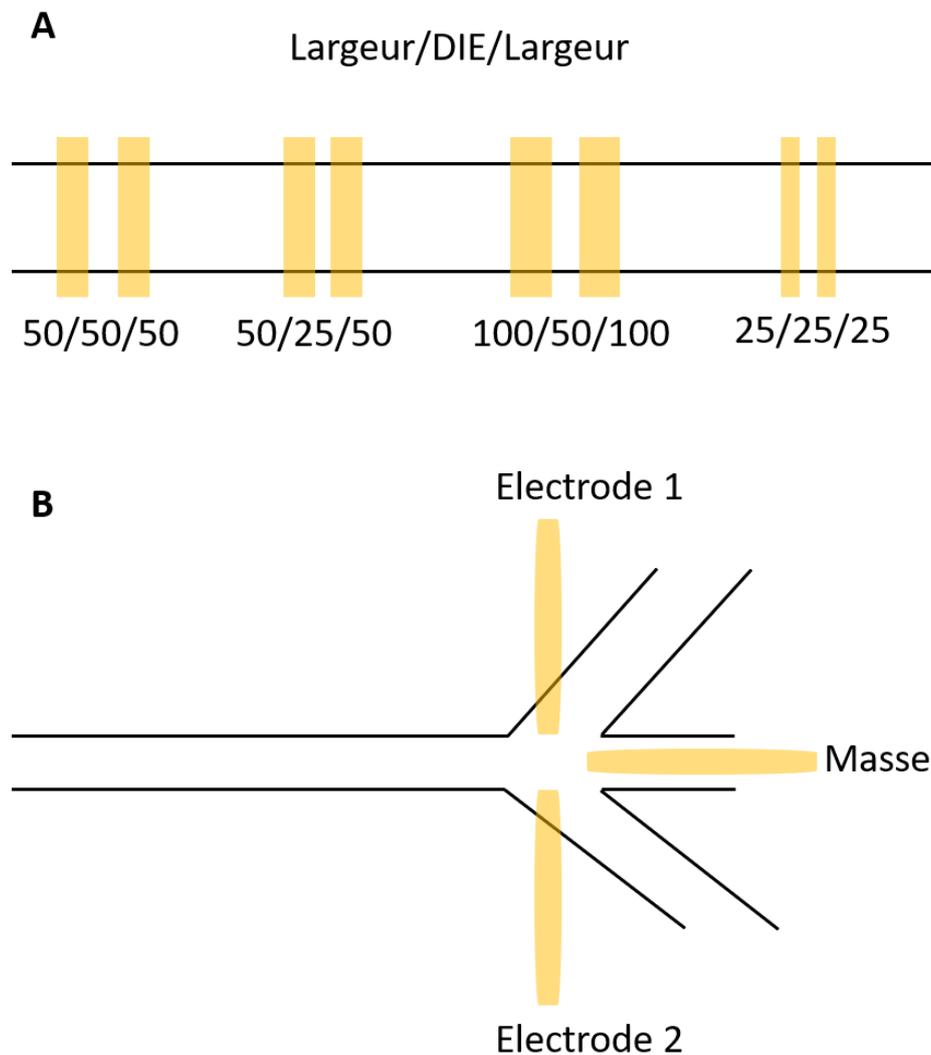


Figure III-8 : A. Configuration des microélectrodes de caractérisation et de mesures et B. Configuration des électrodes de séparation par diélectrophorèse

III.2.5 Le collage PDMS – verre

Le collage des canaux en PDMS et des microélectrodes en or sur substrat en verre est effectué à l'aide d'un traitement par plasma d'oxygène dans un plasma cleaner [101]. Comme décrit sur la Figure III-9, les deux faces à coller sont activées par plasma O_2 . Ainsi pour le PDMS, le groupement méthoxy $O-CH_3$ est remplacé par le groupement silanol $Si-OH$ et le verre s'oxyde. A leur sortie du plasma cleaner les deux surfaces sont mises en contact et les liaisons covalentes $Si-O-Si$ se forment à l'interface des deux parties. Enfin, une étape de consolidation du collage est réalisée en mettant la puce à l'étuve pendant au moins 3 heures à $80^\circ C$.

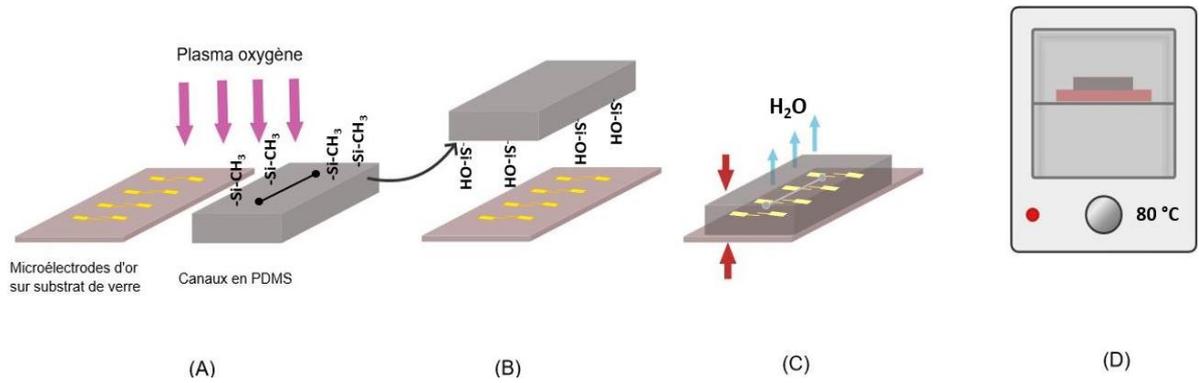


Figure III-9: Collage des canaux en PDMS avec les microélectrodes sur substrat de verre. (A) Activation des deux surfaces par plasma O₂. (B) Les deux composants sont mis face à face pour procéder au collage. (C) Mise en contact des deux surfaces et dégagement des molécules d'eau. (D) Etape de consolidation du collage dans le four à 80°C

Cependant l'une des principales problématiques rencontrées lors de la microfabrication était la qualité du collage pas plasma. En effet, bon nombre des puces présentaient des fuites, conséquence directe d'un collage inefficace, en particulier celles fabriquées sur un wafer en verre en les comparant aux lamelles de verre classique.

Nous avons donc effectué plusieurs analyses paramétriques afin de réunir les conditions nécessaires à un bon collage. La première concerne le procédé de nettoyage du verre et du PDMS. En effet, afin de d'éliminer toutes les impuretés présentes à la surface du verre, différents solvant ont été testés pour des temps d'immersion de 10 ou 20 minutes, avec ou sans ultrasons et avec ou sans séchage comme représenté sur le Tableau III-2.

Tableau III-2 : Récapitulatif de l'étude paramétrique du procédé de nettoyage du verre avant le collage par plasma oxygène

	Wafer en verre	Lamelle de verre	Wafer en verre	Lamelle de verre
Acétone	Red	Green	Yellow	Green
Isopropanol	Red	Green	Yellow	Green
Ethanol	Red	Green	Yellow	Green
Acétone + Ethanol	Yellow	Green	Yellow	Green
Acétone + Isopropanol	Yellow	Green	Yellow	Green
Acétone + Ultrasons + séchage au four	Yellow	Green	Yellow	Green
Ethanol + Ultrasons + séchage au four	Yellow	Green	White	Green
Temps d'immersion dans chaque solution	10 minutes		20 minutes	

Bon collage	Collage moyen	Quelques zone collées	Traces sur le verre	Absence de collage
-------------	---------------	-----------------------	---------------------	--------------------

A l'issue de cette étude, nous avons remarqué que le procédé de nettoyage qui permettait le meilleur collage était un bain l'éthanol pendant 20 minutes suivi d'un nettoyage aux ultrasons (20 minutes) et enfin un séchage au four pendant 20 minutes.

Le même nettoyage a été effectué pour le PDMS après avoir effectué les entrées et les sorties des canaux à l'emporte pièces afin d'éliminer les éventuels débris de PDMS qui pourraient venir boucher le canal après.

Le deuxième facteur étudié était le temps d'exposition plasma O₂ afin d'estimer le meilleur intervalle de temps pour activer les deux surfaces. Trois temps d'exposition ont été testés : 30s, 1 min et 1min30 donc les résultats sont présentés dans le Tableau III-3.

Tableau III-3 : Récapitulatif de l'étude paramétrique des temps d'expositions au plasma oxygène du verre et du PDMS

	Wafer en verre	Lamelle de verre	Wafer en verre	Lamelle de verre	Wafer en verre	Lamelle de verre
Acétone	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair	Rouge	Vert clair
Isopropanol	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair	Rouge	Vert clair
Ethanol	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair
Acétone + Ethanol	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair
Acétone + Isopropanol	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair	Orange	Vert clair
Acétone + Ultrasons + séchage au four	Orange	Vert foncé	Orange	Vert foncé	Orange	Vert clair
Ethanol + Ultrasons + séchage au four	Vert clair	Vert foncé	Vert clair	Vert foncé	Orange	Vert clair
Temps d'exposition au plasma	00:30		01:00		01:30	
Bon collage	Collage moyen	Quelques zone colées	Traces sur le verre	Absence de collage		

La durée la plus optimale se situe dans un intervalle de 30 à 60 secondes. Dans notre cas nous avons appliqué le plus souvent 45 secondes.

D'autre part, le collage à l'œil nu est très difficile vue la taille micrométrique des canaux et les électrodes. Pour pallier ce problème, un dispositif d'alignement (Figure III-10) a été développé lors de ce travail de thèse afin de disposer les microélectrodes à l'endroit souhaité par rapport au microcanaux en PDMS.

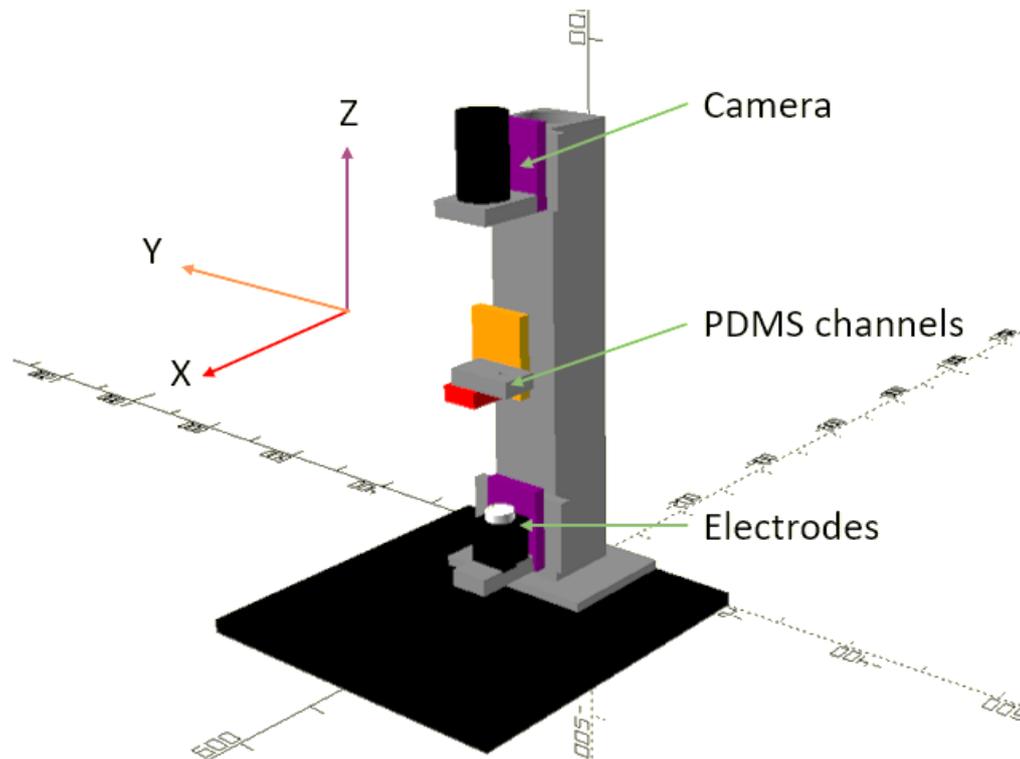


Figure III-10 : Dispositif d'alignement pour les puces microfluidiques.

En effet, dans le cas où les microélectrodes de mesures ne sont pas positionnées de façon à mesurer uniquement les variations de la résistance d'électrolyte (Figure III-11) lors du passage de gouttelettes les résultats obtenus sont inexploitable.

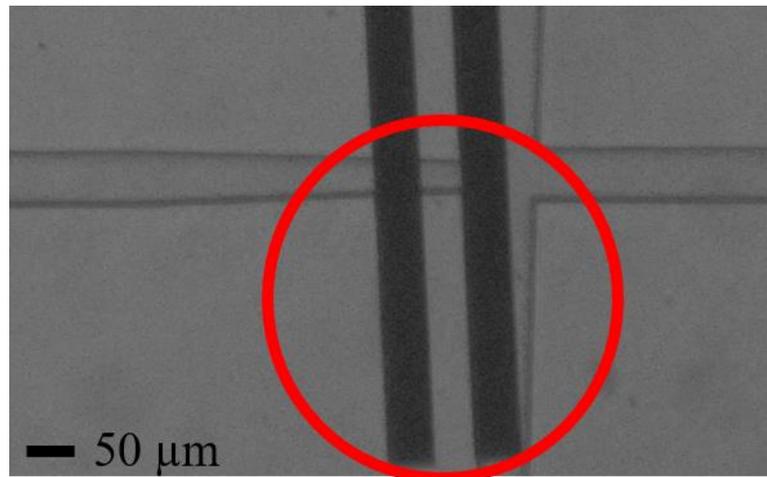


Figure III-11 Image de micropuce collé à l'œil nu sans dispositif d'alignement.

Sur le dispositif d'alignement de la Figure III-10, la caméra est positionnée sur un support et dispose d'un micromanipulateur se déplaçant suivant l'axe Z afin de régler la distance focale avec une précision de 1 μm .

Les électrodes sont placées sur un support imprimé en 3 D (Figure III-12) et fixé à un micromanipulateur suivant l'axe X et Y ($1\mu\text{m}$ de précision) et une rotation propre suivant l'axe Z d'une précision de $0,2^\circ$.

Pour finir le PDMS est fixé lui aussi sur un support imprimé en 3 D représenté sur la Figure III-12 et relié à des micromanipulateurs se déplaçant en Z et Y ($1\mu\text{m}$ de précision).

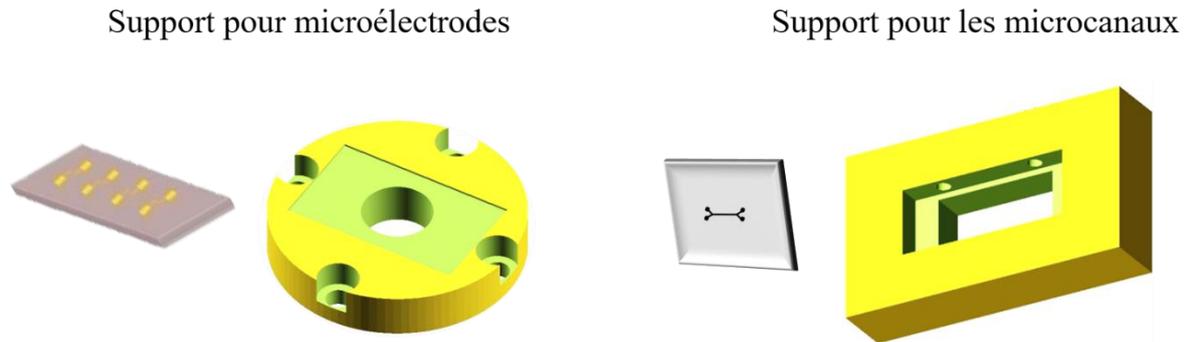


Figure III-12 : Supports imprimés en 3D pour les microélectrodes et les microcanaux utilisées dans le dispositif d'alignement.

Une fois que les deux surfaces à coller sont exposés au plasma, elles sont placées sur le système d'alignement afin d'obtenir un angle de 90° entre les électrodes et les microcanaux comme sur la Figure III-13.

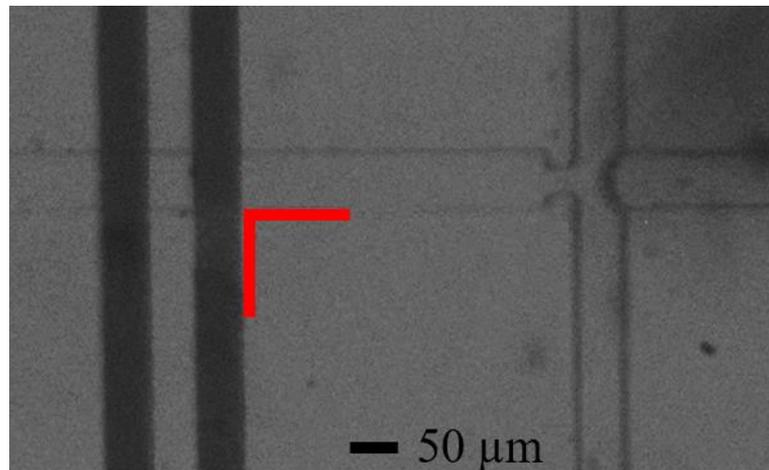


Figure III-13 : Image de micropuce collée à l'aide du système d'alignement avec un angle de 90° entre les microcanaux et microélectrodes.

Ce dispositif présente l'avantage d'être adaptable aux dimensions du système. En pratique nous l'avons utilisé pour différentes tailles d'électrodes et de microcanaux juste en adaptant les supports imprimés en 3D à la taille du PDMS et des lamelles en verre. De plus, la répétabilité

du collage permettant d'obtenir toujours les mêmes angles entre les microélectrodes et les microcanaux permet d'avoir une surface actives identiques entre les microélectrodes présentes dans les différentes micropuces et ainsi comparer les résultats obtenus dans chaque micropuce.

Une fois le collage effectué, la puce microfluidique est prête à être utilisée en introduisant des fluides dans la puce afin de générer des gouttelettes ou des bulles. Dans la section suivante, la composition des fluides et une description du dispositif de contrôle de pression seront détaillées.

III.3 Génération de gouttelettes

Pour générer des gouttelettes ou des bulles deux phases immiscibles sont introduites dans la puce. La phase continue utilisée est un liquide ionique (EMIMTFSI) et les phases dispersées sont soit une solution de PBS (Phosphate Buffered Saline) pour générer des gouttelettes et soit de l'azote pour générer des bulles.

III.3.1 Les fluides utilisés

- EMIMTFSI : Les liquides ioniques présentent un bon compromis entre leur viscosité qui est suffisante pour pouvoir permettre la génération de gouttelettes ou de bulles et leur conductivité significative pour permettre les mesures effectuées par la suite. Le liquide ionique utilisé (EMIMTFSI) a été synthétisé et caractérisé selon le protocole standard [102]. Brièvement, du 1-bromoéthane est ajouté au 1-méthylimidazole dans de l'acétate d'éthyle à 77 °C sous reflux et agitation pendant 12h minimum. Après retour à la température ambiante, la séparation des phases conduit à une partie inférieure composée du bromure de 1-éthyl-3-méthylimidazolium (EMIMBr), qui est solide. Il est alors filtré sur Büchner et lavé plusieurs fois avec l'acétate d'éthyle pour retirer les produits qui n'ont éventuellement pas réagi. Les résidus de solvant sont éliminés à l'étuve à 80°C pendant 12h environ. Après cette étape, un échange d'anions est réalisé entre le EMIMBr dissous dans de l'eau et une solution aqueuse de LiTFSI à température ambiante et sous agitation vigoureuse pendant 2 jours minimum. Après ce temps, deux phases sont obtenues la plus dense étant le liquide ionique (EMIMTFSI) qui est hydrophobe et qui se sépare de la solution aqueuse. Puis le liquide ionique est lavé plusieurs fois avec de l'eau distillée pour éliminer toute trace de (Li⁺, Br⁻) résiduelle. Les lavages se poursuivent tant que des traces de bromures sont décelées par le test au nitrate d'argent (AgNO₃). Dans une dernière étape l'eau résiduelle est éliminée par lyophilisation. La structure et la pureté du liquide ionique sont confirmées par spectroscopie de masse et RMN et par les propriétés physico-chimiques

(viscosité, densité et conductivité électrique). La teneur en eau a été dosée à l'aide d'un coulomètre Karl Fisher (C20 de Mettler Toledo) avec une moyenne ne dépassant pas 50 ppm.

- **PBS (Phosphate Buffered Saline)** : Le PBS est couramment utilisé en biologie. La recette utilisée est inspirée de la composition du PBS vendu par Sigma Aldrich. La concentration du NaCl a été augmentée afin d'obtenir une conductivité plus importante. La composition de PBS utilisée est donnée dans le Tableau III-4.

Tableau III-4 : Composition du PBS utilisé

NaCl	KCl	Na ₂ HPO ₄	KH ₂ PO ₄	Tween 20
2,5 M	2,7 mM	10 mM	1,8 mM	0,1% v/v

- **Azote** : Le gaz utilisé pour la génération des bulles dans le liquide ionique est l'azote directement pris depuis une bouteille de gaz.

III.3.2 Le dispositif expérimental

Le dispositif utilisé pour procéder aux expériences est présenté sur la Figure III-14. Un contrôleur de pression modulaire (MZFCTM – EZ Fluigent) est utilisé pour introduire les deux phases (continue et dispersée) dans les canaux microfluidiques à l'aide de capillaire.

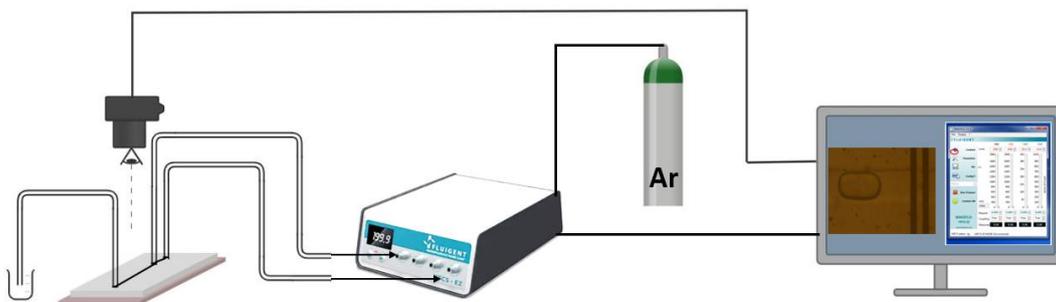


Figure III-14 : Dispositif de génération de gouttelettes dans une puce microfluidique à l'aide d'un contrôleur de pression (MZFCTM-EZ Fluigent) et d'une caméra pour les observations optiques.

Cet appareil est relié à une bouteille d'argon et contient 4 voies avec des plages de pression différentes. Les pressions sont imposées à l'aide du logiciel MAESFLO et les canaux microfluidiques sont observés à l'aide d'un microscope relié à une caméra afin de déterminer les pressions permettant d'atteindre le régime d'écoulement souhaité. Les capillaires sont introduits dans la puce grâce aux entrées et sorties faites à l'emporte pièces avant l'étape de collage.

Il est possible de faire varier les pressions en fonction de la phase continue ou de la phase dispersée utilisées. Les différentes pressions et leurs rapports permettent d'obtenir des gouttelettes, bulles et bouchons de différentes tailles et formes.

Le logiciel Automation Tool a également été utilisé. Il permet de réaliser une séquence pour imposer des pressions au deux phases pendant une certaine durée et sous certaines conditions en fonction du but de l'expérience.

Conclusion

Dans ce chapitre, les techniques de microfabrication mises en œuvre pour la fabrication de la puce microfluidique ont été présentées. Les fluides utilisés et le dispositif de génération de gouttelettes ont aussi été détaillés.

Les techniques de photolithographie, de lithographie molle et d'impression 3D ont permis de fabriquer plusieurs types de canaux en PDMS et le procédé lift-off a donné lieu à des microélectrodes de différentes configurations pour répondre aux besoins de notre expérimentation.

Certaines difficultés rencontrées comme l'alignement lors du collage ont été présentées et le dispositif développé au sein du laboratoire pour s'affranchir de ces problèmes a été décrit.

Chapitre 3

Techniques de mesure

IV. Techniques de mesure

Les expériences menées au cours de ce travail de thèse ont été réalisées à l'aide de quelques techniques électrochimiques. La majorité de ces techniques reposent sur l'utilisation d'une cellule électrochimique à trois électrodes : (i) une électrode de travail (ET) où se déroulent les phénomènes électrochimiques à étudier, (ii) une contre électrode (CE) pour assurer le passage du courant à travers l'ET et (iii) une électrode de référence (REF) pour contrôler le potentiel de l'ET comme décrit dans la Figure IV-1. La régulation et les différentes mesures sont effectuées à l'aide d'un potentiostat qui permet en mode galvanostatique d'appliquer un courant entre la contre électrode et l'électrode de travail et de mesurer le potentiel entre cette dernière et l'électrode de référence. En mode potentiostatique en revanche il est possible d'appliquer un potentiel entre la REF et l'ET et de mesurer le courant traversant l'ET.

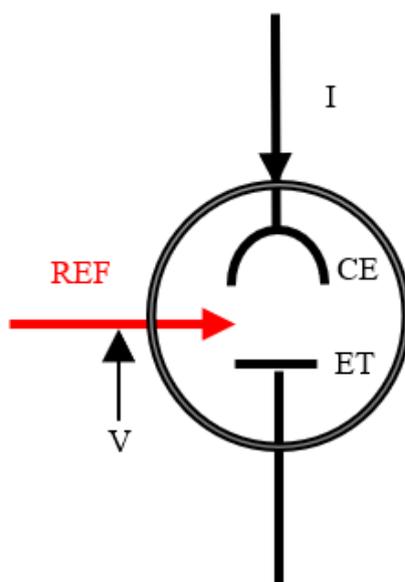


Figure IV-1 : Système électrochimique à trois électrodes

Le principe de ces méthodes, les modes de fonctionnement et les dispositifs expérimentaux utilisés seront décrits dans la suite de ce chapitre.

IV.1 Spectroscopie d'Impédance Electrochimique

La spectroscopie d'impédance électrochimique (SIE) est une technique électrochimique particulière. En effet, contrairement aux méthodes électrochimiques classiques où les mesures se font en fonction du temps, la SIE permet d'étudier un système en fonction de la fréquence à un potentiel ou un courant fixé.

Cette technique est largement utilisée dans l'étude des cinétiques de réaction et la caractérisation non invasive et in situ des phénomènes qui se produisent à l'interface entre l'électrode de travail et l'électrolyte [103].

IV.1.1 Principe de la mesure

Pour procéder à la mesure de SIE, une perturbation, généralement sinusoïdale de faible amplitude, est imposée autour d'un point de fonctionnement du système. Cette perturbation peut être appliquée au courant (mode galvanostatique) ou au potentiel (mode potentiostatique). Lors de la mesure de SIE, un balayage sur une large gamme de fréquences est effectué pour dissocier la dynamique des différents phénomènes qui ont lieu [104].

En mode potentiostatique par exemple, une perturbation en potentiel (ΔV) est appliquée à un point de fonctionnement donné (V_0, I_0). Le potentiel imposé au système s'exprime alors :

$$V(t) = V_0 + \Delta V \sin(\omega t) \quad \text{Eq IV-1}$$

La réponse obtenue en courant est constituée d'une composante continue I_0 et une composante alternative comportant un déphasage d'un angle φ , l'expression du signal en courant obtenu est alors :

$$I(t) = I_0 + \Delta I \sin(\omega t + \varphi) \quad \text{Eq IV-2}$$

où ΔV représente l'amplitude de la composante alternative du potentiel, ΔI est celle du courant, ω est la pulsation du signal relié à la fréquence (f) par ($\omega = 2\pi f$) et φ le déphasage.

L'impédance (Z) est donc une grandeur complexe qui dépend de la fréquence du signal de perturbation où les phénomènes les plus rapides se produiront à hautes fréquences tandis que les phénomènes lents se produiront à basses fréquences. La fonction de transfert de l'impédance est donnée par :

$$Z(\omega) = \frac{\Delta V(\omega)}{\Delta I(\omega)} = Z_r(\omega) + j Z_j(\omega) = |Z|e^{j\varphi} = |Z|(\cos \varphi + j \sin \varphi) \quad \text{Eq IV-3}$$

où $\Delta V(\omega)$ et $\Delta I(\omega)$ représentent les amplitudes complexes résultant des transformées de Fourier correspondant respectivement à $\Delta V(t)$ et $\Delta I(t)$. Z_r est la partie réelle de l'impédance

et Z_j est la partie imaginaire. $|Z| = \sqrt{Z_r^2 + Z_j^2}$ et φ représentent respectivement le module et la phase.

La Figure IV-2 met en évidence le principe de la mesure de la SIE, effectuée à un point de fonctionnement déterminé sur la courbe courant-tension.

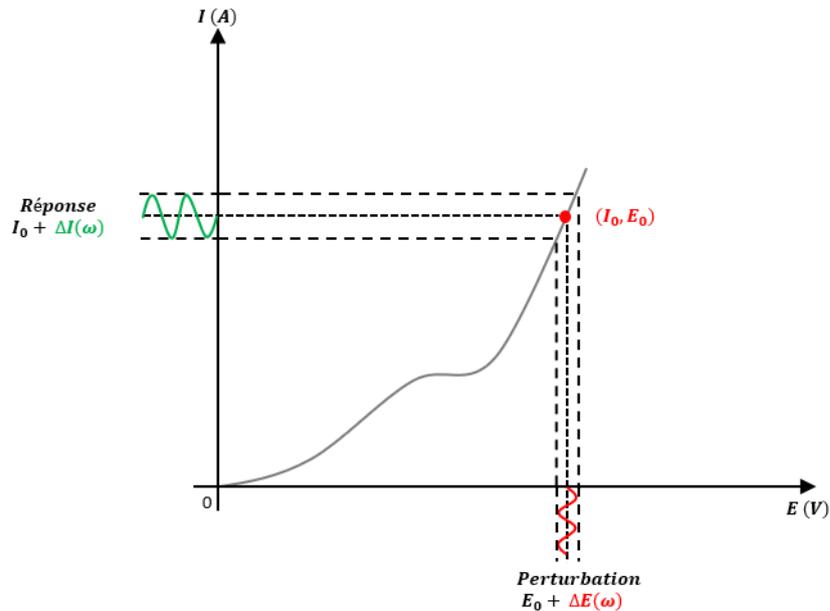


Figure IV-2 : Principe de mesure de la SIE à un point de fonctionnement déterminé sur la courbe courant-tension

En pratique, les systèmes électrochimiques sont rarement des systèmes linéaires et la SIE n'est applicable qu'à des systèmes linéaires, il est alors possible de s'affranchir, dans une certaine mesure, de cette limitation en appliquant de faibles amplitudes de perturbation sur des intervalles où la courbe courant-tension est linéaire (Figure IV-2).

IV.1.2 Montage expérimental

La mesure d'impédance électrochimique se fait à l'aide d'un potentiostat. La gamme de fréquence, l'amplitude du signal de perturbation et le point de fonctionnement sont des paramètres choisis et imposés à l'aide du logiciel du potentiostat.

Comme nous l'avons évoqué précédemment, la majorité des systèmes électrochimiques ont recours à des branchements à trois électrodes (ET, REF et CE). Cependant dans le cas des micropuces utilisées, nous avons opté pour un système à deux électrodes (Figure IV-3). Dans ce cas, l'électrode de travail reste inchangée, l'électrode de référence est reliée à la contre

électrode pour constituer la deuxième électrode de mesure. L'impédance est ensuite mesurée entre ces deux électrodes.

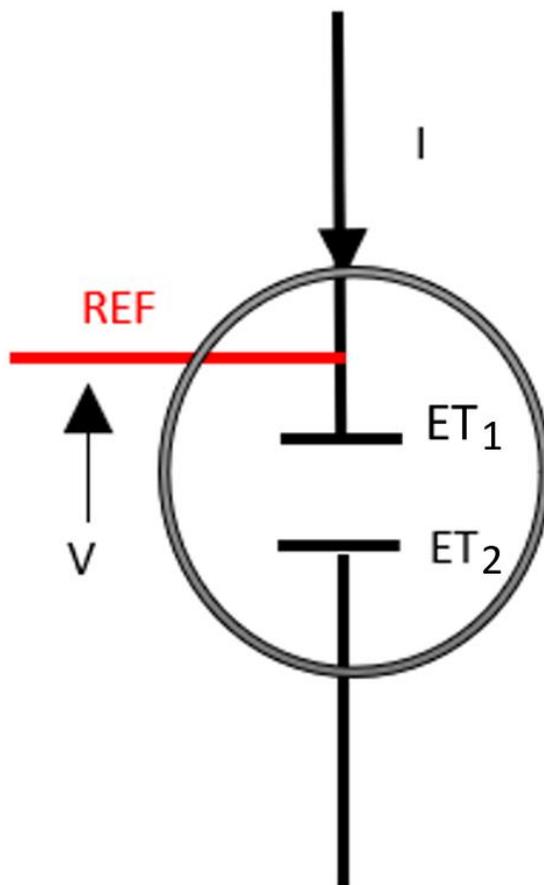


Figure IV-3 : Système électrochimique à deux électrodes (ET1 et ET2)

IV.1.3 Conditions expérimentales de mesure

Les mesures de la SIE ont été réalisées à l'aide d'un potentiostat commercial GAMRY (Référence 600+) et le logiciel GAMRY Framework a été utilisé pour imposer les conditions de la mesure telles que le type de mesure, l'amplitude du signal de perturbation et la gamme de fréquences. Dans ce travail, nous avons choisi le mode potentiostatique avec une amplitude du signal de perturbation de 30 mV crête à crête et dans une gamme de fréquences entre 10 Hz et 100 kHz. La limite en hautes fréquences a été fixée à 100 kHz puisque le circuit de mesure des variations de l'impédance a été conçu pour fonctionner jusqu'à 100 kHz, ce qui est limité par la bande passante des amplificateurs utilisés. Les valeurs de l'impédance électrochimique à 100 kHz seront utilisées par la suite pour déterminer les valeurs de la résistance d'électrolyte.

IV.1.4 Représentation graphique de l'impédance électrochimique

L'impédance électrochimique peut être représentée de différentes manières en fonction des phénomènes à mettre en évidence [105]. Deux représentations graphiques sont souvent utilisées :

- Le diagramme de Nyquist : comme le représente la Figure IV-4.A, le négatif de la partie imaginaire de l'impédance ($-Z_j$) est tracé en fonction de la partie réelle (Z_r) dans un repère orthonormé où chaque point correspond à une fréquence. En hautes fréquences (Figure IV-4.A zone 1), il est possible de déduire la résistance de l'électrolyte et en se déplaçant vers les moyennes et basses fréquences des phénomènes de plus en plus lents seront mis en évidence comme le transfert de charges à moyennes fréquences (Figure IV-4.A zone 2) et la diffusion à basses fréquences (Figure IV-4.A zone 3).
- Le diagramme de Bode : dans ce diagramme la phase (φ) et le module de l'impédance ($|Z|$) sont représentés en fonction de la fréquence dans un repère semi-logarithmique (Figure IV-4.B1) et logarithmique respectivement (Figure IV-4.B2).

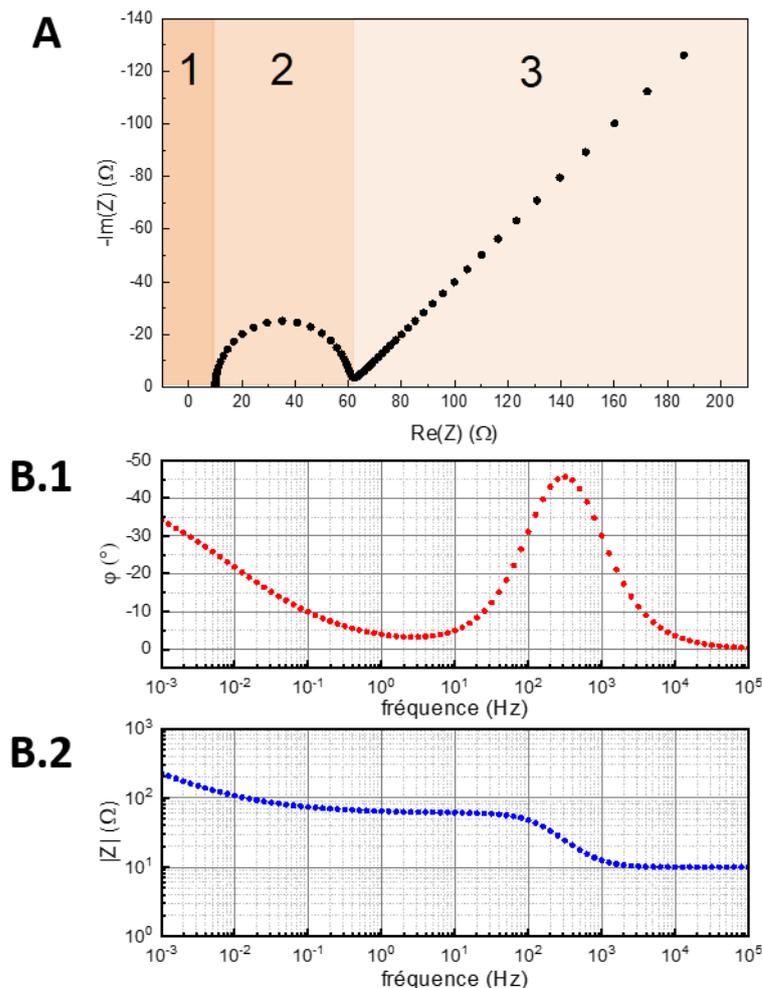


Figure IV-4 : Représentation graphique de l'impédance électrochimique correspondant à l'impédance mesurée pour une réaction Red/Ox électrochimique. **A.** Diagramme de Nyquist avec la zone 1 représentant le domaine des hautes fréquences, la zone 2 celui des moyennes fréquences et la zone 3 le domaine des basses fréquences. **B.** Diagramme de Bode : **1.** Variation de la phase en fonction de la fréquence. **2.** Variation du module de l'impédance en fonction de la fréquence

D'autres représentations peuvent aussi être utilisées telle que le diagramme de Cole-Cole. Ce dernier permet de représenter la partie imaginaire de la capacité complexe en fonction de sa partie réelle [104]. Cette présentation est largement utilisée pour la détermination de l'épaisseur de la couche d'oxyde qui peut se former à la surface d'une électrode [106].

L'interprétation des diagrammes d'impédance permet de comprendre les phénomènes mis en jeu dans le système électrochimique tel que le transfert de charge, la diffusion, l'adsorption...etc. A travers l'analogie qui existe entre la réponse en impédance électrochimique et les circuits électriques, il est possible de procéder à la modélisation des spectres obtenus en utilisant des circuits électriques équivalents (Figure IV-5) qui sont composés de résistances, de capacités ou encore de bobines, associées en série ou en parallèle. Ces circuits électriques équivalents permettent de décrire globalement un ou plusieurs

phénomènes en jeu. Le Tableau IV-1 résume les expressions des impédances associées à chaque composant.

Tableau IV-1 : Expression des impédances associées aux composants électriques couramment utilisés

Résistance	Capacité	Inductance	Warburg
$Z_R = R$	$Z_C = \frac{1}{jC\omega}$	$Z_L = jL\omega$	$Z_W = \frac{\sigma}{\sqrt{j\omega}}$

Avec σ le coefficient de Warburg

Dans le cadre de ce travail nous allons particulièrement nous intéresser à la résistance d'électrolyte. Cette résistance est liée au passage du courant entre la contre électrode et l'électrode de travail et dépend de la géométrie de la cellule, les dimensions des électrodes et la conductivité électrique de l'électrolyte. Dans un circuit électrique équivalent (Figure IV-5) cette résistance d'électrolyte est assimilée à une résistance (R_e).

D'autres phénomènes peuvent aussi être modélisés tel que le transfert de charge. Il se traduit par une résistance correspondant au transfert de charge à l'interface et une capacité en parallèle correspondant à la double couche qui se forme dès lors qu'une électrode métallique entre en contact avec un électrolyte. Cependant en pratique, la capacité pure, qui traduit un système idéal, est remplacée par un élément à angle de phase constante ou CPE (Constant Phase Element en anglais), qui est un élément plus adapté pour décrire la non-idéalité des systèmes réels comme par exemple des hétérogénéités de surface, la distribution de réactivité ou encore la distribution de résistivité au sein d'une couche d'oxyde, ce qui implique une distribution 2D ou 3D des constantes de temps sur l'électrode. L'impédance d'un CPE se traduit par :

$$Z_{CPE} = \frac{1}{Q(j\omega)^\alpha} \quad \text{Eq IV-4}$$

Sachant que les deux paramètres Q et α (<1) sont indépendants de la fréquence. Dans le cas ou $\alpha=1$, on obtient l'expression d'une capacité pure [104].

D'autre part, les phénomènes plus lents tels que le transport de matière ou l'adsorption apparaissent à des fréquences bien plus basses. L'impédance de Warburg décrit par exemple le phénomène de diffusion semi-infinie qui se présente sous la forme d'une droite formant un angle de 45° avec l'axe des réelles ($\text{Re}(Z)$). L'adsorption peut aussi être modélisée en utilisant une inductance.

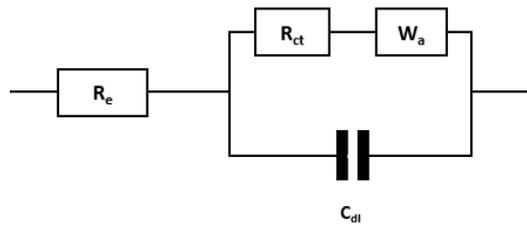


Figure IV-5 : Circuit électrique équivalent de Randles permettant de modéliser les diagrammes d'impédance avec R_e la résistance de l'électrolyte, R_{ct} la résistance de transfert de charge, C_{dl} la capacité de double couche électrochimique et W_a l'impédance de Warburg pour décrire la diffusion semi-infinie

Les circuits électriques équivalents sont simulés à l'aide d'un logiciel d'ajustement des diagrammes de Nyquist et de Bode pour déterminer les valeurs des résistances et des capacités du circuit dont la signification physique est liée aux caractéristiques du système étudié. Tout au long de ce travail nous avons utilisé le logiciel SIMAD, qui est un logiciel développé au sein du « Laboratoire Interfaces et Système Electrochimique » pour ajuster nos diagrammes d'impédance électrochimique obtenus.

Dans le cas de la puce microfluidique, deux microélectrodes d'or côte à côte sont utilisées, la mesure de la SIE est réalisée pour la phase continue (liquide ionique « EMIMTFSI ») en circulation dans le canal microfluidique. Etant donné que la principale information qui nous intéresse est la valeur de la résistance de l'électrolyte, les mesures de SIE ne nécessitent pas d'aller en basses fréquences. Nous avons donc réalisé des mesures d'impédance entre 10 Hz et 100 kHz. Le circuit électrique équivalent utilisé pour la micropuce comporte une résistance traduisant la résistance de l'électrolyte en série avec une résistance de transfert de charge en parallèle à une capacité (Figure IV-6). Chacun des composants de ce circuit correspond à un phénomène ayant lieu au sein de la puce :

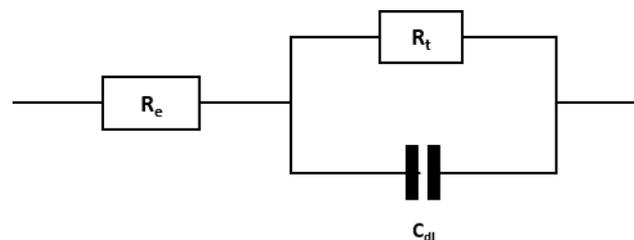


Figure IV-6 : Circuit électrique équivalent décrivant les phénomènes se produisant dans la puce microfluidique.

- La résistance R_e traduit la résistance d'électrolyte ;
- La capacité pure C_{dl} représente la capacité de double couche engendrée par la mise en contact des électrodes avec la phase continue ;

- La résistance R_t représentant la résistance de transfert de charge, cette résistance est très élevée dans le cas où le système a un comportement principalement capacitif.

La mesure de la SIE et la modélisation des spectres d'impédance obtenus ont surtout été utilisées pour mesurer la valeur de la résistance d'électrolyte et ainsi pour avoir un ordre de grandeur de cette dernière et ce dans le but d'affiner les réglages pour la mesure de bruit électrochimique.

IV.2 Bruit électrochimique

Le bruit électrochimique est une technique qui permet de mesurer les fluctuations de potentiel en mode galvanostatique, les fluctuations de courant en mode potentiostatique et, comme c'est le cas dans notre travail, mesurer les fluctuations de la résistance d'électrolyte. Les mesures sont réalisées lors du passage de micro-objets, tel que des gouttelettes ou des bulles, d'une conductivité différente de celle de l'électrolyte dans lequel elles circulent. Afin de se focaliser sur la résistance d'électrolyte, il est nécessaire de se placer à hautes fréquences pour minimiser l'impact des autres phénomènes qui pourrait biaiser la mesure.

Contrairement aux autres techniques électrochimiques telle que les courbes de polarisation ou encore la SIE, où les signaux de perturbations appliquées peuvent altérer le processus ou biaiser les résultats obtenus, le bruit électrochimique permet d'observer les phénomènes à travers l'analyse des fluctuations spontanées de grandeurs telle que le potentiel, le courant ou la résistance d'électrolyte à hautes fréquences [107].

Toutefois, la mesure du bruit présente certaines contraintes afin d'obtenir un signal « propre ». En effet, il est nécessaire, lors de l'acquisition du signal, de s'affranchir des bruits de fond de l'instrumentation et des sources extérieures. De plus, le signal obtenu doit être corrigé avant d'être exploité afin d'en extraire des informations justes et précises.

Dans la suite de ce chapitre, le principe de la méthode, le dispositif expérimental utilisé, le procédé d'acquisition du signal ainsi que l'analyse et la correction des signaux obtenus seront décrits plus en détails.

IV.2.1 Principe

Dans une cellule électrochimique classique, la différence de potentiel s'exprime :

$$V = E + R_e I \quad \text{Eq IV-5}$$

où E correspond au potentiel électrochimique de l'électrode relié aux processus faradiques, R_e la résistance d'électrolyte et I le courant qui circule entre la contre électrode et l'électrode de travail [108].

En mode potentiostatique à un point de polarisation donnée (V_0, I_0) une composante sinusoïdale V_{100} à 100 kHz est ajoutée à la tension continue.

$$V_{100}(t) = |V_{100}| \sin(2\pi f_{100}t) \quad \text{Eq IV-6}$$

où $|V_{100}|$ représente l'amplitude de la composante alternative du potentiel. Cette amplitude doit être choisie en fonction du système. La principale condition est d'avoir un signal sinusoïdal et non triangulaire à la sortie du filtre passe-haut comme cela peut être le cas si l'amplitude est trop importante. Pour vérifier cette condition il faut utiliser un oscilloscope pour vérifier ce signal à la sortie du filtre passe-haut (Figure IV-7).

Le courant résultant s'exprime alors :

$$I_0 + I_{100}(t) + \Delta I(t) \quad \text{Eq IV-7}$$

où I_0 est le courant moyen, $\Delta I(t)$ les fluctuations du courant en fonction du temps et $I_{100}(t)$ la composante sinusoïdale à 100 kHz avec :

$$I_{100}(t) = \frac{|V_{100}| \sin(2\pi f_{100}t)}{R_e} \quad \text{Eq IV-8}$$

Comme cité précédemment, les mesures électrochimiques ont été réalisées avec un système à deux électrodes identiques. La Figure IV-7 décrit le circuit électrique utilisée pour effectuer les mesures de bruit électrochimiques. Ce dispositif a été fabriqué au sein du laboratoire « LISE ». Il est composé de quatre principaux appareils : (i) un générateur de signaux (GBF), (ii) un potentiostat, (iii) une boîte R_e et (iv) une boîte de résistances variables pour la calibration.

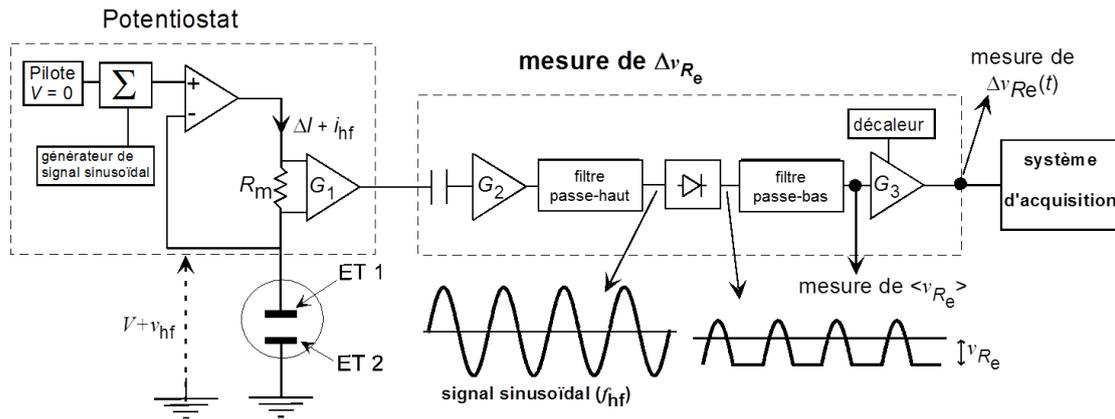


Figure IV-7 : Dispositif expérimental de mesure de fluctuations de la résistance d'électrolyte en mode potentiostatique [89]

Les deux électrodes de travail (ET1 et ET2) sont polarisées au potentiel continu nul. L'ET2 est connecté à la masse et le potentiostat impose un potentiel nul à l'ET1 en mode ZRA (Zero Resistance Ammeter). Le signal sinusoïdal à 100 kHz d'amplitude crête à crête de 100 mV fourni par le GBF est superposé aux électrodes grâce à un sommateur du potentiostat. Le courant résultant ($I_0 + \Delta I(t) + i_{100}(t)$) est mesuré aux bornes de la résistance R_m . Le signal en courant est amplifié par un gain G_1 et passe à travers d'un condensateur pour éliminer le courant en continu. Il est ensuite amplifié de nouveau par un amplificateur de gain G_2 avant de passer dans un filtre passe-haut de fréquence de coupure de 20 kHz pour éliminer toutes les composantes basses-fréquences. Après le filtre passe-haut, la réponse en courant ne contient plus que la composante à 100 kHz. Finalement, le signal est redressé par une diode et intégré par un filtre passe-bas de fréquence de coupure de 10 kHz. La valeur moyenne de $\langle v_{R_e}(t) \rangle$ est proportionnelle à l'inverse de résistance d'électrolyte :

$$\langle v_{R_e}(t) \rangle = \frac{b}{R_e} + d \quad \text{Eq IV-9}$$

Pour déterminer les coefficients b et d , la première étape est d'effectuer une procédure de calibration en remplaçant les deux électrodes (ET1 et ET2) par une boîte de résistances variables. La résistance de mesure R_m ainsi que les résistances variables sont choisies en fonction de la solution utilisée dans la puce microfluidique. Les différentes valeurs de potentiel obtenues sont tracées en fonction de l'inverse des valeurs de résistance en restant dans l'intervalle de $[-300 ; -900 \text{ mV}]$. La Figure IV-8 montre un exemple de courbe de calibration.

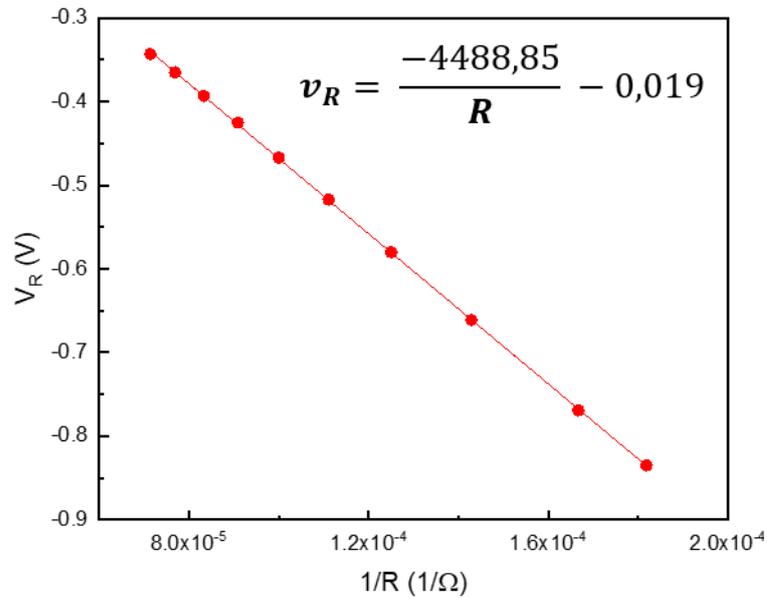


Figure IV-8 : Exemple de courbe de calibration représentant la variation du potentiel en fonction de l'inverse de la résistance

La dérivée de l'équation 1.9 nous donne :

$$\Delta v_{Re}(t) = b \Delta \left(\frac{1}{R_e} \right) = - \frac{b}{\langle R_e \rangle^2} \Delta R_e(t) \quad \text{Eq IV-10}$$

Ce qui nous permet de déterminer les variations de la résistance d'électrolyte.

$$\Delta R_e(t) = - \frac{\langle R_e \rangle^2}{b} \Delta v_{Re}(t) \quad \text{Eq IV-11}$$

Le dispositif de mesure a été conçu pour mesurer les fluctuations de la résistance d'électrolyte des systèmes électrochimiques macroscopiques pour lesquels la résistance d'électrolyte est souvent obtenue vers une dizaine de kHz. Dans notre cas, du fait que nous travaillons avec des microélectrodes, l'impédance à 100 kHz ne correspond pas à la résistance d'électrolyte entre deux électrodes.

A titre d'exemple, la Figure IV-9 présente une mesure d'impédance entre deux microélectrodes de 50 μm et une DIE de 50μm dans un canal de 100 μm contenant le liquide ionique EMIMTFSI. Nous pouvons remarquer que la limite haute fréquence du diagramme de l'impédance (à 100 kHz) ne se trouve pas sur l'axe des abscisses, ce qui veut dire que cette limite haute fréquence ne correspond pas à la résistance d'électrolyte. La fréquence utilisée

(100 kHz) n'est donc pas suffisamment haute pour s'affranchir de l'effet de la capacité de double couche présente sur les microélectrodes.

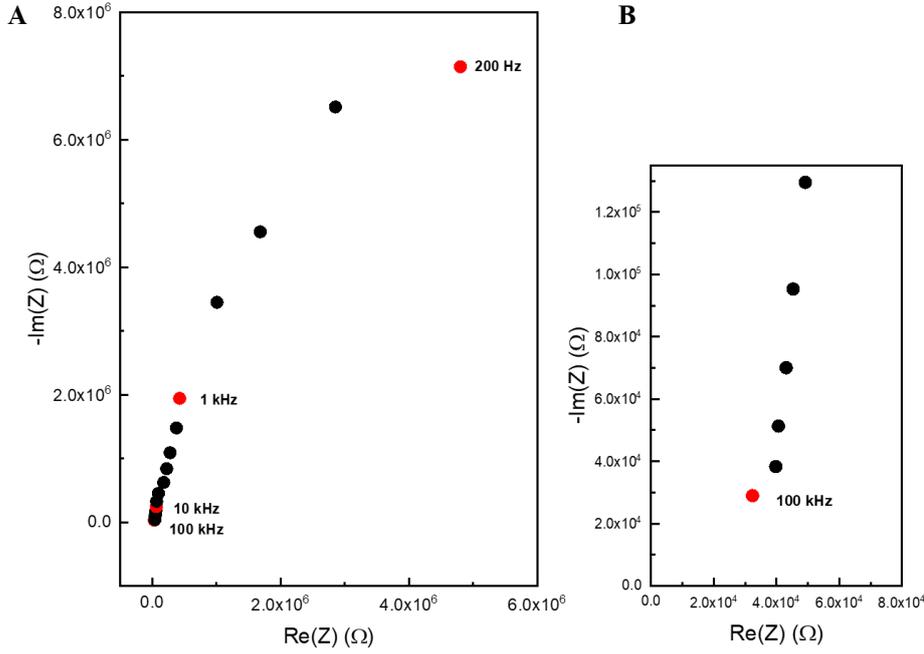


Figure IV-9 : Diagramme de Nyquist représentant la variation de la partie imaginaire en fonction de la partie réelle de l'impédance pour la phase continue (EMIMTFSI) en circulation dans un canal microfluidique de 100 μm pour des électrodes de 50 μm de large et 100 μm de long et une distance inter électrodes de 50 μm . B. Zoom sur la partie hautes fréquences du spectre d'impédance

Par conséquent, dans notre cas, nous avons remplacé R_e dans l'équation 1.11 par $|Z|_{100}$ qui traduit les fluctuations du module de l'impédance entre les deux électrodes à 100 kHz :

$$\Delta|Z|_{100}(t) = - \frac{\langle |Z|_{100} \rangle^2}{b} \Delta v_{|Z|_{100}}(t) \quad \text{Eq IV-12}$$

Pour déterminer les fluctuations de la résistance d'électrolyte à partir de celles de l'impédance à 100 kHz, une méthode a été mise en place dans le cadre de la thèse de N. Yakdi [66] dont le principe est montré à la Figure IV-10. L'augmentation de la résistance d'électrolyte (R_e) engendre un déplacement de l'impédance à 100 kHz du point A au point A'. Ainsi, pour de faibles variations de l'impédance, l'angle de la phase φ varie aussi peu et il est alors possible d'émettre l'hypothèse que les segments AB et A'B sont orthogonaux. Le segment A'B, comme décrit sur la Figure IV-10, représente $\Delta|Z|_{100}$. En découle alors la relation :

$$\Delta R_e = \frac{\Delta|Z|_{100}}{\cos \varphi'_{100}} \quad \text{Eq IV-13}$$

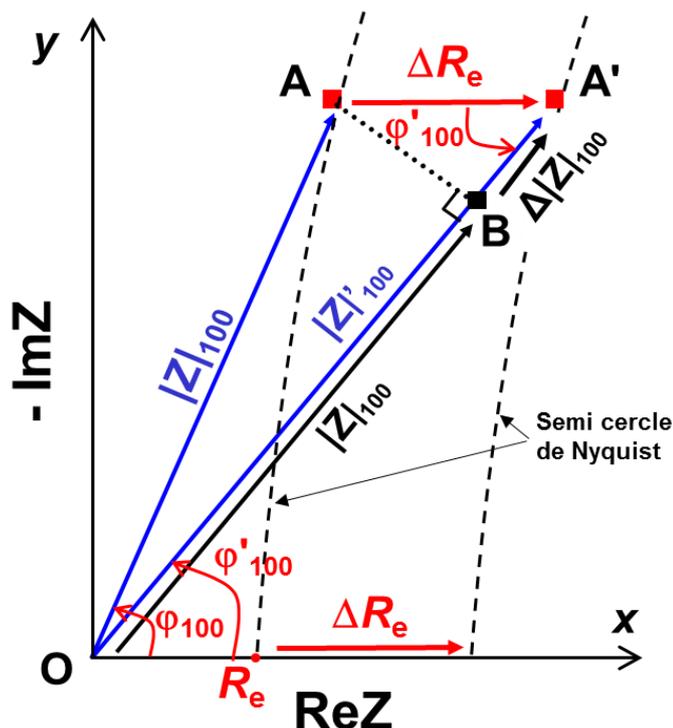


Figure IV-10: Diagramme de Nyquist pour démontrer la relation entre l'impédance à 100 kHz et la valeur de la résistance d'électrolyte[89]

IV.2.2 Montage expérimental

Dans un premier temps, une vérification de l'équation Eq IV-13 peut être réalisée en effectuant une mesure d'impédance à l'aide du circuit électrique de la Figure IV-11 et ainsi déterminer le module et la phase de l'impédance à 100 kHz. Ce circuit est composé d'une résistance R_1 de 1 k Ω en série avec une résistance R_2 de 100 Ω et un circuit comportant une résistance R_t de 700 k Ω en parallèle avec une capacité C_{dl} de 1,2 nF. Un interrupteur est placé en parallèle avec la résistance R_2 . En position **1** la résistance mesurée est la somme de R_1 et R_2 donc 1100 Ω , en revanche dans la position **2** le courant va emprunter le chemin de moindre résistance et donc va éviter le passage à travers R_2 et ainsi la résistance mesurée est de 1 k Ω correspondant à R_1 uniquement.

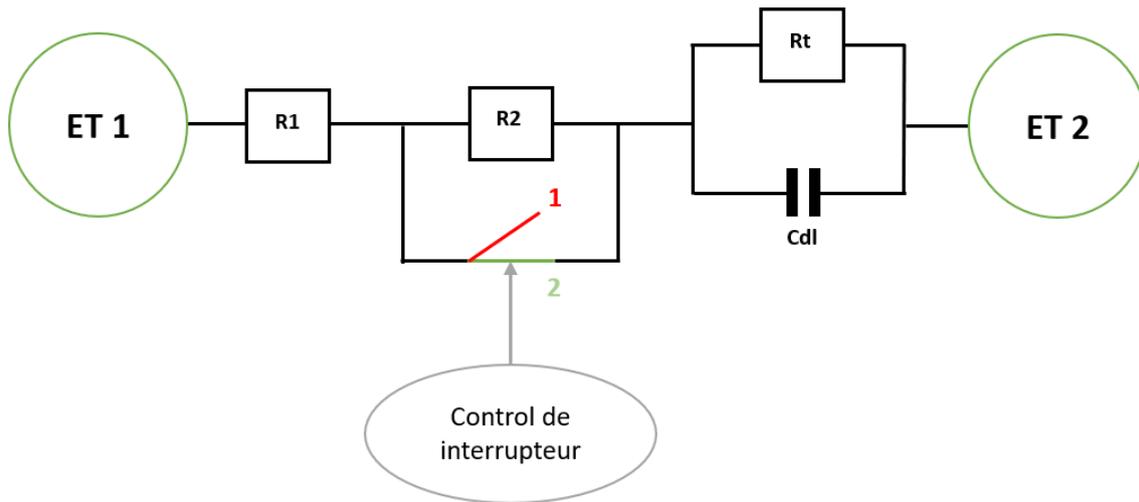


Figure IV-11 : Circuit électrique test pour mesurer les variations de résistance d'électrolyte. Avec $R1 = 1\text{ k}\Omega$, $R2 = 100\ \Omega$, $Rt = 700\text{ k}\Omega$ et $Cdl = 1,2\text{ nF}$

IV.2.3 Acquisition du signal

L'acquisition du signal est effectuée à l'aide d'un système de mesure temps réel (Modèle IHawk). Cet appareil est équipé de 16 voies de mesure, chaque voie dispose d'un filtre analogique anti-repliement avant le convertisseur analogique-numérique à 16 bits. La fréquence d'échantillonnage est choisie par l'utilisateur et peut aller jusqu'à 100 kHz. L'acquisition des données est gérée par le programme « labo » écrit en langage C. Les données sont stockées par blocs de 2048 points en général [109]. L'acquisition temporelle permet d'analyser le signal dans le domaine temporel, par exemple des variations de la résistance d'électrolyte quand les micro-objets passent devant les deux électrodes dans le canal. A titre d'exemple pour le circuit de test Figure IV-11 l'ouverture et la fermeture périodique de l'interrupteur va engendrer une variation de la résistance de 100, ce qui est confirmé par les mesures expérimentales présentées à la Figure IV-12.A et B.

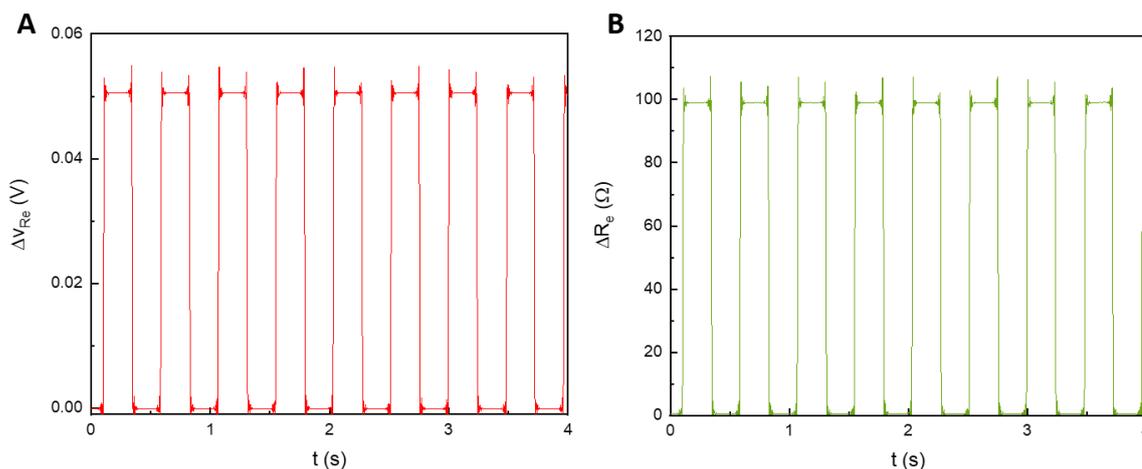


Figure IV-12 : A. Acquisition temporelle des variations du signal mesuré ΔV_{Re} pour le circuit test avec l'ouverture et la fermeture de l'interrupteur périodiquement. B. Variation de la résistance R_e dont l'amplitude du pic correspond à la R_2 du circuit

Nous pouvons également analyser les signaux dans le domaine fréquentiel. L'appareil de mesure permet de calculer la densité spectrale de puissance (DSP) du signal qui comme son nom l'indique, représente la distribution de la puissance du signal en fonction de la fréquence. La DSP est calculée en utilisant la transformée de Fourier rapide (Fast Fourier Transform) et qui est égale au module de la transformée de Fourier au carré. Pour améliorer la précision des DSP, son calcul est moyenné sur plusieurs blocs de données. Dans ce travail, le nombre de blocs utilisés est en général de 10.

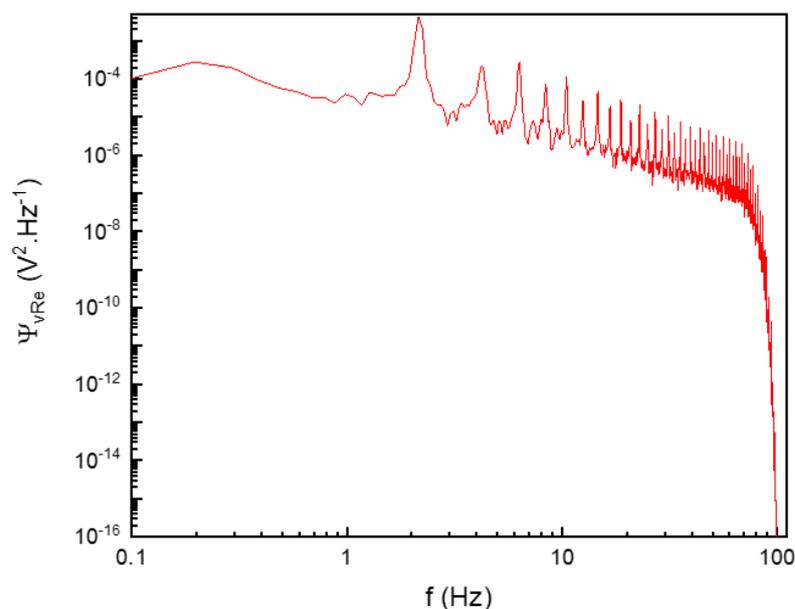


Figure IV-13 : Densité spectrale de puissance du circuit test avec une fréquence de coupure de 200 Hz

A titre d'exemple, la Figure IV-13 présente la DSP du signal de la Figure IV-12.B. On peut remarquer un premier pic à 2 Hz qui correspond à la fréquence d'ouverture et de fermeture

de l'interrupteur ainsi que les harmoniques. On peut également observer la descente brutale de la DSP à 100 Hz, ce qui indique une fréquence d'échantillonnage à 200 Hz (théorème de Shannon « $\frac{f_e}{2} > f$ ») et qui confirme l'utilisation d'un filtre anti-repliement avant la conversion analogique-numérique.

De plus, pour que le calcul de la DSP soit correct les phénomènes doivent avoir lieu de manière périodique et similaire sur tous les blocs considérés. Dans le cas d'un phénomène isolé, par exemple le passage d'une bulle d'air non désirée dans le microcanal, il est possible d'identifier le bloc comportant l'anomalie et l'écarter du calcul de la DSP. Pour cela, un logiciel développer au sein du laboratoire permet de recalculer la DSP en utilisant uniquement les blocs d'intérêt.

IV.2.4 Choix de la fréquence d'échantillonnage

Avant d'effectuer les calculs de la DSP ou pour une analyse de données ultérieure, le signal analogique doit être discrétisé. Cette opération peut se faire à différentes fréquences d'échantillonnage (f_e), qui représente le nombre de points par seconde. Il est à noter que le choix de cette fréquence peut s'avérer déterminant en fonction de la cinétique des phénomènes que l'on veut étudier, en plus du respect de la fréquence d'échantillonnage fixée par le théorème de Shannon. Par exemple, lors de l'écoulement de gouttelettes ou de bulles dans le microcanal, plus la fréquence de passage devant les électrodes de mesure est importante, plus la fréquence d'échantillonnage devra être élevée pour détecter toutes les gouttelettes. En effet, il n'y a pas de pertes d'informations pour des fréquences f inférieure à la moitié de f_e , au-delà se produit le phénomène de repliement de spectre.

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons décrit brièvement les techniques électrochimiques utilisées lors de nos expériences. Le principe de la mesure d'impédance électrochimique ainsi que le bruit électrochimique ont été mis en évidence dans leurs applications à des systèmes microfluidiques. Des précautions lors de leur utilisation ont été soulignées en particulier pour la technique du bruit électrochimique. Les résultats obtenus et leurs interprétations seront détaillés dans la suite de ce manuscrit.

Chapitre 4

Simulations numériques

V. La simulation numérique

Lors de ce travail de thèse, nous avons eu recours aux simulations numériques afin de calculer les variations de l'impédance d'une paire d'électrode lors du passage d'un micro-objet dans un canal microfluidique. Pour ce faire, le logiciel Comsol Multiphysics® a été utilisé. Le but principal, à travers ces simulations numériques, est d'une part, de comparer les résultats expérimentaux obtenus aux résultats simulés et d'autre part, pouvoir prédire, à l'aide des modèles numériques, les caractéristiques des micro-objets à partir des mesures électrochimiques.

La simulation numérique repose sur la construction d'un modèle à l'aide d'un logiciel défini afin de décrire un phénomène physique. A travers l'utilisation du modèle, qui repose sur des équations théoriques, la simulation permet de prédire les résultats qu'il est possible d'obtenir en fonction des paramètres utilisés dans le modèle. La simulation numérique présente l'avantage de pouvoir tester plusieurs scénarios possibles, de comparer les résultats avec les résultats expérimentaux et ainsi être en mesure d'optimiser les paramètres influençant le phénomène physique étudié.

Depuis ces dernières décennies, la simulation numérique est devenue un outil incontournable dans l'ingénierie et la recherche scientifique. Différents logiciels permettent de réaliser des modèles fiables capables de décrire des phénomènes même très complexes. Les modèles utilisés reposent sur le principe de discrétisation du problème en le divisant en plusieurs éléments à travers un maillage adapté à la géométrie et à la physique étudiée. Les logiciels tel que Ansys, Physica ou encore Comsol présentent un avantage important car ils permettent un couplage pluridisciplinaire et multiphysique.

En ce qui concerne la méthode utilisée pour procéder aux calculs numériques, la méthode la plus répandue est celle des éléments finis (FEM pour finite element method). En effet, c'est une méthode très utilisée pour la résolution numérique des équations aux dérivées partielles. Elle présente l'avantage d'être simple d'utilisation et adaptable à des géométries très complexes quel que soit le type d'étude effectuée (1D, 2D ou 3D).

Dans ce chapitre, nous présentons en détail les différentes simulations et modèles réalisés ainsi que les résultats obtenus pour différentes tailles de gouttelettes et de bouchons.

V.1 Comsol Multiphysics

Les résultats de simulations présentés dans ce chapitre ont été obtenus à l'aide du logiciel Comsol Multiphysics®. Le modèle utilisé pour procéder aux simulations est un modèle électrique régi par les équations de Maxwell et simulant le passage du courant entre les électrodes utilisées. Ce logiciel offre la possibilité de choisir ou de modifier de nombreux paramètres afin de s'adapter aux différents cas auxquels il est possible de se confronter. Cependant, ces nombreuses possibilités présentent une certaine complexité et quelques précautions importantes sont à prendre en considération. Par exemple, modifier un seul paramètre pourrait engendrer des différences conséquentes sur la simulation obtenue et ainsi biaiser les conclusions ou les interprétations qui en découlent. Tout au long de ce chapitre nous allons détailler les paramètres, les géométries ainsi que les matériaux utilisés et les raisons qui nous ont amené à les choisir.

V.1.1 Géométrie et matériaux utilisés

La géométrie utilisée est montrée sur la Figure V-1. Nous avons émis l'hypothèse que la phase continue, qui est dans notre cas le liquide ionique (EMIMTFSI), occupe tout l'espace dans le microcanal en PDMS. Cette partie est modélisée par un parallélépipède de 5 cm de largeur et 100 μm de profondeur et de hauteur.

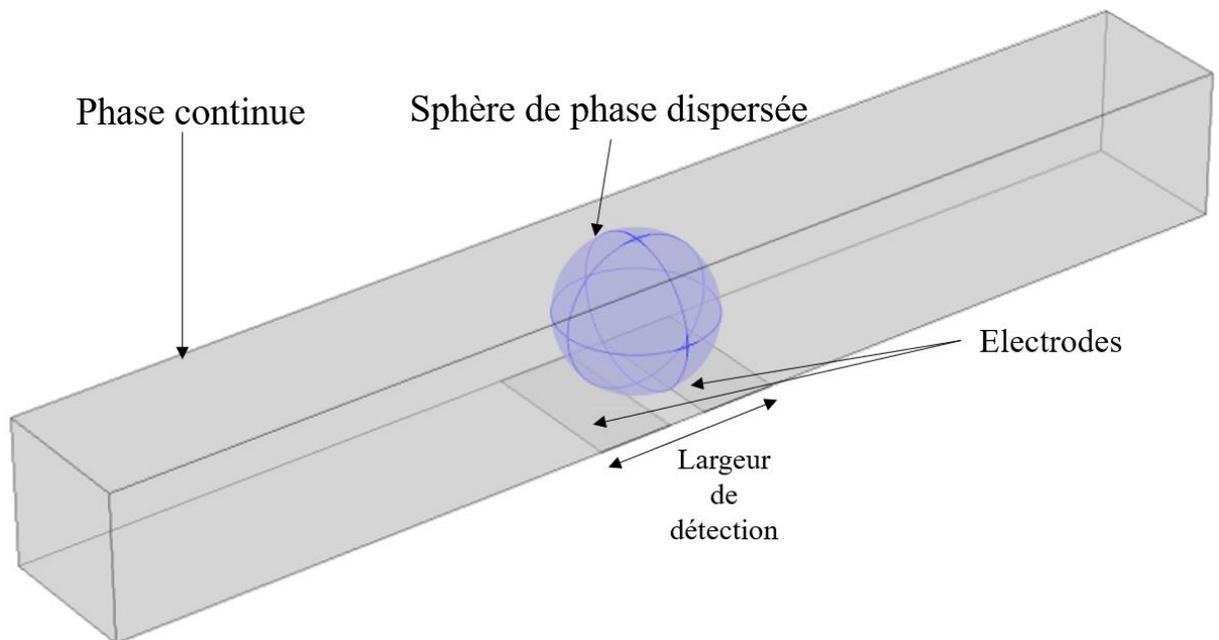


Figure V-1 : Modèle 3D utilisé pour les mesures de résistances dans un canal microfluidique de 100 μm de hauteur et de profondeur, une sphère représentant la phase dispersée et les microélectrodes de mesure.

La phase dispersée, qui est soit le PBS (phase liquide) soit l'azote (phase gazeuse), est représentée par des sphères ou par des bouchons. Dans le cas d'un bouchon (Figure V-2), une union entre deux sphères de 50 μm de rayon et d'un cylindre de 100 μm de largeur permettent d'obtenir une géométrie semblable à celle des bouchons obtenus lors des expériences réalisées avec le PBS. Pour l'azote, le comportement est légèrement différent et la géométrie permettant de décrire le bouchon de gaz obtenus comporte une sphère à l'avant suivi d'un cylindre. Ces géométries ont été réalisées en se basant sur la géométrie des bouchons obtenus expérimentalement.

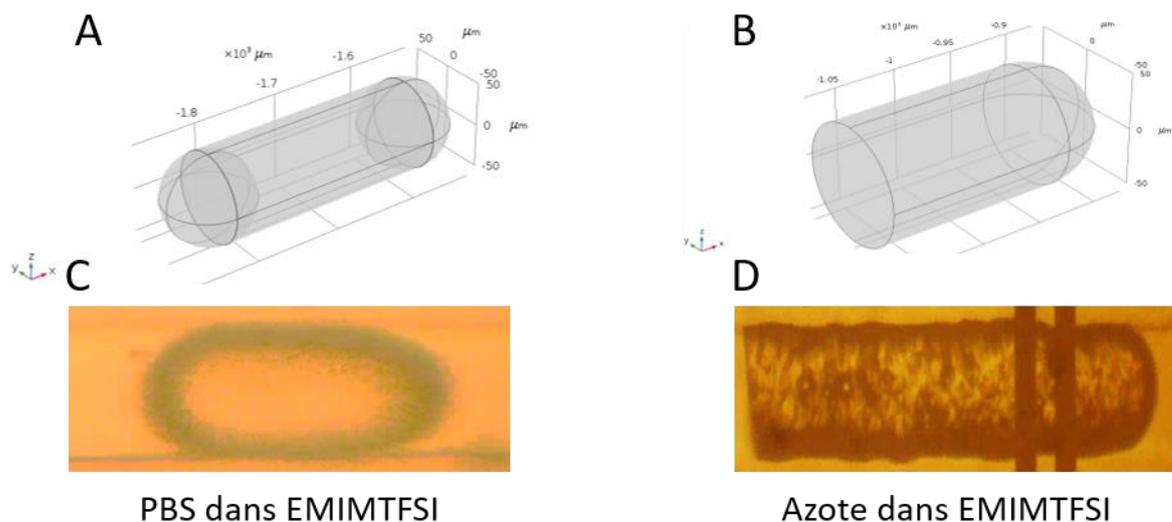


Figure V-2 : Géométrie mise en place pour décrire les bouchons de (A) PBS généré dans l'EMIMTFSI et (B) Azote dans l'EMIMTFSI, (C) forme de bouchon PBS et (D) forme de bouchon d'azote formés dans le liquide ionique « EMIMTFSI »

Pour décrire le système expérimental de manière fiable, le bouchon est soumis à un déplacement suivant l'axe x pour décrire l'écoulement du bouchon dans le canal microfluidique. Le déplacement se fait dans un intervalle de $[-700 \mu\text{m} - 700 \mu\text{m}]$ pour bien observer les variations de résistance lors du passage du bouchons le long du canal avec un pas de 2 μm afin d'obtenir un nombre de point suffisant pour obtenir une réponse précise.

En ce qui concerne les électrodes utilisées pour les mesures de variations de la résistance d'électrolyte, la même configuration que pour les puces microfluidiques a été utilisée. Deux électrodes en or côte à côte de 50 μm de largeur, 100 μm de profondeur et espacées de 50 ou de 25 μm comme décrit sur la Figure V-1.

V.1.2 Matériaux et conditions aux limites

Le logiciel Comsol Multiphysics dispose d'une bibliothèque de matériaux très riches. Cependant, les matériaux que nous avons utilisés lors des expériences ne font pas partie de cette bibliothèque mais il est toutefois possible d'intégrer un nouveau matériau dans le programme avec ses propres caractéristiques. Ces paramètres sont proposés automatiquement par Comsol pour répondre aux besoins de la physique utilisée. Les deux paramètres à définir sont la conductivité électrique et la permittivité relative des deux phases dont les valeurs sont détaillées dans la Figure V-3. La conductivité électrique et la permittivité relative du liquide ionique utilisé sont issues de la littérature [102]. En ce qui concerne le PBS la conductivité électrique a été mesurée avant les expériences à l'aide d'un conductimètre et la valeur de permittivité relative extraite de la littérature.

Propriété	Nom	Valeur	Unité	Groupe de propriétés	
<input checked="" type="checkbox"/>	Conductivité électrique	sigma	0.57	S/m	Basique
<input checked="" type="checkbox"/>	Permittivité relative	epsilon	6	1	Basique

Propriété	Nom	Valeur	Unité	Groupe de propriétés	
<input checked="" type="checkbox"/>	Conductivité électrique	sigma	15.1	S/m	Basique
<input checked="" type="checkbox"/>	Permittivité relative	epsilon	80	1	Basique

Figure V-3 : Conductivité électrique et permittivité relative des deux phases utilisées à partir des valeurs de la littérature et des mesures de conductivités à l'aide d'un conductimètre

De plus, les conditions initiales et les conditions aux limites doivent être également définies. La condition initiale principale est la conservation du courant dans toute la géométrie. En ce qui concerne les conditions aux limites, l'isolation électrique est appliquée pour délimiter les limites de la géométrie où il n'y a pas passage de courant. La deuxième condition limite concerne les électrodes. L'une des électrodes est définie comme « masse » avec un potentiel nul à sa surface, la deuxième électrode est considérée comme « terminal » et un potentiel est imposé à sa surface ($V_{app} = 30$ mV). Ces deux électrodes vont permettre de simuler le champ électrique.

V.1.3 Maillage

Le maillage est l'étape essentielle pour procéder à la discrétisation du problème à résoudre. Il permet de diviser le système en plusieurs éléments appelés nœuds. Ces nœuds sont finis, de taille connue et correspondent à la géométrie du système étudié. La taille des nœuds est un paramètre déterminant pour la résolution car avec des nœuds de petites tailles, la discrétisation sera plus fiable mais engendre un temps de calcul long. Le challenge est donc de trouver un bon compromis entre un maillage qui ne doit pas être trop fin car il implique des temps de calculs importants et un maillage trop grossier qui, pour des temps de calculs beaucoup moins importants, donnerait une solution peu précise.

Dans notre cas, le domaine est découpé en tétraèdres et dans chaque tétraèdre un ensemble de fonctions polynomiales servent à caractériser l'objet étudié. Le maillage peut être optimisé en modifiant les paramètres qui le caractérisent tels que la taille maximale qui désigne la taille la plus grande qui peut être créée dans la géométrie. La taille minimale désigne la plus petite taille de maille possible, plus cette valeur est petite plus le maillage sera fin. D'autres paramètres tels que la résolution de la courbure, la résolution des régions étroites ou encore le taux de croissance des éléments, permettent de raffiner le maillage dans les petites régions et les frontières de la géométrie.

Il est également possible d'avoir recours à un maillage « mixte » en utilisant un maillage grossier dans les régions de taille importante et où les phénomènes étudiés sont peu ou pas présents. En revanche, les régions plus petites ou celles où les phénomènes sont condensés de manière importante, peuvent bénéficier d'un maillage plus fin. Ainsi le temps de calcul peut être réduit tout en gardant la précision souhaitée.

Dans ce travail, nous avons opté pour un maillage très fin qui permet d'avoir des temps de calculs d'environ 2h pour le déplacement des bouchons les plus grands.

V.1.4 Etude et méthode de résolution

Le type d'étude et la méthode de résolution choisis jouent, tout comme le maillage, un rôle primordial dans les temps de calculs. Dans notre cas nous avons opté pour une étude stationnaire couplée à une analyse paramétrique permettant de simuler le passage d'une gouttelette suivant un vecteur de déplacement sur l'axe des x , c'est-à-dire dans le sens de l'écoulement dans le microcanal.

Pour la méthode de résolution, le logiciel Comsol Multiphysics propose deux méthodes. La première méthode est une méthode directe, c'est-à-dire que les résultats sont obtenus en une seule étape de calcul. La seconde méthode est une méthode itérative, elle permet de converger vers la solution en démarrant d'un point estimé d'effectuer des approximations successives. En raison de la bonne précision, nous avons choisi la deuxième méthode.

V.2 Résultats de simulation

V.2.1 Equation théorique

Afin de calculer les variations de la résistance d'électrolyte entre deux microélectrodes intégrées dans le canal microfluidique, une équation théorique permettant de vérifier la validité du modèle utilisé a été mise en place au préalable au cours des travaux de thèse de Nour Yakdi [66]. Nous décrivons brièvement ci-dessous la procédure de vérification de l'équation théorique. Cette équation relie la conductivité de l'électrolyte et sa résistance pour deux électrodes disposées en face à face. Dans ce cas, les lignes de courant entre deux électrodes sont principalement rectilignes et la résistance d'électrolyte peut être calculée par Eq V-1:

$$R_e = \frac{l}{\sigma \cdot S} \quad \text{Eq V-1}$$

où l est la distance entre les électrodes, S la surface de l'électrode et σ la conductivité de l'électrolyte.

Afin de vérifier cette équation, la géométrie du modèle utilisé est un cube de 100 μm de côté. Deux cotés du cube en face à face sont utilisés comme électrodes (100 X 100 μm). La première électrode est définie avec un potentiel nul à sa surface et qui correspond à l'électrode de travail. La deuxième électrode, considérée comme la contre-électrode, est définie comme un terminal où un potentiel de 30 mV est imposé sur toute sa surface. La conductivité d'électrolyte a été fixée à 0.5 S/m. La densité de courant simulée par le modèle permet de calculer le courant I traversant les deux électrodes et la résistance est calculée en utilisant Eq V-2:

$$R = \frac{V}{I} \quad \text{Eq V-2}$$

La valeur de la résistance donnée par le modèle est de 20 k Ω et égale à la résistance obtenue à l'aide de Eq V-1.

Les simulations réalisées dans des travaux précédents ont démontré que la configuration des électrodes en face à face ou en côte à côte donnait des amplitudes de variation de résistance

d'électrolyte du même ordre de grandeur [66]. Dans ce travail, nous avons réalisé les simulations numériques avec des électrodes en configuration côte à côte comme la configuration utilisée dans les puces microfluidiques développées dans ce travail.

V.2.2 Les paramètres d'influence

Plusieurs paramètres mis en jeu ont une influence sur la résistance d'électrolyte entre les deux électrodes, en particulier la taille des électrodes, la distance entre les électrodes, la taille et la position des particules. Les simulations permettent ainsi d'optimiser la géométrie des canaux et des microélectrodes.

V.2.2.a Position de la gouttelette

La taille des gouttelettes est évidemment un paramètre qui a une grande influence sur la résistance d'électrolyte entre deux électrodes car les gouttelettes créent un effet d'écrantage qui perturbe les lignes de courant entre deux électrodes. Plusieurs tailles de gouttelettes ont été utilisées en simulation pour étudier son influence sur la résistance d'électrolyte. La position de la gouttelette a également une influence sur les variations de la résistance d'électrolyte. En conditions expérimentales, lorsque la taille des gouttelettes est légèrement inférieure ou égale à la taille du canal, les gouttelettes se déplacent naturellement au milieu du canal. Cependant, lorsque sa taille est inférieure à celle du canal, sa position en hauteur (suivant l'axe z) ou en profondeur (suivant l'axe y) peut varier d'une gouttelette à l'autre à cause des surpressions locales dans le canal.

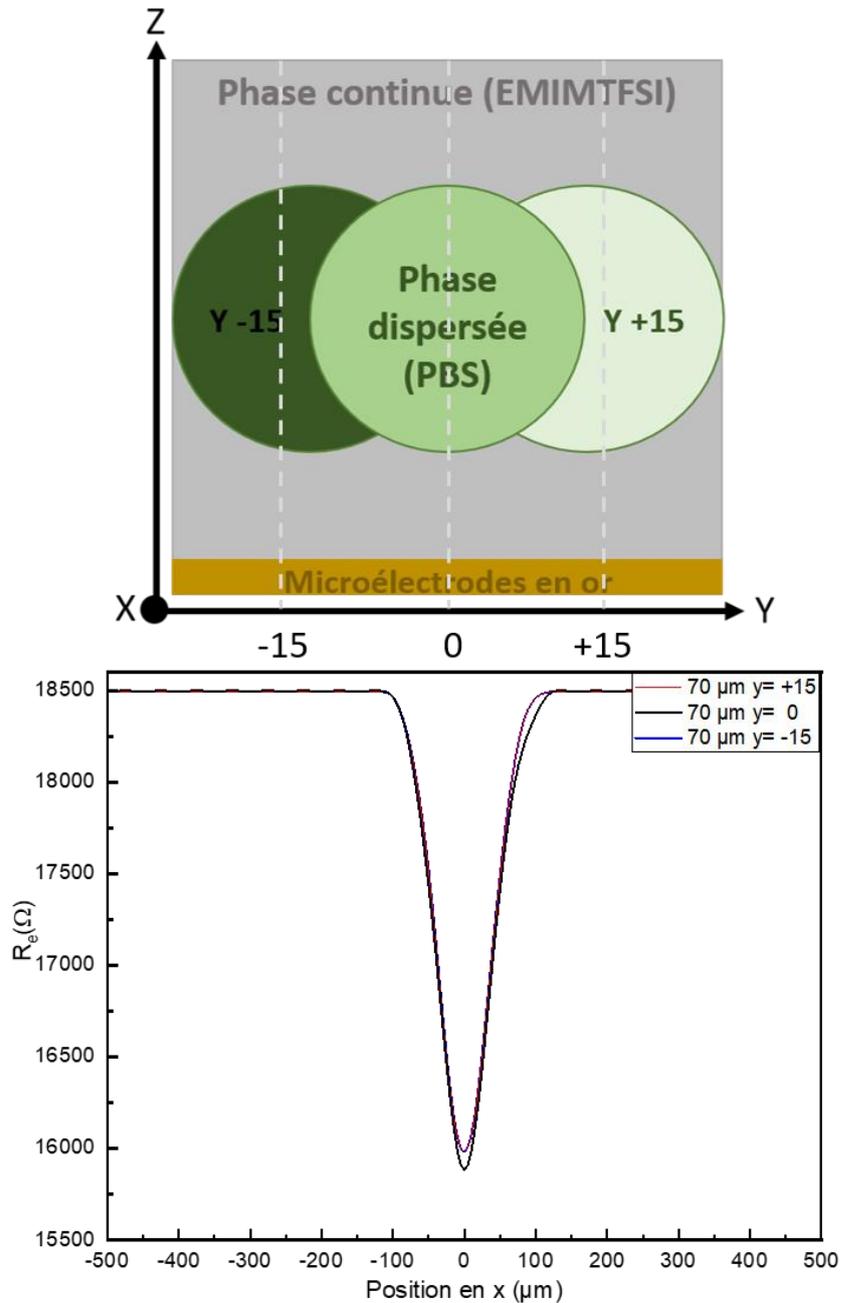


Figure V-4 : Influence de la position d'une gouttelette suivant l'axe y sur la variation de la résistance d'électrolyte

La Figure V-4 montre les résultats de simulation pour différentes positions d'une sphère de PBS de $70\ \mu\text{m}$ de diamètre positionné à trois positions en y différentes dans le plan $x = z = 0$. Comme les microélectrodes occupent toute la profondeur du microcanal, les variations de R_e pour une position de sphère de PBS à $y = +15\ \mu\text{m}$ est la même pour une position à $y = -15\ \mu\text{m}$. Ceci est la conséquence directe de la symétrie du modèle utilisé. Pour une position au centre du canal ($y = 0\ \mu\text{m}$), on peut constater une différence de l'ordre de $100\ \Omega$ par rapport à la position à $y = \pm 15\ \mu\text{m}$. Cette différence n'est pas significative dans ce cas car la différence de R_e à cause de la présence de la gouttelette est de l'ordre de $3000\ \Omega$.

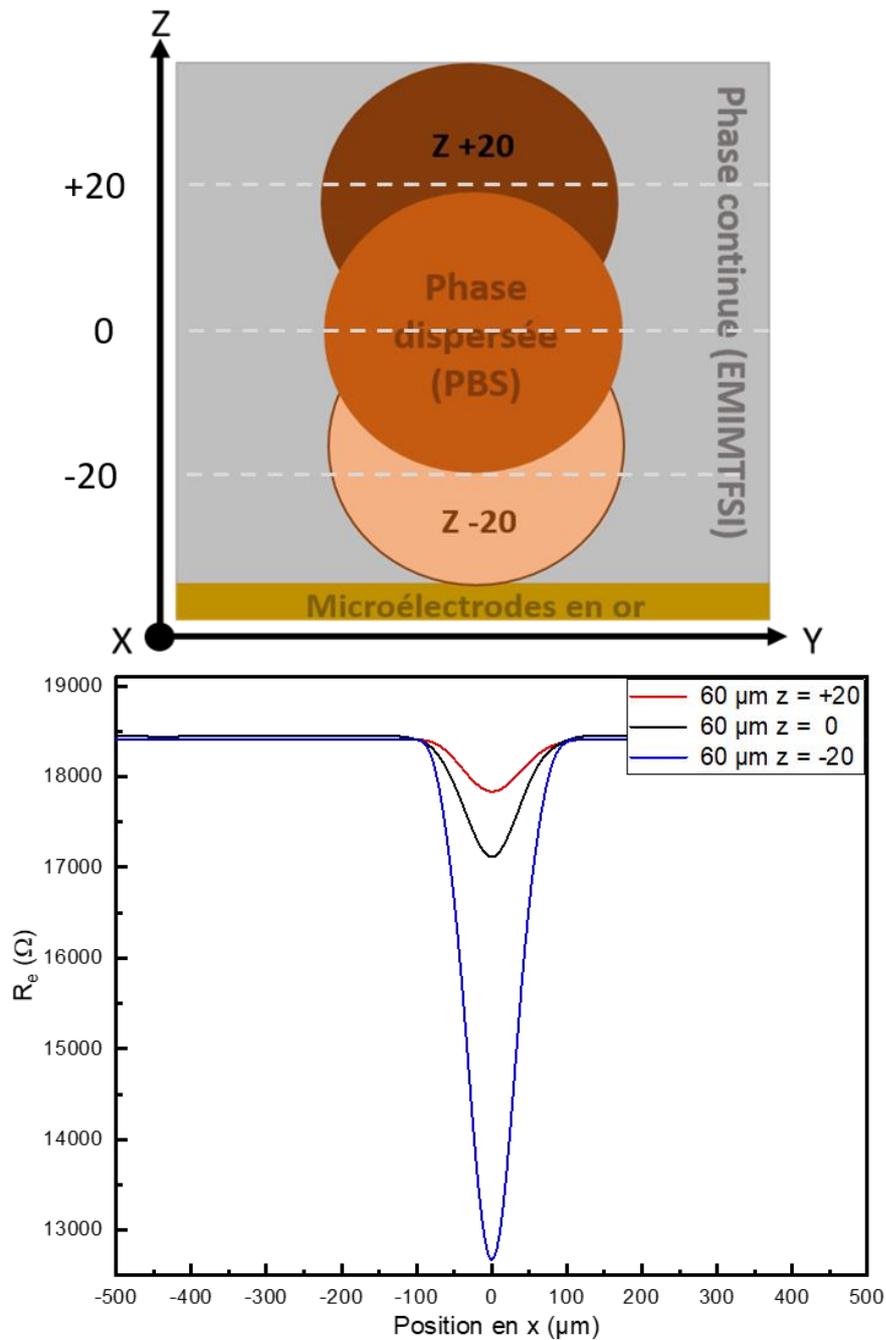


Figure V-5 : Influence de la position d'une gouttelette suivant l'axe z sur la variation de la résistance d'électrolyte

En ce qui concerne la position de la gouttelette suivant l'axe z , comme on peut voir sur la Figure V-5, son influence sur la variation de R_e est beaucoup plus significative. Dans cette configuration, plus la sphère est loin des électrodes plus la variation de R_e est importante. En effet, sur la Figure V-5, il est possible de remarquer que la variation de la résistance d'électrolyte, ΔR_e , est d'environ $2\text{k}\Omega$ pour une position au centre du canal ($z = 0 \mu\text{m}$) alors

qu'elle est respectivement d'environ 6 k Ω et 1 k Ω pour $z = +20 \mu\text{m}$ et $z = -20 \mu\text{m}$. L'influence de la position en z de la gouttelette peut aussi conduire à une comparaison incorrecte sur la taille des gouttelettes. On peut constater sur la Figure V-6 que la variation de la résistance d'électrolyte pour une sphère de 70 μm de diamètre, positionnée au centre du canal, est plus faible que celle pour une sphère de 60 μm de diamètre positionné à 20 μm du centre. Il est donc impossible de déterminer la taille des gouttelettes si les gouttelettes ne passent pas de la même manière dans le canal. Il est donc primordial de s'assurer que les microparticules, les gouttelettes ou encore les bulles à caractériser sont dans les mêmes positions suivant l'axe z .

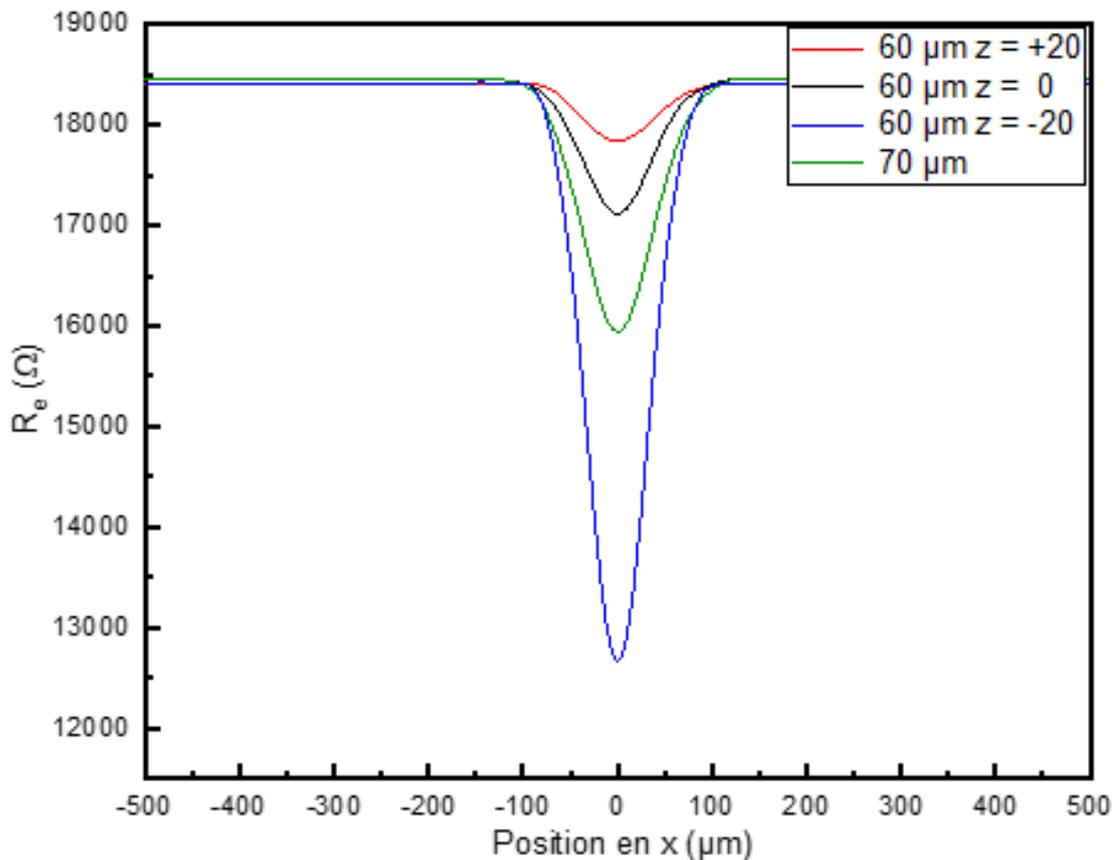


Figure V-6 : Variation de la résistance d'électrolyte pour une sphère de 60 μm de diamètre en fonction de la position en z en comparaison avec une sphère de 70 μm , positionnée au centre du canal

Un autre type d'écoulement que nous avons étudié en pratique est l'écoulement à bouchon (Figure V-7.B, C). Contrairement à l'écoulement à gouttelette où la taille des gouttelettes est égale ou inférieure à la taille du canal (Figure V-7.A), la taille des bouchons est plus grande (Figure V-7.B, C). Dans ce cas, l'influence de la position du bouchon en y et z n'est pas significative car pour ce type de régime, les bouchons occupent tout l'espace en hauteur (suivant l'axe z) et en profondeur (suivant l'axe y) dans le canal. La seule grandeur caractéristique

étudiée sera alors la longueur (suivant l'axe x) du bouchon. Il est alors possible de distinguer deux sous-catégories de bouchon.

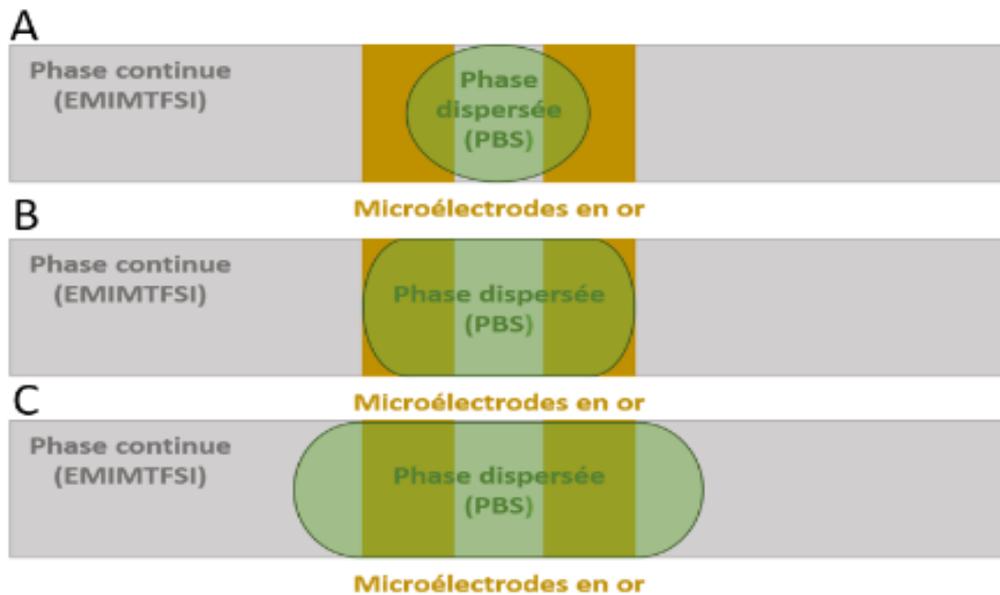


Figure V-7 : Les différents régimes d'écoulement : A. Gouttelettes de taille égale ou inférieure à la taille du canal. B. Bouchons de taille inférieure à la zone de détection des électrodes. C. Bouchons de longueur très supérieure à la largeur de détection.

La première catégorie concerne les bouchons dont la longueur est inférieure ou de l'ordre de grandeur de la zone de détection (Figure V-7.B). Cette zone de détection est définie comme la distance entre les deux extrémités des électrodes. La seconde catégorie concerne les bouchons dont la longueur est plus grande que la zone de détection (Figure V-7.C).

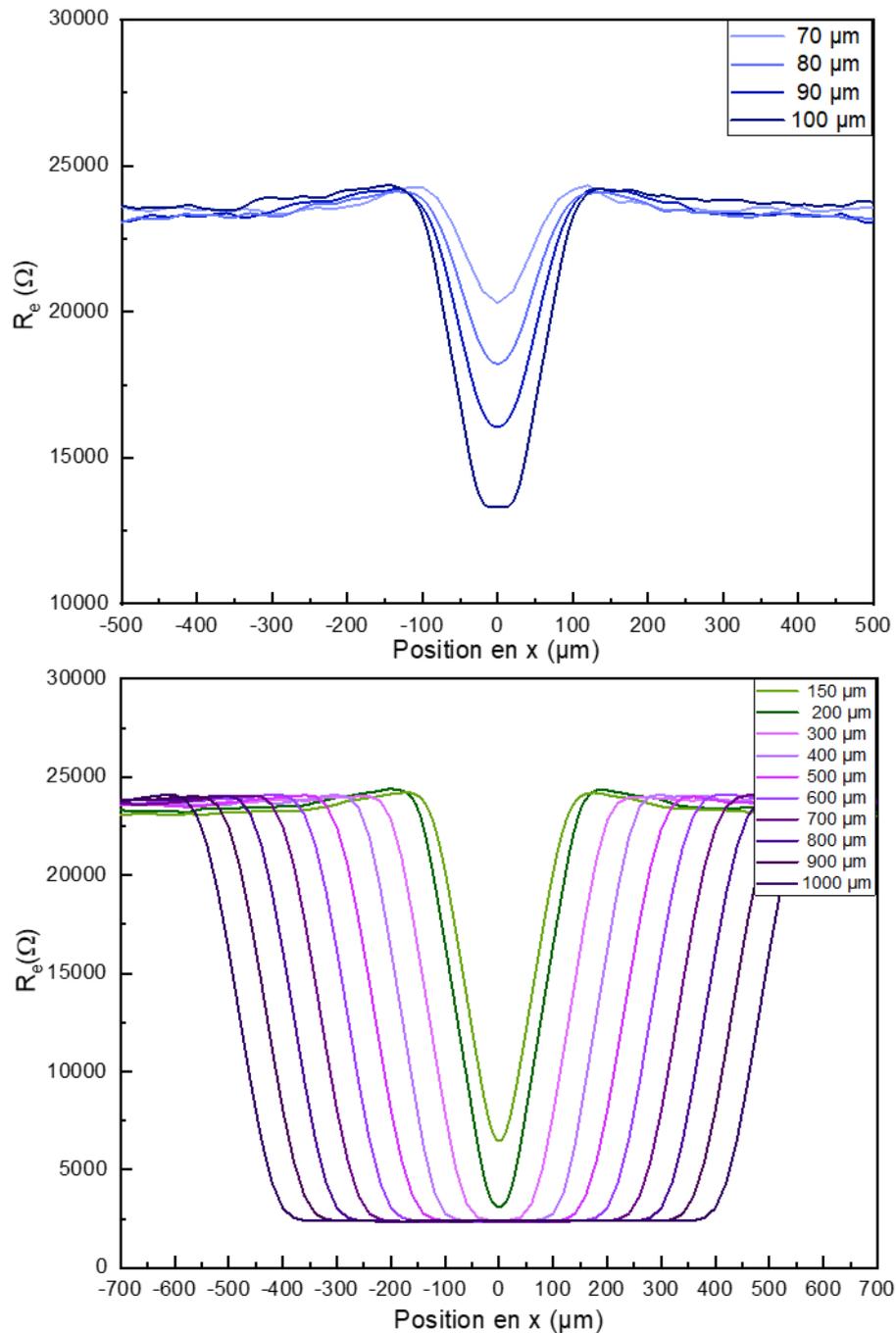


Figure V-8 : Variations de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille des microparticules de 70 μm de diamètre à des bouchons de 1000 μm de largeur.

Les réponses obtenues à l'aide des simulations en fonction de la taille et de la forme des gouttelettes ou des bouchons sont montrées à la Figure V-8. Les simulations ont été réalisées pour des électrodes de 50 μm de largeur et 50 μm de distance inter-électrode dans un canal de section 100 μm x 100 μm . L'amplitude du pic augmente au fur et à mesure que le diamètre de la gouttelette augmente de 70 μm à 100 μm . Au-delà de 100 μm de diamètre nous passons à un régime d'écoulement à bouchon. Pour les bouchons dont la longueur est comprise dans un l'intervalle]100 μm , 150 μm], la résistance augmente de manière linéaire. Dès lors que la

longueur des bouchons dépasse la largeur de détection l'augmentation de la résistance devient moins accentuée jusqu'à atteindre une valeur maximale détectée.

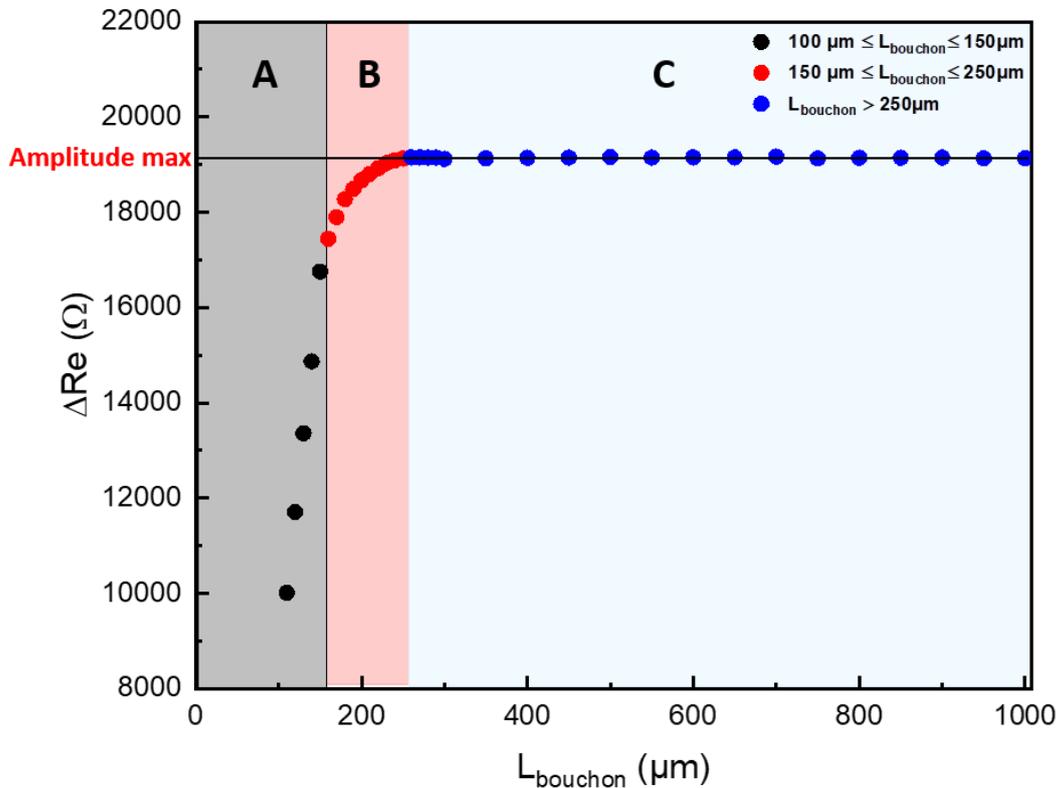


Figure V-9 : Variation maximale de la résistance d'électrolyte, $\Delta R_{e,max}$, en fonction de la taille des gouttelettes et de la longueur des bouchons

La Figure V-9 présente les variations maximales de la résistance d'électrolyte, c'est-à-dire, la hauteur du pic de variation quand le bouchon est au centre des électrodes, en fonction de la longueur des bouchons. Sur cette figure, nous pouvons observer clairement 3 zones différentes. La première zone correspond aux bouchons dont la longueur est comprise dans l'intervalle $]100, 150 \mu\text{m}]$ (zone A). Dans cette zone, la variation de la résistance d'électrolyte est proportionnelle à la taille des bouchons car la taille des bouchons est inférieure à la zone de détection des électrodes. La zone B correspond aux bouchons dont la taille est comprise dans l'intervalle $]150, 250 \mu\text{m}]$, la variation de la résistance d'électrolyte croît de façon exponentielle avec la taille des bouchons. Cette zone représente un régime intermédiaire où la taille des bouchons dépasse la zone de détection mais la résistance n'atteint pas sa valeur maximale car les bouchons ne recouvrent pas encore totalement toute la surface des électrodes. Puis, pour une longueur de bouchon supérieure à $250 \mu\text{m}$ (zone C), la variation de la résistance d'électrolyte atteint sa valeur maximale. Ceci peut être expliqué par le fait que la géométrie utilisée pour simuler les bouchons est composée de deux sphères et un cylindre au milieu. Au-dessus de 250

μm le cylindre occupe toute la zone de détection des électrodes et la valeur maximale est alors atteinte.

Un autre paramètre peut être utilisé pour caractériser les bouchons qui s'agit de la largeur à mi-hauteur du pic de variation de la résistance d'électrolyte. Cette largeur est proportionnelle à la taille des bouchons comme le montre la Figure V-10. En fonction de la longueur des bouchons, on peut trouver deux relations linéaires entre la largeur du pic à mi-hauteur et la taille des bouchons.

Pour les bouchons dont la longueur est comprise entre 100 et 150 μm , on peut écrire :

$$L_{\text{bouchon}} = \frac{L_{\text{mi-hauteur}} - 11,89}{7 \cdot 10^{-3}}$$

Et pour les longueurs de bouchon supérieures à 150 μm :

$$L_{\text{bouchon}} = L_{\text{mi-hauteur}} + 31,4$$

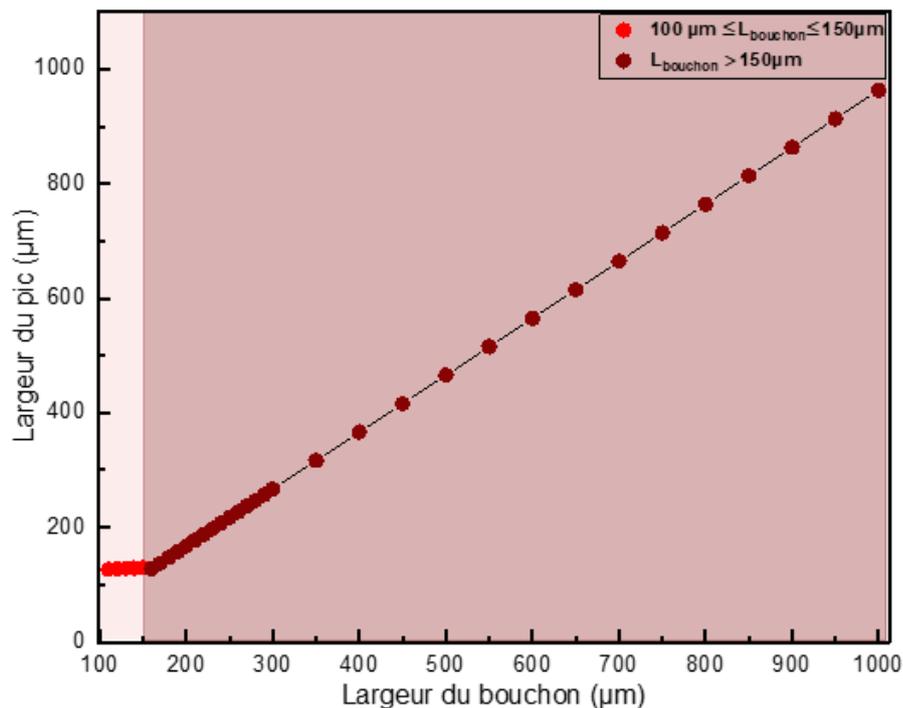


Figure V-10 : Largeur à mi-hauteur du pic de variation de résistance en fonction de la largeur des bouchons

A partir de ces représentations, il est donc possible d'accéder aux valeurs de la variation de la résistance d'électrolyte ou de la largeur du pic de tous les types de bouchons même pour des bouchons dépassant la zone de détection des électrodes.

V.2.2.b La distance inter-électrode (DIE)

La distance inter-électrode est également un paramètre qui a une influence importante sur la variation de la résistance d'électrolyte. La Figure V-11 présente les variations de la résistance d'électrolyte pour une sphère de $80\ \mu\text{m}$ de diamètre, déplacée au milieu du canal selon l'axe x , pour deux distances inter-électrode ($25\ \mu\text{m}$ et $50\ \mu\text{m}$), la largeur des électrodes est la même pour ces deux configurations ($50\ \mu\text{m}$). Ces deux distances inter-électrodes ont été spécialement étudiées afin de comparer aux résultats expérimentaux exploités dans le chapitre 5.

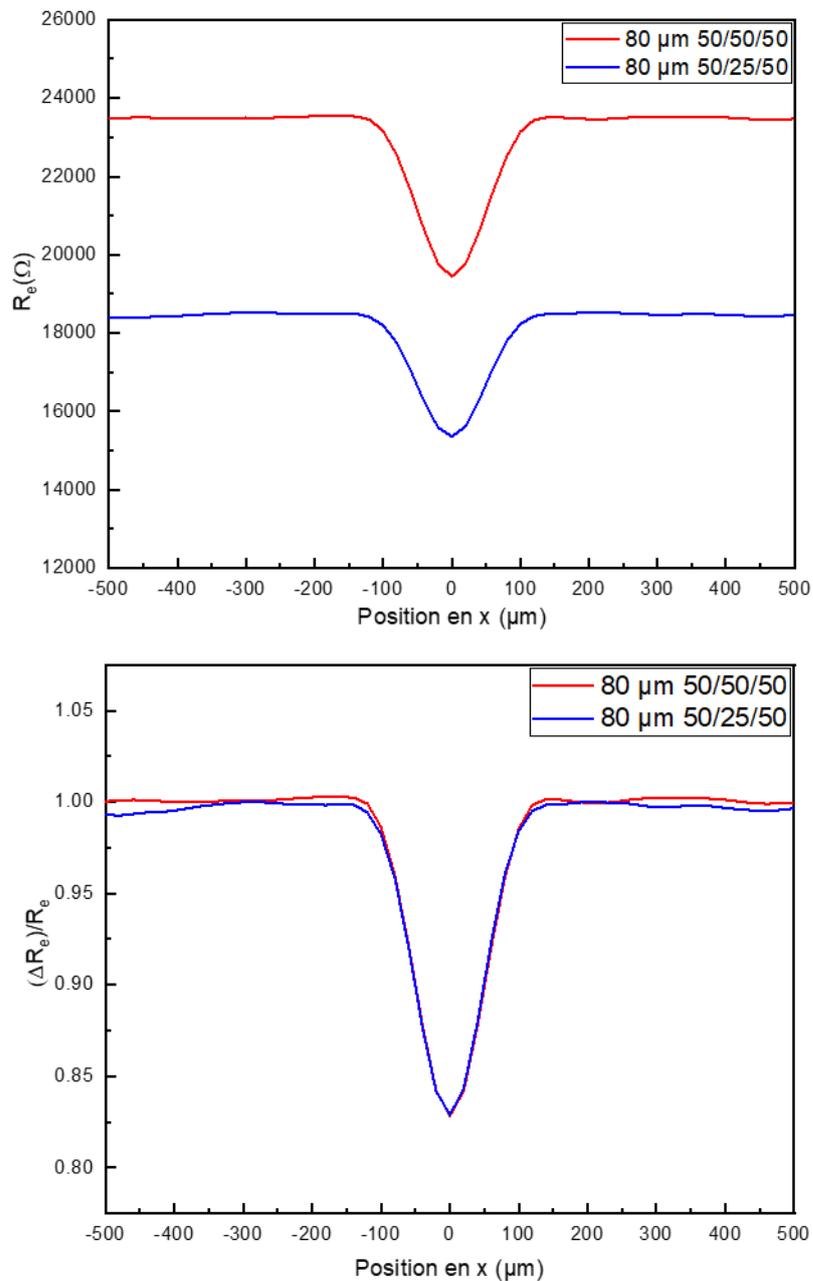


Figure V-11 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la position d'une sphère de $80\ \mu\text{m}$ de diamètre dans un canal microfluidique pour différentes distance inter-électrodes ($25\ \mu\text{m}$ et $50\ \mu\text{m}$)

Dans l'Eq V-1, il est possible de noter que la résistance d'électrolyte est proportionnelle à la distance inter électrode. La valeur de la résistance d'électrolyte est donc plus importante pour une DIE de 50 μm que pour une DIE de 25 μm . En revanche, en normalisant les variations de la résistance en les divisant par la résistance de l'électrolyte, il est possible de constater que l'amplitude des variations de change pas quel que soit la distance inter-électrode. La distance inter-électrode n'a donc pas d'impact sur l'amplitude des variations de la résistance d'électrolyte.

Afin de mettre en évidence cette différence, une simulation de spectres d'impédances pour ces deux distances inter-électrode (25 et 50 μm) a été réalisée. La simulation est réalisée en utilisant le même modèle que précédemment à la différence près est qu'une impédance distribuée a été ajoutée à la surface de l'une des électrodes pour effectuer une analyse fréquentielle. Les paramètres utilisés sont obtenus à partir de la modélisation des spectres d'impédance par circuit électrique détaillé dans le chapitre 3 (Figure IV-6).

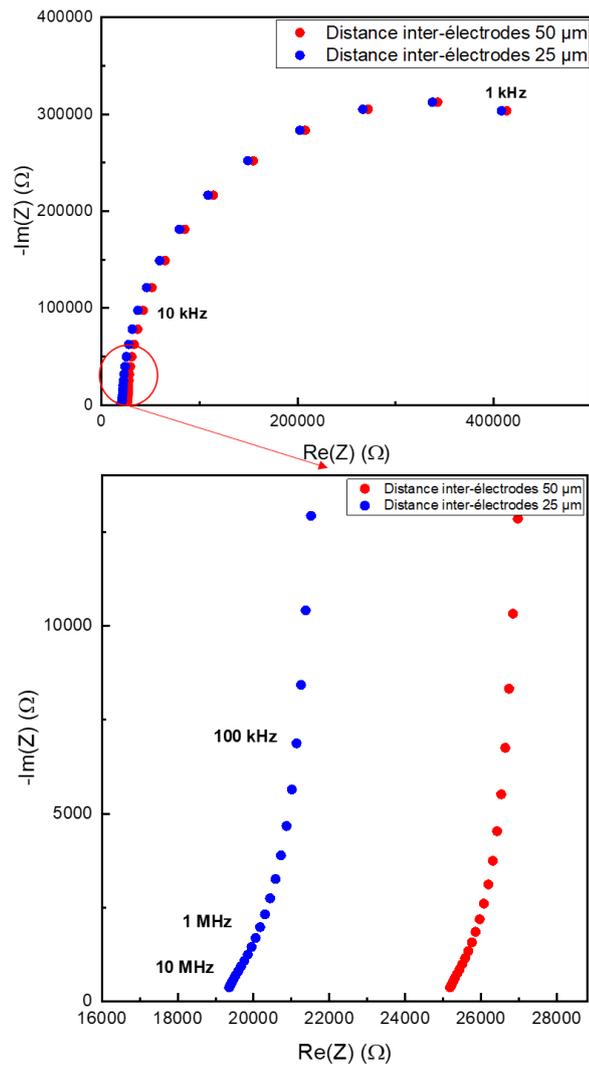


Figure V-12 : Diagramme de Nyquist pour les deux distances inter-électrode (DIE) (25 μm et 50 μm) et zoom sur la partie hautes fréquences

L'étude fréquentielle a été réalisée entre 1 kHz et 10 MHz, des points plus bas en fréquence étant non pertinents dans notre étude étant donnée que la résistance d'électrolyte est observée à hautes voire très hautes fréquences pour les microélectrodes. On voit sur la Figure V-12 que la résistance est approximativement obtenue à 10 MHz. Elle est de 19 k Ω pour une distance inter-électrode (DIE) de 25 μm et de 25 k Ω pour une DIE de 50 μm .

Pour aller plus loin, des simulations pour des DIE croissantes ont été réalisées. Les valeurs des DIE ont été choisies comme étant des multiples de la largeur de bouchons. De plus, les DIE ont été normalisées en les divisant par la largeur des bouchons. On peut observer sur la Figure V-13 que les valeurs de la résistance d'électrolyte augmentent linéairement à mesure que la DIE augmente.

$$DIE \text{ normalisée} = \frac{DIE}{L_{\text{bouchon}}}$$

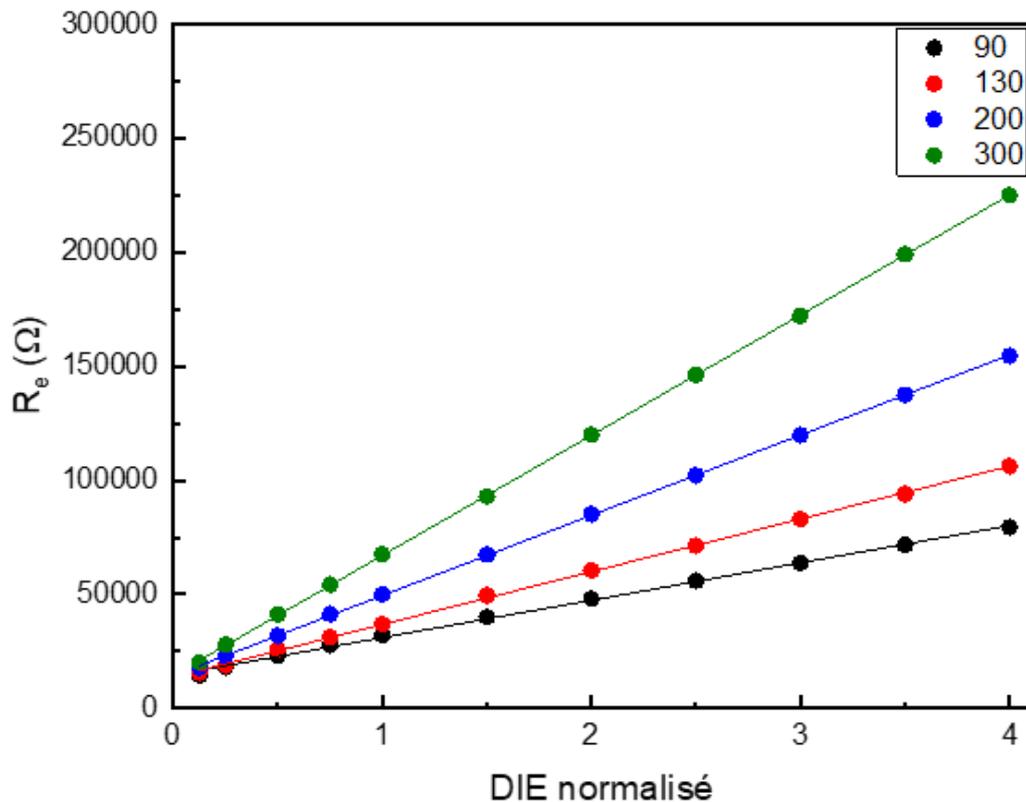


Figure V-13: Variation de la résistance d'électrolyte en fonction du rapport entre taille d'électrodes et taille des bouchons (90, 130, 200 et 300 μm)

Pour une longueur de bouchon donnée, on voit bien que plus la distance inter-électrode augmente, plus la variation de la résistance d'électrolyte augmente et cette relation est parfaitement linéaire quel que soit la longueur des bouchons.

V.2.2.c Taille des électrodes

Nous avons mis en évidence précédemment les répercussions de la variation de la distance inter-électrode sur les mesures de résistance d'électrolyte mais il est important de noter que la taille des électrodes est bien évidemment un paramètre déterminant. La Figure V-14 présente les variations de la résistance d'électrolyte en fonction de la largeur des électrodes pour trois tailles de bouchons (90, 130 et 300 μm), la distance inter-électrode étant fixée à 25 μm pour ces trois courbes. Dans les trois cas, la résistance d'électrolyte diminue de manière exponentielle quand la largeur des électrodes augmente puis elle reste constante quand la largeur des électrodes dépasse un certain seuil. Donc pour une taille d'électrodes dépassant la taille de l'objet à caractériser les variations de résistance deviennent peu ou pas observables. On

voit également que la résistance d'électrolyte diminue de manière de plus en plus prononcée à mesure que la taille des bouchons augmente.

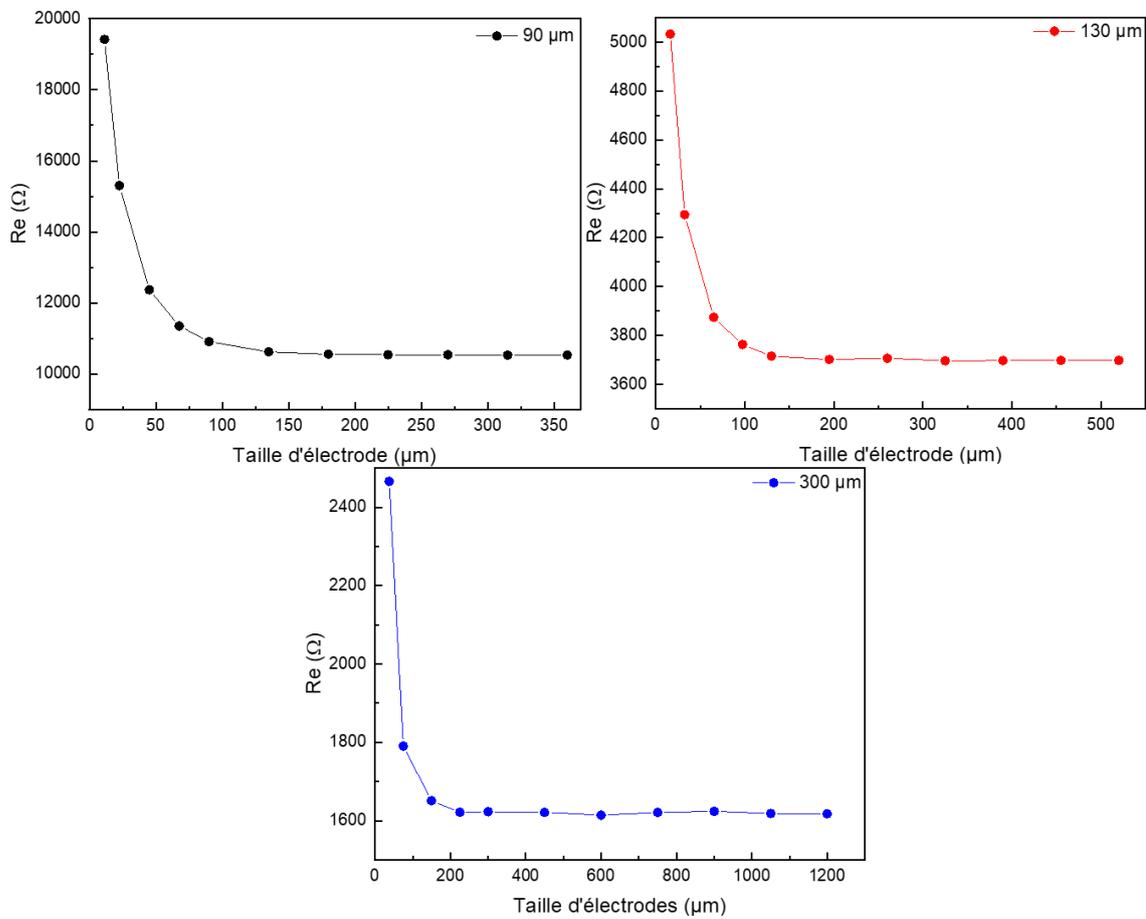


Figure V-14 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille d'électrode pour trois tailles de bouchon (90, 130 et 300 μm)

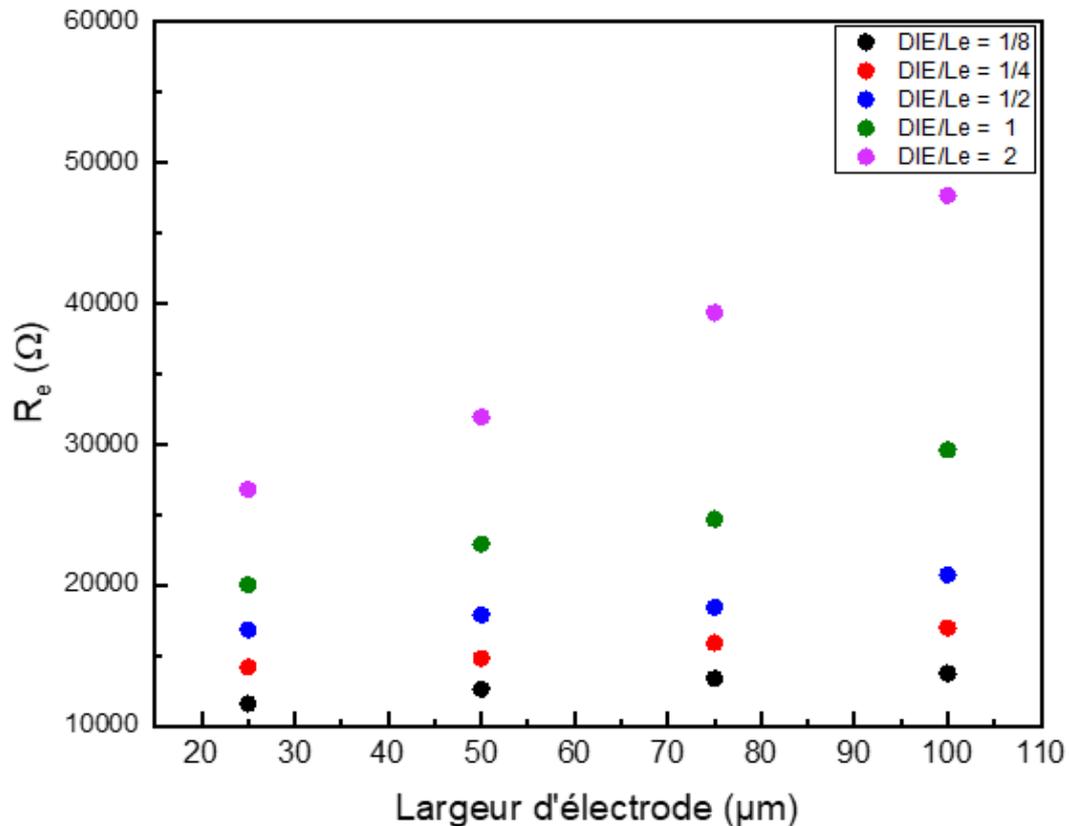


Figure V-15 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction du rapport DIE/L_e pour plusieurs tailles d'électrodes (25, 50, 75 et 100 μm)

Nous avons également voulu mettre en évidence l'influence du rapport de la distance inter-électrode (DIE) sur la largeur des électrodes utilisées (L_e). La Figure V-15 montre les valeurs maximales de résistances obtenues dans un canal de 100 μm en mesurant la résistance du milieu (phase continue « EMIMTFSI ») pour différents rapport DIE/L_e . Pour les rapports DIE/L_e inférieurs à 1 (points bleu, rouge et noir sur la Figure V-15), l'écart entre les valeurs de résistance d'électrolyte en fonction de la largeur des électrodes est égal au maximum à 15 %. Cet écart est égal à 30 % pour un rapport DIE/L_e de 1 et de 44% pour un rapport de 2. On peut donc conclure que la taille des électrodes a un impact moins important sur la résistance d'électrolyte quand les distances inter-électrode sont plus petites que la largeur des électrodes.

V.2.2.d Influence de la conductivité de la phase dispersée

La conductivité de la phase dispersée joue également un rôle primordial dans la mesure des variations de la résistance d'électrolyte. En effet, comme présenté précédemment le PBS à une conductivité supérieure à celle de la phase continue (EMIMTFSI), l'impédance entre les deux électrodes va donc diminuer lorsqu'il y a une gouttelette ou un bouchon de PBS traversant devant ces électrodes. On obtient donc un pic de variation de résistance d'électrolyte vers le bas. En revanche, pour une gouttelette ou un bouchon d'azote dont la conductivité est très faible

devant celle de la phase continue, l'impédance entre les électrodes va augmenter, on obtient donc un pic vers le haut. La Figure V-16 présente les variations de la résistance d'électrolyte lors de passage de bouchons de différente longueur devant les électrodes. Les paramètres d'influence tels que la taille des bulles, la taille des électrodes et la distance inter-électrode influencent la résistance d'électrolyte de la même manière que dans le cas des bouchons de PBS dans le liquide ionique.

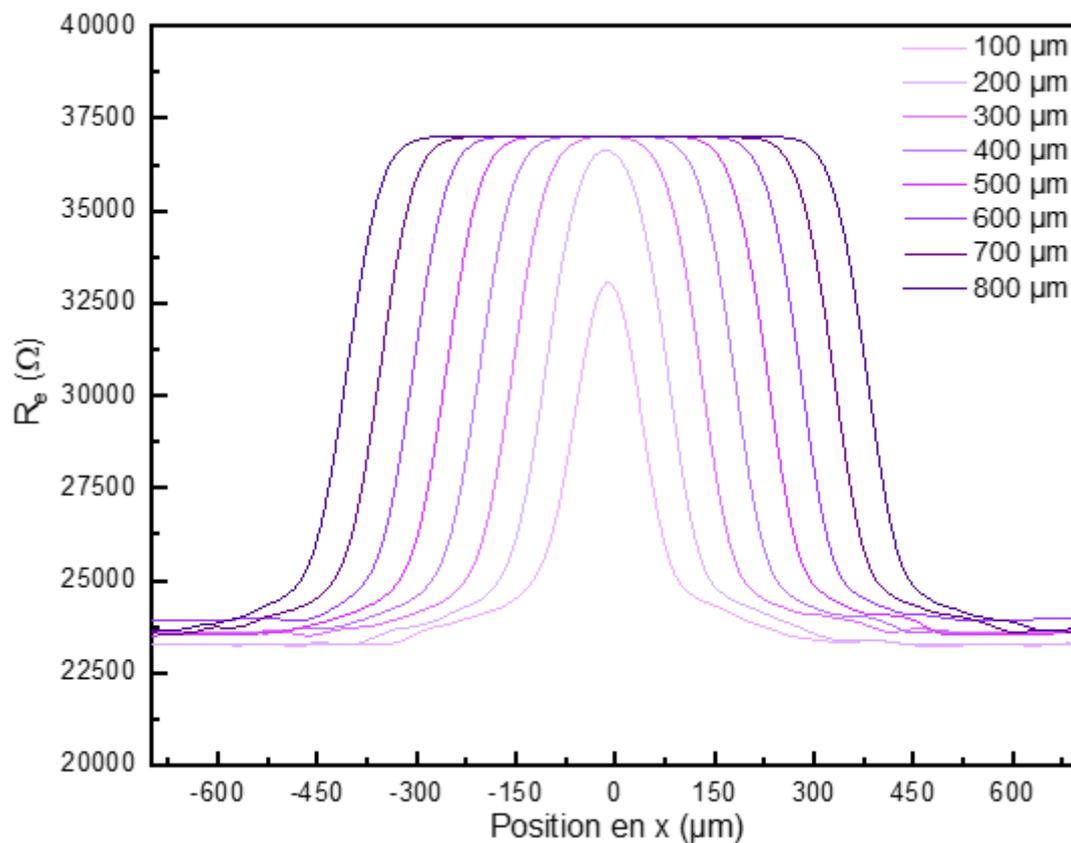


Figure V-16 : Variation de la résistance d'électrolyte en fonction de la taille des gouttelettes et des bouchons d'azote dans le liquide ionique EMIMTFSI

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons détaillé les modèles utilisés pour simuler les mesures de la résistance d'électrolyte lors du passage d'une gouttelette ou d'un bouchon de phase dispersée dans une phase continue. Pour réaliser les simulations numériques le logiciel Comsol Multiphysics® a été utilisé qui repose sur la méthode des éléments finis pour la résolution des équations aux dérivées partielles.

A travers les équations de Maxwell et le modèle utilisé précédemment pour vérifier l'équation théorique, il a été possible de procéder à diverses simulations permettant ainsi de

mettre en évidence l'influence de différents paramètres sur la résistance d'électrolyte entre deux électrodes dans le canal. La phase continue utilisée est le liquide ionique (EMIMTFSI) dont les paramètres sont renseignés dans le modèle, la phase dispersée est soit le PBS soit l'azote. D'autre part, l'influence de la position du bouchon par rapport aux électrodes, la taille des électrodes ainsi que la distance inter-électrode ont été mise en évidence permettant ainsi de prévoir la configuration la mieux adaptée en fonction de l'application visée de ces systèmes microfluidiques.

Ces résultats de simulation seront comparés et discutés aux résultats expérimentaux dans le chapitre suivant.

Chapitre 5

Résultats expérimentaux

VI. Caractérisation de gouttelettes et de bulles générées dans un canal microfluidique

Dans ce chapitre, nous présentons les résultats expérimentaux obtenus lors de la caractérisation de gouttelettes et de bulles dans le canal microfluidique par la mesure de la variation de l'impédance entre deux électrodes. Les caractérisations optiques, le traitement des résultats et les comparaisons avec les simulations seront détaillés.

VI.1 Détermination de la taille des microparticules par traitement des vidéos et d'images

Une estimation de la taille des bouchons de PBS et des bulles d'azote dans l'EMIMTFSI est réalisée à l'aide du logiciel « ImageJ ». Pour ce faire, plusieurs captures d'écran de la séquence de génération des bouchons sont réalisées à partir des vidéos enregistrées. Les images sont ensuite importées dans le logiciel « ImageJ ». Pour pouvoir déterminer la taille réelle de gouttelette, il est nécessaire d'utiliser un étalon. Dans notre cas, l'étalon utilisé est la largeur d'une microélectrode. Le logiciel « ImageJ » permet de mesurer la taille des images en pixel puis à l'aide de l'étalon, de convertir la taille réelle des gouttelettes. La Figure VI-1 montre un exemple typique où la largeur de l'électrode utilisée est de 50 μm , la distance en pixel est de 22 pixels, c'est-à-dire un pixel correspond à 2,27 μm .

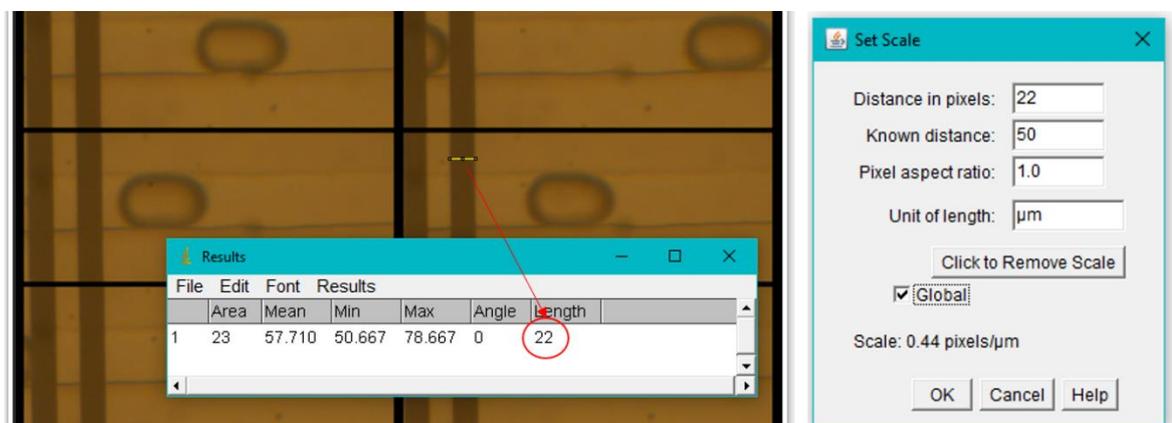


Figure VI-1 : Étalonage sur « ImageJ » à l'aide d'une largeur connue de l'électrode pour déterminer la taille des gouttelettes

Pour déterminer la taille des bouchons plus précisément, une moyenne de dix mesures de la longueur de 10 bouchons différents est réalisée, ce qui donne une taille caractéristique pour un écoulement donné. La Figure VI-2 présente un exemple de mesure de la longueur de bouchons de PBS dans le liquide ionique pour une pression de 112 mbar pour la phase dispersée et de 200 mbar pour la phase continue. Pour ce régime d'écoulement, la taille moyenne des bouchons est de 154,57 μm de longueur.

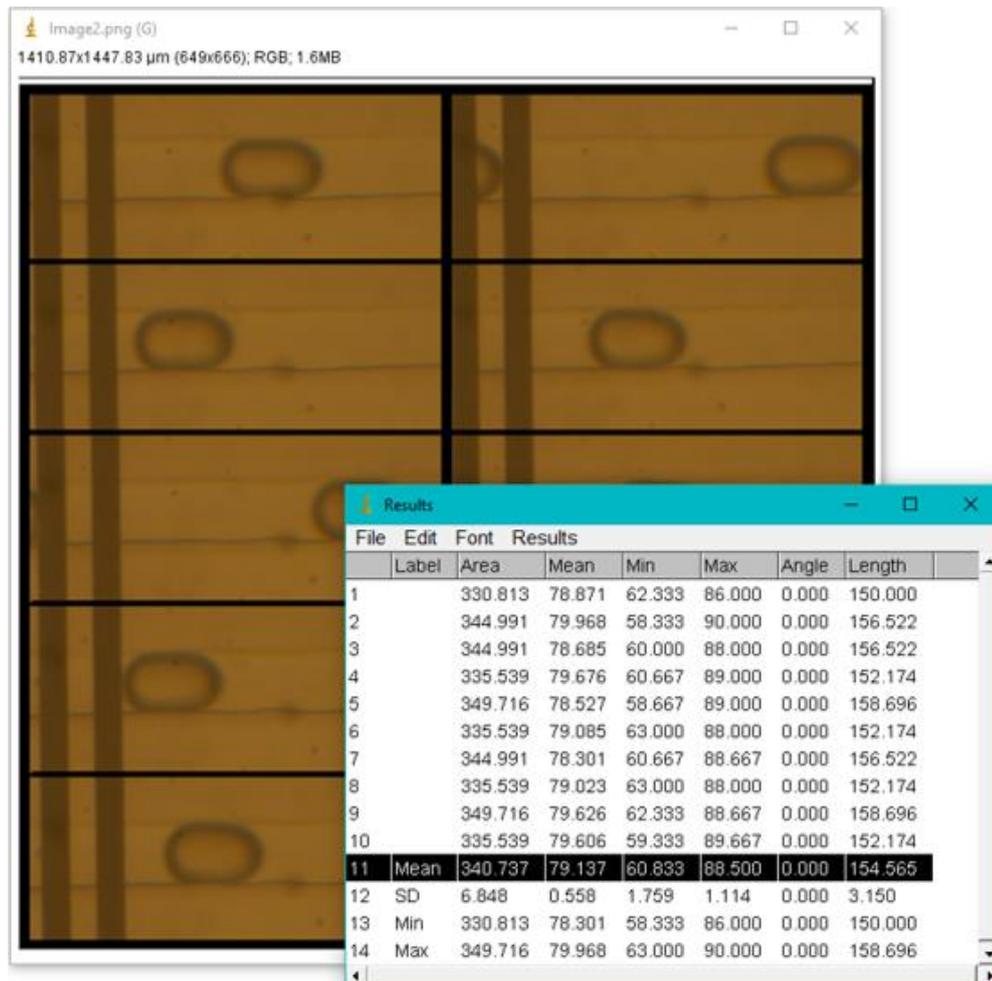


Figure VI-2 : Mesure de la longueur des 10 bouchons obtenus pour une pression de 200 mbar pour l'EMIM et 112 mbar pour le PBS et la moyenne calculée.

VI.2 Mesures de bruit électrochimique

Comme précisé dans le chapitre 3, la phase continue utilisée est le liquide ionique (EMIMTFSI) et pour la phase dispersée le PBS ou l'azote sont utilisés pour générer respectivement des bouchons et des bulles.

VI.2.1 Vitesse d'écoulement de l'électrolyte

La détermination des valeurs de variation de la résistance d'électrolyte à partir de celles de l'impédance mesurées à 100 kHz selon Eq IV-13 nécessite les valeurs du module et l'argument de l'impédance à 100 kHz. Pour étudier l'influence du débit d'écoulement sur ces deux paramètres, plusieurs pressions allant de 50 à 400 mbar ont été appliquées à la phase continue en écoulement dans le canal microfluidique. En effet, *Niu et al.* ont montré que le principal facteur qui contribue à la variation de l'impédance en fonction de la vitesse d'écoulement du fluide est la déformation des microcanaux [110]. Dans notre cas, le canal est en PDMS qui est un matériau relativement déformable avec un module de Young de l'ordre de 1,25 MPa pour une épaisseur de 6 mm.

L'impédance entre deux électrodes a été mesurée pour chaque pression utilisée pour une gamme de fréquences entre 10 Hz et 100 kHz. Le module et l'argument de l'impédance à 100 kHz ont été prélevés pour chaque pression et sont présentés à la Figure VI-3. On peut remarquer que le module de l'impédance à 100 kHz diminue tandis que l'argument de l'impédance à cette fréquence augmente pour des pressions de plus en plus élevées. A 50 mbar, le module et l'argument de l'impédance sont égaux respectivement à 16365,24 Ω et $-39,07^\circ$. A 400 mbar, ces valeurs sont 15113,84 Ω et $-36,6^\circ$, ce qui représente une erreur relative de 7,8 % pour le module et 6,5 % pour l'argument. Toutefois pour ce qui est des répercussions sur les valeurs de résistance d'électrolyte mesurée, il est possible de constater une variation de 55 Ω pour une valeur de R_e de l'ordre de 6 k Ω . L'erreur relative est de l'ordre de 1% pour une différence de pression de 350 mbar. Ainsi, il est possible de négliger l'influence sur les variations de l'impédance de la pression appliquée. Ce qui nous permet également de confirmer que les variations de la résistance d'électrolyte sont une conséquence directe du paramètre géométrique à savoir la taille des gouttelettes ou des bouchons à caractériser et non la pression des deux phases lors de leurs écoulements dans le microcanal.

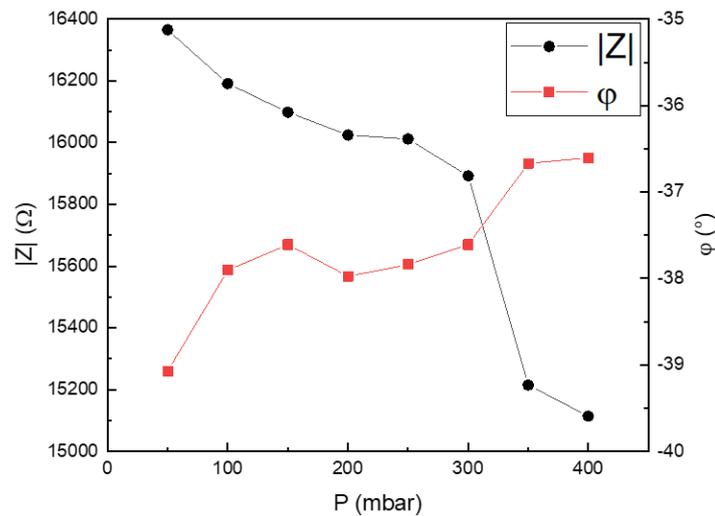


Figure VI-3 : Variation du module et de l'argument de l'impédance à 100 kHz en fonction de la pression de la phase continue

VI.2.2 La conductivité des fluides utilisés

La génération des bouchons ou des bulles a lieu en introduisant deux fluides immiscibles dans le canal microfluidique. Ces fluides possèdent des propriétés différentes telles que la conductivité électrique. La différence de conductivité entre la phase continue et la phase dispersée conduit à des variations de la résistance d'électrolyte entre deux électrodes dans le canal. Le Tableau VI-1 regroupe les conductivités des phases utilisées lors de nos travaux. Les valeurs des conductivités du liquide ionique et de l'azote sont issues de la littérature et la conductivité du PBS a été mesurée à l'aide d'un conductimètre.

Tableau VI-1 : Tableau récapitulatif des conductivités électriques des phases utilisées

EMIMTFSI	PBS	Azote
0,57 S/m	15,1 S/m	10^{-15} - 10^{-16} S/m

Afin de déterminer la variation effective de la résistance d'électrolyte lors de passage des bouchons devant les électrodes, la variation de la résistance d'électrolyte (R_e) a été corrigée en soustrayant la valeur de R_e mesurée en présence de la phase continue seule. De ce fait, la ligne de base de toutes les courbes présentées dans ce chapitre commence à zéro.

La Figure VI-4 présente les variations de la résistance d'électrolyte quand les bulles d'azote passent devant une paire d'électrode dans un canal microfluidique contenant du liquide ionique EMIMTFSI comme phase continue. On voit bien sur cette figure que la résistance d'électrolyte augmente du fait que l'azote est non conducteur.

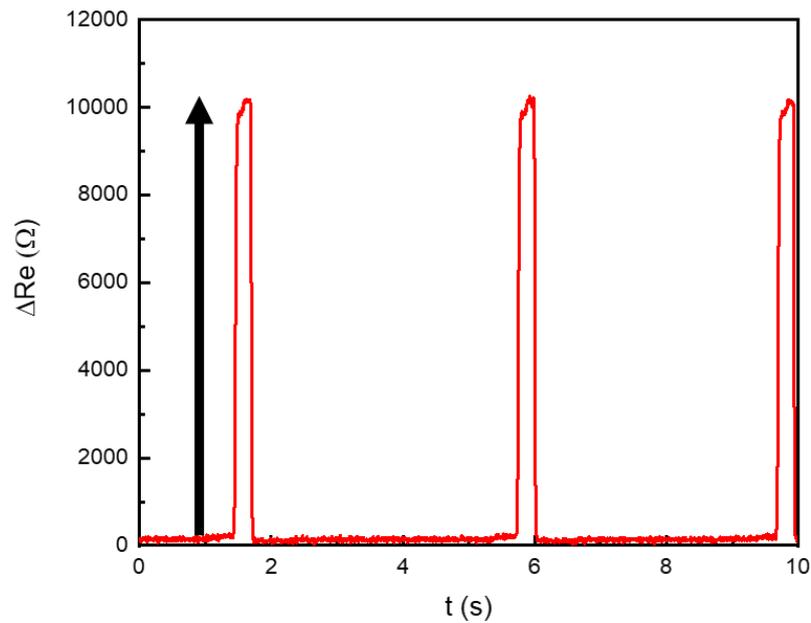


Figure VI-4 : Variations de la résistance d'électrolyte lors du passage de bulles d'azote de 900 μm de longueur dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm . Electrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm

Dans le cas où la phase dispersée est le PBS, qui est environ 30 fois plus conducteur que la phase continue, la résistance d'électrolyte diminue lorsqu'il y a passage d'une gouttelette ou d'un bouchon de PBS devant les électrodes de mesure. On obtient donc les pics de variation de résistance vers le bas (Figure VI-5).

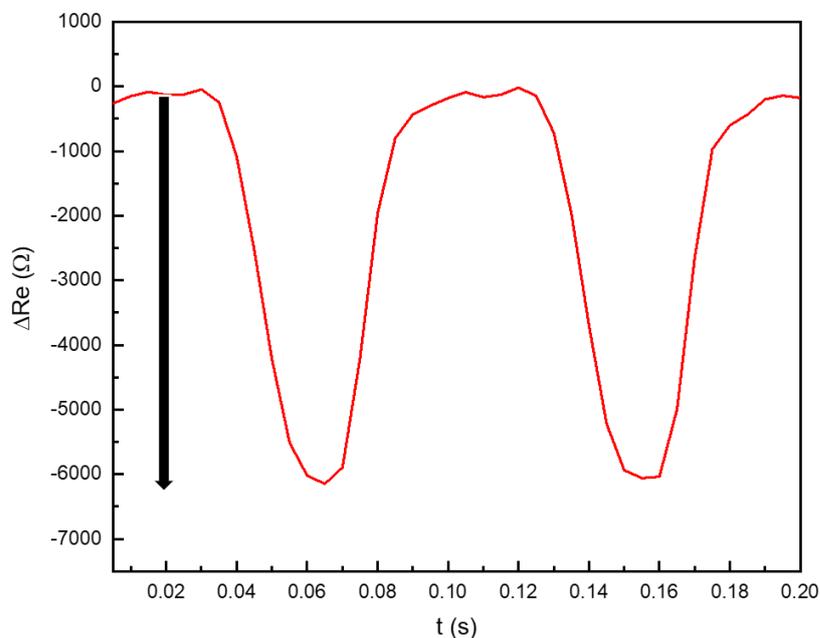


Figure VI-5 : Variations de la résistance d'électrolyte lors de passage d'une gouttelette d'un diamètre de 85 μm de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm . Electrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm

VI.2.3 Influence de la pression des deux phases

La taille des particules (gouttelette ou bouchon) générées peut dépendre de la pression de la phase continue, celle de la phase dispersée ou du rapport de débit de ces deux phases. Par conséquent, la variation de la résistance d'électrolyte dépend également fortement de ces pressions comme nous l'avons montré au chapitre 4 à l'aide des simulations numériques.

Dans le cas de gouttelettes ou bouchons de PBS générés dans l'EMIMTFSI, la pression de la phase continue est maintenue constante à une pression de 200 mbar en faisant varier légèrement la pression de la phase dispersée (PBS) de 124 à 112 mbar (Figure VI-6). Dans le premier cas (200 mbar pour la phase continue, 124 mbar pour la phase dispersée) on obtient des gouttelettes de 90 μm (B) de diamètre alors que dans le second cas (200 mbar pour la phase continue, 112 mbar pour la phase dispersée) on obtient des bouchons de 150 μm (A) de longueur. En effet, en diminuant la pression de la phase dispersée, cette dernière sera cisailée plus facilement par la phase continue et donner lieu à des gouttelettes de plus petite taille.

La variation de la résistance d'électrolyte est d'environ 10 $\text{k}\Omega$ pour des gouttelettes de 90 μm et de 16,5 $\text{k}\Omega$ pour des bouchons de 150 μm de longueur. Donc l'amplitude de la variation de la résistance sera plus importante à mesure que la taille des gouttelettes ou des bouchons augmente ce qui perturbe les lignes de champ générées entre les deux électrodes de caractérisation de manière plus importante.

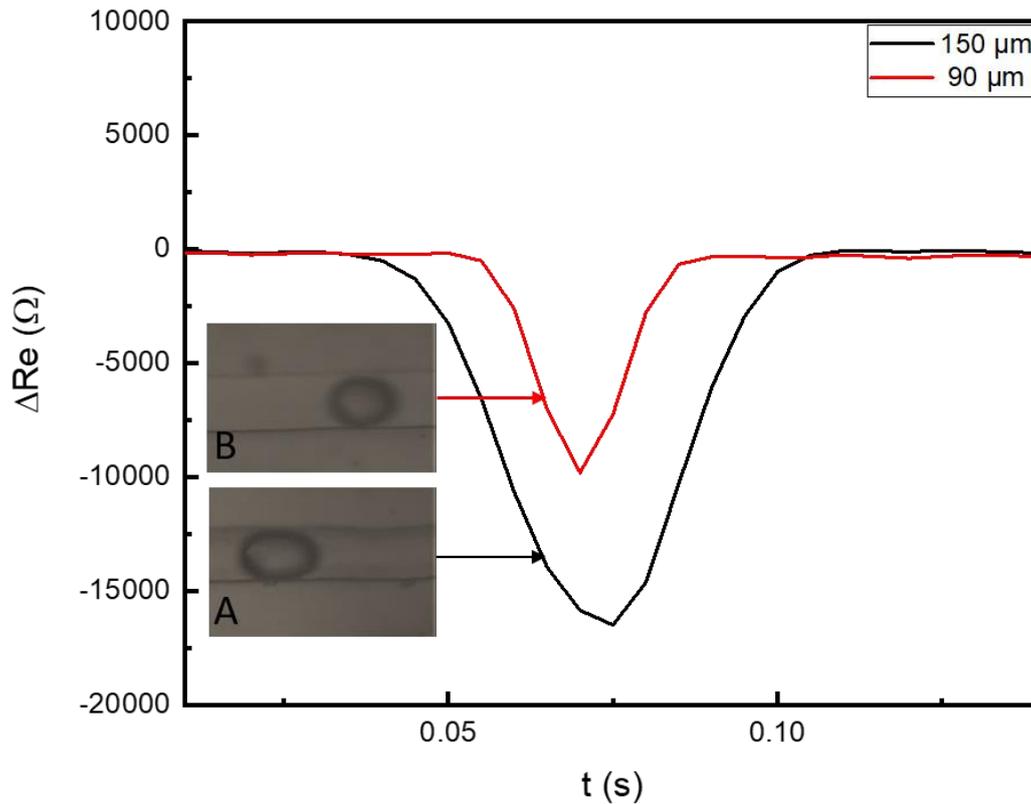


Figure VI-6 : Variation de la résistance d'électrolyte pour un bouchon de PBS de 150 μm de longueur (A) et pour une gouttelette de 90 μm de diamètre (B) dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm

Pour des bouchons d'azote dont la longueur est beaucoup plus grande que la zone de détection, comme nous avons vu dans le chapitre précédent, les résultats de simulation ont montré qu'au-delà d'une certaine taille, la résistance d'électrolyte ne variait plus. La Figure VI-7 présente la variation de la résistance d'électrolyte pour deux bouchons dont la longueur est d'environ 6 fois plus grande que la zone de détection. Dans cette puce, les électrodes utilisées ont une largeur de 50 μm et leur inter-distance est également de 50 μm , ce qui fait une largeur de la zone de détection de 150 μm . Comme on peut remarquer sur la Figure VI-7, pour des bouchons de 730 et 900 μm de longueur, l'amplitude de la variation de la résistance d'électrolyte varie peu (environ 5% dans ce cas). Par contre, la largeur du pic dépend clairement de la longueur du bouchon, une corrélation entre la longueur du bouchon et la largeur du pic est possible.

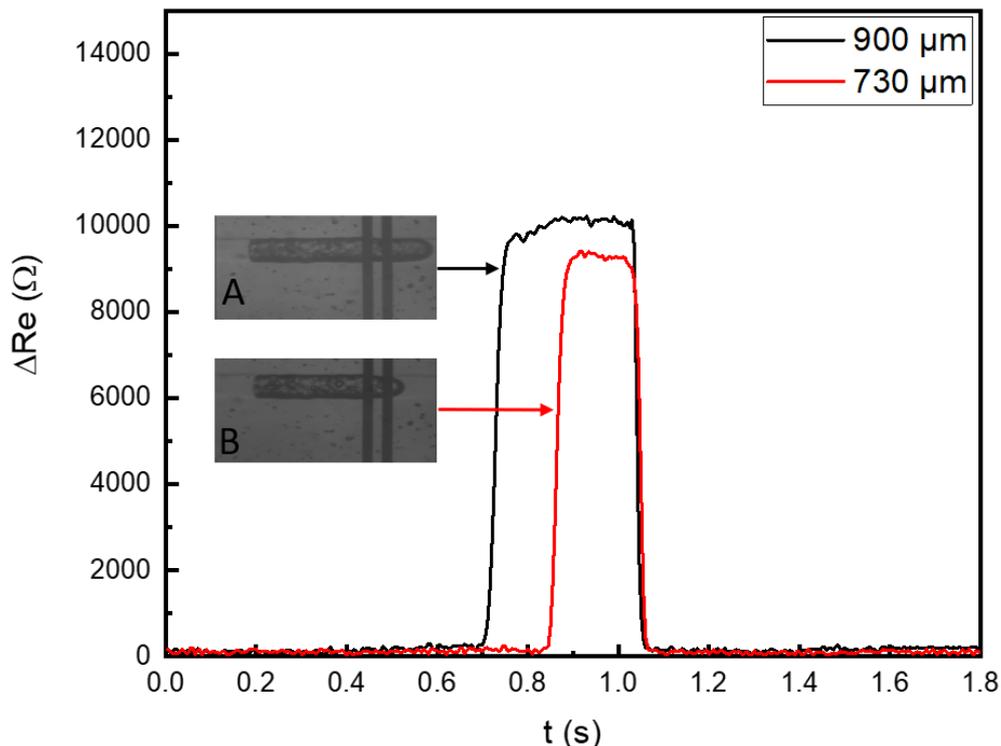


Figure VI-7 : Variations de la résistance d'électrolyte en fonction de la largeur du bouchon d'azote dans l'EMIMTFSI dans un canal de $100 \mu m$. avec des électrodes de $50 \mu m$ de largeur et une DIE de $50 \mu m$

Le régime de génération de gouttelettes ou de bouchons est régi par la pression des deux phases, mais également dépendant du rapport entre ces deux pressions. La Figure VI-8 montre les variations de la résistance d'électrolyte pour deux régimes de générations de bouchons de PBS dans le liquide ionique EMIMTFSI. Le rapport des pressions de deux phases reste constant à 1,4. Dans le premier cas (A) où les deux pressions utilisées pour la phase continue et la phase dispersée sont respectivement de 100 mbar et 74 mbar, les bouchons ont une longueur de $350 \mu m$ avec une fréquence de génération de 1 Hz. Dans le deuxième cas (B), tout en gardant le rapport des deux pressions à 1,4 mais cette fois les deux pressions utilisées pour la phase continue et la phase dispersée sont respectivement de 150 mbar et 110 mbar, les bouchons sont plus courts ($240 \mu m$) mais sont générés plus rapidement (fréquence 4,4 Hz par rapport à 1,2 Hz dans le premier cas).

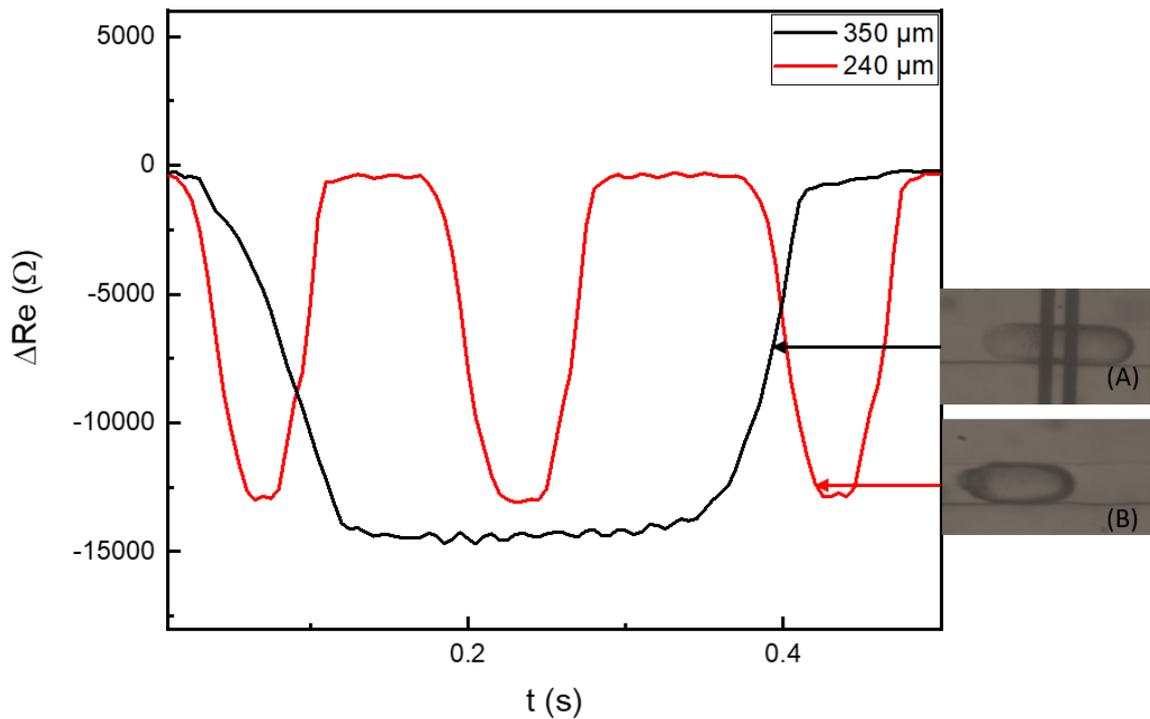


Figure VI-8 : Variation de la résistance d'électrolyte pour deux régimes de génération de bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI en fonction de la pression des deux phases dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm

VI.2.4 La taille des électrodes et la distance inter-électrodes

Dans le but d'étudier l'influence sur la variation de la résistance d'électrolyte de la largeur des électrodes et de leur distance inter-électrode, une série d'expérience a été réalisée. On peut remarquer sur la Figure VI-9 qu'en augmentant la distance inter-électrode, la résistance d'électrolyte augmente. Il est également possible de l'observer sur le Tableau VI-2, en passant d'une distance de 25 μm à 50 μm , la résistance d'électrolyte passe de 18,1 k Ω à 22,5 k Ω , soit une augmentation de 5 k Ω . La même augmentation de 5 k Ω est constatée lors des simulations numériques.

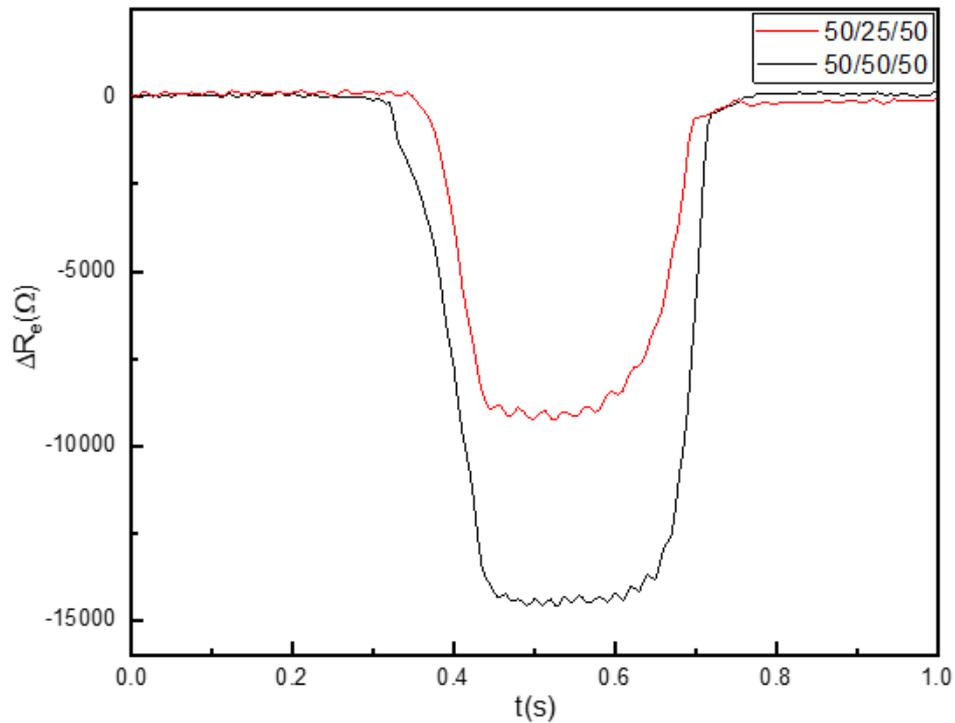


Figure VI-9 : Variation de la résistance d'électrolyte pour deux distances inter-électrodes pour un bouchon de 300 μm de largeur de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm

En revanche, comme représenté sur la Figure VI-10, la variation relative de la résistance d'électrolyte ($\Delta R_e/R_e$) ne change pas quel que soit la distance inter-électrode.

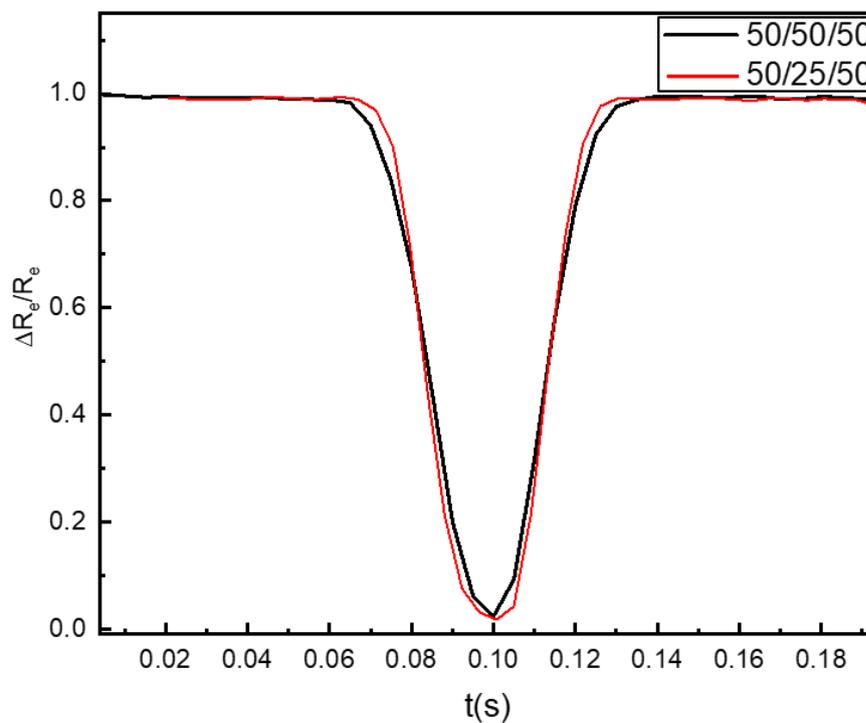


Figure VI-10 : Variation de la résistance d'électrolyte normalisée pour deux distances inter-électrodes pour un bouchon de 300 μm de largeur de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm

En ce qui concerne la taille des électrodes, pour une distance inter-électrode constante, l'augmentation de la taille des électrodes implique une diminution de la résistance d'électrolyte. A partir du Tableau VI-2, il est possible de constater que la diminution est de l'ordre de 1,7 kΩ quand la taille des électrodes est doublée (expériences et simulations).

Tableau VI-2 : Valeurs de résistances obtenues expérimentalement et à l'aide des simulations numériques pour différentes configurations d'électrodes

Electrodes		25/25/25	50/25/50	50/50/50	100/50/100
Résistance d'électrolyte	Expérience	19,8 kΩ	18,1 kΩ	22,5 kΩ	N.D
	Simulation	20 kΩ	18,6 kΩ	23,3 kΩ	21,6 kΩ

VI.3 Comparaison entre simulation et expériences

Les résultats expérimentaux sur les variations de la résistance d'électrolyte dues aux passages de gouttelettes et de bouchons sont comparés aux résultats théoriques obtenus par les simulations numériques présentés dans le chapitre 4. La Figure VI-11 présente la comparaison entre ces résultats pour trois tailles de gouttelettes ou de bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI. Pour ces trois tailles différentes (gouttelette de 90 μm de diamètre et des bouchons de 150 μm et 350 μm de longueur) on peut remarquer un décalage entre les simulations numériques et les résultats expérimentaux.

Cette différence provient sans doute de l'estimation de la taille des gouttelettes en utilisant ImageJ où les captures d'écran sont réalisées à partir de vidéos et le contraste peut fausser les contours de la gouttelette ou du bouchon et l'estimation de la taille est réalisée en moyennant 10 images avec un écart type de 3,2 μm. De plus, la forme des gouttelettes ou des bouchons simulés sur Comsol est considérée comme parfaite et non déformable tandis que lors des expériences, il nous est possible de constater une déformation des bouchons à l'intérieur du canal microfluidique en fonction des pressions appliquées et des irrégularités internes de la paroi du canal.

Enfin, il est possible d'observer que dans le cas de la gouttelette, les deux courbes (théorique et expérimentale) se superposent mieux que dans le cas des bouchons. Les gouttelettes ont été assimilées à des sphères lors de nos simulations et semble donc bien décrire le comportement

des gouttelettes obtenues expérimentalement. Les bouchons en revanche ont été simulés comme l'union de deux sphères et d'un parallélépipède. Cette approximation peut sous-estimer ou surestimer le volume réel des bouchons étudiés et ainsi crée ce décalage par rapport aux bouchons dans le cas des expériences.

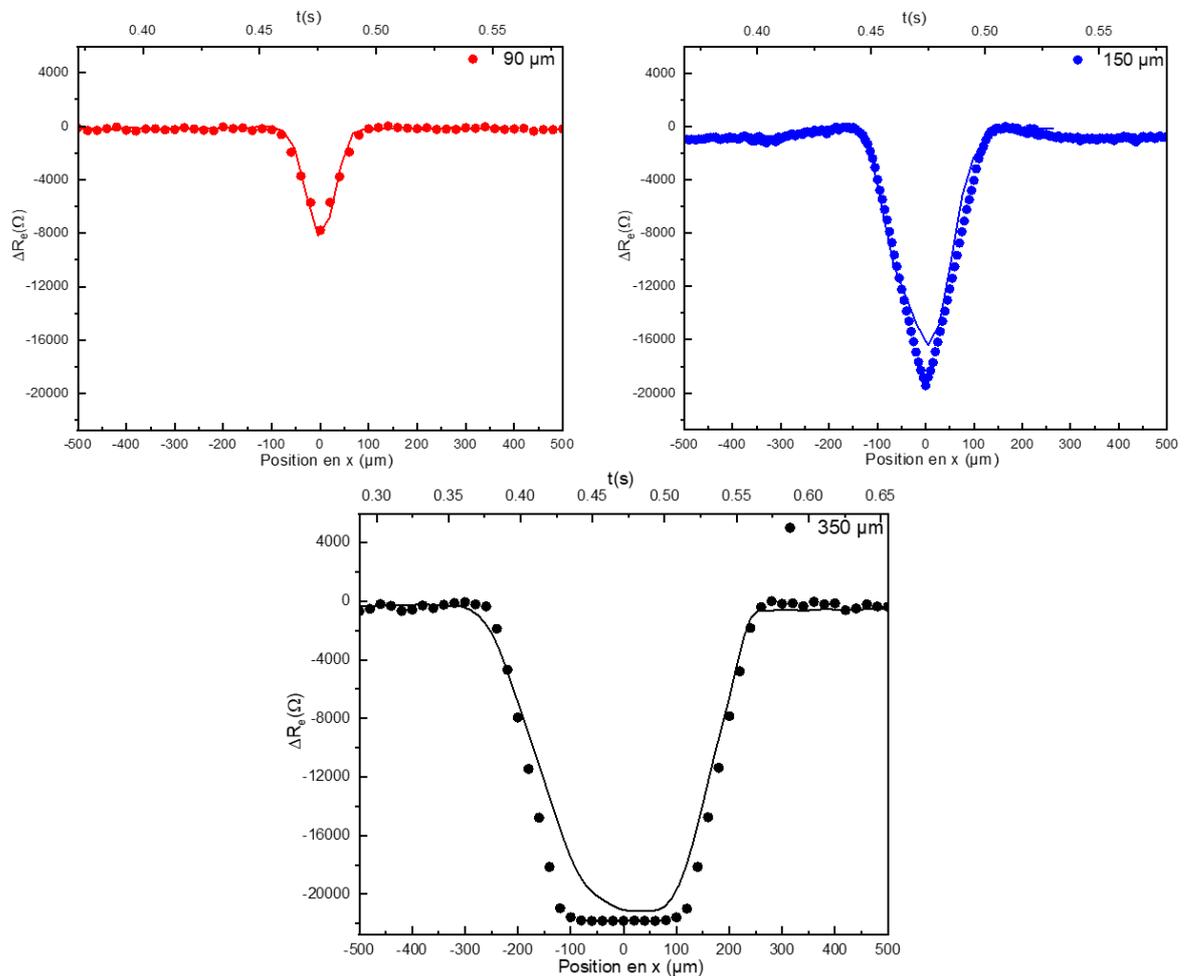


Figure VI-11 : Comparaison entre les valeurs théoriques et expérimentales de variation de la résistance d'électrolyte pour trois tailles de gouttelettes et bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI dans un canal de $100\ \mu\text{m}$ des électrodes de $50\ \mu\text{m}$ et une DIE de $50\ \mu\text{m}$, le trait représentant les résultats expérimentaux et les points les résultats simulés

Toutefois, dans le cas de l'azote l'ordre de grandeur des résistances est bien différent de celui obtenu par les expériences, probablement à cause de la difficulté à déterminer avec précision les paramètres décrivant l'azote en matière de conductivité électrique et permittivité relative.

VI.4 Gouttelettes à la demande

Dans ce travail, nous nous sommes également intéressés à la génération automatique de gouttelettes de taille différente à la demande afin de pouvoir tester le système de tri de

gouttelettes en fonction de leur taille. Pour ce faire, nous avons utilisé le logiciel Automation qui est fourni par la société Fluigent. Ce logiciel permet de gérer automatiquement les pressions voulues pour les deux phases (dispersée et continue). La Figure VI-12 présente un exemple de script permettant de générer deux tailles de bulles d'azote de 800 μm et de 1000 μm .

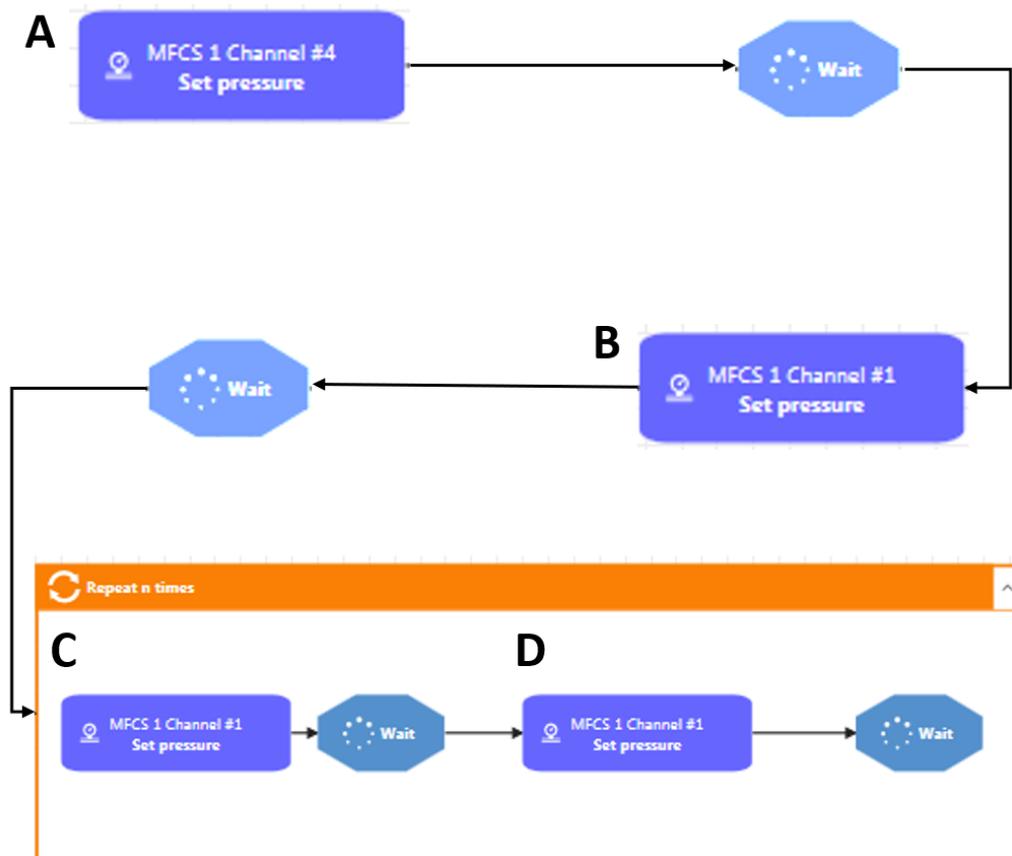


Figure VI-12 : Exemple de script pour la génération à la demande de gouttelettes de tailles différentes à l'aide du logiciel Automation de Fluigent

Les deux phases sont introduites dans le canal en imposant une pression de 150 mbar pour les phases continue et dispersée (blocs A et B). La pression de la phase continue est ensuite changée de façon automatique et alternée entre 200 mbar et 180 mbar (blocs C et D) respectivement pendant 25 secondes. En imposant une pression de 200 mbar pour la phase continue, cette dernière va cisailier de manière plus importante la phase dispersée, il en résulte des bouchons de 800 μm de longueur tandis que pour une pression de phase continue plus faible les bouchons sont plus longs.

Les résultats de mesure de variations de la résistance d'électrolyte sont représentés sur la Figure VI-13. La longueur des bouchons étant beaucoup plus grande que la taille de la zone de détection, les amplitudes des pics restent inchangées comme nous avons vu précédemment. Par

contre, la largeur des pics de variation augmente de façon proportionnelle à la longueur des bouchons comme nous avons montré dans le chapitre 4.

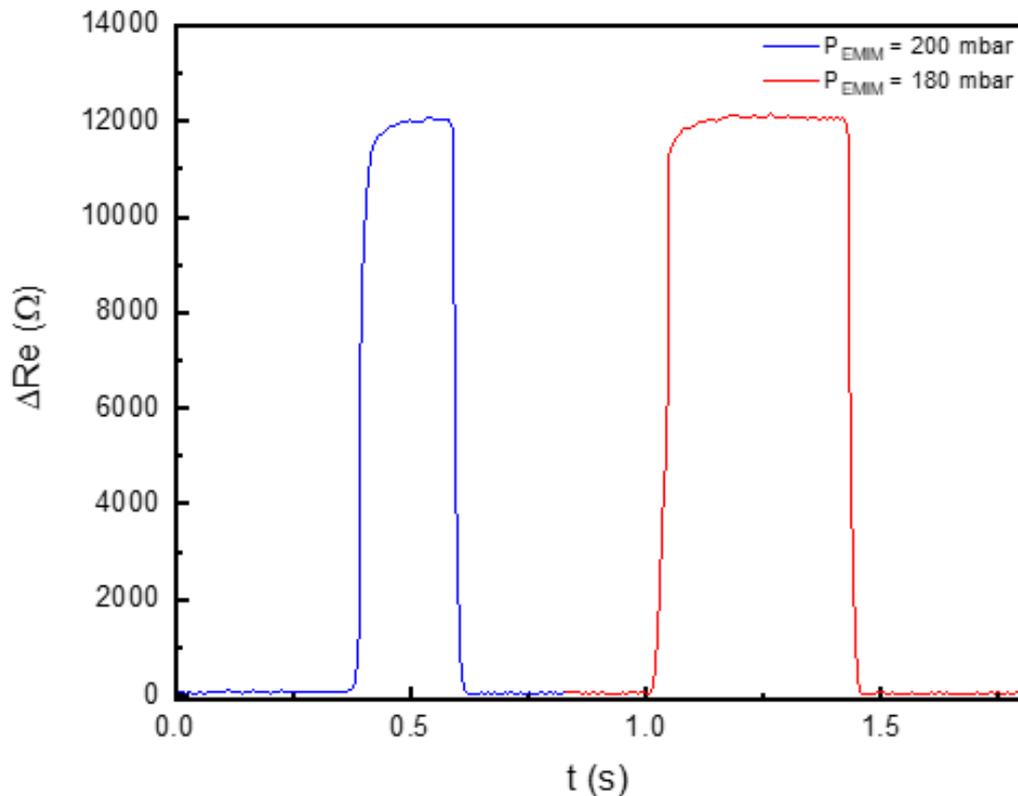


Figure VI-13 : Variations de la résistance d'électrolyte pour deux bouchons d'azote générés dans l'EMIMTFSI dans un canal de 100 μm avec des électrodes de 50 μm de largeur et une DIE de 50 μm

VI.5 Technique de séparation

Dans la suite de ce travail nous avons voulu mettre en place un dispositif de tri capable de séparer les gouttelettes ou les bulles de taille différente. Pour cela nous avons développé dans le cadre de ce travail un dispositif de séparation par diélectrophorèse (DEP).

Cette technique consiste à créer un champ électrique non uniforme capable d'orienter des particules diélectriques dans le sens souhaité en exploitant la différence de polarisabilité entre les particules et le milieu environnant et en imposant une force diélectrophorétique [111]:

$$F_{DEP} = 2\pi\epsilon_m r^3 Re(f_{CM}) \nabla E^2 \quad \text{Eq VI-1}$$

où ε_m représente la permittivité relative du milieu, r le rayon de la particule, E le champ électrique et $Re(f_{CM})$ la partie réelle du facteur de Clausius-Mossotti défini par :

$$f_{CM} = \frac{\varepsilon_p^* - \varepsilon_m^*}{\varepsilon_p^* + 2\varepsilon_m^*} \quad \text{Eq VI-2}$$

où ε_p^* et ε_m^* sont respectivement les permittivité complexe de la particule et du milieu. Cependant, pour des fréquences inférieures à 100 kHz, le facteur f_{CM} s'exprime en fonction des conductivités respectives du milieu et de la particule.

$$f_{CM} = \frac{\sigma_p - \sigma_m}{\sigma_p + 2\sigma_m} \quad \text{Eq VI-3}$$

Lorsque les particules sont exposées au champ électrique généré, deux forces différentes en résultent. Les microparticules ou gouttelettes peuvent soit se déplacer dans le sens positif, donc vers le gradient de champ élevé ou vers la DEP négative, donc vers le gradient de champs électrique faible.

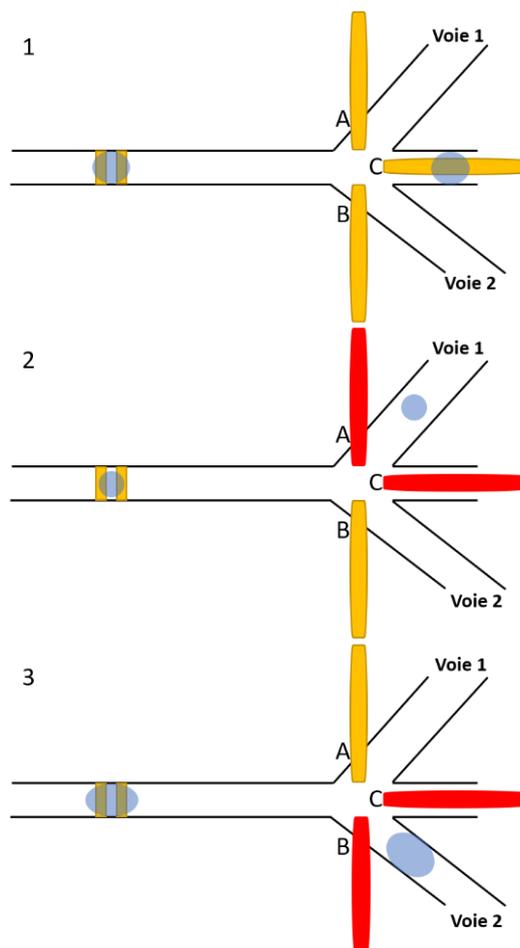


Figure VI-14 : Schéma explicatif du dispositif de séparation par diélectrophorèse

Dans notre cas le dispositif est constitué de 3 électrodes comme représenté sur la Figure VI-14. L'électrode du milieu (C) est connectée à la masse, et les deux autres électrodes (A et B) représentent chacune une électrode connectée au générateur de tension afin d'orienter les bouchons ou les gouttelettes suivant la voie 1 la voie 2.

Le système est commandé par le dispositif représenté dans la Figure VI-15. Il est constitué d'une carte Arduino et d'un script écrit en langage Arduino permettant de fixer un seuil. Avant de déclencher la séparation, les pressions des deux phases sont ajustées pour atteindre un régime d'écoulement souhaité, le dispositif de commande n'est pas allumé et les gouttelettes circulent directement suivant la sortie centrale comme le montre la Figure VI-14.1. Une fois que le régime souhaité atteint, dans le cas où la variation de R_e est inférieure au seuil, la tension de commande est appliquée entre les électrodes (A) et (C) (Figure VI-14.2). Au contraire, si le seuil est dépassé, un interrupteur permettra de basculer automatiquement la tension appliquée entre les électrodes (B) et (C) (Figure VI-14.3). Dans ce dispositif, un système de comptage intégré permet de compter le nombre de gouttelettes dépassant une certaine taille.

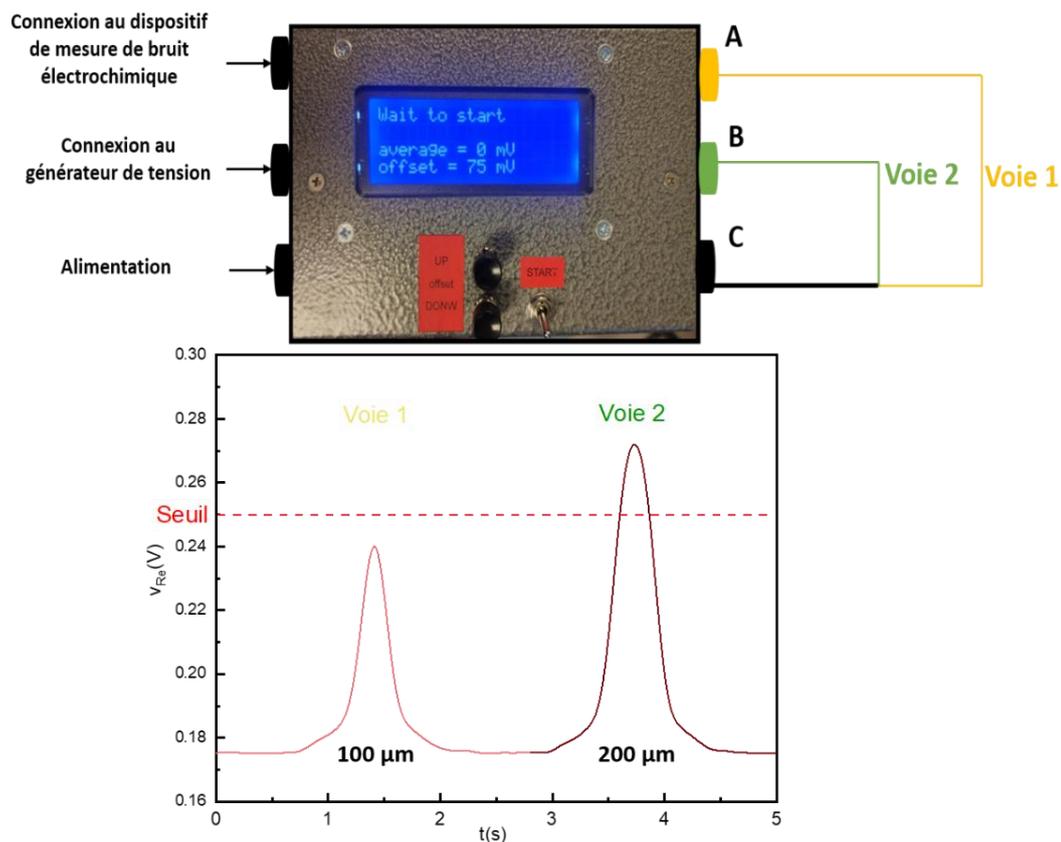


Figure VI-15 : Dispositif de commande pour la séparation par diélectrophorèse en fonction d'un seuil de 0,24 V pour deux largeurs de bouchons d'azote dans l'EMIMTFSI (100 et 200 μm)

Ce dispositif de séparation a été testé sur les puces lors de la génération de gouttelettes de PBS dans du EMIMTFSI. Deux méthodes ont été utilisées séparément, en appliquant un courant continu ou un courant alternatif avec des fréquences allant de 1 Hz à 100 kHz. Les résultats n'ont pour l'instant pas été concluants. Plusieurs problématiques se sont révélées lors de ces tests. La première est la coalescence des gouttelettes de PBS. Comme montré à la Figure V-16, les gouttelettes passent devant les électrodes de mesure une à une mais forment un seul bouchon devant les électrodes de séparation.

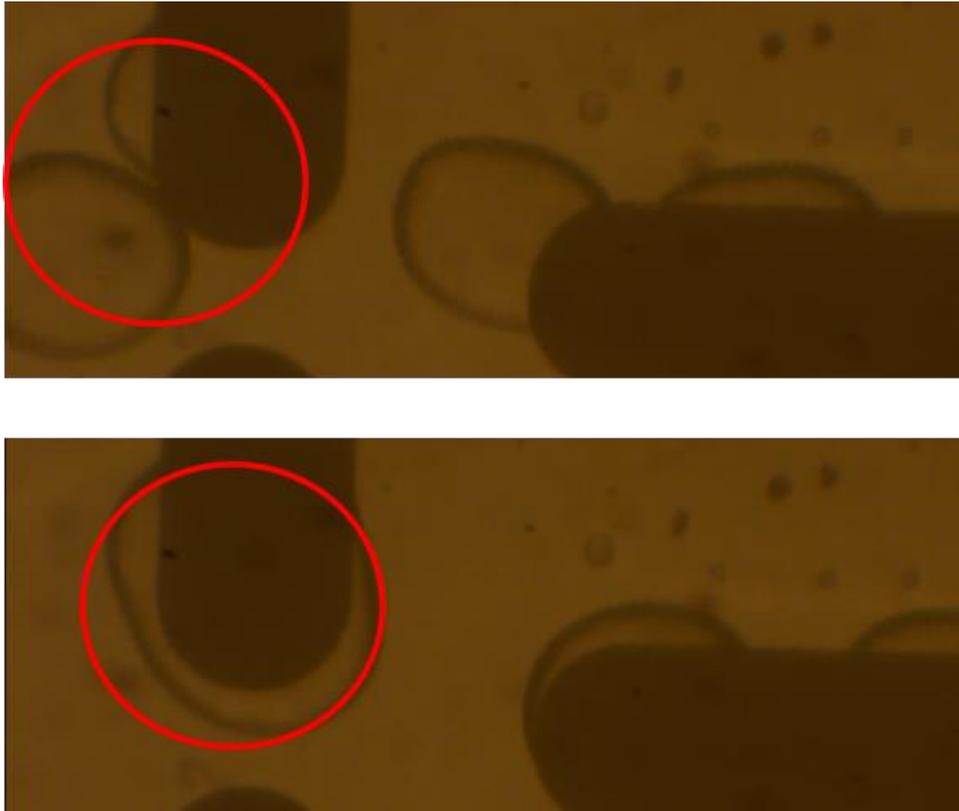


Figure VI-16 : Phénomène de coalescence de gouttelettes de PBS devant les électrodes de séparation

La deuxième problématique concerne l'amplitude de la tension de commande, que ce soit en courant continu ou en courant alternatif. On observe qu'au-delà de 3 V un dégagement gazeux au niveau des électrodes (Figure VI-17) apparaît. Ceci perturbe l'écoulement diphasique au sein du microcanal et qui conduit à une détérioration des électrodes (Figure VI-18).



Figure VI-17 : Dégagement gazeux au niveau des électrodes de séparation par diélectrophorèse



Figure VI-18 : Détérioration des électrodes de séparation

Conclusion

Dans ce chapitre nous avons présenté les résultats expérimentaux obtenus en utilisant la mesure des variations de la résistance d'électrolyte pour la caractérisation de gouttelettes ou de bouchons générés dans une puce microfluidique. La méthode utilisée pour la caractérisation optique des bouchons a été présentée. Les résultats obtenus pour des gouttelettes/bouchons de PBS dans l'EMIMTFSI ainsi que les bulles d'azote dans l'EMIMTFSI ont été présentés en mettant en évidence les paramètres qui influent sur la taille des gouttelettes générées et les résultats obtenus. L'influence de la configuration des électrodes, en termes de taille et de distance inter-électrode, a été étudiée et sont en adéquation avec les résultats théoriques obtenus sur Comsol.

Une comparaison entre les résultats expérimentaux et simulés a été réalisée et a permis de mettre en évidence une différence au niveau de l'amplitude des variations due à la déformation des gouttelettes ou des bouchons dans le canal microfluidique et l'estimation de leurs tailles sur ImageJ.

Pour finir, nous avons également présenté le dispositif pour la séparation de micro-objets dans un canal microfluidique en utilisant la diélectrophorèse. Ce dispositif est encore à optimiser, comme par exemple la géométrie des électrodes et des microcanaux, les conductivités de chacune des deux phases ainsi que leurs permittivités respectives. Ces éléments sont déterminants pour le bon fonctionnement et doivent être optimisés pour offrir la possibilité de séparer les gouttelettes ou les bouchons de manière efficace et automatique.

Conclusions et perspectives

VII. Conclusions et perspectives

En conclusion générale, nous avons démontré dans ce travail la possibilité d'utiliser des techniques électrochimiques comme alternative aux celles basées sur des méthodes optiques pour détecter et caractériser des gouttelettes ou des bouchons en écoulement dans un canal microfluidique. La mesure de la variation de la résistance d'électrolyte entre deux électrodes intégrées dans le canal par la technique du bruit électrochimique a permis de caractériser des gouttelettes ou de bouchons au niveau de leur taille, fréquence de génération ou encore leur vitesse d'écoulement dans le canal. Le recours à la microfluidique par la miniaturisation a permis certains avantages. Par exemple, l'utilisation de tel système nécessite de petits volumes de réactifs et permet également d'avoir des systèmes ayant un transfert de chaleur et de matière rapide. En revanche, ces systèmes peuvent présenter certains inconvénients comme par exemple une nécessité d'utilisation des techniques de microfabrication et d'accessoires (pompes, tuyauterie...) pour le bon fonctionnement du système.

La mise en contact de deux fluides immiscibles dans le cadre d'écoulements diphasiques permet de générer des gouttelettes de taille et de fréquence différente. Plusieurs paramètres peuvent influencer ce type d'écoulements comme la géométrie des canaux, la viscosité des fluides utilisés ou encore la pression des deux phases. Un état de l'art sur des techniques optique et non optique de détection et de caractérisation des particules circulant dans un fluide a permis de mettre en évidence l'intérêt de l'utilisation des systèmes combinant la microfluidique et les méthodes électrochimiques.

Le microsystème microfluidique a été fabriqué en utilisant des techniques de base de microfabrication. Trois étapes de fabrication principales ont été nécessaires. La première étape concerne la fabrication des canaux en PDMS à l'aide de la technique de lithographie molle à partir d'un moule fabriqué soit par la photolithographie classique soit par une impression directe par une imprimante 3D. La deuxième étape concerne la fabrication des microélectrodes par le procédé lift-off pour obtenir des électrodes d'or déposées en couche mince sur une lamelle de verre. La dernière étape consiste en un collage entre les canaux en PDMS et le substrat contenant des microélectrodes par activation de plasma d'oxygène. Afin de garantir un collage précis en alignant les canaux et les microélectrodes, un dispositif d'alignement composé d'une caméra et un système de micromanipulation a été développé et réalisé.

Les techniques de mesure par la spectroscopie d'impédance et le bruit électrochimique ont été présentées et adaptées aux microsystèmes. Certains paramètres de mesures ont dû être modifiés pour permettre des mesures fiables.

Les simulations numériques sur Comsol ont été réalisées afin de déterminer l'influence de plusieurs paramètres sur la variation de la résistance d'électrolyte entre deux électrodes. Par exemple, ces résultats théoriques ont permis de montrer l'impact sur la variation de la résistance d'électrolyte de la taille des électrodes, de leur inter-distance ainsi que de la taille et la position des micro-objets à caractériser. De plus, ces résultats théoriques ont permis d'aboutir à des corrélations entre la taille des bouchons et la variation de la résistance d'électrolyte. Les résultats expérimentaux obtenus ont été présentés au chapitre 5. L'estimation de la taille des gouttelettes ou de bouchons est réalisée par un traitement d'image et corrélée avec la variation de la résistance d'électrolyte. Nous avons mis en évidence l'influence des pressions de la phase continue et de la phase dispersée sur la taille et la fréquence de génération des bouchons ou des bulles dans le canal. L'impact de la conductivité des fluides utilisés a été également démontré. Un bon accord entre les résultats théorique et expérimental a été obtenu, ce qui permet de valider le modèle théorique utilisé et également valider la fiabilité des mesures expérimentales.

Afin de pouvoir séparer les micro-objets selon leur taille, un dispositif de tri basé sur la diélectrophorèse a été développé. Ce dispositif permet d'activer sélectivement les électrodes de tri dans le canal en fonction de l'information reçue par les électrodes de caractérisation. Quelques problèmes ont été mis en évidence lors de la mise en œuvre de cette étape et qui nécessite d'études supplémentaires.

En perspectives de ce travail, plusieurs pistes sont à explorer. Tout d'abord, le collage entre le PDMS et le substrat de verre peut être optimisé pour éviter les fuites dans les puces. En effet, nous avons constaté que l'humidité, la présence d'impureté à la surface ou encore l'épaisseur du PDMS peuvent jouer un rôle déterminant dans le bon collage de la puce.

Les simulations numériques peuvent être réalisées pour l'étape de séparation des micro-objets par diélectrophorèse afin d'optimiser la taille des électrodes de séparation ainsi que les tensions à appliquer pour obtenir un tri efficace sans détériorer les électrodes.

Au niveau de la caractérisation des micro-objets par la mesure de variation de la résistance d'électrolyte, une seule paire d'électrode a été utilisée dans ce travail. Il est alors possible d'envisager l'utilisation de plusieurs d'électrodes en simultanée afin d'estimer de manière plus précise la vitesse d'écoulement des gouttelettes dans le canal. De plus, ces mesures simultanées

pourront également être utilisées pour caractériser les déformations éventuelles des gouttelettes au cours de leur déplacement. Cette technique de mesure pourra aussi être utilisée pour caractériser par exemple le passage de plusieurs particules en même temps devant des microélectrodes. Ceci nécessitera sans doute d'autres méthodes d'analyses de signaux, notamment les analyses dans le domaine fréquentiel.

Pour développer un système d'analyse complet, des pièges en PDMS peuvent être fabriqués et intégrés après l'étape de séparation afin de pouvoir immobiliser ces gouttelettes. Des mesures d'impédances peuvent être alors effectuées sur ces gouttelettes afin d'obtenir des informations sur la composition ou le contenu d'une gouttelette. Cette possibilité peut être très intéressante dans l'analyse de cellules biologique pour pouvoir par exemple distinguer des cellules saines et celles cancéreuses.

Références

- [1] Whitesides GM. The origins and the future of microfluidics. *Nature* 2006;442:368–73. <https://doi.org/10.1038/nature05058>.
- [2] Li PCH. *Microfluidic Lab-on-a-Chip for Chemical and Biological Analysis and Discovery*. 0 ed. CRC Press; 2005. <https://doi.org/10.1201/9781420027457>.
- [3] Bruus H. *Theoretical microfluidics*. Oxford ; New York: Oxford University Press; 2008.
- [4] Étienne Guyon, Jean-Pierre Hulin, Luc Petit - *Hydrodynamique physique* (2012, EDP Sciences).pdf n.d.
- [5] Zheng X, Silber-Li Z. Measurement of velocity profiles in a rectangular microchannel with aspect ratio $\alpha = 0.35$. *Exp Fluids* 2008;44:951–9. <https://doi.org/10.1007/s00348-007-0454-4>.
- [6] Stroock AD. Chaotic Mixer for Microchannels. *Science* 2002;295:647–51. <https://doi.org/10.1126/science.1066238>.
- [7] Liu RH, Stremler MA, Sharp KV, Olsen MG, Santiago JG, Adrian RJ, et al. Passive mixing in a three-dimensional serpentine microchannel. *J Microelectromech Syst* 2000;9:190–7. <https://doi.org/10.1109/84.846699>.
- [8] Feng X, Ren Y, Hou L, Tao Y, Jiang T, Li W, et al. Tri-fluid mixing in a microchannel for nanoparticle synthesis. *Lab Chip* 2019;19:2936–46. <https://doi.org/10.1039/C9LC00425D>.
- [9] Fan J, Li S, Wu Z, Chen Z. Diffusion and mixing in microfluidic devices. *Microfluidics for Pharmaceutical Applications*, Elsevier; 2019, p. 79–100. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812659-2.00003-X>.
- [10] Bordbar A, Kheirandish S, Taassob A, Kamali R, Ebrahimi A. High-viscosity liquid mixing in a slug-flow micromixer: a numerical study. *J Flow Chem* 2020. <https://doi.org/10.1007/s41981-020-00085-7>.

- [11] Yaralioglu GG, Wygant IO, Marentis TC, Khuri-Yakub BT. Ultrasonic Mixing in Microfluidic Channels Using Integrated Transducers. *Anal Chem* 2004;76:3694–8. <https://doi.org/10.1021/ac035220k>.
- [12] Saadat M, Shafii MB, Ghassemi M. Numerical investigation on mixing intensification of ferrofluid and deionized water inside a microchannel using magnetic actuation generated by embedded microcoils for lab-on-chip systems. *Chemical Engineering and Processing - Process Intensification* 2020;147:107727. <https://doi.org/10.1016/j.cep.2019.107727>.
- [13] Chen X, Liu S, Chen Y, Wang S. A review on species mixing in droplets using passive and active micromixers. *International Journal of Environmental Analytical Chemistry* 2019:1–11. <https://doi.org/10.1080/03067319.2019.1666832>.
- [14] Claudel J. Spectroscopie d'impédance électrique par biocapteur à micro-électrodes: application à la cytométrie de flux de cellules sanguines n.d.:225.
- [15] Qin W, He Y, Xiao J, Liang S, Wang S, Li PCH, et al. A successive laminar flow extraction for plant medicine preparation by microfluidic chip. *Microfluid Nanofluid* 2019;23:61. <https://doi.org/10.1007/s10404-019-2228-8>.
- [16] Asthana A, Zinovik I, Weinmueller C, Poulikakos D. Significant Nusselt number increase in microchannels with a segmented flow of two immiscible liquids: An experimental study. *International Journal of Heat and Mass Transfer* 2011;54:1456–64. <https://doi.org/10.1016/j.ijheatmasstransfer.2010.11.048>.
- [17] Bamgoba MO, Shao-Horn Y, Hashaikeh R, Almheiri S. Cyclable membraneless redox flow batteries based on immiscible liquid electrolytes: Demonstration with all-iron redox chemistry. *Electrochimica Acta* 2018;267:41–50. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.02.063>.

- [18] Yoon T-H, Hong L-Y, Kim D-P. Chiral Separation by a Pseudo Membrane in a Triple-Laminar Flow with a Microfluidic Contactor. *Chem Asian J* 2011;6:1015–8. <https://doi.org/10.1002/asia.201000798>.
- [19] Baroud CN, Gallaire F, Dangla R. Dynamics of microfluidic droplets. *Lab Chip* 2010;10:2032. <https://doi.org/10.1039/c001191f>.
- [20] Hong J, deMello AJ, Jayasinghe SN. Bio-electrospraying and droplet-based microfluidics: control of cell numbers within living residues. *Biomed Mater* 2010;5:021001. <https://doi.org/10.1088/1748-6041/5/2/021001>.
- [21] Shim J, Ranasinghe RT, Smith CA, Ibrahim SM, Hollfelder F, Huck WTS, et al. Ultrarapid Generation of Femtoliter Microfluidic Droplets for Single-Molecule-Counting Immunoassays. *ACS Nano* 2013;7:5955–64. <https://doi.org/10.1021/nn401661d>.
- [22] Mała K, Rivello F, Huck WTS. Single-Cell Analysis Using Droplet Microfluidics. *Adv Biosys* 2020;4:1900188. <https://doi.org/10.1002/adbi.201900188>.
- [23] Shestopalov I, Tice JD, Ismagilov RF. Multi-step synthesis of nanoparticles performed on millisecond time scale in a microfluidic droplet-based system. *Lab Chip* 2004;4:316. <https://doi.org/10.1039/b403378g>.
- [24] Garstecki P, Fuerstman MJ, Stone HA, Whitesides GM. Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction—scaling and mechanism of break-up. *Lab Chip* 2006;6:437. <https://doi.org/10.1039/b510841a>.
- [25] Dreyfus R, Tabeling P, Willaime H. Ordered and Disordered Patterns in Two-Phase Flows in Microchannels. *Phys Rev Lett* 2003;90:144505. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.90.144505>.
- [26] Nisisako T, Torii T, Higuchi T. Droplet formation in a microchannel network. *Lab Chip* 2002;2:24–6. <https://doi.org/10.1039/B108740C>.

- [27] Nisisako T, Torii T, Higuchi T. Novel microreactors for functional polymer beads. *Chemical Engineering Journal* 2004;101:23–9. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2003.11.019>.
- [28] Tan J, Xu JH, Li SW, Luo GS. Drop dispenser in a cross-junction microfluidic device: Scaling and mechanism of break-up. *Chemical Engineering Journal* 2008;136:306–11. <https://doi.org/10.1016/j.cej.2007.04.011>.
- [29] Liu H, Zhang Y. Lattice Boltzmann Simulation of Droplet Generation in a Microfluidic Cross-Junction. *Commun Comput Phys* 2011;9:1235–56. <https://doi.org/10.4208/cicp.231009.101110s>.
- [30] Thorsen T, Roberts RW, Arnold FH, Quake SR. Dynamic Pattern Formation in a Vesicle-Generating Microfluidic Device. *Phys Rev Lett* 2001;86:4163–6. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.86.4163>.
- [31] Hong Y, Wang F. Flow rate effect on droplet control in a co-flowing microfluidic device. *Microfluid Nanofluid* 2007;3:341–6. <https://doi.org/10.1007/s10404-006-0134-3>.
- [32] Gañán-Calvo AM, Gordillo JM. Perfectly Monodisperse Microbubbling by Capillary Flow Focusing. *Phys Rev Lett* 2001;87:274501. <https://doi.org/10.1103/PhysRevLett.87.274501>.
- [33] Anna SL, Bontoux N, Stone HA. Formation of dispersions using “flow focusing” in microchannels. *Appl Phys Lett* 2003;82:364–6. <https://doi.org/10.1063/1.1537519>.
- [34] De Menech M, Garstecki P, Jousse F, Stone HA. Transition from squeezing to dripping in a microfluidic T-shaped junction. *J Fluid Mech* 2008;595:141–61. <https://doi.org/10.1017/S002211200700910X>.
- [35] Cubaud T, Mason TG. Capillary threads and viscous droplets in square microchannels. *Physics of Fluids* 2008;20:053302. <https://doi.org/10.1063/1.2911716>.

- [36] Lee W, Walker LM, Anna SL. Role of geometry and fluid properties in droplet and thread formation processes in planar flow focusing. *Physics of Fluids* 2009;21:032103. <https://doi.org/10.1063/1.3081407>.
- [37] W.G.N. va, Heugten. *Shape and Stability of Liquid Threads and Jets: A Link to Droplet Formation.pdf*. Wageningen University, Wageningen, NL, 2015.
- [38] Sugiura S, Nakajima M, Seki M. Effect of Channel Structure on Microchannel Emulsification. *Langmuir* 2002;18:5708–12. <https://doi.org/10.1021/la025813a>.
- [39] Han W, Chen X. Effect of Geometry Configuration on the Merged Droplet Formation in a Double T-Junction. *Microgravity Sci Technol* 2019;31:855–64. <https://doi.org/10.1007/s12217-019-09720-y>.
- [40] Xu JH, Li SW, Tan J, Wang YJ, Luo GS. Preparation of highly monodisperse droplet in a T-junction microfluidic device. *AIChE J* 2006;52:3005–10. <https://doi.org/10.1002/aic.10924>.
- [41] Yobas L, Martens S, Ong W-L, Ranganathan N. High-performance flow-focusing geometry for spontaneous generation of monodispersed droplets. *Lab Chip* 2006;6:1073. <https://doi.org/10.1039/b602240e>.
- [42] Ward T, Faivre M, Abkarian M, Stone HA. Microfluidic flow focusing: Drop size and scaling in pressure versus flow-rate-driven pumping. *Electrophoresis* 2005;26:3716–24. <https://doi.org/10.1002/elps.200500173>.
- [43] Yao J, Lin F, Kim H, Park J. The Effect of Oil Viscosity on Droplet Generation Rate and Droplet Size in a T-Junction Microfluidic Droplet Generator. *Micromachines* 2019;10:808. <https://doi.org/10.3390/mi10120808>.
- [44] van Dijke K, Kobayashi I, Schroën K, Uemura K, Nakajima M, Boom R. Effect of viscosities of dispersed and continuous phases in microchannel oil-in-water emulsification. *Microfluid Nanofluid* 2010;9:77–85. <https://doi.org/10.1007/s10404-009-0521-7>.

- [45] Muijlwijk K, Li X, Berton-Carabin C, Schroën K. Dynamic fluid interface formation in microfluidics: Effect of emulsifier structure and oil viscosity. *Innovative Food Science & Emerging Technologies* 2018;45:215–9. <https://doi.org/10.1016/j.ifset.2017.10.016>.
- [46] Peng L, Yang M, Guo S, Liu W, Zhao X. The effect of interfacial tension on droplet formation in flow-focusing microfluidic device. *Biomed Microdevices* 2011;13:559–64. <https://doi.org/10.1007/s10544-011-9526-6>.
- [47] Bashir S, Rees JM, Zimmerman WB. Simulations of microfluidic droplet formation using the two-phase level set method. *Chemical Engineering Science* 2011;66:4733–41. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2011.06.034>.
- [48] Wang X, Riaud A, Wang K, Luo G. Pressure drop-based determination of dynamic interfacial tension of droplet generation process in T-junction microchannel. *Microfluid Nanofluid* 2015;18:503–12. <https://doi.org/10.1007/s10404-014-1449-0>.
- [49] Rayner M, Trägårdh G, Trägårdh C. The impact of mass transfer and interfacial expansion rate on droplet size in membrane emulsification processes. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2005;266:1–17. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2005.05.025>.
- [50] Glawdel T, Elbuken C, Ren CL. Droplet formation in microfluidic T-junction generators operating in the transitional regime. II. Modeling. *Phys Rev E* 2012;85:016323. <https://doi.org/10.1103/PhysRevE.85.016323>.
- [51] Kawakatsu T, Trägårdh G, Trägårdh C, Nakajima M, Oda N, Yonemoto T. The effect of the hydrophobicity of microchannels and components in water and oil phases on droplet formation in microchannel water-in-oil emulsification. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 2001;179:29–37. [https://doi.org/10.1016/S0927-7757\(00\)00498-2](https://doi.org/10.1016/S0927-7757(00)00498-2).

- [52] Maan AA, Sahin S, Mujawar LH, Boom R, Schroën K. Effect of surface wettability on microfluidic EDGE emulsification. *Journal of Colloid and Interface Science* 2013;403:157–9. <https://doi.org/10.1016/j.jcis.2013.04.036>.
- [53] Zhang M-J, Chen T, Zhang P, Li Z-L, Chen L, Su Y-Y, et al. Magnetic hierarchical porous SiO₂ microparticles from droplet microfluidics for water decontamination. *Soft Matter* 2020;16:2581–93. <https://doi.org/10.1039/C9SM02391G>.
- [54] Bringer MR, Gerdts CJ, Song H, Tice JD, Ismagilov RF. Microfluidic systems for chemical kinetics that rely on chaotic mixing in droplets. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series A: Mathematical, Physical and Engineering Sciences* 2004;362:1087–104. <https://doi.org/10.1098/rsta.2003.1364>.
- [55] Zheng B, Gerdts CJ, Ismagilov RF. Using nanoliter plugs in microfluidics to facilitate and understand protein crystallization. *Current Opinion in Structural Biology* 2005;15:548–55. <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2005.08.009>.
- [56] Zheng B, Tice JD, Roach LS, Ismagilov RF. A Droplet-Based, Composite PDMS/Glass Capillary Microfluidic System for Evaluating Protein Crystallization Conditions by Microbatch and Vapor-Diffusion Methods with On-Chip X-Ray Diffraction. *Angew Chem* 2004;116:2562–5. <https://doi.org/10.1002/ange.200453974>.
- [57] Joensson HN, Andersson Svahn H. Droplet Microfluidics-A Tool for Single-Cell Analysis. *Angew Chem Int Ed* 2012;51:12176–92. <https://doi.org/10.1002/anie.201200460>.
- [58] Stewart M, Arnold K. Emulsions and oil treating equipment: selection, sizing and troubleshooting. Burlington ; Oxford: Gulf Professional Pub; 2009.
- [59] Loumagne M, Midelet C, Doussineau T, Dugourd P, Antoine R, Stamboul M, et al. Optical extinction and scattering cross sections of plasmonic nanoparticle dimers in aqueous suspension. *Nanoscale* 2016;8:6555–70. <https://doi.org/10.1039/C6NR00918B>.

- [60] Zhu Y, Fang Q. Analytical detection techniques for droplet microfluidics—A review. *Analytica Chimica Acta* 2013;787:24–35. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.04.064>.
- [61] Sakakihara S, Araki S, Iino R, Noji H. A single-molecule enzymatic assay in a directly accessible femtoliter droplet array. *Lab Chip* 2010;10:3355. <https://doi.org/10.1039/c0lc00062k>.
- [62] Schmitz CHJ, Rowat AC, Köster S, Weitz DA. Dropspots: a picoliter array in a microfluidic device. *Lab Chip* 2009;9:44–9. <https://doi.org/10.1039/B809670H>.
- [63] Provder T, Texter J, editors. *Particle Sizing and Characterization*. vol. 881. Washington, DC: American Chemical Society; 2004. <https://doi.org/10.1021/bk-2004-0881>.
- [64] Ma Z, Merkus HG, de Smet JGAE, Heffels C, Scarlett B. New developments in particle characterization by laser diffraction: size and shape. *Powder Technology* 2000;111:66–78. [https://doi.org/10.1016/S0032-5910\(00\)00242-4](https://doi.org/10.1016/S0032-5910(00)00242-4).
- [65] Nguyen N-T, Lassemono S, Chollet FA. Optical detection for droplet size control in microfluidic droplet-based analysis systems. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2006;117:431–6. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2005.12.010>.
- [66] Yakdi N. Caractérisation de microparticules dans un système microfluidique par l'analyse du bruit électrochimique n.d.:250.
- [67] Wang H-W, Bao N, Le TL, Lu C, Cheng J-X. Microfluidic CARS cytometry. *Opt Express* 2008;16:5782. <https://doi.org/10.1364/OE.16.005782>.
- [68] Nolan JP, Duggan E, Liu E, Condello D, Dave I. Single cell analysis using surface enhanced Raman scattering (SERS) tags. *Methods* 2012;57:272–9. <https://doi.org/10.1016/j.ymeth.2012.03.024>.
- [69] Bernhardt C. *Particle Size Analysis*. Dordrecht: Springer Netherlands; 1994. <https://doi.org/10.1007/978-94-011-1238-3>.

- [70] Merkus HG. Particle size measurements: fundamentals, practice, quality. New York? Springer; 2009.
- [71] van Duynhoven JPM, Goudappel GJW, van Dalen G, van Bruggen PC, Blonk JCG, Eijkelenboom APAM. Scope of droplet size measurements in food emulsions by pulsed field gradient NMR at low field. *Magn Reson Chem* 2002;40:S51–9. <https://doi.org/10.1002/mrc.1115>.
- [72] Ling NNA, Haber A, May EF, Fridjonsson EO, Johns ML. By-line NMR emulsion droplet sizing. *Chemical Engineering Science* 2017;160:362–9. <https://doi.org/10.1016/j.ces.2016.11.045>.
- [73] Hale W, Rossetto G, Greenhalgh R, Finch G, Utz M. High-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy in microfluidic droplets. *Lab Chip* 2018;18:3018–24. <https://doi.org/10.1039/C8LC00712H>.
- [74] Bastari A, Cristalli C, Morlacchi R, Pomponi E. Acoustic emissions for particle sizing of powders through signal processing techniques. *Mechanical Systems and Signal Processing* 2011;25:901–16. <https://doi.org/10.1016/j.ymssp.2010.08.019>.
- [75] Strohm EM, Gorelikov I, Matsuura N, Kolios MC. Acoustic and photoacoustic characterization of micron-sized perfluorocarbon emulsions. *J Biomed Opt* 2012;17:0960161. <https://doi.org/10.1117/1.JBO.17.9.096016>.
- [76] Hu Y, Huang X, Qian X, Gao L, Yan Y. Online particle size measurement through acoustic emission detection and signal analysis. 2014 IEEE International Instrumentation and Measurement Technology Conference (I2MTC) Proceedings, Montevideo, Uruguay: IEEE; 2014, p. 949–53. <https://doi.org/10.1109/I2MTC.2014.6860883>.
- [77] Su M, Cai X, Xue M, Dong L, Xu F. Particle sizing in dense two-phase droplet systems by ultrasonic attenuation and velocity spectra. *Sci China Ser E-Technol Sci* 2009;52:1502–10. <https://doi.org/10.1007/s11431-009-0172-7>.

- [78] Lee S-Myun, Kim H-Lae, Kwon H-Beom, Kim Kyongtae, Yoo S-Jae, Hong U-Seon, et al. MEMS Based Particle Size Analyzer Using Electrostatic Measuring Techniques. 2019 20th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems & Eurosensors XXXIII (TRANSDUCERS & EUROSENSORS XXXIII), Berlin, Germany: IEEE; 2019, p. 1289–92. <https://doi.org/10.1109/TRANSDUCERS.2019.8808773>.
- [79] Tajdari T, Rahmat MF. Review of Electrostatic Sensor Applications. *Jurnal Teknologi* 2014;70. <https://doi.org/10.11113/jt.v70.3453>.
- [80] Koster S, Verpoorte E. A decade of microfluidic analysis coupled with electrospray mass spectrometry: An overview. *Lab Chip* 2007;7:1394. <https://doi.org/10.1039/b709706a>.
- [81] Coulter WH. Means for counting particles suspended in a fluid, 1953.
- [82] Sun T, Morgan H. Single-cell microfluidic impedance cytometry: a review. *Microfluid Nanofluid* 2010;8:423–43. <https://doi.org/10.1007/s10404-010-0580-9>.
- [83] Gawad S, Schild L, Renaud Ph. Micromachined impedance spectroscopy flow cytometer for cell analysis and particle sizing. *Lab Chip* 2001;1:76. <https://doi.org/10.1039/b103933b>.
- [84] Mansor M, Ahmad M. Single Cell Electrical Characterization Techniques. *IJMS* 2015;16:12686–712. <https://doi.org/10.3390/ijms160612686>.
- [85] Feng Y, Huang L, Zhao P, Liang F, Wang W. A Microfluidic Device Integrating Impedance Flow Cytometry and Electric Impedance Spectroscopy for High-Efficiency Single-Cell Electrical Property Measurement. *Anal Chem* 2019;91:15204–12. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.9b04083>.
- [86] Saateh A, Kalantarifard A, Celik OT, Asghari M, Serhatlioglu M, Elbuken C. Real-time impedimetric droplet measurement (iDM). *Lab Chip* 2019;19:3815–24. <https://doi.org/10.1039/C9LC00641A>.

- [87] Luo C, Yang X, Fu Q, Sun M, Ouyang Q, Chen Y, et al. Picoliter-volume aqueous droplets in oil: Electrochemical detection and yeast cell electroporation. *Electrophoresis* 2006;27:1977–83. <https://doi.org/10.1002/elps.200500665>.
- [88] Han Z, Li W, Huang Y, Zheng B. Measuring Rapid Enzymatic Kinetics by Electrochemical Method in Droplet-Based Microfluidic Devices with Pneumatic Valves. *Anal Chem* 2009;81:5840–5. <https://doi.org/10.1021/ac900811y>.
- [89] Yakdi NE, Huet F, Ngo K. Detection and sizing of single droplets flowing in a lab-on-a-chip device by measuring impedance fluctuations. *Sensors and Actuators B: Chemical* 2016;236:794–804. <https://doi.org/10.1016/j.snb.2016.05.123>.
- [90] Sohn LL, Saleh OA, Facer GR, Beavis AJ, Allan RS, Notterman DA. Capacitance Cytometry: Measuring Biological Cells One by One. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 2000;97:10687–90.
- [91] Elbuken C, Glawdel T, Chan D, Ren CL. Detection of microdroplet size and speed using capacitive sensors. *Sensors and Actuators A: Physical* 2011;171:55–62. <https://doi.org/10.1016/j.sna.2011.07.007>.
- [92] Fietkau N, Du G, Matthews SM, Johns ML, Fisher AC, Compton RG. Chronoamperometric Sizing and Locating of Spherical Particles via Potential-Step Transients. *J Phys Chem C* 2007;111:7801–7. <https://doi.org/10.1021/jp070429d>.
- [93] Abadie T, Sella C, Thouin L. Electrochemical detection of droplet content in microfluidic devices: Evidence of internal recirculating convection within droplets. *Electrochemistry Communications* 2017;80:55–9. <https://doi.org/10.1016/j.elecom.2017.05.013>.
- [94] Delahaye T, Lombardo T, Sella C, Thouin L. Electrochemical assessments of droplet contents in microfluidic channels. Application to the titration of heterogeneous droplets. *Analytica Chimica Acta* 2021;1155:338344. <https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338344>.

- [95] Verpoorte E, De Rooij NF. Microfluidics meets MEMS. *Proc IEEE* 2003;91:930–53. <https://doi.org/10.1109/JPROC.2003.813570>.
- [96] Minter SD, editor. *Microfluidic techniques: reviews and protocols*. Totowa, N.J: Humana Press; 2006.
- [97] 1. Salle blanche - Institut des NanoSciences de Paris n.d. <http://www.insp.upmc.fr/-Salle-blanche-.html> (accessed October 4, 2021).
- [98] Mitra SK, Chakraborty S, editors. *Microfluidics and Nanofluidics Handbook*. 0 ed. CRC Press; 2016. <https://doi.org/10.1201/b11188>.
- [99] Xia Y. *SOFT LITHOGRAPHY* 1998:33.
- [100] Fujii T. PDMS-based microfluidic devices for biomedical applications. *Microelectronic Engineering* 2002;61–62:907–14. [https://doi.org/10.1016/S0167-9317\(02\)00494-X](https://doi.org/10.1016/S0167-9317(02)00494-X).
- [101] Kaneda S, Ono K, Fukuba T, Nojima T, Yamamoto T, Fujii T. Modification of the Glass Surface Property in PDMS-Glass Hybrid Microfluidic Devices. *Anal Sci* 2012;28:39. <https://doi.org/10.2116/analsci.28.39>.
- [102] Khalil R, Chaabene N, Azar M, Malham IB, Turmine M. Effect of the chain lengthening on transport properties of imidazolium-based ionic liquids. *Fluid Phase Equilibria* 2020;503:112316. <https://doi.org/10.1016/j.fluid.2019.112316>.
- [103] Lasia A. *Electrochemical Impedance Spectroscopy and its Applications*. New York, NY: Springer New York; 2014. <https://doi.org/10.1007/978-1-4614-8933-7>.
- [104] Orazem ME, Tribollet B. *Electrochemical impedance spectroscopy*. Hoboken, N.J: Wiley; 2008.
- [105] Choi W, Shin H-C, Kim JM, Choi J-Y, Yoon W-S. Modeling and Applications of Electrochemical Impedance Spectroscopy (EIS) for Lithium-ion Batteries. *J Electrochem Sci Technol* 2020;11:1–13. <https://doi.org/10.33961/jecst.2019.00528>.

- [106] Tran TTM, Tribollet B, Sutter EMM. New insights into the cathodic dissolution of aluminium using electrochemical methods. *Electrochimica Acta* 2016;216:58–67. <https://doi.org/10.1016/j.electacta.2016.09.011>.
- [107] Marcus P, Mansfeld F, editors. *Analytical methods in corrosion science and engineering*. Boca Raton, Fla.: CRC, Taylor & Francis; 2006.
- [108] Gabrielli C, Huet F, Keddam M. Real-Time Measurement of Electrolyte Resistance Fluctuations. *J Electrochem Soc* 1991;138:L82–4. <https://doi.org/10.1149/1.2085517>.
- [109] Bouazaze H, Huet F, Nogueira RP. Measurement of Electrolyte Resistance Fluctuations Generated by Oil-Brine Mixtures in a Flow-Loop Cell. *CORROSION* 2007;63:307–17. <https://doi.org/10.5006/1.3278384>.
- [110] Niu P, Nablo BJ, Bhadriraju K, Reyes DR. Uncovering the Contribution of Microchannel Deformation to Impedance-Based Flow Rate Measurements. *Anal Chem* 2017;89:11372–7. <https://doi.org/10.1021/acs.analchem.7b02287>.
- [111] Adekanmbi EO, Srivastava SK. Dielectrophoretic applications for disease diagnostics using lab-on-a-chip platforms. *Lab Chip* 2016;16:2148–67. <https://doi.org/10.1039/C6LC00355A>.

Résumé

Dans le cadre de cette thèse, l'objectif est de caractériser des micro-objets circulant dans un microcanal à l'aide de techniques électrochimiques. Dans le but de concevoir et de fabriquer un tel système, plusieurs méthodes et techniques sont nécessaires. Tout d'abord, le microsystème est constitué de microcanaux en PDMS et de microélectrodes en couches minces. Les techniques de microfabrication telles que la lithographie molle et le dépôt des électrodes suivant le procédé lift-off seront utilisées en salle blanche. La micropuce fabriquée permet, à travers un écoulement diphasique, de générer des gouttelettes de phase dispersée (PBS ou azote) dans une phase continue (Liquide ionique « EMIMTFSI »). Des simulations numériques, en utilisant Comsol Multiphysics, sont réalisées pour d'une part optimiser la conception du microsystème et d'autre part comparer les résultats simulés et les résultats expérimentaux. Enfin, les méthodes électrochimiques telles que le bruit électrochimique et la spectroscopie d'impédance permettent d'analyser les gouttelettes générées dans la puce microfluidique. Les variations de la résistance d'électrolyte sont mesurées à l'aide de la technique du bruit électrochimique et l'amplitude de ces variations est reliée directement à la taille et la forme des particules en écoulement. Le dispositif de séparation des micro-objets est en cours de développement. Il repose sur la diélectrophorèse afin de séparer les particules d'intérêt du reste.

Mots-clés : microfluidique, microfabrication, impédance électrochimique, bruit électrochimique, simulation numérique.

In this thesis, the aim is to characterise micro-objects flowing in a microchannel using electrochemical techniques. In order to design and fabricate such a system, several methods and techniques are required. Firstly, the microsystem consists of PDMS microchannels and thin film microelectrodes. Microfabrication techniques such as soft lithography and lift-off electrode deposition will be used in a clean room. The fabricated microchip allows, through a two-phase flow, to generate droplets of dispersed phase (PBS or nitrogen) in a continuous phase (ionic liquid "EMIMTFSI"). Numerical simulations, using Comsol Multiphysics, are carried out to optimise the design of the microsystem and to compare the simulated results with the experimental results. Finally, electrochemical methods such as electrochemical noise and impedance spectroscopy are used to analyse the droplets generated in the microfluidic chip. variations in electrolyte resistance are measured using the electrochemical noise technique and the magnitude of these variations is directly related to the size and shape of the flowing particles. The micro-object separation device is currently being developed. It is based on dielectrophoresis to separate the particles of interest from the rest.

Keywords: microfluidics, microfabrication, electrochemical impedance, electrochemical noise, numerical simulation.