



HAL
open science

Elaboration de dispositifs microfluidiques pour la détection de gouttes par voie électrochimique : concepts et performances à l'échelle du nanolitre

Thomas Delahaye

► **To cite this version:**

Thomas Delahaye. Elaboration de dispositifs microfluidiques pour la détection de gouttes par voie électrochimique : concepts et performances à l'échelle du nanolitre. Chimie analytique. Sorbonne Université, 2021. Français. NNT : 2021SORUS355 . tel-03899643

HAL Id: tel-03899643

<https://theses.hal.science/tel-03899643v1>

Submitted on 15 Dec 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

Laboratoire P.A.S.T.E.U.R. / Pôle NBMS

Elaboration de dispositifs microfluidiques pour la détection de gouttes par voie électrochimique : concepts et performances à l'échelle du nanolitre

Par Thomas Delahaye

Thèse de doctorat d'Electrochimie

Dirigée par le Dr. Laurent Thouin

Présentée et soutenue publiquement le 13 Décembre 2021

Devant un jury composé de :

Pr. Emmanuel MAISONHAUTE (PR – SU)

Examineur – Président du jury

Dr. Sophie GRIVEAU (CR – Chimie ParisTech PSL)

Rapporteur

Dr. Jean GAMBY (CR – C2N Université Paris-Saclay)

Rapporteur

Dr. Laurent THOUIN (DR – ENS PSL)

Directeur de thèse

Dr. Catherine SELLA (CR – ENS PSL)

Membre invité – Co-encadrante



Je m'éloigne d'autant que je m'approche

Philippe Katerine

Remerciements

Je remercie Rodolphe Vuilleumier, directeur du laboratoire PASTEUR pour son accueil durant ces trois années de thèse. Je remercie également Anne Boutin, directrice du département de chimie de l'ENS. Je les remercie notamment pour leur gestion pendant la crise sanitaire qui a permis aux expérimentateurs de continuer à travailler dans de bonnes conditions.

Un immense merci à Laurent Thouin, mon directeur de thèse, pour son encadrement avec un bon dosage entre confiance et accompagnement. Un merci tout aussi important à Catherine Sella pour son encadrement ; son souci du détail aura toujours permis l'amélioration de la qualité de nos recherches. Merci à eux également pour leur accompagnement exemplaire pendant la crise sanitaire.

Merci à Thuvaraka et Yumeng, mes deux stagiaires, pour leur intérêt pour notre travail de recherche ainsi que pour leur investissement conséquent à l'avancement de ces travaux. Bonne continuation à Yumeng qui prendra la suite du projet !

Je tiens à remercier chaleureusement Sophie Griveau et Jean Gamby d'avoir accepté de prendre part au jury ainsi que pour leur intérêt pour ce manuscrit. Merci à Emmanuel Maisonhaute d'avoir également accepté de faire partie de mon jury.

Je remercie Christelle Souprayen, pour m'avoir formé à l'art de la microfluidique de gouttes et de m'avoir accompagné pendant les premiers mois de ma thèse. Merci à Eric Aït-Yahiatène pour sa formation à la microfabrication ainsi que son aide et tous les conseils techniques prodigués au cours de la thèse. Merci à José Palomo et Michael Rosticher pour leur accueil en salle blanche de physique, avec des conditions de travail exemplaires pour réaliser nos microdispositifs. Merci également à Kevin Phan de la plateforme technologique de l'IPGG pour l'impression des masques optiques, qui, de par sa réactivité, nous a permis la réalisation de dispositifs à façon que nous avons pu optimiser facilement.

Merci au personnel des équipes que j'ai rencontré pendant l'enseignement à Sorbonne Université qui nous ont toujours permis de travailler dans de très bonnes conditions. Je pense notamment à Ludovic et Nassera pour la plateforme de chimie générale des licences. Merci également à Emmanuel Maisonhaute pour son accueil lors de l'encadrement des TP d'électrochimie.

Un merci particulier à Fatma qui a été mon compagnon de route pendant quasiment l'intégralité de ces trois années. Merci à tous les camarades de laboratoire rencontrés pendant la thèse : Aude, Justine, Antoine, Jeff, Aurélien, Jules, Léna, Pierre-Adrien, Adnane, Karen, Reina, Hanane. Merci également, Boxin, Rofa, Haoyue et Katty, camarades de bureau depuis peu, pour leur compagnie agréable.

Merci aux permanents du laboratoire que j'ai toujours croisé avec plaisir dans les couloirs du département de chimie et pour leurs conversations éclairantes : Christian Amatore, Alexander Oleinick, Olivier Buriez, Eric Labbé, Manon Guille. Un merci particulier à Frédéric Lemaître qui m'a permis d'aborder sereinement les TP d'électrochimie, pour sa générosité et son temps.

Merci également aux membres de l'administration de l'ENS : Delphine Rolland, Pauline Barjolin, Elsa Macudzinski, et plus récemment Saadia Dahalani.

Un grand merci à Lisa pour son soutien pendant toutes ces années.

Merci à mes amis, notamment mes amis de très longue date Amine et Clément. Les week-ends et soirées passées avec eux, moments festifs parsemés de conversations de qualités ont toujours contribué à mon avancement personnel.

Merci à tous mes amis musiciens qui ont permis d'agrémenter ma vie parisienne avec des soirées plus ou moins studieuses et toujours festives. Un merci particulier au bientôt célèbre groupe de Salsa Los Burritos de Belleville et à l'Orchestre Musiques en Seine pour tous ces moments précieux qui contribuent à mon équilibre de vie.

Merci à toute ma famille pour leur accompagnement depuis toujours, notamment à mes parents qui m'ont toujours permis d'avancer dans la vie et dans mes études dans d'excellentes conditions. Je leur dois beaucoup pour cet accomplissement.

Sommaire

LEXIQUE	1
INTRODUCTION GENERALE	9
Chapitre 1. Etat de l'art	15
1 La Microfluidique, une science multiple.....	16
1.1 Généralités	16
1.1.1 Historique	16
1.1.2 Domaines d'applications	17
1.2 La physique des écoulements microfluidiques	19
1.2.1 Concepts	19
1.2.2 Grandeurs caractéristiques des écoulements microfluidiques	19
1.2.3 Les particularités de l'écoulement laminaire.....	22
1.3 La microfluidique de gouttes	26
1.3.1 Définition.....	26
1.3.2 Applications.....	27
2 Manipulations de gouttes	30
2.1 Génération de gouttes dans un canal microfluidique.....	31
2.1.1 Modes de génération.....	31
2.1.2 Géométries usuelles	33
2.2 Opérations sur les gouttes	34
2.2.1 Division	34
2.2.2 Trappe.....	35
2.2.3 Tri	36
2.2.4 Mélange : Coalescence et homogénéisation	37
3 Méthodes de détections	42
3.1 Détections optiques.....	42
3.1.1 Observation des gouttes.....	42
3.1.2 Analyse du contenu de gouttes par fluorescence.....	44
3.2 Détection Spectroscopique.....	44

3.3	Electrochimie	47
3.3.1	Méthodes « sans contact »	47
3.3.2	Méthodes « avec contact ».....	49
4	Bilan	52
Chapitre 2. Détection électrochimique de gouttes circulantes de contenus homogènes ou hétérogènes		57
1	Résultats antérieurs sur le couplage de la microfluidique et de l'électrochimie	58
1.1	Détections en microfluidique de gouttes.....	58
1.1.1	Cellule à trois électrodes.....	58
1.1.2	Cellule à quatre électrodes (4E).....	60
1.2	Transport de masse en microfluidique continue en régime stationnaire.....	62
1.2.1	Cas d'une seule électrode de travail	63
1.2.2	Notions de couplage entre électrodes	66
2	Concept et mise en œuvre expérimentale.....	69
2.1	Principe	69
2.2	Dispositif microfluidique	71
2.3	Cellules électrochimiques	73
2.3.1	Configurations 4E et 5E	73
2.3.2	Temps caractéristiques	74
2.3.3	Régime de fonctionnement entre électrodes de travail.....	76
2.3.4	Médiateur et potentiel appliqué	77
3	Détection de gouttes de contenu homogène	78
3.1	Caractéristiques des réponses en chronoampérométrie	78
3.2	Analyse du contenu de gouttes	79
4	Détection de gouttes de contenu hétérogène	81
4.1	Caractéristiques des réponses en chronoampérométrie	82
4.1.1	Mise en évidence de l'hétérogénéité des gouttes.....	82
4.1.2	Evaluation de quantités de charge	85
4.1.3	Définition du degré d'hétérogénéité	86
4.1.4	Définition de l'efficacité de mélange	88

4.2	Etude des paramètres caractéristiques	88
4.2.1	Quantité de charge détectée	89
4.2.2	Evaluation du taux de détection.....	92
4.2.3	Evaluation de l'efficacité de mélange	93
5	Titration de gouttes	95
5.1	Principe	95
5.2	Titration par une solution de concentration supérieure à l'échantillon.....	96
5.3	Titration par une solution de concentration inférieure à l'échantillon.....	96
6	Conclusion.....	97
Chapitre 3. Etude d'une chambre de coalescence pour la détection électrochimique de gouttes en microfluidique		101
1	Concept et mise en œuvre expérimentale.....	102
1.1	Concept	102
1.1.1	Chambres de coalescence à fusion passive.....	102
1.1.2	Principe de la chambre de coalescence avec électrodes	104
1.2	Conception du dispositif microfluidique	105
1.2.1	Génération des gouttes.....	105
1.2.2	Dimensionnement de la chambre de coalescence.....	107
1.2.3	Disposition et dimensions des électrodes	107
1.3	Mise en œuvre expérimentale	108
1.3.1	Potentiel appliqué	109
1.3.2	Mesure de courants stationnaires.....	109
1.3.3	Cas du train de gouttes.....	112
2	Couplage diffusionnel entre les électrodes.....	113
2.1	Simulations numériques.....	114
2.1.1	Principe des simulations	114
2.1.2	Influence des paramètres géométriques.....	116
2.2	Mise en évidence expérimentale du couplage diffusionnel entre WE et CE.....	119
2.2.1	Configurations de cellules utilisées	119
2.2.2	Voltamétries cycliques	120

2.2.3	Chronoampérogrammes.....	121
3	Etudes des régimes de fonctionnement	123
3.1	Dispositifs utilisés.....	123
3.1.1	Différentes longueurs de chambre de coalescence	123
3.1.2	Calibrations de la cellule électrochimique.....	124
3.2	Détection de trains de gouttes	125
3.2.1	Analyse des courants	126
3.2.2	Résultats expérimentaux.....	126
3.3	Différents régimes de fonctionnement.....	129
3.3.1	Modèles proposés	129
3.3.2	Fonctionnement des différents dispositifs	131
4	Conclusion et perspectives	133
Chapitre 4. Mise en œuvre de l'électrochimiluminescence en microfluidique de gouttes		
		137
1	Electrochimiluminescence et microdispositifs.....	137
1.1	Couple ruthénium(II)/tripropylamine	139
1.1.1	Mécanismes ECL.....	139
1.1.2	Influence de la concentration de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ et du pH	140
1.1.3	Influence du matériau d'électrode	141
1.2	Utilisation du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$ dans des microdispositifs.....	144
1.2.1	Domaines d'applications	144
1.2.2	Exemple de mesures ECL en microfluidique continue	146
1.3	Conclusion	147
2	Mise en œuvre expérimentale de la détection ECL.....	148
2.1	Caractérisation du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$ sur électrodes de platine	148
2.1.1	Microélectrodes de platine.....	148
2.1.2	Electrodes de platine semi-transparent	149
2.2	Microdispositifs utilisés	154
2.2.1	Canaux microfluidiques.....	154
2.2.2	Electrodes semi-transparentes et cellules électrochimiques.....	155

3	Mesures expérimentales d'ECL en microfluidique.....	155
3.1	Microfluidique continue.....	156
3.1.1	Caractérisation par voltamétrie linéaire.....	156
3.1.2	Influence du débit	158
3.2	Microfluidique de gouttes	159
3.2.1	Caractérisations par voltamétrie et par chronoampérométrie.....	159
3.2.2	Imagerie de surface d'électrode par ECL	162
4	Conclusion et perspectives	164
	CONCLUSION GENERALE	169
	ANNEXES.....	173
	Annexe A. Conditions opératoires pour le couplage de l'électrochimie et de la microfluidique de gouttes.....	174
	1. Solutions aqueuses et phase continue.....	175
	2. Montage expérimental.....	176
	3. Activation et nettoyage des électrodes	177
	Annexe B. Détermination expérimentale du coefficient de diffusion de l'espèce $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ dans KCl.....	178
	Annexe C. Simulations numériques	181
	1. Détection en canal linéaire (Chapitre 2).....	181
	2. Détection en chambre de coalescence (Chapitre 3)	183
	Annexe D. Fabrication des microdispositifs	188
	1. Fabrication des canaux en PDMS	189
	2. Fabrication des électrodes	191
	3. Assemblage	192
	Table des figures.....	197
	Table des tableaux.....	209
	Bibliographie.....	211

LEXIQUE

Abréviations

Ag/AgCl	électrode de référence argent/chlorure d'argent
AH	modèle avec homogénéisation
CE	contre électrode
CNT	(<i>carbon nanotube</i>) nanotubes de carbone
3E	cellule électrochimique à trois électrodes (WE, RE, CE)
3Ec	cellule électrochimique à trois électrodes (WE, CE, RE) avec couplage diffusionnel entre CE et WE
4E	cellule électrochimique à quatre électrodes (WE1, WE2, RE, CE)
4Ec	cellule électrochimique à quatre électrodes (WEg, WEc, RE, CE) avec couplage diffusionnel entre WEg et WEc
5E	cellule électrochimique à cinq électrodes (WE1, WE2, WE3, RE, CE)
DBAE	2-(dibutylamino) éthanol
ECL	électrochimiluminescence
Fe(CN)₆⁴⁻	anion ferrocyanure
Fe(CN)₆³⁻	anion ferricyanure
GC	mode générateur-collecteur
GG	mode générateur-générateur
H₂O₂	peroxyde d'hydrogène
ITO	(<i>Indium Tin Oxide</i>) oxyde d'indium et d'étain
KCl	chlorure de potassium
NADH	hydrure de nicotinamide adénine dinucléotide
PBS	(<i>phosphate buffer saline</i>) solution tampon saline riche en phosphates
PDMS	polydiméthylsiloxane
Pt	platine
RE	électrode de référence
[Ru(bpy)₃]²⁺	complexe de ruthénium II tris(bipyridine)
SCE	électrode de référence au calomel saturé
SH	modèle sans homogénéisation
SPE	(<i>screen-printed electrode</i>) électrode imprimée par sérigraphie
Ti	titane

TPA	tripropylamine
u. a.	unité arbitraire
WE	électrode de travail
WEb	électrode de travail sans couplage
WEc	électrode collectrice
WEg	électrode génératrice
WE1	électrode de travail placée en première position dans le canal selon le sens d'écoulement
WE2	électrode de travail placée en seconde position dans le canal selon le sens d'écoulement
WE3	électrode de travail placée en troisième position dans le canal selon le sens d'écoulement

Paramètres (unités)

c° (mol.L ⁻¹)	concentration initiale
c_A (mol.L ⁻¹)	concentration de l'espèce A
c_B (mol.L ⁻¹)	concentration de l'espèce B
c_d (mol.L ⁻¹)	concentration apparente détectée
c_1 (mol.L ⁻¹)	concentration de la première solution aqueuse
c_2 (mol.L ⁻¹)	concentration de la seconde solution aqueuse
c_{av} (mol.L ⁻¹)	concentration moyenne
c_{ch}° (mol.L ⁻¹)	concentration initiale dans la chambre avant la première goutte
c_{ch} (mol.L ⁻¹)	concentration moyenne dans la chambre de coalescence
$c_{ch\ i}$ (mol.L ⁻¹)	concentration moyenne dans la chambre de coalescence après l'arrivée de la goutte i
$c_{ch\ i-1}$ (mol.L ⁻¹)	concentration moyenne dans la chambre de coalescence avant l'arrivée de la goutte i
c_{ox} (mol.L ⁻¹)	concentration de l'espèce oxydante
c_{red} (mol.L ⁻¹)	concentration de l'espèce réductrice
D (cm ² .s ⁻¹)	coefficient de diffusion
D_A (cm ² .s ⁻¹)	coefficient de diffusion de l'espèce A
D_B (cm ² .s ⁻¹)	coefficient de diffusion de l'espèce B
D_{FeII} (cm ² .s ⁻¹)	coefficient de diffusion de l'espèce Fe II
D_{FeIII} (cm ² .s ⁻¹)	coefficient de diffusion de l'espèce Fe III

E (V vs RE)	potentiel appliqué à l'électrode par rapport à l'électrode de référence
E^\bullet (V vs RE)	potentiel standard d'un couple redox par rapport à l'électrode de référence
E_{WE1} (V vs RE)	potentiel appliqué à la première électrode de travail par rapport à l'électrode de référence
E_{WE2} (V vs RE)	potentiel appliqué à la seconde électrode de travail par rapport à l'électrode de référence
E_{WE3} (V vs RE)	potentiel appliqué à la troisième électrode de travail par rapport à l'électrode de référence
F (C.mol ⁻¹)	nombre de Faraday
F_A	facteur d'amplification
F_C	facteur de collecte
f (Hz)	fréquence d'arrivée des gouttes en chambre de coalescence
g (μm)	distance séparant deux électrodes d'une cellule électrochimique
$g_{WEg-WEc}$ (μm)	distance séparant l'électrode génératrice de l'électrode collectrice
$g_{WE1-WE2}$ (μm)	distance séparant la première et la seconde électrode de travail
$g_{WE2-WE3}$ (μm)	distance séparant la seconde et la troisième électrode de travail
g_{WE2-CE} (μm)	distance séparant la seconde électrode de travail de la contre électrode
g_{WE3-CE} (μm)	distance séparant la troisième électrode de travail de la contre électrode
h (μm)	hauteur du canal microfluidique
i (μA)	courant
i_b (μA)	courant d'une électrode isolée
i_c (μA)	courant de l'électrode collectrice
i_g (μA)	courant de l'électrode génératrice
$i_{couche\ mince}$ (μA)	courant associé au régime de couche mince
i_{ch}° (μA)	courant stationnaire mesuré avant l'arrivée d'une première goutte
i_1 (μA)	courant stationnaire mesuré après l'arrivée d'une première goutte
i_i (μA)	courant stationnaire mesuré après l'arrivée de la $i^{ème}$ goutte
i_j (μA)	courant d'un point de mesure
i_{Levich} (μA)	courant associé au régime de Levich
i^{lim} (μA)	courant limite
i_{max} (μA)	courant maximal
i_s (μA)	courant stationnaire
i_s^{lim} (μA)	courant stationnaire limite

i_0 (μA)	courant mesuré en présence d'électrolyte support
I_{ECL} (u. a.)	intensité ECL
$(I_{\text{ECL}}^{\text{max}})$ (u. a.)	intensité ECL maximale
$(I_{\text{ECL}}^{\text{max}})_e$ (u. a.)	intensité ECL maximale pour le dépôt de platine d'épaisseur e
$I_{\text{ECL}}^{\text{rel}}$ (u. a.)	intensité ECL relative
k_0 ($\text{cm}\cdot\text{s}^{-1}$)	constante de vitesse hétérogène
L (μm)	largeur du canal microfluidique
L_{ch} (μm)	longueur de chambre de coalescence et des microbandes intégrées
l (μm)	longueur de la goutte
n	nombre d'électrons échangés lors d'une réaction électrochimique
N	nombre de points de mesure
Q (μC)	charge théorique de la goutte
Q_d (μC)	charge expérimentale détectée
r_0 (μm)	rayon d'une électrode disque
R ($\text{J}\cdot\text{mol}^{-1}\cdot\text{K}^{-1}$)	constante des gaz parfaits
T (K)	température
T_e	transmittance pour le dépôt de platine d'épaisseur e
T^{rel}	transmittance relative
t (s)	temps
t_0 (s)	temps correspondant à la connexion de la cellule électrochimique par une goutte
t_d (s)	délai de temps
t_1 (s)	temps correspondant à la déconnexion de la première électrode de travail
t_2 (s)	temps correspondant à la déconnexion de la seconde électrode de travail
t_3 (s)	temps correspondant à la déconnexion de la troisième électrode de travail
u_{av} ($\mu\text{m}/\text{s}$)	vitesse moyenne de flux
u_x ($\mu\text{m}/\text{s}$)	vitesse de flux selon la direction x
v ($\mu\text{m}/\text{s}$)	vitesse de goutte
v^{opt} ($\mu\text{m}/\text{s}$)	vitesse de goutte déterminée optiquement
V (nL)	volume de goutte
V_1 (nL)	volume de la première goutte
V_2 (nL)	volume de solution injecté dans la première goutte
V_i (nL)	volume de la goutte i
V_{nd} (nL)	volume non détecté d'une goutte

V_{ch} (nL)	volume de solution aqueuse dans une chambre de coalescence
w (μm)	largeur d'électrode
w_{WE1} (μm)	largeur de la première électrode de travail
w_{WE2} (μm)	largeur de la seconde électrode de travail
w_{WE3} (μm)	largeur de la troisième électrode de travail
w_g (μA)	largeur de l'électrode génératrice
w_c (μA)	largeur de l'électrode collectrice
α	coefficient de transfert
α_a	coefficient de transfert anodique
α_c	coefficient de transfert cathodique
σ	écart-type
Γ (%)	taux de détection

Paramètres adimensionnés

Ca	nombre capillaire
G	distance entre deux électrodes
Pe	nombre de Péclet
Re	nombre de Reynolds
W	largeur d'électrode
W_i	largeur de l'électrode i
Ψ	courant
Ψ_{Levich}	courant en régime de Levich
Ψ_s	courant stationnaire
ψ^{lim}	courant limite
Ψ_s^{lim}	courant stationnaire limite
τ	temps

INTRODUCTION GENERALE

INTRODUCTION GENERALE

La microfluidique est une science qui s'est beaucoup développée depuis les années 1990. Il s'agit de l'étude et de l'utilisation des écoulements dans des canalisations de dimensions micrométriques. Elle admet deux catégories principales : la microfluidique continue (écoulement d'un fluide unique) et la microfluidique diphasique ou de gouttes (fluide segmenté par une phase continue). Dans les deux cas, la microfluidique permet d'améliorer l'efficacité et le contrôle des processus grâce à des rapports surface sur volume élevés à l'intérieur de microcanaux. Parallèlement, la miniaturisation permet de réduire les volumes, les coûts d'analyse, mais aussi de rendre les dispositifs portables pour des applications de terrain ou de proximité. Les développements en microfluidique présentent alors un atout pour de nombreux domaines comme l'environnement, l'énergie, les cosmétiques et l'agroalimentaire. Ses principales applications sont en lien avec la biologie qui tire pleinement bénéfice de ses avantages.

De nombreux outils microfluidiques ont été élaborés, permettant d'élargir les champs d'investigation. Parmi elles, les améliorations techniques portant sur la génération et le contrôle de gouttes ont contribué à une meilleure appréhension et exploitation des systèmes diphasiques. Les gouttes constituent des microvolumes discrets, séparés des parois et utilisables comme des microréacteurs. Ainsi, l'utilisation de gouttes permet de réaliser une gamme d'opérations unitaires, intégrées et à haut débit. Un nombre important d'opérations (tri, coalescence, mélange, division...) sont désormais possibles. Parallèlement, des systèmes d'analyse miniaturisés sont développés mettant en jeu une diversité de méthodes de détection. Les méthodes optiques sont celles qui sont les plus employées, de l'observation visuelle au microscope jusqu'aux méthodes plus sélectives comme la fluorescence. La plupart des méthodes spectroscopiques ont également été adaptées pour la microfluidique. Ces méthodes présentent néanmoins deux inconvénients majeurs : l'appareillage est généralement encombrant et le signal est proportionnel à la quantité d'analyte, ce qui peut constituer une limitation pour l'analyse de petits volumes.

Dans ce cadre, l'électrochimie constitue une alternative intéressante pour la mise en œuvre de détections dans des microdispositifs. Un de ses atouts est la possibilité de miniaturiser l'ensemble de l'instrumentation incluant le potentiostat. Un autre atout concerne ses performances. Les réponses électrochimiques sont sélectives mais aussi proportionnelles à la

concentration, ce qui est particulièrement approprié pour l'analyse de microvolumes. Jusqu'à présent, peu d'études ont été menées en électrochimie dans ces conditions opératoires spécifiques, probablement en raison de la complexité de mise en œuvre et d'interprétation des résultats. Les réponses en électrochimie dépendent fortement des régimes hydrodynamiques locaux et des effets de confinement au voisinage des électrodes. La configuration des cellules électrochimiques, la géométrie des électrodes mais aussi le choix des méthodes électrochimiques sont fonction du type d'application et des performances souhaitées. Le matériau d'électrode revêt ici toute son importance pour le traitement ou la modification de surface d'électrode pour les applications bioanalytiques.

Un certain nombre de travaux de recherche, à la fois théoriques et expérimentaux, ont été menés au laboratoire pour appréhender le couplage de l'électrochimie avec la microfluidique. Dans un premier temps, un ensemble d'études a été entrepris en microfluidique continue pour identifier différents modes et régimes de fonctionnement suivant l'influence du confinement et de l'hydrodynamique local. En effet, les réactions électrochimiques sont par nature des réactions d'interface. La difficulté réside alors à les appliquer pour la détection de microvolumes résolus spatialement et temporellement. Cela passe nécessairement par une compréhension et une évaluation des principaux paramètres régissant le transport de masse et l'interaction des espèces avec les électrodes en milieu confiné. Des travaux en microfluidique de gouttes ont été abordés plus récemment dans l'objectif de pouvoir détecter leur passage et analyser leur contenu.

Dans ce contexte, ces travaux de thèse ont pour objectif d'évaluer en microfluidique de gouttes différentes stratégies pour pouvoir détecter et analyser par voie électrochimique des gouttes circulantes présentant différentes caractéristiques, à la fois en volume, vitesse et contenu. Cette approche vise à proposer, sur la base de résultats théoriques et expérimentaux, des concepts permettant d'améliorer les performances des détections tout en s'affranchissant de certaines limitations expérimentales. Pour ce faire, ces travaux requièrent l'élaboration de dispositifs microfluidiques présentant de nouvelles géométries et configurations de cellules électrochimiques. Trois axes de recherche sont ainsi abordés, à savoir la détection de gouttes dont le contenu est hétérogène, la détection de gouttes dans une chambre de coalescence et la mise en œuvre d'électrochimiluminescence lors du passage de gouttes.

Le premier chapitre établira le contexte général dans lequel s'inscrivent ces travaux en commençant par un rappel historique sur l'évolution de la microfluidique et de ses principaux domaines d'application. Une description des écoulements microfluidiques et des grandeurs

associées sera donnée afin d'appréhender leur influence. La microfluidique de gouttes sera ensuite décrite dans ses principes, avec les différents outils actuellement disponibles pour manipuler à cette échelle des gouttes de très faibles volumes. Les méthodes de détection couramment employées seront ensuite répertoriées avec leurs avantages et leurs limitations. Une synthèse des études menées précédemment au laboratoire sera finalement réalisée pour permettre d'élaborer et de proposer sur la base de résultats acquis différentes stratégies de détection de gouttes.

Le second chapitre exposera les résultats expérimentaux obtenus pour détecter et analyser le contenu de gouttes circulantes dans un canal linéaire. L'objectif est ici de déterminer simultanément la vitesse, le volume et le contenu de gouttes lors de leur passage sur la cellule électrochimique. Pour se faire, une cellule électrochimique sera spécifiquement conçue. Cette étude s'attachera notamment à détecter des gouttes issues de mélanges et dont le contenu est hétérogène en concentration. Dans ces conditions particulières, des titrations seront proposées par une méthode inspirée des ajouts dosés.

Le troisième chapitre présente un dispositif microfluidique innovant permettant de s'affranchir de contraintes telles que la connexion – déconnexion de la cellule électrochimique lors du passage des gouttes ou encore la nécessité d'évaluer au préalable la vitesse des gouttes pour déterminer leur contenu. Pour cela, la cellule électrochimique sera placée dans une chambre de coalescence afin de maintenir un contact permanent entre un volume de phase aqueuse et les électrodes. Il sera tiré bénéfice du confinement et de l'absence locale de flux pour instaurer un fonctionnement de type générateur-collecteur entre l'électrode de travail et la contre-électrode. L'objectif sera ici d'étendre ce principe à la détection de trains de gouttes de quelques nanolitres. Une étude sera ainsi réalisée pour évaluer les différents modes de fonctionnement des dispositifs suivant leur géométrie et les conditions opératoires employées.

Enfin, le dernier chapitre sera consacré à la mise en œuvre d'électrochimiluminescence (ECL) en microfluidique continue et en microfluidique de gouttes. Le développement de mesures ECL couplées à la microfluidique constitue en effet un enjeu majeur dans le domaine d'analyses biologiques. Dans cette voie, la conception d'électrodes semi-transparentes permettant la détection simultanée de la luminescence et du courant est le défi à relever. L'influence du débit de la solution sur le signal ECL en microfluidique continue sera alors étudié, puis la détection de gouttes en microfluidique diphasique. Un exemple d'imagerie par ECL sera présenté pour illustrer la possibilité de cartographier l'interface électrode - goutte.

CHAPITRE 1
ETAT DE L'ART

Chapitre 1. Etat de l'art

Ce premier chapitre a pour but de présenter le contexte général de la thèse : il s'agit d'apporter une vision d'ensemble de ce qu'il est possible de faire avec la microfluidique, d'un point de vue applicatif mais aussi plus technique. Nous avons ensuite choisi de présenter, au cours des prochains chapitres, les travaux de recherche récents en lien direct avec leur contenu expérimental. Cela comprendra les travaux antérieurs réalisés au sein du laboratoire qui constituent des acquis indispensables à l'élaboration des concepts mis en place dans cette thèse.

Dans un premier temps, un aperçu général de la microfluidique sera présenté avec un rapide historique et les domaines d'applications majeurs de cette science. Nous décrirons ensuite les caractéristiques physiques particulières des écoulements microfluidique, pour définir plus précisément l'écoulement laminaire et ses limitations. Cela nous mènera à définir la microfluidique de gouttes et ses propriétés qui permettent de dépasser les limitations de la microfluidique en flux continu. Ce tour d'horizon se terminera par la présentation d'un large éventail d'applications de la microfluidique de gouttes en chimie et en biologie qui tirent avantage des caractéristiques du flux segmenté.

Dans un second temps, les aspects plus techniques de la microfluidique de gouttes seront abordés. Nous présenterons les manières de générer des gouttes en canal microfluidique avec les principales configurations de dispositifs habituellement utilisées ainsi que diverses opérations qu'il est possible d'effectuer sur ces gouttes durant leur parcours le long du canal. L'accent sera porté sur le mélange de goutte, une opération complexe qui interviendra dans chacune des parties expérimentales de cette thèse.

Enfin, nous passerons en revue les différents outils analytiques développés en microfluidique de gouttes. Les méthodes optiques sont les plus généralement utilisées, allant de la microscopie pour l'observation du comportement des gouttes en microfluidique à la spectroscopie comme méthode sélective et quantitative. Nous décrirons finalement l'alternative proposée par l'électrochimie analytique pour la détection de gouttes car cette méthode nous concernera plus particulièrement.

1 La Microfluidique, une science multiple

1.1 Généralités

1.1.1 *Historique*

La microfluidique a été précisément définie en 2006 par le chimiste états-unien George MacClelland Whitesides comme la science et la technologie qui permet de manipuler des petits volumes, utilisant des canaux de dimensions comprises entre la dizaine et la centaine de microns. Elle offre un vaste champ d'applications allant de la synthèse chimique jusqu'à l'analyse d'éléments biologiques [1].

Le scientifique parisien Jean-Léonard-Marie Poiseuille a posé les premiers fondements de la microfluidique au milieu du XIX^{ième} siècle. Il a beaucoup œuvré à la compréhension de l'écoulement des fluides, notamment dans des tubes de dimensions micrométriques, en évaluant différents paramètres comme la viscosité et le temps d'écoulement en fonction de la géométrie du tube [2].

Les progrès de microfabrication réalisés pour l'électronique dans les années 1980 ont facilité la conception de microsystèmes. C'est l'apparition des microsystèmes électromécaniques (MEMs) qui a donné un nouvel élan aux sciences microfluidiques. En 1990 est apparu le premier exemple de la commercialisation d'une application de la microfluidique : l'impression par jet d'encre [3]. La recherche académique s'est, elle, majoritairement concentrée sur une utilisation analytique de la microfluidique. Les techniques de séparation comme la chromatographie en phase gazeuse [4] ou l'électrophorèse [5, 6] en sont les premiers exemples emblématiques. Le concept de « *micro-total analysis system* » (μ TAS) est ensuite introduit avec l'augmentation des possibilités apportées par cette science [7]. Il s'agit d'un système miniaturisé permettant d'effectuer une série d'opérations variées sur un échantillon, de l'échantillonnage jusqu'à la détection, en passant par nombre de procédés chimiques usuels comme la dilution ou la filtration. Ainsi, avec les progrès technologiques réalisés tout au long des années 1990, le nombre d'applications n'a eu de cesse de s'accroître, notamment dans les domaines en lien avec la biologie [8]. Ce type de système associant de nombreuses étapes complexes s'est ensuite plutôt simplifié pour se concentrer sur des applications plus concrètes que nous présenterons par la suite.

Au tout début des années 2000, cette science connaît une évolution majeure avec l'apparition de la microfluidique de gouttes (dite aussi segmentée, ou diphasique) dont nous détaillerons les caractéristiques ultérieurement [9, 10]. On parle désormais plutôt de laboratoire sur puce (« lab-on-a-chip ») pour désigner l'idéal selon lequel il serait possible de reproduire et miniaturiser sur une même puce toutes les opérations possibles et connues d'un laboratoire à moindre coût avec une faible quantité de réactifs [11].

1.1.2 Domaines d'applications

Les conditions microfluidiques permettent de bien contrôler les paramètres physiques de l'écoulement ce qui est utile pour toute application de type analytique ou synthèse. La miniaturisation apportée par la microfluidique est un atout pour des diagnostics environnementaux nécessitant un dispositif portable, mais aussi pour le suivi médical directement auprès des patients. La microfluidique est particulièrement adaptée pour des applications biomédicales car elle permet l'analyse de petits volumes. Un ensemble de domaines d'applications de la microfluidique est présenté en *Figure 1.1*.

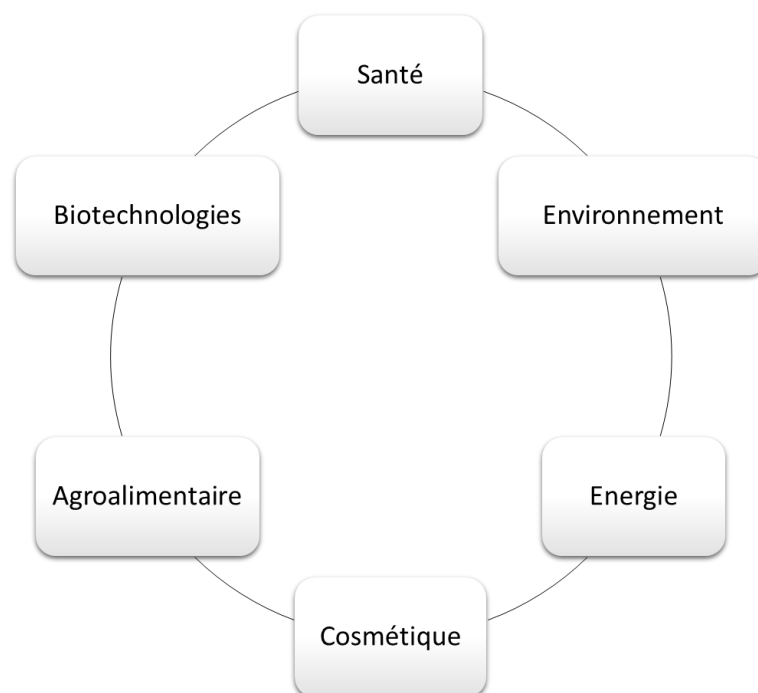


Figure 1.1 : Domaines d'applications de la microfluidique

Les domaines des biotechnologies et de la santé présentent un intérêt commun pour la microfluidique dans la compréhension de phénomènes biologiques à moindre coût. Du côté des biotechnologies, il est possible de cultiver des tissus dans un microdispositif [12], ou même

d'élaborer des organes sur puce [13]. Cela permet ainsi de mener des études sur le cancer de manière plus efficace et à moindre coût par rapport à des études effectuées sur des patients. Pour le domaine de la santé, la technologie de microfluidique sur papier permet la réalisation à faible coût de détections biologiques [14], comme la méthode immuno-enzymatique ELISA [15]. Des microcapteurs pour la détection par voie électrochimique d'oxyde nitrique, utiles au suivi de pathologie, ont été développés [16]. En biologie clinique, des approches alternatives à la technologie PCR (réaction en chaîne par polymérase) pour la détection d'acides nucléiques ADN sont développées selon un nouveau procédé couplant l'hyperthermie magnétique et la détection électrochimique (HDE). L'objectif est de permettre le relargage et la détection directe de microARN synthétique en dispositif microfluidique dans le but d'aboutir à une sorte de biopsie microfluidique liquide rapide pour un diagnostic d'urgence [17]. Le domaine environnemental tire également intérêt de ces avantages analytiques, avec par exemple la détections de nitrites [18], de métaux lourds [19] ou de métaux précieux [20] par électrochimie. L'intégration de l'électrophorèse capillaire couplée à une détection électrochimique dans un microdispositif fait également l'objet de développements croissants [21].

Il est possible de réaliser des synthèses de matériaux complexes grâce à la précision du contrôle de paramètres de réactions tels que le temps de contact entre les réactifs et la température. Cela permet par exemple la synthèse de nano-photocatalyseurs utiles pour la conversion de l'énergie [22]. Dans ce même domaine, il est également possible de récupérer l'énergie vibrationnelle pour la convertir en énergie électrique grâce à la microfluidique [23]. Le flux laminaire caractéristique des écoulements microfluidiques a permis la mise en place de piles à combustible [24].

La synthèse de produits cosmétiques a été rendue possible en microfluidique grâce à la maîtrise des émulsions [25] et double-émulsions [26]. Ces mêmes techniques ont été utiles pour la synthèse de produits agroalimentaires [27]. Dans ces différents cas, la parallélisation des dispositifs qui permet de produire d'importants volumes tout en gardant les avantages de la microfluidique.

Nous allons maintenant décrire les caractéristiques physiques propres aux écoulements en conditions microfluidiques. Elles sont déterminantes pour mener à bien les applications que nous venons de citer.

1.2 La physique des écoulements microfluidiques

Les écoulements microfluidiques sont associés à des concepts qui leur sont propres et que nous allons décrire avant de détailler quelques grandeurs caractéristiques. Nous présenterons ensuite le cas de l'écoulement laminaire.

1.2.1 *Concepts*

Nous pouvons identifier quatre concepts principaux qui permettent de rendre compte des particularités des écoulements microfluidiques [3].

Les dimensions micrométriques permettent de **contrôler l'écoulement** en évitant les instabilités : il s'agit du flux laminaire que nous décrirons ensuite.

La **tension de surface** des fluides est particulière dans ces conditions micrométriques. Elle conditionne la capacité d'un fluide à mouiller un matériau, caractérisé par l'angle de contact entre une goutte de fluide et le matériau. Les forces capillaires que nous détaillerons ensuite dépendent de la tension de surface.

Dans ces conditions micrométriques, les fluides présentent un rapport surface sur volume élevé [28] ce qui favorise notamment les **échanges de chaleur** [29]. Ainsi, la chaleur d'un fluide peut être très bien dissipée autant qu'il est possible d'assurer une température homogène sur un fluide.

Les dimensions micrométriques présentent également une particularité en **électrocinétique** : le champ électrique produit par l'application d'un potentiel entre deux électrodes est d'autant plus important que la distance entre les électrodes est petite.

La description de grandeurs caractéristiques permet de mieux formaliser ces quatre concepts.

1.2.2 *Grandeurs caractéristiques des écoulements microfluidiques*

Ce paragraphe vise à introduire les grandeurs adimensionnées utiles à la description des phénomènes microfluidiques en présentant brièvement leur influence. Chacun des phénomènes mentionnés ici seront développés dans la suite de ce chapitre.

Dans chacune de ces grandeurs, nous retrouverons des paramètres qui influent sur le mode d'écoulement tels que la viscosité dynamique du fluide η , sa vitesse u et une dimension caractéristique de la canalisation h [30].

Le **nombre de Reynolds** permet de définir le régime de l'écoulement selon l'équation suivante :

$$Re = \frac{\rho u h}{\eta} \quad (1.1)$$

avec ρ la masse volumique du fluide. Il s'agit du rapport entre force inertielle et force de viscosité qui permet de distinguer deux régimes principaux :

- L'écoulement est laminaire pour $Re < 2000$: les vecteurs de vitesse sont tous parallèles entre eux, la progression du fluide dans le canal est ordonnée (*Figure 1.2A*).
- L'écoulement est turbulent pour $Re > 2300$: les vecteurs de vitesse ne sont pas organisés de manière particulière, le mouvement du fluide est désordonné (*Figure 1.2B*).

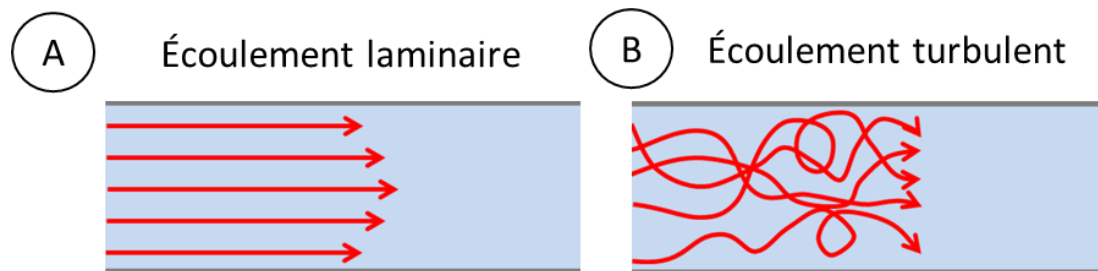


Figure 1.2 : Représentation schématique de deux cas limites d'écoulement dans un canal : A. écoulement laminaire B. écoulement turbulent. Le fluide est représenté en bleu et les vecteurs de vitesse en rouge.

Dans le cadre d'écoulements microfluidiques, le nombre de Reynolds est très inférieur à 1 : il s'agit donc d'un écoulement laminaire qui assure les propriétés de contrôle des paramètres physiques de l'écoulement utiles à l'ensemble des applications que nous avons mentionnées précédemment. Cependant, cela complique de manière conséquente les étapes de mélange de réactifs.

Le **nombre de Péclet** permet de déterminer le mode de transport de matière et peut également caractériser les transferts thermiques.

$$Pe = \frac{uh}{D} \quad (1.2)$$

avec D le coefficient de diffusion de l'espèce concernée.

Il est également directement lié au nombre de Reynolds selon l'équation suivante :

$$Pe = Re \frac{\eta}{\rho D} \quad (1.3)$$

Il s'agit du rapport du phénomène de convection par rapport à celui de diffusion. Il sera notamment dépendant de la vitesse de flux à géométrie fixée.

Ce paramètre adimensionné, directement relié à la vitesse du flux, est très important pour la description de régimes de transport de matière. Il est donc fondamental pour contrôler une détection électrochimique en milieu confiné [31]. En régime laminaire (faible nombre de Reynolds), le transport de matière est convectif dans le sens du flux, et diffusif dans les deux autres directions.

Le **nombre Capillaire** caractérise la stabilité d'un système diphasique dans le cadre de la microfluidique de gouttes :

$$Ca = \frac{\eta u}{\gamma} \quad (1.4)$$

avec γ la tension interfaciale entre phase dispersée et phase continue. Il s'agit du rapport entre les forces visqueuses et la tension interfaciale qui se situe entre les deux valeurs suivantes :

- $Ca = 10^{-4}$: la tension interfaciale prédomine, la goutte tend à minimiser sa surface et pourra se former avec des contours réguliers.
- $Ca = 10$: les forces visqueuses sont prédominantes, la goutte tend à s'étaler et à se déformer.

L'influence du nombre capillaire sur la génération de gouttes dans un canal microfluidique est présentée en *Figure 1.3*, dans le cas d'une jonction T.

Pour un nombre capillaire faible ($Ca = 0.004$), la tension interfaciale est très importante ce qui permet la génération de gouttes. Pour un ordre de grandeur supplémentaire ($Ca = 0.05$), les forces visqueuses prennent plus d'importance et empêchent la formation d'une goutte dans le canal.

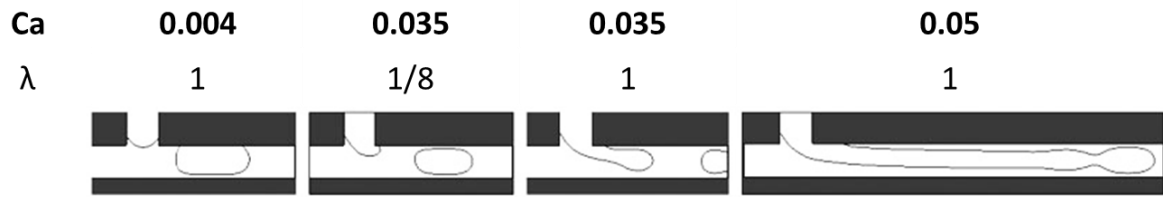


Figure 1.3 : Influence du nombre Capillaire sur la formation de gouttes en canal microfluidique dans le cas d'une jonction T. La grandeur λ correspond au rapport de viscosité entre phase continue et phase dispersée [32].

1.2.3 Les particularités de l'écoulement laminaire

En raison des dimensions micrométriques, le nombre de Reynolds est très faible ce qui assure un écoulement laminaire. Ce type de flux a pour avantage de permettre de bien contrôler le déplacement du fluide le long du canal microfluidique avec des vecteurs de vitesse tous parallèles entre eux.

Des exemples de profils de vitesse en trois dimensions sont présentés en Figure 1.4.

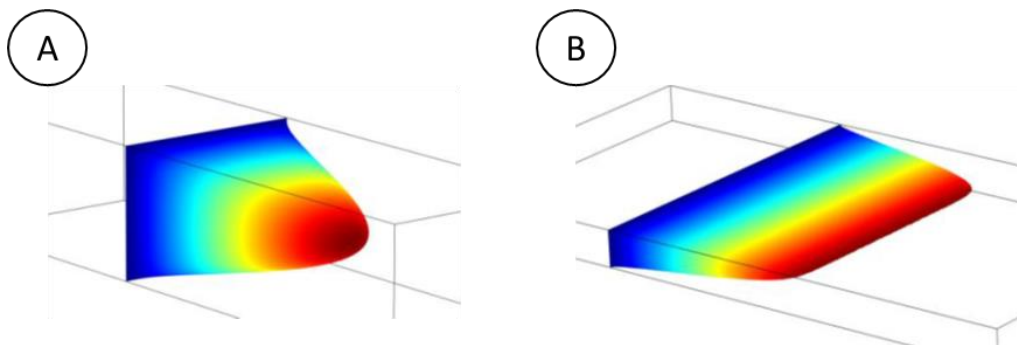


Figure 1.4 : Profils de vitesse simulés pour deux géométries de canaux A. canal de section carrée B. canal de section rectangulaire. L'échelle de couleur représente les vitesses relatives de la plus faible (en bleu) à la plus élevée (en rouge).

Dans les deux cas, l'hypothèse d'une vitesse nulle aux parois est admise. Cela est suffisant pour décrire la plupart des cas, cependant, lorsque le matériau de canal est particulièrement hydrophobe, il est nécessaire d'introduire une longueur de glissement [33].

Pour le canal de section carrée (Figure 1.4A), la vitesse est maximale au centre et diminue de manière régulière dans les deux directions de la section du canal. La considération d'un profil en trois dimensions est alors indispensable pour décrire fidèlement le champ des vecteurs de vitesse. Lorsque le canal est de section rectangulaire avec une hauteur bien inférieure à sa largeur (Figure 1.4B), la vitesse est maximale à la mi-hauteur du canal pour la quasi-totalité de la largeur. La vitesse chute brutalement au voisinage des parois latérales du canal. Dans ces

conditions, il est possible et pertinent d'admettre une simplification en deux dimensions pour établir le profil de vitesse.

Dans ces conditions, le profil de vitesse selon la hauteur du canal est représenté en *Figure 1.5*.

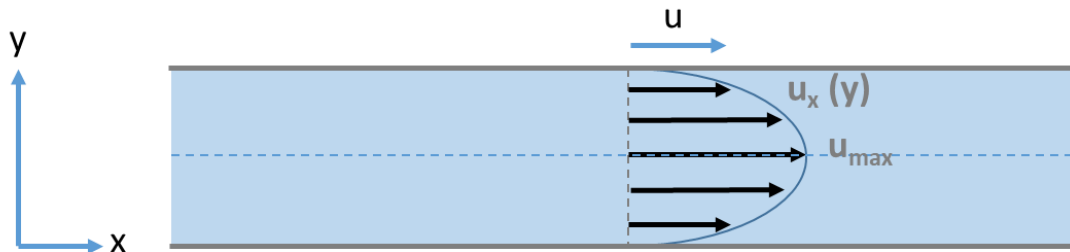


Figure 1.5 : Profil des vecteurs de vitesse de l'écoulement laminaire en deux dimensions. La vitesse moyenne du fluide u est représentée par le vecteur bleu.

L'écoulement laminaire présente un profil de vitesse parabolique avec une vitesse nulle aux parois et maximale au centre. Il s'agit d'un écoulement de Poiseuille dont le profil de vitesse est décrit par l'équation suivante :

$$u_x(y) = 6uy(1 - y) \quad (1.5)$$

Il est facile de modéliser cet écoulement dans les trois directions de l'espace selon des équations bien connues qui décrivent les phénomènes de diffusion transverse et de convection longitudinale. L'équation la plus complète est celle d'advection-diffusion qui décrit le transport de masse à partir de la loi de Fick, en tenant compte de la vitesse [3] :

$$D\Delta c(t) = \frac{\partial c}{\partial t} + u\nabla c \quad (1.6)$$

Avec c la concentration d'une espèce injectée en solution.

L'équation d'advection-diffusion peut se simplifier comme suit en deux dimensions, dans le cas d'une espèce électroactive de coefficient de diffusion D [31] :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2}{\partial x^2} + \frac{\partial^2}{\partial y^2} \right) c - u_x(y) \frac{\partial c}{\partial x} \quad (1.7)$$

La diffusion a lieu dans les deux directions de la section du canal, tandis que le phénomène de convection se tient selon l'axe longitudinal. Lorsque la vitesse du fluide est nulle, seule la diffusion pilote le transport de masse.

- **Diffusion transverse**

Le caractère laminaire des écoulements microfluidiques (faible nombre de Reynolds) permet de bien contrôler l'évolution, que l'on sait ordonnée, du fluide dans un canal. Cependant il complexifie les possibilités de mélange. En effet, lorsque deux solutions aqueuses de composition différente se rencontrent dans des canaux en forme de Y comme illustré en *Figure 1.6*, seule la diffusion permet le mélange par l'apparition progressif d'un gradient de concentration perpendiculaire au sens de l'écoulement jusqu'à homogénéisation totale [34, 35].

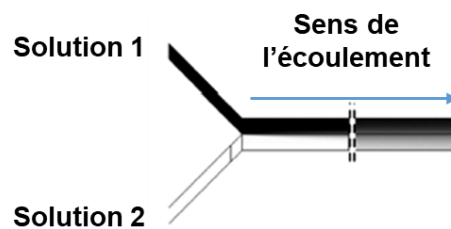


Figure 1.6 : Mélange de deux solutions différentes par diffusion transverse au cours de l'écoulement le long d'un canal microfluidique (vu de dessus) [36].

Il est possible de tirer parti de ce mélange diffusif pour déterminer des coefficients de diffusion à partir d'une géométrie en Y [37], ou pour mener des immunoessais basés sur l'analyse de la diffusion de particules biologiques marquées par fluorescence après une jonction T [38]. Cette particularité permet également d'effectuer une extraction liquide-liquide grâce au contrôle relatif des pressions de fluide sans nécessiter l'utilisation d'une membrane [39].

Les temps nécessaires à l'homogénéisation de la solution sont alors considérables (jusqu'à plusieurs centaines de secondes). Cela peut constituer une limitation importante ; en effet un mélange optimisé est indispensable pour un certain nombre d'applications biochimiques [40] ou biomédicales [41], mais aussi pour la mise en contact des réactifs lors de synthèses chimiques [42].

Des géométries de dispositifs ont été créées pour entraîner la convection du fluide selon les trois directions du canal lors de son passage dans des structures particulières [43-45]. Cela permet d'effectuer des mélanges de solutions dits « passifs », c'est-à-dire sans apport d'énergie extérieure. D'autres méthodes, dites « actives » nécessitent l'apport d'énergie extérieure électrique [46, 47], magnétique [48], thermique [49] ou optique [50]. Ces méthodes nécessitent néanmoins des configurations plus complexes que celle d'un simple canal.

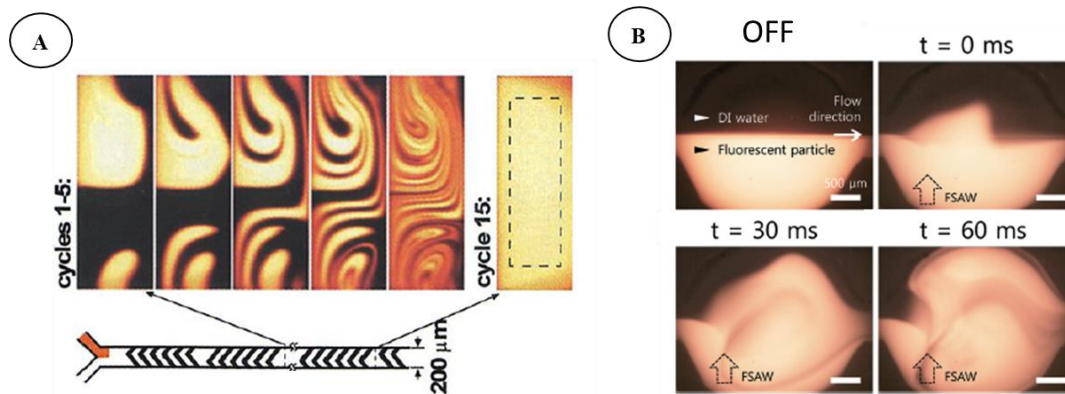


Figure 1.7 : Mélange de deux solutions par convection induite de deux manières différentes A. Présence de chevrons dans un canal linéaire [51] B. Ondes acoustiques générées dans une chambre de mélange [52].

Le dispositif présenté en Figure 1.7A permet d'optimiser le mélange de deux solutions provenant de deux branches d'un Y par le biais de chevrons structurés sur la paroi du microcanal. Plusieurs cycles de chevrons de géométrie variable permettent de perturber le flux laminaire : un mélange chaotique est observé dès les premiers cycles de chevrons puis l'homogénéisation totale du mélange est observée pour 15 cycles. La distance nécessaire à l'homogénéisation est alors réduite d'un facteur 100 par rapport à un canal simple [51]. L'utilisation d'ondes acoustiques comme méthode active de mélange dans une chambre (Figure 1.7B) permet l'homogénéisation rapide de deux solutions, mais en perdant tout contrôle sur l'écoulement du fluide.

- **Transport longitudinal**

Dans les conditions d'écoulement laminaire, les physiciens Taylor et Aris ont étudié et mis en évidence dès 1953 la dispersion de contenu injecté dans une canalisation au cours de son déplacement par un étalement longitudinal le long du canal [53, 54]. Ce phénomène a encore fait l'objet d'études récentes, avec par exemple l'influence de cette dispersion sur la détection d'un plug de concentration par électrochimie [55]. Plus la détection est éloignée de la zone de génération du plug de concentration, plus ce contenu aura le temps de s'étaler et de se diluer ce qui faussera d'autant plus la détection.

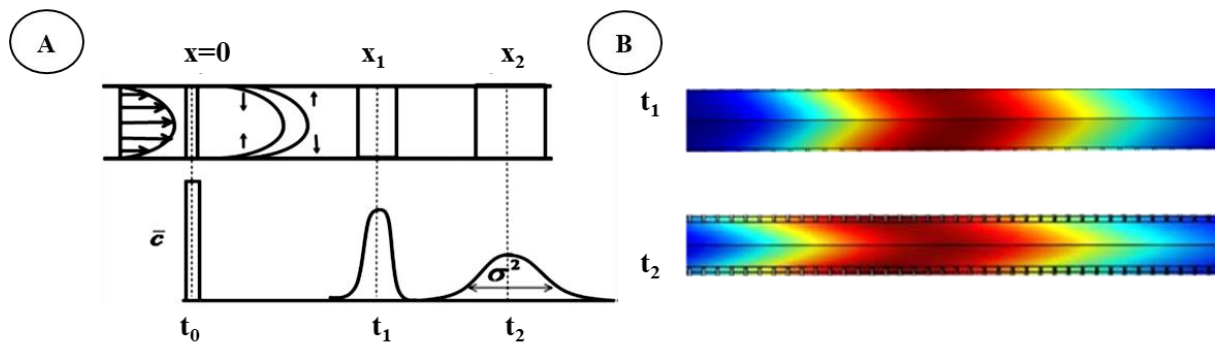


Figure 1.8 : A. Schéma de principe de la dispersion de Taylor-Aris dans un canal linéaire et B. profils de concentration associés au cours du temps [56]

Le profil parabolique de vitesse caractéristique des écoulements laminaires est représenté sur la Figure 1.8A : lorsqu'une injection est réalisée ($x=0, t=0$), le fluide avance plus rapidement au milieu du canal que proche des parois. Ainsi le contenu de l'échantillon injecté tend à s'étaler au cours du temps et de son parcours dans le canal : un créneau de concentration se trouve alors déformé et la concentration moyenne apparente est par conséquent diminuée. Il est possible de visualiser la dilution progressive du créneau de concentration au cours du transport sur la représentation des concentrations à deux temps différents (Figure 1.8B). Ce phénomène, nommé **dispersion de Taylor-Aris**, impose alors une détection très rapprochée de la génération du front de concentration afin de ne pas trop fausser la mesure.

1.3 La microfluidique de gouttes

1.3.1 Définition

La **microfluidique diphasique** met en œuvre deux phases non miscibles dans un canal de dimensions micrométriques [57] : l'une joue le rôle de fluide porteur (phase continue) tandis que l'autre constitue le contenu des gouttes (phase discrète ou dispersée). Il existe une multitude de systèmes diphasiques qu'il est possible d'adapter en fonction des propriétés recherchées. Des systèmes triphasiques apparus plus tardivement permettent un contrôle encore meilleur de la segmentation du flux à l'aide d'une phase gazeuse supplémentaire [58].

Il est alors possible de segmenter la phase aqueuse afin d'éviter le phénomène de dispersion de Taylor-Aris et ainsi transporter une solution sur une longue distance sans dispersion de son contenu. Le volume des gouttes peut varier de plusieurs ordres de grandeur (du femtolitre au nanolitre) selon le système utilisé. La microfluidique de gouttes permet alors le développement d'un grand nombre de possibilités techniques qui élargissent le champ des applications ouvert

par la microfluidique. En effet, il devient possible de générer des gouttes de volume contrôlé et de réaliser différentes opérations sur ces gouttes en gardant tous les avantages de la microfluidique continue. La production monodisperse et rapide de gouttes ainsi que le grand contrôle du transport de masse fait de la microfluidique de gouttes une technologie adaptée pour un grand nombre d'applications. De plus, elle requiert un volume encore plus faible que la microfluidique continue ce qui est avantageux dans le cas d'analyses de type biologique pour lesquelles la quantité de réactifs a tendance à être limitée.

En marge de la microfluidique diphasique, la **microfluidique digitale** est une méthode analytique de microgouttes utilisant des petites plateformes adaptées dans lesquelles des opérations simples sont réalisées. Elle est intéressante dans certains cas pour sa grande simplicité de mise en œuvre : c'est une méthode tout à fait pertinente pour le suivi de maladies dans les fluides humains, directement auprès du patient [59]. Les applications de la microfluidique digitale sont néanmoins plus limitées que pour la microfluidique diphasique car il n'est pas possible de réaliser des opérations multiples sur les gouttes comme dans le cadre de la microfluidique diphasique en canal [60].

1.3.2 Applications

Nous allons ici citer des applications qui sont spécifiquement permises par les propriétés de la microfluidique de gouttes en canal de dimensions micrométriques en distinguant les deux domaines principaux : la chimie et la biologie.

- **Chimie**

L'avantage principal de la microfluidique de gouttes est la **segmentation** : les gouttes sont générées de manière indépendante et sans diffusion de leur contenu dans la phase continue. Cela permet donc un important **contrôle des paramètres de réaction** (volume, température, temps de contact entre les réactifs) dans le cadre de synthèses chimiques. Dans le cas particulier de la synthèse de polymères, la microfluidique de gouttes a par exemple permis de tester cinq réactifs différents avec un même dispositif microfluidique dans le but d'optimiser une réaction. La précision des masses en jeu est en-dessous du microgramme et il est possible d'effectuer une analyse par spectrométrie de masse directement à la sortie du dispositif [61]. Les propriétés de la microfluidique de gouttes sont d'autant plus appréciées pour la synthèse de nanoparticules qui est peu aisée en milieu réactionnel classique. Par exemple, la production de particules Janus

a pu être optimisée en microfluidique de gouttes à l'aide d'un dispositif adapté permettant de contrôler la mise en contact de deux réactifs différents. La cassure de symétrie peut être modulable selon la géométrie du dispositif microfluidique et produit ainsi des particules **monodisperses** de manière **reproductible** [62]. Enfin la microfluidique de gouttes permet d'obtenir une **grande sensibilité** pour une **faible quantité de réactifs** dans le cadre d'analyses biochimiques comme la détection de glucose à des concentrations de l'ordre du micromolaire [63].

Davantage d'exemples sont donnés dans le *Tableau 1.1* en lien avec les avantages qu'ils tirent de la microfluidique de gouttes.

Tableau 1.1 : Applications chimiques de la microfluidique de gouttes

		Applications	Ref.	Avantages
Synthèse	Organique	Glycosylation	[64]	<ul style="list-style-type: none"> ✓ Contrôle des paramètres de réaction : • Mélange • Vitesse de flux • Temps de Réaction • Transport de matière • Echanges de chaleur
		Polymères	[61]	
		Microparticules d'hydrogels	[65]	
		Déacétylation	[61]	
	Particules	Nano-particules	[66]	✓ Meilleure stabilité des réactifs et des produits en microgouttes
		« Core-shell »	[67]	
		« Janus »	[68]	✓ Monodispersité des gouttes
		Nano-cristaux de pérovskite	[69]	✓ Adaptabilité des conditions de réaction
		Squelette organo-métallique	[70]	
Analytique	Nitrites dans l'alimentation	[71]	✓ Faible quantité d'analyte	
	Glucose dans l'urine	[63]	✓ Sensibilité importante	

- **Biologie**

La microfluidique de gouttes est particulièrement adaptée pour l'utilisation de faibles quantités d'analyte : c'est un avantage de choix dans le cadre d'applications biologiques qui peuvent mettre en jeu des échantillons rares ou coûteux. En outre, il existe un large panel de matériaux pour la fabrication des microdispositifs ce qui offre plusieurs possibilités bio-compatibles comme le PDMS ou le PMMA [72].

En lien avec la biochimie, il est possible d'automatiser le criblage de médicaments grâce à des géométries simples de dispositifs permettant de produire des gouttes monodisperses à 1% près et de volume faible : les temps de réaction ainsi que les coûts sont alors réduits [73]. De plus, les propriétés particulières des nanoparticules de polymères permettent d'encapsuler des médicaments de manière efficace car il est possible d'optimiser leur forme ainsi que les paramètres de réactions grâce à la microfluidique [74]. D'autre part, les gouttes peuvent servir de microréacteurs pour du matériel biologique, ce qui rend ainsi possible l'encapsulation, l'incubation et le transport de cellules uniques dans un même dispositif. Cela a par exemple permis d'analyser la production d'antigènes par test ELISA [75].

La cristallisation de protéines est importante pour la compréhension de phénomènes biologiques, mais peut être coûteuse car elle met en jeu des réactifs biologiques. La microfluidique de gouttes permet de réaliser cette opération en réduisant les volumes par 10 par rapport aux méthodes conventionnelles : les quantités d'analyte biologique en jeu, les temps d'analyse et par conséquent les coûts s'en trouvent alors réduits [76]. Enfin la maîtrise des émulsions et des double-émulsions permettent la production de vésicules synthétiques ce qui est également prometteur pour la réalisation d'études biologiques à moindre coût [77].

Le *Tableau 1.2* rassemble un plus grand nombre d'applications avec les avantages correspondant apportés par la microfluidique de gouttes.

Ces diverses applications biologiques ont mené à la notion plus complète de « *point-of-care* » : il s'agit du concept selon lequel il est possible de mener de nombreuses opérations médicales de routine à l'aide d'un dispositif microfluidique simple d'utilisation. Cela facilite le suivi de maladies avec des opérations suffisamment simples pour pouvoir être réalisées proches du patient, et non nécessairement dans un cadre médicalisé [78].

Tableau 1.2 : Applications biologiques de la microfluidique de gouttes

	Applications	Ref.	Avantages
Médicaments	Criblage	[73]	✓ Rapidité
	Administration de médicaments à l'aide de gouttes	[79]	✓ Sélectivité
	Administration de médicaments à l'aide de nanoparticules	[74]	✓ Transport sans dispersion
Manipulation	Encapsulation et transport	[75]	✓ Microréacteur isolé
	Incubation de cellule unique	[80]	✓ Apport contrôlé de matière
Caractérisation	Détection enzymatique	[81]	✓ Faible quantité d'analyte ✓ Sensibilité importante
	PCR sur mitochondries	[82]	
	Séquençage ADN	[83]	
	Cristallisation de protéines	[76]	
Synthèse	Vésicules	[77]	✓ Maîtrise des doubles émulsions
	Protéines et ADN	[84]	✓ Contrôle des paramètres de réaction
	Assemblage de cellules artificielles	[85]	✓ Maîtrise de la production de gouttes

2 Manipulations de gouttes

Nous allons maintenant présenter les aspects techniques associés à la microfluidique de gouttes. Ce sont les nombreuses opérations de base qu'il est possible d'effectuer lors de la manipulation de gouttes dans des microdispositifs grâce aux techniques avancées de microfabrication. C'est en effet sur ces différentes opérations que s'appuient les applications que nous venons de citer.

2.1 Génération de gouttes dans un canal microfluidique

La première étape à considérer est la production de gouttes dans un canal microfluidique selon différents modes de génération. Les principales géométries de canaux adaptés à la génération de gouttes seront ensuite présentées.

2.1.1 Modes de génération

Deux modes de génération de gouttes sont à distinguer : les **trains de gouttes** et les **gouttes à la demande** [86]. En pratique, la différence entre ces deux modes de génération sera assurée par la pression relative entre la phase dispersée et la phase continue.

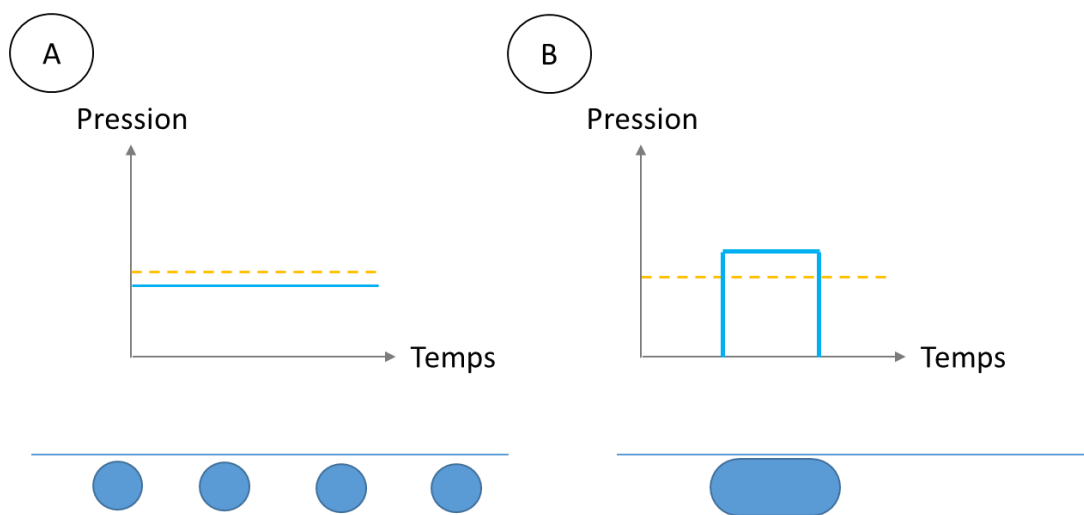


Figure 1.9 : Description schématique de deux modes de générations de gouttes. A Train de gouttes B. Gouttes à la demande. La ligne bleue correspond à la pression de la phase dispersée, la ligne pointillée jaune correspond à la pression de la phase continue.

Dans le premier cas (Figure 1.9A), les pressions de la phase dispersée et continue restent constantes. Ainsi, la génération des gouttes s'effectue de façon continue et elle est uniquement régie par la compétition des forces visqueuses et de la tension de surface ; cette compétition est quantifiée par le nombre capillaire (Equation 1.4). Cette **méthode passive** de génération de gouttes a été largement étudiée, notamment pour relever le défi de la production de trains de gouttes monodisperses en volume et à fréquence constante. Il peut être utile d'avoir recours à des tensio-actifs : il s'agit de molécules qui ont pour rôle de modifier la tension de surface grâce à leurs propriétés amphiphiles. Cela entraîne ainsi la réduction de la tension de surface des gouttes (augmentation du nombre capillaire) pour améliorer la génération de ces trains de

gouttes [87] : il devient plus facile de produire des gouttes, et cela permet de minimiser la coalescence involontaire entre deux gouttes successives.

Dans le cas de gouttes à la demande (*Figure 1.9B*), un stimulus vient perturber l'interface précédemment stabilisée et entraîne ainsi la génération d'une goutte. C'est ce qu'on appelle une **méthode active** de génération de gouttes. Classiquement le stimulus est un saut de pression appliqué par un contrôleur de pression : la taille de la goutte générée est alors proportionnelle à la durée du saut de pression. D'autres méthodes actives plus complexes peuvent être utilisées pour la génération de gouttes, par stimulus acoustique [88], thermique [89, 90], ou par l'utilisation de microvalves [91, 92].

La génération de gouttes à la demande donne la possibilité de faire varier le volume des gouttes, ce qui permet de produire des gouttes de plus grande taille que dans le cas de trains de gouttes. Les gouttes de grande taille seront communément dénommées par le nom anglais « plugs » pour décrire des gouttes sous forme de bouchon.

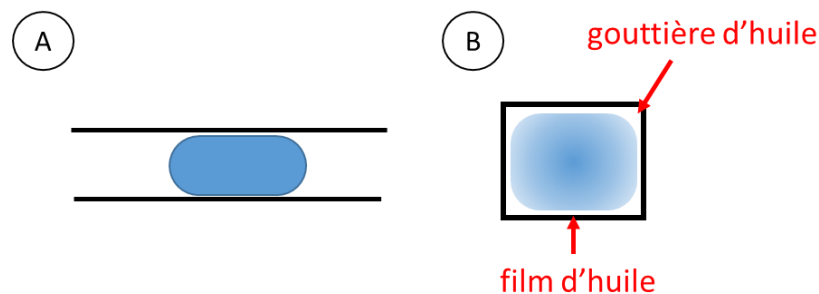


Figure 1.10 : Schéma d'un plug se déplaçant dans un canal microfluidique linéaire de section rectangulaire A. vu de côté, B. vu en coupe. La goutte (phase dispersée) est en bleu et la phase continue est en blanc.

Le plug est caractérisé par un fort rapport d'aspect : il épouse la section du microcanal ce qui fait que sa longueur (selon la direction du flux) est nettement supérieure à la largeur et la hauteur du canal (*Figure 1.10A*). La *Figure 1.10B* met en évidence la présence de gouttières d'huile dans les quatre angles du canal et d'un film très fin d'huile qui subsiste toujours entre le contenu de la goutte et les parois du canal [93]; il résulte de la compétition de deux forces. Lorsque la goutte avance, les forces visqueuses imposent à la phase continue proche de la goutte de se mettre en mouvement dans le sens inverse ce qui implique la présence d'un film d'huile entre le contenu de la goutte et les parois du canal. D'autre part, la pression de Laplace, importante à l'intérieur de la goutte, tend à repousser le film d'huile et à l'affiner. L'épaisseur du film d'huile est approximativement proportionnelle à Ca selon l'équation suivante :

$$\frac{e}{h} \propto Ca^{\frac{2}{3}} \quad (1.8)$$

e étant l'épaisseur du film, h la hauteur du canal et Ca le nombre capillaire défini en considérant la viscosité dynamique de la phase continue, la vitesse linéaire de déplacement de la goutte et la tension interfaciale entre les phases continue et dispersée. L'épaisseur du film d'huile sera alors d'autant plus importante que la vitesse du fluide est grande. Elle peut représenter entre 1% et 5% de la demi hauteur du canal, soit entre 0.2 et 1 μm pour un canal de 40 μm de hauteur [93]. L'estimation de cette épaisseur a fait l'objet de nombreuses études et différentes relations sont décrites suivant le système gaz-liquide ou liquide-liquide considéré [94]. Expérimentalement, cette épaisseur peut être évaluée à l'aide de technique de microscopie à contraste d'interférence par réflexion [95].

2.1.2 Géométries usuelles

Quel que soit le mode de génération de gouttes, il est possible de distinguer quatre géométries principales pour la génération de gouttes dans un canal microfluidique.

Les géométries de co-flow, de flow-focusing et de jonction T qui sont présentées sur la *Figure 1.11A, B et C* sont les trois géométries usuelles employées pour générer des gouttes dans un canal. La jonction V a pour particularité d'être constituée d'un canal secondaire avec une entrée et une sortie de fluide indépendantes du canal principal. Il peut être utilisé pour générer des gouttes, mais aussi pour d'autres modes de fonctionnement que nous ne détaillerons pas ici [96].

Pour ces quatre géométries, des études précises ont été menées pour observer les mécanismes de formation de gouttes en fonction des forces interfaciales et des forces visqueuses : le rapport de ces forces est quantifié par le nombre capillaire (*Equation 1.4*). La tension interfaciale qui intervient dans l'expression du nombre capillaire peut être par exemple influencée par la température ou par la présence de tensio-actifs. Dans tous les cas, les systèmes diphasiques tendent à réduire cette énergie surfacique : la sphère est la géométrie qui minimise au plus cette énergie [93]. L'autre force en présence est la force visqueuse qui aura l'effet inverse et tendra plutôt à affecter la production correcte de gouttes en canal microfluidique.

Le volume des gouttes peut varier de plusieurs ordres de grandeur (du femtolitre au nanolitre) selon les dimensions relatives des géométries utilisées.

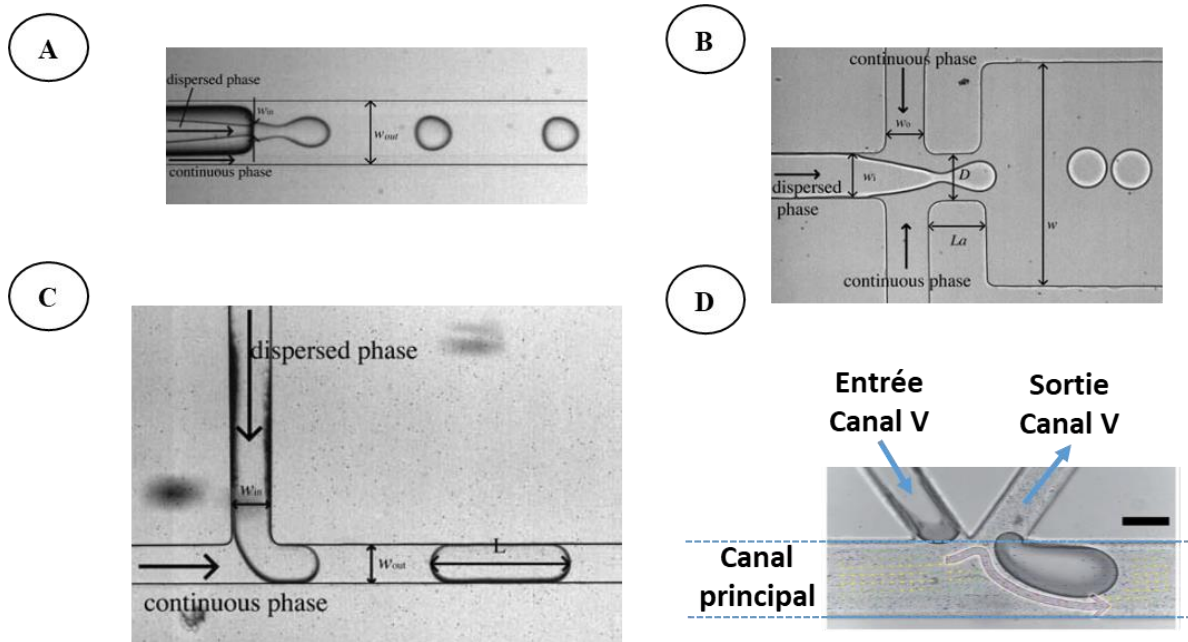


Figure 1.11 : Photographies de génération de micro-gouttes par différentes géométries : A. co-flow B. flow-focusing C. jonction T [93] D. jonction V [96].

2.2 Opérations sur les gouttes

Il est possible d'effectuer un grand nombre d'opérations sur les gouttes au cours de leur trajet dans un canal microfluidique suivant deux voies principales : il existe des **méthodes passives** basées sur une géométrie optimisée, et des **méthodes actives** nécessitant un apport énergétique supplémentaire.

2.2.1 Division

Il est possible de diviser les gouttes générées en canal microfluidique de manière symétrique ou asymétrique.

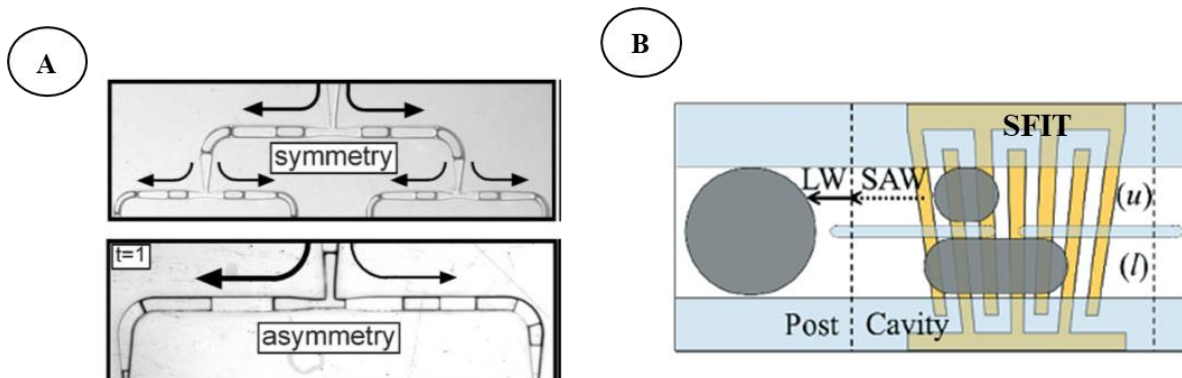


Figure 1.12 : A. Exemple de méthode passive : division d'une goutte lors de son arrivée sur une jonction-T [97], B. Exemple de méthode active : division d'une goutte à l'aide d'ondes acoustiques [98].

Dans le cas de la *Figure 1.12A*, le dispositif permet de diviser une goutte incidente en deux et peut être adapté pour entraîner la division de la goutte incidente de manière symétrique ou asymétrique. A géométrie fixée, la division de la goutte se fera selon les mêmes proportions pour un même dispositif microfluidique [97]. Un autre type de dispositif est alors requis si l'expérimentateur souhaite modifier ces proportions avec un même microdispositif.

Les méthodes actives offrent la possibilité de moduler aisément les rapports de division d'une goutte à l'autre dans un même dispositif microfluidique. La *Figure 1.12B* présente un exemple de division de gouttes par ondes acoustiques. Un transducteur (*slanted finger interdigital transducer* : SFIT) génère des ondes acoustiques qui sont transformées en ondes longitudinales à l'intérieur du fluide contenu dans le canal et entraineront la division d'une goutte. La modulation de l'onde acoustique émise permettra de modifier le rapport de volume des deux gouttes résultant de la division [98].

2.2.2 Trappe

Il est possible d'immobiliser une goutte à l'aide d'une trappe située dans un canal microfluidique.

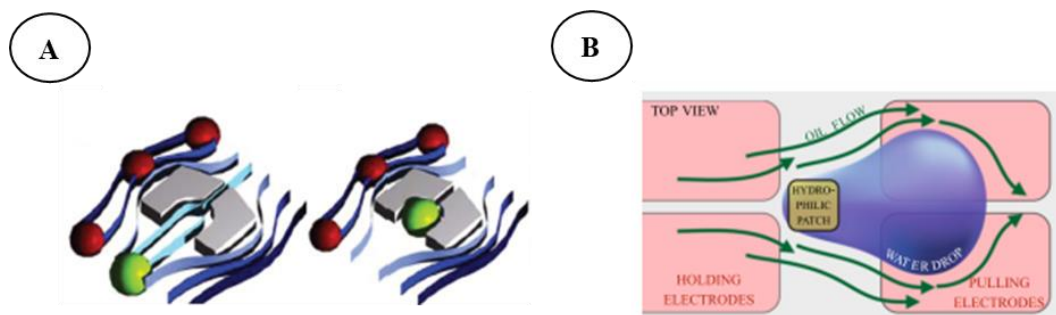


Figure 1.13 : A. Schéma de fonctionnement d'une trappe avec la représentation des lignes de champ de vitesse [81], B. Schéma de dispositif de capture de goutte par électromouillage [99].

La *Figure 1.13A* présente l'exemple de trappes réalisées pour capturer des gouttes dont le volume correspond à celui de l'intérieur de la trappe [81]. Les lignes de champ de vitesse sont représentées pour visualiser le comportement d'une goutte à l'approche de la trappe. Lorsqu'une goutte se trouve en direction et à proximité de la trappe, elle peut s'y insérer. L'écoulement de l'huile s'effectue par l'encoche lors de la capture de la goutte. Une fois la trappe occupée par une goutte, les autres gouttes contournent la trappe jusqu'à en trouver une disponible dans le dispositif microfluidique. L'application d'un flux dans le sens inverse

entraîne la libération de la goutte : l'encoche présente au fond de la trappe permet au fluide porteur de passer dans l'autre sens et ainsi de pousser la goutte qui s'y trouve.

L'utilisation du phénomène d'électromouillage est une méthode active de capture de gouttes qui requiert la présence d'électrodes qui ne seront pas en contact direct avec la goutte (*Figure 1.13B*) [100]. Le fait d'appliquer un potentiel (entre 50V et 250V) change l'angle de contact d'une goutte située à proximité de ces électrodes et influence ainsi localement la mouillabilité. Deux jeux d'électrodes sont ici nécessaires : un premier pour arrêter la goutte (*holding electrodes*), puis un second pour tirer la goutte immobilisée vers l'avant et la faire repartir dans le flux du canal au moment voulu (*pulling electrodes*).

2.2.3 Tri

Il est possible de trier les gouttes par critère de volume de manière passive [101] tandis que les méthodes actives sont plus versatiles [102].

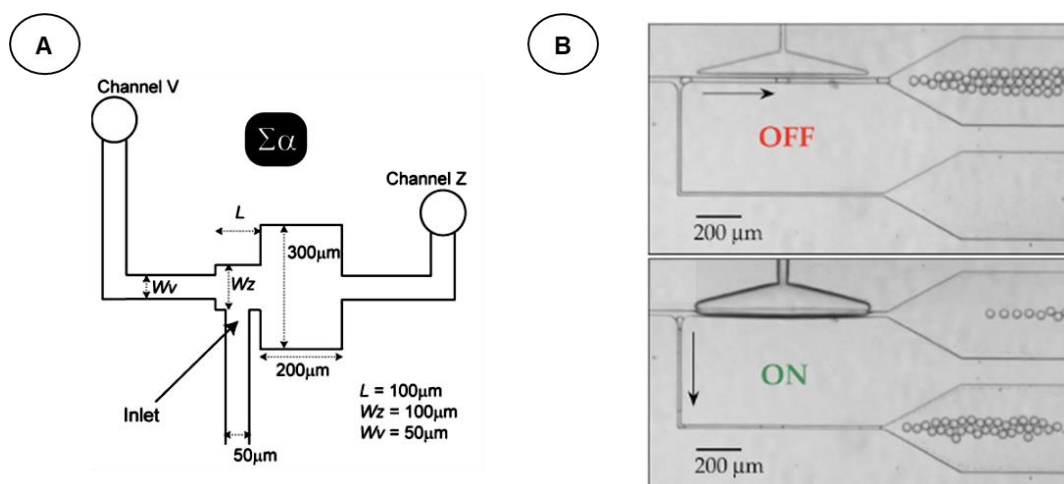


Figure 1.14 : A. Schéma d'un dispositif microfluidique permettant de trier les gouttes par critère de taille [103] et B. dispositif équipé d'une valve permettant de fermer (ON) ou d'ouvrir (OFF) un canal pour choisir le chemin des gouttes [104].

Dans le cadre des méthodes passives de tri, les gouttes seront exclusivement triées selon leurs différences de volumes par l'utilisation d'une géométrie de dispositif microfluidique adapté. Par exemple, dans la *Figure 1.14A*, le dispositif est doté de deux canaux de sortie de largeur différente ce qui permet d'orienter les gouttes dans un canal ou un autre selon leur taille [103]. La présence d'une large chambre qui précède ces canaux permet de réduire le débit afin d'éviter de contraindre les gouttes à se diriger dans un canal sous peine de déformations. Ainsi, si la

section d'une goutte excède celle d'un des deux canaux de sortie, elle ne pourra y accéder et s'orientera vers l'autre canal de sortie.

Un nombre plus important de possibilités est permis par les méthodes actives de tri. Elles sont basées sur cinq techniques de contrôle :

- **pneumatique** : utilisation d'un canal supplémentaire pour effectuer une redirection par surpression sur un fluide [105] ou de valves pneumatiques [104, 106]
- **magnétique** [107, 108]
- **électrique** : par courant direct [109, 110] ou alternatif [111, 112]
- **acoustique** : onde propagée en surface [112, 113] ou en volume [114]
- **thermique** : micro-chauffage à l'aide d'électrodes [115] ou d'un laser [89].

Sur la *Figure 1.14B*, une valve est utilisée pour appliquer une pression sur un des chemins lorsqu'elle est activée : l'opérateur peut choisir en temps réel le chemin qu'il veut privilégier pour le passage des gouttes en activant la valve [104].

2.2.4 Mélange : Coalescence et homogénéisation

Le mélange issu de la fusion entre deux gouttes de composition différente est un mécanisme complexe dans lequel deux étapes sont à distinguer.

Dans un premier temps, les gouttes se rapprochent puis fusionnent : c'est la **coalescence**. Cela implique une étape de drainage pendant laquelle le film d'huile entre les deux gouttes s'affine jusqu'à rompre [116]. La coalescence peut avoir lieu spontanément entre deux gouttes, mais en présence de tensio-actifs, la gêne stérique qu'ils engendrent rend cette étape plus difficile. Il sera alors utile d'avoir recours à des méthodes actives pour faciliter la coalescence [117]. Dans un second temps, il peut être nécessaire d'envisager une étape de **mélange** afin d'homogénéiser le contenu de la goutte résultant de la coalescence.

- **Coalescence**

Deux types de dynamique de coalescence sont à distinguer : synchrone et asynchrone. La coalescence est considérée comme **synchrone** lorsqu'elle nécessite de coordonner la génération de plusieurs gouttes pour permettre leur coalescence à l'aide d'une géométrie adaptée. Dans le

second cas, il est possible d'arrêter une première goutte dans l'attente d'une seconde : il s'agit d'une coalescence **asynchrone** qui n'impose pas de contrainte sur la génération des gouttes.

Commençons par la présentation de trois exemples de dispositifs pour la coalescence synchrone.

Dans le cas de la *Figure 1.15A*, une simple jonction est utilisée pour permettre la rencontre de deux gouttes provenant de deux canaux distincts qui vont continuer leur chemin dans un canal principal unique sous la forme d'une seule goutte après coalescence [118].

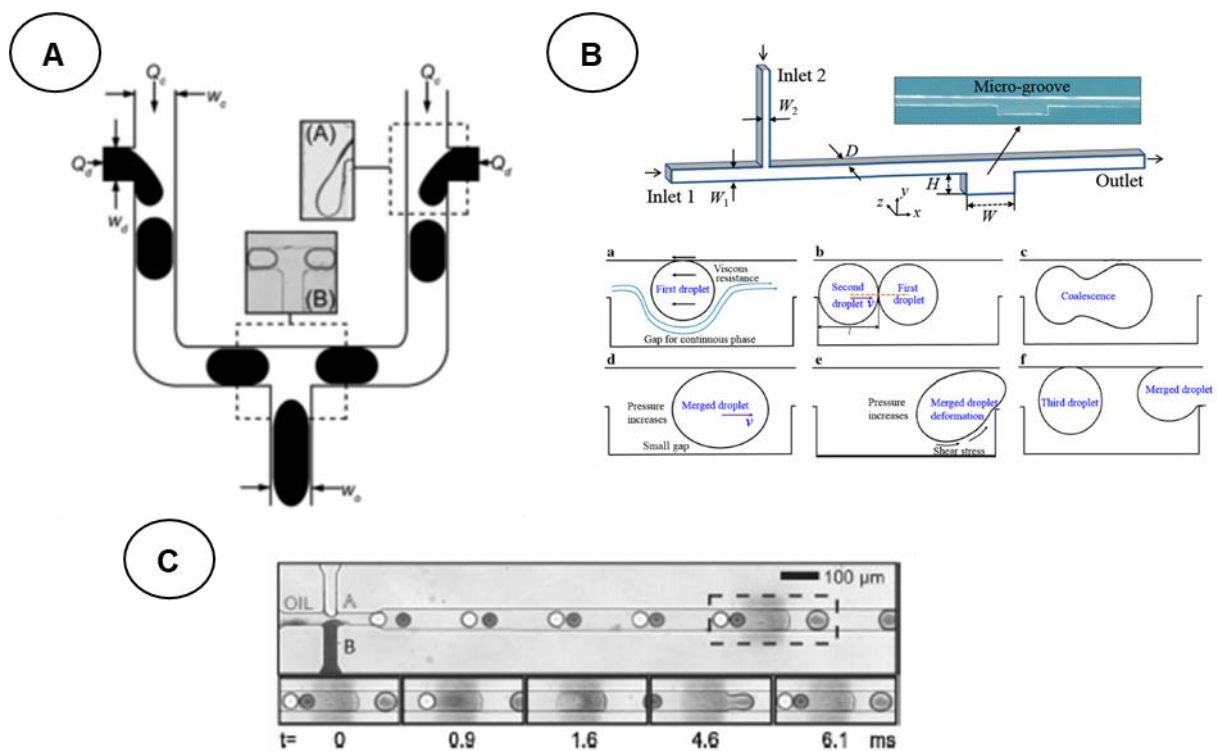


Figure 1.15 : A. Coalescence synchrone par jonction T [118] B. Schéma d'un dispositif microfluidique avec une microcavité de forme rectangulaire située sur un des côtés du canal principal permettant la coalescence de gouttes successives avec le descriptif des différentes étapes du mécanisme de coalescence pour ce dispositif dans le cas de deux gouttes successives (a : piégeage de la goutte dans la cavité, b : mise en contact de deux gouttes, c : coalescence par fusion passive, d : goutte issue de la fusion, e : déformation de la goutte pour entrer vers le canal aval, f : piégeage d'une 3ème goutte) [119] C. Appairage de deux petites gouttes et coalescence par modification locale de l'état de surface dans le canal principal [120].

La *Figure 1.15B* présente une géométrie simple pour permettre la coalescence de gouttes. Les gouttes ont un rapport surface sur volume élevé et peuvent se déformer de façon significative suivant le confinement local. Ainsi, la goutte initialement confinée dans le canal amont se déforme lors de son arrivée dans la cavité et s'y trouve piégée. La venue d'une seconde goutte conduit à la succession des étapes décrites sur la figure. Portée par l'écoulement de la phase

continue, une première goutte arrive dans la cavité dans laquelle elle se trouve ralentie en raison de l'augmentation locale de la section du canal. Entre-temps, une seconde goutte arrive dans la microcavité. Les deux gouttes alors présentes dans la cavité se rapprochent puis se trouvent en contact l'une de l'autre ce qui entraîne la coalescence. Le volume de phase dispersée résultant de la fusion des deux gouttes se déplace ensuite progressivement dans la chambre puis continue son parcours vers le canal principal aval lors de l'arrivée d'une troisième goutte. Il s'agit d'une méthode de coalescence **passive** (sans apport d'énergie extérieur) et **synchrone** (dépendant de l'intervalle de temps entre la génération des gouttes). Dans ces conditions, la coalescence dépend de deux paramètres principaux qui ont été précisément étudiés : la taille des gouttes et l'intervalle de temps séparant la génération de deux gouttes successives. Si les gouttes sont très petites et très espacées, le ralentissement ne sera pas suffisant pour que deux gouttes se rencontrent. Il sera possible de réaliser la coalescence de trois gouttes successives si l'intervalle de temps entre deux gouttes est très faible [119]. La *Figure 1.15C* représente un dispositif dans lequel la surface du canal a été modifiée localement pour avoir un comportement hydrophile. Le film d'huile entre les gouttes et la paroi va donc se briser à cet endroit, et les gouttes vont mouiller cette surface et ralentir. Deux gouttes fusionneront ainsi sur la surface hydrophile puis la goutte résultant du mélange continuera son trajet dans le canal [120].

Quelques exemples de dispositifs pour une coalescence asynchrone existent. Leur géométrie est principalement basée sur l'utilisation de trappes à piliers.

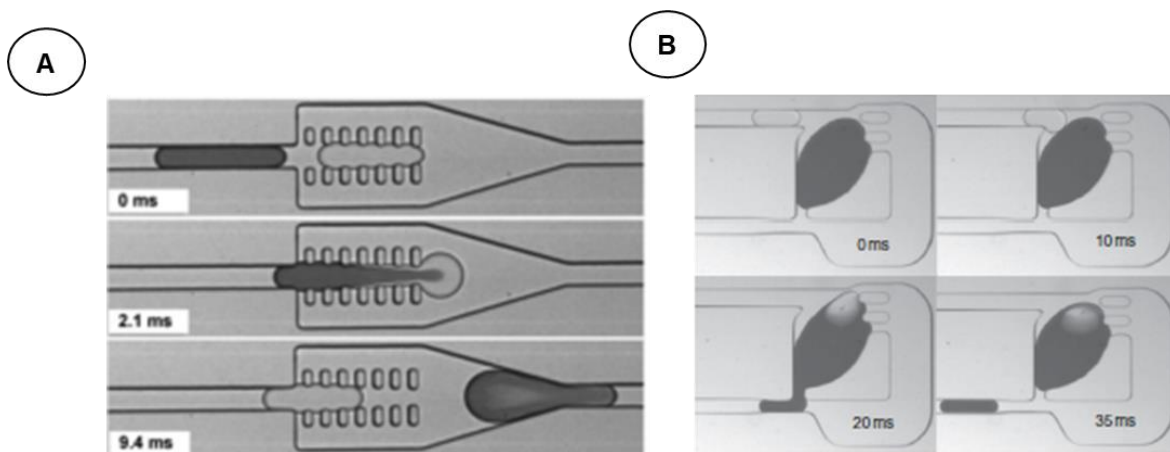


Figure 1.16 : A. Coalescence asynchrone par trappe à piliers [121] B. Photographies de fonctionnement d'un diluteur. La solution grise est une poche de solution aqueuse concentrée en colorant retenue par des piliers à l'intérieur de laquelle il y a d'importantes recirculations. La solution transparente est une solution de concentration nulle en colorant qui vient diluer le contenu de la poche. La goutte qui quitte la poche de solution aqueuse est de même volume que la goutte qui entre [122].

Un schéma de trappe de coalescence est présenté sur la *Figure 1.16A*. La première goutte est capturée par les piliers pendant que le fluide porteur continue de circuler sur les côtés permettant l'arrivée d'une seconde goutte. Lorsque les gouttes se rencontrent, elles fusionnent et la goutte résultante continue et sort de la trappe dans le cas où son volume est supérieur à celui de la trappe [122]. L'équipe de Andrew de Mello a développé une plateforme microfluidique permettant de générer rapidement et de façon contrôlée des séquences de gouttes à différentes dilutions (*Figure 1.16B*). Un volume de solution « mère » est présent sous la forme d'une grosse goutte piégée dans une chambre de dilution. Cette solution n'est pas statique car des flux de recirculations y sont présents, causés par l'écoulement de la phase continue. Lorsqu'une petite goutte de solution tampon arrive au contact de cette goutte « mère », elles coalescent par fusion passive ce qui active une valve qui génère au final une goutte sortante de volume équivalent à la goutte entrante. La présence de flux de recirculations permet le mélange de la solution « mère » durant et après la génération de la goutte sortante. Ce processus permet la génération d'une séquence de gouttes de concentration décroissante [122].

D'autres types de coalescence active existent, spécialement adaptées pour la coalescence de gouttes stabilisées par des tensio-actifs.

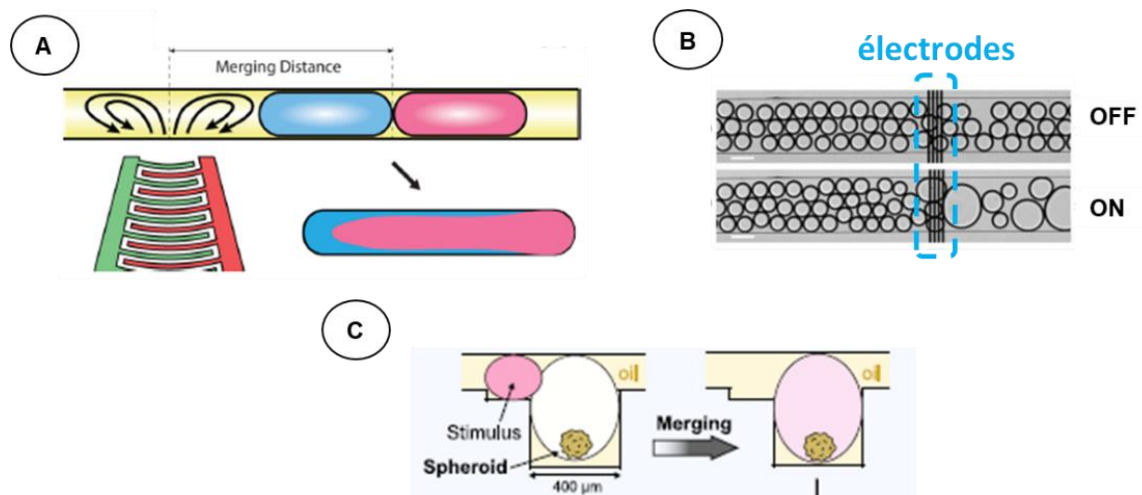


Figure 1.17 : Coalescence active A. par l'utilisation d'ondes acoustiques [123], B. par phénomène d'électrocoalescence [124], C. par agent chimique [125].

Les ondes acoustiques permettent de déstabiliser l'interface des gouttes ce qui induit la coalescence de deux gouttes qui doivent être déjà au contact l'une de l'autre lorsqu'elles se situent à la bonne distance du transducteur (*Figure 1.17A*) [123]. D'une autre manière, l'utilisation d'électrodes intégrées au dispositif sans contact direct avec l'intérieur du canal permet de modifier la tension de surface des gouttes. Ainsi il est possible de faire de

l'électrocoalescence comme cela est représenté sur la *Figure 1.17B*. Lorsqu'aucun potentiel n'est appliqué entre les électrodes, les gouttes continuent leur chemin sans aucune modification, et lorsqu'un potentiel de quelques volts est appliqué, les gouttes fusionnent entre elles lors de leur passage sur les électrodes [124]. En *Figure 1.17C* est présentée une géométrie en trois dimensions avec des encoches de deux profondeurs différentes. Cela permet dans un premier temps de capturer une goutte dans l'encoche la plus profonde. Ensuite, une seconde goutte peut être amenée, et elle se trouvera appariée à la première grâce à la plus petite encoche. Enfin, un agent chimique sera injecté dans le canal pour déstabiliser l'émulsion : la tension de surface des gouttes augmentera ce qui entraînera la fusion des deux gouttes. Ce système est utilisé en réseau dans une grande chambre permettant d'appairer puis de fusionner un grand nombre de couples de gouttes à la fois [125]. D'autres dispositifs sont spécialement conçus pour appairer deux petites gouttes de manière synchrone ou asynchrone [126].

- **Homogénéisation**

Une fois la coalescence réalisée, il peut être nécessaire de réaliser une étape d'homogénéisation ou de mélange de la goutte obtenue selon l'application envisagée. Cela est indispensable pour contrôler précisément les volumes et temps de réactions dans le cadre de synthèses chimiques [127], ainsi que pour les études de cinétique [128]. C'est également important pour la mise en contact de marqueurs biologiques [129], et la préparation d'échantillons pour mener des analyses en spectrométrie de masse [130].

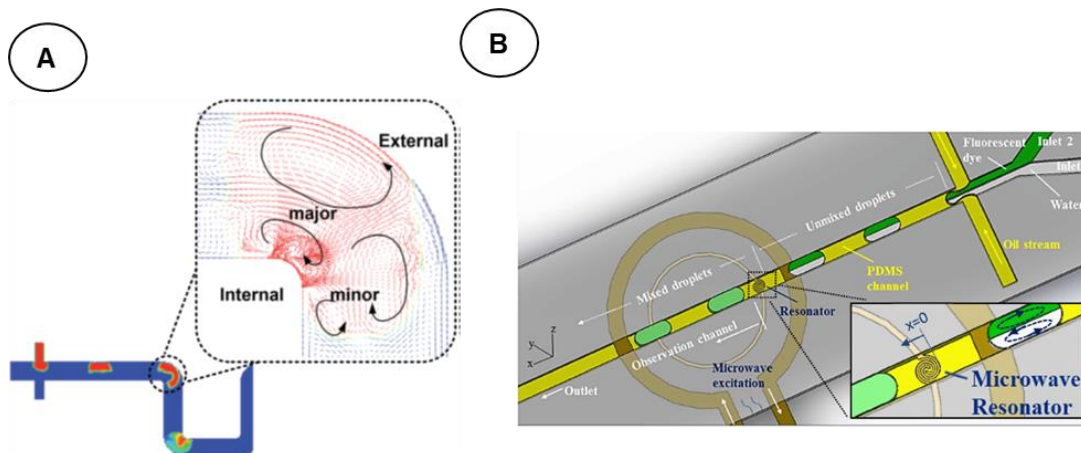


Figure 1.18 : Recirculations dans la goutte induites de deux manières différentes A. Forme sinueuse du canal [131] B. Chauffage localisé par micro-ondes [132]

Le mélange peut être obtenu par méthode passive en utilisant des géométries de canaux particulières (à structures chaotiques) induisant des torsions de la goutte lors de son passage

dans un serpentin [131]. Par exemple, la présence de coudes dans la forme du canal génère des recirculations importantes à l'intérieur de la goutte comme cela est illustré sur l'image de PIV de la *Figure 1.18A*.

Différentes méthodes actives sont également développées par l'utilisation d'ondes acoustiques [133] ou magnétiques [134, 135], tirant profit du phénomène d'électromouillage [130], ou par chauffage [132]. L'exemple de l'utilisation de micro-ondes pour chauffer localement une goutte est présente en *Figure 1.18B* : l'augmentation de la température entraîne une accentuation du phénomène de convection à l'intérieur de la goutte ce qui améliore l'homogénéisation de son contenu.

3 Méthodes de détections

La détection des gouttes et de leur contenu est la dernière étape à mettre en place pour les contrôler et les analyser en continu après différentes opérations menées en amont dans un microcanal ou sur une puce microfluidique.

3.1 Détections optiques

Les premiers types de détection ont été réalisés par microscopie optique. En effet l'objectif premier était d'observer le comportement des gouttes dans les canaux microfluidiques. L'imagerie de fluorescence a ensuite permis d'augmenter les possibilités de quantification du contenu des gouttes. Ensuite, les techniques usuelles de chimie analytique et de spectroscopie ont également été adaptées sur micropuces.

3.1.1 *Observation des gouttes*

Le **microscope optique**, généralement couplé à une caméra de type CCD pour capturer des images ou des vidéos, est l'outil fondamental de la détection en microfluidique de gouttes. Dans un premier temps, cela permet d'observer la formation des gouttes en canal microfluidique et ainsi d'étudier leur mode de formation en fonction des nombreux paramètres des systèmes diphasiques [93]. Cela permet également de mettre au point toutes les opérations sur les gouttes que nous avons décrites précédemment en observant le comportement des gouttes dans différentes conditions [136]. Il est en plus possible de cette manière de déterminer la taille, la vitesse et la fréquence des gouttes pour compléter la caractérisation du système [137].

Pour comprendre plus en détail le comportement des gouttes en microfluidique, l'**imagerie de vitesse de particules** (PIV) permet d'accéder aux mouvements du fluide à l'intérieur d'une goutte. Elle est très utile pour mieux comprendre le comportement des fluides en microfluidique avec une résolution spatiale de l'ordre de 100 nm [138]. Cette méthode d'imagerie est basée sur la microscopie de fluorescence qui permet de suivre des particules intégrées au préalable dans le fluide d'intérêt. Un traitement numérique des images successives permet ensuite de représenter les vecteurs de vitesse de ces particules afin d'en déduire la tendance générale des recirculations du fluide à l'intérieur d'une goutte. Cette méthode est adaptable à la microscopie confocale, ce qui permet une reconstitution en trois dimensions des mouvements du fluide [139]. C'est également cette technique qui permet d'étudier l'efficacité d'un mélange [131].

Ainsi, la mise en évidence de recirculations à l'intérieur de gouttes ou de plugs ont fait l'objet de nombreuses études basées sur des mesures de PIV. Par exemple, la *Figure 1.19* illustre les champs de vitesses de particules présents à l'intérieur de gouttes en mouvement pour différents nombres capillaires [140].

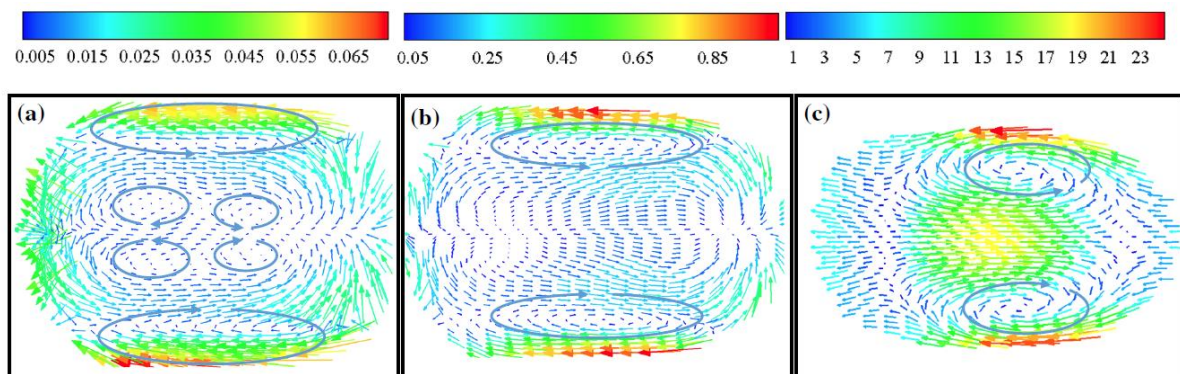


Figure 1.19 : Image PIV illustrant les champs de vitesse de particules à l'intérieur d'une goutte en mouvement pour différents nombres capillaires (a). $Ca=4.10^{-4}$ (b). $Ca=8.1 10^{-3}$ (c). $Ca=8.1 10^{-2}$. Le code couleur est associé à des vitesses exprimées en mm/s [140].

A partir de ce type de données, les profils de vitesse peuvent être établis selon les dimensions caractéristiques du canal (*Figure 1.20*). Dans le cas de plugs, le profil de vitesse 2D est voisin du profil de vitesse laminaire présent en microfluidique continue décrit par la *Figure 1.5*.

Cependant, en raison du film d'huile qui sépare le contenu de la goutte des parois du canal, la vitesse est non nulle aux extrémités contrairement au flux laminaire idéal. Cette similarité a par exemple été démontrée lors de la détection de plugs de solution aqueuse électroactive par voie électrochimique. Le courant obtenu suit une tendance linéaire selon la vitesse à la puissance un tiers ce qui est caractéristique d'un régime convectif identique au flux laminaire [141].

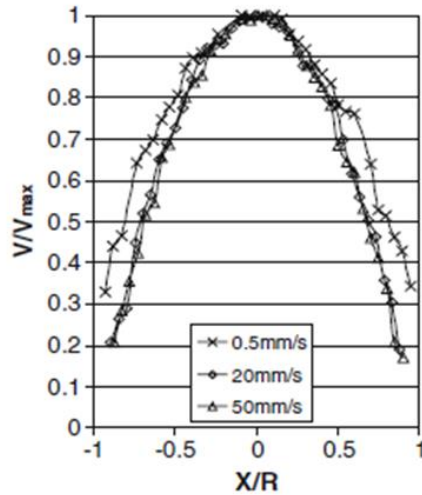


Figure 1.20 : Profil de vitesse à l'intérieur d'un plug de 13 mm de long pour différentes vitesses de flux [142].

3.1.2 Analyse du contenu de gouttes par fluorescence

Pour analyser le contenu de goutte, il est nécessaire d'utiliser des méthodes de détections plus élaborées.

La **microscopie de fluorescence** permet la détection de contenu de gouttes avec une bonne sensibilité, et de manière non invasive [143]. C'est une méthode sélective, particulièrement adaptée à la détection d'éléments biologiques, qui ne requiert que l'utilisation d'un microscope à fluorescence. Elle permet de suivre la concentration d'un analyte aussi bien que la progression d'une réaction. La vitesse d'analyse est limitée par les possibilités de la caméra, cependant, la technique de **fluorescence par excitation laser** permet de combler cette lacune. La microscopie devient alors la méthode de choix pour le criblage haut-débit [144]. L'inconvénient majeur de ces techniques de fluorescence est la nécessité d'injecter un fluorophore dans l'échantillon à analyser. De plus, il n'est pas possible de détecter plusieurs espèces dans un même échantillon en raison du trinôme sélectif analyte-fluorophore-longueur d'onde d'excitation.

3.2 Détection Spectroscopique

Il existe ensuite un ensemble de **méthodes spectroscopiques** adaptées à la détection sélective du contenu des gouttes.

Certaines méthodes spectroscopiques permettent d'obtenir des informations sur la concentration d'un analyte à l'intérieur de la goutte :

- La plus simple d'entre elle est la **spectroscopie d'absorption** qui permet par exemple de suivre une cinétique de réaction [145]. Cette méthode sélective ne nécessite pas l'utilisation de marqueurs, et elle est utilisable pour détecter la plupart des molécules organiques. De plus, il est possible de l'intégrer sur une puce microfluidique à l'aide de fibres optiques. Cependant, cette méthode de détection présente une faible sensibilité en raison du chemin optique, ce qui la rend quasiment inutilisable pour les applications en lien avec la biologie.
- La **spectroscopie photo-thermique** permet de mesurer des concentrations d'échantillon à partir de la différence de chemin optique entre l'échantillon et un point de référence. Elle nécessite l'utilisation d'un laser et présente un chemin optique complexe [146] (*Figure 1.21*).

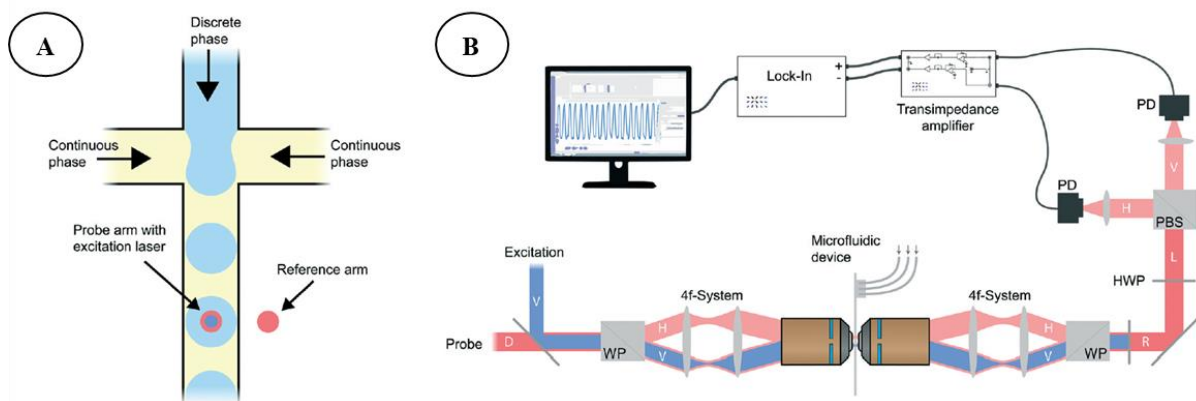


Figure 1.21 : A. Principe de la mesure photo-thermique en microfluidique de gouttes, B. Appareillage et chemin optique de la mesure photo-thermique [146]

D'autres méthodes de spectroscopie qui permettent d'obtenir des informations sur la structure de molécules ou de particules ont été adaptées à la détection de gouttes en microfluidique :

- La **spectroscopie Raman** est une technique analytique non destructive qui permet d'obtenir des informations sur la structure chimique des molécules. Elle nécessite l'excitation de l'échantillon par une longueur d'onde d'excitation pour ensuite analyser la lumière diffusée. C'est une méthode rapide qui ne nécessite pas de marqueur à l'intérieur de la solution. Cependant, elle présente une faible sensibilité. Cela peut être amélioré grâce au développement de la **spectroscopie Raman exaltée par effet de surface** [147].
- La **spectrométrie de masse** est basée sur la fragmentation de molécules pour mesurer le ratio masse/charge des ions résultants. Différents types d'ioniseurs (laser, plasma, électronique) existent. Cette technique est également utile pour déterminer la structure de

molécules plus ou moins complexes, telles que les polymères ou des molécules biologiques comme les peptides ou les protéines (*Figure 1.22*) [148].

- La **résonance magnétique nucléaire** est très utilisée pour la détermination de structures moléculaires après synthèse, mais également pour la caractérisation d'éléments biologiques ou environnementaux [149]. Cependant, elle présente une faible sensibilité, ce qui la rend peu adaptée pour les petits volumes.
- La **diffraction des rayons X** est une méthode analytique donnant des informations sur l'organisation d'un cristal : elle est donc particulièrement adaptée pour étudier la cristallisation des protéines. Des rayons X sont envoyés sur l'échantillon, et l'angle et l'intensité des rayons diffractés sont analysés [76].

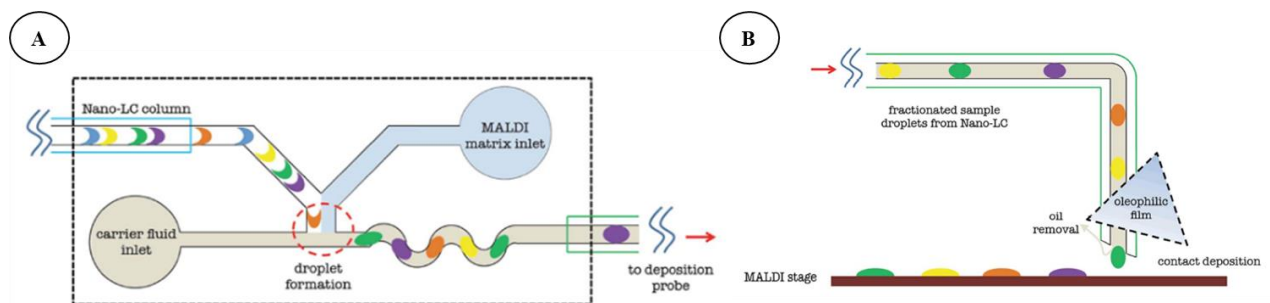


Figure 1.22 : A. Schéma du dispositif microfluidique adapté à la détection par spectrométrie de masse B. Dispositif d'extraction des gouttes avant la mesure [148].

De manière générale, l'ensemble de ces détections optiques ne présente pas toujours une très bonne sensibilité. En effet, les méthodes optiques sont sensibles à la quantité d'espèces présentes, ce qui peut devenir **limitant pour l'analyse de très petits volumes**.

De plus, l'appareillage est encombrant comme dans le cas de la spectroscopie photo-thermique (*Figure 1.21*) et difficile à miniaturiser pour des applications sur le terrain où la portabilité est un premier critère. En raison de la complexité de ces appareillages, ces méthodes de détections deviennent aussi **très coûteuses**.

De même, il est parfois nécessaire de procéder à une étape de préparation de l'échantillon avant détection, ou à une étape supplémentaire d'extraction de la phase aqueuse comme pour la spectrométrie de masse (*Figure 1.22*). Ce sont autant d'étapes qui **complexifient** les manipulations de gouttes avant analyse.

Enfin, en raison d'analyses plus complexes, le **temps d'analyse** est généralement important, ce qui ne permet pas de criblage haut-débit : l'intérêt de la microfluidique comme moyen d'analyse rapide est alors perdu.

3.3 Electrochimie

L'électrochimie constitue une voie alternative pour des développements analytiques en microfluidique de gouttes. Elle comprend un ensemble de méthodes pertinentes à mettre en œuvre pour deux raisons principales :

- Les mesures sont **sélectives et sensibles à la concentration** d'analyte ce qui est un atout de choix pour la détection d'espèces chimiques dans des micro-volumes. De plus, il existe plusieurs méthodes électrochimiques complémentaires qu'il est possible de sélectionner selon l'objectif fixé (détection de concentration, suivi de réactivités).
- Les méthodes de microfabrication pour la microfluidique étant inspirées de celles développées pour la microélectronique, il est assez simple d'intégrer des microélectrodes dans un dispositif microfluidique. De plus, le potentiostat est également **miniaturisable** [150] et ainsi totalement intégrable sur la puce.

Les premières méthodes « sans contact » entre la goutte et les électrodes permettent de suivre le passage des gouttes sans mesure directe de leur contenu. En effet, pour réaliser des mesures électrochimiques directement sur le contenu d'une goutte, il est *a priori* nécessaire que celui-ci soit en contact direct avec les électrodes ce qui a été réalisé par la suite à l'aide de méthodes ampérométriques plus invasives.

3.3.1 *Méthodes « sans contact »*

Les premières techniques de détection couplant l'électrochimie à la microfluidique ont été réalisées par la mise en œuvre de mesures de capacitance et d'impédance ne nécessitant pas de contact direct entre l'électrode et le contenu de la goutte (*Figure 1.23*). Elles ont principalement permis de détecter le passage des gouttes au cours du temps. Certaines études montrent qu'il est possible d'obtenir des informations sur les contenus de gouttes (nature de la solution, conductivité) par ces techniques.

Les mesures de **capacitance** (rapport entre la charge électrique accumulée à la surface des électrodes, et la différence de potentiel) permettent de compter les gouttes, mais aussi de déterminer leur taille, leur vitesse et leur fréquence [151]. Il est également possible de différencier la nature des solutions par ce type de mesure, ce qui peut être utilisé pour faire du tri de gouttes [152]. Enfin, la mesure de capacitance a également permis d'obtenir des informations sur le contenu de gouttes, plus précisément sur la concentration volumique de deux solutions de natures différentes (éthanol et eau) après mélange [153].

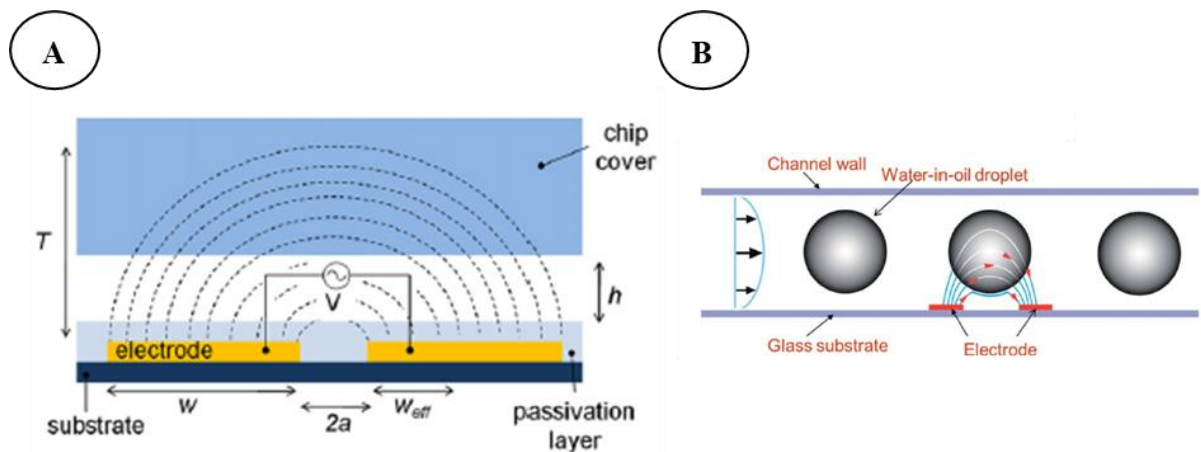


Figure 1.23 : A. Schéma d'un dispositif permettant la mesure de capacitance dans un canal microfluidique [151] B. Schéma de principe d'une mesure par impédancemétrie dans une goutte [154].

Les mesures d'**impédance** (résistance du circuit au passage du courant caractérisé également par sa phase) sont réalisées avec le même type de dispositif que la mesure de capacitance. Cette mesure permet également de détecter le passage des gouttes [155] et d'étudier la fréquence des gouttes par rapport au débit [156]. Il est également possible d'obtenir des informations sur la conductivité de la solution contenue à l'intérieur de la goutte [154, 157].

Une étude a été réalisée par **ampérométrie** pour des petites gouttes sans contact avec l'électrode. Dans ce cas, la goutte ne remplit pas totalement la section du canal (*Figure 1.24A*) et le fluide porteur (phase continue organique) contient une espèce électroactive. Les électrodes sont situées sur la paroi du canal pour être en contact direct avec la phase continue afin de pouvoir effectuer une réaction électrochimique d'oxydation [158].

Lors de l'application d'un potentiel, une couche de diffusion s'établit à la surface de l'électrode et un courant limité par le transfert de matière est mesuré. Lors du passage d'une goutte au voisinage de l'électrode, la couche de diffusion est perturbée, ce qui induit une variation de

courant. Dans ce cas, l'étude des variations périodiques du courant donne des informations sur la fréquence et la taille des gouttes (*Figure 1.24B*). Une seconde approche nécessitant l'emploi de deux électrodes a été proposée. Le délai temporel entre les perturbations en courant observées sur les signaux correspondant à chacune des électrodes donne alors une estimation de la vitesse des gouttes. Cependant, les courants obtenus n'apportent aucune information sur le contenu des gouttes.

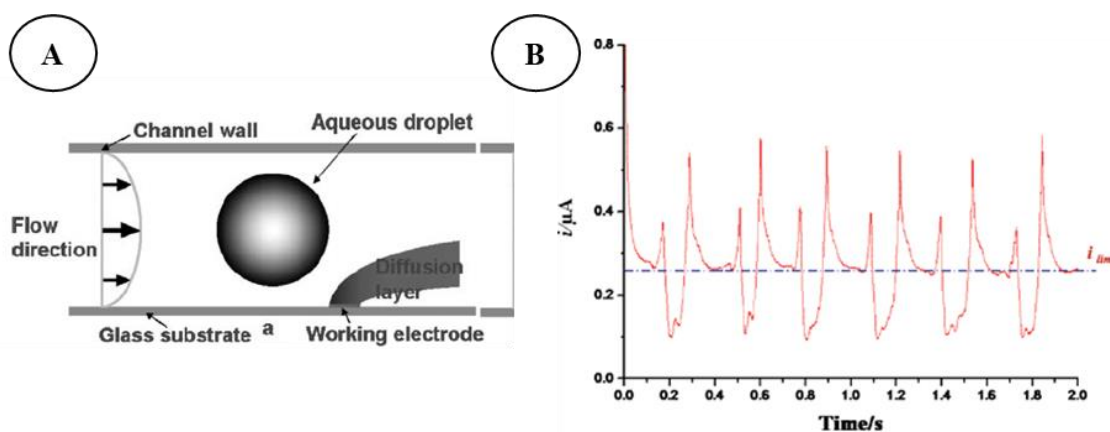


Figure 1.24 : A. Schéma de principe d'une mesure ampérométrique sans contact entre la goutte et l'électrode B. Signal électrochimique obtenu lors du passage de gouttes au voisinage de la couche de diffusion de l'électrode située sur la paroi du canal [158].

Ces trois méthodes de détections électrochimiques sans contact entre l'électrode et le contenu de la goutte ne permettent pas d'analyser précisément le contenu des gouttes, ou s'avèrent peu sélectives et peu sensibles. Elles présentent cependant l'avantage de donner par des approches relativement simples des informations à partir de signaux électriques. Ce sont des alternatives aux méthodes communément utilisées couplant un appareillage de microscopie optique et une caméra ultra rapide. Nous allons maintenant présenter des méthodes ampérométriques pour lesquelles le contenu de la goutte entre en contact avec la surface des électrodes.

3.3.2 Méthodes « avec contact »

La mouillabilité est un paramètre critique lors de l'intégration d'une détection électrochimique en microfluidique diphasique : il est nécessaire d'obtenir un bon contact entre le matériau d'électrode et le contenu de la goutte pour induire la réaction électrochimique. Les mesures effectuées dans ces conditions sont majoritairement ampérométriques et permettent un accès à d'autres paramètres que les mesures effectuées « sans contact ».

Quatre principales méthodes, illustrées sur la *Figure 1.25*, ont été envisagées pour assurer un contact entre le contenu de la goutte et les électrodes :

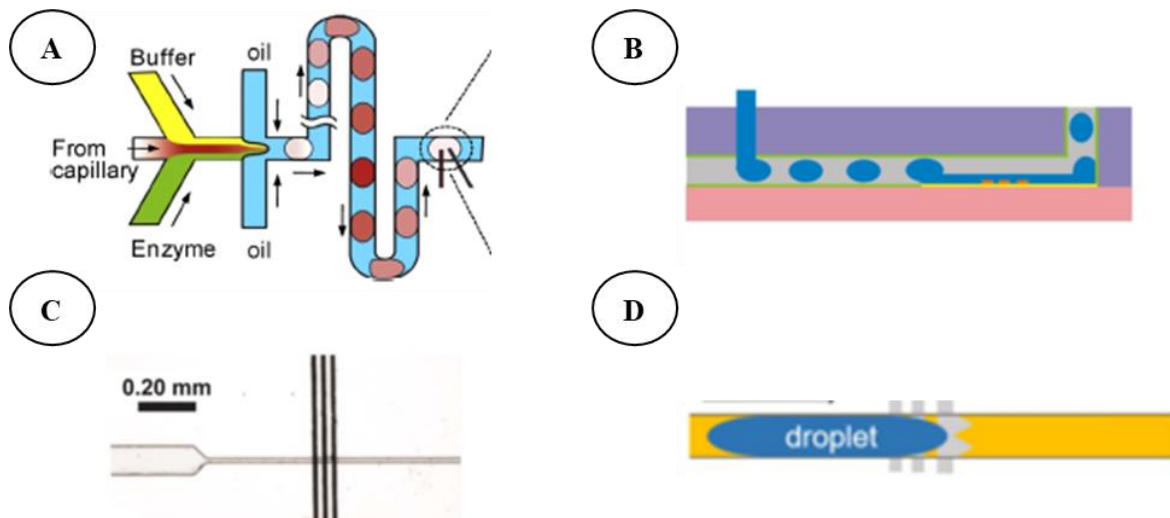


Figure 1.25 : Quatre stratégies permettant d'assurer la mouillabilité entre le contenu d'une goutte et les électrodes pour réaliser une détection ampérométrique : A. Utilisation d'électrodes pénétrantes (fils métalliques) [159], B. Modification locale de la mouillabilité de la paroi du canal sur laquelle sont localisées les électrodes [160], C. Rétrécissement local du canal au niveau de la zone de détection conduisant à un étirement de la goutte [161], D. Détection de plugs [141].

- **Stratégie 1 : Fils d'électrodes pénétrant dans la goutte**

La première manière est d'assurer un contact avec le contenu de la goutte par l'insertion de fils métalliques à l'intérieur du canal comme schématisé sur la *Figure 1.25A*. Il peut être déduit des mesures une fréquence de passage de gouttes et une concentration. Cependant le régime hydrodynamique à l'intérieur de la goutte est fortement perturbé par la présence de ces électrodes ce qui nuit à la précision et à l'interprétation du signal électrochimique.

- **Stratégie 2 : Modification de l'état de surface du canal**

Par modification chimique de l'état de surface du canal, la solution aqueuse a une meilleure affinité avec la paroi du canal dans la zone de détection que dans le reste du canal (*Figure 1.25B*). Ainsi, la mouillabilité des électrodes est assurée avec un comportement équivalent à un écoulement en co-flux dans cette zone [160].

- **Stratégie 3 : Rétrécissement de la section du canal au niveau de la zone de détection**

Le rétrécissement du canal dans la partie où sont situées les électrodes contraint la goutte à mouiller les électrodes (*Figure 1.25C*). Cela permet d'obtenir des conditions d'écoulement pseudo-monophasique au niveau de la zone de détection [161].

- **Stratégie 4 : Génération de plugs**

L'emploi d'une huile minérale et d'une solution aqueuse sans tensio-actifs a permis d'obtenir de bonnes conditions de production des gouttes dans le canal, tout en permettant au film d'huile de se briser lorsque la goutte rencontre les microbandes de platine (*Figure 1.25D*). Une goutte sous forme de plug mouille successivement chaque électrode lors de son passage sur la zone de détection [141]. Dans ce cas, le régime hydrodynamique est peu perturbé. Il est alors possible d'exploiter en ampérométrie les mesures de courant en lien avec les régimes de transport de masse connus à l'intérieur des gouttes en circulation.

Tableau 1.3 : Matériaux d'électrode et applications pour les détections électrochimiques en microfluidique de gouttes suivant quatre stratégies possibles.

	Matériau d'électrode de travail	Application	Réf
Stratégie 1	Or	Etude de la relation dose-effet des inhibiteurs enzymatiques	[162]
	Platine	Etude de la cinétique de réaction entre enzyme et H ₂ O ₂	[163]
	Platine modifié par poly(3-octylthiophene-2,5-diyl)	Etude de la cinétique de liaison entre l'ARN et Mg ²⁺	[164]
	Noir de Platine	Détection de glucose	[159]
Stratégie 2	ITO (<i>Indium Tin Oxide</i>) ou Or	Etude de la cinétique de réaction entre une enzyme et le glucose	[160]
Stratégie 3	Or	Détection de [Ru(NH ₃) ₆] ³⁺ et FcMe(OH)	[161]
	Pâte de carbone modifiée par un composite graphène/polyaniline	Détection à haut-débit de 4-aminophénol	[165]
	Pâte de carbone	Détection d'acide ascorbique et de dopamine	[166]
Stratégie 4	Encre de carbone	Détection d'acide ascorbique	[167]
	Platine	Détection H ₂ O ₂	[168]

Les méthodes de détection ampérométriques couplées à la microfluidique de gouttes sont encore peu utilisées. Les quelques exemples décrits dans la littérature portent majoritairement sur des applications biologiques. Le *Tableau 1.3* recense les différents travaux réalisés dans ces conditions. Nous les avons classés en fonction de la stratégie choisie pour assurer la mouillabilité des électrodes et avons mentionné le matériau d'électrode qui a son importance dans la mise en œuvre expérimentale de la détection.

4 Bilan

La microfluidique a beaucoup évolué depuis le début des années 2000. La microfluidique de gouttes a contribué à cet essor en élargissant les domaines d'application, en multipliant les possibilités techniques et en améliorant les performances. Les applications liées à la microfluidique de gouttes sont nombreuses, notamment pour la chimie (analytique, synthèse) et la biologie (analytique, criblage de médicaments, manipulation d'éléments biologiques). Elles ont pu être développées grâce à la multitude de techniques analytiques usuelles qui ont été adaptées aux microsystèmes.

La plupart des détections mises en œuvre sont de nature optique, de l'observation au microscope à transmission jusqu'aux techniques spectroscopiques en passant par la microscopie de fluorescence. L'ensemble de ces méthodes est complet, car il permet autant d'observer le comportement des gouttes dans un canal microfluidique que d'obtenir des informations sur leur contenu, voire sur la structure moléculaire des composés présents dans une goutte. Cependant, ces méthodes sont sensibles à la quantité d'espèces détectées, ce qui est limitant lorsque les volumes d'analyte sont très faibles. L'utilisation de tensio-actifs est souvent indispensable pour assurer un mode de génération de gouttes reproductible et garantir une bonne précision des détections optiques. Cela complexifie la nature du système diphasique employé ainsi que les opérations de coalescence. Il est également indispensable d'homogénéiser le contenu des gouttes avant de réaliser des détections optiques, ce qui implique l'utilisation d'un dispositif microfluidique plus complexe. Pour cela, il est indispensable d'amplifier la circulation interne à l'intérieur des gouttes par la mise en place de chevrons ou de serpentins. Il est également possible de recourir à des technologies actives avec apport d'énergie. Dans ces deux cas, il s'agit d'étapes qui complexifient l'utilisation du dispositif microfluidique et qui sont consommatrices en temps. De plus, l'analyse est parfois effectuée hors ligne, ce qui ne permet plus de mener des analyses rapides et de criblage dans ces conditions. Enfin, la plupart des

détections spectroscopiques sont sélectives et précises mais présentent une faible sensibilité et elles impliquent un appareillage encombrant et coûteux.

L'électrochimie analytique apporte une alternative prometteuse face aux détections optiques : ce sont principalement des méthodes ampérométriques sélectives, sensibles à la concentration, qui peuvent être mises en œuvre dans des dispositifs miniaturisés. Elles requièrent néanmoins l'utilisation d'espèces électroactives et un contact direct entre les électrodes et le contenu des gouttes. Il est préférable de ne pas utiliser de tensio-actifs pour favoriser la cassure du film d'huile au niveau des électrodes, ce qui peut rendre plus complexe la génération de trains de gouttes monodisperses. Peu d'études ont été menées dans ce domaine, car souvent limitées à des détections par impédancemétrie ou mesures de capacitance. Elles permettent de détecter la taille et la vitesse des gouttes tout en obtenant peu d'informations sur leur contenu.

Le laboratoire a déjà acquis une expertise certaine sur l'utilisation de microélectrodes, ainsi que sur la mise en œuvre de détections électrochimiques en milieu confiné. Ainsi, il est tout à fait pertinent d'aborder dans ce cadre des détections électrochimiques en microfluidique de gouttes avec des cellules électrochimiques adaptées, en contrôlant précisément les régimes de transport de matière à la surface des électrodes.

En premier lieu, il est intéressant de développer une méthode de détection dans un canal linéaire permettant à la fois de caractériser physiquement la goutte et de déterminer son contenu. Cela peut être étendu au cas de gouttes issues d'un mélange hétérogène afin d'accroître les possibilités tout en rendant ces détections plus compétitives face aux méthodes optiques. En effet, les courants en ampérométrie étant proportionnels aux concentrations locales, il est envisageable d'obtenir des détections performantes pour la détection de gouttes dont le contenu est hétérogène.

Ensuite, la mouillabilité des électrodes reste un paramètre critique dans ces conditions opératoires. Afin de s'affranchir de cette contrainte, il est envisageable de placer les électrodes à l'intérieur d'une chambre où les électrodes seraient en contact permanent avec la phase aqueuse. Cette approche est envisageable en réalisant une coalescence asynchrone de gouttes à l'entrée de la chambre avec le contenu de cette dernière. Cette approche devrait permettre de détecter des gouttes de tailles plus faibles que celles de plugs.

Enfin, afin d'augmenter la sensibilité des détections par voie électrochimique, une possibilité consisterait à mettre en œuvre dans ces conditions des mesures par électrochimiluminescence (ECL). En effet, l'électrochimiluminescence est une technique qui allie des performances électrochimiques à des performances optiques. Sans source d'excitation, elle présente l'avantage d'offrir un rapport signal sur bruit élevé des mesures et d'être facilement implémentable dans des microdispositifs. Les mesures sont particulièrement sensibles et les limites de détection sont beaucoup plus basses et adaptées aux applications bioanalytiques ou d'imageries. Par conséquent, la mise en œuvre de détections par ECL en microfluidique de gouttes semble tout à fait pertinente.

CHAPITRE 2

DETECTION ELECTROCHIMIQUE DE GOUTTES CIRCULANTES DE CONTENUS HOMOGENES OU HETEROGENES

Chapitre 2. Détection électrochimique de gouttes circulantes de contenus homogènes ou hétérogènes

Ce chapitre est consacré à la mise en œuvre de détections électrochimiques de grandes gouttes circulant à l'intérieur de microcanaux, par ampérométrie et par coulométrie.

Dans un premier temps, un rappel des premiers résultats obtenus au laboratoire sur la détection électrochimique de gouttes sous la forme de plugs sera donné ainsi qu'un rappel sur le transport de masse à la surface d'électrodes situées le long des parois de microcanaux. Ces acquis, à la fois théoriques et expérimentaux, établiront une base utile à la mise en place des concepts élaborés dans le cadre de la thèse.

Le principe de détection de gouttes sera alors décrit avec sa mise en œuvre expérimentale. Il s'agira d'employer une configuration de cellule électrochimique à 4 électrodes pour permettre à la fois la détection de vitesse, de volume et de contenu de gouttes. Le dispositif microfluidique sera conçu pour permettre en amont la génération de gouttes de phase aqueuse dont le contenu sera homogène ou hétérogène au moment de la détection.

Dans un premier temps, le principe sera validé expérimentalement dans le cadre de la détection de gouttes homogènes puis étendu à celui de gouttes hétérogènes. Une analyse des données sera effectuée pour évaluer le degré d'hétérogénéité des gouttes tout en réalisant une détection quantitative du contenu. L'influence du degré d'hétérogénéité sur la détection électrochimique sera alors étudiée en fonction de différents paramètres tels que le volume et le contenu de gouttes.

Enfin, les résultats de ces études seront mis à profit pour mettre au point une méthode de titration s'inspirant des ajouts dosés par la réalisation de mélanges de gouttes avant leur détection. Nous montrerons qu'il sera ainsi possible de réaliser ce type de titration à l'aide d'une solution étalon de concentration connue.

1 Résultats antérieurs sur le couplage de la microfluidique et de l'électrochimie

Dans un premier temps nous présenterons les études réalisées précédemment au laboratoire pour la mise en place de détections ampérométriques de gouttes dans un canal microfluidique à l'aide d'électrodes microbandes. Nous mettrons ensuite ces résultats en lien avec les régimes de transport de matière à la surface des électrodes fonctionnant à l'état stationnaire en microfluidique continue. Cela a également fait l'objet d'études antérieures au laboratoire. Ces travaux seront à la base de la mise en œuvre expérimentale du concept développé ici et présenté ensuite dans les prochains paragraphes de ce chapitre.

1.1 Détections en microfluidique de gouttes

La mise en œuvre d'une détection électrochimique du contenu de gouttes « eau-dans-huile » nécessite de veiller à mettre en contact l'ensemble des électrodes de la cellule électrochimique avec la phase aqueuse de la goutte. Pour ce type de gouttes, cela suppose une rupture du film d'huile qui entoure la phase aqueuse pour assurer la mouillabilité des électrodes. Au laboratoire, un système (solution aqueuse – huile silicone) sans ajout de tensio-actif a été choisi : il permet la formation de plugs de solution aqueuse qui seront à-même de mouiller les électrodes de platine qui seront utilisées.

1.1.1 *Cellule à trois électrodes*

Des premières études de détections de gouttes à la demande ont été menées au laboratoire [141]. Afin de favoriser la mouillabilité des électrodes, des gouttes en forme de plugs qui, par définition, remplissent la section du canal, ont été choisies. La cellule électrochimique était une cellule à trois électrodes (3E) sous forme de microbandes de platine : une pseudo-électrode de référence (RE), une électrode de travail (WE) et une contre-électrode (CE) (*Figure 2.1A*). Il était donc indispensable que les plugs soient suffisamment longs pour recouvrir toutes les électrodes à la fois afin de permettre la mesure électrochimique. Des mesures de vitesse de goutte (v_{goutte}) et de taille des plugs ont été effectuées optiquement à l'aide de marqueurs optiques situés en amont de la détection électrochimique afin de caractériser les plugs avant leur détection.

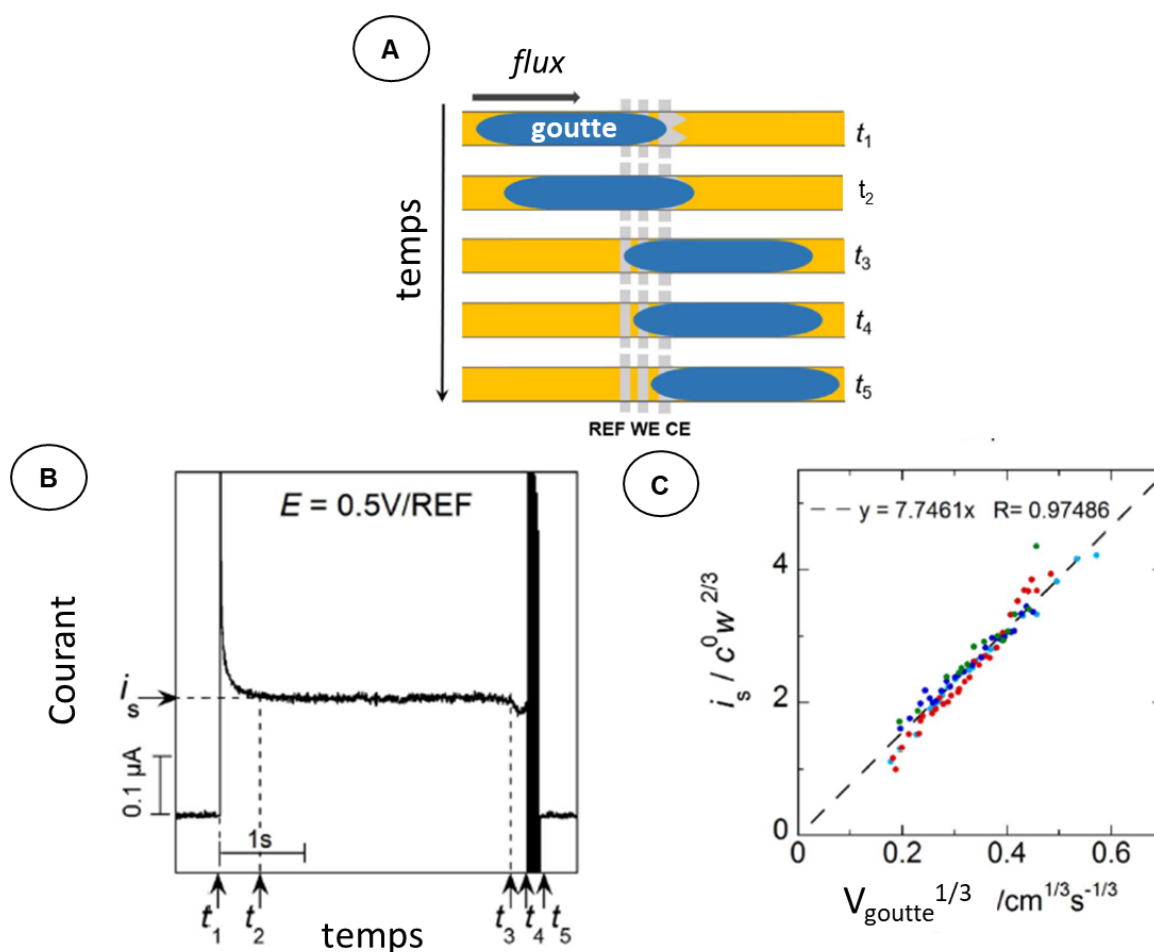


Figure 2.1 : A. Schéma représentant le passage d'un plug sur la cellule électrochimique à trois électrodes avec la mise en évidence de cinq temps caractéristiques B. Chronoampéromogramme obtenu expérimentalement lors du passage d'un plug sur les électrodes. Représentation des cinq temps caractéristiques définis en A et le courant stationnaire i_s . C. Dépendance du courant de plateau en $v_{\text{goutte}}^{1/3}$ pour différentes largeurs d'électrode de travail $w = 10\mu\text{m}$ (vert), $25\mu\text{m}$ (bleu foncé), $50\mu\text{m}$ (rouge) et $75\mu\text{m}$ (bleu clair). $c^\circ = 2.10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$. v_{goutte} est la vitesse de goutte [141].

La phase continue était constituée d'huile silicone (AP 150 Wacker de viscosité 150 mPa.s), tandis que les gouttes contenaient une solution de ferrocyanure de concentration 2mM préparée dans KCl 50 mM.

Un exemple de signal en chronoampérométrie obtenu expérimentalement lors du passage du plug sur les électrodes est présenté sur la Figure 2.1B. Lorsqu'un potentiel situé sur le plateau d'oxydation du médiateur redox est appliqué à l'électrode de travail, un courant est obtenu dès que le plug recouvre toutes les électrodes à t_1 puis le courant se stabilise lorsque la couche de diffusion-convection est établie à t_2 : on observe alors un courant stationnaire avec un plateau. Ensuite, les trois autres temps caractéristiques (t_3 , t_4 et t_5) correspondent aux moments où le plug quitte successivement chacune des électrodes. De fortes oscillations de courant sont

présentes entre t_4 et t_5 : en effet, durant cette période, l'électrode de référence n'est plus connectée par la goutte, donc le potentiel n'est plus contrôlé.

L'analyse des résultats a montré que le courant de plateau était proportionnel à la concentration de la solution contenue dans la goutte. Elle a mis aussi en évidence la dépendance du courant de plateau suivant $v_{\text{goutte}}^{1/3}$ ce qui est caractéristique du régime de Levich (*Figure 2.1C*). Ce résultat a permis de démontrer la présence de recirculations à l'intérieur de la goutte.

1.1.2 Cellule à quatre électrodes (4E)

Des travaux plus récents ont porté sur l'utilisation d'une cellule électrochimique à quatre électrodes (4E) qui permet à la fois de déterminer la taille, la vitesse et le contenu d'une goutte au cours de sa détection électrochimique [169].

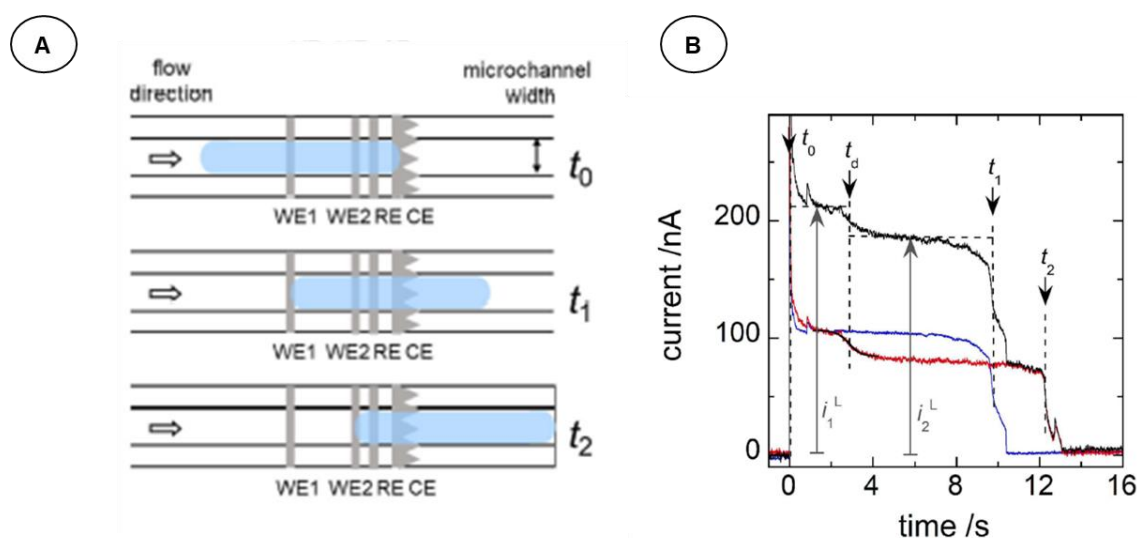


Figure 2.2 : A. Schéma de passage d'une goutte sur la cellule électrochimique à 4 électrodes aux temps t_0 , t_1 et t_2 et B. Signaux ampérométriques obtenus à WE1 (en bleu), à WE2 (en rouge) et à la somme de ces deux signaux (en noir). $E_{\text{WE1}} = E_{\text{WE2}} = 0.5\text{V vs RE}$. $K_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans $\text{KCl } 0.05 \text{ mol.L}^{-1}$. $g_{\text{WE1-WE2}} = 1000\mu\text{m}$, $w_{\text{WE1}} = w_{\text{WE2}} = 50\mu\text{m}$. Mise en évidence de 3 temps caractéristiques t_d , t_1 et t_2 et définition des courants de plateau i_1^L et i_2^L [169].

La cellule électrochimique est ici composée d'électrodes de platine : deux électrodes de travail indépendantes, une pseudo-électrode de référence, et une contre électrode (*Figure 2.2A*). Le courant de chaque électrode de travail est obtenu à l'aide d'un module bipotentiostat. Le courant, représenté en noir sur la *Figure 2.2B*, correspond à la somme des réponses individuelles des électrodes WE1 et WE2. Pour cette configuration 4E, quatre temps caractéristiques principaux sont visibles sur le signal ampérométrique. Le signal débute à t_0

lorsque le plug couvre l'ensemble des électrodes avec un courant identique pour chaque électrode. Une diminution de courant de WE2 apparaît à t_d lorsque la perturbation en concentration produite en amont par le fonctionnement de la première électrode de travail (WE1) arrive au niveau de la seconde (WE2). Ce temps est une caractéristique du couplage des deux électrodes par la convection et peut permettre d'évaluer la vitesse moyenne de la goutte lors de sa détection par la relation suivante :

$$v^{td} = \frac{g_{WE1-WE2} + w_{WE}}{t_d - t_0} \quad (2.1)$$

Les deux autres temps caractéristiques, t_1 et t_2 , correspondent respectivement aux moments où le plug quitte successivement les électrodes de travail WE1 puis WE2. Connaissant la distance, $g_{WE1-WE2}$, séparant les deux électrodes de travail, il est possible d'évaluer la vitesse moyenne de la goutte v^{4E} lors de son passage sur les électrodes à partir de l'équation suivante :

$$v^{4E} = \frac{g_{WE1-WE2} + w_{WE2}}{t_2 - t_1} \quad (2.2)$$

Suivant la vitesse v^{4E} et le délai de temps ($t_2 - t_0$), on obtient la longueur de la goutte, w^{4E} , puis son volume V , connaissant les caractéristiques géométriques du canal (h la hauteur du canal et L sa largeur).

$$W^{4E} = v^{4E} (t_2 - t_0) + g_{WE2-CE} \quad (2.3)$$

$$V = w^{4E} hL \quad (2.4)$$

avec g_{WE2-CE} la distance séparant WE2 de CE, w_{WE1} et w_{WE2} les largeurs des électrodes WE1 et WE2.

La corrélation entre la vitesse v^{4E} mesurée par électrochimie et celle mesurée optiquement v^{opt} a été vérifiée et confirmée (*Figure 2.3A*).

D'autre part, la linéarité du courant de plateau i_1^L en fonction de la vitesse à la puissance 1/3 permet de valider, comme dans le système précédent, un régime convectif en accord avec l'expression de Levich qui sera rappelée dans le prochain paragraphe (*Figure 2.3B*). Cela a été également vérifié pour le second courant de plateau i_2^L .

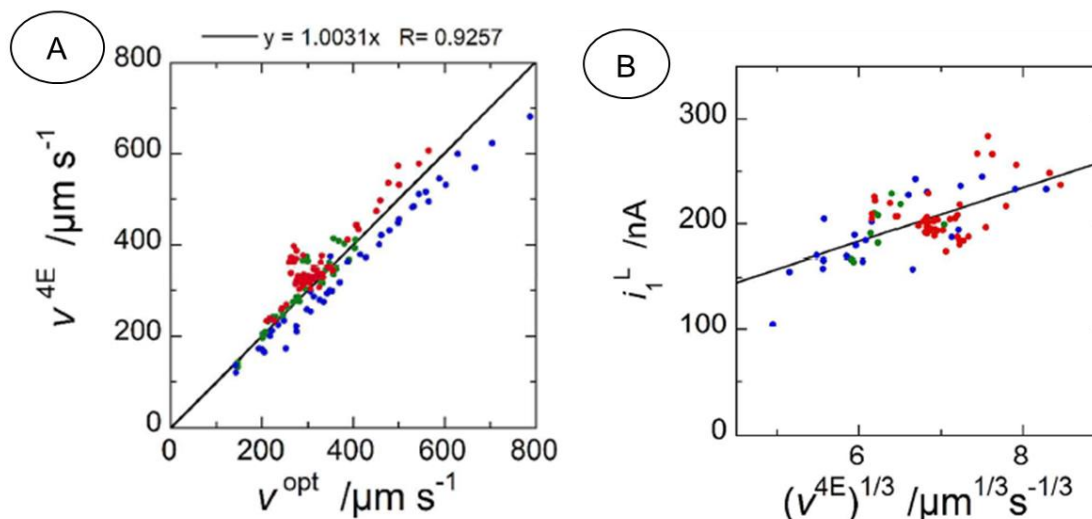


Figure 2.3 : A. Corrélation entre vitesse déterminée par électrochimie (v^{4E}) et vitesse optique (v^{opt}) B. Mise en évidence de la dépendance de l'intensité du premier courant de plateau i_1^L en $(v^{4E})^{1/3}$ [169]. En A et B, $g_{WE1-WE2} = 200$ (vert), 400 (bleu) et 1000 μm (rouge). $w_{WE1} = w_{WE2} = 50 \mu\text{m}$. Les volumes des gouttes varient entre 10 et 100 nL.

Ces résultats expérimentaux ont été confirmés par des simulations numériques de réponses en chronoampérométrie. L'accord entre les données a validé la fiabilité de la méthode pour déterminer la vitesse, et la taille de gouttes homogènes. Ces résultats ont confirmé que la mouillabilité des électrodes de platine était assurée de manière reproductible et que le transport de masse à la surface des électrodes de travail était bien contrôlé.

1.2 Transport de masse en microfluidique continue en régime stationnaire

Dans le cas de plugs, le profil de vitesse 2D à l'intérieur de ces gouttes est assimilable à un profil de vitesse laminaire. Les mesures électrochimiques effectuées dans ces conditions peuvent alors être analysées en se basant sur les principaux régimes de transport de masse établis à l'état stationnaire en microfluidique continue.

Le transport de masse en microfluidique continue a principalement été étudié en considérant des électrodes sous forme de microbandes : il s'agit d'électrodes facilement intégrables sur une des parois de microcanal de section rectangulaire. Leur utilisation a été introduite et formalisée par le groupe de Richard Compton [170]. Ces électrodes restent faciles à fabriquer par la technique de lithographie douce avec de bonnes résolutions spatiales à l'échelle micrométrique. Généralement, ces électrodes sont positionnées perpendiculairement au flux sur toute la largeur du canal. Leurs longueurs sont ainsi fixées par la largeur du canal.

Leurs largeurs de dimensions micrométriques leur confèrent des propriétés de microélectrodes, propriétés largement étudiées par le groupe de Christian Amatore [171]. Leurs caractéristiques principales sont de réduire la chute ohmique ainsi que le temps de réponse, et d'améliorer le rapport signal sur bruit, ce qui peut être avantageux pour la mise en œuvre de détections électrochimiques dans des canaux microfluidiques.

1.2.1 Cas d'une seule électrode de travail

La *Figure 2.4* rappelle le schéma d'un dispositif microfluidique intégrant une détection électrochimique avec une cellule à trois électrodes. Une représentation à deux dimensions permet de décrire le transport de masse au voisinage de l'électrode de travail. Le profil de vitesse du fluide en écoulement laminaire est supposé parabolique.

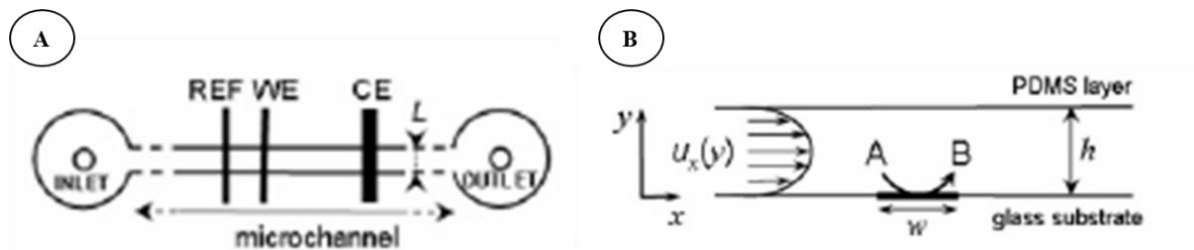


Figure 2.4: A. Schéma représentant la disposition d'électrodes microbandes (REF, WE, CE) dans un canal microfluidique de largeur L (vue de dessus) B. Schéma 2D de principe de l'électrolyse d'une espèce électroactive à la surface de l'électrode de travail de largeur w lors d'un écoulement laminaire dans un canal de hauteur h (h < L). La forme du profil de vitesse est illustré par les vecteurs $u_x(y)$ [31].

En imposant un potentiel à l'électrode de travail, une couche de diffusion-convection de l'espèce électroactive s'établit au-dessus de l'électrode. Ses caractéristiques sont fixées par le rapport de dimensions entre la largeur de l'électrode et la hauteur du canal (équation 2.5) ainsi que par la vitesse moyenne de l'écoulement. Cette dernière est caractérisée par le nombre de Péclet défini par l'équation (1.2).

$$W = \frac{w}{h} \quad (2.5)$$

A partir de résultats expérimentaux et de simulations numériques, trois zones de fonctionnement distinctes ont été définies sur la base des régimes de transport de masse identifiés en régime stationnaire. Ces zones I, II et III sont décrites sur la *Figure 2.5*.

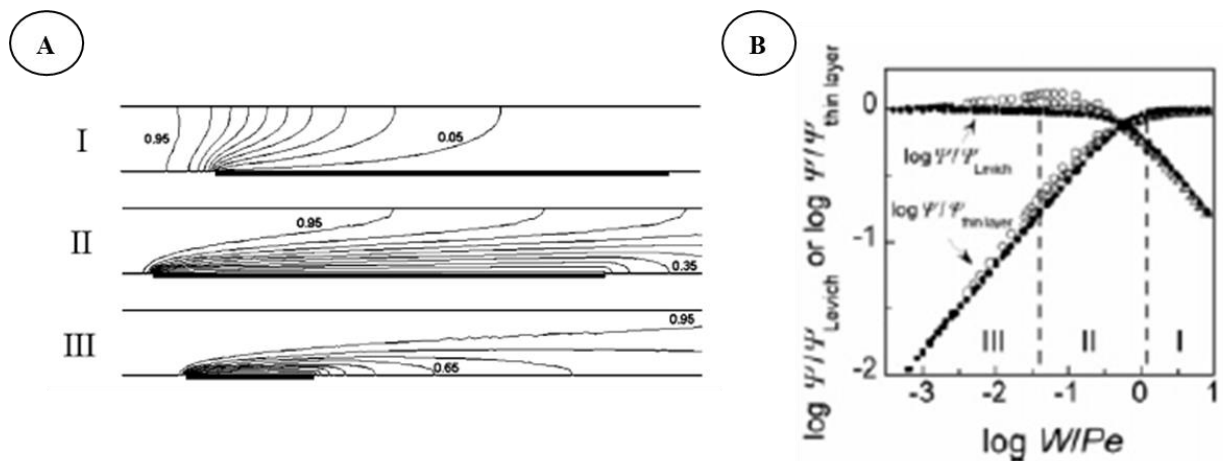


Figure 2.5 : Présentation de trois principaux régimes de transport de masse. I : régime de couche mince, II : régime intermédiaire, III : régime de Levich. A. Illustrations de profils de concentration simulés en régime I, II et III. B. Domaines de prédominance de ces régimes à travers les courants stationnaires simulés et rapportés aux courants de Levich ou de couche mince en fonction de W/Pe avec $W=w/h$ et Pe le nombre de Péclet [31].

Le courant adimensionné Ψ est défini lui par la relation suivante :

$$\Psi = \frac{i}{nFLDc^\circ} \quad (2.6)$$

A forte vitesse et à faible rapport w/h (zone III), le **régime de Levich** est établi. Levich s'est intéressé dès le milieu du vingtième siècle au transport de matière à petite échelle et à l'influence de l'hydrodynamique [172]. Ce régime de transport de masse est convectif. Dans le cas d'une électrode microbande, le courant s'exprime par l'équation suivante :

$$i_{Levich} = 0.925nFLC^\circ(wD)^{\frac{2}{3}}\left(\frac{4u_{av}}{h}\right)^{\frac{1}{3}} \quad (2.7)$$

avec n le nombre d'électrons échangés, F la constante de Faraday, L la longueur de l'électrode, c° la concentration de l'espèce électroactive, w la largeur de l'électrode, D le coefficient de diffusion, u_{av} la vitesse moyenne du fluide et h la hauteur du canal.

La version adimensionnée du courant en régime de Levich est définie par l'équation (2.8).

$$\Psi_{Levich} = 1.468W^{\frac{2}{3}}Pe^{\frac{1}{3}} \quad (2.8)$$

Ainsi, tous paramètres géométriques fixés, le courant en régime de Levich est caractérisé par sa dépendance en $u_{av}^{\frac{1}{3}}$ ou le courant adimensionné en $Pe^{\frac{1}{3}}$.

A faible vitesse de flux et à rapport w/h élevé, (zone I), c'est le **régime de couche mince** qui s'applique : la diffusion y est dominante. L'intégralité des espèces qui passent dans le canal au niveau de l'électrode ont le temps de diffuser et de réagir à la surface de l'électrode. Ce sont par exemple les conditions nécessaires pour réaliser une électrolyse quantitative. Le courant est alors défini par l'expression suivante :

$$i_{couche\ mince} = nFc^0u_{av}Lh \quad (2.9)$$

Le courant de couche mince adimensionné est lui défini par l'équation (2.10).

$$\Psi_{couche\ mince} = Pe \quad (2.10)$$

Dans ces conditions, le courant ne dépend plus du coefficient de diffusion, ni de la largeur de l'électrode.

La zone II correspond à des régimes intermédiaires entre le régime de couche mince et le régime de Levich.

Quelles que soient les conditions, le courant dépend toujours de la vitesse du flux : il s'agit donc d'un paramètre majeur dans un dispositif microfluidique qui conditionne le transport de masse aux électrodes.

A partir de l'analyse des profils de concentration obtenus par simulation numérique, il est possible de définir et d'évaluer en régime stationnaire la hauteur de solution sondée par l'électrode suivant les paramètres géométriques et hydrodynamiques (*Figure 2.6*). Cette hauteur correspond à l'épaisseur de la couche de diffusion-convection établie dans ces conditions. Elle sera faible en régime de Levich, et tendra vers la hauteur du canal en régime de couche mince.

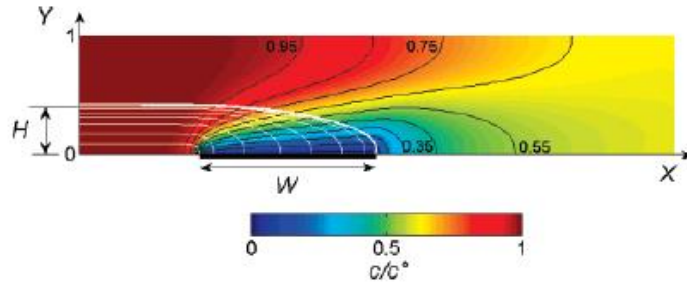


Figure 2.6 : Profil de concentration stationnaire lors d'une détection ampérométrique par une électrode microbande et représentation de la hauteur de solution sondée H par l'électrode [31].

L'ensemble de ces notions théoriques à propos du transport de masse à l'électrode en microfluidique continue est transposable à la microfluidique de gouttes. En effet, comme précisé au cours du Chapitre 1 (paragraphe 3.1.1), les recirculations à l'intérieur du contenu d'une goutte de type plug assurent un profil de vitesse identique au flux laminaire au centre de la goutte. Cette similarité ne se vérifie pas aux extrémités du plug, cependant cet effet est d'autant plus négligeable que le plug est de volume important. Ainsi, il sera possible de considérer un flux laminaire continu pour modéliser le transport de masse à l'électrode de travail lors de la détection d'un plug de solution aqueuse contenant une espèce électroactive.

1.2.2 Notions de couplage entre électrodes

Le bénéfice apporté par l'emploi d'un plus grand nombre d'électrodes de travail a également fait l'objet d'études antérieures. Les performances de la détection électrochimique sont améliorées. Les interactions qui se mettent en place entre les électrodes suivant les conditions opératoires peuvent être mises à profit pour déterminer *in situ* la vitesse moyenne de l'écoulement dans le microcanal. En effet, lorsque plusieurs électrodes de travail sont employées, les réponses des électrodes situées en aval sont influencées par le fonctionnement de celles situées en amont. Ainsi, différents types d'interactions peuvent avoir lieu suivant des modes de fonctionnement particuliers des électrodes. Ils sont conditionnés par la distance g qui sépare les électrodes et par la vitesse moyenne du fluide (ou nombre de Péclet).

$$G = \frac{g}{h} \quad (2.11)$$

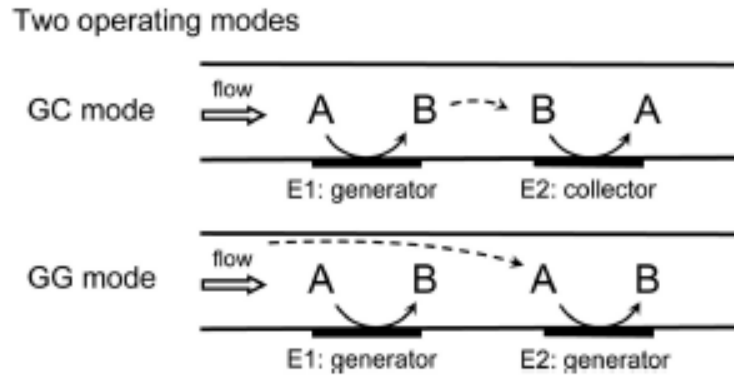


Figure 2.7 : Schéma descriptif des deux modes de fonctionnement lors de l'utilisation de deux électrodes de travail en conditions confinées sous flux laminaire [173].

La Figure 2.7 représente les **deux modes de fonctionnement** envisageables dans le cas de deux électrodes de travail [173] :

- En mode de fonctionnement **générateur-générateur**, les potentiels appliqués à chaque électrode permettent de générer de façon indépendante des espèces de nature identique. Le même potentiel est appliqué pour générer une seule et même espèce.
- En mode de fonctionnement **générateur-collecteur**, un potentiel est appliqué à la première électrode en amont pour générer une espèce, et un autre potentiel est appliqué à l'électrode en aval pour détecter l'espèce émise. Ce mode convient donc pour un couple redox réversible dont l'espèce produite est suffisamment stable pour pouvoir être détectée dans la fenêtre de temps expérimentale [55].

Deux **régimes de fonctionnement** découlent de cette configuration à deux électrodes de travail.:

- Lorsque les distances entre électrodes (ou gaps) sont suffisamment grandes, les électrodes fonctionnent suivant un **régime séquentiel**. La composition de la solution a le temps de s'homogénéiser sur la hauteur du canal après son passage à la première électrode. Ainsi la seconde électrode voit simplement passer une nouvelle solution moins concentrée que celle passant sur la première électrode.
- Lorsque la vitesse du fluide devient suffisamment importante, les électrodes interagissent plus fortement entre elles et suivent un **régime de couplage**. La solution n'a pas le temps de s'homogénéiser après l'action de la première électrode. Ainsi la seconde sera influencée par la présence de gradients de concentration provenant de la couche de diffusion de la première.

La transition entre ces deux régimes intervient pour des valeurs particulières de distance G entre les électrodes et de vitesse de fluide Pe . Elle intervient précisément pour une valeur spécifique du rapport G/Pe notée $(G/Pe)_{trans}$. Le rapport G/Pe revient à comparer le temps moyen (g/u_{av}) que met la solution pour parcourir le gap au temps nécessaire (h^2/D) aux espèces pour diffuser sur la hauteur du microcanal. Sur la *Figure 2.8*, les calculs numériques et données expérimentales ont montré que lorsque $(W_1+W_2)/Pe < 0.25$, $(G/Pe)_{trans} = 0.25$. Le régime séquentiel est ainsi atteint lorsque $G/Pe > 0.25$.

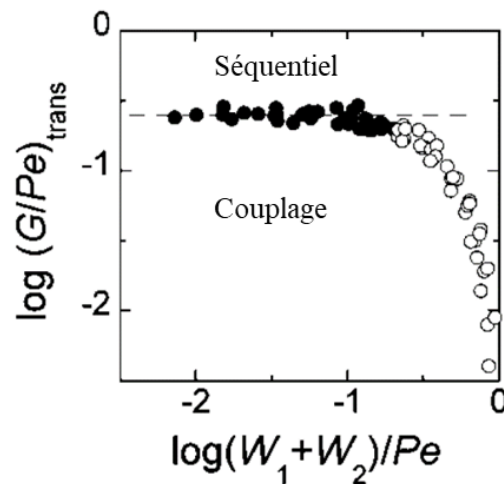


Figure 2.8 : Valeurs particulières de G/Pe , notées $(G/Pe)_{trans}$, correspondant à la transition entre le régime séquentiel et de couplage. W_1 , W_2 et G sont respectivement les tailles adimensionnées des électrodes ($WE1$, $WE2$) et du gap [173].

Ces modes de fonctionnement sont généralisables à des réseaux d'électrodes comportant plus que deux électrodes comme illustré sur la *Figure 2.9* pour le cas générateur-générateur [174].

Dans le cadre de notre étude, nous privilégierons le fonctionnement générateur-générateur avec deux électrodes de travail pour oxyder une même espèce électroactive à chaque électrode. Cela permet la détection d'une espèce électroactive, qu'elle soit réversible ou non, puisqu'un même potentiel d'oxydation sera appliqué à chacune des électrodes de travail.

Bien que la détection soit envisageable dans les conditions expérimentales correspondant aux deux régimes (séquentiel et couplage), le régime séquentiel sera préféré car il est plus simple à analyser. En effet, dans ces conditions, le fonctionnement de chaque électrode peut être étudié indépendamment. De plus, il permet de sonder une hauteur H de solution dans le canal plus importante que le régime de couplage. Il sera donc mieux adapté dans le cadre de détections quantitatives en raison d'une sensibilité plus importante.

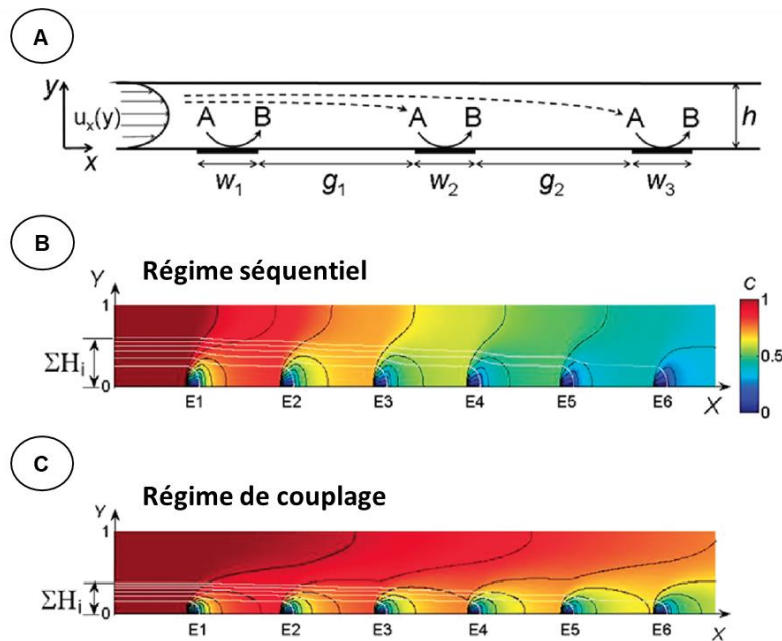


Figure 2.9 : Fonctionnement en générateur-générateur d'un réseau d'électrodes A. Schéma de l'intégration des électrodes dans le canal B-C. Profils de concentration lors du fonctionnement des électrodes en mode générateur-générateur en régime séquentiel et en régime de couplage [174].

2 Concept et mise en œuvre expérimentale

En s'appuyant sur les travaux récents du laboratoire rappelés au paragraphe 1.1 de ce chapitre, il s'agira ici d'élargir les possibilités de détection dans un canal microfluidique de gouttes circulantes de contenu aussi bien homogène qu'hétérogène [175]. Dans ces conditions opératoires, les gouttes considérées seront nécessairement sous la forme de plugs.

2.1 Principe

Les études précédentes ont montré que dans le cas de gouttes homogènes, les réponses en chronoampérométrie présentaient un courant stationnaire proportionnel à la concentration de l'espèce électroactive contenue dans les gouttes et qu'il était envisageable d'obtenir simultanément des informations sur la taille et la vitesse des gouttes en utilisant un dispositif comprenant deux électrodes de travail (configuration 4E). Dans ce qui suit, nous avons souhaité utiliser la même configuration de cellule électrochimique pour étendre cette approche à la détermination quantitative du contenu de gouttes. Pour cela, nous avons choisi de procéder à une intégration des courants afin d'évaluer la quantité totale de charge ou de matière contenue dans les gouttes. Cette approche devrait pouvoir nous permettre de s'affranchir des variations

locales de concentration au sein d'une goutte, notamment lorsque son contenu n'est pas homogène.

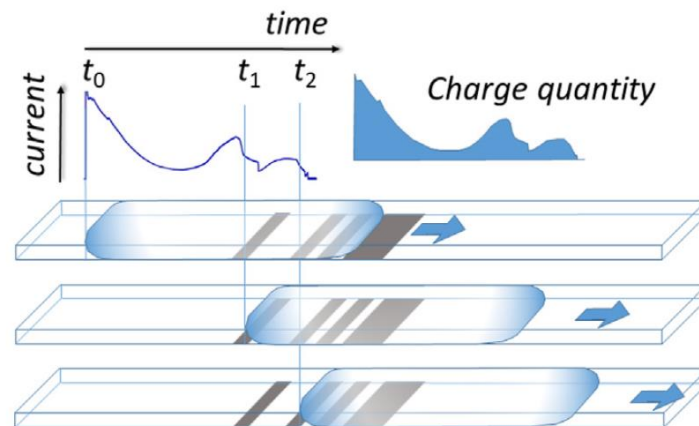


Figure 2.10 : Présentation graphique du concept de détection d'un contenu de goutte inhomogène avec un dispositif à deux électrodes de travail (configuration 4E) [175].

En effet, dans le cas d'une goutte hétérogène, le courant mesuré sur une électrode de travail restera proportionnel à la concentration locale sondée au moment de la mesure. Cependant, l'hétérogénéité en concentration de la goutte engendrera des variations notables de courant au cours de son passage. L'intégration des courants devrait alors permettre de s'affranchir de ces variations de courant en accédant à la quantité de charge totale contenue dans la goutte. Ainsi les quantités de charges permettront d'estimer quantitativement le contenu des gouttes alors que les variations de courant permettront d'évaluer leur hétérogénéité.

Deux conditions sont toutefois nécessaires pour parvenir à ces évaluations :

- La première sera de contrôler expérimentalement le transport de masse au voisinage des électrodes. Cela reviendra à assurer une vitesse de goutte constante et connue au niveau de la cellule électrochimique. En effet, le courant, et par conséquent la quantité de charge, dépendront du régime hydrodynamique imposé localement.
- La seconde condition sera de supposer une homogénéité locale de la goutte sur la hauteur du microcanal. En effet, suivant le régime imposé à l'intérieur de la goutte, les électrodes ne sonderont qu'une partie de leur hauteur. Ainsi, en régime convectif, il faudra tenir compte d'une quantité de charge non détectée.

Dans ce contexte, il sera intéressant de montrer l'influence du transport de masse sur la quantité de charge détectée. Une amélioration consistera à s'approcher d'un régime de type couche mince en augmentant par exemple la taille des électrodes et/ou leur nombre.

Pour produire une goutte dont le contenu sera hétérogène au moment de sa détection, nous avons choisi de générer une première goutte à partir d'une solution homogène, puis de modifier son contenu en introduisant à l'intérieur, par fusion active, une solution aqueuse de composition différente. Cette opération sera effectuée au moyen d'une jonction T (voir ci-après) avant l'étape de détection par la cellule électrochimique. L'objectif final sera d'utiliser ce type de mélange pour réaliser ensuite une titration en s'inspirant de la méthode des ajouts dosés.

2.2 Dispositif microfluidique

Afin de réaliser des mélanges de gouttes, il est nécessaire de concevoir un dispositif microfluidique permettant d'injecter séparément deux phases aqueuses de natures différentes. Une troisième entrée de fluide est nécessaire pour faire circuler l'huile qui est la phase continue. La puce microfluidique comportera donc trois entrées distinctes et une sortie commune.

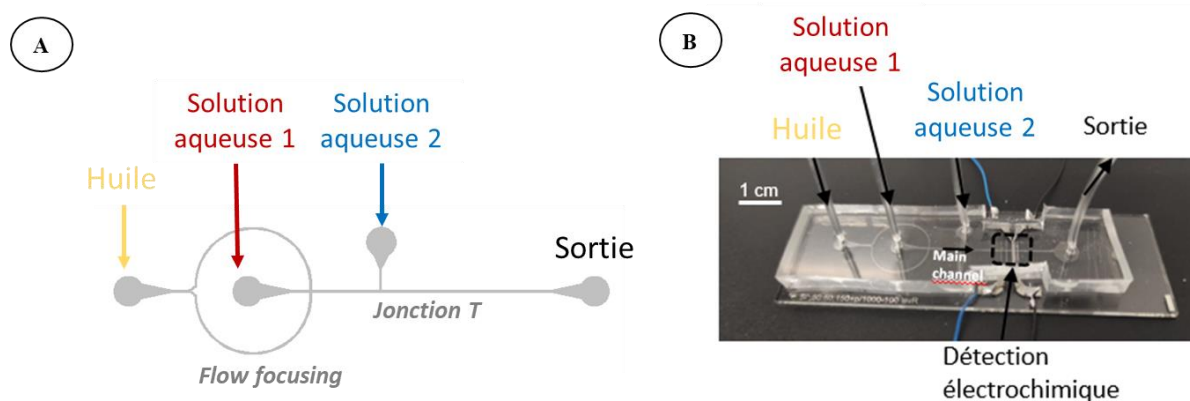


Figure 2.11 : A. Schéma du canal microfluidique constitué de deux entrées de solution aqueuse. B. Photographie du dispositif microfluidique pour la détection électrochimique de gouttes dont le contenu est hétérogène.

Nous avons choisi un dispositif microfluidique comprenant deux types de génération de gouttes (Figure 2.11A). La première est un flow-focusing qui sert à générer des plugs d'une première solution aqueuse qui contiendra les espèces électroactives. Ensuite, une jonction T est placée dans le canal principal : elle contiendra une seconde solution aqueuse qui sera généralement de l'électrolyte support pour effectuer des dilutions. Ces dilutions auront lieu par fusion active directement au niveau de la jonction T. En aval, la cellule électrochimique sert à détecter le contenu de gouttes ou de mélanges de gouttes après fusion active à la jonction T (Figure 2.11B).

La largeur du canal principal est de 200 μm et sa hauteur de 40 μm . La distance entre le flow-focusing et la jonction T est de 6,8mm et celle entre la jonction T et la zone de détection est de 10 mm.

L'appareillage ainsi que la composition des solutions sont détaillés en Annexe A.

Le flow-focusing et la jonction T peuvent être utilisés indépendamment pour générer des gouttes dans le canal principal. Initialement, les pressions sont ajustées pour conserver la stabilité des deux interfaces solution aqueuse/huile. Puis un créneau de pression est appliqué sur l'un des réservoirs de solution aqueuse pour déstabiliser l'interface correspondante et générer une goutte. Dans ces conditions, la taille de la goutte dépendra de la durée du saut de pression. Ensuite les pressions sont fixées pour assurer un équilibre et stabiliser à nouveau les interfaces pendant que la goutte continue son parcours dans le canal principal.

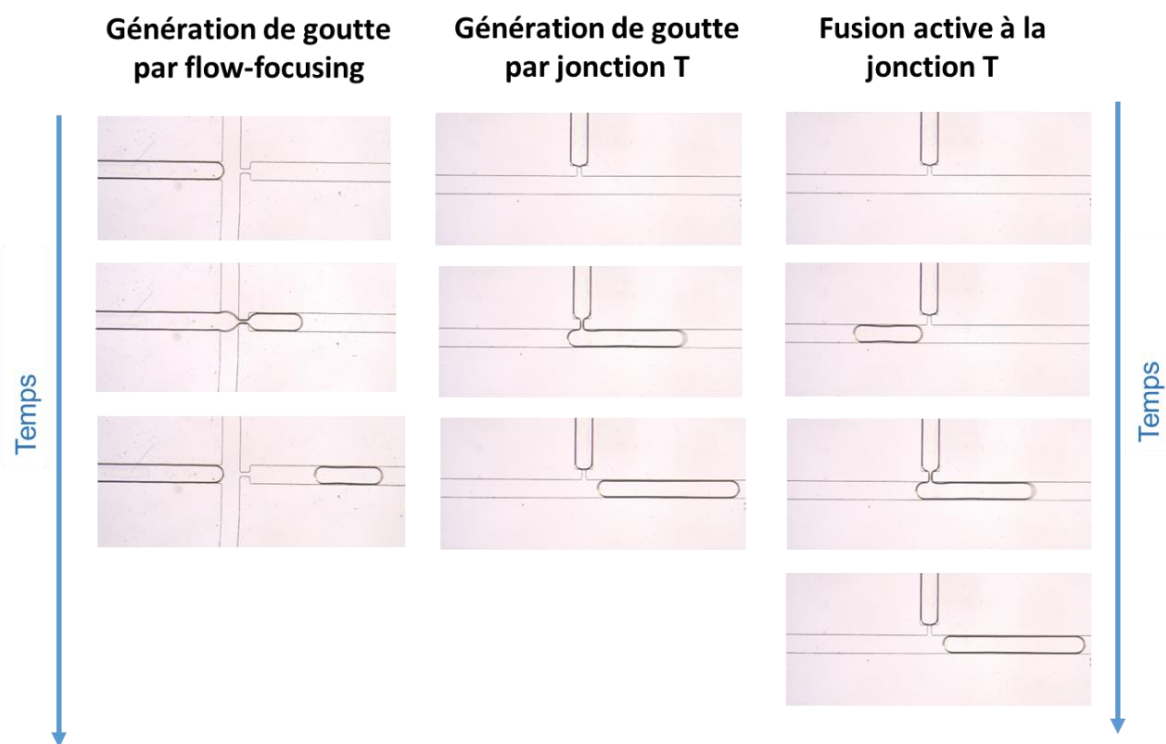


Figure 2.12 : Photographies montrant les séquences de génération de goutte par flow-focusing puis celles du mélange par fusion active au niveau de la jonction-T.

Ce dispositif microfluidique est également utile pour réaliser par fusion active un mélange à partir de deux solutions aqueuses de compositions différentes. Lorsqu'une première goutte est générée par le flow-focusing, nous pouvons l'observer à l'aide du microscope inversé. Une fois que cette première goutte arrive à hauteur de la jonction T, il est possible d'appliquer un saut

de pression au niveau de la seconde solution aqueuse qui sera alors directement injectée dans la première goutte. Il s'agit d'une méthode de mélange synchrone. La goutte ainsi constituée avancera ensuite dans le canal jusqu'à la zone de détection sans qu'il n'y ait entre temps d'homogénéisation induit par mélange actif ou passif. Des photographies illustrant ces différentes étapes sont présentées sur la *Figure 2.12*. Afin d'évaluer les proportions de chacune des phases aqueuses dans le volume de la goutte finale, le volume de la goutte générée par le flow-focusing, noté V_1 , est déterminé optiquement et le volume injecté au niveau de la jonction-T, noté V_2 , découle du volume de la goutte finale (V_1+V_2) déterminé par voie électrochimique.

Pour cette étude et la démonstration de concepts, l'une des solutions aqueuses est une solution de ferrocyanure de potassium ($K_4[Fe(CN)_6]$) de concentration c^0 préparée dans $KCl\ 0.5\text{mol.L}^{-1}$ alors que l'autre contient uniquement de l'électrolyte support ($KCl\ 0.5\ \text{mol.L}^{-1}$). La concentration c^0 est fixée suivant les expériences entre $0.2\ 10^{-3}$ et $2.10^{-3}\ \text{mol.L}^{-1}$. Dans ces conditions, le coefficient de diffusion du ferrocyanure a été déterminé expérimentalement (Annexe B), nous prendrons alors $D = 8\ 10^{-6}\ \text{cm}^2.\text{s}^{-1}$.

2.3 Cellules électrochimiques

2.3.1 *Configurations 4E et 5E*

La cellule électrochimique est composée d'électrodes sous forme de microbandes de platine. Lors de la fabrication du dispositif (Annexe D), les électrodes sont déposées sur une lame de verre par des techniques de lithographie douce et sont placées perpendiculairement au canal et donc au sens de l'écoulement.

Les configurations des deux cellules électrochimiques utilisées pour réaliser cette étude sont présentées sur la *Figure 2.13*. La première (configuration 4E) comprend deux électrodes de travail. Elle est identique à celle de la *Figure 2.2A* qui a été utilisée dans l'étude précédente pour démontrer la possibilité de mesurer à la fois le volume et la vitesse de gouttes [169]. Quant à la seconde (configuration 5E), elle comprend une électrode de travail supplémentaire qui est intégrée en aval des deux premières afin d'augmenter la surface active des électrodes de travail et d'explorer d'autres régimes de transport de masse.

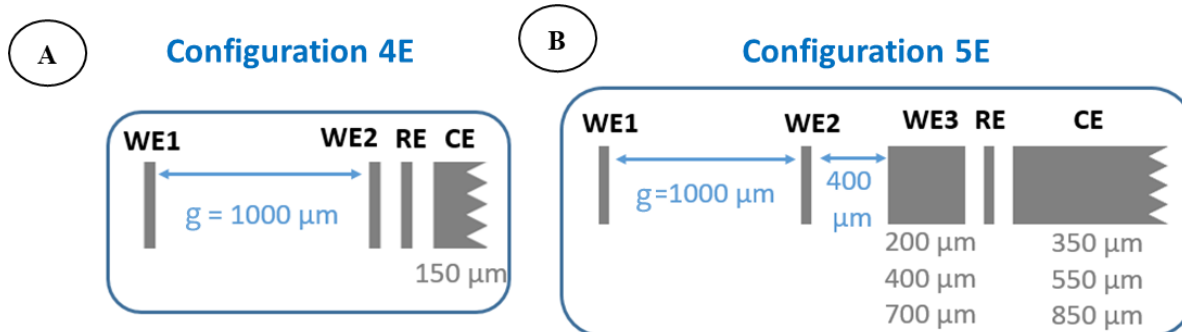


Figure 2.13 : Schémas représentant les configurations des deux cellules électrochimiques. A. Configuration à 4 électrodes. B. Configuration à 5 électrodes. Les largeurs des électrodes WE3, et CE ainsi que les distances inter électrodes WE1-WE2 et WE2-WE3 sont indiquées sur les schémas. Les largeurs des électrodes WE1, WE2 et RE sont de 50 μm et les intervalles entre les électrodes WE-RE et RE-CE sont de 100 μm .

Dans la configuration 4E, les réponses des électrodes WE1 et WE2 sont mesurées simultanément et de façon indépendante. Dans la configuration 5E, les électrodes WE1 et WE2 sont court-circuitées et l'électrode WE3 est indépendante. Dans les deux cas, l'électrode de référence est une pseudo-référence de platine.

2.3.2 Temps caractéristiques

Les temps caractéristiques de connexion et de déconnexion des électrodes sont rappelés Figure 2.14 pour la configuration 4E, et définis parallèlement pour la configuration 5E.

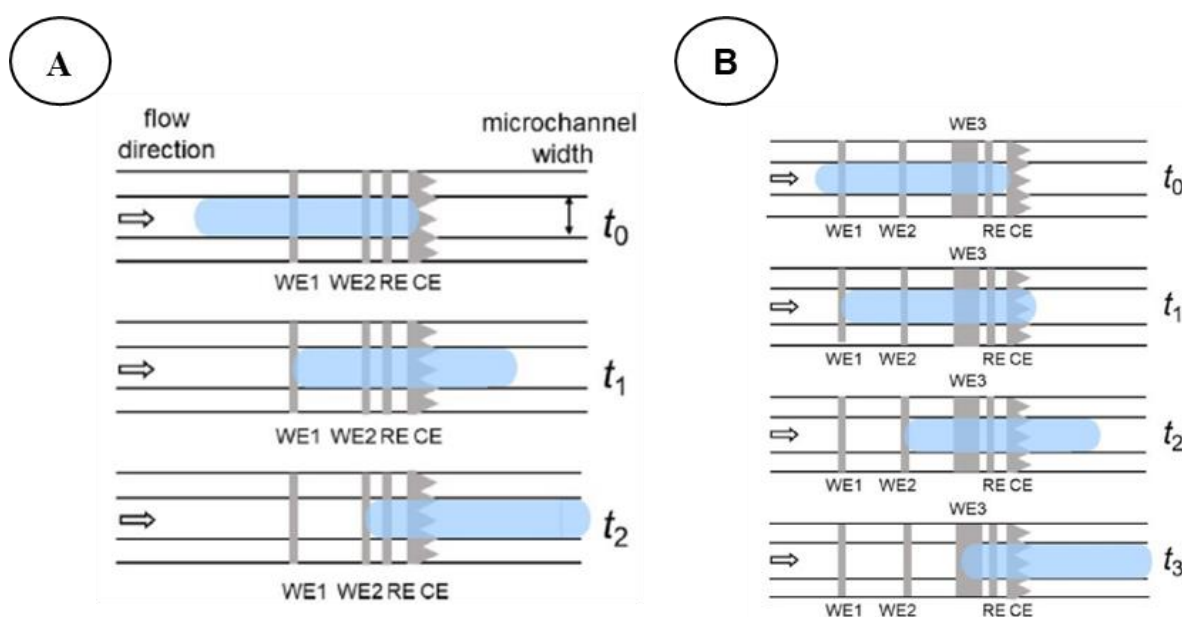


Figure 2.14 : Principe de fonctionnement des cellules électrochimiques 4E et 5E aux différents temps caractéristiques t_0 , t_1 , t_2 et t_3 . A. Cellule à quatre électrodes. B. Cellule à cinq électrodes.

Dans les deux configurations, la différence entre les deux temps de déconnexion t_1 et t_2 permet de déterminer la vitesse de passage v de la goutte pendant sa détection grâce à la relation :

$$v = \frac{g_{WE1-WE2}}{t_2 - t_1} \quad (2.12)$$

avec $g_{WE1-WE2}$ la distance entre les deux électrodes de travail. Par rapport à l'équation (2.1) précédente, nous avons choisi de ne pas introduire dans l'équation 2.12 de paramètre lié aux largeurs d'électrode, car nous avons montré que cette équation était plus précise pour évaluer une vitesse de goutte. Nous avons également choisi de ne pas utiliser le temps caractéristique de couplage t_d pour déterminer v car les variations de courant correspondantes sont trop faibles et la valeur de t_d peu élevée face aux incertitudes expérimentales [169].

Compte-tenu des caractéristiques géométriques du canal, la différence entre les temps de fin et de début de mesure permet d'évaluer le volume V de la goutte à partir de la combinaison des équations 2.12 et 2.3. En assimilant ainsi la géométrie de la goutte à un cuboïde grâce à son grand rapport d'aspect, nous obtenons pour les deux configurations 4E et 5E la relation :

$$V = hL(v(t_2 - t_0) + g_{WE2-CE}) \quad (2.13)$$

où h la hauteur du canal, L sa largeur, v la vitesse de la goutte et g_{WE2-CE} la distance séparant la seconde électrode de travail de la contre électrode.

Il convient de souligner à ce niveau qu'une partie du volume de la goutte n'est pas sondée par les électrodes de travail. En effet, dans le cas d'une configuration 4E, le contact est établi entre les électrodes au temps t_0 lorsque le bord aval de la goutte a atteint la contre électrode (*Figure 2.15A*). Ainsi, une partie du contenu de la goutte située entre WE2 et CE n'est pas analysée par la cellule électrochimique. Il en est de même pour la configuration 5E pour laquelle il s'agit de la partie de la goutte comprise entre WE3 et CE. Cependant, les conditions expérimentales sont telles que les distances entre WE2 et CE, et entre WE3 et CE resteront négligeables par rapport à la longueur totale des gouttes employées. Ceci sera vérifié systématiquement pour définir des conditions expérimentales appropriées.

2.3.3 Régime de fonctionnement entre électrodes de travail

Il convient de fixer le régime de fonctionnement entre deux électrodes de travail, à savoir si elles doivent être couplées ou fonctionner séquentiellement selon les notions abordées dans le paragraphe 1.2.2. Rappelons que le régime de fonctionnement entre deux électrodes de travail dépend de la vitesse du fluide, de la taille des électrodes et de la distance qui les sépare. En principe, ce choix n'engendrera pas de limitation particulière sur l'étude qui sera effectuée. Par commodité, il sera cependant plus facile de fixer un régime séquentiel pour que les électrodes puissent opérer de façon indépendante. Cela permettra de contrôler facilement leur fonctionnement au cours des expériences en se référant à des prédictions théoriques (paragraphe 3) sans avoir à simuler précisément leurs réponses. Le tableau ci-dessous montre que les critères seront réunis en considérant une vitesse moyenne de déplacement des gouttes de $500 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Cette vitesse est équivalente à un nombre de Péclet égal à 25 en considérant un coefficient de diffusion $D = 8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ et une hauteur de canal $h = 40 \mu\text{m}$.

Tableau 2.1 : Conditions expérimentales pour déterminer les régimes entre les électrodes de travail pour les différentes configurations à $Pe=25$.

	WE1	WE1-WE2	WE2	WE2-WE3	WE3
Largeur w ou distance g (μm)	50	1000	50	400	200 400 700
Largeur $W = w / h$ ou distance $G = g/h$	1,25	25	1,25	10	5 10 17,5
G/Pe		1		0,4	
$(W_i + W_{i+1})/Pe$	$(W1+W2)/Pe = 0,1$		$(W2+W3)/Pe =$		0,25 0,45 0,75
Régime	Séquentiel		Séquentiel		

Les valeurs de $G_{WE1-WE2}/Pe$ et $G_{WE2-WE3}/Pe$ étant supérieures à 0,25 (critère d'après la Figure 2.8), il résulte que les couples d'électrodes (WE1, WE2) et (WE2, WE3) opéreront tous deux en régime séquentiel. La composition de la solution aura donc le temps de s'homogénéiser sur la hauteur du canal entre deux électrodes de travail successives.

2.3.4 Médiateur et potentiel appliqué

Dans le but de mener des détections par ampérométrie, il est important au préalable d'évaluer le potentiel d'oxydation du ferrocyanure de potassium ($K_4[Fe(CN)_6]$) par rapport à l'électrode de pseudo-référence en voltamétrie cyclique.

A partir des voltamétries cycliques de la *Figure 2.15*, nous pouvons noter que l'électrode de pseudo-référence en platine permet d'effectuer des mesures stables. En effet, sur 10 cycles successifs, le potentiel du couple Fe^{II}/Fe^{III} demeure constant aux alentours de 0 V vs RE. Le potentiel d'équilibre que prend l'électrode de pseudo-référence correspond bien à celui du couple réversible Fe^{II}/Fe^{III} . Il convient également de noter la réduction de l'oxygène au potentiel de -0,6 V vs Pt. Nous remarquons que la voltamétrie devient stable à partir du 4^{ème} cycle excepté pour une contribution observée à 0,8V vs RE que nous attribuons à l'oxydation de chlorures adsorbés à la surface de l'électrode [176].

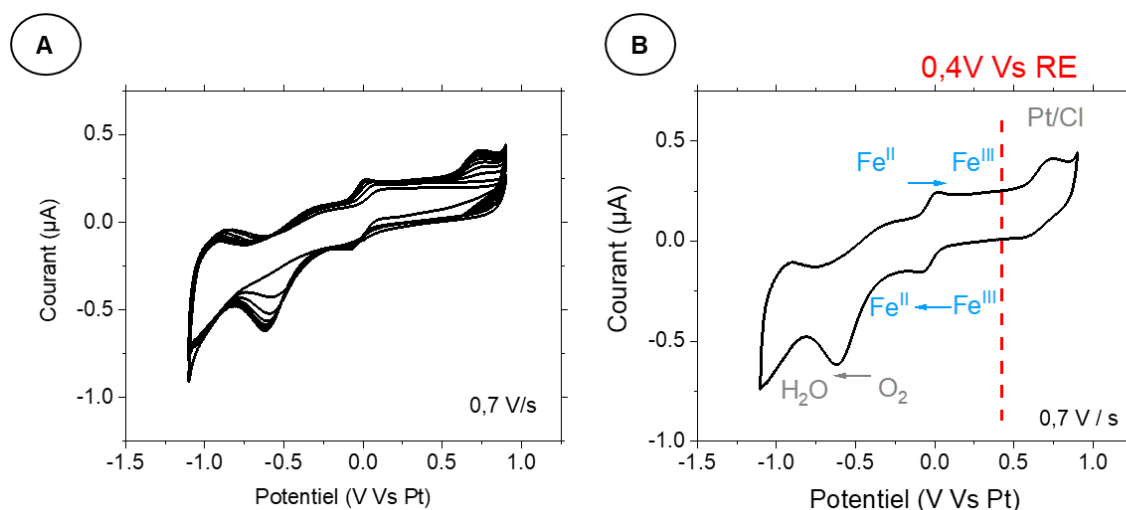


Figure 2.15 : Voltamogramme cyclique d'une solution de ferrocyanure de potassium à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans $KCl 0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, réalisée sur une électrode microbande de $50 \mu\text{m}$ dans une goutte stationnaire placée sur la cellule électrochimique. A. 10 cycles sont réalisés pour nettoyer la surface de l'électrode. B. Le dernier cycle permet de définir le potentiel utile pour une oxydation de Fe^{II} par chronoampérométrie.

Entre chaque série de mesure, une voltamétrie cyclique de 10 cycles sera réalisée pour s'assurer de la régénération de l'état de surface de l'électrode de travail : cela permet d'éviter tout phénomène de passivation d'électrode, et donc toute dérive du signal ampérométrique entre les séries de mesure.

Pour détecter le ferrocyanure de potassium en chronoampérométrie, il sera pertinent de sélectionner un potentiel d'oxydation de **0,4V vs RE**, soit un potentiel de 400 mV plus positif que le potentiel standard apparent du couple $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$.

3 Détection de gouttes de contenu homogène

Dans un premier temps, nous allons étudier la détection de gouttes homogènes par une configuration 4E de cellule électrochimique afin de caractériser l'ensemble du système. Cette approche consistera à analyser les réponses en chronoampérométrie en évaluant les quantités de charge par l'intégration des courants.

3.1 Caractéristiques des réponses en chronoampérométrie

Comme précédemment, l'identification des temps caractéristiques de connexion et de déconnexion des électrodes ont permis de déterminer la vitesse et la taille des gouttes.

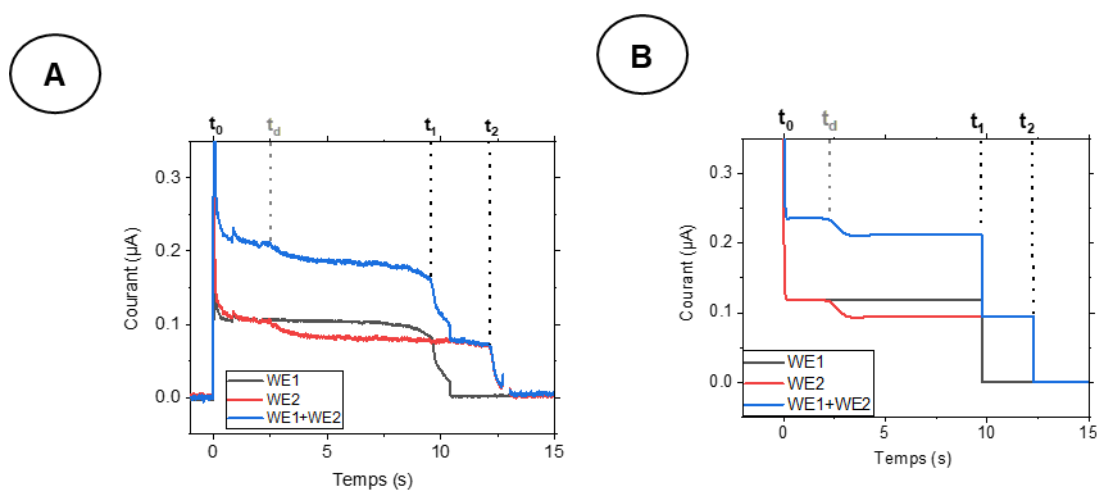


Figure 2.16 : A. Signal électrochimique résultant du passage d'une goutte de 41 nL de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ se déplaçant à $394 \mu\text{m} \cdot \text{s}^{-1}$ sur la cellule électrochimique. B. Simulation numérique d'une chronoampérométrie pendant le passage d'un volume de phase aqueuse équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de même concentration.

Nous avons reporté Figure 2.16A un exemple de réponses obtenues expérimentalement en chronoampérométrie lors de la détection d'une goutte de contenu homogène. Grâce au bipotentiostat, les mesures de courant ont pu être réalisées indépendamment sur les deux électrodes de travail polarisées au même potentiel de 0,4 V vs RE. La goutte passant à **vitesse**

constante sur les électrodes, nous obtenons comme attendu des plateaux de courant lors de la détection ampérométrique suivant les quatre temps caractéristiques t_0 , t_d , t_1 et t_2 .

Pour les conditions expérimentales de la *Figure 2.16A*, le volume non détecté V_{nd} de la goutte, qui correspond à un volume de solution localisé entre WE2 et CE, est d'environ 2 nL. Par rapport au volume de la goutte de 41 nL, ce volume représente alors moins de 5% du volume total.

Pour les mêmes conditions expérimentales, les réponses théoriques des deux électrodes ont été simulées numériquement *Figure 2.16B*. En considérant la géométrie du dispositif, puis en introduisant comme paramètres d'entrée les temps caractéristiques (t_0 , t_1 , et t_2), ainsi que la concentration et le coefficient de diffusion de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$, nous pouvons évaluer en retour les variations théoriques des courants ainsi que le temps caractéristique t_d . Nous pouvons observer en *Figure 2.16B* qu'il y a un bon accord entre les données théoriques et expérimentales, ce qui confirme la justesse des prévisions ainsi que la qualité des mesures expérimentales.

3.2 Analyse du contenu de gouttes

Pour évaluer le contenu de goutte détecté, nous avons déterminé la charge Q_d obtenue par intégration du courant puis nous avons comparé cette charge à la charge Q estimée à partir du volume V et de la concentration c^0 de la goutte par la relation :

$$Q = Fc^0V \quad (2.14)$$

Dans ce cas, le rapport Q_d/Q représente le taux de détection Γ , c'est-à-dire la proportion d'espèces détectées par chaque électrode par rapport à la charge initiale Q .

Pour tester l'analyse du contenu de gouttes homogènes, des mesures ont été réalisées pour différentes concentrations c^0 variant entre $0.2 \cdot 10^{-3}$ et $2 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. La vitesse de passage ainsi que le volume des gouttes ont été maintenus constants aux incertitudes expérimentales près. Les valeurs ont été systématiquement déterminées à partir des temps de transition t_0 , t_1 et t_2 mesurés à partir des réponses en chronoampérométrie. Pour ces séries, nous avons obtenu les valeurs moyennes $v=(512\pm 43)$ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et $V=(38\pm 7)$ nL respectivement.

La *Figure 2.17* représente alors les relations entre Q_d et Q pour la contribution de chaque électrode ainsi que pour la somme. En premier lieu, nous observons bien une relation linéaire

entre la charge détectée et la charge de la goutte. Chaque pente correspond à un taux de détection Γ . Il est de 12% environ pour chaque électrode et il est de 24% pour les deux électrodes.

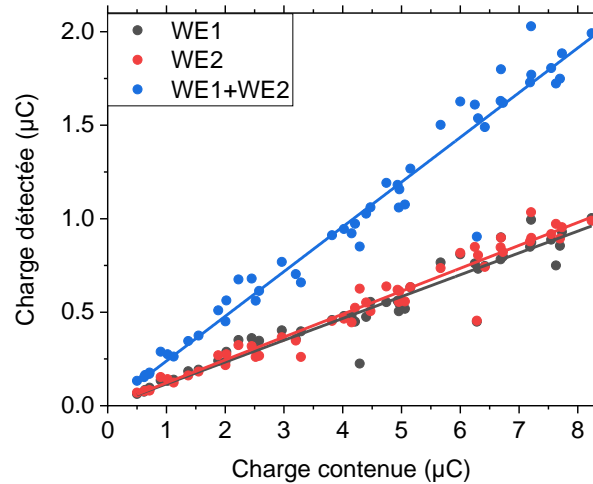


Figure 2.17 : Représentation de la charge détectée en fonction de la charge contenue dans les gouttes. Les régressions linéaires présentent des pentes égales à 0,117 en noir ($R^2=0,99$) pour WE1, 0,122 en rouge ($R^2=0,99$) pour WE2 et 0,239 en bleu ($R^2=0,99$) pour WE1+WE2

Les taux de détection de WE1 et WE2 sont similaires et résultent de la combinaison de deux phénomènes :

- WE2 détecte une concentration apparente légèrement inférieure à la concentration initiale présente dans la goutte en raison de l'appauvrissement généré par le fonctionnement de WE1 située en amont. Ce phénomène entrainerait par conséquent un taux de détection de WE2 plus faible que WE1.
- En contrepartie, WE1 sonde une plus faible longueur de goutte que WE2. La partie non sondée correspond à une distance équivalente au gap existant entre WE1 et WE2. Ce processus entrainerait ainsi un taux de détection de WE1 plus faible que WE2.

Suivant nos conditions expérimentales et géométrie de dispositif, le second phénomène est prépondérant, ce qui se traduit par une pente correspondant à WE2 très légèrement supérieure à WE1.

Dans ce qui suit, nous avons estimé les taux de détection théoriques des électrodes en supposant que la vitesse de goutte était assimilable à la vitesse moyenne de fluide au niveau des électrodes,

en raison de la convection interne de recirculation (cf paragraphe 1.2.1). Nous avons alors comparé les valeurs théoriques et expérimentales des taux de détection de chaque électrode en fonction de leur positionnement le long du microcanal et de leur taille (*Tableau 2.2*). Au vu des valeurs obtenues, un bon accord a été constaté, validant ainsi l'hypothèse d'une égalité entre vitesse de goutte et vitesse moyenne de fluide à l'intérieur des gouttes.

Tableau 2.2 : Comparaison des taux de détection Γ expérimentaux et théoriques dans le cas de gouttes homogènes pour WE1, WE2 et WE1+WE2.

	WE1	WE2	WE1+WE2
Γ expérimental	0.117 ± 0.002	0.122 ± 0.002	0.239 ± 0.004
Γ théorique	0.11	0.13	0.24

Une autre façon d'analyser les données consiste à évaluer la concentration apparente détectée c_d par la relation :

$$c_d = \frac{Q_d}{FV} \quad (2.15)$$

avec F la constante de Faraday (96485 C.mol⁻¹) et V le volume moyen de goutte.

L'ensemble de ces résultats a ainsi permis de caractériser le fonctionnement du dispositif avec une cellule électrochimique à 4 électrodes (4E) et des gouttes de composition homogène. Les paramètres physiques tels que la vitesse et le volume de gouttes, ont pu être contrôlés expérimentalement et déterminés avec précision, ce qui a contribué à l'obtention de séries de données reproductibles et cohérentes. L'intégration des courants aux incertitudes expérimentales près a permis d'évaluer les taux de détection des électrodes conformément aux prévisions théoriques en fonction des conditions opératoires employées.

4 Détection de gouttes de contenu hétérogène

Afin de créer des gouttes inhomogènes, nous effectuerons des mélanges à différents niveaux de dilution en utilisant une solution aqueuse contenant Fe(CN)₆⁴⁻ à $c^{\circ}=2.10^{-3}$ mol.L⁻¹ dans KCl 0,5 mol.L⁻¹ pour la génération de gouttes par flow-focusing et une solution aqueuse composée exclusivement de KCl 0,5 mol.L⁻¹ pour l'étape d'injection lors de la fusion active au niveau de la jonction T (*Figure 2.11*). La quantité de Fe(CN)₆⁴⁻ présente dans la goutte finale après

injection dépendra donc du rapport des volumes entre celui de la goutte initiale et celui de la phase aqueuse injectée. Pour rappel, le volume V_1 de la goutte générée par flow-focusing sera évalué optiquement et le volume ($V=V_1+V_2$) de la goutte finale sera déterminé par voie électrochimique. Les deux configurations de cellule électrochimique 4E et 5E seront employées.

4.1 Caractéristiques des réponses en chronoampérométrie

4.1.1 *Mise en évidence de l'hétérogénéité des gouttes*

Des premières estimations ont été réalisées sur la base de conditions opératoires moyennes pour évaluer approximativement le temps nécessaire pour homogénéiser par diffusion le contenu d'une goutte. Pour cela, nous avons reporté dans le *Tableau 2.3* les durées de diffusion sur la hauteur, la largeur et la longueur d'une goutte de 34 nL, ainsi que les distances parcourues longitudinalement pendant ces durées pour une vitesse moyenne de goutte de $500 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. En comparaison, le temps de parcours entre la jonction T et la zone de détection, sur une distance de 10 mm, est approximativement de 20 s.

Tableau 2.3 : Tableau récapitulatif des durées d'homogénéisation estimées pour une goutte suivant ses trois dimensions (hauteur, largeur et longueur) et distances correspondantes parcourues dans le microcanal par convection.. Vitesse de la goutte $v=500 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Coefficient de diffusion de l'espèce électroactive $D = 8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Durée de diffusion estimée égale à $(\text{dimension caractéristique})^2 / D$.

	Hauteur	Largeur	Longueur
Dimensions de la goutte (μm) (volume 34 nL)	40	200	4300
Durée d'homogénéisation par diffusion (s)	2	50	23112
Distance parcourue par la goutte (cm)	0,1	2.5	1156

Ces valeurs montrent que la durée de 20 s nécessaire à la goutte pour atteindre la zone de détection est largement suffisante pour assurer une homogénéisation de son contenu par diffusion sur sa hauteur, mais trop courte pour une homogénéisation sur sa longueur et sa largeur. Par conséquent, les concentrations locales au sein de la goutte seront correctement sondées par les électrodes (même si une partie seulement de la goutte sera détectée sur sa hauteur en régime convectif).

Les réponses en chronoampérométrie devraient être bien caractéristiques de l'hétérogénéité de la goutte sur sa partie longitudinale. La *Figure 2.18* présente un schéma explicatif.

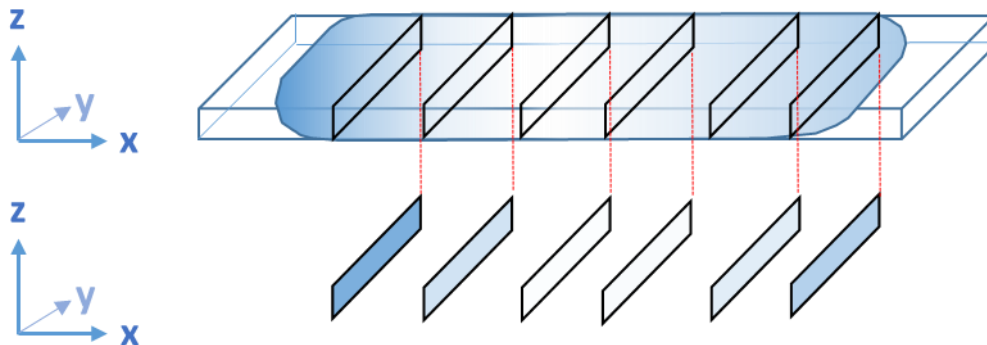


Figure 2.18 : Schéma d'une goutte de contenu inhomogène avec vues en coupe du niveau de concentration à différentes positions x.

Un exemple de réponse ampérométrique mesurée lors du passage d'une goutte hétérogène est présenté sur *Figure 2.19* pour la configuration 4E, puis *Figure 2.20* pour la configuration 5E.

Nous pouvons observer sur ces figures que les courants des deux ou trois électrodes de travail varient significativement au cours de la détection de la goutte (*Figure 2.19A* et *Figure 2.20A*). Malgré la forme des réponses, nous retrouvons bien pour les deux cellules électrochimiques 4E et 5E les trois temps caractéristiques t_0 , t_1 et t_2 . Il est ainsi toujours possible de déterminer la vitesse et le volume des gouttes à l'aide des équations (2.12) et (2.13). En revanche, le temps caractéristique t_d du couplage par convection n'est plus identifiable en raison de trop grandes variations de courant. Pour la configuration 5E, le temps t_3 est très mal défini expérimentalement en raison de la grande taille de l'électrode WE3. En effet, la goutte quitte difficilement la surface hydrophile de l'électrode. Elle tend à se déformer en réduisant sa surface de contact mais en maintenant toujours un contact étroit avec l'électrode. Il résulte une diminution progressive du courant.

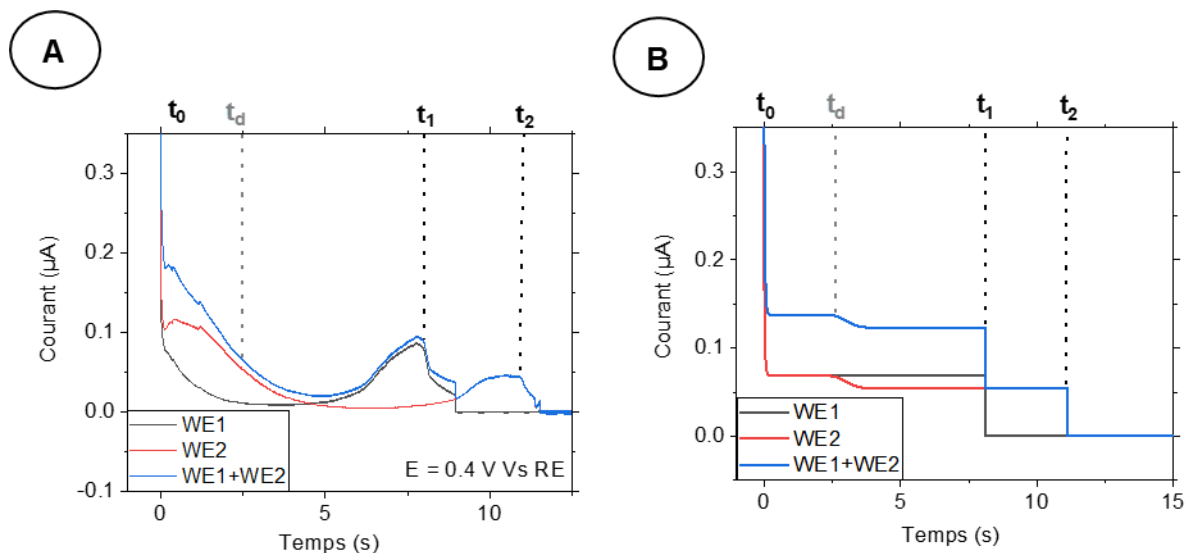


Figure 2.19: A. Chronoampérométrie lors du passage d'une goutte de contenu inhomogène de volume $V=21$ nL ($V_1 = 12.6$ nL de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $c^0=2.10^{-3}$ mol.L $^{-1}$ et $V_2 = 8.4$ nL de KCl 0.5 mol.L $^{-1}$) de vitesse $v=333$ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ mesurée avec une cellule électrochimique de configuration 4E. B. simulation numérique d'une chronoampérométrie correspondant au passage d'un volume de phase aqueuse homogène équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de concentration moyenne $c^0 V_1/(V_1+V_2)=1.2 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$.

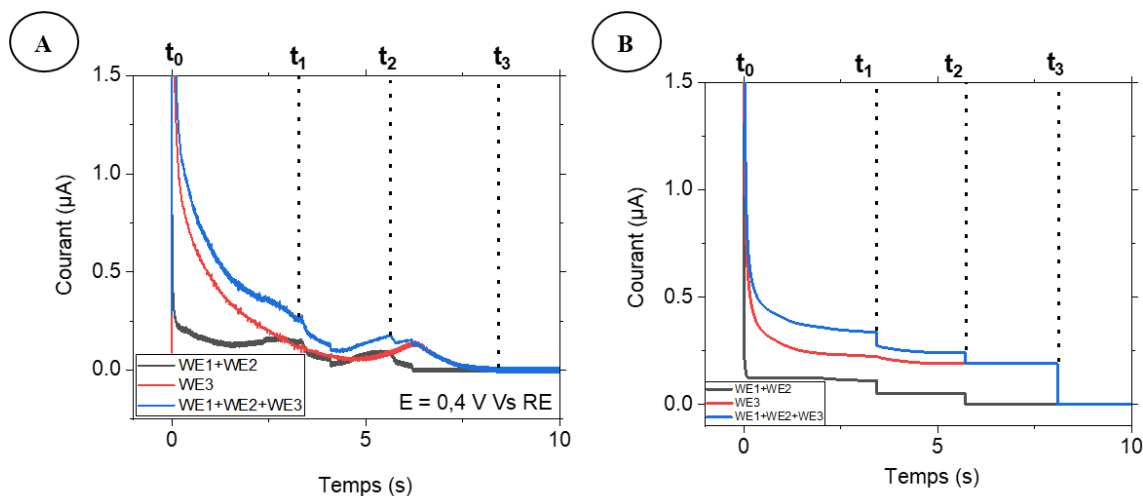


Figure 2.20 : A. Chronoampérométrie pendant le passage d'une goutte inhomogène de volume $V=31$ nL ($V_1=16$ nL de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $c^0=2.10^{-3}$ mol.L $^{-1}$ et $V_2 = 15$ nL de KCl 0.5 mol.L $^{-1}$) et de vitesse 436 $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ sur la cellule électrochimique 5E. $w_{WE3} = 700\mu\text{m}$ et B. simulation numérique d'une chronoampérométrie correspondant au passage d'un volume de phase aqueuse de composition homogène équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de concentration moyenne $c^0 V_1/(V_1+V_2)=1.03 \cdot 10^{-3}$ mol.L $^{-1}$.

Comme sur la Figure 2.16B, nous avons simulé les réponses en chronoampérométrie pour ces conditions expérimentales en considérant le passage d'une goutte de contenu homogène et de concentration égale à la concentration moyenne de la goutte hétérogène (Figure 2.19B et Figure 2.20B). Contrairement au cas de gouttes homogènes (Figure 2.16), les simulations ne

reproduisent plus les variations expérimentales des courants. Les différences s'expliquent aisément ici par l'hétérogénéité des gouttes. Nous pouvons néanmoins analyser les charges obtenues par intégration du courant et les comparer entre expériences et simulations dans le *Tableau 2.4*.

Tableau 2.4 : Comparaison des charges obtenues par intégration des courants expérimentaux lors de la détection d'une goutte de contenu inhomogène et par intégration des courants obtenus pour la simulation numérique correspondant à une concentration homogène moyenne de $c^{\circ}V_1/(V_1+V_2)$. Les données sont celles de la Figure 2.19 pour la configuration 4E et de la Figure 2.20 pour la configuration 5E. Les charges sont exprimées en μC .

		Expérimental	Simulé
4E	WE1	0.46	0.57
	WE2	0.67	0.66
	WE1+WE2	1.14	1.23
5E	WE1+WE2	0.73	0.57
	WE3	1.75	2.17
	WE1+WE2+WE3	2.48	2.74

En revanche, les quantités de charge détectées Q_d obtenues par intégration des courants restent en accord avec les prévisions à 10% près, ce qui valide à ce niveau les hypothèses émises pour détecter quantitativement, à l'aide de ces dispositifs, le contenu de gouttes hétérogènes.

4.1.2 Evaluation de quantités de charge

Dans ce qui suit, nous avons comparé les charges détectées Q_d aux charges contenues Q lors de la détection de gouttes hétérogènes dans la configuration 4E (*Figure 2.21*). Pour cela nous avons fixé une gamme de concentrations comprises entre 0.2 et $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ pour la solution de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Comme pour les résultats de la *Figure 2.17*, nous observons bien des comportements linéaires. Pour étendre la comparaison, nous avons également reporté sur la même figure une série de mesures réalisées à partir de gouttes homogènes en utilisant la même configuration de cellule, et en imposant des vitesses v et volumes de gouttes V comparables. Les taux de détection Γ (ou pentes des droites) s'avèrent comparables, même si nous notons ici une valeur légèrement inférieure pour les gouttes hétérogènes. Cela peut s'expliquer par leur plus faible vitesse de

circulation moyenne v . Malgré l'hétérogénéité des gouttes, ces résultats montrent que nous conservons une bonne précision sur la détermination quantitative de leur contenu.

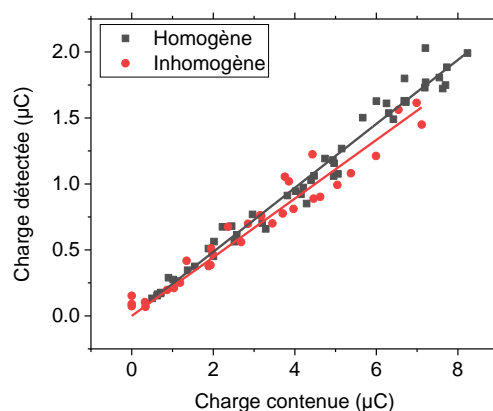


Figure 2.21 : Comparaison des charges obtenues par intégration des courants de WE1+WE2 pour des gouttes homogènes ($v=(512\pm 43)\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et $V=(38\pm 7)\text{nL}$, mêmes données que celles de la Figure 2.17) et des gouttes hétérogènes ($v=(446\pm 77)\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et $V=(34\pm 6)\text{nL}$). Cellule électrochimique de configuration 4E. Les pentes sont de 0.24 ($R^2=0.99$) pour la série en noir, et 0.22 ($R^2=0.99$) pour la série en rouge.

4.1.3 Définition du degré d'hétérogénéité

Dans le cas de gouttes hétérogènes, nous souhaitons établir un paramètre permettant de caractériser le degré d'hétérogénéité des gouttes à partir de l'analyse des réponses ampérométriques. En effet, d'après nos premières estimations effectuées au paragraphe 4.1.1. les conditions expérimentales sont réunies pour pouvoir suivre les variations locales de concentration sur la section transversale des gouttes pendant leur passage sur la cellule électrochimique. Un exemple d'une telle mesure est donné Figure 2.22B .

Nous avons choisi de définir ce paramètre à partir de la réponse de l'électrode WE2 pour la configuration 4E et à partir de l'électrode WE3 pour la configuration 5E, du fait que ces électrodes sont connectées le plus longtemps au cours du passage des gouttes. Dans ce cas, ce sont les courants situés dans l'intervalle de temps entre t_0 et t_2 (configuration 4E) ou bien entre t_0 et t_3 (configuration 5E) qui seront considérés.

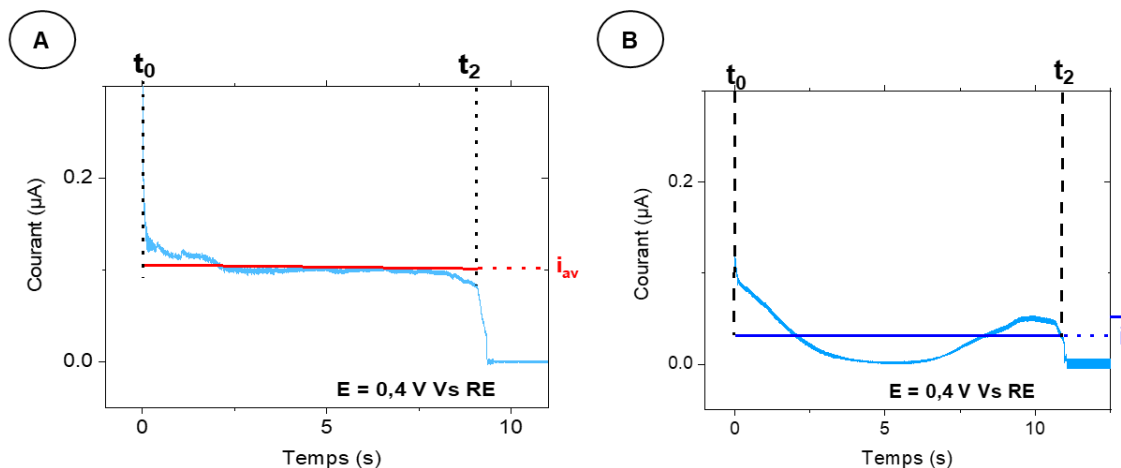


Figure 2.22 : Chronoampérogrammes obtenus expérimentalement sur la seconde électrode de travail à partir d'une cellule électrochimique de configuration 4E. A. Cas d'une goutte homogène de volume 37 nL de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^0 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et de vitesse $457 \mu\text{m.s}^{-1}$. B. Cas d'une goutte hétérogène de volume $V = 43 \text{ nL}$ (dont $V_1 = 24 \text{ nL}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^0 = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $V_2 = 19 \text{ nL}$ de KCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$) de vitesse $413 \mu\text{m.s}^{-1}$ et de concentration moyenne $c^0 V_1 / (V_1 + V_2) = 1,11 \text{ mol.L}^{-1}$.

Dans un premier temps, le courant moyen évalué expérimentalement dans cet intervalle de temps sera assimilé à celui du passage d'une goutte de même contenu mais homogène. Ainsi, tout écart de courant par rapport à cette valeur moyenne traduira une hétérogénéité de concentration longitudinalement au sein de la goutte. C'est pourquoi, l'écart-type calculé à partir de la réponse en courant donnera cette première estimation. Cependant, pour définir un degré d'hétérogénéité qui puisse être comparé entre différentes séries de mesures, nous avons choisi dans un second temps de normaliser cet écart type par un courant de référence. Dans ce qui suit, nous avons considéré le courant moyen de plateau i_{av} (Figure 2.22A) estimé lors du passage d'une goutte homogène de concentration égale à celle de la solution de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Dans ce cas, le degré d'hétérogénéité est alors donné par l'équation 2.16.

$$\frac{\sigma}{i_{av}} = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^N (i_i - \bar{i})^2}{N i_{av}^2}} \quad (2.16)$$

avec σ l'écart-type du signal, i_i le courant en chaque point de mesure, \bar{i} le courant moyen, N le nombre total de points enregistrés et i_{av} le courant de référence. Dans l'exemple de la Figure 2.22B, cette équation donne un degré d'hétérogénéité égal à 0,23, au regard de valeurs pouvant être comprises entre 0 et 0,5 environ. Afin de mieux caractériser le contenu des gouttes dans ces conditions, nous souhaitons relier dans ce qui suit le degré d'hétérogénéité à un second paramètre qui permettrait d'évaluer l'efficacité de mélange entre les volumes V_1 et V_2 au moment de la détection.

4.1.4 Définition de l'efficacité de mélange

Le degré d'hétérogénéité dépend du rapport entre les volumes V_1 et V_2 mais également de l'efficacité du mélange entre ces deux volumes au moment de la détection. L'influence du rapport $V_2/(V_1+V_2)$ sur le degré d'hétérogénéité est facilement calculable théoriquement à partir de l'équation 2.16 dans le cas limite où il n'y a pas de mélange supposé entre V_1 et V_2 . Il s'agit de la courbe noire représentée sur la *Figure 2.23*. Cette courbe correspond ainsi à une efficacité de mélange nulle. A contrario, lorsque nous supposons une efficacité de mélange totale, la courbe correspond à un degré d'hétérogénéité nul, quel que soit le rapport $V_2/(V_1+V_2)$. Entre ces deux cas limites, nous pouvons alors définir une efficacité de mélange en appliquant un facteur de proportionnalité, ce qui nous permet de tracer des courbes correspondantes (*Figure 2.23*). Ainsi, en se référant à ces courbes, il est possible d'évaluer une efficacité de mélange à partir du rapport $V_2/(V_1+V_2)$ et du degré d'hétérogénéité des gouttes. Dans l'exemple de la *Figure 2.22B*, l'efficacité de mélange peut être estimée approximativement égale à 60% pour un degré d'hétérogénéité de 0,23 et un rapport $V_2/(V_1+V_2)$ de 0.44.

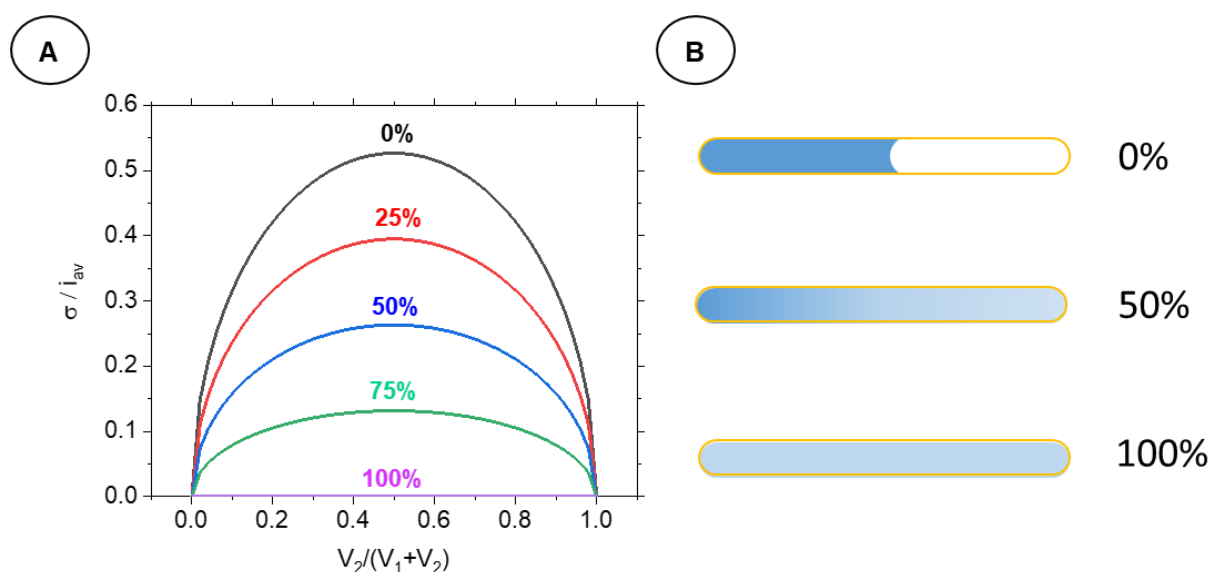


Figure 2.23 : A. Courbes théoriques représentant le degré d'hétérogénéité en fonction du rapport $V_2/(V_1+V_2)$ pour différents taux de mélange : 0, 25, 50, 75 et 100%. B. Schémas de gouttes illustrant trois taux de mélange caractéristiques pour un rapport $V_2/(V_1+V_2)=0.5$.

4.2 Etude des paramètres caractéristiques

Il faudra tenir compte du volume non-sondé par les électrodes (cf paragraphe 2.3.2) et estimer l'erreur portée sur les quantifications. Il s'agit de la partie de goutte correspondant à la distance WE2-CE pour la configuration 4E et de la partie correspondant à la distance WE3-CE pour la

configuration 5E. Ce volume non-déecté sera noté V_{nd} . Il sera d'autant plus négligeable que le volume de la goutte $V=V_1+V_2$ sera important.

Tableau 2.5 : Importance du volume non déecté par catégorie de volume de gouttes

Volume de gouttes (nL) $V=V_1+V_2$	Volume non déecté (nL) V_{nd}	Volume non déecté / Volume de goutte (%) V_{nd}/ V_1+V_2
24 ± 4	2	0.083
35 ± 7	2	0.057
52 ± 7	2	0.038

Les distances WE2-CE et WE3-CE étant identiques dans les deux configurations de cellule, le volume V_{nd} sera le même. Nous avons évalué dans le *Tableau 2.5* l'importance du volume V_{nd} sur les trois volumes moyens de gouttes employées. Dans ces conditions opératoires, V_{nd} représentera au minimum 3,8% du volume total pour les plus grandes gouttes et jusqu'à 8,3% pour les plus petites.

4.2.1 Quantité de charge déectée

Comme pour la *Figure 2.21*, la *Figure 2.24* représente maintenant les quantités de charge déectées Q_d dans la configuration 4E. Elles ont été obtenues pour les trois séries de mesures mettant chacune en jeu les volumes de goutte moyens $V=V_1+V_2$ reportés dans le tableau 2.5. Ces nouveaux résultats montrent que les relations entre Q_d et Q sont toujours linéaires, quels que soient les volumes de goutte considérés.

De la même façon, la *Figure 2.25* montre des séries de mesures réalisées à volume moyen V fixé mais pour différentes tailles d'électrode WE3 dans la configuration 5E. Des comportements linéaires sont toujours constatés, quelle que soit la taille de l'électrode. Conformément à nos attentes, nous montrons que les électrodes de plus grandes tailles permettent d'augmenter sensiblement les taux de détection. En effet, une taille plus importante d'électrode permet de sonder une hauteur plus grande de solution à l'intérieur des gouttes. Ainsi, dans le cas présent, les valeurs du taux de détection sont portées respectivement à 49%, 65% et 77% pour des tailles WE3 de 200 μm , 400 μm et 700 μm . Ces valeurs seront ensuite comparées (*Figure 2.29*) avec les prévisions issues de simulations.

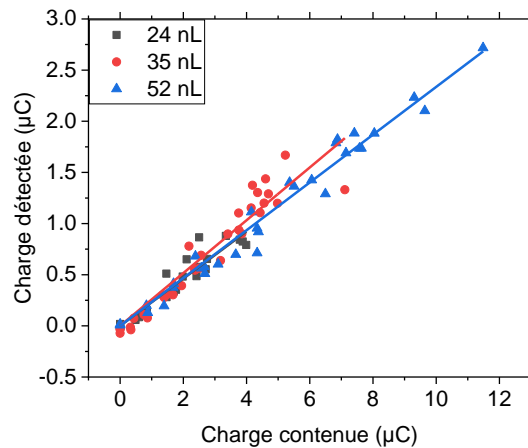


Figure 2.24 : Représentation des charges pour les séries de dilution correspondant aux trois volumes de goutte (24, 35 et 52 nL). Configuration 4E de la cellule électrochimique. Les droites de régression linéaire ont les pentes suivantes : 0.23 en bleu ($R^2=0.97$), 0.26 en rouge ($R^2=0.99$) et 0.22 en noir ($R^2=0.97$)

L'ensemble de ces résultats confirme donc la possibilité de déterminer quantitativement le contenu de gouttes, quels que soient les volumes respectifs V_1 et V_2 ou régimes de fonctionnement des électrodes de travail. Les résultats sont alors indépendants du degré d'hétérogénéité des gouttes.

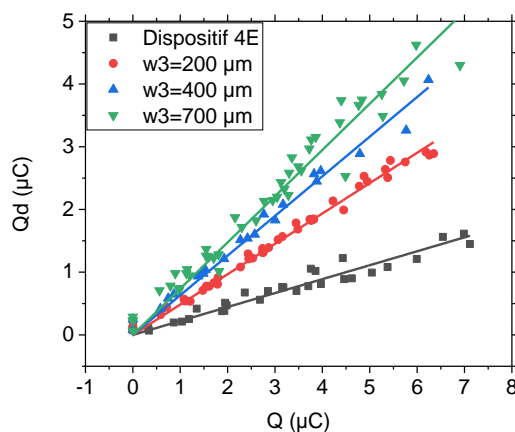


Figure 2.25 : Comparaison des charges détectées avec WE1+WE2 dans une configuration 4E (symboles noirs) et avec WE1+WE2+WE3 dans une configuration 5E ($w_{WE3} = 200\mu\text{m}$ symboles rouges, $w_{WE3} = 400\mu\text{m}$ symboles bleus, $w_{WE3} = 700\mu\text{m}$ symboles verts). Les régressions linéaires de pentes sont : 0.26 en noir ($R^2=0.99$) 0.49 en rouge ($R^2=0.99$) 0.65 en bleu ($R^2=0.99$) et 0.77 en vert ($R^2=0.98$) pour des séries de gouttes inhomogènes de volume (34 ± 6) nL et de vitesse (466 ± 77) $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$.

Les charges détectées Q_d , des séries de mesures présentées en Figure 2.24 et Figure 2.25 peuvent être également s'exprimer sous la forme de concentrations apparentes moyennes c_d par la relation :

$$c_d = \frac{Q_d}{\Gamma(V_1 + V_2)F} \quad (2.17)$$

Dans ce cadre, une représentation intéressante consiste à tracer ces concentrations c_d en fonction du rapport de volume $V_2/(V_1+V_2)$. En normalisant c_d par leur valeur maximale c^0 , soit par celle obtenue à $V_2 = 0$, nous obtenons en *Figure 2.26* et *Figure 2.27* des courbes ou droites dites de dilution, indépendamment du degré d'hétérogénéité des gouttes. Les données se regroupent en effet aux incertitudes expérimentales près autour d'une droite de pente -1. Comme précédemment, cette analyse montre, sous un autre mode de représentation, la cohérence des résultats, où il n'y a plus de dépendance des données avec le volume V et la vitesse v des gouttes, ni avec la taille des électrodes.

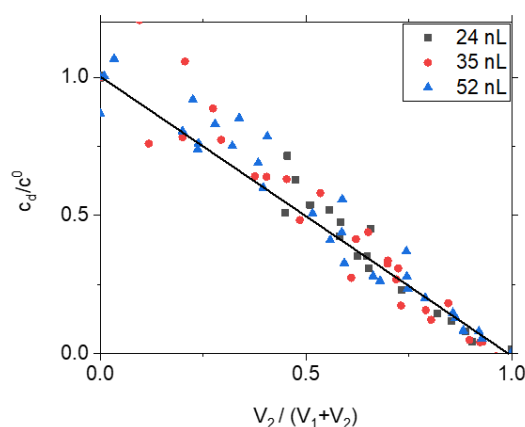


Figure 2.26 : Droite de dilution obtenue à partir des données de la Figure 2.24 pour les trois catégories de volumes de goutte (24, 35 et 52 nL). La droite noire représente la tendance attendue.

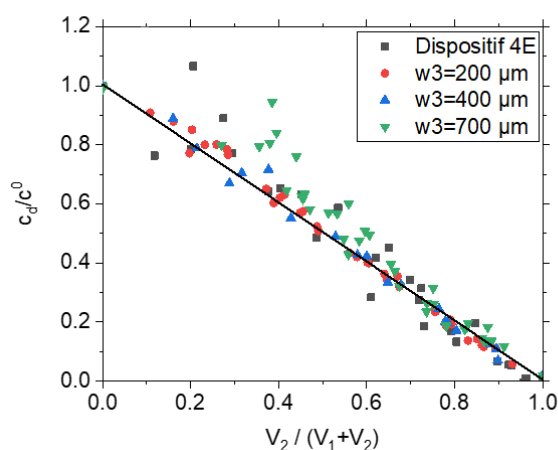


Figure 2.27 : Droite de dilution obtenue à partir des données de la Figure 2.25 pour les différentes configurations considérées. c^0 est une valeur de concentration de référence correspondant à la concentration de la solution aqueuse 1 sans dilution. La droite en noir correspond à la tendance attendue.

4.2.2 Evaluation du taux de détection

Nous avons évalué le taux de détection moyen Γ pour chaque série et avons reporté leurs valeurs sur la *Figure 2.28* en fonction du volume V des gouttes. Nous les avons également comparées avec la variation théorique pour la configuration 4E qui tient compte à la fois de la vitesse de circulation des gouttes (c'est-à-dire du régime convectif et de la hauteur de solution sondée au niveau des électrodes) et du volume de goutte non-détecté par la cellule électrochimique. Nous pouvons constater qu'aux incertitudes expérimentales près, les valeurs restent compatibles avec les prévisions théoriques.

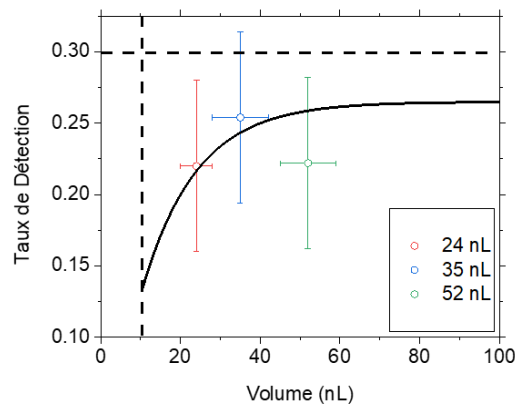


Figure 2.28 : Taux de détection en fonction du volume des gouttes : valeurs expérimentales issues des données de la Figure 2.26 et comparées à la variation théorique. La ligne verticale pointillée correspond à la limite de volume en-dessous laquelle il n'est plus possible de mener une détection avec notre cellule électrochimique de configuration 4E. La ligne horizontale pointillée correspond à la valeur limite de détection pour un volume infini.

Ces résultats montrent également que s'il y a une influence du volume non-détecté sur le taux de détection, elle peut être modérée. En effet, pour cette vitesse de circulation, les valeurs de Γ varient entre 0.15 et 0.25 pour des volumes de gouttes n'excédant pas 50 nL. Au-delà, il n'y a plus de contribution significative.

Il est intéressant aussi de positionner les taux de détection mesurés par rapport aux régimes de transport de masse définis au début de ce chapitre (paragraphe 1.2). Pour cela, les taux de détection évalués à partir des données de la *Figure 2.25* ont été tracés *Figure 2.29* en fonction du rapport $\Sigma Wi/Pe$ puis comparés à la variation théorique correspondante. Aux incertitudes expérimentales près, les valeurs de Γ suivent de façon satisfaisante les prévisions. Dans nos conditions expérimentales, le régime de Levich est clairement établi pour les tailles d'électrode w_{WE3} de 200 et 400 μm . Un régime intermédiaire est atteint pour w_{WE3} égal à 700 μm .

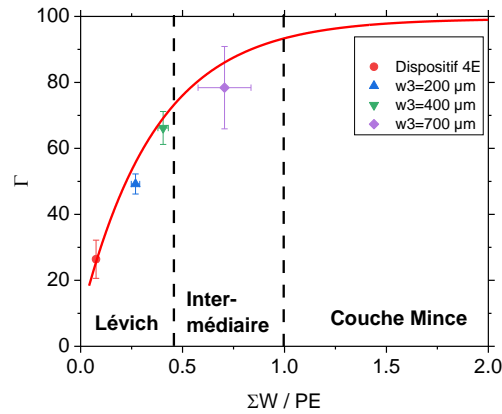


Figure 2.29 : Représentation des taux de détection par dispositif en fonction de $\Sigma Wi/Pe$ (avec $\Sigma Wi = (w_{WE1} + w_{WE2} + w_{WE3})/h$). Les lignes verticales pointillées délimitent les zones correspondant aux régimes de transport de masse : Levich, intermédiaire et couche mince. Les données correspondent à celles de la Figure 2.27.

Atteindre le régime de couche mince dans ces conditions aurait pour avantage de fixer un taux de détection maximal et de ne plus dépendre de la taille des électrodes. Cependant, en réduisant la vitesse des gouttes ou en augmentant la taille des électrodes, cela contribuerait à diminuer fortement les intensités de courant mesurées et donc à diminuer la précision des mesures.

4.2.3 Evaluation de l'efficacité de mélange

L'efficacité de mélange permet de caractériser expérimentalement le contenu de gouttes hétérogènes pour les différents rapports de volume $V_2/(V_1+V_2)$ employés. Dans l'objectif de caractériser les mélanges obtenus, nous avons évalué à partir de l'équation (2.16) le degré d'hétérogénéité de chaque goutte dans trois séries de mesures. Afin de pouvoir reporter des couples de valeurs (degré d'hétérogénéité, rapport de volume) sur des courbes théoriques telles que celles de la Figure 2.23, nous avons calculé des valeurs moyennes obtenues pour quelques rapports $V_2/(V_1+V_2)$.

La Figure 2.30 rassemble ces données en les positionnant par rapport à des courbes théoriques encadrant les variations observées. Ainsi, nous constatons que nos conditions expérimentales aboutissent pour la plupart à des efficacités de mélange comprises entre 45% et 70%. Comme attendu, les gouttes de volumes plus petits présentent des efficacités de mélange plus importantes : elles sont donc plus homogènes que les grandes. Cela s'explique aisément car il faut deux fois plus de temps pour homogénéiser le contenu d'une goutte de 52 nL que celui d'une goutte de 24 nL (cf Tableau 2.3).

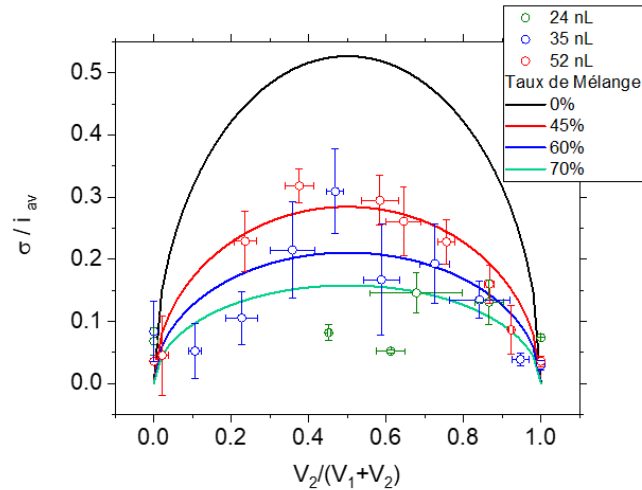


Figure 2.30 : Tendence de taux de mélange selon les séries de dilution correspondant aux 3 catégories de volume de goutte (24, 35 et 52 nL). Degrés d'hétérogénéité en fonction du taux de dilution $V_2/(V_1+V_2)$. Configuration 4E de la cellule électrochimique. Les courbes correspondent à la représentation des taux de mélanges théoriques en fonction de la dilution : 0% en noir, 45% en rouge et 70% en vert.

Dans le cas d'une configuration 5E, le degré d'hétérogénéité est déterminé à partir du courant de l'électrode de travail WE3 du fait qu'elle est connectée plus longtemps que WE1 et WE2. (Figure 2.31).

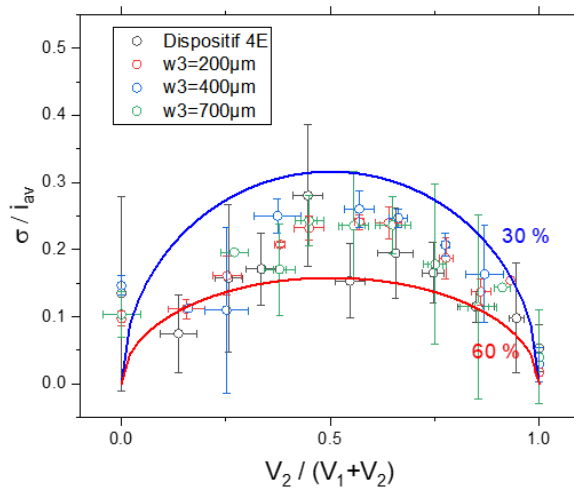


Figure 2.31 : Représentation des taux de mélange associés aux données de la Figure 2.25. Les symboles correspondent aux degrés d'hétérogénéité expérimentaux reportés en fonction du taux de dilution $V_2/(V_1+V_2)$. Les courbes correspondent à la représentation des taux de mélanges théoriques à 30 et 60%.

Nous visualisons sur cette représentation que le taux de mélange pour un dispositif de configuration 5E se situe globalement entre 30% et 60%, ce qui est cohérent avec les résultats

obtenus précédemment avec un dispositif de configuration 4E. Il est à noter que ce résultat était attendu du fait que la distance séparant la jonction T et le début de la zone de détection est similaire pour l'ensemble des dispositifs.

Nous pouvons conclure de cette partie que la détermination du contenu de goutte ne dépend pas de l'efficacité des mélanges effectués en amont de la détection. Autrement dit, le principal avantage de cette approche est de **ne pas nécessiter une optimisation des mélanges avant la détermination du contenu de goutte**. Comme nous l'avons décrit dans le précédent chapitre, obtenir des mélanges homogènes en microfluidique constitue une étape difficile à réaliser, voire critique. Ne pas imposer cette nécessité apporte une simplification et une meilleure adaptabilité des dispositifs microfluidiques aux conditions expérimentales lorsqu'une détection électrochimique est intégrée.

5 Titrations de gouttes

L'objectif de cette partie est d'étendre l'approche ci-dessus au cas de titrations de gouttes par fusion active en s'inspirant de la méthode des ajouts dosés. En effet, afin de déterminer les concentrations inconnues de gouttes, celles-ci peuvent être mélangées avec une solution étalon de concentration connue et être analysées sans atteindre une homogénéisation des contenus. Nous fixerons pour cela des conditions expérimentales similaires en employant la configuration 4E.

5.1 Principe

Afin d'illustrer ce principe, nous allons réaliser des mélanges entre deux solutions aqueuses (volumes V_1 et V_2) de concentrations différentes c_1 et c_2 . Contrairement à la méthode des ajouts dosés, il ne sera pas possible dans ces conditions de négliger l'effet de dilution. En fonction des rapports de volume entre les deux solutions, la charge détectée est exprimée par la relation :

$$Q_d = \Gamma F(c_1 V_1 + c_2 V_2) \quad (2.18)$$

Elle peut être réécrite sous la forme :

$$\frac{Q_d}{V_1} = \Gamma F \left(c_1 + \frac{c_2 V_2}{V_1} \right) \quad (2.19)$$

En reportant Q_d/V_1 en fonction de c_2V_2/V_1 , une variation linéaire est attendue dont l'intersection sur l'axe des abscisses permet d'accéder à la valeur $-c_1$.

5.2 Titration par une solution de concentration supérieure à l'échantillon

Dans un premier temps, nous avons réalisé des séries de titration avec une solution plus concentrée que la solution supposée inconnue (cas $c_1 < c_2$). La concentration c_1 de l'échantillon a été fixée à $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans KCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$ alors que celle de la solution titrante c_2 a été fixée à $0.98 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Un exemple est donné *Figure 2.32* où le rapport Q_d/V_1 est tracé en fonction du rapport C_2V_2/V_1 .

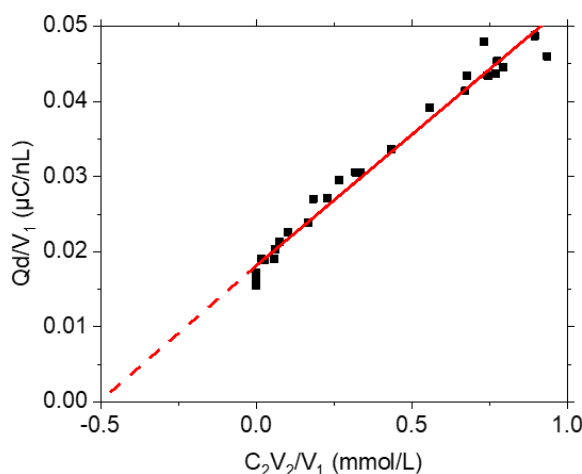


Figure 2.32 : Titration par excès avec des gouttes hétérogènes de volume $V=(29 \pm 2) \text{ nL}$ et de vitesse $v=(358 \pm 14) \mu\text{m.s}^{-1}$. L'équation de la régression linéaire est : $y=0.035x + 0.018$ ($R^2=0.98$). $c_1=0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $c_2=0.98 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Dans ces conditions, nous obtenons par régression linéaire une concentration expérimentale $c_1 = (0.49 \pm 0.01) \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-3}$, ce qui correspond à 2% près à la concentration imposée.

5.3 Titration par une solution de concentration inférieure à l'échantillon

Il est également intéressant d'appliquer cette procédure dans le cas où la solution titrante est de concentration inférieure à celle de la solution à titrer (cas $c_1 > c_2$). Pour ce faire, nous avons fixé la concentration c_1 à $0.5 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ puis elle de c_2 à $1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$.

Nous obtenons en *Figure 2.33* une concentration $c_1 = (1.02 \pm 0.10) \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, conformément à nos attentes. Cependant, nous pouvons observer que la dispersion des points est plus

importante dans cet exemple, en raison des plus faibles concentrations mises en jeu, et donc des plus faibles intensités de courant mesurées.

Sans avoir eu pour objectif d'optimiser les performances, nous avons évalué dans nos conditions expérimentales, une limite de détection d'environ 10^{-4} mol.L⁻¹ à partir de la pente et de la déviation standard.

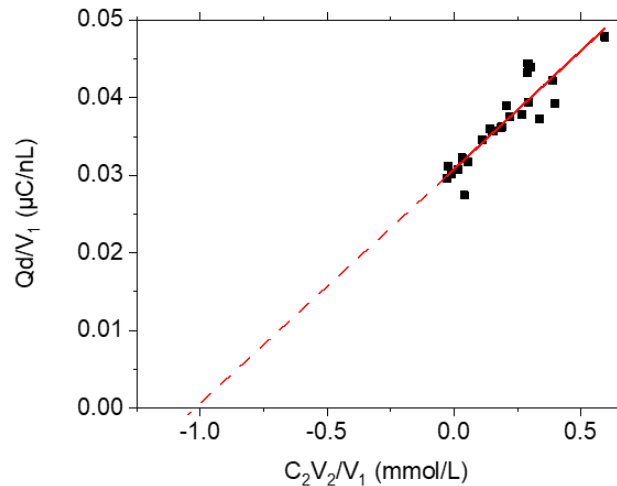


Figure 2.33 : Titration par défaut de concentration avec des gouttes inhomogènes de volume $V=(31\pm 5)$ nL et de vitesse $v=(346\pm 51)$ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. L'équation de la régression linéaire ou droite de tendance est : $y=0,031x+0,031$ ($R^2=0,91$). $c_1=0.5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, $c_2=1 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹.

Nous avons ainsi montré qu'il était possible par ce concept de réaliser des titrations de gouttes par fusion active de contenus et par détection électrochimique, sans pour autant attendre une homogénéité des mélanges. La titration est possible à partir du moment où les volumes V_1 et V_2 sont parfaitement maîtrisés et déterminés expérimentalement. Pour rappel, les volumes V_1 ont ici été évalués optiquement et les volumes $V = V_1 + V_2$ ont été déterminés à partir de nos mesures électrochimiques, le but étant de simplifier la conception des dispositifs utilisés. Toutefois, il est facilement envisageable d'introduire dans ce type de dispositif une seconde cellule électrochimique à deux électrodes (entre le flow-focusing et la jonction) et d'employer un multipotentio-stat pour pouvoir effectuer l'ensemble des déterminations par voie électrochimique, à savoir les déterminations de vitesse, volume et contenu.

6 Conclusion

Dans ce chapitre, des cellules électrochimiques à 2 ou 3 électrodes de travail ont été étudiées pour la détection de gouttes à fort rapport d'aspect en microfluidique diphasique. Il a été montré

qu'il était possible de déterminer la vitesse, le volume, et d'obtenir des informations sur le contenu d'une goutte à partir d'une même mesure ampérométrique, avec une précision intéressante. L'analyse du contenu de goutte est effectuée sur la base de l'évaluation de la charge électrique obtenue par intégration de courant. La vitesse et le volume des gouttes sont estimés à partir de délais caractéristiques visibles sur le signal électrochimique. Les caractéristiques des mesures expérimentales sont confirmées par la simulation numérique ce qui valide les procédures utilisées.

La quantification du contenu de goutte a été vérifiée aussi bien lors du passage de gouttes de contenu homogène que de contenu inhomogène. Il a été possible de définir un paramètre permettant de quantifier le degré d'hétérogénéité de gouttes de contenu inhomogène et d'évaluer le taux de mélange à l'intérieur des gouttes au moment de leur détection. L'ensemble des résultats montre que le contenu de la goutte hétérogène est bien homogène localement selon la hauteur du canal lors des mesures électrochimiques mais pas suivant sa longueur. Nous avons montré que le volume des gouttes n'a pas d'influence sur la détermination de leur contenu. Il en est de même pour la taille des électrodes de travail et de leur régime de fonctionnement.

Finalement, il a été possible de mener des titrations de gouttes en y injectant par fusion active une solution titrante de concentration connue. L'analyse des réponses ampérométriques des gouttes hétérogènes ainsi obtenues pour différents rapports de volumes permet d'établir des droites de titration et de déterminer la concentration inconnue de gouttes avec une limite de détection non optimisée de 10^{-4} mol.L⁻¹.

Au vu de ces résultats, le principe envisagé pour la détection par électrochimie de gouttes hétérogènes a donc été démontré avec succès. Rappelons que le principal avantage est de ne pas mettre en œuvre une étape d'homogénéisation avant celle de détection qui augmenterait le temps de parcours des gouttes dans un circuit microfluidique et qui complexifierait sa conception.

Le paramètre critique de la mouillabilité des électrodes n'a pas été une contrainte pour ce type de détection. Cependant, nous en avons perçu les limites lors de l'utilisation de grandes électrodes. C'est pourquoi nous développerons dans le prochain chapitre un système permettant de s'affranchir de la mouillabilité des électrodes.

CHAPITRE 3

ETUDE D'UNE CHAMBRE DE COALESCENCE POUR LA DETECTION ELECTROCHIMIQUE DE GOUTTES EN MICROFLUIDIQUE

Chapitre 3. Etude d'une chambre de coalescence pour la détection électrochimique de gouttes en microfluidique

Dans ce chapitre, une méthode de détection sera proposée pour s'affranchir de contraintes liées à la mise en œuvre de détections par voie électrochimique en microfluidique de gouttes. L'alternative envisagée sera d'employer une chambre de coalescence.

Habituellement placée dans le canal principal, la cellule de détection électrochimique sera ici insérée dans une chambre de coalescence afin de maintenir les électrodes en contact permanent avec la phase aqueuse. Ainsi, il ne devrait pas y avoir de connexion-déconnexion des électrodes lors du passage de la goutte sur les électrodes, ce qui devrait éviter d'engendrer des perturbations sur le signal électrochimique obtenu. En outre, aucun volume minimal de goutte ne devrait être requis dans ces conditions expérimentales pour assurer le contact entre les électrodes, celles-ci étant en contact permanent avec une phase aqueuse.

Dans un premier temps, la conception de la chambre de coalescence sera envisagée à partir d'éléments bibliographiques. Les contraintes techniques imposées par l'intégration des électrodes de la cellule électrochimique dans la chambre seront prises en compte afin de concevoir une chambre adaptée. Dans ces conditions, les différentes électrodes (WE, CE et RE) seront nécessairement très proches les unes des autres, en particulier WE et CE, ce qui pourra donner lieu à une interaction entre elles de type générateur-collecteur en présence d'une espèce réversible électrochimiquement. Un rappel théorique du principe de fonctionnement de deux électrodes en mode générateur-collecteur sera présenté puis complété par des résultats de simulations numériques. Cela permettra d'évaluer l'influence des paramètres géométriques sur la réponse électrochimique tels que la largeur des électrodes WE et CE, la distance les séparant, et la hauteur du dispositif. Une configuration de cellule sera alors choisie pour tester expérimentalement le fonctionnement d'une chambre de coalescence.

Dans un second temps, le fonctionnement et les performances électrochimiques seront évalués dans des chambres de coalescence de différentes tailles. A l'aide de ces dispositifs, il sera en effet envisageable de détecter et d'analyser le contenu de gouttes mais également celui de trains de gouttes par ampérométrie. Les résultats expérimentaux obtenus permettront de distinguer les

régimes de fonctionnement des dispositifs en fonction de leur taille mais aussi de définir les critères qui permettront d'assurer des détections optimales du contenu de gouttes dans ces conditions.

1 Concept et mise en œuvre expérimentale

1.1 Concept

A notre connaissance, la mise en place d'une détection électrochimique de gouttes dans une chambre de coalescence n'a jamais été décrite dans la littérature. L'objectif a donc été de concevoir une chambre de coalescence en y intégrant une cellule électrochimique.

Dans le souci de développer un dispositif présentant une configuration simple et minimale, le mode de fusion passive de goutte a été privilégié. En effet, contrairement aux méthodes de fusion active, la fusion passive ne nécessite pas l'application de champs électriques ou magnétiques, ni l'utilisation de produits chimiques pour assurer la coalescence de gouttes. Par ailleurs, la présence des électrodes dans la chambre de coalescence devrait, par leur surface hydrophile, stabiliser les gouttes et les immobiliser de façon à maintenir une phase aqueuse dans la chambre de coalescence.

1.1.1 *Chambres de coalescence à fusion passive*

Différents dispositifs microfluidiques permettant une fusion passive de gouttes circulant dans un microcanal ont été présentés dans le 0. La coalescence résulte de la différence de résistance hydrodynamique entre la phase continue (huile) et la tension de surface de la phase discrète (solution aqueuse). Parmi eux, trois géométries ont particulièrement retenu notre attention :

- **Microcavité rectangulaire le long d'un canal** (*Figure 1.15B*) [119] : Dans ce cas, la fusion passive est liée à un changement de géométrie du canal en présence d'une microcavité. Ce type de configuration permet donc le ralentissement de gouttes qui peuvent ainsi s'accumuler et coalescer dans la chambre sans pour autant s'immobiliser. Cette géométrie est intéressante par sa simplicité. Cependant, elle ne permet pas de maintenir une phase aqueuse stationnaire dans la cavité. De plus, les conditions expérimentales permettant la coalescence de deux ou trois gouttes sont limitées et dépendent fortement du nombre capillaire, du débit et des volumes des gouttes générées.

- **Trappe à piliers** (*Figure 1.16A*) [121] : Une goutte arrivant dans la trappe est piégée entre les piliers alors que le fluide porteur continue de circuler sur les côtés. Ainsi, en maintenant le débit, la circulation des gouttes en amont n'est pas perturbée. La coalescence des gouttes se produit au niveau des piliers. Cependant, suivant la taille des gouttes, il est possible d'accumuler plusieurs d'entre elles avant qu'une goutte finale ne sorte. En effet, ce n'est qu'à partir du moment où le volume total excède le volume circonscrit par les piliers que la goutte finale sort entièrement, sans laisser de phase aqueuse dans la trappe.
- **Chambre de dilution passive** (*Figure 1.16B*) [122] : Ce type particulier de géométrie permet de conserver un volume constant de solution aqueuse dans la chambre pendant l'entrée et la sortie de gouttes. Une goutte entrante entraîne ainsi la sortie d'une goutte de même volume.

Pour ces trois géométries, le dénominateur commun reste le contournement (by-pass) de la phase aqueuse par l'huile pour ralentir la circulation des gouttes et favoriser leur coalescence. Les principaux critères qui nous intéressent pour ces trois géométries sont rassemblés dans le *Tableau 3.1*.

Tableau 3.1 : Récapitulatif des caractéristiques de trois dispositifs d'intérêt pour la réalisation de coalescence passive.

	Entrée et sortie de gouttes	Solution aqueuse stationnaire	Remarques
Microcavité [119]	Différées	Non	Conditions de coalescence très limitées
Trappe à piliers [121]	Différées	Jusqu'au remplissage	Moins de contraintes sur les volumes de gouttes
Diluteur [122]	Simultanées	Permanent	Pas de contraintes sur les volumes

Face à nos objectifs, l'idée consisterait donc à intégrer dans ces dispositifs des électrodes pour achever une détection électrochimique. Le diluteur est le dispositif microfluidique qui paraît le plus prometteur. Il permet en effet l'immobilisation d'un volume de solution aqueuse constant à l'intérieur de la chambre. Il en est de même pour la trappe à piliers, à condition toutefois d'arriver à maintenir une phase aqueuse grâce à la présence des électrodes (en raison de leurs surfaces hydrophiles). Cependant, des tests préliminaires ont montré qu'il était difficile

expérimentalement de reproduire le fonctionnement de ces deux dispositifs dans nos conditions expérimentales, notamment en présence d'électrodes. Dans les deux cas, un équilibre, si tant est qu'il existe, est difficile à obtenir. Il ne permet pas d'envisager de fonctionnements simples à court terme sur une large gamme de volumes et de vitesses de gouttes. Dans le cas de la trappe à piliers, il est inévitable que les contacts d'électrodes se trouvent en contact avec la phase continue au niveau des by-pass dans des dispositifs où il n'est pas prévu de masquage par une couche isolante. Les gouttes ont alors tendance, à se déformer et à passer entre les piliers pour suivre ces pistes.

Malgré l'absence de phase aqueuse stationnaire dans les dispositifs à microcavité, nous avons tout de même effectué quelques tests préliminaires en intégrant des électrodes dans ce type de dispositif. En effet, cette configuration permet au premier abord d'insérer facilement des électrodes en masquant toutes les pistes de contact directement grâce à la géométrie de la chambre. De plus, en réalisant quelques dispositifs, nous avons pu constater expérimentalement que la présence des électrodes permettait bien de maintenir à leur surface un volume de solution aqueuse pendant le passage de gouttes à travers la cavité. C'est pourquoi, à la vue de ces premières constatations, nous avons choisi de développer pour la suite une chambre de coalescence fondée sur ce type de géométrie.

1.1.2 Principe de la chambre de coalescence avec électrodes

Rappelons que le principal objectif d'une détection électrochimique dans une chambre de coalescence est de maintenir une connexion permanente des électrodes pour éviter les déconnexions de la cellule électrochimique après le passage des gouttes. Le principe retenu est ainsi celui d'une coalescence **passive** à l'intérieur d'une microcavité, avec une arrivée et un départ **simultané** de gouttes pour maintenir un volume constant de phase aqueuse (*Figure 3.1*).

Comme dans notre étude précédente, nous avons fait le choix d'utiliser les trois électrodes de la cellule électrochimique (WE, CE et RE) sous la forme de microbandes de platine. Mais contrairement à cette précédente étude, les électrodes sont positionnées dans le sens de l'écoulement de façon à guider le passage des gouttes dans la cavité le long de leurs surfaces hydrophiles. Les électrodes délimitent ainsi l'emplacement et l'étendue de la phase aqueuse dans la cavité (zone bleue sur la *Figure 3.1*).

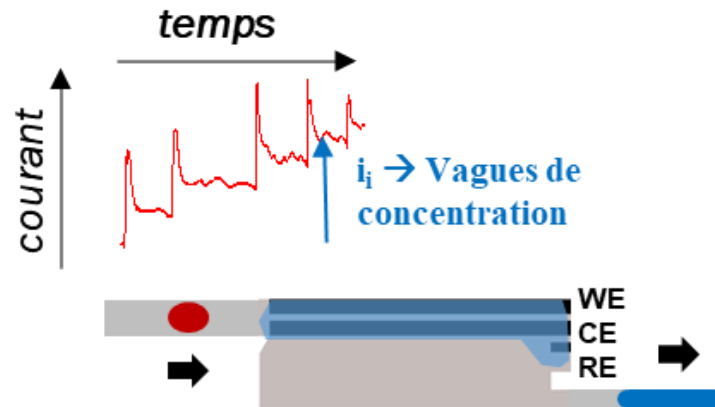


Figure 3.1 : Présentation graphique du concept de détection de gouttes dans une chambre de coalescence avec une cellule électrochimique à 3 électrodes (WE : électrode de travail, CE : contre électrode, RE : pseudo électrode de référence). Un volume de solution aqueuse en bleu recouvre la totalité des électrodes, la couleur grise correspondant à la phase continue. Illustration d'un signal par chronoampérométrie mesuré lors du passage d'une succession de gouttes.

Les microbandes sont placées le long d'une paroi, assez proches les unes des autres pour maintenir un volume de phase aqueuse à leurs surfaces et éviter sa dispersion sous forme de gouttelettes. L'électrode de pseudo-référence est plus courte que les deux autres électrodes pour que son potentiel ne soit pas trop perturbé par leur fonctionnement. Une des extrémités de chaque microbande (WE et CE) se situe à l'entrée du dispositif de façon à détecter les gouttes à cet endroit, immédiatement après la coalescence. L'autre extrémité des microbandes (WE, CE et RE) se situe dans un coin de la cavité, plus spécifiquement au niveau d'une encoche prévue pour retenir à cet endroit la phase aqueuse. Cette encoche est aussi conçue pour assurer l'évacuation d'un trop-plein après l'arrivée de chaque goutte dans la cavité. Un espace suffisant est maintenu à l'intérieur de la cavité pour permettre l'évacuation de l'huile. L'arrivée d'une goutte doit entraîner le départ d'une autre pour maintenir un volume de phase aqueuse constant.

1.2 Conception du dispositif microfluidique

1.2.1 Génération des gouttes

La zone de génération des gouttes se situe en amont de la chambre de coalescence. Elle nécessite une entrée principale permettant l'introduction de la phase continue d'huile et deux entrées latérales de solution aqueuse comme présenté sur la Figure 3.2A.

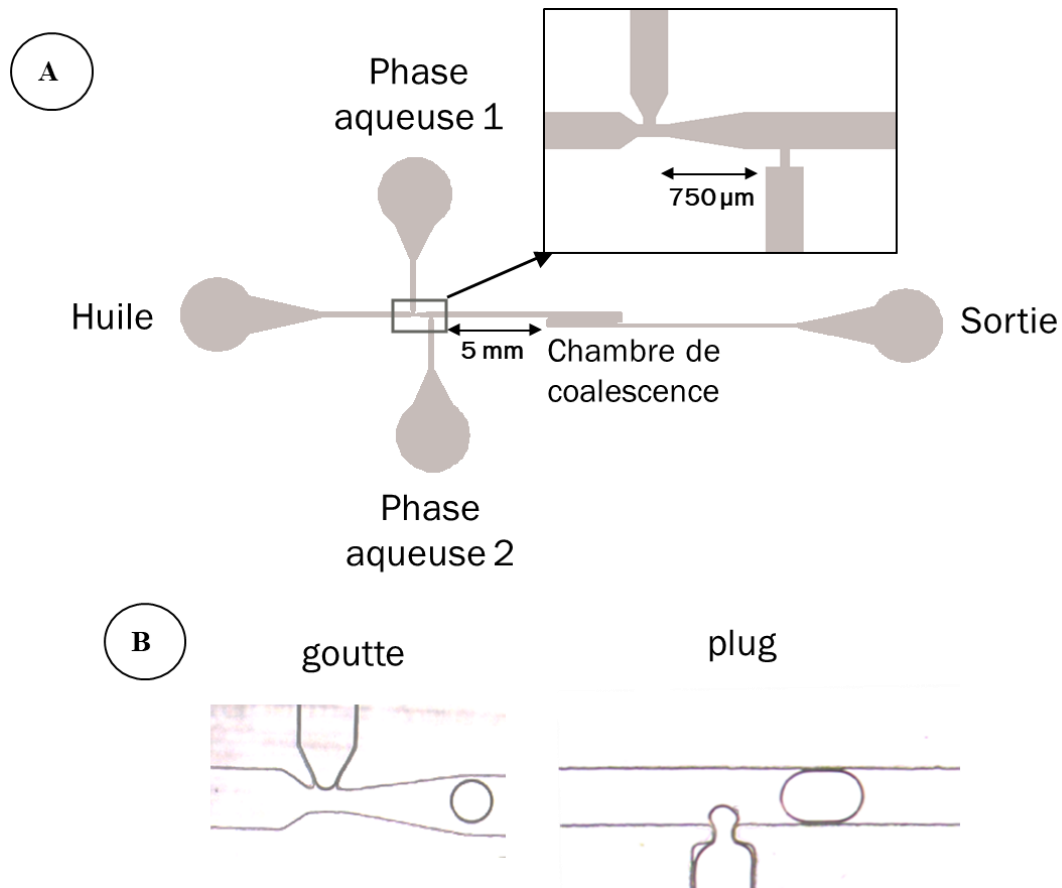


Figure 3.2 : A. Schéma du canal microfluidique contenant une entrée pour la phase continue, deux entrées pour les phases aqueuses 1 et 2, une chambre de coalescence en aval du canal principal et un canal d'évacuation des gouttes vers une sortie unique. Le canal principal est large de $200\mu\text{m}$, le canal de sortie a une largeur de $100\mu\text{m}$. Les rétrécissements correspondant aux zones de génération de gouttes sont de $50\mu\text{m}$. B. Photos illustrant la génération d'une goutte par la première jonction T et d'un plug par la seconde jonction T.

Les deux entrées latérales permettent l'introduction de phases aqueuses de compositions différentes. Deux types de jonctions T (Figure 3.2B) ont été prévues à cet effet. La première est située sur une zone rétrécie du canal principal (jonction T avec étranglement) afin de générer des gouttes de faible volume tandis que la seconde (jonction T « classique ») est adaptée pour la génération de plugs. Les gouttes en forme de plug remplissent la section du microcanal et leur longueur est fixée par la durée des sauts de pression appliqués à la demande lors de leur génération (volume >1 nL). Les plus petites gouttes en forme de cylindre plat ne remplissent pas la section du canal mais restent contraintes par la hauteur du canal. Dans la configuration géométrique du dispositif, le volume de ces petites gouttes est inférieur à 1 nL.

Les caractéristiques des appareillages utilisés ainsi que les précisions concernant le système diphasique sont présentés en Annexe A.

1.2.2 Dimensionnement de la chambre de coalescence

Les différentes étapes qui ont conduit au dimensionnement du dispositif de la *Figure 3.1* sont présentées dans cette section.

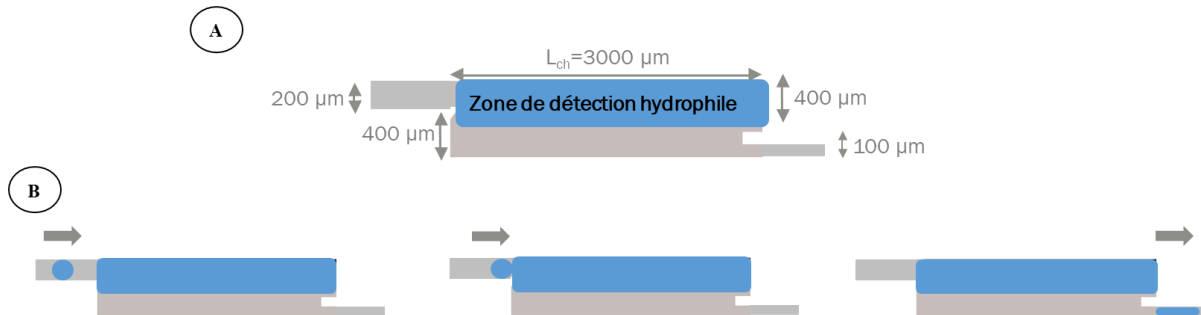


Figure 3.3 : A. Schéma présentant la géométrie (vue de dessus) de la chambre de coalescence. Sa hauteur est de $28 \mu\text{m}$. B. Schémas illustrant son fonctionnement. La phase continue est représentée en gris et la solution aqueuse dispersée est représentée en bleu.

Les dimensions de la chambre de coalescence que nous avons élaborée en premier lieu sont indiquées sur la *Figure 3.3*. La hauteur du dispositif est uniforme et correspond à une hauteur moyenne de $28 \mu\text{m}$. L'entrée est un canal de $200 \mu\text{m}$ de large. L'entrée et la sortie de la chambre ne sont pas alignées, ce qui permet de prévoir une zone pour stabiliser la phase aqueuse et y placer les électrodes sous forme de bandes. La longueur de la chambre (notée L_{ch}) de $3000 \mu\text{m}$ est ici arbitraire. Une partie de la largeur de la cavité est occupée par les électrodes (et la phase aqueuse) puis l'autre par l'huile. Ainsi, une encoche sur une largeur de $400 \mu\text{m}$ a été conçue pour pouvoir insérer l'extrémité des trois électrodes microbandes. La zone réservée à la phase aqueuse est alors approximativement de $L_{ch} \times 400 \mu\text{m}$. Celle qui est prévue pour la circulation de l'huile est d'environ $L_{ch} \times 200 \mu\text{m}$. La section du canal en sortie est réduite de moitié par rapport à celle du canal d'entrée afin de ne pas trop déstabiliser le volume de solution aqueuse lors du départ d'une goutte.

1.2.3 Disposition et dimensions des électrodes

Plusieurs possibilités ont été initialement envisagées pour l'intégration des électrodes dans la chambre de coalescence.

Avec la géométrie proposée, les électrodes doivent remplir au maximum la surface correspondant à la zone de détection définie sur la *Figure 3.3A*. Les électrodes WE et CE sont

nécessairement de même longueur que la chambre, à l'exception de l'électrode de pseudo-référence de 100 μm de long uniquement (*Figure 3.4A*).

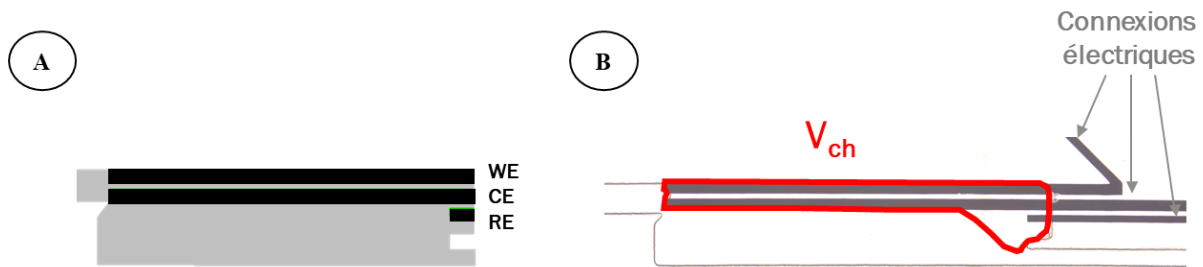


Figure 3.4 : A. Disposition des électrodes Ti/Pt intégrées dans la chambre de coalescence. Les électrodes sont larges de 80 μm et espacées de 40 μm . Leur longueur est identique à celle de la chambre (ici $L_{ch} = 3000 \mu\text{m}$). L'électrode de référence est longue de 100 μm . La hauteur du dispositif est de 28 μm . B. Photo illustrant la surface de phase aqueuse recouvrant les électrodes intégrées dans la chambre de coalescence.

Nous avons choisi de fixer la largeur des électrodes à 80 μm et de les séparer par un gap de 40 μm (*Tableau 3.2*). Ces dimensions permettent à la phase aqueuse de recouvrir sans difficulté des surfaces de différentes natures (surface des électrodes et surface entre les électrodes). Ces électrodes sont en Ti/Pt comme celles utilisées au 0.

Tableau 3.2 : Dimensions expérimentales w : largeur des électrodes, g : gap séparant les électrodes et h hauteur du dispositif et rapports adimensionnés correspondants.

Dimensions / μm		Grandeurs adimensionnées	
g	40	$G=g/h$	1.43
h	28		
w	80	$W=w/h$	2.86

Dans ces conditions, un volume constant de solution aqueuse peut être maintenu sur la zone de détection. Un exemple est donné sur la photo de la *Figure 3.4B*. Par la suite, ce volume sera noté V_{ch} et sera systématiquement évalué optiquement en tenant compte de la surface visible et de la hauteur nominale du dispositif.

1.3 Mise en œuvre expérimentale

Différentes utilisations du dispositif sont envisageables en fixant principalement le volume et la composition des gouttes incidentes, mais aussi la composition initiale de la solution aqueuse

stationnée dans la chambre de coalescence. Le dispositif correspondant à celui de la *Figure 3.4* sera testé en ayant préalablement rempli la chambre de coalescence d'une solution aqueuse de composition connue. La composition des gouttes ainsi que celle de la chambre seront fixées par différentes concentrations en médiateur redox $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

1.3.1 Potentiel appliqué

Les solutions de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ sont préparées avec de l'électrolyte support ($\text{KCl } 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$) afin de s'affranchir de la chute ohmique. Le voltamogramme de la *Figure 3.5* a ainsi été obtenu avec le dispositif décrit *Figure 3.4*, dont la chambre a été pré-remplie de solution aqueuse de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$.

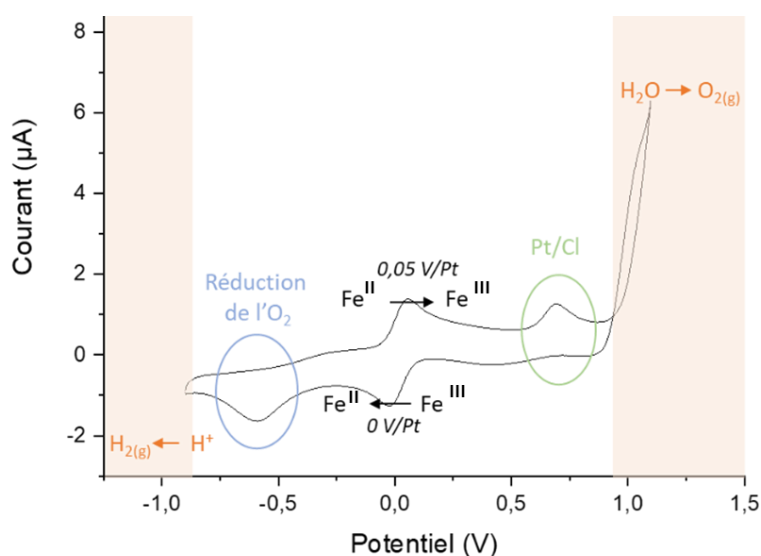


Figure 3.5: 3ème cycle d'un voltamogramme cyclique réalisé dans la chambre de coalescence avec la cellule électrochimique à trois électrodes de platine (WE, CE et RE) de configuration 3Ec, analogue à celle de la Figure 3.4B avec $L_{ch} = 500 \mu\text{m}$. Vitesse de balayage = $0,7 \text{ V.s}^{-1}$, concentration en $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} = 5.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. La partie en orange clair représente les murs du solvant, ici les murs de l'eau.

Les solutions étant non dégazées, la réduction de l'oxygène dissout se traduit par la présence d'un pic vers $-0,6 \text{ V}$ vs Pt. L'oxydation des chlorures correspond au pic situé vers $+0,8 \text{ V}$ vs Pt, avant le mur d'oxydation de l'eau. Le médiateur redox $\text{Fe}^{\text{II}}/\text{Fe}^{\text{III}}$ est positionné entre ces deux systèmes et il est caractérisé par deux vagues réversibles.

1.3.2 Mesure de courants stationnaires

Des premiers tests d'utilisation de la chambre de coalescence ont permis d'appréhender son fonctionnement et les différentes possibilités d'utilisation lorsque les gouttes présentent de plus

petits volumes que celui de la phase aqueuse contenue dans la cavité. Un premier exemple est présenté sur la *Figure 3.6* lors de la détection d'une goutte de concentration identique à celle de phase aqueuse contenue initialement dans la chambre de coalescence. Pour cela, la mesure par ampérométrie a été déclenchée avant l'arrivée de la goutte.

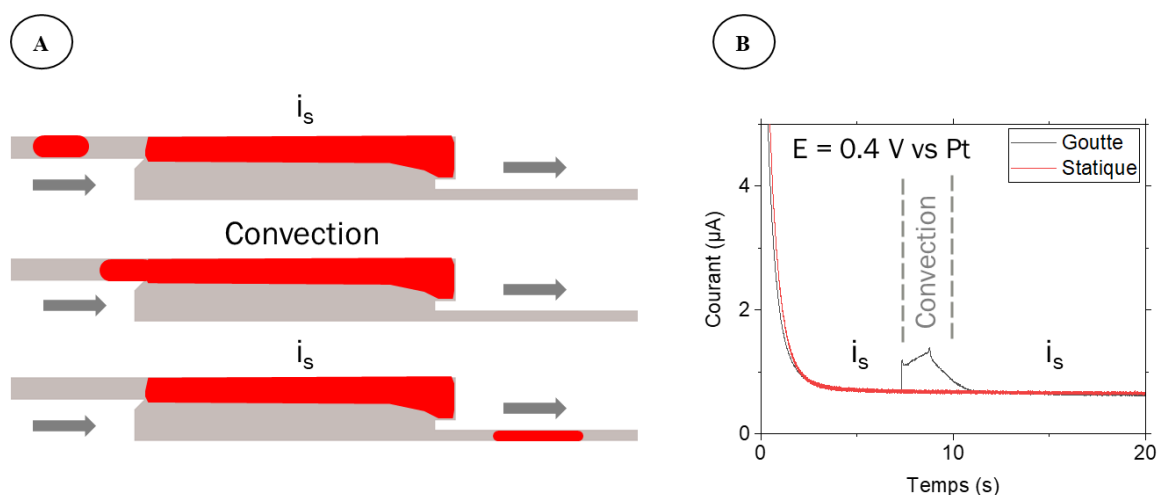


Figure 3.6 : A. Schéma de principe de l'arrivée d'une goutte de volume $V=12\text{nL}$ de même concentration que le contenu de la chambre de volume $V_{ch}=20 \text{ nL}$. B. Chronoampérogrammes sans perturbation (rouge) et lors de l'arrivée d'une goutte (noir). La solution aqueuse est composée de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans $\text{KCl } 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$.

Avant l'arrivée de la goutte, le chronoampérogramme montre une décroissance du courant puis rapidement l'établissement d'un courant stationnaire caractéristique d'un mode de fonctionnement de type générateur-collecteur entre les électrodes WE et CE. En effet, avec le confinement et l'épuisement de la solution en espèce électroactive, le courant devrait tendre vers zéro en l'absence de communication entre les électrodes. Mais en utilisant un médiateur redox, et par le fonctionnement de type générateur-collecteur, les espèces sont progressivement régénérées à la contre-électrode. En diffusant à nouveau vers l'électrode de travail, elles participent alors à un autre cycle. Il n'y a donc pas consommation d'espèce au voisinage de l'électrode de travail mais un renouvellement permanent. Ceci est bien observé expérimentalement par l'obtention d'un courant stationnaire après quelques secondes de polarisation des électrodes.

Lorsque le régime stationnaire est établi et lorsqu'une goutte de même concentration que la solution dans la chambre arrive, nous observons alors une augmentation notable du courant qui révèle à la fois la coalescence à l'entrée de la chambre et la sortie quasi simultanée d'une autre goutte de volume identique. Après 3 à 4 secondes environ, le courant revient à son niveau stationnaire initial, démontrant la stabilisation du volume de solution sur les électrodes. Afin de

valider ces observations, le chronoampérogramme a été superposé *Figure 3.6B* avec un voltamogramme obtenu sur la même échelle de temps sans arrivée de goutte. Mise à part la brève augmentation de courant, nous observons bien la superposition des courbes dans leur ensemble. L'augmentation du courant lors de l'entrée – sortie de gouttes s'explique facilement ici par une convection initiée localement dans la chambre par l'arrivée et le départ de gouttes.

Les tests suivants ont été réalisés en considérant une goutte incidente de concentration différente du contenu initial de la chambre de coalescence. Il s'agit ainsi d'identifier l'effet de la concentration sur les réponses obtenues dans la chambre de coalescence. Les deux cas envisagés sont illustrés sur les schémas de la *Figure 3.7*.

Lorsque la chambre est remplie initialement d'électrolyte support, soit $c_{ch}^{\circ}=0$, (*Figure 3.7A*), le chronoampérogramme obtenu présente un courant capacitif suivi d'un courant stationnaire i_{ch}° correspondant dans ce cas à un courant résiduel. Ensuite, lors de l'arrivée de la goutte contenant de l'espèce électroactive, le courant augmente d'une part par la présence de l'espèce électroactive et d'autre part par la convection provoquée par l'arrivée de la goutte. Comme précédemment, quelques secondes suffisent pour que le courant se stabilise. Le courant stationnaire atteint une valeur i_1 supérieure au plateau initial i_{ch}° . La différence positive ($i_1 - i_{ch}^{\circ}$) traduit ainsi l'augmentation locale de concentration dans la chambre de coalescence.

Dans le second cas (*Figure 3.7B*), la chambre est remplie initialement d'une solution contenant l'espèce électroactive et la goutte incidente contient uniquement de l'électrolyte support. Un premier plateau de courant stationnaire i_{ch}° est obtenu avant que la goutte ne fusionne avec la chambre de coalescence. Il est proportionnel à c_{ch}° , la concentration de ferrocyanure contenu initialement dans la chambre de coalescence. Ensuite, une perturbation, provoquée par l'arrivée de la goutte, est observée sur l'intensité de courant. Puis comme précédemment, après quelques secondes, le courant tend à se stabiliser à une valeur i_1 inférieure au plateau initial i_{ch}° . La différence négative ($i_1 - i_{ch}^{\circ}$) traduit une diminution de concentration, soit l'effet de dilution intervenu dans la chambre de coalescence par l'arrivée de la goutte d'électrolyte support.

Dans ces deux situations, l'arrivée d'une goutte dans la chambre de coalescence et le départ d'un volume équivalent se traduit sur le signal en chronoampérométrie par une perturbation sur le courant puis à une stabilisation traduisant une augmentation ou diminution de concentration.

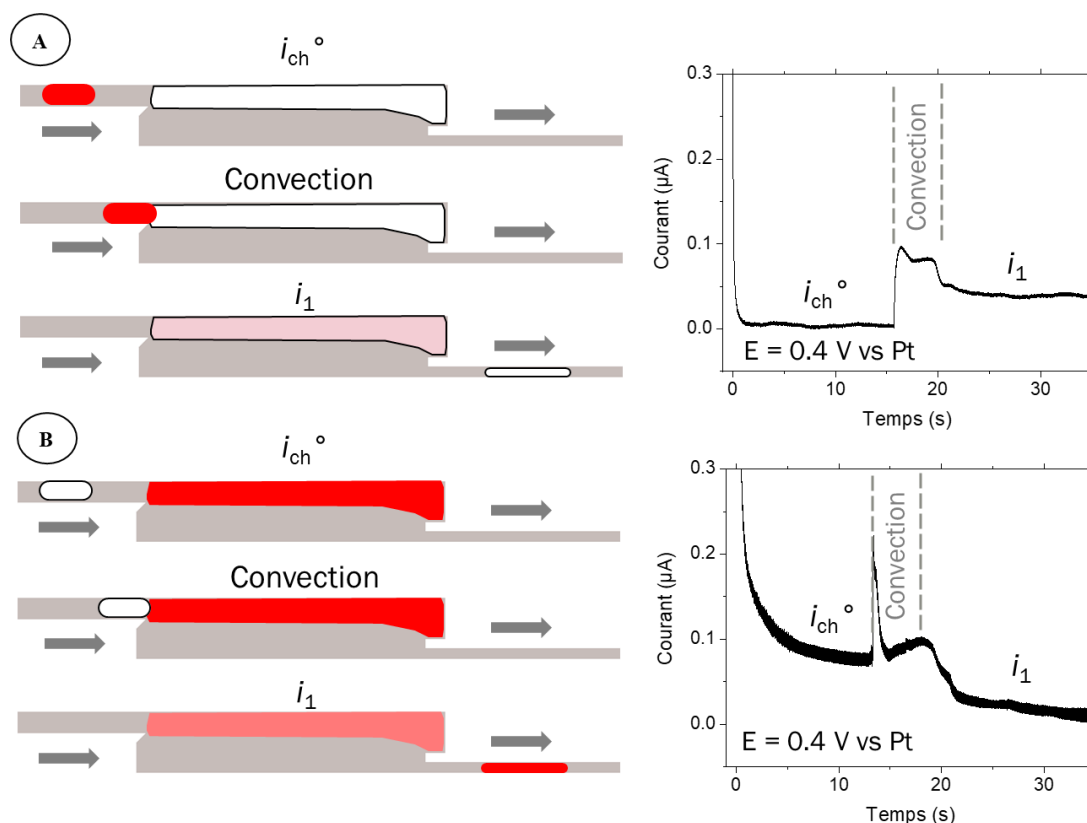


Figure 3.7 : A. Schéma de principe et chronoampérométrie lors de l'arrivée d'une goutte de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de volume $V=8\text{nL}$ dans la chambre de coalescence de volume $V_{ch}=20\text{nL}$ contenant une solution de KCl 0.5 mol.L^{-1} ($c_{ch}^0=0$) B. Schéma de principe et chronoampérométrie lors de l'arrivée d'une goutte de KCl 0.5 mol.L^{-1} de volume $V=17\text{nL}$ dans la chambre de coalescence de volume $V_{ch}=20\text{nL}$ contenant une solution de $Fe(CN)_6^{4-}$ $c_{ch}^0=2 \text{ mM}$.

1.3.3 Cas du train de gouttes

Nous avons fait des mesures à partir de trains de gouttes de composition fixée mais de plus petits volumes. L'arrivée successive des gouttes permet ainsi de suivre l'accumulation ou la déplétion d'espèces électroactives dans la chambre de coalescence. Comme précédemment, le signal en chronoampérométrie dépendra de la concentration de la solution contenue dans les gouttes par rapport à la concentration initiale de la chambre de coalescence. Les réponses obtenues en chronoampérométrie sont représentées en *Figure 3.8* pour les deux situations.

Dans les deux cas, les phénomènes décrits précédemment sont retrouvés, à savoir les effets de convection sur les courants à l'arrivée de chaque goutte, puis l'établissement de courants stationnaires. Entre chaque goutte, la phase aqueuse dans la chambre a donc le temps de se stabiliser. Le suivi des courants de plateau reflète ainsi l'évolution de la concentration moyenne, c_{ch} , dans la chambre de coalescence, soit un enrichissement ou une déplétion en espèce

électroactive. Dans les deux cas, un courant i_{\max} est défini correspondant à la valeur maximale du courant atteinte, après accumulation d'espèce ou bien avant déplétion. Un courant i_0 peut également être défini correspondant au courant de base avant accumulation (soit i_{ch}° pour $c_{\text{ch}}^{\circ}=0$), ou après déplétion lorsque c_{ch} tend vers 0.

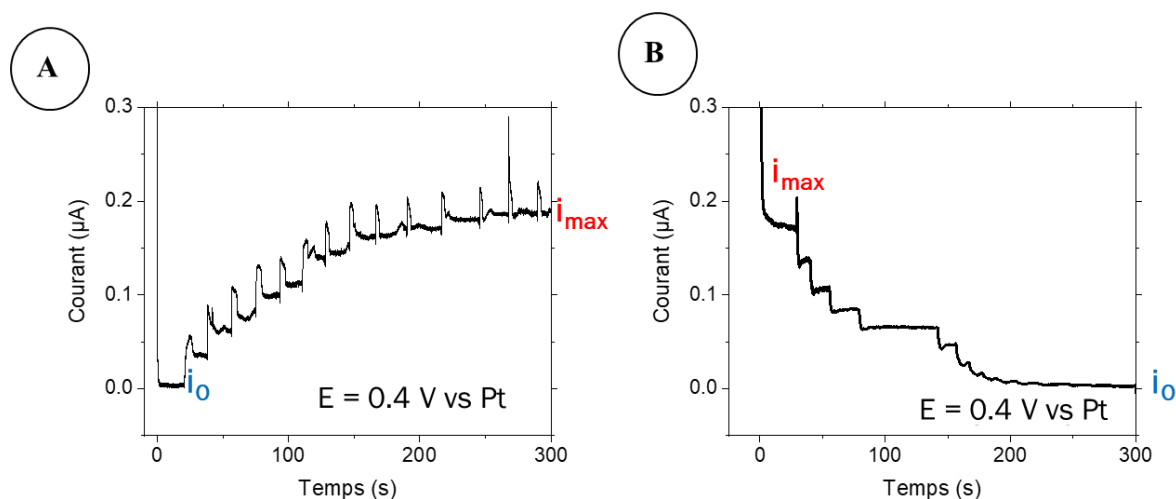


Figure 3.8 : A. Chronoampérogramme lors de l'arrivée de train de gouttes de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans la chambre de coalescence contenant initialement KCl 0.5 mol.L^{-1} ($c_{\text{ch}}^{\circ}=0$). Le volume des gouttes est $V=2.1\pm 0.5 \text{ nL}$ et la fréquence est $f=0.050\pm 0.008 \text{ Hz}$. B. Chronoampérogramme de l'arrivée d'un train de gouttes de KCl 0.5 mol.L^{-1} dans la chambre de coalescence contenant initialement $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c_{\text{ch}}^{\circ}=2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Le volume des gouttes est $V=2.3\pm 0.3 \text{ nL}$ et la fréquence $f=0.074\pm 0.029 \text{ Hz}$. En (A) et (B) le volume de la chambre est $V_{\text{ch}} = 20 \text{ nL}$.

Ces premiers résultats démontrent ainsi la faisabilité du concept pour la détection de gouttes de petits volumes, notamment sous la forme de train de gouttes. Les intensités stationnaires sont proportionnelles à la concentration moyenne de la phase aqueuse obtenue après la coalescence de gouttes individuelles. Mais avant d'exploiter plus en avant de tels résultats, nous avons souhaité dans ce qui suit, étudier sur un plan théorique le couplage diffusionnel établi entre les deux électrodes WE et CE, puis comparer les prévisions avec des résultats expérimentaux.

2 Couplage diffusionnel entre les électrodes

Le principe d'un système à deux électrodes microbandes parallèles fonctionnant en mode générateur-collecteur sera présenté puis l'influence des caractéristiques géométriques sur la réponse électrochimique sera étudiée à l'aide de simulations numériques. Celles-ci seront effectuées en considérant uniquement le volume V_{ch} de solution au contact des électrodes, sans

tenter d'associer de processus de coalescence. Les prévisions seront comparées à des mesures expérimentales.

2.1 Simulations numériques

2.1.1 Principe des simulations

Le principe en milieu confiné d'un mode de fonctionnement générateur-collecteur est présenté *Figure 3.9B*. Le cas d'une bande seule (*Figure 3.9A*) est également considéré car il servira d'élément de référence par la suite pour évaluer l'amplification des courants. Le volume de solution aqueuse recouvrant les électrodes présentant un fort rapport d'aspect (largeur bien plus grande que sa hauteur), les calculs sont réalisés à partir d'un modèle simplifié 2D (Annexe C2) représenté par une boîte de forme rectangulaire comme illustré sur la *Figure 3.9*. La hauteur de la boîte correspond à la hauteur du dispositif et les largeurs des microbandes sont représentées par des segments sur le sol de la boîte. La solution étant statique, seul le transport par diffusion est pris en compte.

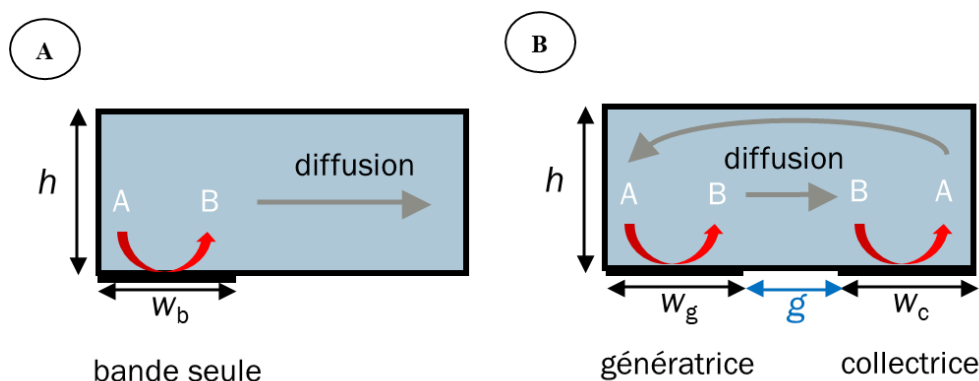


Figure 3.9 : Modèle simplifié 2D de la zone de détection. A. Principe de fonctionnement d'une électrode seule en milieu confiné. B. Schéma de principe d'un système de deux électrodes fonctionnant en mode générateur-collecteur en milieu confiné. En A et B, le médiateur redox A du couple redox réversible A/B est initialement présent.

Dans le cas d'une bande seule (*Figure 3.9A*) dont le potentiel est fixé pour oxyder ou réduire une espèce d'intérêt dans le milieu confiné, l'électrode appauvrit progressivement le milieu de cette espèce jusqu'à en avoir consommé ou transformé l'intégralité. Dans le cas de deux électrodes très proches (*Figure 3.9B*) dont l'une fonctionne en oxydation (ou réduction) et l'autre en réduction (ou oxydation), un couplage de type générateur-collecteur se met en place. Dans notre cas expérimental, un potentiel d'oxydation est appliqué à l'électrode de travail considéré comme l'électrode génératrice. Cela induit un potentiel de réduction (non contrôlé) à

la contre-électrode qui, de ce fait, se comporte comme une électrode collectrice. L'espèce **A** initialement présente dans la solution est oxydée à l'électrode de travail. Le produit **B** de cette réaction diffuse et se réduit à la contre-électrode en **A**. Ainsi régénéré, **A** diffuse de nouveau vers l'électrode de travail pour participer à un autre cycle d'oxydation et de réduction. Dans nos conditions expérimentales, ce processus diffusionnel est favorisé par le confinement de la solution et un état stationnaire s'établit rapidement.

Les simulations numériques ont été effectuées à partir de la boîte 2D décrite sur la *Figure 3.9B* en résolvant les équations de diffusion par éléments finis et en introduisant les conditions aux bornes appropriées. L'utilisation de grandeurs adimensionnées a été privilégiée pour permettre d'évaluer un plus grand nombre de conditions expérimentales. Rappelons les paramètres employés :

$$W = \frac{w}{h} \quad (3.1)$$

$$G = \frac{g}{h} \quad (3.2)$$

avec w la largeur des microbandes et g la distance les séparant. Le temps adimensionné, τ , est défini par la relation suivante :

$$t = \frac{t D}{h^2} \quad (3.3)$$

avec t le temps, D le coefficient de diffusion de l'espèce électroactive et h la hauteur du dispositif. Le courant adimensionné, Ψ , est défini par la relation :

$$\Psi = \frac{i}{nFL_{ch}Dc^{\circ}} \quad (3.4)$$

avec i le courant, n le nombre d'électrons échangés lors de la réaction électrochimique considérée, F la constante de Faraday, L_{ch} la longueur des électrodes microbande, D et c° le coefficient de diffusion et la concentration initiale de l'espèce électroactive.

Un exemple illustrant l'établissement des profils de concentration au cours du temps est présenté sur la *Figure 3.10*.

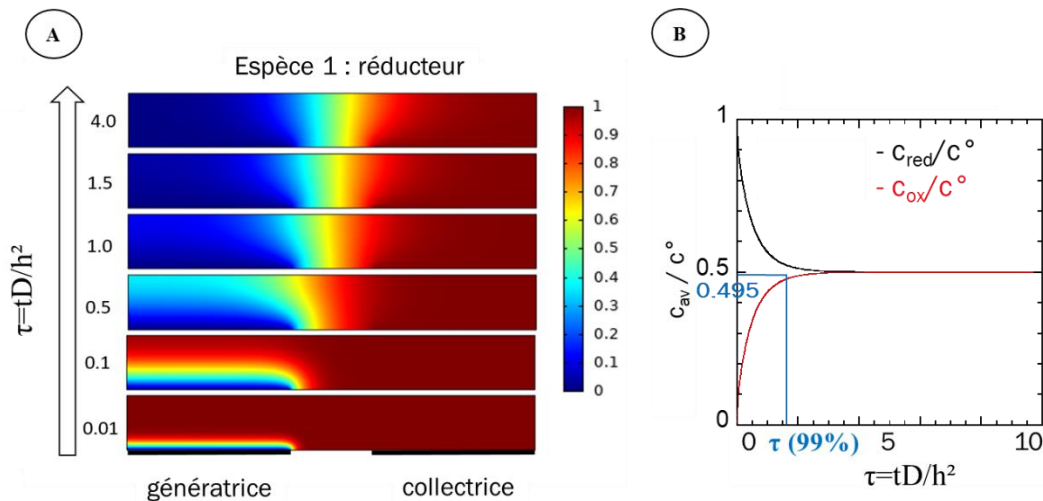


Figure 3.10 : Mise en place du fonctionnement générateur-collecteur au cours du temps en milieu confiné (modèle 2D) A. Profils de concentration du réducteur obtenus par simulation numérique. B. Suivis des concentrations moyennes calculées dans la boîte pour les deux formes du médiateur dans les mêmes conditions géométriques qu'en A, c° étant la concentration initiale du médiateur. En A et B, $w=80\mu\text{m}$, $g=40\mu\text{m}$, $h=28\mu\text{m}$, $D=D_A = D_B$.

A l'état initial, seule la forme réduite du médiateur est présente en solution. Lorsque le potentiel est appliqué à l'électrode de travail, le processus se met rapidement en place avec l'établissement de profils stationnaires pour lesquels on observe principalement la présence de la forme oxydée au-dessus de l'électrode de travail et la présence de la forme réduite au-dessus de la contre-électrode. Dans la boîte à l'état stationnaire, l'équilibre fait que les concentrations moyennes des formes oxydée et réduite deviennent identiques et égales à 0.5 fois la concentration initiale de la solution (Figure 3.10B).

Les courants à l'électrode de travail et à la contre-électrode sont bien sûr identiques et de signe opposés. Pour traduire l'efficacité du système, on définit classiquement pour un système générateur-collecteur un facteur de collecte comme étant le rapport des courants entre le collecteur et le générateur. Dans cette configuration spécifique de cellule à trois électrodes ; ce rapport est nécessairement égal à 1. L'amplitude des courants dépend non seulement de la géométrie du dispositif, mais aussi des coefficients de diffusion respectifs des espèces A et B, ainsi que de la concentration initiale en A.

2.1.2 Influence des paramètres géométriques

Afin d'explorer un ensemble de géométries possibles, les courants stationnaires Ψ_s ont été calculés pour différents rapports $G = g/h$ et $W = w/h$. Des valeurs de Ψ_s sont reportées sur le graphique 3D de la Figure 3.11 en fonction de G et W .

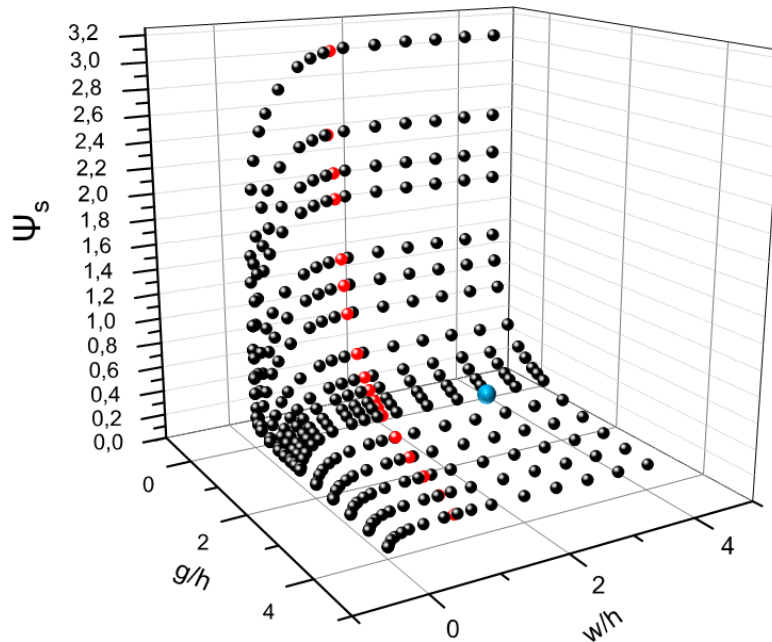


Figure 3.11 : Graphique en trois dimensions représentant le courant stationnaire Ψ_s en fonction des paramètres géométriques des électrodes $G = g/h$ et $W = w/h$. Les valeurs reportées en rouge délimitent une frontière en W au-delà de laquelle le courant stationnaire devient indépendant de W à G fixé. La valeur reportée en bleu correspond à nos conditions expérimentales (Tableau 3.2).

Les courants stationnaires Ψ_s augmentent d'autant plus que le confinement au niveau des électrodes est favorisé, c'est-à-dire lorsque G diminue vers des valeurs inférieures à 1. Ils augmentent également avec W mais atteignent rapidement des valeurs limites Ψ_s^{lim} lorsque W est supérieur à 1. Dans ces conditions, la largeur des électrodes n'est plus un paramètre contrôlant le couplage diffusionnel entre les deux électrodes. Sur la Figure 3.11, nous avons ainsi défini une limite correspondant au critère $\Psi_s = 0.99 \Psi_s^{\text{lim}}$ pour délimiter deux zones où les courants stationnaires Ψ_s dépendent et non de W .

A partir des données du graphique de la Figure 3.11, un diagramme de zone a été construit délimitant ces deux zones I et II en fonction des paramètres W et G (Figure 3.12).

Des isolignes de temps, correspondant à des valeurs de τ défini pour $c_{av}/c^0 = 0.495$ (voir Figure 3.8) sont superposées sur le même diagramme. Ces données permettent de distinguer une zone supplémentaire, zone Ia, dans laquelle la durée d'établissement de l'état stationnaire ne dépend pas de W mais seulement de G . Dans les deux zones restantes, II et Ib, cette durée dépend à la fois de W et G .

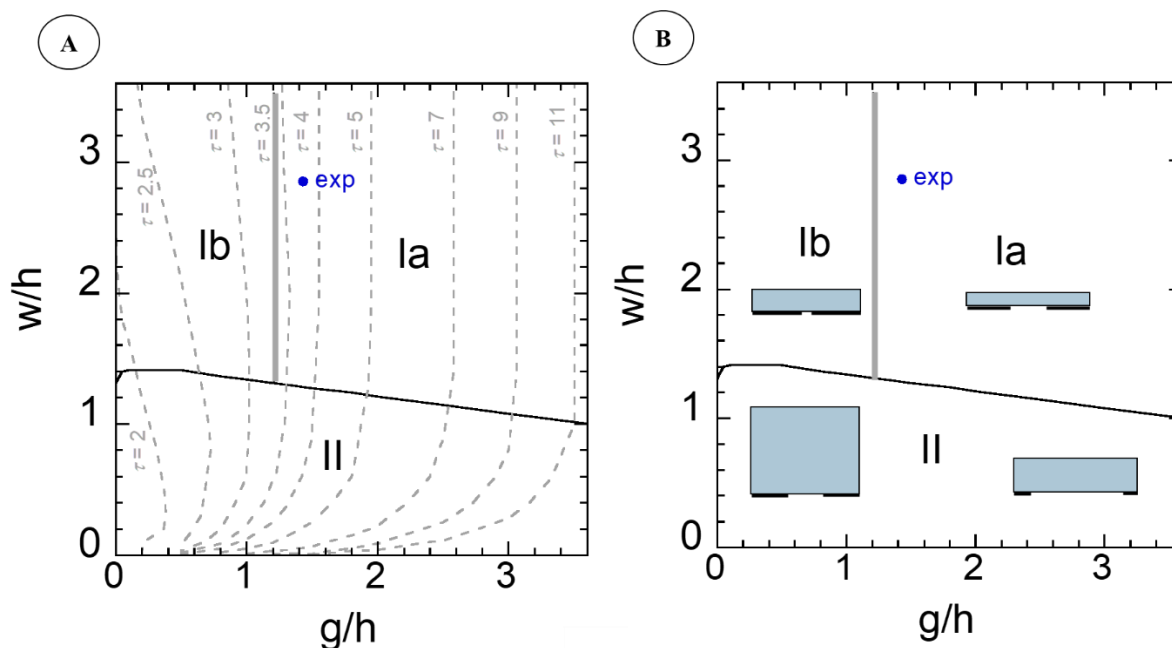


Figure 3.12 : A. Diagramme (W, G) décrivant les zones I (Ia et Ib) et II délimitées par la frontière défini par le critère $\Psi_s = 0.99 \Psi_s^{\text{lim}}$. Des isolignes de temps correspondant à des valeurs de $\tau(99\%)$ pour $c_{\text{av}}/c^{\circ} = 0.495$ sont représentées en tirets gris et permettent de distinguer les zones Ia et Ib. B. Représentations schématiques des types de géométries de dispositifs correspondant aux différentes zones du diagramme. Pour A et B, le point bleu correspond aux conditions expérimentales.

La Figure 3.12B permet de visualiser schématiquement les types de géométries des dispositifs correspondant aux zones du diagramme : les zones I avec un couplage prépondérant entre les bords immédiats des électrodes et la zone II avec un couplage sur toute la surface du dispositif (surfaces d'électrode et gap inclus). Les dimensions de nos dispositifs reportées dans le *Tableau 3.2* sont matérialisées par le point de couleur bleu sur les *Figure 3.11* et *Figure 3.12*. Positionné dans la zone Ia, il correspond alors à un couplage essentiellement entre les bords des électrodes (au-dessus du gap). Le courant stationnaire est indépendant de W tout comme la durée d'établissement de l'état stationnaire. Une incertitude expérimentale sur W n'impactera donc pas les résultats obtenus. La valeur de G , choisie pour des raisons de microfabrication, permet de fixer une durée d'établissement de l'état stationnaire pas trop élevée.

Ainsi, en supposant l'égalité entre les coefficients de diffusion des espèces oxydées et réduites ($D = D_A = D_B = 8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$), un courant d'environ $0.32 \mu\text{A cm}^{-1} \text{ mM}^{-1}$ et une durée d'établissement de l'état stationnaire d'environ 3.6 s sont évalués par simulation numérique.

2.2 Mise en évidence expérimentale du couplage diffusionnel entre WE et CE

Dans le but de mettre en évidence le couplage diffusionnel entre WE et CE dans la configuration de cellule électrochimique présentée *Figure 3.4*, des mesures électrochimiques ont été réalisées en considérant des cellules de configurations différentes. Ainsi deux configurations supplémentaires ont été testées afin de pouvoir comparer les résultats et décrire précisément le fonctionnement du dispositif expérimental de la *Figure 3.4*.

2.2.1 Configurations de cellules utilisées

Les trois configurations de cellules considérées sont présentées sur la *Figure 3.13*.

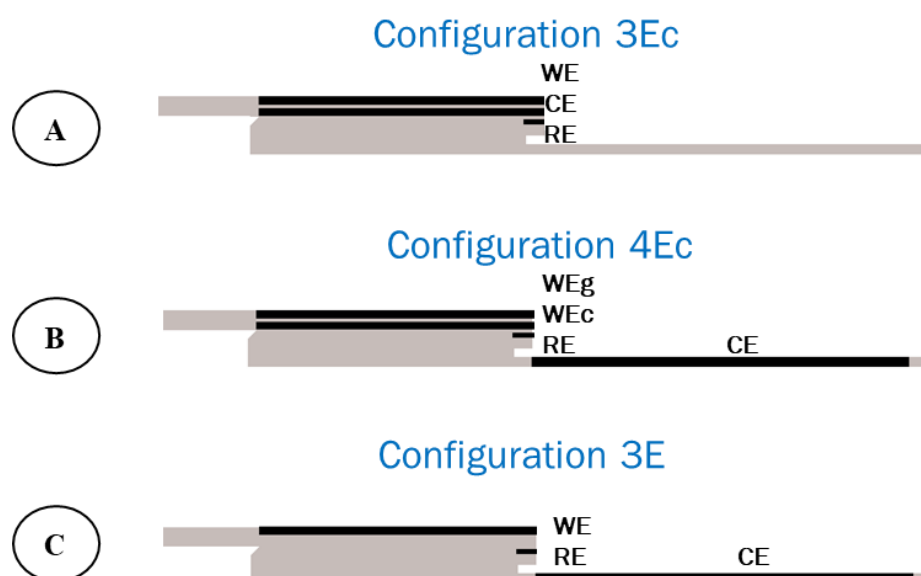


Figure 3.13 : Trois configurations de cellules considérées pour mettre en évidence le couplage diffusionnel entre WE et CE. A : configuration 3Ec : WE proche de CE, $g_{WE-CE}=40 \mu\text{m}$. B : configuration 4Ec : cellule à 4 électrodes dont WEg et WEc sont des électrodes travaillant en mode générateur-collecteur, $g_{WEg-WEc}=40 \mu\text{m}$. C. configuration 3E: WE est éloignée de CE. La chambre de coalescence est de $3000\mu\text{m}$ de long, $600 \mu\text{m}$ de large et $28\mu\text{m}$ de haut. $w_{WEg}=w_{WEc}=w_{WE}=w_{CE}=w_{RE}=80\mu\text{m}$.

La configuration 3Ec (*Figure 3.13A*) correspond au choix de configuration initiale : il s'agit d'une cellule à trois électrodes (WE, CE, RE) avec un couplage diffusionnel possible entre WE et CE. La configuration 4E (*Figure 3.13B*) introduit une électrode de travail supplémentaire. Par rapport à la configuration 3Ec, cette électrode remplace CE, CE étant positionnée dans le canal de sortie. Cette configuration permet de mesurer à l'aide d'un bipotentiostat la réponse individuelle des deux électrodes WEg et WEc. La configuration 3E (*Figure 3.13C*) correspond

à la situation d'une bande seule dans la chambre de coalescence. La contre électrode est également placée dans le canal de sortie pour garantir l'absence d'interférence ou de couplage. Ces trois configurations de cellules ont été utilisées dans des dispositifs remplis de phase aqueuse, en absence d'écoulement (sans utilisation de phase continue).

2.2.2 Voltamétries cycliques

Les voltamogrammes expérimentaux réalisés pour chaque configuration sont superposés sur la *Figure 3.14A*.

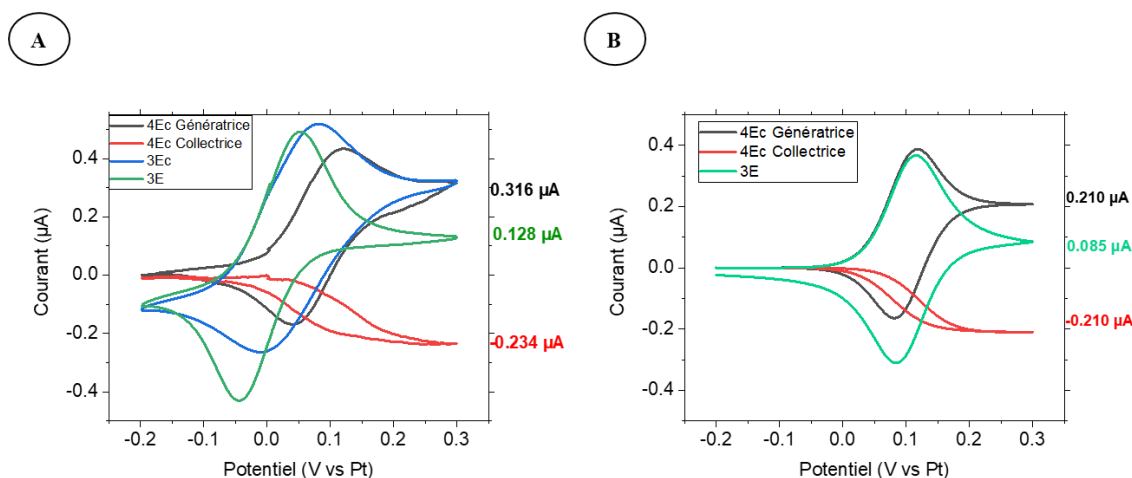


Figure 3.14 : A. Voltamogrammes cycliques expérimentaux obtenus avec les configurations d'électrodes 3Ec, 4E et 3E en présence de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $2.10^{-3} mol.L^{-1}$ dans KCl $0.5 mol.L^{-1}$. En configuration 4E, le potentiel appliqué à WEc est de $-0.2V$ vs Pt. B. Simulations numériques de voltamogrammes pour les configurations 4Ec et 3E ($k_0 = 0.04cm/s$, $\alpha = 0.5$, $E^0 = 0.1V$, $D_{FeII} = 8 \cdot 10^{-6} cm^2.s^{-1}$ et $D_{FeII}/D_{FeIII} = 0.87$ [177], [178]. Boîte 2D de largeur $520\mu m$ hauteur $28\mu m$. En A et B, vitesse de balayage de $20 mV.s^{-1}$, $L_{ch} = 3000\mu m$, $c^o = 2.10^{-3} mol.L^{-1}$.

La comparaison entre les courants mesurés au potentiel $0.3V$ vs Pt à WE (ou WEg) en configuration 3Ec et 4Ec sont comparables et amplifiés de façon analogue d'un facteur 2.5 par rapport à celui de la configuration 3E. Cela confirme que le couplage entre WE et CE est similaire à celui de deux électrodes fonctionnant en mode générateur-collecteur. Des résultats sont obtenus par simulations numériques avec le même facteur d'amplification de 2.5 environ pour une configuration 4Ec (*Figure 3.14B*). Cependant, il est à noter un décalage entre expériences et simulations pour les courants anodiques, probablement en raison du début d'influence à $0.3V$ vs Pt de l'oxydation des chlorures et du mur d'oxydation. Il faut noter aussi un décalage en potentiel de $50 mV$ entre les voltamogrammes des configurations 3Ec et 4Ec. Il est attribué au potentiel fluctuant de la pseudo-référence qui n'est pas exactement dans le même environnement dans les deux configurations.

2.2.3 Chronoampérogrammes

Les chronoampérogrammes ont été mesurés en appliquant à chaque électrode les potentiels appropriés pour être limité uniquement par les processus de diffusion. Ces chronoampérogrammes sont superposés sur la *Figure 3.15A*. Pour les configurations 4Ec et 3Ec ils montrent bien l'établissement rapide d'un état stationnaire, notamment par comparaison avec la configuration 3E.

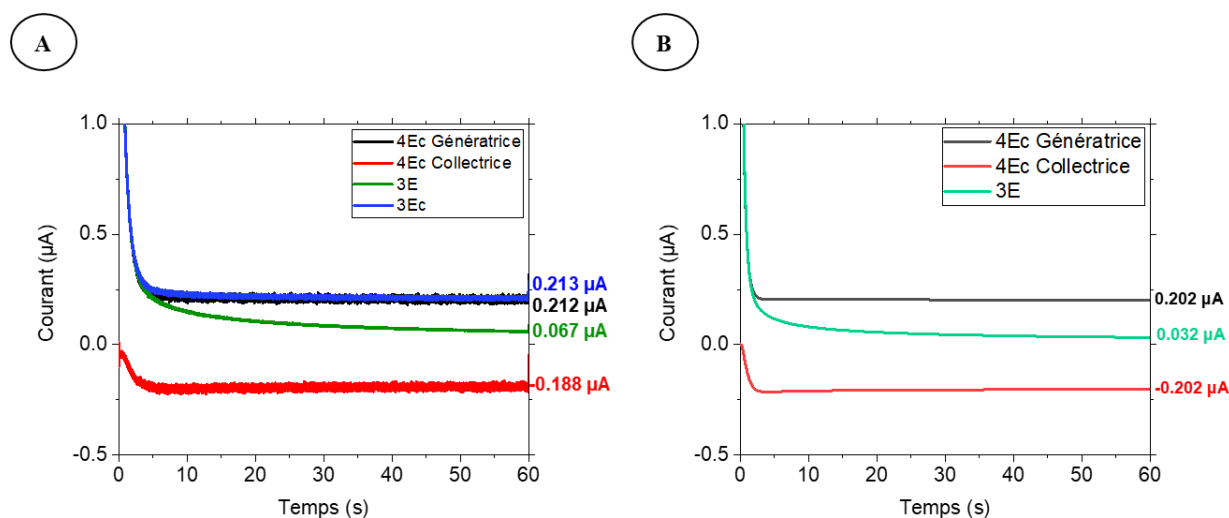


Figure 3.15 : A. Chronoampérogrammes expérimentaux obtenus avec les configurations d'électrodes 3EC, 4Ec et 3E en présence de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $2.10^{-3} mol.L^{-1}$ dans KCl $0.5 mol.L^{-1}$. Un potentiel de $0.4V$ vs Pt est imposé à l'électrode génératrice (4Ec) et à l'électrode de travail (3E et 3Ec). Un potentiel de $-0.2V$ vs Pt est imposé à l'électrode collectrice B. Simulations numériques de chronoampérogrammes ($D_{FeII} = 8 \cdot 10^{-6} cm^2.s^{-1}$ et $D_{FeII}/D_{FeIII} = 0.87$, boîte 2D de largeur $520\mu m$ hauteur $28\mu m$) En A et B, $L_{ch} = 3000\mu m$, $c^{\circ} = 2.10^{-3} mol.L^{-1}$.

Les courants de l'électrode de travail sont parfaitement superposés, ce qui confirme un couplage diffusionnel identique entre ces deux configurations. Les valeurs de courant relevées à 60 s sont reportées dans le *Tableau 3.3* et ont été comparées aux valeurs obtenues par simulations numériques. Les résultats expérimentaux présentent un bon accord avec les prévisions théoriques pour les deux configurations.

Deux facteurs permettent de caractériser les performances d'un système générateur-collecteur. Il s'agit du facteur d'amplification et du facteur de collecte définis par les rapports de courant suivants :

$$F_A = \frac{i_g}{i_b} \quad (3.5)$$

$$F_C = \frac{i_c}{i_g} \quad (3.6)$$

où i_b est le courant de l'électrode seule en absence de collecteur (configuration 3E), i_g le courant de l'électrode génératrice et i_c le courant du collecteur en mode générateur-collecteur (configuration 4EC).

Tableau 3.3 : Valeurs des courants i_b , i_g et i_c relevées sur les chronoampérogrammes expérimentaux et simulés à $t=60s$ pour les différentes configurations. Détermination des facteurs de collecte et d'amplification correspondants.

		$i_b / \mu A$	$i_g / \mu A$	$-i_c / \mu A$	F_A	F_C
Expériences	3E	0.067			3.16	0.89
	3EC		0.213			
	4E		0.212	0.188		
Simulations	3E	0.033			6.06	1.00
	4E		0.200	0.200		

Les facteurs d'amplification et de collecte obtenus à partir des courants simulés sont plus importants que ceux obtenus à partir des courants expérimentaux. Il est probable que les courants i_b et i_g soient expérimentalement plus élevés que prévu en raison du début d'oxydation des chlorures et de celui du solvant au potentiel de 0.4 V vs Pt. Ces systèmes électrochimiques mis en jeu n'étant pas réversibles, cela conduit à une sous-estimation des facteurs F_A et F_C évalués expérimentalement en mode générateur-collecteur.

Des séries de mesures en chronoampérométrie ont été réalisées pour différentes concentrations de $Fe(CN)_6^{4-}$ à partir des configurations 3E et 3Ec. Les valeurs de courant relevées à 60s sont reportées en fonction de la concentration c° sur la *Figure 3.16*.

Les variations pour chaque configuration suivent une tendance linéaire entre 0 et 5.10^{-3} mol.L⁻¹. Le rapport des pentes correspond ici à un facteur d'amplification de 2.02. Il est du même ordre de grandeur que celui obtenu par chronoampérométrie ou par voltamétrie. L'incertitude sur ce facteur selon la manière dont il est établi provient probablement des mêmes raisons évoquées plus haut. Cependant, les relations linéaires montrent bien que dans une

configuration 3Ec, il sera possible de suivre des variations de concentration à l'intérieur de la chambre de coalescence, non seulement en régime stationnaire mais aussi avec une amplification des courants.

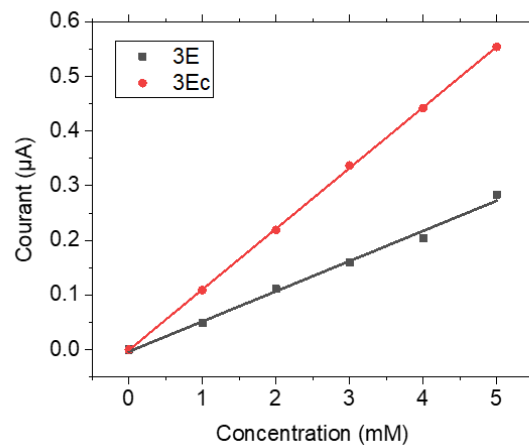


Figure 3.16 : Calibration réalisée à partir du courant de chronoampérométrie à 60s en fonction de la concentration de $Fe(CN)_6^{4-}$ pour les configurations 3E et 3Ec. La calibration de configuration 3E (en noir) suit une pente de $0.055\mu A/mM$ ($R^2=0.993$), et la calibration de la configuration 3Ec (en rouge) une pente de $0.111\mu A/mM$ ($R^2=0.999$). Potentiel $0.4V$ vs Pt, $L_{ch}=3000\mu m$

3 Etudes des régimes de fonctionnement

Les premiers tests avec la configuration 3Ec ont été réalisés avec une chambre de longueur $L_{ch} = 3000 \mu m$. Cependant, dans le cas de petites gouttes, il s'est posé la question d'utiliser des chambres plus petites pour amoindrir l'effet de dilution et ainsi augmenter les performances de détection.

3.1 Dispositifs utilisés

Au cours de cette étude, des chambres de coalescence de quatre longueurs différentes sont utilisées. Seule la longueur de la chambre varie, les autres dimensions restant identiques à celles indiquées sur la Figure 3.3. La longueur la plus petite est $L_{ch} = 200 \mu m$ et correspond à la largeur du canal en amont.

3.1.1 Différentes longueurs de chambre de coalescence

Les schémas des 4 chambres de coalescence envisagées sont présentés sur la Figure 3.17.

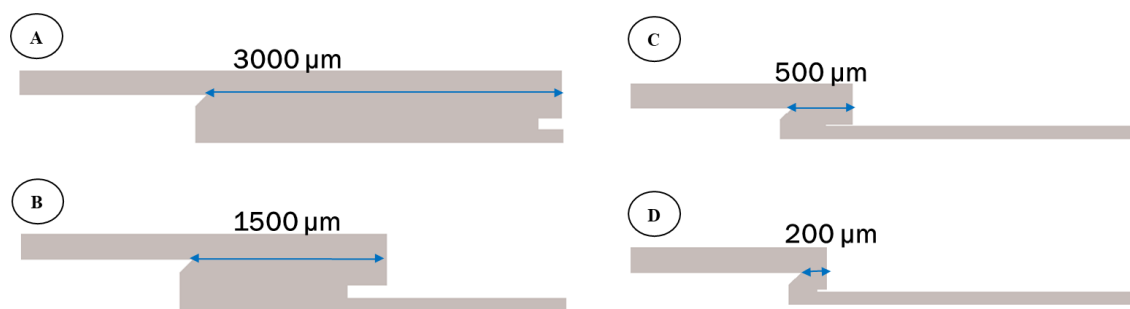


Figure 3.17 : Schémas des quatre chambres de coalescence de différentes longueurs L_{ch} : A. 3000 μm B. 1500 μm C. 500 μm D. 200 μm

Pour les différentes chambres de coalescence, la longueur de l'électrode de travail et de la contre-électrode est adaptée à la longueur de la chambre. L'électrode de référence reste de même dimension, à savoir 100 μm de longueur.

Les volumes V_{ch} de phase aqueuse présents dans chacune de ces chambres ont été évalués approximativement à 16.8 nL, 8.4 nL, 2.8 nL et 1.1 nL pour les chambres de 3000 μm , 1500 μm , 500 μm et 200 μm respectivement en considérant une hauteur de 28 μm . Le taux de dilution est 15 fois plus important dans une chambre de 3000 μm que dans une chambre de 200 μm de long. Ainsi, les petites chambres de coalescence sembleraient *a priori* les mieux adaptées pour la détection de gouttes de volume inférieur au nanolitre.

3.1.2 Calibrations de la cellule électrochimique

A partir de la configuration d'électrodes 3Ec, il a été démontré précédemment qu'un bon accord était obtenu entre les courants expérimentaux et les courants simulés pour une chambre de coalescence de 3000 μm entièrement remplie de solution aqueuse, c'est-à-dire sans phase continue. Nous avons donc étendu cette analyse pour l'ensemble des chambres considérées ici avec deux types de mesures. Comme précédemment, la première approche consiste à remplir entièrement la chambre de solution aqueuse sans utilisation de phase continue (huile) puis de réaliser sans flux imposé des mesures à l'état stationnaire pour plusieurs concentrations de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$. Ce sont des mesures selon une utilisation de type monophasique sans flux. La seconde approche consiste quant à elle à effectuer les mêmes mesures en présence d'une circulation de phase continue (huile), la chambre étant remplie d'un volume de solution aqueuse maintenu sur les électrodes. Ce sont des mesures obtenues selon une utilisation de type diphasique avec flux. C'est ce second mode qui s'approchera le plus des conditions réelles de détection de gouttes après coalescence.

Les résultats obtenus suivant ces deux approches sont consignés dans le *Tableau 3.4* sous la forme de sensibilités exprimées en $\mu\text{A cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$.

Tableau 3.4 : Sensibilités provenant de calibrations effectuées suivant une utilisation de type monophasique sans flux ou de type diphasique avec flux pour les 4 longueurs de chambre considérées. Les valeurs théoriques ont été calculées pour un fonctionnement de type monophasique sans flux (modèle 2D de la Figure 3.9B) avec $w=80\mu\text{m}$, $g=40\mu\text{m}$, $h=28\mu\text{m}$, $D_{\text{FeII}} = 8 \cdot 10^{-6} \text{cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $D_{\text{FeII}}/D_{\text{FeIII}} = 0.87$. Les valeurs expérimentales résultent de mesures effectuées pour des concentrations comprises entre 0 et $10 \cdot 10^{-3} \text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$.

$L_{ch} / \mu\text{m}$	Sensibilité / $\mu\text{A cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$		
	Monophasique sans flux	Diphasique	Valeur théorique
3000	0.367 ± 0.002	0.272 ± 0.024	0.350
1500	0.295 ± 0.023	0.228 ± 0.010	0.350
500	0.289 ± 0.013	0.171 ± 0.003	0.350
200	0.344 ± 0.036	0.057 ± 0.001	0.350

Les résultats montrent que les sensibilités en mode monophasique sont comparables entre les dispositifs et conformes aux prévisions théoriques. En effet, nous obtenons une valeur moyenne de $0.324 \pm 0.018 \mu\text{A cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$ contre une valeur théorique de $0.350 \mu\text{A cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$.

En revanche, les sensibilités sont plus faibles en mode diphasique et elles diminuent avec la longueur des chambres. Nous pouvons attribuer cela à la présence de la phase continue d'huile qui réduit le volume de phase aqueuse dans la chambre mais aussi la surface de contact avec les électrodes. Ces effets de volume sont d'autant plus importants et prépondérants avec des effets de bords lorsque la taille de la chambre de coalescence devient petite.

Ainsi, la sensibilité est environ 5 fois moins importante pour une chambre de $200 \mu\text{m}$ que pour une chambre de $3000 \mu\text{m}$. En prenant en compte cette baisse de sensibilité, et sachant que l'effet de dilution est 15 fois moins important pour la plus petite chambre que pour la plus grande, le rapport de courant reste environ de 3 pour la détection d'une petite goutte dans la chambre de $200 \mu\text{m}$ par rapport à la chambre de $3000 \mu\text{m}$.

3.2 Détection de trains de gouttes

Après avoir caractérisé les réponses de la cellule électrochimique en fonction de la concentration de phase aqueuse dans la chambre, nous avons repris notre étude initiée précédemment (paragraphe 1.3.3) sur la détection de trains de gouttes.

3.2.1 Analyse des courants

Le principe de l'analyse des courants est expliqué sur la *Figure 3.18* lors d'une augmentation de concentration de la chambre après l'arrivée successive de gouttes.

Pour chaque goutte, le courant de plateau est mesuré par rapport à la ligne de base définie par i_0 . Lorsque les courants n'augmentent plus significativement, la concentration moyenne de la chambre tend vers celle des gouttes. A la dernière goutte, nous mesurons alors la différence ($i_i - i_0$) égale à i_{max} .

La possibilité de déterminer correctement des courants de plateau dépend de la durée de stabilisation des courants et de la durée de mesures entre chaque goutte. Ainsi, deux paramètres sont à considérer : le temps moyen de stabilisation des courants et la fréquence d'arrivée des gouttes. En supposant un plateau de courant mesurable sur une durée deux fois plus grande que le temps de stabilisation requis, la fréquence maximale dans nos conditions expérimentales correspond alors à une fréquence de 0.1Hz.

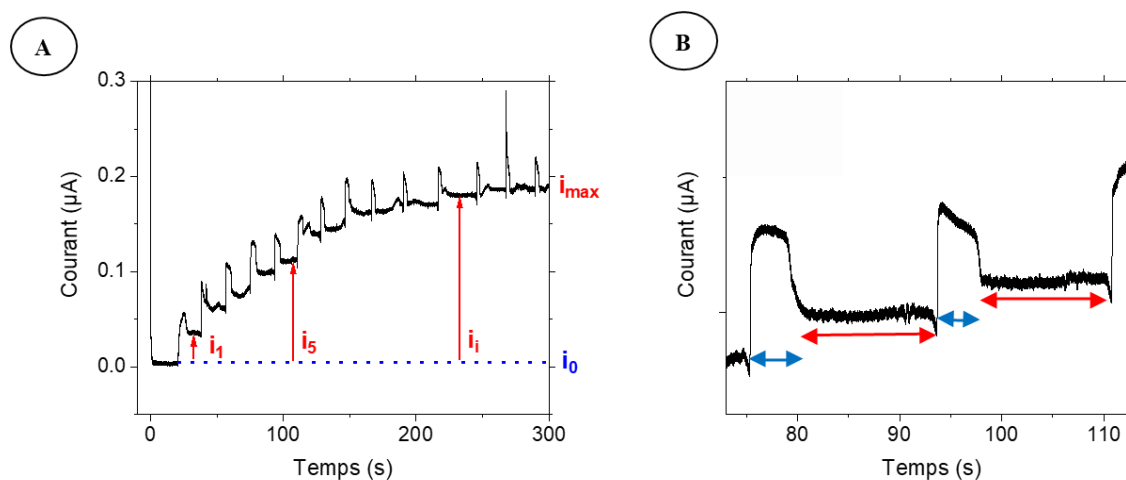


Figure 3.18 : Analyse des courants obtenus lors de l'arrivée de trains de gouttes de $Fe(CN)_6^{4-}$ $c^\circ=2.10^{-3} mol.L^{-1}$ préparé dans $KCl 0.5 mol.L^{-1}$ dans la chambre de coalescence $L_{ch}=3000\mu m$ contenant initialement une solution de $KCl 0.5 mol.L^{-1}$ ($c_{ch}^\circ=0$). A. Chronoampérogramme obtenu lors de l'arrivée de trains de gouttes de volume moyen $V=2.1\pm 0.5 nL$ à la fréquence moyenne $f=0.050\pm 0.008 Hz$ B. Agrandissement d'une zone du chronoampérogramme sur lequel le temps de stabilisation est représenté en bleu, et le plateau de courant en rouge.

3.2.2 Résultats expérimentaux

En suivant la procédure décrite *Figure 3.18*, nous avons analysé les réponses obtenues lors de l'arrivée de trains de gouttes pour les quatre chambres de coalescence lors d'une augmentation

de concentration dans la chambre. Afin de pouvoir rassembler différentes séries de données et les comparer entre elles, nous avons choisi de normaliser les courants par la longueur L_{ch} de la chambre et par la concentration initiale c° des gouttes, c'est-à-dire de considérer le rapport $i/L_{ch}c^\circ$. Nous avons également choisi de représenter ces données en fonction du volume de goutte cumulé ΣV_i après l'arrivée de chaque goutte, volume toutefois rapporté au volume V_{ch} de phase aqueuse contenue dans la chambre. Un exemple de données est ainsi illustré *Figure 3.19* pour les quatre longueurs de chambre étudiées. Ce type de représentation montre dès à présent des allures de courbes différentes mais également des intensités de courant qui diminuent avec la longueur des chambres. Ce comportement est conforme aux précédents résultats du *Tableau 3.4*.

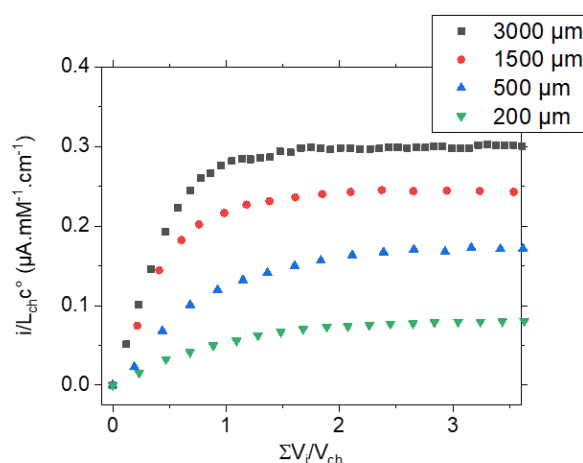


Figure 3.19 : Représentation des courants normés $(i_i - i_0)/L_{ch} c^\circ$ lors de l'arrivée de trains de gouttes en fonction de $\Sigma V_i / V_{ch}$ pour $L_{ch}=3000 \mu m$ ($f=0.064 \pm 0.015$ Hz, $V=1.900 \pm 0.319$ nL), $L_{ch}=1500 \mu m$ ($f=0.064 \pm 0.0119$ Hz, $V=1.392 \pm 0.202$ nL), $L_{ch}=500 \mu m$ ($f=0.027 \pm 0.008$ Hz, $V=0.493 \pm 0.042$ nL), $L_{ch}=200 \mu m$ ($f=0.025 \pm 0.011$ Hz, $V=0.284 \pm 0.015$ nL).

En effet, nous avons tout d'abord analysé les courants $i_{max}/L_{ch} c^\circ$ en fonction de la taille des chambres pour plusieurs séries de mesures réalisées à l'arrivée de train de gouttes puis reporté ces résultats dans le *Tableau 3.5*. Les valeurs de sensibilité déterminées précédemment (sans train de goutte) ont également été reportées pour comparaison. Ainsi, nous pouvons constater que les sensibilités obtenues après accumulation des gouttes sont compatibles avec les valeurs de sensibilités déterminées pour les différentes conditions d'utilisation des chambres (*Tableau 3.4*). Les sensibilités diminuent avec la longueur des chambres de façon comparable aux incertitudes expérimentales près. Les arrivées successives de gouttes n'altèrent donc pas la calibration de la cellule électrochimique. Les mesures sont suffisamment reproductibles pour conduire aux mêmes performances.

Tableau 3.5 : Calculs de sensibilités moyennes à partir de courants $i_{\max}/L_{\text{ch}}c^{\circ}$ évalués sur plusieurs séries de mesures réalisées en train de gouttes et comparaison avec les données du Tableau 3.4 (sans train de gouttes).

$L_{\text{ch}} / \mu\text{m}$	Sensibilité / $\mu\text{A cm}^{-1} \text{mM}^{-1}$		
	$i_{\max}/L_{\text{ch}}c^{\circ}$	Diphasique	Valeur théorique
3000	0.305 ± 0.029	0.272 ± 0.024	0.350
1500	0.232 ± 0.027	0.228 ± 0.010	0.350
500	0.231 ± 0.060	0.171 ± 0.003	0.350
200	0.083 ± 0.018	0.057 ± 0.001	0.350

Un autre mode de représentation consiste à analyser ces mêmes données en considérant maintenant une normalisation des courants par i_{\max} . Les variations du rapport i/i_{\max} correspondants aux données de la Figure 3.19 sont représentées en Figure 3.20 en fonction de $\Sigma V_i/V_{\text{ch}}$. Nous pouvons constater que les profils des courbes ne sont pas nécessairement superposables, ce qui traduit une dynamique différente suivant la taille des chambres de coalescence. En effet, l'augmentation des courants (et donc des concentrations dans V_{ch}) en fonction des volumes cumulés est plus lente pour les deux plus petites chambres. Autrement dit, il faut atteindre des volumes cumulés plus élevés avec des valeurs $\Sigma V_i/V_{\text{ch}}$ supérieures à 1 pour atteindre le courant i_{\max} . Ces différences traduisent des régimes de fonctionnement différents des chambres de coalescence suivant leurs tailles respectives.

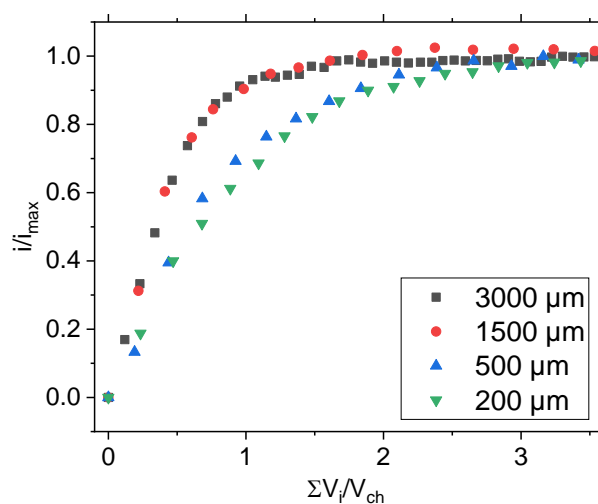


Figure 3.20 : Représentation des courants normés par le courant maximal lors de l'arrivée de trains de gouttes en fonction de $\Sigma V_i/V_{\text{ch}}$. Les séries de données sont les mêmes que pour la Figure 3.19.

3.3 Différents régimes de fonctionnement

Deux modèles limites sont proposés pour identifier les régimes de fonctionnement des chambres lorsque le volume des gouttes V est inférieur au volume des chambres V_{ch} . Pour ces deux modèles, le volume de solution aqueuse V_{ch} dans la chambre de coalescence est supposé constant, avec un volume de goutte entrant V égal au volume de goutte sortant.

3.3.1 Modèles proposés

- **Modèle sans homogénéisation (SH)**

Dans ce premier cas, nous considérons qu'il n'y a aucune homogénéisation du contenu de la chambre de coalescence au cours de son fonctionnement. Ainsi, les gouttes de même concentration c° et de même volume V s'accroissent progressivement à l'entrée de la chambre. Un volume V équivalent d'électrolyte support est toutefois éjecté en sortie de chambre après chaque arrivée de goutte. Ce fonctionnement est représenté sur la *Figure 3.21*.

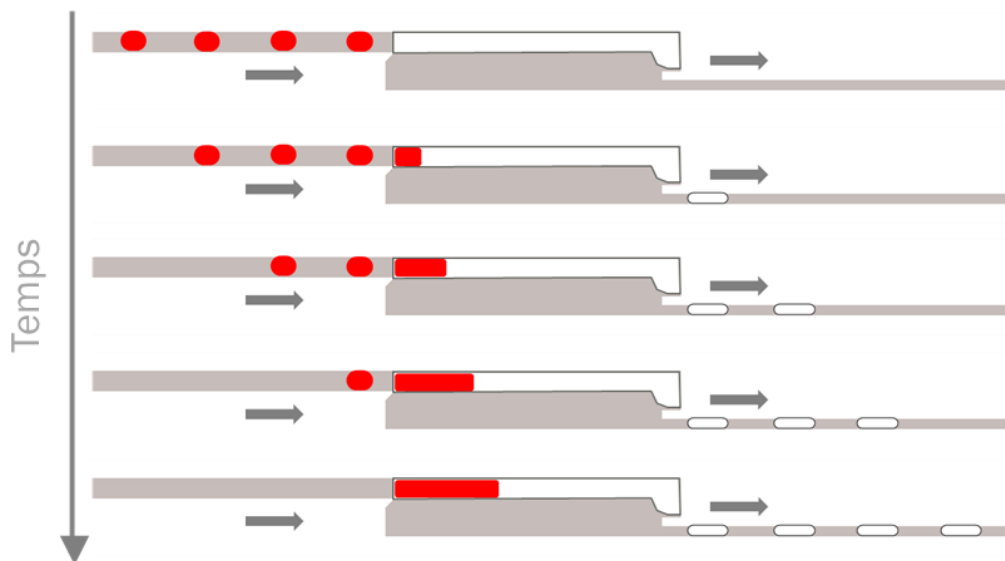


Figure 3.21 : Schéma de principe du modèle sans homogénéisation (SH). La solution en rouge correspond à l'espèce électroactive, tandis que la solution en blanc contient exclusivement de l'électrolyte support. La phase continue est représentée en gris.

La concentration moyenne atteinte dans la chambre après l'arrivée d'une $i^{\text{ème}}$ goutte est donnée par l'équation suivante :

$$c_{ch\ i} = \frac{Vc^\circ + V_{ch} c_{ch\ i-1}}{V_{ch}} \quad (3.8)$$

Nous considérons que la chambre est entièrement remplie d'espèces électroactives lorsque $\Sigma V_i = V_{ch}$. La concentration de la chambre est alors homogène et correspond à la concentration c° des gouttes. Le courant i_{max} est alors atteint.

- **Modèle avec homogénéisation (AH)**

Pour le second modèle, nous considérons que le contenu de la chambre de coalescence s'homogénéise après l'arrivée de chaque goutte. A chaque étape, un volume de solution de concentration homogène contenant des espèces électroactives est éjecté. Ce fonctionnement est représenté par la *Figure 3.22*.

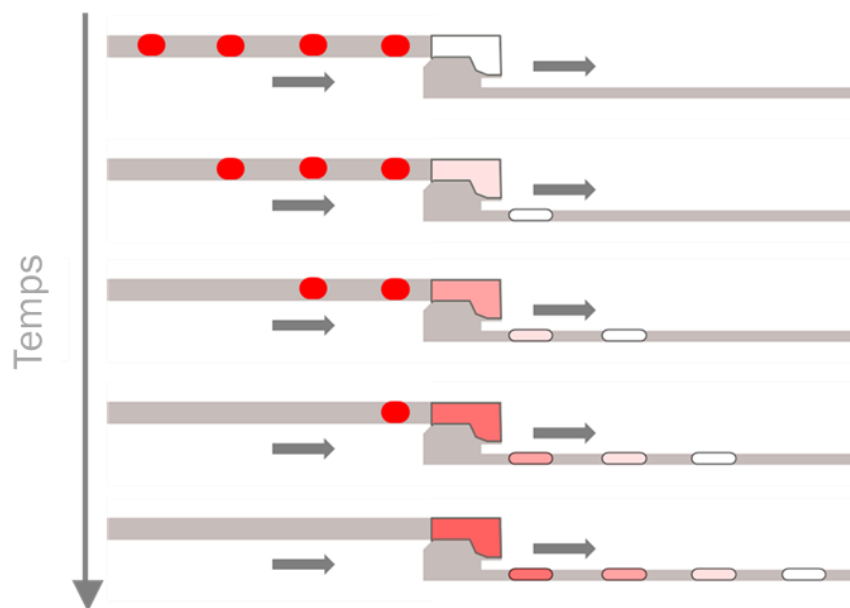


Figure 3.22 : Schéma de principe du fonctionnement avec homogénéisation (AH). La solution en rouge correspond à l'espèce électroactive, tandis que la solution en blanc contient exclusivement de l'électrolyte support. La phase continue est représentée en gris.

Pour ce mode de fonctionnement, l'équation décrivant la concentration moyenne atteinte dans la chambre après l'arrivée d'une $i^{\text{ème}}$ goutte est la suivante :

$$c_{ch\ i} = \frac{(Vc^\circ) + (V_{ch} - V) c_{ch\ i-1}}{V_{ch}} \quad (3.9)$$

Les évolutions des rapports de concentration $c_{ch\ i} / c^\circ$ à l'intérieur de la chambre en fonction de $\Sigma V_i / V_{ch}$, pour ces deux modèles, sont reportées sur la *Figure 3.23*. La concentration dans la chambre c_{ch} , normalisée par la concentration des gouttes c° , y est représentée en fonction des volumes cumulés $\Sigma V_i / V_{ch}$.

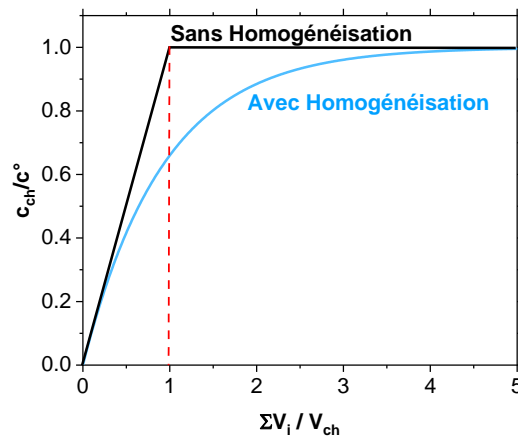


Figure 3.23 : Représentation des variations de concentration $c_{\text{ch } i} / c^{\circ}$ en fonction de $\Sigma V_i / V_{\text{ch}}$ pour les deux modèles : en bleu modèle avec homogénéisation (AH), en noir modèle sans homogénéisation (SH). La verticale en tirets rouges indique le cas $\Sigma V_i = V_{\text{ch}}$.

Nous pouvons nous rendre compte des différences entre les deux modèles. L'augmentation en concentration suivant le volume de goutte cumulé est bien plus lente pour le modèle AH que pour le modèle SH. Le volume de goutte cumulé $\Sigma V_i / V_{\text{ch}}$ doit être supérieur à 1 pour atteindre la limite où $c_{\text{ch } i} = c^{\circ}$. Dans le cas du modèle SH, une variation linéaire de pente 1 est obtenue lorsque $\Sigma V_i / V_{\text{ch}} < 1$.

3.3.2 Fonctionnement des différents dispositifs

Les différentes séries de mesures expérimentales ont pu être comparées aux variations théoriques issues des deux modèles en considérant la représentation de la Figure 3.20. La superposition des courbes i/i_{max} est réalisée en Figure 3.24 et comparée aux rapports $c_{\text{ch } i} / c^{\circ}$ issus des modèles SH et AH pour chaque taille de dispositif.

Nous pouvons constater expérimentalement deux types de comportement. Pour les chambres de longueur 3000 et 1500 μm , les variations i/i_{max} correspondent aux incertitudes expérimentales près au modèle SH. Pour les deux autres tailles de chambre, 500 et 200 μm , les variations s'apparentent plus au modèle AH. Ces tendances, en fonction de la taille des chambres, s'expliquent aisément car une homogénéisation plus importante en concentration est attendue lorsque le volume V_{ch} de la chambre est plus petit. Il semble que les longueurs de chambre de 3000 et 500 μm constituent expérimentalement deux cas limites (modèles SH et AH) permettant d'illustrer deux régimes de fonctionnement différents des chambres de coalescence.

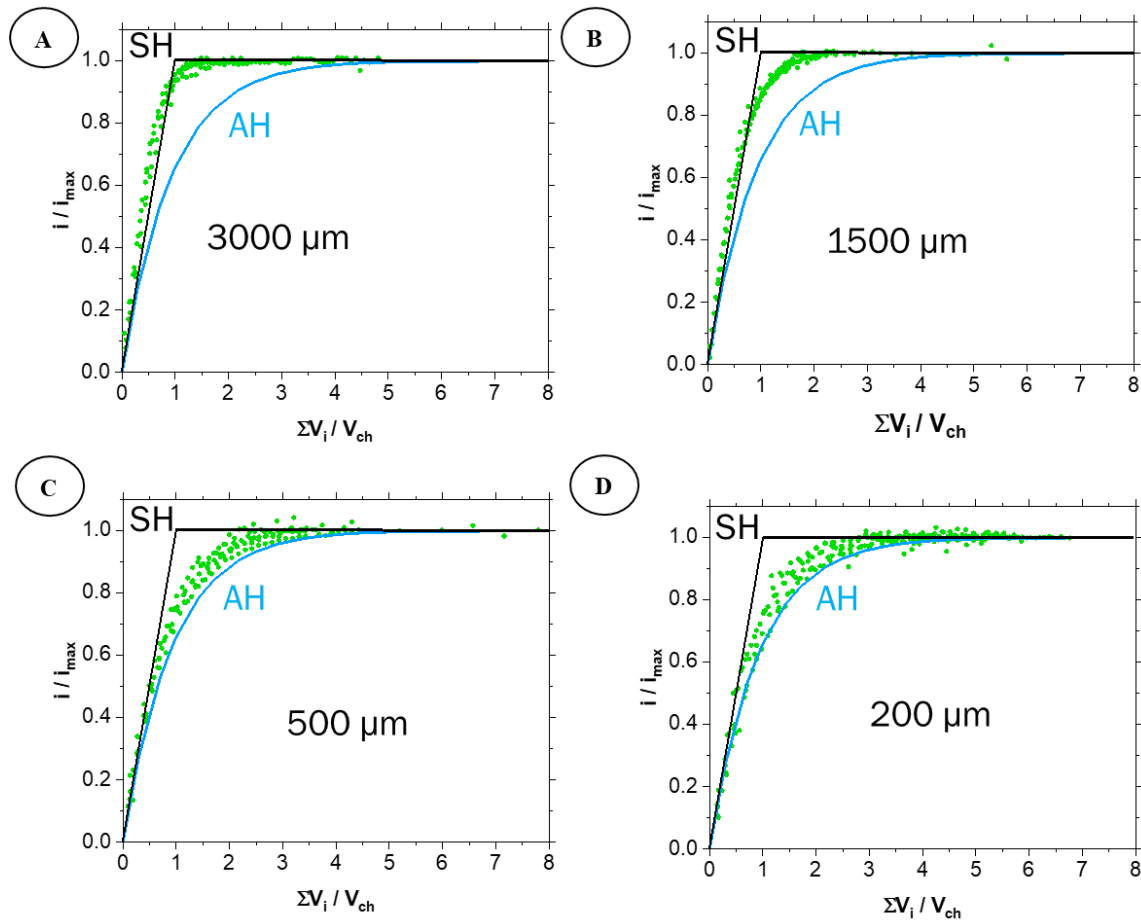


Figure 3.24 : Comparaison des séries expérimentales (points expérimentaux en vert) avec les modèles AH et SH pour différentes longueur de chambre de coalescence A. $L_{ch} = 3000 \mu\text{m}$ B. $L_{ch} = 1500 \mu\text{m}$ C. $L_{ch} = 500 \mu\text{m}$ D. $L_{ch} = 200 \mu\text{m}$

Nous pouvons constater que les séries expérimentales se situent généralement au-dessus des courbes théoriques correspondantes. Cela peut provenir d'une surestimation du volume de chambre V_{ch} ou d'une sous-estimation du volume entrant V de goutte. Le volume V_{ch} peut être surestimé en raison de la phase continue d'huile qui s'écoule en permanence dans la chambre. En effet, pendant le fonctionnement du dispositif, la phase continue doit passer nécessairement au-dessus de la solution aqueuse au niveau de l'entrée dans la chambre de coalescence (Figure 3.25). Ce processus devient prépondérant lorsque la taille de la chambre diminue. Ainsi, il est probable qu'il y ait un biais sur la détermination du volume V_{ch} par une image optique prise du dessus et en considérant la hauteur nominale du dispositif. Un film d'huile peut également être présent sur le bord des électrodes (gouttières) et ainsi réduire la surface active des électrodes comme cela a déjà été constaté à partir de l'analyse des courants i_{max} (Tableau 3.5).

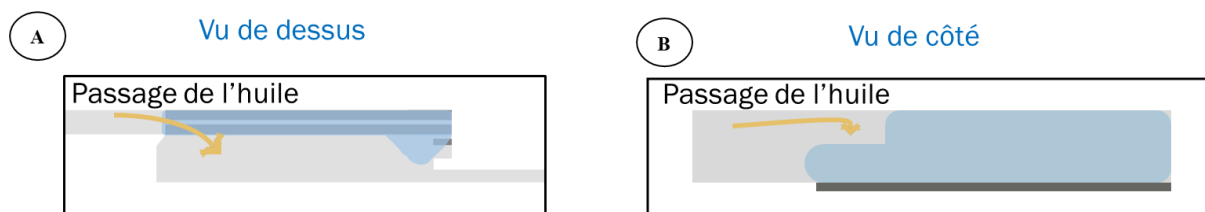


Figure 3.25 : Schémas illustrant le passage de l'huile à l'entrée de la chambre de coalescence A. Vu de dessus B. Vu de côté

4 Conclusion et perspectives

Nous avons conçu des chambres de coalescence de type cavité permettant d'intégrer une configuration de cellule à 3 électrodes. La coalescence passive et synchrone de gouttes circulantes a pu être mise en œuvre grâce à l'affinité particulière entre la phase aqueuse et le matériau d'électrode. Le contenu de la chambre en phase aqueuse est ainsi maintenu constant après chaque arrivée et départ de gouttes. L'influence de la géométrie de la cellule électrochimique sur ses performances a été étudiée par simulations numériques et le fonctionnement des dispositifs caractérisés expérimentalement lors du passage de trains de gouttes.

Un couplage diffusionnel de type générateur-collecteur entre l'électrode de travail et la contre-électrode a été mis en évidence. Le contenu de la chambre en espèce électroactive n'est donc pas épuisé pendant la mesure électrochimique grâce à sa régénération qui permet l'établissement d'un état stationnaire. Les courants se trouvent amplifiés notamment par les effets de confinement.

En élaborant des chambres de coalescence de tailles différentes, nous avons montré qu'il pouvait y avoir différents régimes de fonctionnement. Nous avons pour cela proposé deux modèles qui permettent d'encadrer deux comportements limites, à savoir un modèle avec homogénéisation de concentration et un autre sans homogénéisation pour caractériser le contenu des chambres au cours de leur fonctionnement.

Une chambre de coalescence de grande taille semble finalement la mieux adaptée pour la détection de trains de gouttes constitués de petites gouttes. Malgré l'absence de dilution sévère des gouttes à l'entrée du dispositif, il est alors possible de détecter électrochimiquement de faibles variations de concentration. Nous avons également constaté dans ces conditions une

meilleure sensibilité des réponses et une meilleure reproductibilité des mesures en limitant les effets dus à la circulation de la phase continue d'huile et ceux dus au mouillage imparfait des électrodes par la phase aqueuse.

Il est ainsi envisageable de détecter de très petits volumes de gouttes de même concentration, par accumulation, jusqu'à atteindre la situation d'équilibre où la concentration dans la chambre devient égale à celle des gouttes. En effet, le courant mesuré permet une évaluation de leur concentration, si la sensibilité de la cellule électrochimique est préalablement établie pour la taille de chambre considérée. Il est également envisageable de déterminer cette concentration en analysant l'ensemble des mesures au cours de l'accumulation des gouttes, puis en se référant à un profil de référence obtenu dans les mêmes conditions pour une concentration connue de gouttes. Enfin, il est envisageable de détecter, au cours de leur arrivée, des gouttes de concentrations variables et de déterminer leur concentration individuelle. Pour cela, la chambre doit être suffisamment grande pour imposer un régime de fonctionnement sans homogénéisation de concentration dans la chambre.

CHAPITRE 4

MISE EN ŒUVRE DE L'ELECTROCHIMILUMINESCENCE EN MICROFLUIDIQUE DE GOUTTES

Chapitre 4. Mise en œuvre de l'électrochimiluminescence en microfluidique de gouttes

Ce chapitre a pour but de poser les fondements d'un nouveau type de détection en microfluidique de gouttes en utilisant l'électrochimiluminescence (ECL), phénomène d'émission de lumière déclenché par une réaction électrochimique initiale. Le signal lumineux de chimiluminescence couplé au courant électrochimique contribue à améliorer le contrôle et les performances des détections, l'intensité lumineuse résultante constituant en effet un signal analytique.

Le principe d'ECL sera d'abord présenté à partir d'éléments bibliographiques : il s'agira d'appréhender l'importance de principaux paramètres tels que le mécanisme réactionnel, le pH et le matériau d'électrode employé. Une des rares études publiée sur des mesures ECL dans des dispositifs microfluidiques sera décrite après avoir répertorié un ensemble d'applications utilisant une détection par ECL.

Nous détaillerons ensuite la mise en œuvre expérimentale d'une détection ECL à partir de nos dispositifs. A cet effet, l'objectif sera essentiellement porté sur la conception d'électrodes semi-transparentes sur lame de verre. L'influence du débit sur la mesure ECL sera ensuite mise en évidence en microfluidique continue.

Finalement, nous présenterons quelques résultats de détection ECL obtenus en microfluidique de gouttes. Ces premiers travaux permettront de valider la mise en place d'une telle détection à l'intérieur de gouttes. Des mesures réalisées pour différentes concentrations de luminophore seront présentées et des images ECL seront exploitées pour caractériser l'interface électrode / goutte.

1 Electrochimiluminescence et microdispositifs

L'électrochimiluminescence est un phénomène de luminescence qui est initié par une étape de transfert d'électron à la surface d'une électrode. Ainsi, l'ECL permet de suivre deux grandeurs en même temps : l'intensité lumineuse et une réponse électrochimique. Cette complémentarité

est un atout certain pour l'étude de systèmes complexes. La luminescence étant produite à la surface de l'électrode, les résolutions spatiales et temporelles en font un outil analytique puissant [179]. Elle présente une très faible limite de détection (jusqu'au picomolaire) ce qui la rend particulièrement adaptée pour la détection de matériel biologique [180], notamment en biomédecine [181]. Par exemple, l'ECL basée sur l'utilisation de microbilles magnétiques est mise en œuvre pour la réalisation de diagnostics cliniques lors d'immunodosages [182]. Cependant, l'immunodosage ECL classique conduit généralement à un seul signal qui peut être insuffisant pour le diagnostic ou la prédiction de maladies associées à plusieurs biomarqueurs. Ainsi, de récentes études mettant à profit l'excellente résolution spatio-temporelle de l'ECL ont développé des stratégies conduisant à la mesure de plusieurs signaux en parallèle [183].

L'ECL présente des avantages similaires à l'imagerie de fluorescence qui est une méthode analytique très utilisée en microdispositifs pour des applications biologiques : c'est une méthode sélective, dotée d'une grande sensibilité dans une large plage de concentration [184] et qui n'est pas altérée par les effets de matrice [185]. Par contre, contrairement à la fluorescence, l'ECL ne nécessite aucune source lumineuse excitatrice pour être induite et par conséquent elle ne nécessite pas une séparation entre longueurs d'onde excitatrice et émettrice. Cela en fait une méthode analytique de choix pour l'obtention d'un rapport signal sur bruit très élevé sans aucune lumière incidente diffusée. Pour cette même raison, l'ECL requiert un appareillage simple (potentiostat et caméra ou photodétecteur). Son intégration dans des microdispositifs se trouve donc facilitée. En revanche, l'émission ECL doit être mesurée à l'obscurité. La luminescence étant produite à la surface de l'électrode, deux stratégies sont envisageables pour la détection. Il est naturel de la détecter par-dessus l'électrode dans le cas d'électrodes opaques [180]. Cependant, par commodité pour certains microdispositifs, il est utile d'observer la luminescence à travers l'électrode. Des électrodes transparentes ou semi-transparentes ont été développées dans ce but [186].

Il est possible de générer de l'ECL suivant deux types de réaction. Les premières études en ECL ont été réalisées par **annihilation d'ions**. Ce type de réaction suit un mécanisme radicalaire qui induit des conditions opératoires strictes : le milieu doit être purifié et désoxygéné pour permettre une émission d'ECL [187]. Le groupe de A. Bard a révolutionné en l'ECL en 1972 avec ses premières recherches sur les complexes de ruthénium (composés solubles dans l'eau) pour les employer comme **luminophores** [188]. C'est en 1987 qu'apparaît la première étude sur le système ruthénium/tripropylamine. L'ECL est alors produite grâce à l'ajout **d'un**

coréactif [189]. Les conditions opératoires sont simplifiées car il est possible de travailler en milieu aqueux sans dégazage préalable de la solution. Les conditions pour ce couple de réactifs (luminophore + coréactif) ont ensuite été confirmées par Leland et Powell en 1990 [190], puis ce système a été largement étudié, notamment pour son intérêt dans le cadre d'applications biologiques [191]. Il existe de nombreux autres couples de réactifs, organiques ou inorganiques, adaptés pour l'ECL [187].

1.1 Couple ruthénium(II)/tripropylamine

Les structures moléculaires du luminophore ruthénium (II) tris(bipyridine) ($[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$) et du coréactif tripropylamine (TPA) sont présentées sur la *Figure 4.1*.

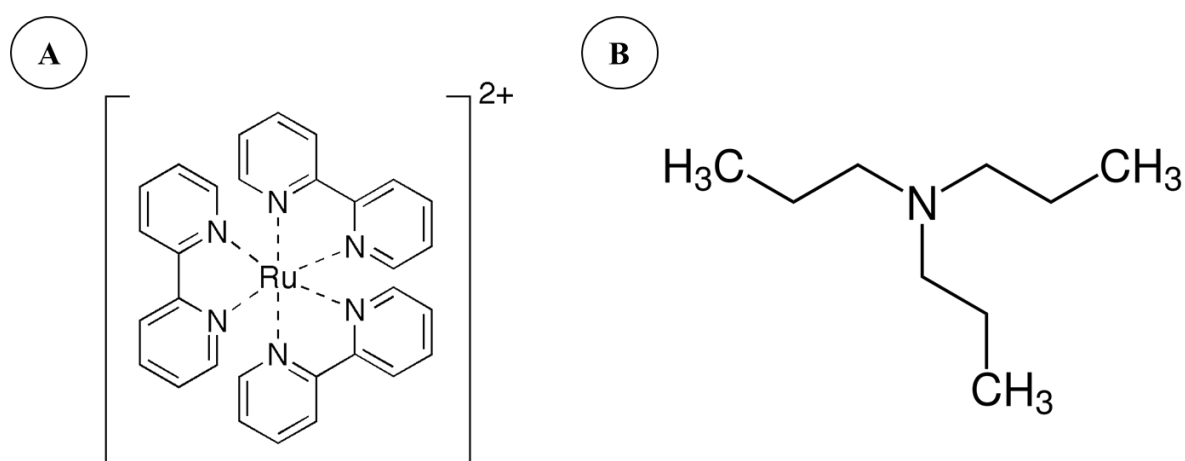


Figure 4.1 : Structure moléculaire du couple de réactifs ruthénium (II) tris(bipyridine) (A) et Tripropylamine (B).

Le complexe de ruthénium(II) se conjugue facilement à des biomolécules par le biais de liaisons amino-bipyridine, ce qui en fait un marqueur de choix pour du matériel biologique. La tripropylamine est un composé organique dont l'électroactivité permet de jouer sur le mécanisme de la réaction d'électrochimiluminescence.

1.1.1 Mécanismes ECL

Deux mécanismes sont proposés pour décrire la réaction d'ECL du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$ (*Figure 4.2*).

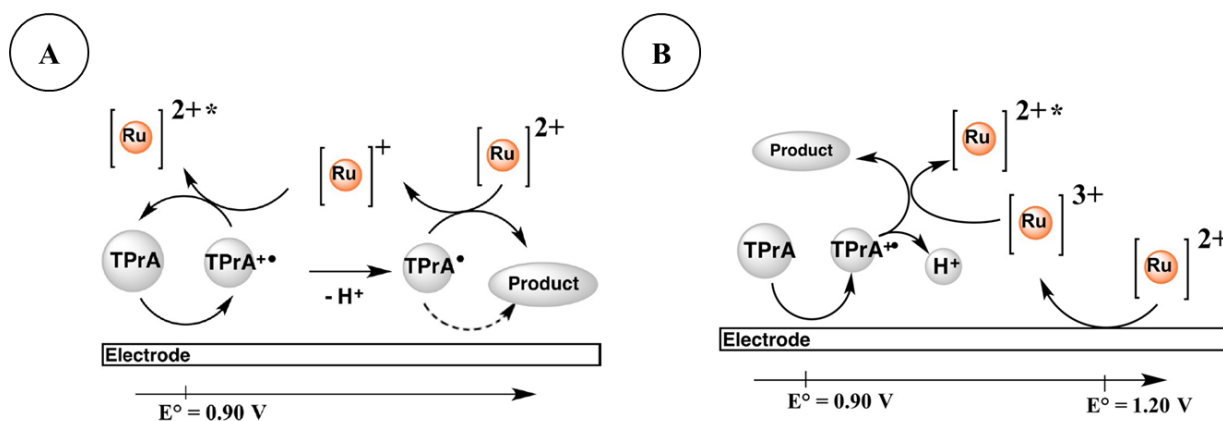


Figure 4.2 : Mécanismes d'électrochimiluminescence pour le couple $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$
 A. Seule la TPA s'oxyde à la surface de l'électrode B. Les deux réactifs s'oxydent à la surface de l'électrode [192].

Dans un premier cas, seule l'oxydation du coréactif TPA impliquant les formes TPrA•+ et TPrA• a lieu à la surface de l'électrode (Figure 4.2A). Deux étapes réactionnelles font intégrer le luminophore et le coréactif pour former l'état excité du complexe de ruthénium qui émet un photon lors du retour à son état fondamental. Ce mécanisme généralement minoritaire peut être prédominant lorsque le complexe de ruthénium est lié à du matériel biologique et qu'il n'est pas libre en solution pour diffuser à l'électrode.

Dans un deuxième cas (Figure 4.2B), le luminophore $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ et le coréactif TPA sont oxydés à la surface de l'électrode simultanément, puis réagissent entre eux en une étape pour produire l'état excité du luminophore. Un photon est ensuite émis lors du retour du complexe de ruthénium à sa forme initiale $[Ru(bpy)_3]^{2+}$. Ce mécanisme est généralement majoritaire.

Dans les deux cas, le luminophore est régénéré à chaque cycle alors que le coréactif est consommé. Le potentiel élevé qu'il faut appliquer pour oxyder le complexe de ruthénium est un paramètre limitant pour l'utilisation de ce couple.

1.1.2 Influence de la concentration de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ et du pH

Le système $[Ru(bpy)_3]^{2+} / TPA$ a déjà bien été défini par l'étude de Leland et Powell sur électrodes d'or en 1990, et certains paramètres comme le pH ont été identifiés comme étant déterminants pour l'obtention d'un signal optimal de luminescence (Figure 4.3A) [190].

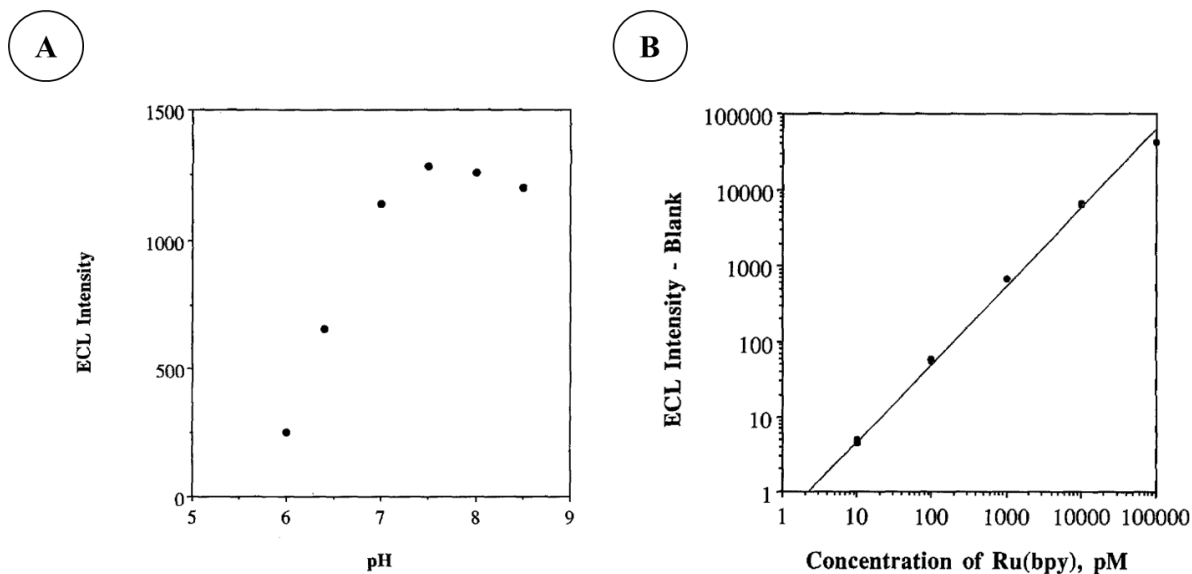


Figure 4.3 : Mesures d'intensité de luminescence effectuées sur électrodes d'or A. Influence du pH sur l'intensité ECL pour une solution contenant de la TPA à 0.1 mol.L^{-1} et de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ à $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$. B. Domaine de linéarité de l'intensité ECL pour une solution de TPA à 0.1 mol.L^{-1} et de concentration en $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ variable [190].

Le maximum de luminescence est obtenu à $\text{pH} = 7.5$. En comparaison, l'intensité est 5 fois plus faible à $\text{pH} = 6$. Il est donc important de préparer les solutions de mélange $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} / \text{TPA}$ à $\text{pH} = 7.5$. De plus, la tripropylamine qui ne se solubilise pas aisément dans l'eau présente une bonne solubilité à ce pH.

L'intensité de lumière dépend de la concentration en luminophore [193] mais aussi de celle du coréactif [194]. Dans les conditions expérimentales usuelles, il est courant d'employer un excès de TPA par rapport au $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Dans ce cas, la luminescence est proportionnelle à la concentration du luminophore. Le domaine de linéarité en intensité ECL a été défini (Figure 4.3B) avec au moins 5 ordres de grandeur en concentration, allant du picomolaire au micromolaire.

1.1.3 Influence du matériau d'électrode

La réactivité du système $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$ dépend du matériau d'électrode : les deux paramètres en jeu sont la **vitesse de transfert électronique** à l'électrode ainsi que l'**affinité chimique des réactifs avec le matériau d'électrode**. La précision et la stabilité du potentiel appliqué sont également des paramètres importants pour l'obtention de réponses optimales et reproductibles.

Les métaux nobles ont été les premiers matériaux d'électrode envisagés pour les réactions ECL par le groupe de A. Bard (*Figure 4.4*) [195].

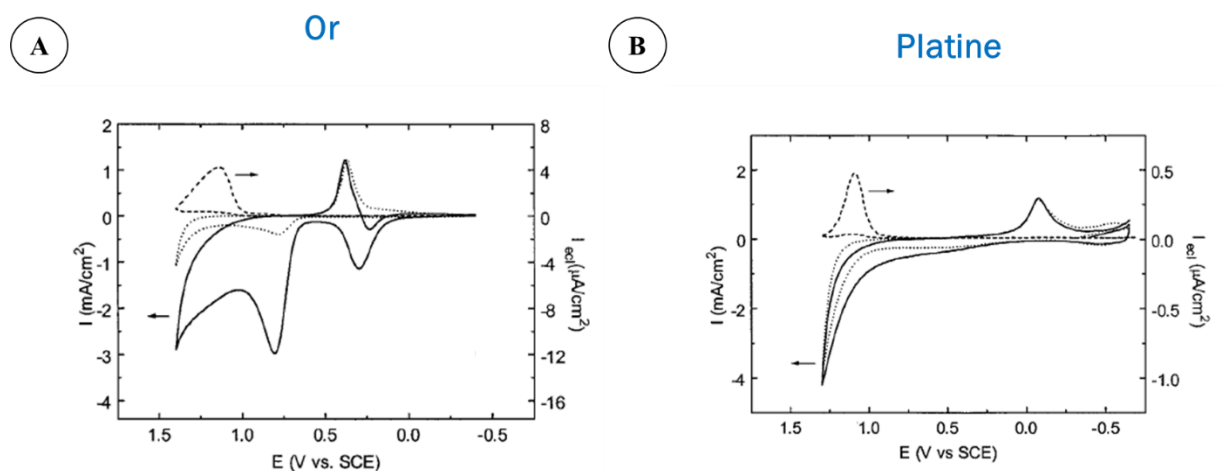


Figure 4.4 : Voltamogramme cyclique à $0.1V.s^{-1}$ (traits pleins) et suivi de luminescence (en tirets) présentés en conventions états-uniennes. Les données en pointillés correspondent aux voltamogrammes en absence de TPA et de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$. La solution est préparée à $pH=7.5$ dans PBS $0.15 mol.L^{-1}$ avec $0.1 mol.L^{-1}$ de TPA et $10^{-6} mol.L^{-1}$ de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $1 \mu M$. Le matériau d'électrode est de l'or (A) et du platine (B) [195].

Sur électrode d'or, un pic d'oxydation est observé sur les voltamogrammes à $0.8V$ vs SCE alors qu'aucune contribution bien définie n'apparaît sur électrode de platine. Cependant, un pic de luminescence est observé à partir de ces deux matériaux d'électrode. Dans les deux cas, le pic apparaît peu après $1 V$ vs SCE. Il est mieux résolu en potentiel sur l'électrode de platine, mais il est d'intensité huit fois inférieure à celui obtenu sur électrode d'or. Cette différence est attribuée au fait que le platine peut être oxydé en générant une couche d'oxyde influençant l'oxydation du coréactif et donc l'intensité ECL émise. Pour ces raisons, peu d'études ont été effectuées à partir d'électrodes de platine [192].

Le carbone est souvent employé pour optimiser les réactions ECL par rapport aux choix des réactifs. En effet, l'oxydation des amines y est rapide, ce qui est bénéfique pour l'oxydation de la tripropylamine. De plus, l'oxydation de l'eau nécessite une surtension importante, ce qui limite la génération de bulles à potentiels élevés [192]. Le signal caractéristique du couple $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$ sur électrode de carbone vitreux est présenté sur la *Figure 4.5*.

Carbone vitreux

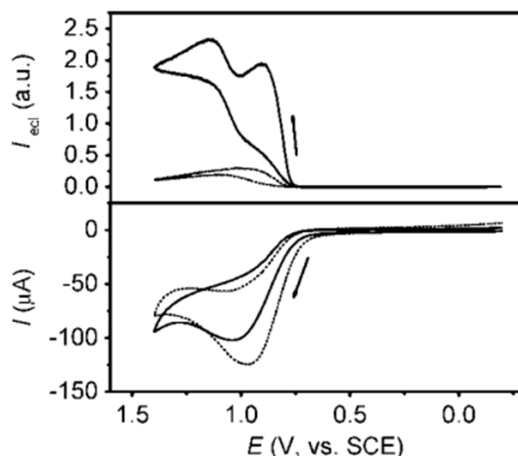


Figure 4.5 : Voltamogramme cyclique à $0.1V.s^{-1}$ et suivi de l'intensité ECL pour une solution de TPA à $0.01 mol.L^{-1}$ et de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $10^{-6} mol.L^{-1}$ préparée dans PBS $0.15 mol.L^{-1}$ à $pH=7.5$. Ces résultats sont obtenus sur électrode de carbone vitreux. Les pointillés correspondent à une étape de prétraitement, et les traits pleins au signal d'intérêt [192].

Une double vague de luminescence coïncide avec une vague d'oxydation à partir de 0.8V vs SCE. Néanmoins, le carbone vitreux présente souvent différents états de surface d'électrode, ce qui conduit à un manque de reproductibilité. C'est pourquoi une étape de prétraitement est généralement nécessaire avant la réalisation des mesures.

Parmi les trois matériaux présentés, l'électrode de carbone est donc privilégiée. Cependant, l'électrode est opaque et l'ECL peut être mesurée uniquement au-dessus de sa surface. Plus récemment, des matériaux transparents tels que l'oxyde d'indium et d'étain (ITO) et les nanotubes de carbone (CNT) ont été mis au point afin d'initier l'ECL et de réaliser des mesures à travers les surfaces d'électrode. Des exemples de réponses obtenues sur ITO et CNT sont présentées sur la Figure 4.6.

L'ITO présente une très bonne transparence. Cependant aucun pic de courant n'est obtenu en voltamétrie cyclique, et l'intensité de luminescence est parfois faible. Les électrodes à base de CNT sont plus difficiles à réaliser et les épaisseurs doivent être très fines pour assurer une bonne transparence. Toutefois, le voltamogramme sur CNT, qui présente un plateau d'oxydation de 200 mV à partir de 1V vs Ag/AgCl, conduit à une intensité lumineuse dix fois plus importante que sur ITO. Les propriétés intéressantes du carbone pour le couple $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$ sont donc à nouveau observées lors de l'utilisation de CNT.

ITO & CNT

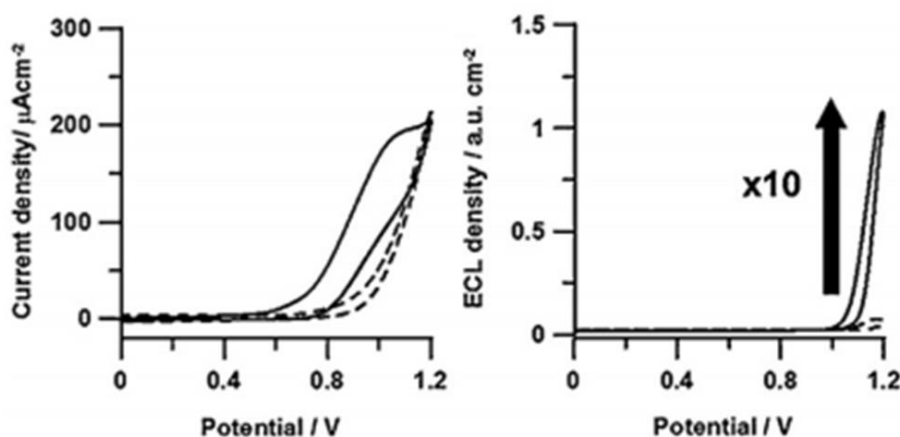


Figure 4.6 : Voltammogramme cyclique à 0.1V/s (à gauche) et suivi d'ECL (à droite) sur deux matériaux d'électrode de travail: ITO en pointillés et CNT en trait plein. La solution est préparée à pH=7.5 dans PBS 0.1 mol.L⁻¹ avec [Ru(bpy)₃]²⁺ à 0.01 mol.L⁻¹ et TPA à 0.08 mol.L⁻¹. Les potentiels indiqués sont pris par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl [186].

1.2 Utilisation du couple [Ru(bpy)₃]²⁺/TPA dans des microdispositifs

La plupart des travaux de recherche portant sur des mesures ECL dans des microdispositifs se consacrent à l'élaboration de dispositifs ou bien sur le développement d'applications spécifiques. Des mesures ECL sont alors réalisées sans qu'elles soient nécessairement optimisées. Ainsi, très peu portent sur l'étude de paramètres fondamentaux comme par exemple l'influence du débit sur l'intensité ECL en microfluidique.

1.2.1 Domaines d'applications

Nous allons ici établir une revue des applications de l'électrochimiluminescence qui ont été mises en œuvre dans des microdispositifs. Hormis quelques exemples concernant l'étude de coréactifs, les travaux de recherche portent sur la réalisation de tests biologiques comme par exemple la détection d'ADN, la détection enzymatique ou encore les tests immunologiques.

Dans la liste des travaux reportés dans le *Tableau 4.1*, les matériaux d'électrodes les plus utilisés sont ceux à base de carbone en raison des propriétés que nous avons décrites précédemment. L'ITO est également largement employé pour sa transparence.

Tableau 4.1 : Applications de l'électrochimiluminescence en milieu confiné utilisant le couple de réactifs $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$.

	Exemple	Dispositif	Electrode	Luminophore	Réf.
Coréactifs	DBAE	Papier	SPE (poudre de carbone graphite)	Imprégné dans le papier	[196]
	NADH	Papier	SPE (poudre de carbone graphite)		[197]
	TPA	PDMS	ITO (bipolaire)	Libre en solution	[198]
	H ₂ O ₂	PDMS	ITO (bipolaire)		[198]
Cancer	Marqueur de tumeurs	Papier	SPE (carbone)	Greffé sur anticorps	[199]
	Antigènes carcino-embryonnaire	Papier	SPE (carbone modifié)		[200]
		PDMS	ITO		[201]
Protéines	Alpha fetoprotein	PDMS	ITO	Greffé sur anticorps	[201]
	Interleukin-6	PDMS	Graphite pyrolitique	Greffé sur nanoparticules	[202]
	Recepteur folate	PDMS	ITO (bipolaire)	Libre en solution	[203]
Autres	Antigène spécifique de la prostate	PDMS	ITO	Greffé sur anticorps	[201]
		PDMS	Graphite pyrolitique	Greffé sur nanoparticules	[202]
	Dopamine	PDMS	ITO (bipolaire)	Libre en solution	[198]

Quel que soit le type de dispositif employé (papier ou PDMS), la plupart des détections sont réalisées dans des conditions statiques, c'est-à-dire sans écoulement. Dans ce contexte, les dispositifs microfluidiques en papier sont appréciés pour leur faible coût de production mais leurs fonctionnalités s'avèrent très limitées. En comparaison, peu d'études se sont intéressées à la mise en œuvre d'ECL en microfluidique à flux continu ou segmenté. Il s'agit pourtant d'une perspective prometteuse pour tirer profit de la multitude de fonctionnalités possibles en microfluidique (cf Chapitre 1).

1.2.2 Exemple de mesures ECL en microfluidique continue

Une étude a été réalisée en microfluidique continue pour étudier notamment l'influence du débit sur l'intensité ECL [180]. Le dispositif qui a été utilisé en verre / PDMS est présenté sur la *Figure 4.7A*. Il est constitué d'un canal microfluidique simple dans lequel est intégrée une cellule électrochimique à 3 électrodes. L'électrode de travail et la contre-électrode sont en pâte de carbone tandis que l'électrode de référence est une électrode Ag/AgCl.

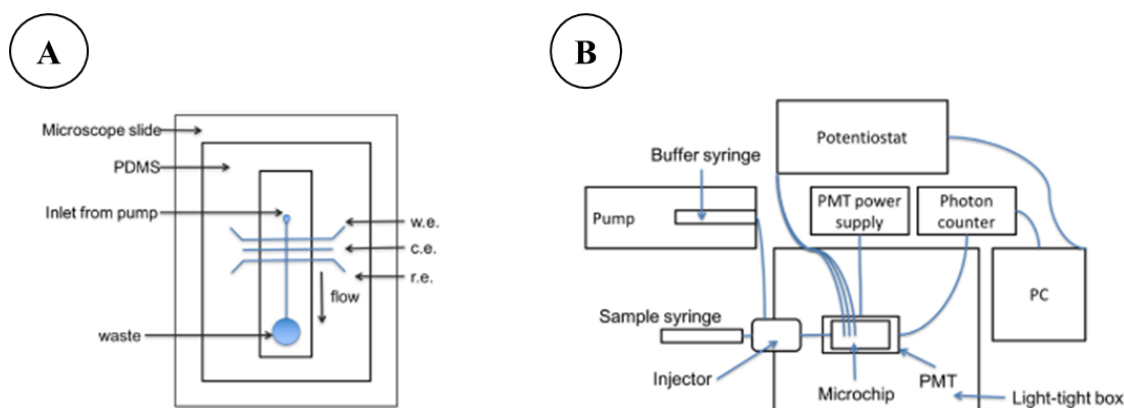


Figure 4.7 : Configuration expérimentale d'une étude d'électrochimiluminescence en microfluidique continue A. Dispositif microfluidique de type verre/PDMS intégrant des électrodes B. Dispositif relié à son instrumentation avec détection de luminescence par photodétecteur [180].

Le dispositif est relié à un pousse-seringue pour la partie fluidique, et à un potentiostat pour l'électrochimie. L'ensemble est contenu dans une boîte noire qui l'isole de la lumière parasite. Un photo-détecteur placé sur le PDMS au niveau des électrodes permet de mesurer la luminescence générée à la surface de l'électrode de travail (*Figure 4.7B*).

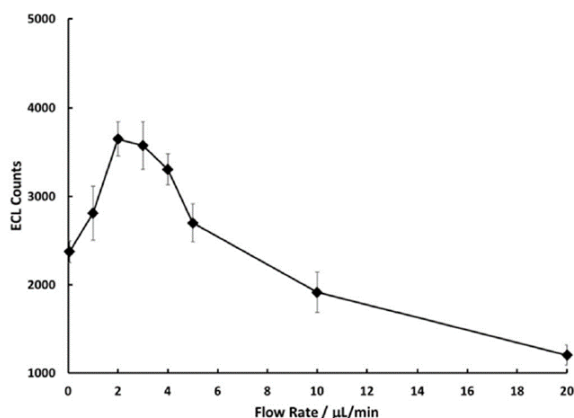


Figure 4.8 : Influence du débit sur la quantité de luminescence détectée. La solution a été préparée à $\text{pH}=7.4$ dans $\text{PBS } 0.15 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ avec $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de TPA et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. Les points expérimentaux proviennent de mesures en chronoampérométrie avec un potentiel appliqué de 1.2V vs Ag/AgCl [180].

Cette étude montre que le débit de la solution de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ / TPA a bien une influence sur l'intensité ECL détectée. Comme le montre la *Figure 4.8*, les variations ne sont pas linéaires. Un maximum en intensité est noté pour un débit d'environ $2 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$, puis l'intensité décroît avec le débit. L'hypothèse émise est qu'à faible débit, le mécanisme de réaction ECL est moins perturbé avec une plus grande couche de diffusion [180]. Le débit semble donc un paramètre important à considérer pour optimiser une détection ECL en présence d'un flux.

1.3 Conclusion

L'ECL est une technique de détection compétitive par rapport à la fluorescence qui est très employée en microfluidique. En effet, en plus d'une bonne sélectivité et d'une limite de détection très basse, elle présente l'avantage de ne pas requérir de signal d'excitation : cela permet l'obtention d'un rapport signal sur bruit très élevé.

L'ECL générée à partir du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ /TPA a été largement étudiée. Le matériau d'électrode a été identifié comme un paramètre critique pour la mise en place de telles mesures. Les matériaux à base de carbone sont largement employés grâce à leur réactivité favorable pour les amines. Le platine est jusqu'ici peu utilisé car il conduit à de faibles performances ECL.

Un grand nombre d'applications ECL a été développé avec des microdispositifs, mais la plupart en conditions statiques et avec des microdispositifs jetables en papier.

Dans ce contexte, la mise en œuvre d'ECL dans des dispositifs microfluidiques reste inexplorée probablement en raison des difficultés à assurer et à interpréter le couplage entre l'électrochimie et la microfluidique. La mise en œuvre d'ECL dans ce domaine devrait permettre de développer de nombreux concepts et applications potentielles notamment en électrochimie analytique. En s'appuyant sur notre expertise, nous avons ainsi choisi d'utiliser un dispositif microfluidique verre / PDMS afin d'étudier les performances ECL du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ / TPA, en présence d'un flux continu. Des électrodes semi-transparentes seront élaborées. Cela nécessitera donc au préalable de caractériser le système ECL à partir de ces nouvelles électrodes dans de nouvelles conditions opératoires sous flux continu. Des premiers tests seront également effectués en microfluidique de gouttes.

2 Mise en œuvre expérimentale de la détection ECL

Afin de mener une détection ECL dans nos microdispositifs, nous avons voulu utiliser des électrodes transparentes ou semi-transparentes. Cela permet en effet de conserver le type de dispositifs verre / PDMS précédemment utilisé avec la possibilité d'observer la luminescence à travers les électrodes. Pour ce faire, des dépôts d'électrodes ont été envisagés par pulvérisation cathodique : dépôts d'ITO, d'or et de platine sur lames de verre. Dans chacun des cas, des mesures ECL ont été réalisées à partir du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ / TPA. Les premiers tests effectués sur ITO n'ont pas donné satisfaction car le matériau s'est dégradé très rapidement après l'application de potentiels positifs. Les films d'or ont été écartés pour les mêmes raisons. Finalement les dépôts de platine avec une sous-couche d'accroche de titane ont été retenus car ils offrent une meilleure stabilité des électrodes. Ce type d'électrode a déjà été utilisé pour des études de couplage en fluorescence [204, 205].

2.1 Caractérisation du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ /TPA sur électrodes de platine

Les études ont été effectuées à pH=7.4 dans le PBS (cf Annexe A1) pour différentes électrodes afin de pouvoir établir à terme des comparaisons entre les performances ECL obtenues : électrodes conventionnelles en platine et électrodes sous forme de dépôts de platine semi-transparent.

2.1.1 *Microélectrodes de platine*

Dans un premier temps, une microélectrode de platine de 1 mm de diamètre a été employée dans une cellule électrochimique conventionnelle avec un montage à trois électrodes (*Figure 4.9*).

Des voltamogrammes linéaires, obtenus pour des solutions de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$, de TPA et leur mélange, ont été établis en utilisant une électrode de référence Ag/AgCl (*Figure 4.10*). Pour cette première étape de caractérisation sur platine massif, les intensités ECL n'ont pas été mesurées.

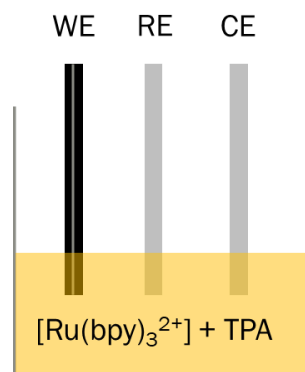


Figure 4.9 : Schéma du montage pour la caractérisation électrochimique du couple $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$. L'électrode de travail (WE) est un disque de platine de $25\mu\text{m}$ de diamètre, la contre électrode (CE) est un fil de platine. L'électrode de référence (RE) est selon le cas un fil d'argent recouvert d'un film d'AgCl ou un fil de platine. La solution est composée de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et de TPA à 0.1 mol.L^{-1} dans PBS à 0.1 mol.L^{-1} .

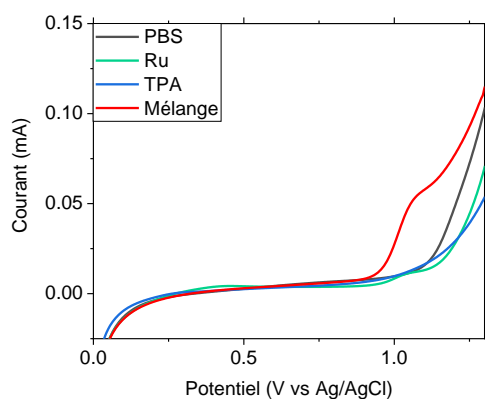


Figure 4.10 : Voltamogrammes linéaires à 0.1V.s^{-1} sur une microélectrode disque de platine de 1 mm de diamètre pour différentes solutions et leurs mélanges. $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $[\text{TPA}] = 0.1 \text{ mol.L}^{-1}$, $[\text{PBS}] = 0.1 \text{ mol.L}^{-1}$. L'électrode de référence est une électrode Ag/AgCl.

Les résultats montrent que l'oxydation de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ et l'oxydation de TPA sont difficilement observées avant le mur d'oxydation. La vague d'oxydation de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ semble apparaître aux mêmes potentiels que la vague d'oxydation du mélange vers 1 V vs Ag/AgCl . Dans le cas du mélange, le courant du plateau d'oxydation du mélange $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$ est supérieur à celui du $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ seul. La TPA a visiblement un effet catalytique sur l'oxydation du ruthénium.

2.1.2 Electrodes de platine semi-transparent

Dans le but d'incorporer des électrodes de platine semi-transparent dans nos dispositifs microfluidiques, nous avons réalisé puis caractérisé des dépôts de platine de différentes épaisseurs sur lames de verre.

- **Caractérisation physique des dépôts de platine**

Le choix de l'épaisseur de platine pour effectuer simultanément des mesures en électrochimie et en ECL peut résulter d'un compromis entre la transparence et la conductivité de ces dépôts. En effet, une bonne transparence optique est nécessaire pour effectuer les mesures ECL, ce qui correspond au dépôt de platine le plus fin, alors qu'une conductivité suffisante est requise pour réaliser les mesures électrochimiques, ce qui correspond à un dépôt plus épais.

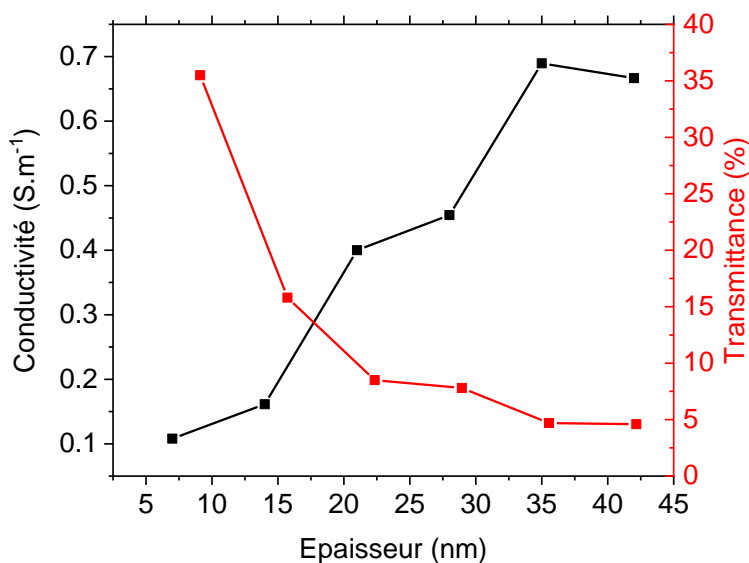


Figure 4.11 : Caractérisation physique de différents dépôts de platine sur lame de verre.

Pour cela, nous avons réalisé des mesures de conductivité et de transmittance pour caractériser différents dépôts ayant des épaisseurs comprises entre 7 et 20 nm. La conductivité a été évaluée à partir de mesures de conductivité de type deux pointes, et la transmittance a été déterminée de manière relative en lumière blanche sur microscope à transmission. Les caractéristiques physiques obtenues sont reportées sur la Figure 4.11 en fonction de l'épaisseur des dépôts. D'après ces résultats, nous observons bien une diminution de la transmittance avec l'épaisseur de dépôt et inversement une augmentation de la conductivité.

- **Mesures d'électrochimiluminescence**

Pour évaluer les performances du système [Ru(bpy)₃]²⁺/TPA en ECL sur ces différents dépôts de platine, nous avons élaboré une cellule électrochimique constituée d'un puits de PDMS de 1 cm de diamètre et de 1 cm de hauteur environ positionné sur la lame de verre recouverte du dépôt. Les électrodes de référence Ag/AgCl et contre-électrode de platine plongent directement

dans ce puits rempli d'une solution de volume 400 μL . Le schéma du dispositif est représenté *Figure 4.12*.

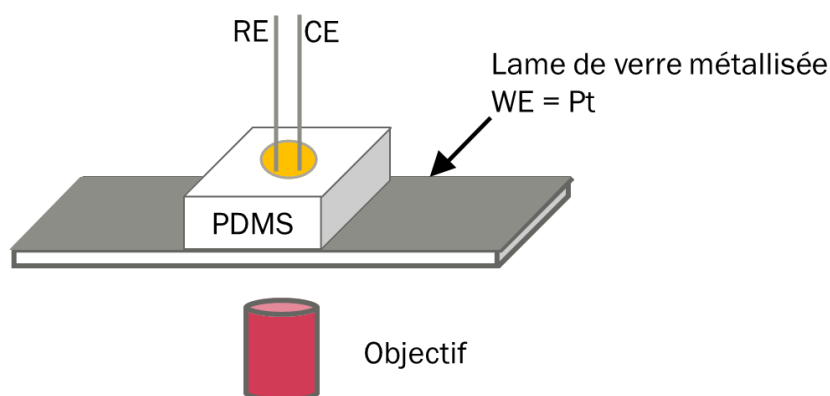


Figure 4.12 : Schéma de montage élaboré pour la réalisation des mesures d'ECL sur une lame de verre recouverte d'un dépôt de platine. Le puits de PDMS de diamètre 1 cm délimite la surface de l'électrode de travail (WE). L'électrode de référence (RE) est un fil Ag/AgCl et la contre-électrode (CE) est un fil de platine. Le puits de PDMS contient 400 μL de solution. La solution qui est un mélange de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ 10^{-3} mol.L⁻¹, TPA 0.1 mol.L⁻¹, PBS 0.1 mol.L⁻¹ est renouvelée après chaque mesure.

Le dispositif est placé sur un microscope optique inversé, relié à une caméra pour détecter la luminescence (voir annexe A2). L'observation se fait donc au travers de la lame de verre et du dépôt de platine. Les mesures électrochimiques et mesures de luminescence sont synchronisées au cours de la voltamétrie linéaire.

Les résultats qui ont été obtenus pour les différents dépôts sont représentés (*Figure 4.13A*) et (*Figure 4.13B*).

Par comparaison avec les voltamogrammes de la *Figure 4.10*, une vague d'oxydation est toujours observée vers 1 V vs Ag/AgCl (*Figure 4.13A*). Seul un décalage en potentiel d'environ 0.1V est constaté pour l'électrode d'épaisseur 7 nm, ce qui pourrait traduire un début de chute ohmique sur la réponse électrochimique. Les intensités de courant restent du même ordre de grandeur en tenant compte d'une correction de ligne de base. Aucune influence notable de l'épaisseur de platine sur le courant n'est identifiée. A partir de l'ensemble de ces voltamétries, nous obtenons un plateau de courant moyen de 0.10 ± 0.01 μA . En ce qui concerne les mesures de luminescence, un signal sous forme de pic est obtenu pour chacune des épaisseurs de platine (*Figure 4.13B*). De façon analogue à la transmittance, l'intensité ECL de ces pics décroît lorsque l'épaisseur de platine augmente.

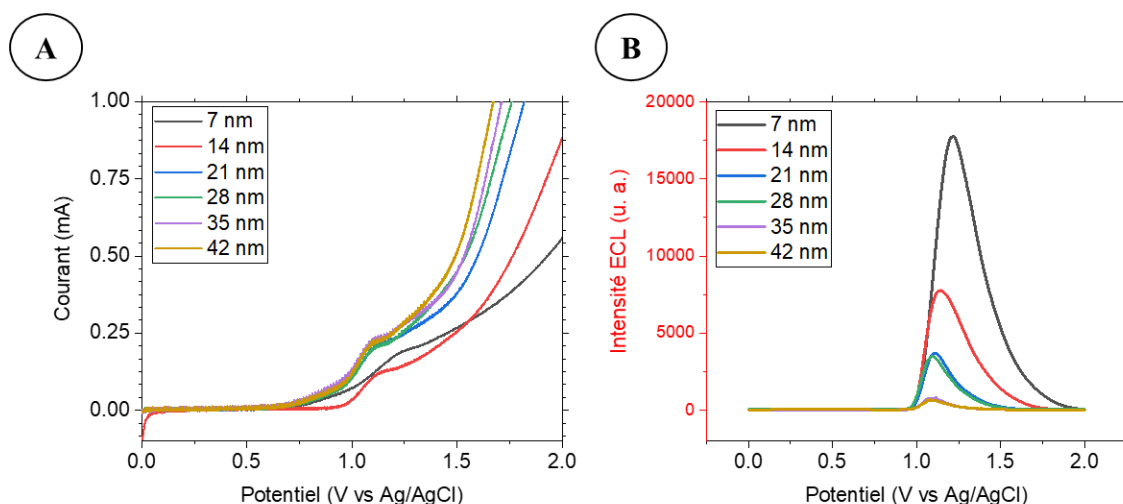


Figure 4.13 : Voltammogrammes linéaires à $0.05V.s^{-1}$ pour différentes épaisseurs de platine (de 7 à 42nm) avec une électrode de référence Ag/AgCl. La solution est un mélange $[Ru(bpy)_3]^{2+} 10^{-3} mol.L^{-1}$ et TPA $0.1 mol.L^{-1}$ préparé dans PBS $0.1 mol.L^{-1}$. A. Courant en fonction du potentiel B. Intensité ECL synchronisée en fonction du potentiel. Le temps d'exposition est de 100ms.

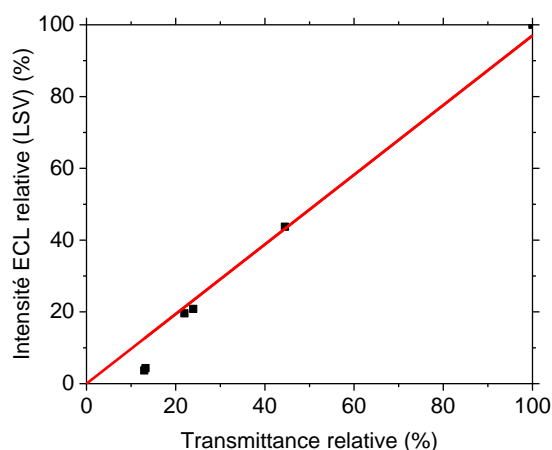


Figure 4.14 : Variation en pourcentage de l'intensité ECL relative i_{ECL}^{rel} du pic de luminescence en fonction de la transmittance relative T^{rel} pour les différentes épaisseurs d'électrodes de platine, 100% d'intensité ECL ou de transmittance correspondant à un dépôt de platine de 7nm. La droite de tendance (en rouge) admet une pente de 0.97 ($R^2=0.99$).

Afin de corréliser ces propriétés, nous avons considéré des valeurs relatives d'intensité ECL et de transmittance. Celles-ci sont définies en prenant pour référence le dépôt de platine de 7 nm:

$$i_{ECL}^{rel} = \frac{(i_{ECL}^{max})_e}{(i_{ECL}^{max})_{7\text{ nm}}} \quad (3.1)$$

$$T^{rel} = \frac{(T)_e}{(T)_{7\text{ nm}}} \quad (3.2)$$

Ainsi, nous vérifions bien la correspondance entre ces deux paramètres avec la *Figure 4.14*. L'évolution de l'ECL en fonction de l'épaisseur des dépôts dépend donc ici uniquement de la transmittance.

Des mesures complémentaires réalisées par chronoampérométrie, en appliquant un potentiel de 1.2V vs Ag/AgCl, situé sur le plateau d'oxydation observé *Figure 4.13A*, sont présentées sur la *Figure 4.15* avec les intensités de courant (*Figure 4.15A*) et intensités ECL (*Figure 4.15B*).

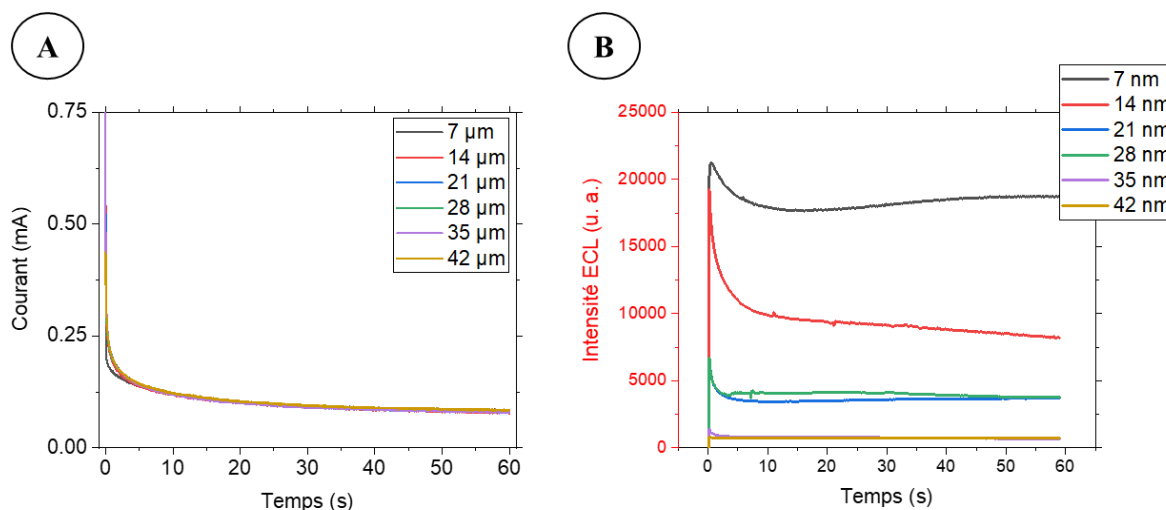


Figure 4.15 : Chronoampérométrie réalisée pour différentes épaisseurs de platine à un potentiel de 1.2V vs Ag/AgCl. La solution est un mélange de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et de TPA à 0.1 mol.L^{-1} préparé dans PBS à 0.1 mol.L^{-1} . A. Suivi du courant en fonction du temps B. Suivi synchronisé de la luminescence. Le temps d'exposition est de 100ms.

Comme constaté sur les voltammogrammes, les courants en chronoampérométrie sont pratiquement identiques pour chaque épaisseur de platine ($i = 0.082 \pm 0.002 \mu\text{A}$ à $t = 60\text{s}$). Dans ces conditions, les variations d'intensité ECL ne peuvent dépendre que des variations de transmittance. Ainsi, nous vérifions de nouveau une bonne linéarité entre intensité ECL et transmittance relatives (*Figure 4.16*).

En conclusion, les résultats obtenus montrent que la vitesse de transfert d'électron et le mécanisme ECL ne sont pas affectés par l'épaisseur du dépôt de platine. La conductivité est suffisante pour ne pas induire de problème de chute ohmique. Cela sous-entend qu'une même quantité de lumière est émise, mais que cette intensité est d'autant moins bien détectée que le dépôt est épais du fait de la baisse de la transmittance. Il n'y a donc pas de compromis à rechercher entre les propriétés de transmittance et de conductivité des dépôts. Afin d'optimiser la détection de la luminescence au travers de l'électrode, il sera donc préférable de privilégier une épaisseur de 7 nm.

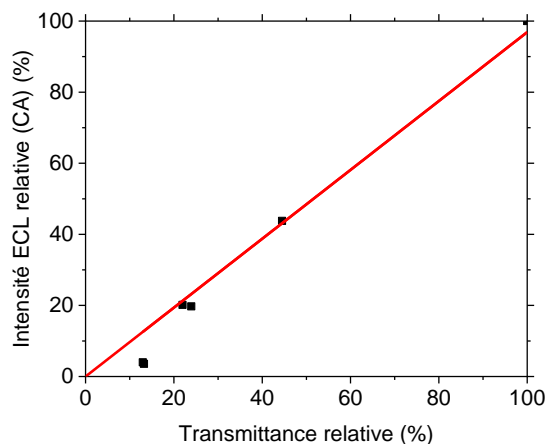


Figure 4.16 : Variation de l'intensité ECL relative relevée à 60s sur les chronoampérogrammes de la Figure 4.15B en fonction de la transmittance relative pour les différentes épaisseurs d'électrodes de platine. La droite de tendance (en rouge) admet une pente de 0.97 ($R^2=0.98$).

2.2 Microdispositifs utilisés

2.2.1 Canaux microfluidiques

Deux dispositifs différents sont utilisés pour l'étude du système ECL. Un dispositif doté d'un canal linéaire est utilisé en microfluidique continue (Figure 4.17A), tandis qu'une géométrie de type flow-focusing est incorporée en amont pour la génération de gouttes en microfluidique diphasique (Figure 4.17B).

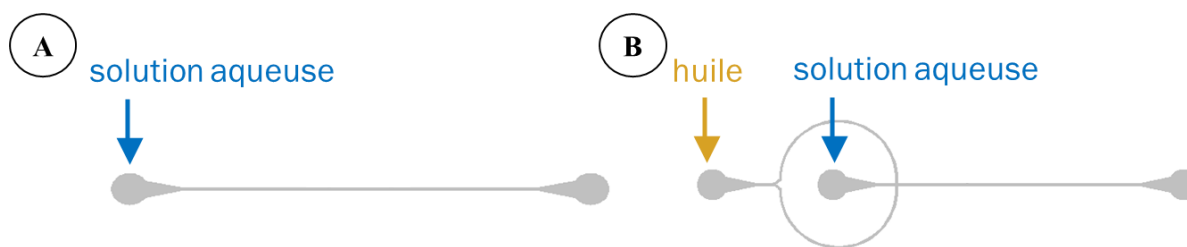


Figure 4.17 : Schémas avec vue de dessus des dispositifs microfluidiques employés pour l'étude en microfluidique continue (A) et pour l'étude en microfluidique de gouttes (B). Les canaux sont tous d'une largeur de 200 μm et d'une hauteur de 40 μm .

Pour les deux études, la phase aqueuse contient un mélange $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et de TPA à 0.1 mol.L^{-1} dans PBS 0.1 mol.L^{-1} . Pour l'étude en microfluidique de gouttes, la phase continue est une huile silicone AP 150 Wacker de viscosité 150 mPa.s.

2.2.2 Electrodes semi-transparentes et cellules électrochimiques

Une cellule à 3 électrodes (Figure 4.18A) a été choisie pour les mesures en microfluidique continue car le flux est mesuré par un débitmètre positionné entre le contrôleur de pression et le microdispositif. En revanche, une cellule électrochimique à 5 électrodes (Figure 4.18B) a été employée en microfluidique de gouttes afin de pouvoir déterminer le volume et la vitesse des gouttes suivant la procédure décrite dans le chapitre 2.

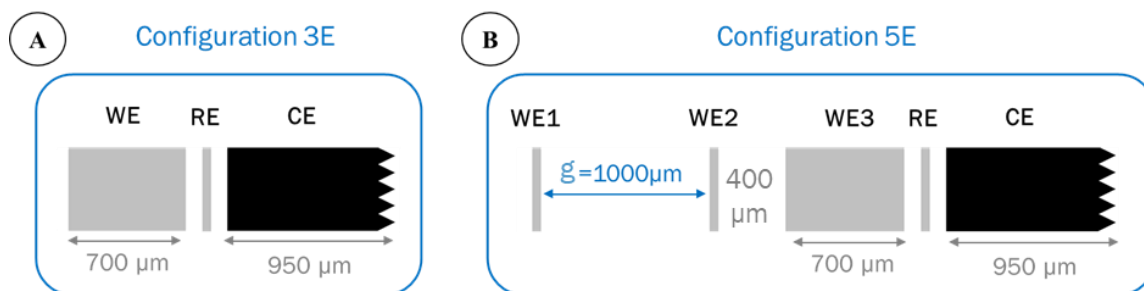


Figure 4.18 : Cellules électrochimiques employées A. Configuration 3E pour l'étude en microfluidique continue B. Configuration 5E pour l'étude en microfluidique de gouttes. Dans les deux configurations, les électrodes RE, WE1 et WE2 sont de largeur $50\mu\text{m}$ et les gaps WE-RE, WE3-RE et RE-CE de $100\mu\text{m}$.

Dans les deux configurations, toutes les électrodes sont en platine déposé sur une lame de verre de microscope classique de 1 mm d'épaisseur (lame porte-objets Menzel-Gläser de Thermo Scientific). L'électrode de référence est donc une pseudo-référence de platine. Les électrodes de travail et de pseudo-référence (en gris) sont en platine semi-transparent de 7 nm d'épaisseur. La contre-électrode (en noir) est d'épaisseur plus importante 45 nm pour permettre une meilleure tenue lors des mesures électrochimiques et assurer le passage des intensités de courant.

La taille de l'électrode de travail principale (WE dans la configuration 3E et WE3 dans la configuration 5E) a été fixée à $700\mu\text{m}$. Le montage expérimental complet est présenté en Annexe A2. Il est à noter que dans la configuration 5E, l'ECL est mesurée uniquement sur l'électrode WE3.

3 Mesures expérimentales d'ECL en microfluidique

Dans un premier temps, les études seront réalisées en microfluidique continue pour simplifier le protocole expérimental et mettre en évidence l'influence de la vitesse du flux. Des premiers résultats de mesures ECL en microfluidique de gouttes seront ensuite présentés.

3.1 Microfluidique continue

3.1.1 *Caractérisation par voltamétrie linéaire*

Des voltamétries linéaires ont été réalisées tout d'abord en conditions statiques, c'est-à-dire en absence d'écoulement dans le canal (*Figure 4.19A*) puis en présence d'un débit de 1.29 $\mu\text{L}/\text{min}$ (*Figure 4.19B*).

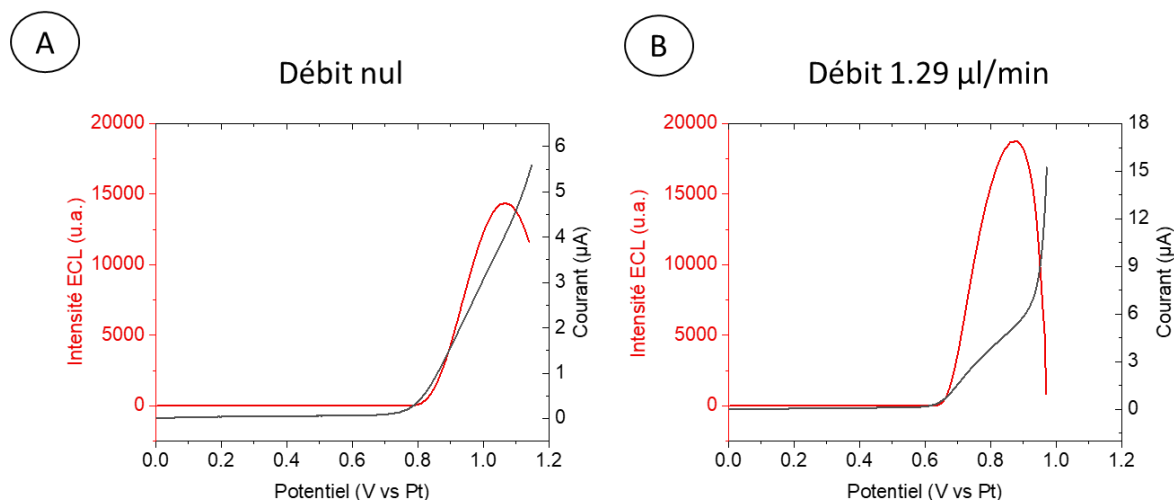


Figure 4.19 : Voltammogramme à $0.1\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ avec une solution contenant $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ à $10^{-3}\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et TPA à 100 mM dans PBS 100 $0.1\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ préparée à $\text{pH}=7,5$. Les mesures du courant et de la luminescence sont synchronisées (temps d'exposition à 50 ms). A. Sans écoulement B. En présence un débit de 1.29 $\mu\text{L}/\text{min}$.

Dans les deux cas, les voltammogrammes ne présentent pas de vague bien définie (pas de plateau de courant). En revanche, deux pics ECL sont bien observés. Sans flux, un pic ECL apparaît à un potentiel de 1.05V vs Pt tandis qu'en présence de flux, un pic est noté à 0.85V vs Pt en présence de flux. Cet écart peut s'expliquer par une variation du potentiel de la pseudo-électrode et non par une différence de réactivité. En effet, sans flux, la pseudo électrode de référence est influencée par le fonctionnement de la contre-électrode à son voisinage.

La différence la plus intéressante concerne les intensités ECL mesurées. Elles sont plus élevées en présence qu'en absence de flux. Ce premier résultat montre bien l'influence du flux sur les intensités ECL pour des électrodes de platine semi-transparent.

Des images par ECL de la surface des électrodes de travail, acquises à des potentiels proches des pics ECL, montrent que les intensités lumineuses sont globalement uniformes, à l'exception

d'endroits spécifiques liés probablement à des défauts de fabrication des électrodes (pixels noirs sur les *Figure 4.20A et B*).

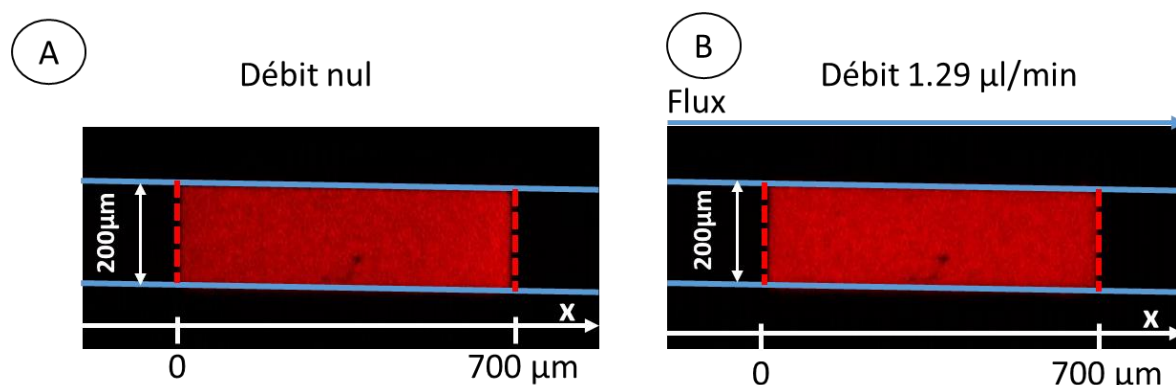
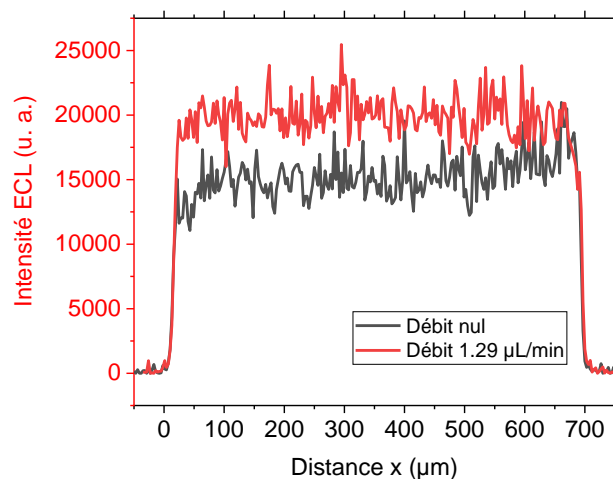


Figure 4.20 : Images ECL colorisées établies au pic d'intensité lors des voltamétries linéaires. A. Conditions statiques. B. Débit de $1.29 \mu\text{L}/\text{min}$. Les lignes bleues délimitent les parois du canal microfluidique. Les pointillés rouges délimitent les bords amont et aval de l'électrode de travail de $700 \mu\text{m}$. Le potentiel appliqué est de 0.75 V vs Pt .

Les profils d'intensité ECL correspondants sont présentés sur la *Figure 4.21*. Ils montrent qu'il n'y a pas de variation significative d'intensité ECL entre le bord amont des électrodes et leur bord aval, que ce soit en absence ou en présence de flux. Dans ces conditions expérimentales, les densités de courant qui sont plus importantes sur les bords des électrodes ne sont pas observables. En revanche, nous observons bien une augmentation de l'intensité ECL avec le flux.



*Figure 4.21 : Profils d'intensité ECL établis selon l'axe du flux à un débit nul et à un débit de $1.29 \mu\text{L}\cdot\text{min}^{-1}$. Données de la *Figure 4.20*.*

3.1.2 Influence du débit

Nous avons enregistré des voltamogrammes synchronisés avec la mesure de luminescence pour différentes vitesses de flux. A partir de ces mesures, nous avons relevé au potentiel de pic ECL l'intensité maximale ainsi que le courant correspondant. Ces grandeurs sont ainsi représentées en fonction du débit en *Figure 4.22A*.

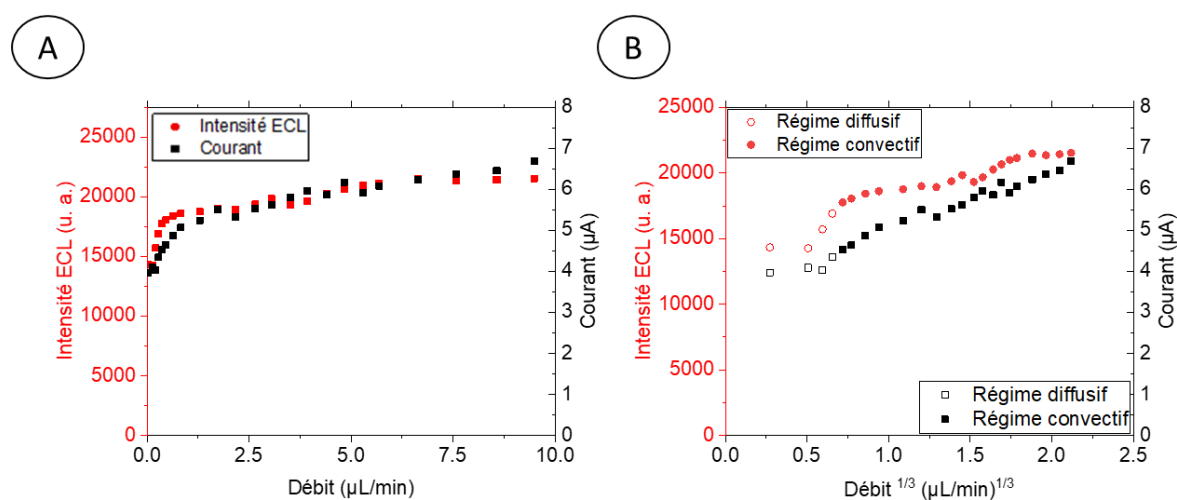


Figure 4.22 : Représentation de l'intensité ECL et du courant correspondant au potentiel de pic d'ECL. A. En fonction du débit. B. En fonction du débit à la puissance 1/3. La ligne rouge correspond à la droite de tendance de pente de $2811 \text{ u.a.}/(\mu\text{L}/\text{min})^{1/3}$ ($R^2=0.94$) et la ligne noire à la droite de tendance de pente $1.40 \mu\text{A}/(\mu\text{L}/\text{min})^{1/3}$ ($R^2=0.97$). Les droites de tendance ont été évaluées uniquement pour les débits correspondant à des régimes convectifs.

Nous pouvons constater que l'intensité ECL et le courant augmentent avec le débit de façon continue. En reportant ces mêmes données expérimentales en fonction du débit à la puissance 1/3 (*Figure 4.22B*), cette représentation met en évidence des tendances linéaires. Celles-ci traduisent l'influence du régime convectif sur ces mesures comme elle est prévue pour des réactions électrochimiques sans limitation par le transfert d'électron (Chapitre 2). Les données ECL sont plus dispersées car elles sont très sensibles aux perturbations extérieures mais les tendances restent comparables aux incertitudes expérimentales près. Afin de mettre en avant cette corrélation, les intensités ECL ont été représentées en fonction des courants sur la *Figure 4.23*. Il y a bien une relation linéaire entre l'intensité ECL et le courant dans la gamme de débit étudiée. Cette relation dépend bien sûr des réglages utilisés pour mesurer les intensités ECL au moment des expériences. Ces réglages ne sont pas nécessairement les mêmes d'une expérience à l'autre.

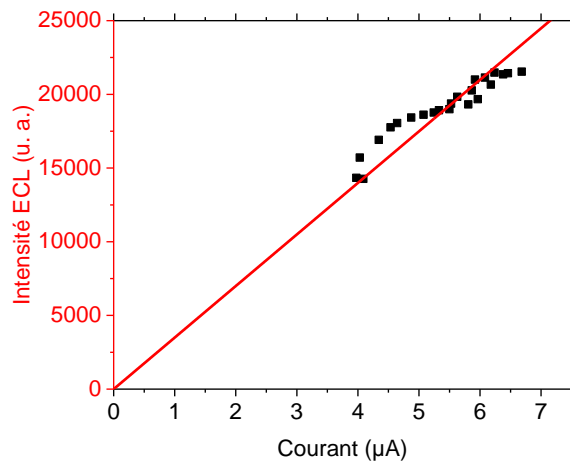


Figure 4.23 : Intensité ECL en fonction du courant correspondant au potentiel de pic d'ECL. Les données sont celles de la Figure 4.22. La droite rouge est la droite de tendance de pente 3498 u.a. / μA ($R^2=0.99$).

Contrairement à l'étude réalisée en flux continu sur électrodes à pâte de carbone (Figure 4.8) [180], nous n'observons pas ici le même comportement à partir d'électrodes semi transparentes de platine. En effet, les caractérisations effectuées en fonction du débit ne montrent pas de limitation autre que celle du transport de masse par diffusion et convection. Dans nos conditions expérimentales, la gamme de débit étudiée correspond à des valeurs de Pe comprises entre 2 et 1000, c'est-à-dire pour un ensemble de régimes allant du régime de couche mince jusqu'au régime de Levich (cf chapitre 1).

3.2 Microfluidique de gouttes

3.2.1 *Caractérisations par voltamétrie et par chronoampérométrie*

Des caractérisations ont ensuite été effectuées en microfluidique de gouttes. En voltamétrie, les mesures ne peuvent être réalisées qu'à partir de gouttes stagnantes à la surface des électrodes, c'est-à-dire en absence de flux. Un exemple de signal ECL obtenu dans ces conditions est donné en Figure 4.24.

Comme en microfluidique continue, un pic ECL est bien observé en présence de gouttes stagnantes. Ce résultat nous permet ainsi de confirmer le choix du potentiel à appliquer en chronoampérométrie pour détecter le passage de gouttes circulantes. Pour la suite de l'étude, nous avons choisi un potentiel de 0.75 V vs Pt, légèrement inférieur au potentiel de pic pour ne

pas se situer dans le mur d'oxydation du solvant et engendrer des perturbations sur les mesures par la génération de bulles à la surface des électrodes. Des expériences ont ainsi été réalisées par chronoampérométrie à ce potentiel lors du passage de gouttes de concentration homogène. Un exemple de résultat est donné *Figure 4.25* lors de la détection d'une goutte.

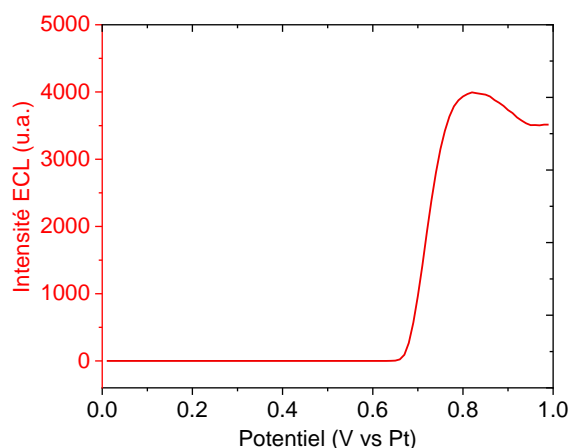


Figure 4.24 : Signal ECL mesuré pendant une voltamétrie linéaire à $0.1V.s^{-1}$ à partir d'une goutte stagnante de solution de $[Ru(bpy)_3]^{2+} 10^{-3} mol.L^{-1}$, de TPA $0.1 mol.L^{-1}$ et de PBS $0.1 mol.L^{-1}$.

Des mesures ECL ont été réalisées par chronoampérométrie lors du passage d'une goutte de concentration homogène sur la cellule électrochimique (*Figure 4.25*).

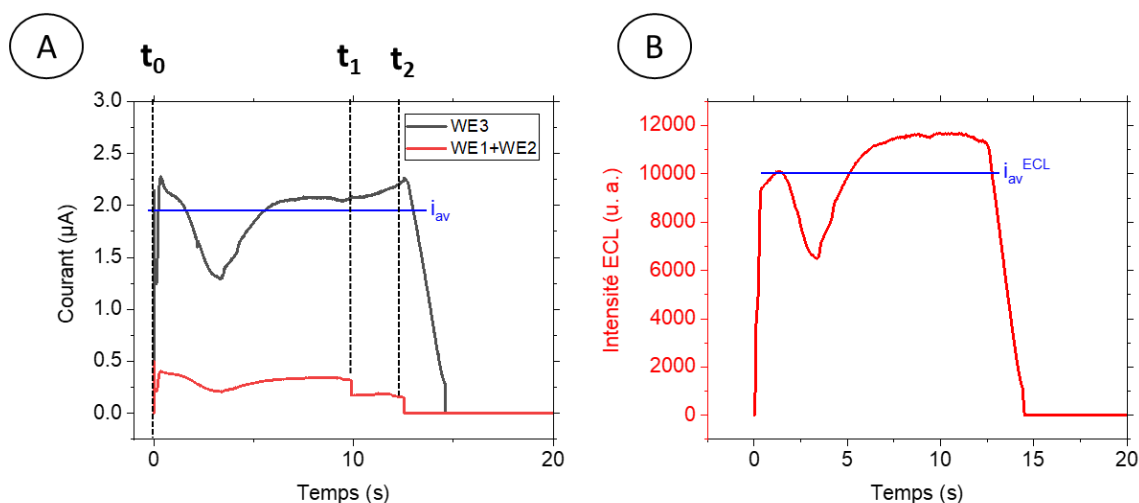


Figure 4.25 : Exemple d'une mesure ECL au cours d'une chronoampérométrie lors du passage d'une goutte de 48 nL passant à une vitesse de $377\mu m.s^{-1}$ sur les électrodes W1, W2 et W3. La goutte contient une solution de $[Ru(bpy)_3]^{2+} 10^{-3} mol.L^{-1}$ avec TPA à $0.1 mol.L^{-1}$ dans PBS $0.1 mol.L^{-1}$. A. Suivi des courants de (WE1+WE2) et de WE3 avec un potentiel appliqué de $0.75 V vs Pt$. B. Suivi de luminescence synchronisée sur WE3. Mesure ECL effectuée avec un temps d'exposition de 50 ms. Le potentiel appliqué est de $0.75V vs Pt$.

De la même manière que dans le chapitre 2, les courants de (WE1+WE2) et de WE3 ont été enregistrés de façon indépendante (*Figure 4.25A*). La vitesse et le volume de la goutte sont évalués à partir des temps caractéristiques relevés sur le signal de (W1+W2). Ici, le suivi de luminescence vient compléter les mesures de courant (*Figure 4.25B*). L'intensité ECL suit très bien les variations de courant de WE3. La baisse locale du courant et de l'intensité ECL visible autour de 4 s est attribuée à une variation momentanée de vitesse au moment de la détection. Afin de mettre en évidence la corrélation entre les variations d'intensité ECL et de courant, nous avons superposé sur la *Figure 4.26* les mêmes données en adoptant une représentation graphique avec des facteurs d'échelle appropriés.

Nous vérifions bien ici les mêmes variations temporelles de courant et d'intensité ECL. Cela nous ouvre donc en perspective la possibilité de suivre par ECL des variations de concentration pour des gouttes de compositions hétérogènes (cf Chapitre 2).

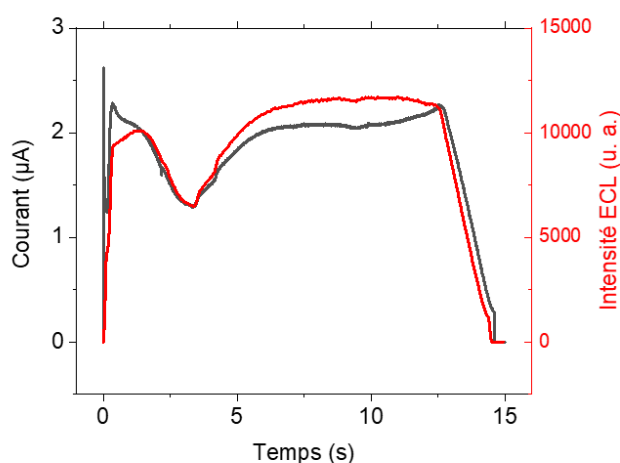


Figure 4.26 : Intensité ECL en fonction du courant pour chaque point de mesure lors d'une mesure de chronoampérométrie lors du passage d'une goutte. Le signal correspond à celui représenté en Figure 4.25.

L'influence de la concentration des gouttes en $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$ sur les courants et intensités ECL a donc été étudiée pour trois concentrations distinctes (250 µM, 500 µM et 1 mM), les concentrations de TPA et de PBS restant par ailleurs inchangées. Ces mesures ont été répétées 3 fois pour chaque concentration de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. La vitesse des gouttes a été maintenue constante aux incertitudes expérimentales près. Les résultats obtenus pour l'ensemble des données sont reportés sur la *Figure 4.27*. Des variations linéaires sont bien observées à la fois pour le courant (*Figure 4.27A*) et l'intensité ECL (*Figure 4.27B*) en fonction de la concentration en $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$.

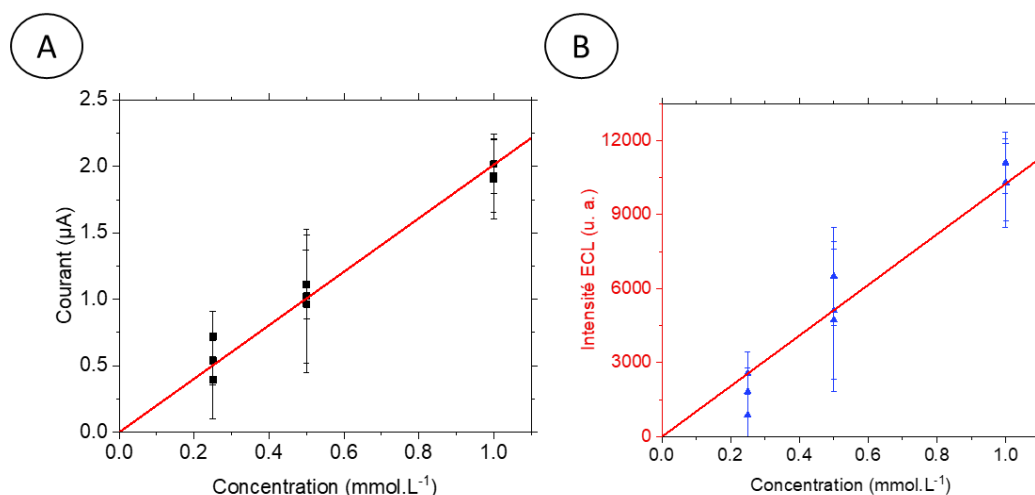


Figure 4.27 : Variations du courant et de l'intensité ECL en fonction de la concentration en $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. La vitesse moyenne des gouttes est de $401 \pm 62 \mu\text{m.s}^{-1}$ et le volume moyen est de $52 \pm 8 \text{ nL}$. Les droites correspondent aux droites de tendance avec des pentes respectivement de $2.01 \mu\text{A}/\text{mM}$ ($R^2=0.99$) (A) et de $10254 \text{ u.a.}/\text{mM}$ ($R^2=0.97$) (B).

Comme en microfluidique continue (Figure 4.23), nous constatons une relation directe entre les courants et intensités ECL mesurés dans le cas de gouttes circulantes (Figure 4.28).

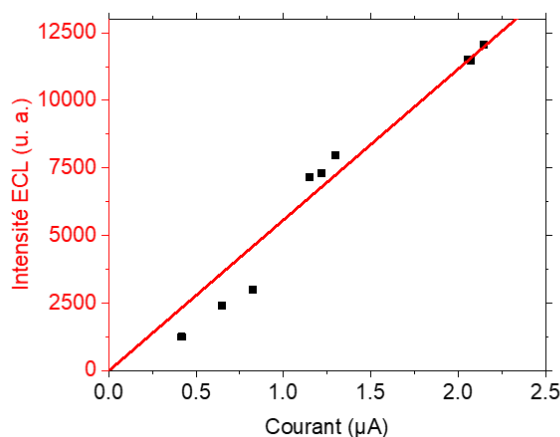


Figure 4.28 : Intensité ECL moyenne en fonction du courant moyen. Données de la Figure 4.27. La pente est de $5578 \text{ u.a.} / \mu\text{A}$ ($R^2=0.99$).

3.2.2 Imagerie de surface d'électrode par ECL

Comme en microfluidique continue (Figure 4.20), il est possible d'établir des images ECL de la surface des électrodes au moment de la détection électrochimique. Cela devient particulièrement intéressant dans le cadre de la microfluidique de gouttes où la mouillabilité des électrodes est un paramètre important. Cela peut être mis en évidence lors de l'étape d'activation d'électrodes qui n'ont jamais été utilisées, étape nécessaire avant la réalisation de

toutes mesures (Annexe A3). Cette étape est effectuée en présence de gouttes stationnaires localisées sur les électrodes contenant le mélange $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}/\text{TPA}$. Elle consiste à effectuer une voltamétrie linéaire dans une goutte puis à reconduire un certain nombre de fois l'opération après avoir renouvelé systématiquement la goutte après chaque voltamétrie. Une imagerie par ECL de la surface de l'électrode de travail, établie au cours des différents cycles, permet alors de visualiser les zones actives et inactives de l'interface.

Un exemple est illustré sur la *Figure 4.29* où sont comparées les images ECL obtenues en microfluidique continue (*Figure 4.29A*) avec celles obtenues à partir de gouttes stagnantes (*Figure 4.29B*) au maximum d'intensité ECL. Les images en microfluidique continue montrent une activation uniforme de l'électrode dès le premier cycle. Ce n'est pas le cas en revanche pour les images obtenues à partir de gouttes stagnantes. Lors de la première mesure, seules trois petites zones lumineuses apparaissent à la surface de l'électrode, puis la luminescence tend à s'uniformiser après le quatrième ou cinquième cycle. Ces résultats montrent bien une activation progressive de sites en surface de l'électrode de travail essentiellement grâce à une amélioration de la mouillabilité au cours des premiers cycles. Pour comparaison, les intensités ECL moyennes évaluées pour chaque image ont été reportées sur le graphique de la *Figure 4.29C*. Il y a peu de variations d'intensité en microfluidique continue alors qu'une augmentation progressive est notée jusqu'à une stabilisation dans le cas de gouttes stagnantes. Les différences d'amplitude entre les deux séries de mesures s'expliquent aisément par la présence et l'absence de flux suivant les cas.

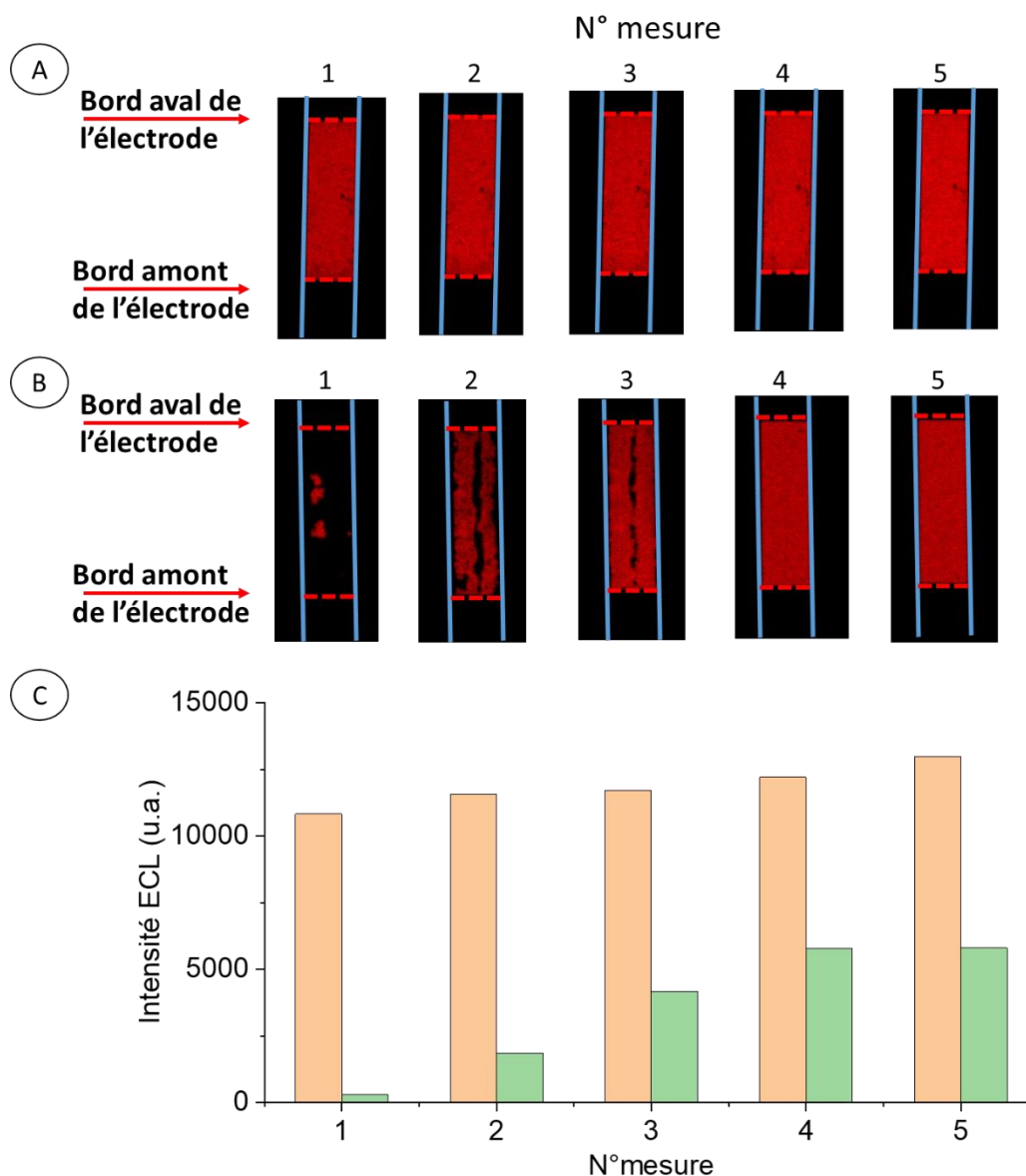


Figure 4.29 : Mise en évidence de la mise en service des électrodes : A. Images ECL à l'intensité maximale lors de cinq voltamétries linéaires successives avec un flux de $0.33\mu\text{L}/\text{min}$ en microfluidique continue. B. Images ECL à l'intensité maximale lors de cinq voltamétries linéaires successives sur une goutte stagnante en microfluidique diphasique. C. Intensité ECL moyenne pour chacune des mesures en microfluidique continue et diphasique.

4 Conclusion et perspectives

L'intégration d'électrodes semi-transparentes de platine dans nos microdispositifs nous a permis d'effectuer une détection par électrochimiluminescence aussi bien en microfluidique continue qu'en microfluidique de gouttes à partir du système $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} / \text{TPA}$.

Dans un premier temps, nous avons vérifié que les épaisseurs de dépôt de platine entre 7 et 20 nm permettaient d'obtenir une conductivité suffisante pour ne pas induire de problème de chute ohmique. Le dépôt de platine le plus fin, de 7 nm d'épaisseur, est celui qui a été choisi car il permet d'assurer une transmittance maximale pour l'utilisation des microdispositifs microfluidiques.

Conformément au rapport de concentration fixé entre $\text{Ru}(\text{bpy})_3^{2+}$ et TPA, un seul pic ECL est observé au niveau de la vague d'oxydation. Nous avons démontré qu'il y avait bien une relation directe entre les courants et les intensités ECL, que ce soit en microfluidique continue ou en microfluidique de gouttes. Dans ces conditions opératoires, la seule limitation provient du contrôle des processus par le transport de masse. Dans ce cadre, une augmentation du débit permet d'améliorer sensiblement les performances de détection par électrochimiluminescence.

De toutes premières mesures ECL ont été réalisées avec succès à partir de gouttes circulantes, ce qui rend l'ensemble de ces résultats prometteur. Les performances analytiques n'ont pas encore été évaluées mais ces résultats permettent d'ores et déjà d'envisager un grand nombre d'applications en microfluidique de gouttes, où de très petits volumes sont employés pour réaliser des détections analytiques de grande sensibilité. Dans le cadre des travaux de thèse décrits chapitres 2 et 3, cela constituerait une technique de choix pour caractériser le contenu de gouttes inhomogènes ou encore pour étudier les régimes de fonctionnement de chambres de coalescence.

CONCLUSION GENERALE

CONCLUSION GENERALE

Les travaux effectués dans le cadre de cette thèse ont permis de concevoir et d'évaluer des dispositifs intégrant différentes cellules électrochimiques pour mettre en œuvre des détections en microfluidique de gouttes. Un premier type de dispositif a été employé pour détecter la composition de gouttes circulantes dans un microcanal. Un second type de dispositif a été proposé pour détecter des gouttes de plus petits volumes à l'intérieur d'une chambre de coalescence. Dans ce second cas, le dispositif est innovant car il permet de maintenir un contact permanent entre un volume de phase aqueuse et les électrodes, sans induire de connexion / déconnexion de la cellule après le passage de chaque goutte. Afin d'accéder à un autre mode de détection par voie électrochimique, nous avons pu mettre en place une détection par électrochimiluminescence, à la fois en microfluidique continue et en microfluidique de gouttes. Cette voie offre la possibilité d'étendre les champs d'application de détections électrochimiques en microfluidique en ouvrant la voie vers de l'imagerie de surface en milieu confiné ou vers des analyses telles que des immunodosages.

Dans la première approche, une cellule électrochimique à quatre électrodes permet de déterminer simultanément la vitesse, le volume, mais également le contenu de gouttes. Nous avons démontré avec succès qu'il était possible d'évaluer de façon quantitative le contenu des gouttes, qu'il soit homogène ou bien hétérogène après la réalisation en amont de mélanges. Cette propriété est particulièrement intéressante en microfluidique car elle permet de s'affranchir d'une étape d'homogénéisation qui s'avère être complexe et incontournable pour des détections de type optique. Les résultats expérimentaux obtenus sont en parfait accord avec les prévisions théoriques fondées sur la convection à l'intérieur des gouttes par recirculation interne. Ces mesures permettent également de quantifier le taux d'homogénéité au sein de la goutte au moment de la détection. Finalement, une méthode de titration de gouttes inspirée de la méthode des ajouts dosés a été proposée puis validée dans ces conditions expérimentales très spécifiques.

La seconde approche totalement novatrice a été menée pour s'affranchir de certaines contraintes rencontrées lors du couplage de la microfluidique de gouttes avec l'électrochimie. Son originalité porte sur l'intégration de la cellule électrochimique dans une chambre de coalescence pour assurer un contact permanent du volume de phase aqueuse avec les électrodes. La géométrie de la chambre et celle des électrodes ont été optimisées pour garantir un

fonctionnement conforme à nos attentes, c'est à dire pour assurer une coalescence passive avec une arrivée et un départ de gouttes simultanés, mais aussi pour maintenir un volume constant de solution aqueuse au cours du processus. Dans ces conditions, un fonctionnement de type générateur-collecteur s'établit entre l'électrode de travail et la contre électrode. Il permet de ne pas induire de déplétion à l'intérieur de la chambre mais aussi d'obtenir des courants stationnaires et amplifiés, ce qui améliore d'autant la sensibilité des mesures en milieu confiné. Ainsi, des gouttes de volumes inférieurs au nanolitre ont pu être détectées par voie électrochimique. Au cours de cette étude, nous avons pu aussi mettre en évidence deux principaux régimes de fonctionnement des chambres de coalescence en s'appuyant sur l'établissement de modèles théoriques. Dans nos conditions opératoires, les chambres de grandes tailles sont celles qui permettront d'évaluer le contenu de gouttes, que ce soit par accumulation ou bien à l'échelle de la goutte unique.

L'électrochimiluminescence constitue une approche complémentaire par rapport aux techniques électrochimiques déjà employées en microfluidique. En effet, elle offre de nombreux avantages sur le plan analytique par les performances atteintes, grâce à la grande sensibilité des mesures, aux faibles limites de détection et au rapport signal sur bruit élevé. Elle devrait permettre d'accroître les performances de l'électrochimie dans ce domaine. L'originalité de l'étude a été de mettre en œuvre ce type de détection pour la première fois en microfluidique de gouttes. Dans ce contexte, nous avons démontré avec succès qu'il était possible d'employer des électrodes semi-transparentes de platine offrant toutes les caractéristiques nécessaires pour réaliser les mesures par électrochimiluminescence. Les caractérisations sur les électrodes de platine ont été effectuées à partir du système Ruthénium (II) / TPA. Nous avons ainsi montré que les performances sur dépôts de platine semi transparent étaient comparables à celles de microélectrodes classiques. Nous avons également établi, en se référant à des prévisions théoriques en régime convectif, que le mécanisme d'émission était uniquement dépendant du transport de masse en microfluidique continue. L'ensemble de ces résultats permettent ainsi d'envisager la possibilité d'effectuer des imageries ou des cartographies d'interface par électrochimiluminescence, comme nous avons pu déjà le réaliser avec un tout premier exemple. Enfin, les mesures effectuées en microfluidique de gouttes prouvent sans ambiguïté la possibilité de mettre en œuvre ce type de détection à l'intérieur de gouttes, c'est-à-dire, à l'échelle de microréacteurs de quelques nanolitres.

En conclusion, ces travaux ont montré la richesse des possibilités de mise en œuvre de détections électrochimiques en microfluidique de gouttes. De nombreuses configurations de cellules sont possibles et adaptables en fonction des applications visées. Elles permettent de contourner certaines contraintes expérimentales propres à l'électrochimie comme la mouillabilité des électrodes, ou encore des contraintes propres à d'autres méthodes de détection comme l'homogénéité du contenu de gouttes. Les performances analytiques atteintes par le couplage de l'électrochimie avec la microfluidique de gouttes sont encourageantes. Dans ce cadre, la mise en œuvre d'électrochimiluminescence devrait étendre d'autant plus les champs d'investigation vers des applications d'imagerie et de détections biologiques à l'échelle du nanolitre.

ANNEXES

Annexe A : Conditions opératoires pour le couplage de l'électrochimie et de la microfluidique de gouttes

Annexe B : Détermination expérimentale du coefficient de diffusion de l'espèce $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ dans KCl

Annexe C : Simulations numériques

Annexe D : Fabrication des microdispositifs

Annexe A. Conditions opératoires pour le couplage de l'électrochimie et de la microfluidique de gouttes

1. Solutions aqueuses et phase continue

Le système diphasique employé est adapté pour chaque utilisation comme indiqué dans le Tableau A1.

Tableau A1 : Tableau récapitulatif du système diphasique employé dans chacun des chapitres expérimentaux.

	Phase continue		Phase dispersée	
	<i>Huile</i>	<i>Viscosité (mPa.s)</i>	<i>Electrolyte support</i>	<i>Analyte</i>
Chapitre 2	AP 150 Wacker	150	KCl 0.5 mol.L ⁻¹	Fe(CN) ₆ ⁴⁻
Chapitre 3	AP 100 Wacker	100	KCl 0.5 mol.L ⁻¹	Fe(CN) ₆ ⁴⁻
Chapitre 4	AP 150 Wacker	150	PBS 0.1 mol.L ⁻¹	[Ru(bpy) ₃] ²⁺ /TPA

Les espèces ferrocyanure de potassium, tris(2,2'-bipyridyl)dichlororuthenium(II) hexahydrate, tri-n-propylamine (TPrA), les tablettes de PBS, le chlorure de potassium et les huiles minérales proviennent de Sigma-Aldrich et ont été utilisés sans modification.

Les solutions aqueuses sont préparées avec de l'eau purifiée d'une résistivité de 18 MΩ.cm (Milli-Q system, Millipore, Billerica, MA, USA).

Une huile de viscosité moins élevée a dû être choisie pour le chapitre 3 par rapports aux chapitres 2 et 4. Cela a permis d'améliorer la stabilité du volume de solution aqueuse sur les électrodes dans la chambre de coalescence.

Pour le chapitre 4, les solutions aqueuses sont ajustées à pH=7.4 avec de l'acide phosphorique afin de se placer dans les conditions optimales de génération de luminescence.

Dans toutes les parties expérimentales, aucun tensio-actif n'est ajouté au système diphasique.

2. Montage expérimental

Le dispositif expérimental est composé de trois parties distinctes : le potentiostat pour l'électrochimie, le contrôleur de pression pour la microfluidique, un microscope muni d'une caméra pour l'imagerie (Figure A1). Les mesures d'électrochimiluminescence présentées au chapitre 4 ont été réalisées en salle obscure et les images obtenues à l'aide d'un appareillage adapté (voir détails ci-après). Le reste des appareils reste identique pour chaque chapitre.

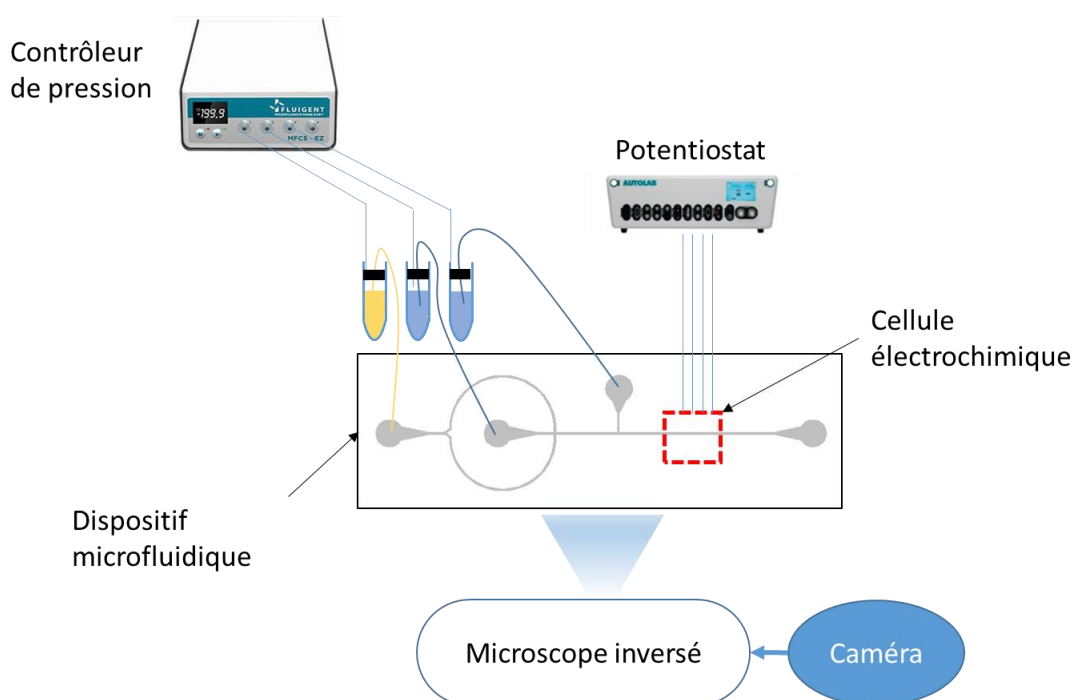


Figure A1 : Schéma du montage expérimental utile au couplage de l'électrochimie avec la microfluidique de gouttes. Le réservoir d'huile (phase continue) est symbolisé en jaune, et les solutions aqueuses sont représentées en bleu.

- **Electrochimie** : Les mesures sont réalisées à l'aide d'un potentiostat (Autolab PGSTAT302N, Metrohm) doté d'un module bipotentiostat et piloté par le logiciel NOVA.
- **Microfluidique** : Les différentes entrées du dispositif sont reliées à des réservoirs de solution. Le contrôle en pression des écoulements est assuré par une unité de contrôle de pression (MFCSTM-FLEX, Fluigent) pilotée par le logiciel Maesflo. Il permet de pressuriser de façon indépendante plusieurs réservoirs de fluide.
- **Imagerie _ chapitre 2 et 3** : Un microscope inversé (Axiovert 135, Zeiss, objectif 2,5x) couplé à une caméra CCD (AxioCam Icc1, Zeiss) nous permet d'observer le comportement des fluides à l'intérieur du dispositif. Le logiciel Zen est utilisé pour le traitement des images et l'enregistrement de photographies ou de vidéos.

- **Imagerie _ chapitre 4 :** Le dispositif expérimental est disposé sur la platine d'un microscope inversé (Zeiss LSM 710, objectif 5x) sur lequel est reliée une caméra ImagEM electron multiplier CCD (EMCCD) C9100-13 de la marque Hamamatsu. Un système de refroidissement maintient la caméra à la température de -80°C . L'ensemble du montage expérimental est situé dans une salle obscure pour minimiser le bruit de fond des mesures de luminescence. Les images sont acquises avec un temps d'exposition de 50ms ou de 100ms. Le gain est maintenu à 5 et la sensibilité à 255 pendant l'intégralité des mesures expérimentales. Un système e-corder 401 associé au logiciel eDAQ Chart permet la synchronisation du signal électrochimique avec la prise d'images par la caméra. Les images et vidéos sont enregistrées à partir du logiciel HClmagelive puis analysées à l'aide du logiciel ImageJ.

3. Activation et nettoyage des électrodes

Au début de l'utilisation de chaque dispositif microfluidique, il est nécessaire de procéder à une étape de mise en service des électrodes. Cette étape consiste à activer les électrodes selon une procédure qui permet également de nettoyer les électrodes afin d'assurer des mesures reproductibles entre les différentes séries expérimentales. Cette procédure diffère selon la nature de la solution aqueuse.

- **Chapitre 2 et 3 :** l'activation des électrodes est assurée en effectuant dix cycles successifs de voltamétrie cyclique à 0.7V/s entre -1V vs Pt et $+1\text{V vs Pt}$ dans un volume statique de solution aqueuse contenant du ferrocyanure à 2.10 mol.L^{-1} dans $\text{KCl } 0.5\text{ mol.L}^{-1}$.
- **Chapitre 4 :** L'activation des électrodes est effectuée par voltamétrie linéaire à 0.1V/s dans une solution aqueuse dans un volume statique de solution aqueuse contenant un mélange $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} 1.10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ et $\text{TPA } 0.1\text{ mol.L}^{-1}$ dans $\text{PBS } 0.1\text{ mol.L}^{-1}$ jusqu'à l'obtention d'un signal de courant et de luminescence reproductibles. En microfluidique de gouttes, la goutte est changée pour chaque voltamétrie. Généralement, cinq voltamétries linéaires sont suffisantes pour assurer une activation correcte des électrodes.

Dans le cas particulier de la microfluidique de gouttes, la mouillabilité des électrodes est également assurée par l'étape d'activation des électrodes.

Annexe B. Détermination expérimentale du coefficient de diffusion de l'espèce $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ dans KCl

Les coefficients de diffusion des espèces chimiques dépendent fortement de la composition de la solution, c'est-à-dire du type d'électrolyte support et de sa concentration. C'est pourquoi nous avons choisi de déterminer expérimentalement le coefficient de diffusion de l'espèce $[\text{Fe}(\text{CN})_6]^{4-}$ dans l'électrolyte support choisi (KCl) à la concentration de travail 0.5 mol.L^{-1} . Pour ce faire, nous avons choisi une concentration de ferrocyanure à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, conformément à l'ordre de grandeur utilisé pour les séries d'expériences. Pour référence, le coefficient de diffusion de cette espèce sera également déterminé expérimentalement pour une concentration en électrolyte support plus habituelle de 0.1 mol.L^{-1} .

Pour réaliser cette détermination de coefficient de diffusion, nous avons utilisé un montage à 3 électrodes dans une cellule électrochimique classique (Figure B1).

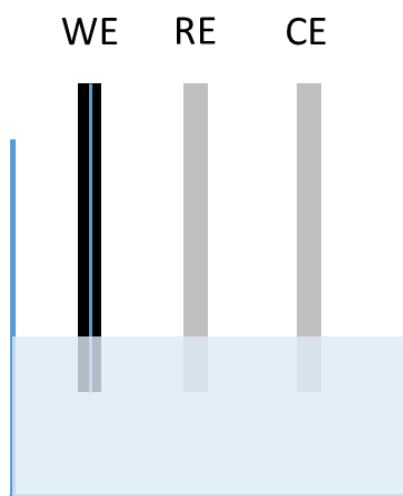


Figure B1 : Cellule électrochimique à 3 électrodes. WE : électrode de travail sous forme de disque de platine de rayon $12.5 \mu\text{m}$, RE : électrode de référence sous forme de fil d'argent chlorylé, CE : contre-électrode sous forme d'un fil de platine.

Pour déterminer le coefficient de diffusion, nous avons effectué des voltamétries linéaires à 10 mV/s entre 0 et 1V vs Ag/AgCl afin de déterminer des valeurs de courants limites stationnaires (Figure B2).

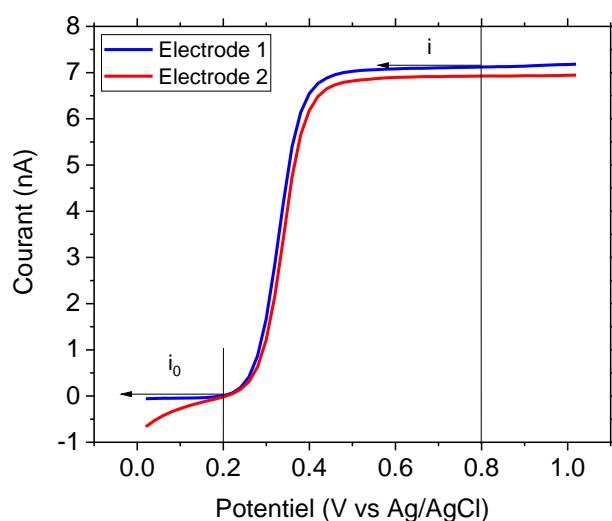


Figure B2 : exemple de voltamogramme linéaire à 10 mV/s sur deux microélectrodes de rayon $12.5\mu\text{m}$. La concentration de KCl est de 0.5 mol.L^{-1} , et la concentration de ferrocyanure de 2 mol.L^{-1} .

Sept mesures de ce type ont été réalisées sur chacune des deux microélectrodes employées. Pour une microélectrode disque le courant stationnaire vérifie l'expression suivante :

$$i = 4 nFr_0Dc^0 \quad (B1)$$

Avec n le nombre d'électrons échangés pendant la réaction, F le nombre de faraday, r_0 le rayon de l'électrode, D le coefficient de diffusion et c^0 la concentration de l'espèce concernée.

A r_0 et c^0 fixés, le coefficient de diffusion est alors évalué à l'aide de la relation suivante :

$$D = \frac{i - i_0}{4Fr_0c^0} \quad (B2)$$

On obtient de cette manière une valeur du coefficient de diffusion pour chaque concentration en électrolyte support (Tableau B1).

Tableau B1 : Coefficients de diffusion du ferrocyanure déterminé expérimentalement selon deux concentrations en électrolyte support.

Concentration KCl (mol.L^{-1})	$D / 10^{-6}$ ($\text{cm}^2.\text{s}^{-1}$)
0.1	6.9 ± 0.5
0.5	8.0 ± 0.2

Annexe C. Simulations numériques

Le logiciel commercial utilisé pour réaliser les simulations numériques est Comsol Multiphysics doté de l'interface Electroanalyse du module Electrochimie (Comsol versions 5.6). Il permet la résolution des équations de transport de masse des espèces par différences finies. Il constitue un environnement interactif généralement employé pour la modélisation d'applications industrielles et scientifiques basées sur les Equations aux Dérives Partielles (EDP). Les calculs ont été effectués à l'aide d'un ordinateur de bureau assemblé par Dell équipé d'un processeur Intel Xeon X5675 (processeur à 6 cœurs cadencés à 3.06 GHz) et disposant de 24 Go de RAM.

1. Détection en canal linéaire (Chapitre 2)

Des électrodes microbandes placées de manière transversale à l'écoulement sur une des parois d'un microcanal de section rectangulaire et parallèles entre elles ont été considérées. La largeur du canal L étant bien supérieure à sa hauteur h , les simulations numériques ont été réalisées dans un espace en 2D. Considérant que la réaction électrochimique est uniquement limitée par le transport de masse, l'équation de diffusion-convection a été résolue numériquement par éléments finis en accord avec la géométrie de la cellule. La configuration 4E est présentée en Figure C1A et la configuration 5E dans la Figure C1B. La réaction électrochimique est supposée réversible.



Avec A le réactif et B le produit. n est le nombre d'électrons échangés pendant la réaction électrochimique : il sera positif dans le cas d'une réduction et négatif pour une oxydation. Le coefficient de diffusion de chacune des deux espèces électroactives est supposé identique et égal à D . Un même potentiel correspondant au plateau d'oxydation de l'espèce électroactive est appliqué à chaque électrode de travail.

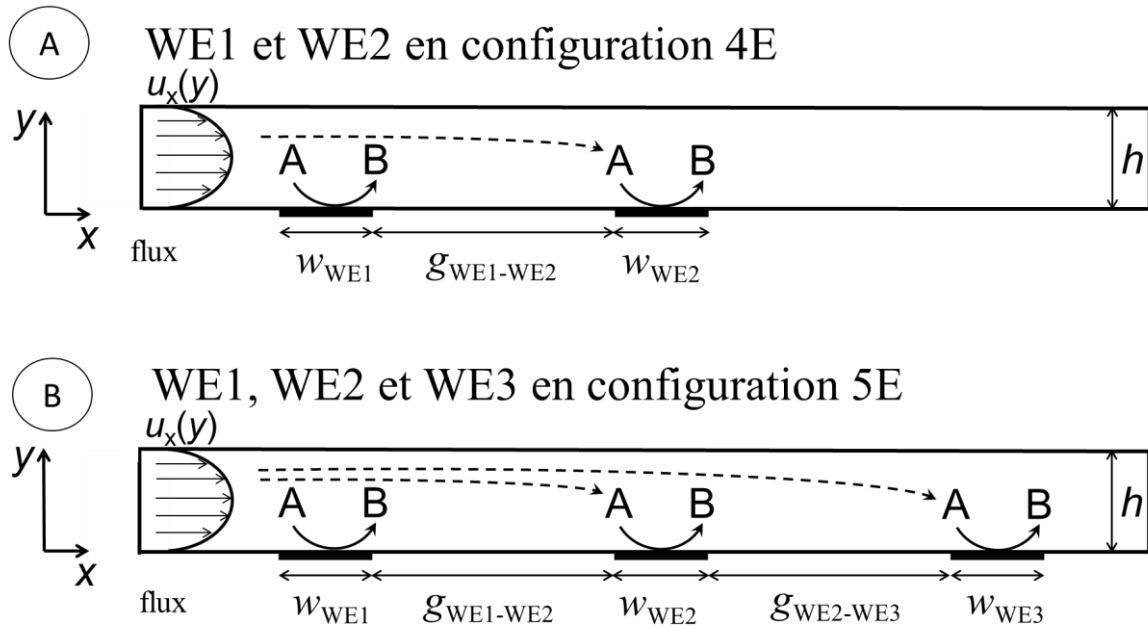


Figure C1: Schéma en 2D suivant la hauteur du canal du modèle utilisée pour les simulations numériques. A. Dispositif en configuration 4E avec deux électrodes de travail B. Dispositif en configuration 5E avec trois électrodes de travail. L'écoulement est de type Poiseuille et son profil de vitesse $u_x(y)$ est parabolique.

En conditions laminaires, le transport de masse est dirigé par l'équation suivante :

$$\frac{\partial c}{\partial t} = D \left(\frac{\partial^2 c}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 c}{\partial y^2} \right) - u_x(y) \frac{\partial c}{\partial x} \quad (C2)$$

Dans ces conditions, le phénomène de diffusion a lieu le long des deux directions alors que la convection n'a lieu que le long de l'axe x . $u_x(y)$ est la vitesse de flux dont le profil est parabolique à travers la section du microcanal comme indiqué par l'équation de Poiseuille :

$$u_x(y) = 6u_{av} \frac{y}{h} \left(1 - \frac{y}{h} \right) \quad (C3)$$

u_{av} est la vitesse moyenne avec $u_{av} = 2u_{max} / 3$. u_{max} est la vitesse maximale qui vaut pour $y = h / 2$. La vitesse moyenne de flux adimensionnée est représentée par le nombre de Péclet :

$$Pe = \frac{u_{av} h}{D} \quad (C4)$$

L'équation C2 est résolue numériquement par différences finies en lien avec les conditions aux limites suivantes :

- Pour $t < 0$, $c = c^0$

- Pour $t \geq 0$, $c = c^0$ à l'entrée du microcanal, $c = 0$ à la surface de l'électrode et $\partial c / \partial y = 0$ sur les surfaces isolantes.

Le courant i pour chaque électrode est donné par l'équation :

$$i_i(t) = nFLDc^0 \int_0^{wi} \frac{\partial c(t)}{\partial y} \Big|_{y=0} dx \quad (C5)$$

Avec F la constante de Faraday.

Les simulations qui dépendent du temps ont été menées en prenant en compte la taille et la vitesse des gouttes : la vitesse du flux a été considérée comme égale à celle des gouttes ; la réponse en courant de chaque électrode de travail dans les configurations 4E et 5E ont été calculées en considérant leur temps de contact respectif avec la goutte. Un plateau de courant stationnaire est atteint à chaque électrode de travail. En plus de ces simulations, les différents temps caractéristiques (i.e. t_0 , t_1 , t_2 , t_3) ont été fixés pour correspondre à la chute de courant associée à la taille de la goutte. Pour ce faire, les courants individuels ont été imposés à 0 pour $t > t_1$ (WE1), $t > t_2$ (WE2) and $t > t_3$ (WE3). Les valeurs de t_1 , t_2 et t_3 ont été évaluées en prenant en compte la longueur de la goutte (l), la configuration de la cellule électrochimique (i.e., 4E ou 5E) et la vitesse de la goutte (v) comme suit :

$$t_1 = \frac{l - g_{WE1-CE}}{v} \quad (C6)$$

$$t_2 = \frac{l - g_{WE2-CE}}{v} \quad (C7)$$

$$t_3 = \frac{l - g_{WE3-CE}}{v} \quad (C8)$$

2. Détection en chambre de coalescence (Chapitre 3)

A la différence des calculs précédents effectués en canal linéaire, ceux en chambre de coalescence considèrent des électrodes microbandes positionnées parallèlement à la longueur de la chambre en présence d'une phase aqueuse stationnaire (pas d'écoulement). Le choix a été fait d'envisager un modèle 2D qui simplifie le problème et facilite sa résolution. Les boîtes de calcul permettant de définir un tel espace géométrique pour la chambre de coalescence ont été

construites suivant les coupes 2D définies par les pointillés rouges reportés sur les vues de dessus schématisées sur la Figure C2. Deux cas ont été envisagés : cas A, la chambre de coalescence est remplie entièrement par une solution aqueuse (cas monophasique) ou bien cas B, la solution aqueuse recouvre uniquement les électrodes (cas diphasique). Les modèles 2D construits suivant la hauteur et correspondant aux configurations des cellules électrochimiques 3E et 4E en monophasique sont présentés sur la Figure C2A. Le cas de la configuration 3Ec du cas diphasique est considéré avec un fonctionnement en mode générateur-collecteur. Il a donc été assimilé à une configuration 4E (Figure C2B). Ces modèles admettent que la chambre de coalescence est à fort rapport d'aspect (sa largeur bien plus grande que sa hauteur) et les effets de la paroi aux extrémités des bandes des électrodes sont négligés. Ainsi, les boîtes de calcul sont des boîtes fermées de forme rectangulaire et dont le périmètre est segmenté. Chaque segment se distingue par sa nature et son rôle et se différencie de par leurs conditions aux bornes : surface active d'électrode, surface isolante (sol et plafond). L'ensemble de ces conditions ainsi que les conditions initiales permettent d'établir une convergence lors de la résolution des calculs.

Les conditions initiales pour le couple redox A/B sont :

$$\forall(x, y), \text{ à } t = 0, c_A = c^0 \text{ et } c_B = 0 \quad (C9)$$

Les parois isolantes où il n'y a pas d'électrode se traduisent par les conditions de flux nul :

$$\frac{\partial c_A}{\partial y} = \frac{\partial c_B}{\partial y} = 0 \text{ ou } \frac{\partial c_A}{\partial x} = \frac{\partial c_B}{\partial x} = 0 \quad (C10)$$

La réaction électrochimique qui a lieu à la surface de l'électrode de travail WEg ou WEb est :



La réaction électrochimique à la surface de l'électrode collectrice WEc est :



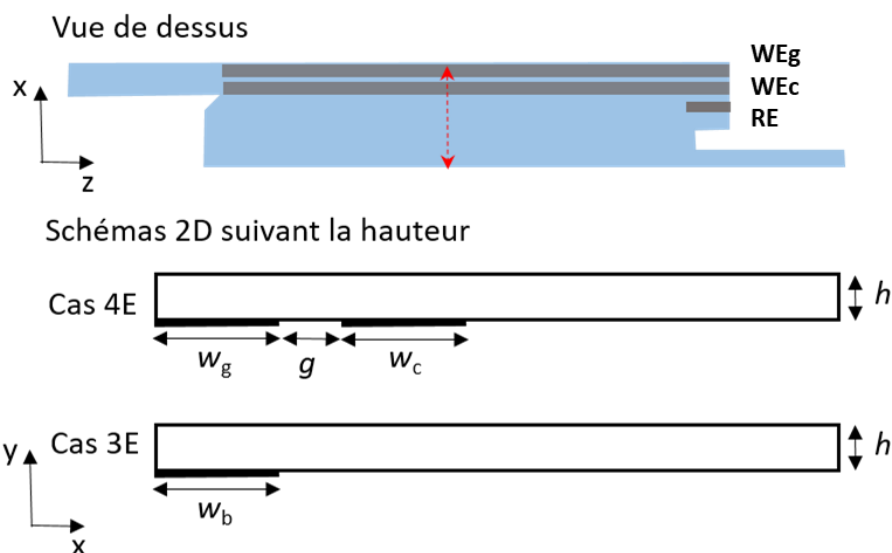
La réaction (C12) ne peut avoir lieu qu'à partir du moment où l'espèce B produite à l'électrode génératrice a pu diffuser jusqu'à l'électrode collectrice.

Pour chaque espèce considérée (A et B), nous utilisons un modèle de diffusion. Leurs coefficients de diffusion sont pris égaux entre eux ($D = D_A = D_B$) ou bien avec un rapport

$D_B / D_A = 0.87$ et leurs concentrations en tout point de l'espace de calcul vérifient la relation suivante :

$$c_A + c_B = c^0 \quad (C13)$$

(A) Chambre de coalescence en monophasique



(B) Chambre de coalescence en diphasique

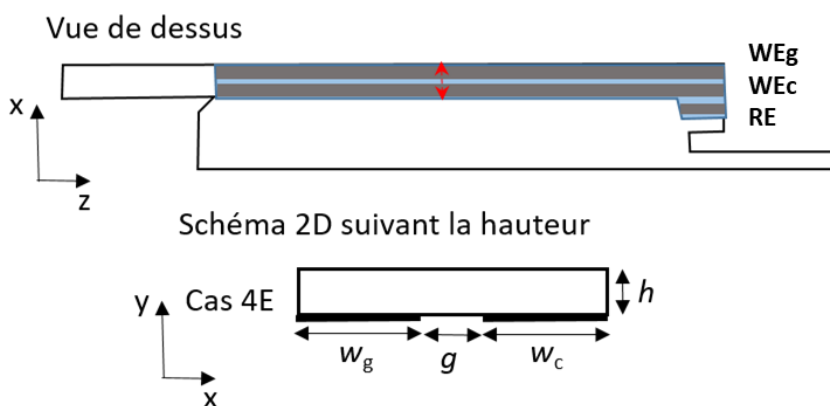


Figure C2 : Vues de dessus et schémas en 2D des modèles simplifiés considérés pour les simulations numériques. La chambre de coalescence en coupe 2D suivant la hauteur et l'axe des pointillés rouges est représentée par une boîte fermée de forme rectangulaire. La hauteur de la boîte correspond à la hauteur du dispositif et sa longueur dépend du fonctionnement envisagé de la chambre : (A) fonctionnement en monophasique et (B) fonctionnement en diphasique. Les largeurs des microbandes sont représentées par des segments sur le sol de la boîte. Les parois autres que les électrodes sont des surfaces isolantes.

Des voltamogrammes cycliques et des chronoampérogrammes ont été simulés. A chaque méthode, correspond des conditions différentes appliquées à la surface des électrodes.

Les voltamétries cycliques sont réalisées en appliquant deux rampes linéaires de potentiel (potentiel croissant vers l'oxydation puis potentiel décroissant vers la réduction) sur les électrodes de travail générateur ou isolée (w_g ou w_b), alors qu'un potentiel constant, situé sur le plateau de diffusion de B, est appliqué sur l'électrode collectrice (w_c). Pour un système redox réversible, la vitesse de transfert des électrons aux électrodes est contrôlée par l'équation cinétique de Butler–Volmer.

$$D_A \frac{\partial c_A}{\partial y} = -D_B \frac{\partial c_B}{\partial y} = k_0 [c_A \exp(-\alpha_a \theta) - c_B \exp((1-\alpha_c) \theta)] \quad (C14)$$

avec $\theta = \frac{F}{RT} (E_i - E^0 - v t)$

où k_0 est la constante de vitesse hétérogène, α_a et α_c les coefficients de transfert anodique et cathodique, E le potentiel de l'électrode, E^0 le potentiel standard du couple redox A/B et v la vitesse de balayage en potentiel. R est la constante des gaz parfaits, F la constante de Faraday et T la température.

Les chronoampérogrammes sont réalisés en appliquant sur l'électrode génératrice ou isolée (WEg ou WEb) un potentiel constant situé sur le plateau de diffusion d'A, et un potentiel constant situé sur le plateau de diffusion de B sur l'électrode collectrice (WEc).

A chaque simulation numérique, le résultat conduit à des profils de concentration développés dans l'espace de la boîte considérée. Les courants sont alors évalués par intégration des gradients de concentration présents à la surface des électrodes.

Pour le générateur ou l'électrode isolée le courant est exprimé de la façon suivante :

$$i = nFlc^0 D_A \int \left(\frac{\partial c_A(t)}{\partial y} \right)_{el} dx \quad (C15)$$

Pour l'électrode collectrice, le courant est exprimé par la relation suivante :

$$i = nFlc^0 D_B \int \left(\frac{\partial c_B(t)}{\partial y} \right)_{el} dx \quad (C16)$$

Où l est la longueur des microbandes.

2. Maillage

Etant donné que le programme résout des équations par différences finies, il est nécessaire d'adapter le maillage à l'intérieur de la boîte de calcul. Ce dernier est de forme triangulaire et généré automatiquement par le logiciel. Cependant, ce n'est pas un maillage homogène. En effet, afin d'assurer la convergence et la précision des calculs, un maillage de très haute

résolution est imposée à la surface et aux extrémités des électrodes. La taille maximale des éléments a été arbitrairement fixée à $0.001 h$ sur les bords, et à $0.005 h$ sur la surface des électrodes alors qu'elle est fixée à $0.1 h$ dans le domaine de la boîte. Les valeurs sont choisies suivant la résolution désirée pour qu'il y ait convergence lors de linéarisation des équations.

Une plus grande finesse de maillage implique un plus grand nombre d'éléments et une meilleure résolution. En contrepartie, le temps du calcul est plus important. Nous avons ajusté le nombre d'éléments de façon à obtenir une convergence des calculs en un temps raisonnable, de l'ordre de quelques minutes. Les courants sont calculés par intégration du gradient de concentration de l'espèce analysée à la surface de l'électrode et ils doivent tendre vers des valeurs optimales indépendantes du maillage.

3. Solveur

Deux types de résolution peuvent être envisagés avec Comsol Multiphysics :

- Une résolution stationnaire
- Une résolution temporelle

Les solveurs directs MUMPS (en stationnaire) ou PARDISO (en temporel) sont utilisés pour résoudre l'équation du transport de masse des espèces électroactives. Ce sont des solveurs ayant une grande robustesse numérique et une bonne souplesse d'utilisation. Ils permettent une résolution accélérée de problèmes de très grande taille et sont capables de paralléliser le calcul sur un processeur multi-cœurs, tel que celui dont nous disposons pour effectuer les simulations numériques.

Ce type de solveur est spécialisé pour déterminer la solution u en linéarisant les équations de la forme :

$$d_\alpha \frac{\partial u}{\partial t} + \nabla \cdot (-c \nabla u - \alpha u + \gamma) + \beta \cdot \nabla u + \alpha u = f \quad (C17)$$

où les coefficients d_α , c , α , β , γ ou f (ou ceux utilisés pour les conditions aux bornes) dépendent de la solution u ou de ses dérivées spatiales.

Annexe D. Fabrication des microdispositifs

La fabrication des microdispositifs se fait en trois étapes distinctes : la conception et réalisation des canaux en PDMS, la conception et réalisation des électrodes puis l'assemblage des deux parties entre elles. Les deux premières étapes ont été réalisées en salle de blanche du département de Physique de l'ENS. L'étape d'assemblage est ensuite réalisée au laboratoire.

Les motifs des canaux et des électrodes ont été dessinés à l'aide du logiciel CleWin4, WieWeb.

Avant utilisation, les substrats (wafer de silicium pour les canaux, lame de verre pour les électrodes) sont dans un premier temps nettoyés à l'acétone puis à l'isopropanol avant d'être passés au plasma à air sec pendant 4 minutes.

1. Fabrication des canaux en PDMS

La fabrication des canaux de PDMS se fait en deux étapes principales : la préparation d'un moule en résine sur wafer de silicium, et le moulage par le PDMS (Figure D1).

- **Préparation du moule**

La première étape nécessite l'utilisation de masques optiques (réalisés à l'Institut Pierre-Gilles de Gennes) afin d'insoler une résine positive selon le schéma souhaité pour le canal. Cette étape est réalisée sur un wafer circulaire de silicium de diamètre 7.62cm. La résine utilisée est de type SU-8. L'épaisseur de résine conditionnera la hauteur des canaux. Elle peut être adaptée en fonction de la référence de la résine employée ainsi que des conditions opératoires d'enduction.

Pour l'ensemble des canaux conçus, la référence de résine SU8-2015 a été utilisée. L'ensemble des étapes est résumé dans le Tableau D1.

L'insolation est réalisée par un aligneur de modèle MJB4 doté d'une lampe UV de puissance 200 mJ/cm².

Tableau D1 : Etapes de préparation du moule des canaux

	Chapitre 2 et 4	Chapitre 3
Enduction	V=500tpm – 5s V=1000tpm – 30s	V=500tpm – 5s V=1500tpm – 30s
Chauffage	65°C pendant 1 minute 95°C pendant 3 minutes	
Insolation	25s	
Réticulation	Chauffage à 95°C pendant 4 minutes	
Développement	3 minutes dans le SU8-developper	
Épaisseur	40 ± 2 µm	28 ± 2 µm

L'épaisseur de résine est mesurée à l'aide d'un profilomètre en salle blanche du département de chimie de l'ENS.

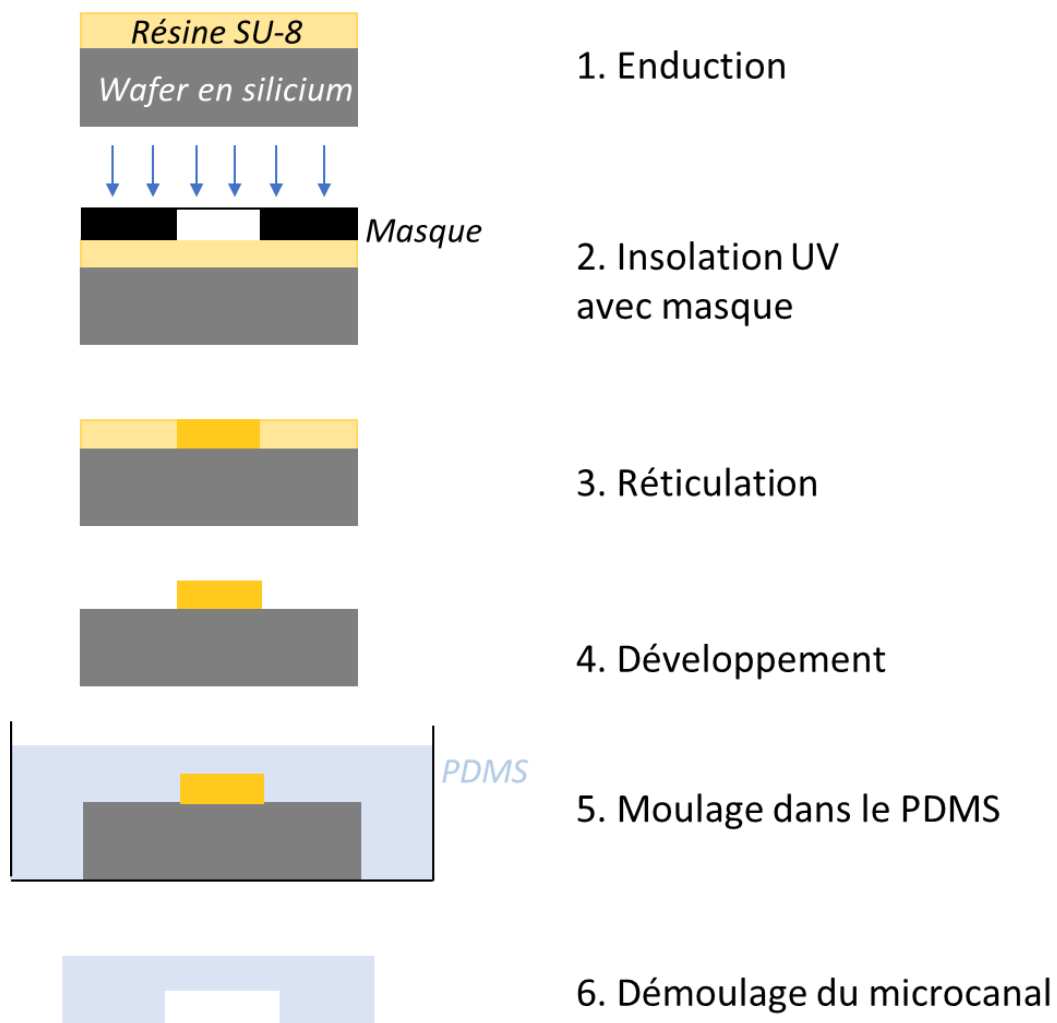


Figure D1 : Représentation schématique décrivant les étapes du protocole de fabrication des canaux microfluidiques en PDMS.

- **Moulage du PDMS**

Une fois le moule préparé sur wafer de silicium, il est disposé dans une boîte de Pétri pour l'étape de moulage par le PDMS.

Le PDMS est préparé à partir d'un kit Momentive RTV 615-kit. Le monomère est assemblé au réticulant en proportions 10 :1. Il est ensuite coulé dans la boîte de Pétri sur une épaisseur d'environ 3 mm. L'ensemble est ensuite placé à l'étuve 80°C pendant au moins 1h. Le PDMS a alors réticulé sur le moule de canal en résine. Il est finalement découpé à l'aide d'un scalpel suivant les dimensions approximatives d'une lame de verre. Des trous cylindriques de 2 mm de diamètre sont alors percés à l'aide d'un emporte-pièce adapté au niveau de chaque puits prévu à cet effet.

2. Fabrication des électrodes

La fabrication des électrodes nécessite trois étapes distinctes : la lithographie laser, la métallisation et le lift-off (Figure D2).

Pour les électrodes, la lithographie est réalisée directement sur lame de verre de dimensions 75mmx25mm d'épaisseur 1 mm. Elles sont d'abord enduites d'un promoteur d'adhérence (Ti-prime) afin d'améliorer l'adhésion de la résine photosensible pour l'étape suivante. Une étape de chauffage à 110°C de 2 minutes est nécessaire pour l'évaporation des solvants. Elles sont ensuite enduites d'une résine AZ5214E sur une tournette puis chauffées pendant 2 minutes à 110°C.

Ensuite, la lithographie laser permet de graver la résine directement avec le motif conçu par ordinateur. Il s'agit d'une lampe UV de puissance 200mJ/cm². Un dissolvant adapté (AZ726MIF) est utilisé pendant 30 secondes pour le développement. L'étape de développement est arrêtée par rinçage dans de l'eau distillée.

Ensuite vient l'étape de métallisation. Une couche d'accroche de titane (3 nm) est d'abord déposée par pulvérisation cathodique (125mA, 30s, 1 cycle) suivi de 45 nm de platine (125mA, 90s, 2 cycles). Le platine sera alors notre matériau d'électrodes.

Les lames sont finalement passées dans un bain d'acétone aux ultrasons pour retirer la résine et ainsi ne conserver que le dépôt métallique en contact direct avec la lame de verre selon le schéma d'électrodes.

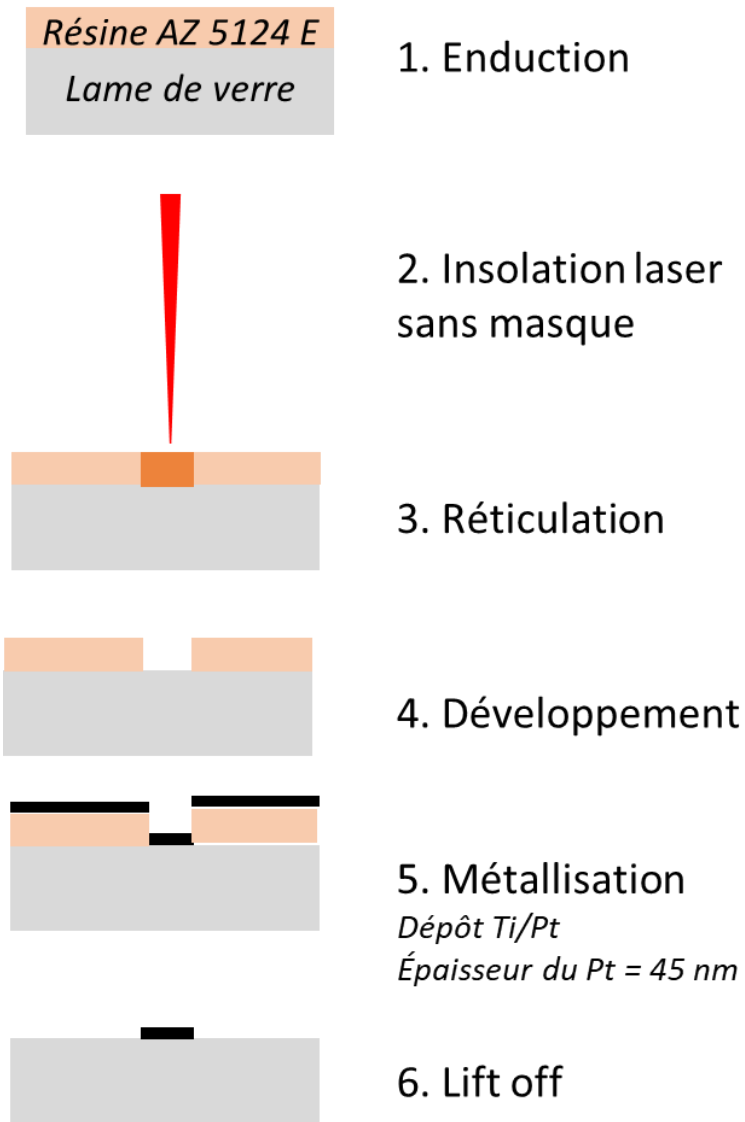


Figure D2 : Représentations schématiques illustrant les différentes étapes du protocole de fabrication des microélectrodes

3. Assemblage

Le morceau de PDMS avec la forme du canal ainsi que la lame de verre avec les électrodes lithographiées sont nettoyés dans un bain d'éthanol aux ultrasons pendant 10 minutes. Ils sont ensuite séchés à l'air comprimé puis conservés une trentaine de minutes à l'étuve 80°C.

Les deux parties sont ensuite scellées par liaison covalente après activation au plasma à air sec pendant 1 minute et 30 secondes (Diener-femto). Le dispositif ainsi assemblé est ensuite placé à l'étuve 80°C pendant au moins 1h pour s'assurer de l'irréversibilité du collage plasma. Ensuite, le dispositif est placé sur plaque chauffante à 110°C pendant 1h pour assurer un caractère hydrophobe au canal microfluidique. Enfin, les contacts électriques sont réalisés à l'aide de points de soudure à l'étain. Une colle époxy isolante (Araldite 2011) est ensuite utilisée pour isoler et consolider les contacts.

TABLES DES FIGURES ET DES TABLEAUX

Table des figures

<i>Figure 1.1 : Domaines d'applications de la microfluidique</i>	17
<i>Figure 1.2 : Représentation schématique de deux cas limites d'écoulement dans un canal : A. écoulement laminaire B. écoulement turbulent. Le fluide est représenté en bleu et les vecteurs de vitesse en rouge.</i>	20
<i>Figure 1.3 : Influence du nombre Capillaire sur la formation de gouttes en canal microfluidique dans le cas d'une jonction T. La grandeur λ correspond au rapport de viscosité entre phase continue et phase dispersée [32].</i>	22
<i>Figure 1.4 : Profils de vitesse simulés pour deux géométries de canaux A. canal de section carrée B. canal de section rectangulaire. L'échelle de couleur représente les vitesses relatives de la plus faible (en bleu) à la plus élevée (en rouge).</i>	22
<i>Figure 1.5 : Profil des vecteurs de vitesse de l'écoulement laminaire en deux dimensions. La vitesse moyenne du fluide u est représentée par le vecteur bleu.</i>	23
<i>Figure 1.6 : Mélange de deux solutions différentes par diffusion transversale au cours de l'écoulement le long d'un canal microfluidique (vu de dessus) [36].</i>	24
<i>Figure 1.7 : Mélange de deux solutions par convection induite de deux manières différentes A. Présence de chevrons dans un canal linéaire [51] B. Ondes acoustiques générées dans une chambre de mélange [52].</i>	25
<i>Figure 1.8 : A. Schéma de principe de la dispersion de Taylor-Aris dans un canal linéaire et B. profils de concentration associés au cours du temps [56]</i>	26
<i>Figure 1.9 : Description schématique de deux modes de générations de gouttes. A Train de gouttes B. Gouttes à la demande. La ligne bleue correspond à la pression de la phase dispersée, la ligne pointillée jaune correspond à la pression de la phase continue.</i>	31
<i>Figure 1.10 : Schéma d'un plug se déplaçant dans un canal microfluidique linéaire de section rectangulaire A. vu de côté, B. vu en coupe. La goutte (phase dispersée) est en bleu et la phase continue est en blanc.</i>	32
<i>Figure 1.11 : Photographies de génération de micro-gouttes par différentes géométries : A. co-flow B. flow-focusing C. jonction T [93] D. jonction V [96].</i>	34
<i>Figure 1.12 : A. Exemple de méthode passive : division d'une goutte lors de son arrivée sur une jonction-T [97], B. Exemple de méthode active : division d'une goutte à l'aide d'ondes acoustiques [98].</i>	34
<i>Figure 1.13 : A. Schéma de fonctionnement d'une trappe avec la représentation des lignes de champ de vitesse [81], B. Schéma de dispositif de capture de goutte par électromouillage[99].</i>	35
<i>Figure 1.14 : A. Schéma d'un dispositif microfluidique permettant de trier les gouttes par critère de taille [103] et B. dispositif équipé d'une valve permettant de fermer (ON) ou d'ouvrir (OFF) un canal pour choisir le chemin des gouttes [104].</i>	36

<i>Figure 1.15 : A. Coalescence synchrone par jonction T [118] B. Schéma d'un dispositif microfluidique avec une microcavité de forme rectangulaire située sur un des côtés du canal principal permettant la coalescence de gouttes successives avec le descriptif des différentes étapes du mécanisme de coalescence pour ce dispositif dans le cas de deux gouttes successives (a : piégeage de la goutte dans la cavité, b : mise en contact de deux gouttes, c : coalescence par fusion passive, d : goutte issue de la fusion, e : déformation de la goutte pour entrer vers le canal aval, f : piégeage d'une 3ème goutte) [119] C. Appairage de deux petites gouttes et coalescence par modification locale de l'état de surface dans le canal principal [120].</i>	38
<i>Figure 1.16 : A. Coalescence asynchrone par trappe à piliers [121] B. Photographies de fonctionnement d'un diluteur. La solution grise est une poche de solution aqueuse concentrée en colorant retenue par des piliers à l'intérieur de laquelle il y a d'importantes recirculations. La solution transparente est une solution de concentration nulle en colorant qui vient diluer le contenu de la poche. La goutte qui quitte la poche de solution aqueuse est de même volume que la goutte qui entre [122].</i>	39
<i>Figure 1.17 : Coalescence active A. par l'utilisation d'ondes acoustiques [123], B. par phénomène d'électrocoalescence [124], C. par agent chimique [125].</i>	40
<i>Figure 1.18 : Recirculations dans la goutte induites de deux manières différentes A. Forme sinueuse du canal [131] B. Chauffage localisé par micro-ondes [132]</i>	41
<i>Figure 1.19 : Image PIV illustrant les champs de vitesse de particules à l'intérieur d'une goutte en mouvement pour différents nombres capillaires (a). $Ca=4.10^{-4}$ (b). $Ca=8.1 10^{-3}$ (c). $Ca=8.1 10^{-2}$. Le code couleur est associé à des vitesses exprimées en mm/s [140].</i>	43
<i>Figure 1.20 : Profil de vitesse à l'intérieur d'un plug de 13 mm de long pour différentes vitesses de flux [142].</i>	44
<i>Figure 1.21 : A. Principe de la mesure photo-thermique en microfluidique de gouttes, B. Appareillage et chemin optique de la mesure photo-thermique [146]</i>	45
<i>Figure 1.22 : A. Schéma du dispositif microfluidique adapté à la détection par spectrométrie de masse B. Dispositif d'extraction des gouttes avant la mesure [148].</i>	46
<i>Figure 1.23 : A. Schéma d'un dispositif permettant la mesure de capacitance dans un canal microfluidique [151] B. Schéma de principe d'une mesure par impédancemétrie dans une goutte [154].</i>	48
<i>Figure 1.24 : A. Schéma de principe d'une mesure ampérométrique sans contact entre la goutte et l'électrode B. Signal électrochimique obtenu lors du passage de gouttes au voisinage de la couche de diffusion de l'électrode située sur la paroi du canal [158].</i>	49
<i>Figure 1.25 : Quatre stratégies permettant d'assurer la mouillabilité entre le contenu d'une goutte et les électrodes pour réaliser une détection ampérométrique : A. Utilisation d'électrodes pénétrantes (fils métalliques) [159], B. Modification locale de la mouillabilité de la paroi du canal sur laquelle sont localisées les électrodes [160], C. Rétrécissement local du canal au niveau de la zone de détection conduisant à un étirement de la goutte [161], D. Détection de plugs [141].</i>	50

- Figure 2.1 : A. Schéma représentant le passage d'un plug sur la cellule électrochimique à trois électrodes avec la mise en évidence de cinq temps caractéristiques B. Chronoampérogramme obtenu expérimentalement lors du passage d'un plug sur les électrodes. Représentation des cinq temps caractéristiques définis en A et le courant stationnaire i_s . C. Dépendance du courant de plateau en $v_{\text{goutte}}^{1/3}$ pour différentes largeurs d'électrode de travail $w = 10\mu\text{m}$ (vert), $25\mu\text{m}$ (bleu foncé), $50\mu\text{m}$ (rouge) et $75\mu\text{m}$ (bleu clair). $c^\circ = 2.10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$. v_{goutte} est la vitesse de goutte [141]. 59
- Figure 2.2 : A. Schéma de passage d'une goutte sur la cellule électrochimique à 4 électrodes aux temps t_0 , t_1 et t_2 et B. Signaux ampérométriques obtenus à WE1 (en bleu), à WE2 (en rouge) et à la somme de ces deux signaux (en noir). $E_{\text{WE1}} = E_{\text{WE2}} = 0.5\text{V vs RE}$. $K_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ $2.10^{-3}\text{ mol.L}^{-1}$ dans $\text{KCl } 0.05\text{ mol.L}^{-1}$. $g_{\text{WE1-WE2}} = 1000\mu\text{m}$, $w_{\text{WE1}} = w_{\text{WE2}} = 50\mu\text{m}$. Mise en évidence de 3 temps caractéristiques t_0 , t_1 et t_2 et définition des courants de plateau i_1^L et i_2^L [169]. 60
- Figure 2.3 : A. Corrélation entre vitesse déterminée par électrochimie (v^{4E}) et vitesse optique (v^{opt}) B. Mise en évidence de la dépendance de l'intensité du premier courant de plateau i_1^L en $(v^{4E})^{1/3}$ [169]. En A et B, $g_{\text{WE1-WE2}} = 200$ (vert), 400 (bleu) et $1000\mu\text{m}$ (rouge). $w_{\text{WE1}} = w_{\text{WE2}} = 50\mu\text{m}$. Les volumes des gouttes varient entre 10 et 100 nL. 62
- Figure 2.4: A. Schéma représentant la disposition d'électrodes microbandes (REF, WE, CE) dans un canal microfluidique de largeur L (vue de dessus) B. Schéma 2D de principe de l'électrolyse d'une espèce électroactive à la surface de l'électrode de travail de largeur w lors d'un écoulement laminaire dans un canal de hauteur h ($h < L$). La forme du profil de vitesse est illustré par les vecteurs $u_x(y)$ [31]. 63
- Figure 2.5 : Présentation de trois principaux régimes de transport de masse. I : régime de couche mince, II : régime intermédiaire, III : régime de Levich. A. Illustrations de profils de concentration simulés en régime I, II et III. B. Domaines de prédominance de ces régimes à travers les courants stationnaires simulés et rapportés aux courants de Levich ou de couche mince en fonction de W/Pe avec $W=w/h$ et Pe le nombre de Péclet [31]. 64
- Figure 2.6 : Profil de concentration stationnaire lors d'une détection ampérométrique par une électrode microbande et représentation de la hauteur de solution sondée H par l'électrode [31]. 66
- Figure 2.7 : Schéma descriptif des deux modes de fonctionnement lors de l'utilisation de deux électrodes de travail en conditions confinées sous flux laminaire [173]. 67
- Figure 2.8 : Valeurs particulières de G/Pe , notées $(G/Pe)_{\text{trans}}$, correspondant à la transition entre le régime séquentiel et de couplage. W_1 , W_2 et G sont respectivement les tailles adimensionnées des électrodes (WE1, WE2) et du gap [173]. 68
- Figure 2.9 : Fonctionnement en générateur-générateur d'un réseau d'électrodes A. Schéma de l'intégration des électrodes dans le canal B-C. Profils de concentration lors du fonctionnement des électrodes en mode générateur-générateur en régime séquentiel et en régime de couplage [174]. 69
- Figure 2.10 : Présentation graphique du concept de détection d'un contenu de goutte inhomogène avec un dispositif à deux électrodes de travail (configuration 4E) [175]. 70

Figure 2.11 : A. Schéma du canal microfluidique constitué de deux entrées de solution aqueuse. B. Photographie du dispositif microfluidique pour la détection électrochimique de gouttes dont le contenu est hétérogène. 71

Figure 2.12 : Photographies montrant les séquences de génération de goutte par flow-focusing puis celles du mélange par fusion active au niveau de la jonction-T. 72

Figure 2.13 : Schémas représentant les configurations des deux cellules électrochimiques. A. Configuration à 4 électrodes. B. Configuration à 5 électrodes. Les largeurs des électrodes WE3, et CE ainsi que les distances inter électrodes WE1-WE2 et WE2-WE3 sont indiquées sur les schémas. Les largeurs des électrodes WE1, WE2 et RE sont de 50 μm et les intervalles entre les électrodes WE-RE et RE-CE sont de 100 μm 74

Figure 2.14 : Principe de fonctionnement des cellules électrochimiques 4E et 5E aux différents temps caractéristiques t_0 , t_1 , t_2 et t_3 . A. Cellule à quatre électrodes. B. Cellule à cinq électrodes. 74

Figure 2.15 : Voltamogramme cyclique d'une solution de ferrocyanure de potassium à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans KCl $0,5 \text{ mol.L}^{-1}$, réalisée sur une électrode microbande de 50 μm dans une goutte stationnaire placée sur la cellule électrochimique. A. 10 cycles sont réalisés pour nettoyer la surface de l'électrode. B. Le dernier cycle permet de définir le potentiel utile pour une oxydation de FeII par chronoampérométrie. 77

Figure 2.16 : A. Signal électrochimique résultant du passage d'une goutte de 41 nL de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ se déplaçant à $394 \mu\text{m.s}^{-1}$ sur la cellule électrochimique. B. Simulation numérique d'une chronoampérométrie pendant le passage d'un volume de phase aqueuse équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de même concentration. 78

Figure 2.17 : Représentation de la charge détectée en fonction de la charge contenue dans les gouttes. Les régressions linéaires présentent des pentes égales à 0.117 en noir ($R^2=0.99$) pour WE1, 0.122 en rouge ($R^2=0.99$) pour WE2 et 0,239 en bleu ($R^2=0.99$) pour WE1+WE2 80

Figure 2.18 : Schéma d'une goutte de contenu inhomogène avec vues en coupe du niveau de concentration à différentes positions x. 83

Figure 2.19: A. Chronoampérométrie lors du passage d'une goutte de contenu inhomogène de volume $V=21 \text{ nL}$ ($V_1 = 12.6 \text{ nL}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^0=2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $V_2 = 8.4 \text{ nL}$ de KCl 0.5 mol.L^{-1}) de vitesse $v=333 \mu\text{m.s}^{-1}$ mesurée avec une cellule électrochimique de configuration 4E. B. simulation numérique d'une chronoampérométrie correspondant au passage d'un volume de phase aqueuse homogène équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de concentration moyenne $\bar{c} = V_1/(V_1+V_2)=1.2 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ 84

Figure 2.20 : A. Chronoampérométrie pendant le passage d'une goutte inhomogène de volume $V=31 \text{ nL}$ ($V_1=16 \text{ nL}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^0=2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et $V_2 = 15\text{nL}$ de KCl 0.5 mol.L^{-1}) et de vitesse $436 \mu\text{m.s}^{-1}$ sur la cellule électrochimique 5E. $w_{\text{WE3}} = 700\mu\text{m}$ et B. simulation numérique d'une chronoampérométrie correspondant au passage d'un volume de phase aqueuse de composition homogène équivalent à celui de la goutte analysée expérimentalement en A et de concentration moyenne $\bar{c} = V_1/(V_1+V_2)=1.03 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ 84

Figure 2.21 : Comparaison des charges obtenues par intégration des courants de WE1+WE2 pour des gouttes homogènes ($v=(512\pm 43) \mu\text{m.s}^{-1}$ et $V=(38\pm 7)\text{nL}$, mêmes données que celles

de la Figure 2.17) et des gouttes hétérogènes ($v=(446\pm 77)\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et $V=(34\pm 6)\text{nL}$). Cellule électrochimique de configuration 4E. Les pentes sont de 0.24 ($R^2=0.99$) pour la série en noir, et 0.22 ($R^2=0.99$) pour la série en rouge. 86

Figure 2.22 : Chronoampérogrammes obtenus expérimentalement sur la seconde électrode de travail à partir d'une cellule électrochimique de configuration 4E. A. Cas d'une goutte homogène de volume 37 nL de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^\circ=2.10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et de vitesse $457\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. B. Cas d'une goutte hétérogène de volume $V=43\text{nL}$ (dont $V_1=24\text{nL}$ de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $c^\circ=2.10^{-3}\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et $V_2 = 19\text{nL}$ de $\text{KCl } 0.5\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$) de vitesse $413\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et de concentration moyenne $c^\circ V_1/(V_1+V_2)=1.11\text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 87

Figure 2.23 : A. Courbes théoriques représentant le degré d'hétérogénéité en fonction du rapport $V_2/(V_1+V_2)$ pour différents taux de mélange : 0, 25, 50, 75 et 100%. B. Schémas de gouttes illustrant trois taux de mélange caractéristiques pour un rapport $V_2/(V_1+V_2)=0.5$. .. 88

Figure 2.24 : Représentation des charges pour les séries de dilution correspondant aux trois volumes de goutte (24, 35 et 52 nL). Configuration 4E de la cellule électrochimique. Les droites de régression linéaire ont les pentes suivantes : 0.23 en bleu ($R^2=0.97$), 0.26 en rouge ($R^2=0.99$) et 0.22 en noir ($R^2=0.97$)..... 90

Figure 2.25 : Comparaison des charges détectées avec WE1+WE2 dans une configuration 4E (symboles noirs) et avec WE1+WE2+WE3 dans une configuration 5E ($w_{WE3} = 200\mu\text{m}$ symboles rouges, $w_{WE3} = 400\mu\text{m}$ symboles bleus, $w_{WE3} = 700\mu\text{m}$ symboles verts). Les régressions linéaires de pentes sont : 0.26 en noir ($R^2=0.99$) 0.49 en rouge ($R^2=0.99$) 0.65 en bleu ($R^2=0.99$) et 0.77 en vert ($R^2=0.98$) pour des séries de gouttes inhomogènes de volume $(34 \pm 6)\text{ nL}$ et de vitesse $(466 \pm 77)\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ 90

Figure 2.26 : Droite de dilution obtenue à partir des données de la Figure 2.24 pour les trois catégories de volumes de goutte (24, 35 et 52 nL). La droite noire représente la tendance attendue. 91

Figure 2.27 : Droite de dilution obtenue à partir des données de la Figure 2.25 pour les différentes configurations considérées. c° est une valeur de concentration de référence correspondant à la concentration de la solution aqueuse 1 sans dilution. La droite en noir correspond à la tendance attendue. 91

Figure 2.28 : Taux de détection en fonction du volume des gouttes : valeurs expérimentales issues des données de la Figure 2.26 et comparées à la variation théorique. La ligne verticale pointillée correspond à la limite de volume en-dessous laquelle il n'est plus possible de mener une détection avec notre cellule électrochimique de configuration 4E. La ligne horizontale pointillée correspond à la valeur limite de détection pour un volume infini. 92

Figure 2.29 : Représentation des taux de détection par dispositif en fonction de $\Sigma W_i/Pe$ (avec $\Sigma W_i = (w_{WE1} + w_{WE2} + w_{WE3})/h$). Les lignes verticales pointillées délimitent les zones correspondant aux régimes de transport de masse : Levich, intermédiaire et couche mince. Les données correspondent à celles de la Figure 2.27. 93

Figure 2.30 : Tendance de taux de mélange selon les séries de dilution correspondant aux 3 catégories de volume de goutte (24, 35 et 52 nL). Degrés d'hétérogénéité en fonction du taux de dilution $V_2/(V_1+V_2)$. Configuration 4E de la cellule électrochimique. Les courbes

correspondent à la représentation des taux de mélanges théoriques en fonction de la dilution : 0% en noir, 45% en rouge et 70% en vert. 94

Figure 2.31 : Représentation des taux de mélange associés aux données de la Figure 2.25. Les symboles correspondent aux degrés d'hétérogénéité expérimentaux reportés en fonction du taux de dilution $V_2/(V_1+V_2)$. Les courbes correspondent à la représentation des taux de mélanges théoriques à 30 et 60%. 94

Figure 2.32 : Titration par excès avec des gouttes hétérogènes de volume $V=(29 \pm 2)$ nL et de vitesse $v=(358 \pm 14)$ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. L'équation de la régression linéaire est : $y=0.035x + 0.018$ ($R^2=0.98$). $c_1=0.5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, $c_2=0.98 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. 96

Figure 2.33 : Titration par défaut de concentration avec des gouttes inhomogènes de volume $V=(31\pm 5)$ nL et de vitesse $v=(346\pm 51)$ $\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. L'équation de la régression linéaire ou droite de tendance est : $y=0,031x+0,031$ ($R^2=0,91$). $c_1=0.5 \cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹, $c_2=1\cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. 97

Figure 3.1 : Présentation graphique du concept de détection de gouttes dans une chambre de coalescence avec une cellule électrochimique à 3 électrodes (WE : électrode de travail, CE : contre électrode, RE : pseudo électrode de référence). Un volume de solution aqueuse en bleu recouvre la totalité des électrodes, la couleur grise correspondant à la phase continue. Illustration d'un signal par chronoampérométrie mesuré lors du passage d'une succession de gouttes. 105

Figure 3.2 : A. Schéma du canal microfluidique contenant une entrée pour la phase continue, deux entrées pour les phases aqueuses 1 et 2, une chambre de coalescence en aval du canal principal et un canal d'évacuation des gouttes vers une sortie unique. Le canal principal est large de 200 μm , le canal de sortie a une largeur de 100 μm . Les rétrécissements correspondant aux zones de génération de gouttes sont de 50 μm . B. Photos illustrant la génération d'une goutte par la première jonction T et d'un plug par la seconde jonction T. 106

Figure 3.3 : A. Schéma présentant la géométrie (vue de dessus) de la chambre de coalescence. Sa hauteur est de 28 μm . B. Schémas illustrant son fonctionnement. La phase continue est représentée en gris et la solution aqueuse dispersée est représentée en bleu. .. 107

Figure 3.4 : A. Disposition des électrodes Ti/Pt intégrées dans la chambre de coalescence. Les électrodes sont larges de 80 μm et espacées de 40 μm . Leur longueur est identique à celle de la chambre (ici $L_{\text{ch}} = 3000 \mu\text{m}$). L'électrode de référence est longue de 100 μm . La hauteur du dispositif est de 28 μm . B. Photo illustrant la surface de phase aqueuse recouvrant les électrodes intégrées dans la chambre de coalescence. 108

Figure 3.5: 3ème cycle d'un voltamogramme cyclique réalisé dans la chambre de coalescence avec la cellule électrochimique à trois électrodes de platine (WE, CE et RE) de configuration 3Ec, analogue à celle de la Figure 3.4B avec $L_{\text{ch}} = 500\mu\text{m}$. Vitesse de balayage = 0,7 V.s⁻¹, concentration en $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-} = 5\cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹. La partie en orange clair représente les murs du solvant, ici les murs de l'eau. 109

Figure 3.6 : A. Schéma de principe de l'arrivée d'une goutte de volume $V=12\text{nL}$ de même concentration que le contenu de la chambre de volume $V_{\text{ch}}=20$ nL B. Chronoampérogrammes sans perturbation (rouge) et lors de l'arrivée d'une goutte (noir). La solution aqueuse est composée de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $2\cdot 10^{-3}$ mol.L⁻¹ dans KCl 0.5 mol.L⁻¹. 110

Figure 3.7 : A. Schéma de principe et chronoampérogramme lors de l'arrivée d'une goutte de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de volume $V=8\text{nL}$ dans la chambre de coalescence de volume $V_{ch}=20\text{nL}$ contenant une solution de $KCl 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$ ($c_{ch}^{\circ}=0$) B. Schéma de principe et chronoampérogramme lors de l'arrivée d'une goutte de $KCl 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$ de volume $V=17\text{nL}$ dans la chambre de coalescence de volume $V_{ch}=20\text{nL}$ contenant une solution de $Fe(CN)_6^{4-}$ $c_{ch}^{\circ}=2 \text{ mM}$ 112

Figure 3.8 : A. Chronoampérogramme lors de l'arrivée de train de gouttes de $Fe(CN)_6^{4-}$ $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans la chambre de coalescence contenant initialement $KCl 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$ ($c_{ch}^{\circ}=0$). Le volume des gouttes est $V=2.1\pm 0.5\text{nL}$ et la fréquence est $f=0.050\pm 0.008\text{Hz}$ B. Chronoampérogramme de l'arrivée d'un train de gouttes de $KCl 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$ dans la chambre de coalescence contenant initialement $Fe(CN)_6^{4-}$ à $c_{ch}^{\circ}=2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$. Le volume des gouttes est $V=2.3\pm 0.3\text{nL}$ et la fréquence $f=0.074\pm 0.029\text{Hz}$. En (A) et (B) le volume de la chambre est $V_{ch} = 20\text{nL}$ 113

Figure 3.9 : Modèle simplifié 2D de la zone de détection. A. Principe de fonctionnement d'une électrode seule en milieu confiné. B. Schéma de principe d'un système de deux électrodes fonctionnant en mode générateur-collecteur en milieu confiné. En A et B, le médiateur redox A du couple redox réversible A/B est initialement présent. 114

Figure 3.10 : Mise en place du fonctionnement générateur-collecteur au cours du temps en milieu confiné (modèle 2D) A. Profils de concentration du réducteur obtenus par simulation numérique. B. Suivis des concentrations moyennes calculées dans la boîte pour les deux formes du médiateur dans les mêmes conditions géométriques qu'en A, c° étant la concentration initiale du médiateur. En A et B, $w=80\mu\text{m}$, $g=40\mu\text{m}$, $h=28\mu\text{m}$, $D=D_A = D_B$. 116

Figure 3.11 : Graphique en trois dimensions représentant le courant stationnaire Ψ_s en fonction des paramètres géométriques des électrodes $G = g/h$ et $W = w/h$. Les valeurs reportées en rouge délimitent une frontière en W au-delà de laquelle le courant stationnaire devient indépendant de W à G fixé. La valeur reportée en bleu correspond à nos conditions expérimentales (Tableau 3.2). 117

Figure 3.12 : A. Diagramme (W, G) décrivant les zones I (Ia et Ib) et II délimitées par la frontière défini par le critère $\Psi_s = 0.99 \Psi_s^{\text{lim}}$. Des isolignes de temps correspondant à des valeurs de $\tau(99\%)$ pour $c_{av}/c^{\circ} = 0.495$ sont représentées en tirets gris et permettent de distinguer les zones Ia et Ib. B. Représentations schématiques des types de géométries de dispositifs correspondant aux différentes zones du diagramme. Pour A et B, le point bleu correspond aux conditions expérimentales. 118

Figure 3.13 : Trois configurations de cellules considérées pour mettre en évidence le couplage diffusionnel entre WE et CE. A : configuration 3Ec : WE proche de CE, $g_{WE-CE}=40 \mu\text{m}$. B : configuration 4Ec : cellule à 4 électrodes dont WEg et WEc sont des électrodes travaillant en mode générateur-collecteur, $g_{WEg-WEc}=40 \mu\text{m}$. C. configuration 3E: WE est éloignée de CE. La chambre de coalescence est de $3000\mu\text{m}$ de long, $600 \mu\text{m}$ de large et $28\mu\text{m}$ de haut. $w_{WEg}=w_{WEc}=w_{WE}=w_{CE}=w_{RE}=80\mu\text{m}$ 119

Figure 3.14 : A. Voltamogrammes cycliques expérimentaux obtenus avec les configurations d'électrodes 3Ec, 4E et 3E en présence de $Fe(CN)_6^{4-}$ à $2.10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ dans $KCl 0.5 \text{ mol.L}^{-1}$. En configuration 4E, le potentiel appliqué à WEc est de -0.2V vs Pt . B. Simulations numériques de voltamogrammes pour les configurations 4Ec et 3E ($k_0 = 0.04\text{cm/s}$, $\alpha = 0.5$, $E^0 = 0.1\text{V}$,

$D_{FeII} = 8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $D_{FeII}/D_{FeIII} = 0.87$ [177], [178]. Boîte 2D de largeur $520 \mu\text{m}$ hauteur $28 \mu\text{m}$. En A et B, vitesse de balayage de $20 \text{ mV} \cdot \text{s}^{-1}$, $L_{ch} = 3000 \mu\text{m}$, $c^\circ = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 120

Figure 3.15 : A. Chronoampérogrammes expérimentaux obtenus avec les configurations d'électrodes 3EC, 4Ec et 3E en présence de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ à $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ dans $\text{KCl } 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$. Un potentiel de 0.4 V vs Pt est imposé à l'électrode génératrice (4Ec) et à l'électrode de travail (3E et 3Ec). Un potentiel de -0.2 V vs Pt est imposé à l'électrode collectrice B. Simulations numériques de chronoampérogrammes ($D_{FeII} = 8 \cdot 10^{-6} \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}$ et $D_{FeII}/D_{FeIII} = 0.87$, boîte 2D de largeur $520 \mu\text{m}$ hauteur $28 \mu\text{m}$) En A et B, $L_{ch} = 3000 \mu\text{m}$, $c^\circ = 2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 121

Figure 3.16 : Calibration réalisée à partir du courant de chronoampérométrie à 60s en fonction de la concentration de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ pour les configurations 3E et 3Ec. La calibration de configuration 3E (en noir) suit une pente de $0.055 \mu\text{A}/\text{mM}$ ($R^2=0.993$), et la calibration de la configuration 3Ec (en rouge) une pente de $0.111 \mu\text{A}/\text{mM}$ ($R^2=0.999$). Potentiel 0.4 V vs Pt, $L_{ch}=3000 \mu\text{m}$ 123

Figure 3.17 : Schémas des quatre chambres de coalescence de différentes longueurs L_{ch} : A. $3000 \mu\text{m}$ B. $1500 \mu\text{m}$ C. $500 \mu\text{m}$ D. $200 \mu\text{m}$ 124

Figure 3.18 : Analyse des courants obtenus lors de l'arrivée de trains de gouttes de $\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ $c^\circ=2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ préparé dans $\text{KCl } 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ dans la chambre de coalescence $L_{ch}=3000 \mu\text{m}$ contenant initialement une solution de $\text{KCl } 0.5 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ($c_{ch}^\circ=0$). A. Chronoampérogramme obtenu lors de l'arrivée de trains de gouttes de volume moyen $V=2.1 \pm 0.5 \text{ nL}$ à la fréquence moyenne $f=0.050 \pm 0.008 \text{ Hz}$ B. Agrandissement d'une zone du chronoampérogramme sur lequel le temps de stabilisation est représenté en bleu, et le plateau de courant en rouge. .. 126

Figure 3.19 : Représentation des courants normés $(i_i - i_0)/L_{ch} c^\circ$ lors de l'arrivée de trains de gouttes en fonction de $\Sigma V_i / V_{ch}$ pour $L_{ch}=3000 \mu\text{m}$ ($f=0.064 \pm 0.015 \text{ Hz}$, $V=1.900 \pm 0.319 \text{ nL}$), $L_{ch}=1500 \mu\text{m}$ ($f=0.064 \pm 0.0119 \text{ Hz}$, $V=1.392 \pm 0.202 \text{ nL}$), $L_{ch}=500 \mu\text{m}$ ($f=0.027 \pm 0.008 \text{ Hz}$, $V=0.493 \pm 0.042 \text{ nL}$), $L_{ch}=200 \mu\text{m}$ ($f=0.025 \pm 0.011 \text{ Hz}$, $V=0.284 \pm 0.015 \text{ nL}$). 127

Figure 3.20 : Représentation des courants normés par le courant maximal lors de l'arrivée de trains de gouttes en fonction de $\Sigma V_i / V_{ch}$. Les séries de données sont les mêmes que pour la Figure 3.19. 128

Figure 3.21 : Schéma de principe du modèle sans homogénéisation (SH). La solution en rouge correspond à l'espèce électroactive, tandis que la solution en blanc contient exclusivement de l'électrolyte support. La phase continue est représentée en gris. 129

Figure 3.22 : Schéma de principe du fonctionnement avec homogénéisation (AH). La solution en rouge correspond à l'espèce électroactive, tandis que la solution en blanc contient exclusivement de l'électrolyte support. La phase continue est représentée en gris. 130

Figure 3.23 : Représentation des variations de concentration c_{ch_i} / c° en fonction de $\Sigma V_i / V_{ch}$ pour les deux modèles : en bleu modèle avec homogénéisation (AH), en noir modèle sans homogénéisation (SH). La verticale en tirets rouges indique le cas $\Sigma V_i = V_{ch}$ 131

Figure 3.24 : Comparaison des séries expérimentales (points expérimentaux en vert) avec les modèles AH et SH pour différentes longueur de chambre de coalescence A. $L_{ch} = 3000 \mu\text{m}$ B. $L_{ch} = 1500 \mu\text{m}$ C. $L_{ch} = 500 \mu\text{m}$ D. $L_{ch} = 200 \mu\text{m}$ 132

<i>Figure 3.25 : Schémas illustrant le passage de l'huile à l'entrée de la chambre de coalescence A. Vu de dessus B. Vu de côté</i>	133
<i>Figure 4.1 : Structure moléculaire du couple de réactifs ruthénium (II) tris(bipyridine) (A) et Tripropylamine (B).....</i>	139
<i>Figure 4.2 : Mécanismes d'électrochimiluminescence pour le couple $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$ A. Seule la TPA s'oxyde à la surface de l'électrode B. Les deux réactifs s'oxydent à la surface de l'électrode [192].</i>	140
<i>Figure 4.3 : Mesures d'intensité de luminescence effectuées sur électrodes d'or A. Influence du pH sur l'intensité ECL pour une solution contenant de la TPA à 0.1 mol.L^{-1} et du $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $10^{-9} \text{ mol.L}^{-1}$. B. Domaine de linéarité de l'intensité ECL pour une solution de TPA à 0.1 mol.L^{-1} et de concentration en $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ variable [190].</i>	141
<i>Figure 4.4 : Voltamogramme cyclique à $0.1V.s^{-1}$ (traits pleins) et suivi de luminescence (en tirets) présentés en conventions états-uniennes. Les données en pointillés correspondent aux voltamogrammes en absence de TPA et de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$. La solution est préparée à pH=7.5 dans PBS 0.15 mol.L^{-1} avec 0.1 mol.L^{-1} de TPA et $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $1 \mu\text{M}$. Le matériau d'électrode est de l'or (A) et du platine (B) [195].....</i>	142
<i>Figure 4.5 : Voltamogramme cyclique à $0.1V.s^{-1}$ et suivi de l'intensité ECL pour une solution de TPA à 0.01 mol.L^{-1} et de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $10^{-6} \text{ mol.L}^{-1}$ préparée dans PBS 0.15 mol.L^{-1} à pH=7.5. Ces résultats sont obtenus sur électrode de carbone vitreux. Les pointillés correspondent à une étape de prétraitement, et les traits pleins au signal d'intérêt [192]... </i>	143
<i>Figure 4.6 : Voltamogramme cyclique à $0.1V/s$ (à gauche) et suivi d'ECL (à droite) sur deux matériaux d'électrode de travail: ITO en pointillés et CNT en trait plein. La solution est préparée à pH=7.5 dans PBS 0.1 mol.L^{-1} avec $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à 0.01 mol.L^{-1} et TPA à 0.08 mol.L^{-1}. Les potentiels indiqués sont pris par rapport à une électrode de référence Ag/AgCl [186].</i>	144
<i>Figure 4.7 : Configuration expérimentale d'une étude d'électrochimiluminescence en microfluidique continue A. Dispositif microfluidique de type verre/PDMS intégration d'électrodes B. Dispositif relié à son instrumentation avec détection de luminescence par photodétecteur [180].</i>	146
<i>Figure 4.8 : Influence du débit sur la quantité de luminescence détectée. La solution a été préparée à pH=7.4 dans PBS 0.15 mol.L^{-1} avec $0.1 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de TPA et $4 \cdot 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$. Les points expérimentaux proviennent de mesures en chronoampérométrie avec un potentiel appliqué de $1.2V$ vs Ag/AgCl [180].</i>	146
<i>Figure 4.9 : Schéma du montage pour la caractérisation électrochimique du couple $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$. L'électrode de travail (WE) est un disque de platine de $25\mu\text{m}$ de diamètre, la contre électrode (CE) est un fil de platine. L'électrode de référence (RE) est selon le cas un fil d'argent recouvert d'un film d'AgCl ou un fil de platine. La solution est composée de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à $10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$ et de TPA à 0.1 mol.L^{-1} dans PBS à 0.1 mol.L^{-1}</i>	149
<i>Figure 4.10 : Voltamogrammes linéaires à $0.1V.s^{-1}$ sur une microélectrode disque de platine de 1 mm de diamètre pour différentes solutions et leurs mélanges. $[Ru(bpy)_3]^{2+} = 10^{-3} \text{ mol.L}^{-1}$, $[TPA] = 0.1 \text{ mol.L}^{-1}$, $[PBS] = 0.1 \text{ mol.L}^{-1}$. L'électrode de référence est une électrode Ag/AgCl</i>	149

Figure 4.11 : Caractérisation physique de différents dépôts de platine sur lame de verre... 150

Figure 4.12 : Schéma de montage élaboré pour la réalisation des mesures d'ECL sur une lame de verre recouverte d'un dépôt de platine. Le puits de PDMS de diamètre 1cm délimite la surface de l'électrode de travail (WE). L'électrode de référence (RE) est un fil Ag/AgCl et la contre-électrode (CE) est un fil de platine. Le puits de PDMS contient 400µL de solution. La solution qui est un mélange de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ 10^{-3} mol.L⁻¹, TPA 0.1 mol.L⁻¹, PBS 0.1 mol.L⁻¹ est renouvelée après chaque mesure..... 151

Figure 4.13 : Voltamogrammes linéaires à $0.05V.s^{-1}$ pour différentes épaisseurs de platine (de 7 à 42nm) avec une électrode de référence Ag/AgCl. La solution est un mélange $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ 10^{-3} mol.L⁻¹ et TPA 0.1 mol.L⁻¹ préparé dans PBS 0.1 mol.L⁻¹. A. Courant en fonction du potentiel B. Intensité ECL synchronisée en fonction du potentiel. Le temps d'exposition est de 100ms. 152

Figure 4.14 : Variation en pourcentage de l'intensité ECL relative i_{ECL}^{rel} du pic de luminescence en fonction de la transmittance relative T^{el} pour les différentes épaisseurs d'électrodes de platine, 100% d'intensité ECL ou de transmittance correspondant à un dépôt de platine de 7nm. La droite de tendance (en rouge) admet une pente de 0.97 ($R^2=0.99$).... 152

Figure 4.15 : Chronoampérogrammes réalisés pour différentes épaisseurs de platine à un potentiel de 1.2V vs Ag/AgCl. La solution est un mélange de $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à 10^{-3} mol.L⁻¹ et de TPA à 0.1 mol.L⁻¹ préparé dans PBS à 0.1 mol.L⁻¹. A. Suivi du courant en fonction du temps B. Suivi synchronisé de la luminescence. Le temps d'exposition est de 100ms. 153

Figure 4.16 : Variation de l'intensité ECL relative relevée à 60s sur les chronoampérogrammes de la Figure 4.15B en fonction de la transmittance relative pour les différentes épaisseurs d'électrodes de platine. La droite de tendance (en rouge) admet une pente de 0.97 ($R^2=0.98$). 154

Figure 4.17 : Schémas avec vue de dessus des dispositifs microfluidiques employés pour l'étude en microfluidique continue (A) et pour l'étude en microfluidique de gouttes (B). Les canaux sont tous d'une largeur de 200 µm et d'une hauteur de 40 µm. 154

Figure 4.18 : Cellules électrochimiques employées A. Configuration 3E pour l'étude en microfluidique continue B. Configuration 5E pour l'étude en microfluidique de gouttes. Dans les deux configurations, les électrodes RE, WE1 et WE2 sont de largeur 50µm et les gaps WE-RE, WE3-RE et RE-CE de 100 µm. 155

Figure 4.19 : Voltamogramme à $0.1V.s^{-1}$ avec une solution contenant $[Ru(bpy)_3]^{2+}$ à 10^{-3} mol.L⁻¹ et TPA à 100 mM dans PBS 100 0.1 mol.L⁻¹ préparée à pH=7,5 . Les mesures du courant et de la luminescence sont synchronisées (temps d'exposition à 50 ms). A. Sans écoulement B. En présence un débit de 1.29 µL/min. 156

Figure 4.20 : Images ECL colorisées établies au pic d'intensité lors des voltamétries linéaires. A. Conditions statiques. B. Débit de 1.29µL/min. Les lignes bleues délimitent les parois du canal microfluidique. Les pointillés rouges délimitent les bords amont et aval de l'électrode de travail de 700 µm. Le potentiel appliqué est de 0.75 V vs Pt..... 157

Figure 4.21 : Profils d'intensité ECL établis selon l'axe du flux à un débit nul et à un débit de 1.29 µL.min⁻¹. Données de la Figure 4.20. 157

Figure 4.22 : Représentation de l'intensité ECL et du courant correspondant au potentiel de pic d'ECL. A. En fonction du débit. B. En fonction du débit à la puissance 1/3. La ligne rouge correspond à la droite de tendance de pente de $2811 \text{ u.a.}/(\mu\text{L}/\text{min})^{1/3}$ ($R^2=0.94$) et la ligne noire à la droite de tendance de pente $1.40 \mu\text{A}/(\mu\text{L}/\text{min})^{1/3}$ ($R^2=0.97$). Les droites de tendance ont été évaluées uniquement pour les débits correspondant à des régimes convectifs. 158

Figure 4.23 : Intensité ECL en fonction du courant correspondant au potentiel de pic d'ECL. Les données sont celles de la Figure 4.22. La droite rouge est la droite de tendance de pente $3498 \text{ u.a.} / \mu\text{A}$ ($R^2=0.99$). 159

Figure 4.24 : Signal ECL mesuré pendant une voltamétrie linéaire à $0.1\text{V}\cdot\text{s}^{-1}$ à partir d'une goutte stagnante de solution de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$, de TPA $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ et de PBS $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 160

Figure 4.25 : Exemple d'une mesure ECL au cours d'une chronoampérométrie lors du passage d'une goutte de 48 nL passant à une vitesse de $377\mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ sur les électrodes W1, W2 et W3. La goutte contient une solution de $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+} 10^{-3} \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ avec TPA à $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$ dans PBS $0.1 \text{ mol}\cdot\text{L}^{-1}$. A. Suivi des courants de (WE1+WE2) et de WE3 avec un potentiel appliqué de 0.75 V vs Pt . B. Suivi de luminescence synchronisée sur WE3. Mesure ECL effectuée avec un temps d'exposition de 50 ms . Le potentiel appliqué est de 0.75V vs Pt 160

Figure 4.26 : Intensité ECL en fonction du courant pour chaque point de mesure lors d'une mesure de chronoampérométrie lors du passage d'une goutte. Le signal correspond à celui représenté en Figure 4.25. 161

Figure 4.27 : Variations du courant et de l'intensité ECL en fonction de la concentration en $[\text{Ru}(\text{bpy})_3]^{2+}$. La vitesse moyenne des gouttes est de $401 \pm 62 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ et le volume moyen est de $52 \pm 8 \text{ nL}$. Les droites correspondent aux droites de tendance avec des pentes respectivement de $2.01 \mu\text{A}/\text{mM}$ ($R^2=0.99$) (A) et de $10254 \text{ u.a.}/\text{mM}$ ($R^2=0.97$) (B). 162

Figure 4.28 : Intensité ECL moyenne en fonction du courant moyen. Données de la Figure 4.27. La pente est de $5578 \text{ u.a.} / \mu\text{A}$ ($R^2=0.99$). 162

Figure 4.29 : Mise en évidence de la mise en service des électrodes : A. Images ECL à l'intensité maximale lors de cinq voltamétries linéaires successives avec un flux de $0.33\mu\text{L}/\text{min}$ en microfluidique continue. B. Images ECL à l'intensité maximale lors de cinq voltamétries linéaires successives sur une goutte stagnante en microfluidique diphasique. C. Intensité ECL moyenne pour chacune des mesures en microfluidique continue et diphasique. 164

Table des tableaux

<i>Tableau 1.1 : Applications chimiques de la microfluidique de gouttes</i>	28
<i>Tableau 1.2 : Applications biologiques de la microfluidique de gouttes.....</i>	30
<i>Tableau 1.3 : Matériaux d'électrode et applications pour les détections électrochimiques en microfluidique de gouttes suivant quatre stratégies possibles.</i>	51
<i>Tableau 2.1 : Conditions expérimentales pour déterminer les régimes entre les électrodes de travail pour les différentes configurations à $Pe=25$.</i>	76
<i>Tableau 2.2 : Comparaison des taux de détection Γ expérimentaux et théoriques dans le cas de gouttes homogènes pour WE1, WE2 et WE1+WE2.</i>	81
<i>Tableau 2.3 : Tableau récapitulatif des durées d'homogénéisation estimées pour une goutte suivant ses trois dimensions (hauteur, largeur et longueur) et distances correspondantes parcourues dans le microcanal par convection.. Vitesse de la goutte $v=500 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$. Coefficient de diffusion de l'espèce électroactive $D = 8 \cdot 10^{-6} \text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$. Durée de diffusion estimée égale à $(\text{dimension caractéristique})^2 / D$.</i>	82
<i>Tableau 2.4 : Comparaison des charges obtenues par intégration des courants expérimentaux lors de la détection d'une goutte de contenu inhomogène et par intégration des courants obtenus pour la simulation numérique correspondant à une concentration homogène moyenne de $c^\circ V_1/(V_1+V_2)$. Les données sont celles de la Figure 2.19 pour la configuration 4E et de la Figure 2.20 pour la configuration 5E. Les charges sont exprimées en μC.</i>	85
<i>Tableau 2.5 : Importance du volume non détecté par catégorie de volume de gouttes.....</i>	89
<i>Tableau 3.1 : Récapitulatif des caractéristiques de trois dispositifs d'intérêt pour la réalisation de coalescence passive.....</i>	103
<i>Tableau 3.2 : Dimensions expérimentales w : largeur des électrodes, g : gap séparant les électrodes et h hauteur du dispositif et rapports adimensionnés correspondants.</i>	108
<i>Tableau 3.3 : Valeurs des courants i_b, i_g et i_c relevées sur les chronoampérogrammes expérimentaux et simulés à $t=60\text{s}$ pour les différentes configurations. Détermination des facteurs de collecte et d'amplification correspondants.</i>	122
<i>Tableau 3.4 : Sensibilités provenant de calibrations effectuées suivant une utilisation de type monophasique sans flux ou de type diphasique avec flux pour les 4 longueurs de chambre considérées. Les valeurs théoriques ont été calculées pour un fonctionnement de type monophasique sans flux (modèle 2D de la Figure 3.9B) avec $w=80\mu\text{m}$, $g=40\mu\text{m}$, $h=28\mu\text{m}$, $D_{\text{FeII}} = 8 \cdot 10^{-6} \text{cm}^2\cdot\text{s}^{-1}$ et $D_{\text{FeII}}/D_{\text{FeIII}} = 0.87$. Les valeurs expérimentales résultent de mesures effectuées pour des concentrations comprises entre 0 et $10 \cdot 10^{-3} \text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$.</i>	125
<i>Tableau 3.5 : Calculs de sensibilités moyennes à partir de courants $i_{\text{max}}/L_{\text{ch}}c^\circ$ évalués sur plusieurs séries de mesures réalisées en train de gouttes et comparaison avec les données du Tableau 3.4 (sans train de gouttes).</i>	128

Tableau 4.1 : Applications de l'électrochimiluminescence en milieu confiné utilisant le couple de réactifs $[Ru(bpy)_3]^{2+}/TPA$ 145

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Bibliographie

1. Whitesides, G.M., *The origins and the future of microfluidics*. Nature, 442, **2006**. p. 368-73. (<https://doi.org/10.1038/nature05058>).
2. Poiseuille, *Recherches expérimentales sur le mouvement des liquides dans les tubes de très petits diamètres*. Comptes rendus des séances de l'Académie des Sciences, **1840**.
3. Tabeling, P., *Introduction à la microfluidique*, ed. Belin. **2003**.
4. Manz, A., Y. Miyahara, J. Miura, Y. Watanabe, H. Miyagi, and K. Sato, *Design of an open-tubular column liquid chromatograph using silicon chip technology*. Sens. Actuators, B, 1, **1990**. p. 249-255. ([https://doi.org/10.1016/0925-4005\(90\)80210-q](https://doi.org/10.1016/0925-4005(90)80210-q)).
5. Harrison, D.J., K. Fluri, K. Seiler, Z.H. Fan, C.S. Effenhauser, and A. Manz, *Micromachining a miniaturized capillary electrophoresis-based chemical-analysis system on a chip*. Science, 261, **1993**. p. 895-897. (<https://doi.org/10.1126/science.261.5123.895>).
6. Harrison, D.J., A. Manz, Z.H. Fan, H. Ludi, and H.M. Widmer, *Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip*. Anal. Chem., 64, **1992**. p. 1926-1932. (<https://doi.org/10.1021/ac00041a030>).
7. Reyes, D.R., D. Iossifidis, P.A. Auroux, and A. Manz, *Micro total analysis systems. 1. Introduction, theory, and technology*. Anal. Chem., 74, **2002**. p. 2623-2636. (<https://doi.org/10.1021/ac0202435>).
8. Auroux, P.-A., D. Iossifidis, D.R. Reyes, and A. Manz, *Micro Total Analysis Systems. 2. Analytical Standard Operations and Applications*. Anal. Chem., 74, **2002**. p. 2637-2652.
9. Nisisako, T., T. Torii, and T. Higuchi, *Droplet formation in a microchannel network*. Lab Chip, 2, **2002**. p. 24-26. (<https://doi.org/10.1039/b108740c>).
10. Nisisako, T., T. Torii, T. Higuchi, and I. Ieee, *Formation of droplets using branch channels in a microfluidic circuit*. Sice 2002: Proceedings of the 41st Sice Annual Conference, Vols 1-5. **2002**. 957-959.
11. Mark, D., S. Haeberle, G. Roth, F. von Stetten, and R. Zengerle, *Microfluidic lab-on-a-chip platforms: requirements, characteristics and applications*. Chem. Soc. Rev., 39, **2010**. p. 1153-82. (<https://doi.org/10.1039/b820557b>).
12. Miura, T. and R. Yokokawa, *Tissue culture on a chip: Developmental biology applications of self-organized capillary networks in microfluidic devices*. Develop. Growth Differ., 58, **2016**. p. 505-15. (<https://doi.org/10.1111/dgd.12292>).
13. Sontheimer-Phelps, A., B.A. Hassell, and D.E. Ingber, *Modelling cancer in microfluidic human organs-on-chips*. Nature Reviews Cancer, 19, **2019**. p. 65-81. (<https://doi.org/10.1038/s41568-018-0104-6>).
14. Xia, Y.Y., J. Si, and Z.Y. Li, *Fabrication techniques for microfluidic paper-based analytical devices and their applications for biological testing: A review*. Biosens. Bioelectron., 77, **2016**. p. 774-789. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2015.10.032>).

15. Wang, S., L. Ge, X. Song, J. Yu, S. Ge, J. Huang, and F. Zeng, *Paper-based chemiluminescence ELISA: Lab-on-paper based on chitosan modified paper device and wax-screen-printing*. *Biosens. Bioelectron.*, 31, **2012**. p. 212-218. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2011.10.019>).
16. Oliveira, R., C. Sella, C. Souprayen, E. Ait-Yahiatene, C. Slim, S. Griveau, L. Thouin, and F. Bedioui, *Development of a flow microsensor for selective detection of nitric oxide in the presence of hydrogen peroxide*. *Electrochim. Acta*, 286, **2018**. p. 365-373. (<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2018.07.158>).
17. Horny, M.C., V. Dupuis, J.M. Siaugue, and J. Gamby, *Release and Detection of microRNA by Combining Magnetic Hyperthermia and Electrochemistry Modules on a Microfluidic Chip*. *Sensors*, 21, **2020**. (<https://doi.org/10.3390/s21010185>).
18. Carvalho, R.M., V.S. Ferreira, and B.G. Lucca, *A novel all-3D-printed thread-based microfluidic device with an embedded electrochemical detector: first application in environmental analysis of nitrite*. *Anal. Methods*, 13, **2021**. p. 1349-1357. (<https://doi.org/10.1039/d1ay00070e>).
19. Sohrabi, H., A. Khataee, S. Ghasemzadeh, M.R. Majidi, and Y. Orooji, *Layer double hydroxides (LDHs)- based electrochemical and optical sensing assessments for quantification and identification of heavy metals in water and environment samples: A review of status and prospects*. *Trends Environ. Anal. Chem.*, 31, **2021**. (<https://doi.org/10.1016/j.teac.2021.e00139>).
20. Gouyon, J., F. d'Orlyé, C. Simon, S. Griveau, C. Sella, L. Thouin, F. Bedioui, and A. Varenne, *Reversible microfluidics device for precious metal electrodeposition and depletion yield studies*. *Electrochim. Acta*, 352, **2020**. p. 136474. (<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2020.136474>).
21. Costa, B.M.D.C., S. Griveau, F. d'Orlye, F. Bedioui, J.A.F. da Silva, and A. Varenne, *Microchip electrophoresis and electrochemical detection: A review on a growing synergistic implementation*. *Electrochim. Acta*, 391, **2021**. p. 138928. (<https://doi.org/10.1016/j.electacta.2021.138928>).
22. Parmar, J., S. Jang, L. Soler, D.P. Kim, and S. Sanchez, *Nano-photocatalysts in microfluidics, energy conversion and environmental applications*. *Lab Chip*, 15, **2015**. p. 2352-2356. (<https://doi.org/10.1039/c5lc90047f>).
23. Kudtarkar, K.A., T.W. Smith, P. Iglesias, M.J. Schertzer, and Asme. *Microfluidic synthesis of polymer ionic liquid gel beads for energy harvesting applications*. in *ASME International Mechanical Engineering Congress and Exposition*. **2016**. Phoenix, AZ.
24. Choban, E., *Microfluidic fuel cell based on laminar flow*. *J. Power Sources*, 128, **2004**. p. 54-60. (<https://doi.org/10.1016/j.jpowsour.2003.11.052>).
25. Bremond, N. and J. Bibette, *Exploring emulsion science with microfluidics*. *Soft Matter*, 8, **2012**. p. 10549-10559. (<https://doi.org/10.1039/C2sm25923k>).
26. Utada, A.S., E. Lorenceau, D.R. Link, P.D. Kaplan, H.A. Stone, and D.A. Weitz, *Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device*. *Science*, 308, **2005**. p. 537-41. (<https://doi.org/10.1126/science.1109164>).
27. Schroen, K., C. Berton-Carabin, D. Renard, M. Marquis, A. Boire, R. Cochereau, C. Amine, and S. Marze, *Droplet Microfluidics for Food and Nutrition Applications*. *Micromachines*, 12, **2021**. (<https://doi.org/10.3390/mi12080863>).

28. Beebe, D.J., G.A. Mensing, and G.M. Walker, *Physics and applications of microfluidics in biology*. Annu. Rev. Biomed. Eng., 4, **2002**. p. 261-286. (<https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.4.112601.125916>).
29. Abdollahi, A., R.N. Sharma, and A. Vatani, *Fluid flow and heat transfer of liquid-liquid two phase flow in microchannels: A review*. Int. Commun. Heat Mass Transf., 84, **2017**. p. 66-74. (<https://doi.org/10.1016/j.icheatmasstransfer.2017.03.010>).
30. Squires, T.M. and S.R. Quake, *Microfluidics: Fluid physics at the nanoliter scale*. Rev. Mod. Phys., 77, **2005**. p. 977-1026. (<https://doi.org/10.1103/RevModPhys.77.977>).
31. Amatore, C., N. Da Mota, C. Sella, and L. Thouin, *Theory and experiments of transport at channel microband electrodes under laminar flows. 1. Steady-state regimes at a single electrode*. Anal. Chem., 79, **2007**. p. 8502-8510. (<https://doi.org/10.1021/ac070971y>).
32. De Menech, M., P. Garstecki, F. Jousse, and H.A. Stone, *Transition from squeezing to dripping in a microfluidic T-shaped junction*. J. Fluid Mech., 595, **2008**. p. 141-161. (<https://doi.org/10.1017/s002211200700910x>).
33. Tabeling, P., *A brief introduction to slippage, droplets and mixing in microfluidic systems*. Lab Chip, 9, **2009**. p. 2428-2436. (<https://doi.org/10.1039/B904937c>).
34. Ismagilov, R.F., A.D. Stroock, P.J.A. Kenis, G. Whitesides, and H.A. Stone, *Experimental and theoretical scaling laws for transverse diffusive broadening in two-phase laminar flows in microchannels*. Appl. Phys. Lett., 76, **2000**. p. 2376-2378.
35. Dertinger, S.K.W., D.T. Chiu, N.L. Jeon, and G.M. Whitesides, *Generation of Gradients Having Complex Shapes Using Microfluidic Networks*. Anal. Chem., 73, **2001**. p. 1240-1246. (<https://doi.org/10.1021/ac001132d>).
36. Zhou, Y., Y. Wang, T. Mukherjee, and Q. Lin, *Generation of complex concentration profiles by partial diffusive mixing in multi-stream laminar flow*. Lab Chip, 9, **2009**. p. 1439-48. (<https://doi.org/10.1039/b818485b>).
37. Milozic, N., M. Lubej, U. Novak, P. Znidarsic-Plazl, and I. Plazr, *Evaluation of Diffusion Coefficient Determination using a Microfluidic Device*. Chem. Biochem. Eng. Q., 28, **2014**. p. 215-223. (<https://doi.org/10.15255/cabeq.2014.1938>).
38. Hatch, A., A.E. Kamholz, K.R. Hawkins, M.S. Munson, E.A. Schilling, B.H. Weigl, and P. Yager, *A rapid diffusion immunoassay in a T-sensor*. Nature Biotechnology, 19, **2001**. p. 461-465. (<https://doi.org/10.1038/88135>).
39. Brody, J.P. and P. Yager, *Diffusion-based extraction in a microfabricated device*. Sens. Actuators, A, 58, **1997**. p. 13-18. ([https://doi.org/10.1016/s0924-4247\(97\)80219-1](https://doi.org/10.1016/s0924-4247(97)80219-1)).
40. Hong, J.W., V. Studer, G. Hang, W.F. Anderson, and S.R. Quake, *A nanoliter-scale nucleic acid processor with parallel architecture*. Nature Biotechnology, 22, **2004**. p. 435-439. (<https://doi.org/10.1038/nbt951>).
41. Yang, S.K., F. Guo, B. Kiraly, X.L. Mao, M.Q. Lu, K.W. Leong, and T.J. Huang, *Microfluidic synthesis of multifunctional Janus particles for biomedical applications*. Lab Chip, 12, **2012**. p. 2097-2102. (<https://doi.org/10.1039/c2lc90046g>).
42. Schabas, G., H. Yusuf, M.G. Moffitt, and D. Sinton, *Controlled self-assembly of quantum dots and block copolymers in a microfluidic device*. Langmuir, 24, **2008**. p. 637-643. (<https://doi.org/10.1021/la703297q>).

43. Hardt, S., H. Pennemann, and F. Schonfeld, *Theoretical and experimental characterization of a low-Reynolds number split-and-recombine mixer*. *Microfluid. Nanofluid.*, 2, **2006**. p. 237-248. (<https://doi.org/10.1007/s10404-005-0071-6>).
44. Chen, L., G. Wang, C. Lim, G.H. Seong, J. Choo, E.K. Lee, S.H. Kang, and J.M. Song, *Evaluation of passive mixing behaviors in a pillar obstruction poly(dimethylsiloxane) microfluidic mixer using fluorescence microscopy*. *Microfluid. Nanofluid.*, 7, **2008**. p. 267-273. (<https://doi.org/10.1007/s10404-008-0386-1>).
45. Buchegger, W., C. Wagner, B. Lendl, M. Kraft, and M.J. Vellekoop, *A highly uniform lamination micromixer with wedge shaped inlet channels for time resolved infrared spectroscopy*. *Microfluid. Nanofluid.*, 10, **2011**. p. 889-897. (<https://doi.org/10.1007/s10404-010-0722-0>).
46. Chen, C.o.-K. and C.-C. Cho, *Electrokinetically driven flow mixing utilizing chaotic electric fields*. *Microfluid. Nanofluid.*, 5, **2008**. p. 785-793. (<https://doi.org/10.1007/s10404-008-0286-4>).
47. Choi, E., K. Kwon, S.J. Lee, D. Kim, and J. Park, *Non-equilibrium electrokinetic micromixer with 3D nanochannel networks*. *Lab Chip*, 15, **2015**. p. 1794-1798. (<https://doi.org/10.1039/c4lc01435a>).
48. Wang, Y., J. Zhe, B.T.F. Chung, and P. Dutta, *A rapid magnetic particle driven micromixer*. *Microfluid. Nanofluid.*, 4, **2007**. p. 375-389. (<https://doi.org/10.1007/s10404-007-0188-x>).
49. Xu, B., T.N. Wong, N.T. Nguyen, Z. Che, and J.C. Chai, *Thermal mixing of two miscible fluids in a T-shaped microchannel*. *Biomicrofluidics*, 4, **2010**. p. 44102. (<https://doi.org/10.1063/1.3496359>).
50. Hellman, A.N., K.R. Rau, H.H. Yoon, S. Bae, J.F. Palmer, K.S. Phillips, N.L. Allbritton, and V. Venugopalan, *Laser-induced mixing in microfluidic channels*. *Anal. Chem.*, 79, **2007**. p. 4484-4492. (<https://doi.org/10.1021/ac070081i>).
51. Stroock, A.D., S.K.W. Dertinger, A. Ajdari, I. Mezit, H.A. Stone, and G.M. Whitesides, *Chaotic mixer for microchannels*. *Science*, 295, **2002**. p. 647-651. (<https://doi.org/10.1126/science.1066238>).
52. Lim, H., S.M. Back, H. Choi, and J. Nam, *Acoustic mixing in a dome-shaped chamber-based SAW (DC-SAW) device*. *Lab Chip*, 20, **2020**. p. 120-125. (<https://doi.org/10.1039/c9lc00820a>).
53. Taylor, G., *Dispersion of soluble matter in solvent flowing slowly through a tube*. *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, 219, **1953**. p. 186-203. (<https://doi.org/10.1098/rspa.1953.0139>).
54. Aris, R., *On the dispersion of a solute in a fluid flowing through a tube*. *Proc. R. Soc. London, Ser. A*, 235, **1956**. p. 67-77.
55. Abadie, T., C. Sella, P. Perrodin, and L. Thouin, *Electrochemical Generation and Detection of Transient Concentration Gradients in Microfluidic Channels. Theoretical and Experimental Investigations*. *Frontiers in Chemistry*, 7, **2019**. (<https://doi.org/10.3389/fchem.2019.00704>).
56. Bhaumik, S.K., A. Kannan, and S. DasGupta, *Taylor-Aris dispersion induced by axial variation in velocity profile in patterned microchannels*. *Chem. Eng. Sci.*, 134, **2015**. p. 251-259. (<https://doi.org/10.1016/j.ces.2015.04.052>).
57. Atencia, J. and D.J. Beebe, *Controlled microfluidic interfaces*. *Nature*, 437, **2005**. p. 648-55. (<https://doi.org/10.1038/nature04163>).

58. Zheng, B. and R.F. Ismagilov, *A microfluidic approach for screening submicroliter volumes against multiple reagents by using preformed arrays of nanoliter plugs in a three-phase liquid/liquid/gas flow*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44, **2005**. p. 2520-3. (<https://doi.org/10.1002/anie.200462857>).
59. Srinivasan, V., V.K. Pamula, and R.B. Fair, *An integrated digital microfluidic lab-on-a-chip for clinical diagnostics on human physiological fluids*. *Lab Chip*, 4, **2004**. p. 310-315. (<https://doi.org/10.1039/b403341h>).
60. Jebraïl, M.J., M.S. Bartsch, and K.D. Patel, *Digital microfluidics: a versatile tool for applications in chemistry, biology and medicine*. *Lab Chip*, 12, **2012**. p. 2452-2463. (<https://doi.org/10.1039/C2lc40318h>).
61. Hatakeyama, T., D.L. Chen, and R.F. Ismagilov, *Microgram-scale testing of reaction conditions in solution using nanoliter plugs in microfluidics with detection by MALDI-MS*. *J. Am. Chem. Soc.*, 128, **2006**. p. 2518-9. (<https://doi.org/10.1021/ja057720w>).
62. Nisisako, T., *Recent advances in microfluidic production of Janus droplets and particles*. *Curr. Opin. Colloid Interface Sci.*, 25, **2016**. p. 1-12. (<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2016.05.003>).
63. Piao, Y.X., D.J. Han, M.R. Azad, M. Park, and T.S. Seo, *Enzyme incorporated microfluidic device for in-situ glucose detection in water-in-air microdroplets*. *Biosens. Bioelectron.*, 65, **2015**. p. 220-225. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.10.032>).
64. Ratner, D.M., E.R. Murphy, M. Jhunjhunwala, D.A. Snyder, K.F. Jensen, and P.H. Seeberger, *Microreactor-based reaction optimization in organic chemistry glycosylation as a challenge*. *Chem. Commun.*, **2005**. p. 578-580. (<https://doi.org/10.1039/b414503h>).
65. Marquis, M., J. Davy, B. Cathala, A. Fang, and D. Renard, *Microfluidics assisted generation of innovative polysaccharide hydrogel microparticles*. *Carbohydrate Polymers*, 116, **2015**. p. 189-199. (<https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2014.01.083>).
66. Frenz, L., A. El Harrak, M. Pauly, S. Begin-Colin, A.D. Griffiths, and J.C. Baret, *Droplet-based microreactors for the synthesis of magnetic iron oxide nanoparticles*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 47, **2008**. p. 6817-20. (<https://doi.org/10.1002/anie.200801360>).
67. Shestopalov, I., J.D. Tice, and R.F. Ismagilov, *Multi-step synthesis of nanoparticles performed on millisecond time scale in a microfluidic droplet-based system*. *Lab Chip*, 4, **2004**. p. 316-21. (<https://doi.org/10.1039/b403378g>).
68. Nisisako, T., *Recent advances in microfluidic production of Janus droplets and particles*. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 25, **2016**. p. 1-12. (<https://doi.org/10.1016/j.cocis.2016.05.003>).
69. Lignos, I., V. Morad, Y. Shynkarenko, C. Bernasconi, R.M. Maceiczky, L. Protesescu, F. Bertolotti, S. Kumar, S.T. Ochsenein, N. Masciocchi, A. Guagliardi, C.J. Shih, M.I. Bodnarchuk, A.J. deMello, and M.V. Kovalenko, *Exploration of Near-Infrared-Emissive Colloidal Multinary Lead Halide Perovskite Nanocrystals Using an Automated Microfluidic Platform*. *Acs Nano*, 12, **2018**. p. 5504-5517. (<https://doi.org/10.1021/acs.nano.8b01122>).
70. Faustini, M., J. Kim, G.Y. Jeong, J.Y. Kim, H.R. Moon, W.S. Ahn, and D.P. Kim, *Microfluidic Approach toward Continuous and Ultrafast Synthesis of Metal-Organic Framework Crystals and Hetero Structures in Confined Microdroplets*. *J. Am. Chem. Soc.*, 135, **2013**. p. 14619-14626. (<https://doi.org/10.1021/ja4039642>).

71. Gu, Z., M.L. Wu, B.Y. Yan, H.F. Wang, and C. Kong, *Integrated Digital Microfluidic Platform for Colorimetric Sensing of Nitrite*. *ACS Omega*, 5, **2020**. p. 11196-11201. (<https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01274>).
72. Berthier, E., E.W.K. Young, and D. Beebe, *Engineers are from PDMS-land, Biologists are from Polystyrenia*. *Lab Chip*, 12, **2012**. p. 1224-1237. (<https://doi.org/10.1039/c2lc20982a>).
73. Hebert, M., M. Courtney, and C.L. Ren, *Semi-automated on-demand control of individual droplets with a sample application to a drug screening assay*. *Lab Chip*, 19, **2019**. p. 1490-1501. (<https://doi.org/10.1039/c9lc00128j>).
74. Bramosanti, M., L. Chronopoulou, F. Grillo, A. Valletta, and C. Palocci, *Microfluidic-assisted nanoprecipitation of antiviral-loaded polymeric nanoparticles*. *Colloids Surf. A Physicochem. Eng.*, 532, **2017**. p. 369-376. (<https://doi.org/10.1016/j.colsurfa.2017.04.062>).
75. Koester, S., F.E. Angile, H. Duan, J.J. Agresti, A. Wintner, C. Schmitz, A.C. Rowat, C.A. Merten, D. Pisignano, A.D. Griffiths, and D.A. Weitz, *Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells*. *Lab Chip*, 8, **2008**. p. 1110-1115. (<https://doi.org/10.1039/b802941e>).
76. Zheng, B., J.D. Tice, L.S. Roach, and R.F. Ismagilov, *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. Int. Ed. Engl.*, 43, **2004**. p. 2508-11. (<https://doi.org/10.1002/anie.200453974>).
77. Ota, S., S. Yoshizawa, and S. Takeuchi, *Microfluidic formation of monodisperse, cell-sized, and unilamellar vesicles*. *Angew Chem Int Ed Engl*, 48, **2009**. p. 6533-7. (<https://doi.org/10.1002/anie.200902182>).
78. Syedmoradi, L., M. Daneshpour, M. Alvandipour, F.A. Gomez, H. Hajghassem, and K. Omidfar, *Point of care testing: The impact of nanotechnology*. *Biosens. Bioelectron.*, 87, **2017**. p. 373-387. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2016.08.084>).
79. Dittrich, P.S. and A. Manz, *Lab-on-a-chip: microfluidics in drug discovery*. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5, **2006**. p. 210-218. (<https://doi.org/10.1038/nrd1985>).
80. Clausell-Tormos, J., D. Lieber, J.C. Baret, A. El-Harrak, O.J. Miller, L. Frenz, J. Blouwolff, K.J. Humphry, S. Koster, H. Duan, C. Holtze, D.A. Weitz, A.D. Griffiths, and C.A. Merten, *Droplet-based microfluidic platforms for the encapsulation and screening of Mammalian cells and multicellular organisms*. *Chem. Biol.*, 15, **2008**. p. 427-37. (<https://doi.org/10.1016/j.chembiol.2008.04.004>).
81. Huebner, A., D. Bratton, G. Whyte, M. Yang, M.A.J. de, C. Abell, and F. Hollfelder, *Static microdroplet arrays: a microfluidic device for droplet trapping, incubation and release for enzymatic and cell-based assays*. *Lab Chip*, 9, **2009**. p. 692-698. (<https://doi.org/10.1039/b813709a>).
82. Sofronova, J.K., Y.Y. Ilinsky, K.E. Orishchenko, E.G. Chupakhin, E.A. Lunev, and I.O. Mazunin, *Detection of mutations in mitochondrial DNA by droplet digital PCR*. *Biochemistry-Moscow*, 81, **2016**. p. 1031-1037. (<https://doi.org/10.1134/s0006297916100011>).
83. Abate, A.R., T. Hung, R.A. Sperling, P. Mary, A. Rotem, J.J. Agresti, M.A. Weiner, and D.A. Weitz, *DNA sequence analysis with droplet-based microfluidics*. *Lab Chip*, 13, **2013**. p. 4864-9. (<https://doi.org/10.1039/c3lc50905b>).

84. Noireaux, V. and A. Libchaber, *A vesicle bioreactor as a step toward an artificial cell assembly*. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 101, **2004**. p. 17669-17674. (<https://doi.org/10.1073/pnas.0408236101>).
85. Niederholtmeyer, H., C. Chaggan, and N.K. Devaraj, *Communication and quorum sensing in non-living mimics of eukaryotic cells*. Nat. Commun., 9, **2018**. p. 5027. (<https://doi.org/10.1038/s41467-018-07473-7>).
86. Shang, L., Y. Cheng, and Y. Zhao, *Emerging Droplet Microfluidics*. Chem. Rev., 117, **2017**. p. 7964-8040. (<https://doi.org/10.1021/acs.chemrev.6b00848>).
87. Baret, J.-C., *Surfactants in droplet-based microfluidics*. Lab Chip, 12, **2012**. p. 422-433. (<https://doi.org/10.1039/C1LC20582J>).
88. Cheung, Y.N. and H. Qiu, *Characterization of acoustic droplet formation in a microfluidic flow-focusing device*. Phys. Rev. E: Stat., Nonlinear, Soft Matter Phys., 84, **2011**. p. 1-10. (<https://doi.org/10.1103/PhysRevE.84.066310>).
89. Baroud, C.N., J.P. Delville, F. Gallaire, and R. Wunenburger, *Thermocapillary valve for droplet production and sorting*. Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys, 75, **2007**. p. 046302. (<https://doi.org/10.1103/PhysRevE.75.046302>).
90. Nguyen, N.-T., T.-H. Ting, Y.-F. Yap, T.-N. Wong, J.C.-K. Chai, W.-L. Ong, J. Zhou, S.-H. Tan, and L. Yobas, *Thermally mediated droplet formation in microchannels*. Appl. Phys. Lett., 91, **2007**. (<https://doi.org/10.1063/1.2773948>).
91. Zeng, S.J., B.W. Li, X.O. Su, J.H. Qin, and B.C. Lin, *Microvalve-actuated precise control of individual droplets in microfluidic devices*. Lab Chip, 9, **2009**. p. 1340-1343. (<https://doi.org/10.1039/b821803j>).
92. Galas, J.-C., D. Bartolo, and V. Studer, *Active connectors for microfluidic drops on demand*. New Journal of Physics, 11, **2009**. (<https://doi.org/10.1088/1367-2630/11/7/075027>).
93. Baroud, C.N., F. Gallaire, and R. Dangla, *Dynamics of microfluidic droplets*. Lab Chip, 10, **2010**. p. 2032-2045. (<https://doi.org/10.1039/c001191f>).
94. Ma, H., Q. Zhao, C. Yao, Y. Zhao, and G. Chen, *Effect of fluid viscosities on the liquid-liquid slug flow and pressure drop in a rectangular microreactor*. Chem. Eng. Sci., 241, **2021**. p. 116697. (<https://doi.org/10.1016/j.ces.2021.116697>).
95. Shukla, I., N. Kofman, G. Balestra, L. Zhu, and F. Gallaire, *Film thickness distribution in gravity-driven pancake-shaped droplets rising in a Hele-Shaw cell*. J. Fluid. Mech., 874, **2019**. p. 1021-1040. (<https://doi.org/10.1017/jfm.2019.453>).
96. Ding, Y., X. Casadevall i Solvas, and A. deMello, *"V-junction": a novel structure for high-speed generation of bespoke droplet flows*. Analyst, 140, **2015**. p. 414-21. (<https://doi.org/10.1039/c4an01730g>).
97. Adamson, D.N., D. Mustafi, J.X. Zhang, B. Zheng, and R.F. Ismagilov, *Production of arrays of chemically distinct nanolitre plugs via repeated splitting in microfluidic devices*. Lab Chip, 6, **2006**. p. 1178-86. (<https://doi.org/10.1039/b604993a>).
98. Park, J., J.H. Jung, K. Park, G. Destgeer, H. Ahmed, R. Ahmad, and H.J. Sung, *On-demand acoustic droplet splitting and steering in a disposable microfluidic chip*. Lab Chip, 18, **2018**. p. 422-432. (<https://doi.org/10.1039/c7lc01083d>).

99. Pit, A.M., S. Bonestroo, D. Wijnperlé, M.H.G. Duits, and F. Mugele, *Electrode-assisted trapping and release of droplets on hydrophilic patches in a hydrophobic microchannel*. *Microfluid. Nanofluid.*, 20, **2016**. p. 123. (<https://doi.org/10.1007/s10404-016-1789-z>).
100. Mugele, F. and J.-C. Baret, *Electrowetting: from basics to applications*. *J. Phys.: Condens. Matter*, 17, **2005**. p. R705-R774. (<https://doi.org/10.1088/0953-8984/17/28/r01>).
101. Tan, Y.C., J.S. Fisher, A.I. Lee, V. Cristini, and A.P. Lee, *Design of microfluidic channel geometries for the control of droplet volume, chemical concentration, and sorting*. *Lab Chip*, 4, **2004**. p. 292-298. (<https://doi.org/10.1039/b403280m>).
102. Xi, H.D., H. Zheng, W. Guo, A.M. Ganan-Calvo, Y. Ai, C.W. Tsao, J. Zhou, W. Li, Y. Huang, N.T. Nguyen, and S.H. Tan, *Active droplet sorting in microfluidics: a review*. *Lab Chip*, 17, **2017**. p. 751-771. (<https://doi.org/10.1039/c6lc01435f>).
103. Tan, Y.-C., Y.L. Ho, and A.P. Lee, *Microfluidic sorting of droplets by size*. *Microfluid. Nanofluid.*, 4, **2008**. p. 343-348. (<https://doi.org/10.1007/s10404-007-0184-1>).
104. Abate, A.R. and D.A. Weitz, *Single-layer membrane valves for elastomeric microfluidic devices*. *Appl. Phys. Lett.*, 92, **2008**. p. 3. (<https://doi.org/10.1063/1.2945797>).
105. Cao, Z.N., F.Y. Chen, N. Bao, H.C. He, P.S. Xu, S. Jana, S.H. Jung, H.Z. Lian, and C. Lu, *Droplet sorting based on the number of encapsulated particles using a solenoid valve*. *Lab Chip*, 13, **2013**. p. 171-178. (<https://doi.org/10.1039/c2lc40950j>).
106. Abate, A.R., J.J. Agresti, and D.A. Weitz, *Microfluidic sorting with high-speed single-layer membrane valves*. *Appl. Phys. Lett.*, 96, **2010**. p. 3. (<https://doi.org/10.1063/1.3431281>).
107. Kuhnemund, M., D. Witters, M. Nilsson, and J. Lammertyn, *Circle-to-circle amplification on a digital microfluidic chip for amplified single molecule detection*. *Lab Chip*, 14, **2014**. p. 2983-2992. (<https://doi.org/10.1039/c4lc00348a>).
108. Chen, A., T. Byvank, W.-J. Chang, A. Bharde, G. Vieira, B.L. Miller, J.J. Chalmers, R. Bashir, and R. Sooryakumar, *On-chip magnetic separation and encapsulation of cells in droplets*. *Lab Chip*, 13, **2013**. p. 1172-1181. (<https://doi.org/10.1039/c2lc41201b>).
109. Link, D.R., E. Grasland-Mongrain, A. Duri, F. Sarrazin, Z.D. Cheng, G. Cristobal, M. Marquez, and D.A. Weitz, *Electric control of droplets in microfluidic devices*. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 45, **2006**. p. 2556-2560. (<https://doi.org/10.1002/anie.200503540>).
110. Guo, F., X.H. Ji, K. Liu, R.X. He, L.B. Zhao, Z.X. Guo, W. Liu, S.S. Guo, and X.Z. Zhao, *Droplet electric separator microfluidic device for cell sorting*. *Appl. Phys. Lett.*, 96, **2010**. p. 3. (<https://doi.org/10.1063/1.3360812>).
111. Sciambi, A. and A.R. Abate, *Generating electric fields in PDMS microfluidic devices with salt water electrodes*. *Lab Chip*, 14, **2014**. p. 2605-2609. (<https://doi.org/10.1039/c4lc00078a>).
112. Sciambi, A. and A.R. Abate, *Accurate microfluidic sorting of droplets at 30 kHz*. *Lab Chip*, 15, **2015**. p. 47-51. (<https://doi.org/10.1039/c4lc01194e>).
113. Yeo, L.Y. and J.R. Friend, *Surface Acoustic Wave Microfluidics*, in *Annu. Rev. Fluid Mech.*, S.H. Davis and P. Moin, Editors. **2014**, Annual Reviews: Palo Alto. p. 379-406.
114. Bi, F.Z. and B.P. Barber, *Bulk acoustic wave RF technology*. *Ieee Microwave Magazine*, 9, **2008**. p. 65-80. (<https://doi.org/10.1109/mmm.2008.927633>).

115. Yap, Y.-F., S.-H. Tan, N.-T. Nguyen, S.M.S. Murshed, T.-N. Wong, and L. Yobas, *Thermally mediated control of liquid microdroplets at a bifurcation*. J. Phys. D:Appl. Phys., 42, **2009**. (<https://doi.org/10.1088/0022-3727/42/6/065503>).
116. Liao, Y. and D. Lucas, *A literature review on mechanisms and models for the coalescence process of fluid particles*. Chem. Eng. Sci., 65, **2010**. p. 2851-2864. (<https://doi.org/10.1016/j.ces.2010.02.020>).
117. Ferraro, D., M. Serra, D. Filippi, L. Zago, E. Guglielmin, M. Pierno, S. Descroix, J.L. Viovy, and G. Mistura, *Controlling the distance of highly confined droplets in a capillary by interfacial tension for merging on-demand*. Lab Chip, 19, **2019**. p. 136-146. (<https://doi.org/10.1039/c8lc01182f>).
118. Christopher, G.F., J. Bergstein, N.B. End, M. Poon, C. Nguyen, and S.L. Anna, *Coalescence and splitting of confined droplets at microfluidic junctions*. Lab Chip, 9, **2009**. p. 1102-9. (<https://doi.org/10.1039/b813062k>).
119. Shen, F., Y. Li, G. Wang, and Z. Liu, *Mechanisms of rectangular groove-induced multiple-microdroplet coalescences*. Acta Mechanica Sinica, 33, **2017**. p. 585-594. (<https://doi.org/10.1007/s10409-016-0623-x>).
120. Fidalgo, L.M., C. Abell, and W.T. Huck, *Surface-induced droplet fusion in microfluidic devices*. Lab Chip, 7, **2007**. p. 984-6. (<https://doi.org/10.1039/b708091c>).
121. Niu, X., S. Gulati, J.B. Edel, and A.J. deMello, *Pillar-induced droplet merging in microfluidic circuits*. Lab Chip, 8, **2008**. p. 1837-41. (<https://doi.org/10.1039/b813325e>).
122. Niu, X., F. Gielen, J.B. Edel, and A.J. deMello, *A microdroplet dilutor for high-throughput screening*. Nat. Chem., 3, **2011**. p. 437-42. (<https://doi.org/10.1038/nchem.1046>).
123. Sesen, M., A. Fakhfouri, and A. Neild, *Coalescence of Surfactant-Stabilized Adjacent Droplets Using Surface Acoustic Waves*. Anal. Chem., 91, **2019**. p. 7538-7545. (<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.8b05456>).
124. Zagnoni, M., C.N. Baroud, and J.M. Cooper, *Electrically initiated upstream coalescence cascade of droplets in a microfluidic flow*. Physical Review E, 80, **2009**. p. 9. (<https://doi.org/10.1103/PhysRevE.80.046303>).
125. Tomasi, R.F., S. Sart, T. Champetier, and C.N. Baroud, *Individual Control and Quantification of 3D Spheroids in a High-Density Microfluidic Droplet Array*. Cell Rep., 31, **2020**. p. 107670. (<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2020.107670>).
126. Duchamp, M., M. Arnaud, S. Bobisse, G. Coukos, A. Harari, and P. Renaud, *Microfluidic Device for Droplet Pairing by Combining Droplet Railing and Floating Trap Arrays*. Micromachines, 12, **2021**. (<https://doi.org/10.3390/mi12091076>).
127. Song, H., J.D. Tice, and R.F. Ismagilov, *A Microfluidic System for Controlling Reaction Networks in Time*. Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 42, **2003**. p. 767-772.
128. Bringer, M.R., C.J. Gerds, H. Song, J.D. Tice, and R.F. Ismagilov, *Microfluidic systems for chemical kinetics that rely on chaotic mixing in droplets*. Philosophical Transactions of the Royal Society a-Mathematical Physical and Engineering Sciences, 362, **2004**. p. 1087-1104. (<https://doi.org/10.1098/rsta.2003.1364>).
129. Olma, S., K. Liu, Y. Chen, R. van Dam, and C.K. Shen, *Microfluidic droplet mixer for fluorine-18 labeling of biomolecules*. J. Labelled Comp. Radiopharm., 52, **2009**. p. S10-S10.

130. Wheeler, A.R., H. Moon, C.J. Kim, J.A. Loo, and R.L. Garrell, *Electrowetting-based microfluidics for analysis of peptides and proteins by matrix-assisted laser desorption/ionization mass spectrometry*. *Anal. Chem.*, 76, **2004**. p. 4833-4838. (<https://doi.org/10.1021/ac0498112>).
131. Wang, J., J. Wang, L. Feng, and T. Lin, *Fluid mixing in droplet-based microfluidics with a serpentine microchannel*. *RSC Advances*, 5, **2015**. p. 104138-104144. (<https://doi.org/10.1039/c5ra21181f>).
132. Yesiloz, G., M.S. Boybay, and C.L. Ren, *Effective Thermo-Capillary Mixing in Droplet Microfluidics Integrated with a Microwave Heater*. *Anal. Chem.*, 89, **2017**. p. 1978-1984. (<https://doi.org/10.1021/acs.analchem.6b04520>).
133. Lu, Y., M.L. Zhang, H.X. Zhang, J.Z. Huang, Z. Wang, Z.L. Yun, Y.Y. Wang, W. Pang, X.X. Duan, and H. Zhang, *On-chip acoustic mixer integration of electro-microfluidics towards in-situ and efficient mixing in droplets*. *Microfluid. Nanofluid.*, 22, **2018**. p. 12. (<https://doi.org/10.1007/s10404-018-2169-7>).
134. Roy, T., A. Sinha, S. Chakraborty, R. Ganguly, and I.K. Puri, *Magnetic microsphere-based mixers for microdroplets*. *Physics of Fluids*, 21, **2009**. p. 7. (<https://doi.org/10.1063/1.3072602>).
135. Zhang, Y. and T.-H. Wang, *Micro magnetic gyromixer for speeding up reactions in droplets*. *Microfluid. Nanofluid.*, 12, **2012**. p. 787-794. (<https://doi.org/10.1007/s10404-011-0922-2>).
136. Seemann, R., M. Brinkmann, T. Pfohl, and S. Herminghaus, *Droplet based microfluidics*. *Rep. Prog. Phys.*, 75, **2012**. p. 016601/1-016601/41. (<https://doi.org/10.1088/0034-4885/75/1/016601>).
137. Collins, J. and A.P. Lee, *Control of serial microfluidic droplet size gradient by step-wise ramping of flow rates* *Microfluid. Nanofluid.*, 3, **2007**. p. 19-25.
138. Lindken, R., M. Rossi, S. Grosse, and J. Westerweel, *Micro-Particle Image Velocimetry (μ PIV): Recent developments, applications, and guidelines*. *Lab Chip*, 9, **2009**. p. 2551-2567. (<https://doi.org/10.1039/b906558j>).
139. Kinoshita, H., S. Kaneda, T. Fujii, and M. Oshima, *Three-dimensional measurement and visualization of internal flow of a moving droplet using confocal micro-PIV*. *Lab Chip*, 7, **2007**. p. 338-346. (<https://doi.org/10.1039/B617391H>).
140. Liu, Z., L. Zhang, Y. Pang, X. Wang, and M. Li, *Micro-PIV investigation of the internal flow transitions inside droplets traveling in a rectangular microchannel*. *Microfluid. Nanofluid.*, 21, **2017**. p. 1-8. (<https://doi.org/10.1007/s10404-017-2019-z>).
141. Abadie, T., C. Sella, and L. Thouin, *Electrochemical detection of droplet content in microfluidic devices: Evidence of internal recirculating convection within droplets*. *Electrochem. Commun.*, 80, **2017**. p. 55-59. (<https://doi.org/10.1016/j.elecom.2017.05.013>).
142. King, C., E. Walsh, and R. Grimes, *PIV measurements of flow within plugs in a microchannel*. *Microfluid. Nanofluid.*, 3, **2007**. p. 463-472. (<https://doi.org/10.1007/s10404-006-0139-y>).
143. Fan, Y., D. Dong, Q. Li, H. Si, H. Pei, L. Li, and B. Tang, *Fluorescent analysis of bioactive molecules in single cells based on microfluidic chips*. *Lab Chip*, 18, **2018**. p. 1151-1173. (<https://doi.org/10.1039/c7lc01333g>).
144. Colin, P.Y., B. Kintsjes, F. Gielen, C.M. Miton, G. Fischer, M.F. Mohamed, M. Hyvonen, D.P. Morgavi, D.B. Janssen, and F. Hollfelder, *Ultrahigh-throughput discovery of promiscuous*

- enzymes by picodroplet functional metagenomics*. Nat. Commun., 6, **2015**. p. 10008. (<https://doi.org/10.1038/ncomms10008>).
145. Mao, Z., F. Guo, Y. Xie, Y. Zhao, M.I. Lapsley, L. Wang, J.D. Mai, F. Costanzo, and T.J. Huang, *Label-free measurements of reaction kinetics using a droplet-based optofluidic device*. J. Lab. Autom., 20, **2015**. p. 17-24. (<https://doi.org/10.1177/2211068214549625>).
146. Maceiczky, R.M., D. Hess, F.W.Y. Chiu, S. Stavrakis, and A.J. deMello, *Differential detection photothermal spectroscopy: towards ultra-fast and sensitive label-free detection in picoliter & femtoliter droplets*. Lab Chip, 17, **2017**. p. 3654-3663. (<https://doi.org/10.1039/c7lc00946a>).
147. Cristobal, G., L. Arbouet, F. Sarrazin, D. Talaga, J.L. Bruneel, M. Joanicot, and L. Servant, *On-line laser Raman spectroscopic probing of droplets engineered in microfluidic devices*. Lab Chip, 6, **2006**. p. 1140-6. (<https://doi.org/10.1039/b602702d>).
148. Pereira, F., X. Niu, and A.J. deMello, *A nano LC-MALDI mass spectrometry droplet interface for the analysis of complex protein samples*. PLoS One, 8, **2013**. p. e63087. (<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0063087>).
149. Ryan, H., A. Smith, and M. Utz, *Structural shimming for high-resolution nuclear magnetic resonance spectroscopy in lab-on-a-chip devices*. Lab Chip, 14, **2014**. p. 1678-85. (<https://doi.org/10.1039/c3lc51431e>).
150. Cruz, A.F.D., N. Norena, A. Kaushik, and S. Bhansali, *A low-cost miniaturized potentiostat for point-of-care diagnosis*. Biosens. Bioelectron., 62, **2014**. p. 249-254. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.06.053>).
151. Elbuken, C., T. Glawdel, D. Chan, and C.L. Ren, *Detection of microdroplet size and speed using capacitive sensors*. Sens. Actuators, A, 171, **2011**. p. 55-62. (<https://doi.org/10.1016/j.sna.2011.07.007>).
152. Niu, X., M. Zhang, S. Peng, W. Wen, and P. Sheng, *Real-time detection, control, and sorting of microfluidic droplets*. Biomicrofluidics, 1, **2007**. p. 44101. (<https://doi.org/10.1063/1.2795392>).
153. Isgor, P.K., M. Marcali, M. Keser, and C. Elbuken, *Microfluidic droplet content detection using integrated capacitive sensors*. Sens. Actuators, B, 210, **2015**. p. 669-675. (<https://doi.org/10.1016/j.snb.2015.01.018>).
154. Gu, Y. and A.C. Fisher, *An AC voltammetry approach for the detection of droplets in microfluidic devices*. Analyst, 138, **2013**. p. 4448-52. (<https://doi.org/10.1039/c3an00822c>).
155. Yakdi, N.E., D. Bricault, F. Huet, and K. Ngo, *Detection and sizing of single droplets flowing in a microfluidic device by impedance measurement*, in *Proceedings of the 30th Anniversary Eurosensors Conference - Eurosensors 2016*, I. Barsony, Z. Zolnai, and G. Battistig, Editors. **2016**. p. 1466-1470.
156. Moiseeva, E.V., A.A. Fletcher, and C.K. Harnett, *Thin-film electrode based droplet detection for microfluidic systems*. Sens. Actuators, B, 155, **2011**. p. 408-414. (<https://doi.org/10.1016/j.snb.2010.11.028>).
157. Cahill, B.P., R. Land, T. Nacke, M. Min, and D. Beckmann, *Contactless sensing of the conductivity of aqueous droplets in segmented flow*. Sens. Actuators, B, 159, **2011**. p. 286-293. (<https://doi.org/10.1016/j.snb.2011.07.006>).

158. Liu, S.J., Y.F. Gu, R.B. Le Roux, S.M. Matthews, D. Bratton, K. Yunus, A.C. Fisher, and W.T.S. Huck, *The electrochemical detection of droplets in microfluidic devices*. *Lab Chip*, 8, **2008**. p. 1937-1942. (<https://doi.org/10.1039/b809744e>).
159. Gu, S., Y. Lu, Y. Ding, L. Li, H. Song, J. Wang, and Q. Wu, *A droplet-based microfluidic electrochemical sensor using platinum-black microelectrode and its application in high sensitive glucose sensing*. *Biosens. Bioelectron.*, 55, **2014**. p. 106-112. (<https://doi.org/10.1016/j.bios.2013.12.002>).
160. Lin, X., X. Hu, Z. Bai, Q. He, H. Chen, Y. Yan, and Z. Ding, *A microfluidic chip capable of switching W/O droplets to vertical laminar flow for electrochemical detection of droplet contents*. *Anal. Chim. Acta*, 828, **2014**. p. 70-79. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2014.04.023>).
161. Liu, H. and R.M. Crooks, *Highly reproducible chronoamperometric analysis in microdroplets*. *Lab Chip*, 13, **2013**. p. 1364-70. (<https://doi.org/10.1039/c3lc41263f>).
162. Gu, S.Q., Y.L. Lu, Y.P. Ding, L. Li, F.F. Zhang, and Q.S. Wu, *Droplet-based microfluidics for dose-response assay of enzyme inhibitors by electrochemical method*. *Anal. Chim. Acta*, 796, **2013**. p. 68-74. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.08.016>).
163. Han, Z.Y., W.T. Li, Y.Y. Huang, and B. Zheng, *Measuring Rapid Enzymatic Kinetics by Electrochemical Method in Droplet-Based Microfluidic Devices with Pneumatic Valves*. *Anal. Chem.*, 81, **2009**. p. 5840-5845. (<https://doi.org/10.1021/ac900811y>).
164. Han, Z., Y.Y. Chang, S.W. Au, and B. Zheng, *Measuring rapid kinetics by a potentiometric method in droplet-based microfluidic devices*. *Chem. Commun.*, 48, **2012**. p. 1601-3. (<https://doi.org/10.1039/c1cc12383a>).
165. Rattanarat, P., A. Suea-Ngam, N. Ruecha, W. Siangproh, C.S. Henry, M. Srisa-Art, and O. Chailapakul, *Graphene-polyaniline modified electrochemical droplet-based microfluidic sensor for high-throughput determination of 4-aminophenol*. *Anal. Chim. Acta*, 925, **2016**. p. 51-60. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2016.03.010>).
166. Suea-Ngam, A., P. Rattanarat, O. Chailapakul, and M. Srisa-Art, *Electrochemical droplet-based microfluidics using chip-based carbon paste electrodes for high-throughput analysis in pharmaceutical applications*. *Anal. Chim. Acta*, 883, **2015**. p. 45-54. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2015.03.008>).
167. Srikanth, S., J.M. Mohan, S. Raut, S.K. Dubey, I. Ishii, A. Javed, and S. Goel, *Droplet based microfluidic device integrated with ink jet printed three electrode system for electrochemical detection of ascorbic acid*. *Sens. Actuators, A*, 325, **2021**. p. 112685. (<https://doi.org/10.1016/j.sna.2021.112685>).
168. Hu, X., X. Lin, Q. He, and H. Chen, *Electrochemical detection of droplet contents in polystyrene microfluidic chip with integrated micro film electrodes*. *J. Electroanal. Chem.*, 726, **2014**. p. 7-14. (<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2014.05.005>).
169. Lombardo, T., L. Lancellotti, C. Souprayen, C. Sella, and L. Thouin, *Electrochemical Detection of Droplets in Microfluidic Devices: Simultaneous Determination of Velocity, Size and Content*. *Electroanalysis*, **2019**. (<https://doi.org/10.1002/elan.201900293>).
170. Cooper, J.A. and R.G. Compton, *Channel electrodes - A review*. *Electroanalysis*, 10, **1998**. p. 141-155.

171. Amatore, C., *Electrochemistry at ultramicroelectrodes*, in *Physical Electrochemistry: Principles, Methods and Applications*, I. Rubinstein, Editor. **1995**, M. Dekker: New York. p. 131-208.
172. Levich, V.G., *Physico-Chemical Hydrodynamics*, in *Physico-Chemical Hydrodynamics*. **1952**, Prentice Hall, Englewood Cliffs: Academy of Sciences of USSR, Moscow.
173. Amatore, C., N. Da Mota, C. Lemmer, C. Pebay, C. Sella, and L. Thouin, *Theory and Experiments of Transport at Channel Microband Electrodes under Laminar Flows. 2. Electrochemical Regimes at Double Microband Assemblies under Steady State*. Anal. Chem., **80**, **2008**. p. 9483-9490. (<https://doi.org/10.1021/ac801605v>).
174. Amatore, C., N. Da Mota, C. Sella, and L. Thouin, *Theory and Experiments of Transport at Channel Microband Electrodes Under Laminar Flow. 3. Electrochemical Detection at Electrode Arrays under Steady State*. Anal. Chem., **82**, **2010**. p. 2434-2440. (<https://doi.org/10.1021/ac902788v>).
175. Delahaye, T., T. Lombardo, C. Sella, and L. Thouin, *Electrochemical assessments of droplet contents in microfluidic channels. Application to the titration of heterogeneous droplets*. Anal. Chim. Acta, **1155**, **2021**. p. 338344. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2021.338344>).
176. Patil, R.S., V.A. Juvekar, and V.M. Naik, *Oxidation of Chloride Ion on Platinum Electrode: Dynamics of Electrode Passivation and its Effect on Oxidation Kinetics*. Ind. Eng. Chem. Res., **50**, **2011**. p. 12946-12959. (<https://doi.org/10.1021/ie200663a>).
177. Arvia, A.J., J.C. Bazan, and J.S. Carrozza, *Diffusion of ferro- and ferricyanide ions in aqueous potassium chloride solutions and in solutions containing carboxy-methylcellulose sodium salt*. Electrochim. Acta, **13**, **1968**. p. 81-&. ([https://doi.org/10.1016/0013-4686\(68\)80008-8](https://doi.org/10.1016/0013-4686(68)80008-8)).
178. Klymenko, O.V., R.G. Evans, C. Hardacre, I.B. Svir, and R.G. Compton, *Double potential step chronoamperometry at microdisk electrodes: simulating the case of unequal diffusion coefficients*. J. Electroanal. Chem., **571**, **2004**. p. 211-221. (<https://doi.org/10.1016/j.jelechem.2004.05.012>).
179. Bard, A.J., *Electrogenerated Chemiluminescence*. **2004**: Dekker, New York.
180. Gross, E.M., L.R. Porter, N.R. Stark, E.R. Lowry, L.V. Schaffer, S.S. Maddipati, D.J. Hoyt, S.E. Stombaugh, S.R. Peila, and C.S. Henry, *Micromolded Carbon Paste Microelectrodes for Electrogenerated Chemiluminescent Detection on Microfluidic Devices*. ChemElectroChem, **7**, **2020**. p. 3244-3252. (<https://doi.org/10.1002/celec.202000366>).
181. Zhang, J.J., S. Arbault, N. Sojic, and D.C. Jiang, *Electrochemiluminescence Imaging for Bioanalysis*, in *Annu. Rev. Anal. Chem.*, P.W. Bohn and J.E. Pemberton, Editors. **2019**. p. 275-295.
182. Bouffier, L.A., S. ; Kuhn, A. ; Sojic N., *L'électrochimiluminescence : une méthode de choix pour la bioanalyse*. Les techniques de l'ingénieur, **2018**. p. 156.
183. Du, F., Y. Chen, C. Meng, B. Lou, W. Zhang, and G. Xu, *Recent advances in electrochemiluminescence immunoassay based on multiple-signal strategy*. Current Opinion in Electrochemistry, **28**, **2021**. p. 100725. (<https://doi.org/10.1016/j.coelec.2021.100725>).
184. Hu, L. and G. Xu, *Applications and trends in electrochemiluminescence*. Chem. Soc. Rev, **39**, **2010**. p. 3275-304. (<https://doi.org/10.1039/b923679c>).
185. Miomandre, F. and P. Audebert, *Luminescence in Electrochemistry*, Springer, Editor. **2017**.

186. Valenti, G., M. Zangheri, S.E. Sansaloni, M. Mirasoli, A. Penicaud, A. Roda, and F. Paolucci, *Transparent Carbon Nanotube Network for Efficient Electrochemiluminescence Devices*. *Chemistry-a European Journal*, 21, **2015**. p. 12640-12645. (<https://doi.org/10.1002/chem.201501342>).
187. Richter†, M.M., *Electrochemiluminescence (ECL)*. *Chem. Rev.*, 104, **2004**. p. 3003–3036.
188. Tokel, N.E. and A.J. Bard, *Electrogenerated chemiluminescence 9. Electrochemistry and emission from systems containing tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(II) dichloride*. *J. Am. Chem. Soc.*, 94, **1972**. p. 2862-&. (<https://doi.org/10.1021/ja00763a056>).
189. Noffsinger, J.B. and N.D. Danielson, *Generation of chemiluminescence upon reaction of aliphatic-amines with tris(2,2'-bipyridine)ruthenium(III)*. *Anal. Chem.*, 59, **1987**. p. 865-868. (<https://doi.org/10.1021/ac00133a017>).
190. Leland, J.K. and M.J. Powell, *Electrogenerated chemiluminescence - an oxidative-reduction type ECL reaction sequence using tripropylamine*. *J. Electrochem. Soc.*, 137, **1990**. p. 3127-3131. (<https://doi.org/10.1149/1.2086171>).
191. Wei, H. and E. Wang, *Electrochemiluminescence of tris(2,2'-bipyridyl)ruthenium and its applications in bioanalysis: a review*. *Luminescence*, 26, **2011**. p. 77-85. (<https://doi.org/10.1002/bio.1279>).
192. Valenti, G., A. Fiorani, H.D. Li, N. Sojic, and F. Paolucci, *Essential Role of Electrode Materials in Electrochemiluminescence Applications*. *ChemElectroChem*, 3, **2016**. p. 1990-1997. (<https://doi.org/10.1002/celec.201600602>).
193. Cruser, S.A. and A.J. Bard, *Electrogenerated chemiluminescence 3. intensity-time and concentration-intensity relationships and lifetime of radical cations of aromatic hydrocarbons N,N,N, Dimethylformamide solution*. *J. Am. Chem. Soc.*, 91, **1969**. p. 267-&. (<https://doi.org/10.1021/ja01030a010>).
194. Zu, Y. and A.J. Bard, *Electrogenerated Chemiluminescence. 67. Dependence of Light Emission of the Tris(2,2')bipyridylruthenium(II)/Tripropylamine System on Electrode Surface Hydrophobicity*. *Anal. Chem.*, 73, **2001**. p. 3960-3964.
195. Zu, Y. and A.J. Bard, *Electrogenerated chemiluminescence. 66. The role of direct coreactant oxidation in the ruthenium tris(2,2')bipyridyl/triethylamine system and the effect of halide ions on the emission intensity*. *Anal. Chem.*, 72, **2000**. p. 3223-3232.
196. Delaney, J.L., E.H. Doeven, A.J. Harsant, and C.F. Hogan, *Use of a mobile phone for potentiostatic control with low cost paper-based microfluidic sensors*. *Anal. Chim. Acta*, 790, **2013**. p. 56-60. (<https://doi.org/10.1016/j.aca.2013.06.005>).
197. Delaney, J.L., C.F. Hogan, J. Tian, and W. Shen, *Electrogenerated chemiluminescence detection in paper-based microfluidic sensors*. *Anal. Chem.*, 83, **2011**. p. 1300-6. (<https://doi.org/10.1021/ac102392t>).
198. Zhang, X., C. Chen, J. Li, L. Zhang, and E. Wang, *New insight into a microfluidic-based bipolar system for an electrochemiluminescence sensing platform*. *Anal. Chem.*, 85, **2013**. p. 5335-9. (<https://doi.org/10.1021/ac400805f>).
199. Ge, L., J. Yan, X. Song, M. Yan, S. Ge, and J. Yu, *Three-dimensional paper-based electrochemiluminescence immunodevice for multiplexed measurement of biomarkers and point-of-care testing*. *Biomaterials*, 33, **2012**. p. 1024-31. (<https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2011.10.065>).

200. Yan, J., L. Ge, X. Song, M. Yan, S. Ge, and J. Yu, *Paper-based electrochemiluminescent 3D immunodevice for lab-on-paper, specific, and sensitive point-of-care testing*. *Chemistry*, 18, **2012**. p. 4938-45. (<https://doi.org/10.1002/chem.201102855>).
201. Wu, M.S., H.W. Shi, L.J. He, J.J. Xu, and H.Y. Chen, *Microchip device with 64-site electrode array for multiplexed immunoassay of cell surface antigens based on electrochemiluminescence resonance energy transfer*. *Anal. Chem.*, 84, **2012**. p. 4207-13. (<https://doi.org/10.1021/ac300551e>).
202. Sardesai, N.P., K. Kadimisetty, R. Faria, and J.F. Rusling, *A microfluidic electrochemiluminescent device for detecting cancer biomarker proteins*. *Anal. Bioanal. Chem.*, 405, **2013**. p. 3831-8. (<https://doi.org/10.1007/s00216-012-6656-5>).
203. Wu, M.S., B.Y. Xu, H.W. Shi, J.J. Xu, and H.Y. Chen, *Electrochemiluminescence analysis of folate receptors on cell membrane with on-chip bipolar electrode*. *Lab Chip*, 11, **2011**. p. 2720-4. (<https://doi.org/10.1039/c1lc20143c>).
204. Miomandre, F., R. Meallet-Renault, J.J. Vachon, R.B. Pansu, and P. Audebert, *Fluorescence microscopy coupled to electrochemistry: a powerful tool for the controlled electrochemical switch of fluorescent molecules*. *Chem. Commun.*, **2008**. p. 1913-5. (<https://doi.org/10.1039/b718899d>).
205. Miomandre, F., E. Lepicier, S. Munteanu, O. Galangau, J.F. Audibert, R. Meallet-Renault, P. Audebert, and R.B. Pansu, *Electrochemical monitoring of the fluorescence emission of tetrazine and bodipy dyes using total internal reflection fluorescence microscopy coupled to electrochemistry*. *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 3, **2011**. p. 690-6. (<https://doi.org/10.1021/am100980u>).

Elaboration de dispositifs microfluidiques pour la détection de gouttes par voie électrochimique : concepts et performances à l'échelle du nanolitre.

Résumé : L'électrochimie est une alternative pertinente en microfluidique de gouttes face aux méthodes optiques généralement employées pour l'analyse de petits volumes. En effet, le signal en électrochimie est proportionnel à la concentration et les microélectrodes sont facilement implantables à l'intérieur des microdispositifs. Trois approches ont ainsi été menées au cours de ces travaux de thèse pour la mise en œuvre de détections de gouttes. La première a été d'employer une cellule électrochimique pour déterminer simultanément la vitesse, le volume et le contenu de gouttes circulant dans un microcanal. Des mesures par chronoampérométrie permettent en effet d'évaluer quantitativement leur contenu, qu'il soit homogène ou bien hétérogène en concentration. Dans ces conditions particulières, des titrations de gouttes peuvent être menées avec succès. La seconde approche a consisté à insérer une cellule électrochimique à l'intérieur d'une chambre de coalescence afin de maintenir un contact permanent entre la phase aqueuse et les électrodes. Différents régimes de fonctionnement de ces chambres ont été identifiés mettant en jeu un système de type générateur-collecteur entre les électrodes. Ces chambres de coalescence permettent d'analyser le passage de trains de gouttes de très faibles volumes. La troisième approche a eu pour objectif de mettre en place des détections de gouttes par électrochimiluminescence. Pour cela, des électrodes semi-transparentes de platine ont été mises au point, permettant de réaliser pour la première fois des détections de ce type en microfluidique de gouttes, c'est-à-dire à l'intérieur de microréacteurs de quelques nanolitres.

Mots clés : Electrochimie – Ampérométrie – Microfluidique diphasique – Coalescence – Electrochimiluminescence – Transport de masse.

Development of microfluidic devices for electrochemical droplets detection: concepts and performance at the nanoliter scale.

Abstract : Electrochemistry is a relevant alternative in droplet-based microfluidics to optical methods generally used for the analysis of small volumes. Indeed, the signal in electrochemistry is proportional to the concentration and microelectrodes are easily integrated inside microdevices. In this work, three approaches were investigated for the implementation of droplet detection. The first one was to insert an electrochemical cell to simultaneously determine the velocity, volume and content of droplets flowing in a microchannel. Chronoamperometric measurements thus allow the quantitative assessment of their content, whether it is homogeneous or heterogeneous in concentration. Under these particular conditions, titrations of droplets can be performed successfully. The second approach was to set-up an electrochemical cell inside a coalescence chamber in order to ensure permanent contact between the aqueous phase and the electrodes. Different operating regimes of the chambers have been identified involving a generator-collector type system between electrodes. These coalescence chambers make it possible to analyze the passage of trains of droplets of very low volumes. The third approach was aimed to implement droplet detection by electrochemiluminescence. For this, semi-transparent platinum electrodes have been developed, allowing for the first time such detections in droplet-based microfluidics, namely inside microreactors of a few nanoliters.

Keywords : Electrochemistry – Amperometry – Droplet-based microfluidics – Coalescence – Electrochemiluminescence – Mass transport.