

Etudes de systèmes microfluidiques : Application à l'électrophorèse sur puces polymères

Louis Renaud

▶ **To cite this version:**

Louis Renaud. Etudes de systèmes microfluidiques : Application à l'électrophorèse sur puces polymères. Micro et nanotechnologies/Microélectronique. Université Claude Bernard Lyon 1, 2004. Français. ⟨NNT : ⟩. ⟨tel-01988277⟩

HAL Id: tel-01988277

https://hal.science/tel-01988277v1

Submitted on 21 Jan 2019

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

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



HAL Authorization

N° d'ordre 123-2004 Année 2004

THESE

Présentée

devant l'UNIVERSITE CLAUDE BERNARD - LYON 1

pour l'obtention

du DIPLOME DE DOCTORAT

(arrêté du 25 avril 2002)

Spécialité : Dispositifs de l'électronique intégrée

présentée et soutenue publiquement le
06 Juillet 2004

Par

Louis RENAUD

Etudes de systèmes microfluidiques : Application à l'électrophorèse sur puces polymères

Directeur de thèse

Pierre MORIN

JURY : Mme. E. CHARLAIX , Présidente
M. P. TABELING, Rapporteur
M. J.L. VIOVY, Rapporteur
M. J.L. ROCCA
M. P. MORIN
M. P. KLEIMANN

UNIVERSITE CLAUDE BERNARD LYON I

Président de l'Université	**M. le Professeur D. DEBOUZIE**
Vice-Président du Conseil Scientifique	M. le Professeur J.F. MORNEX
Vice-Président du Conseil d'Administration	M. le Professeur R. GARONNE
Vice-Présidente du Conseil des études et de la Vie Universitaire	Mme J. Gallezot Maître de conférences
Secrétaire Général	M. J.P. BONHOTAL

SECTEUR SANTE

Composantes

UFR de Médecine Lyon R.T.H. Laennec	Directeur : M. le Professeur D. VITAL-DURAND
UFR de Médecine Lyon Grange-Blanche	Directeur : M. le Professeur X. MARTIN
UFR de Médecine Lyon-Nord	Directeur : M. le Professeur F. MAUGUIERE
UFR de Médecine Lyon-Sud	Directeur : M. le Professeur F.N. GILLY
UFR d'Odontologie	Directeur : M. le Professeur J. DOURY
Institut des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques	Directeur : M. le Professeur F. LOCHER
Institut Techniques de Réadaptation	Directeur : Mme. le Professeur D. BOISSON
Département de Formation et Centre de Recherche en Biologie Humaine	Directeur : M. le Professeur P. FARGE
Département de Formation à la Recherche et à l'Evaluation Pédagogiques	Directeur : M. le Professeur M. LAVILLE

SECTEUR SCIENCES

Composantes

UFR de Physique	Directeur : M. le Professeur J.L. VIALLE
UFR de Biologie	Directeur : M. le Professeur G. BOSQUET
UFR de Mécanique	Directeur : M. le Professeur H. BEN HADID
UFR de Génie Electrique et des Procédés	Directeur : M. le Professeur A. BRIGUET
UFR de Sciences de la Terre	Directeur : M. le Professeur P. HANTZPERGUE
UFR de Mathématiques	Directeur : M. le Professeur M. CHAMARIE
UFR d'Informatique	Directeur : M. le Professeur M. EGEA
UFR de Chimie Biochimie	Directeur : M. le Professeur J.P. SCHARFF
UFR STAPS	Directeur : M. P. THIRIET Maître de Conférences
Observatoire de Lyon	Directeur : M. le Professeur R. BACON
Institut des Sciences et des Techniques de l'Ingénieur de Lyon	Directeur : M. le Professeur J.P. PUAUX
Département de 1er cycle Sciences	Directeur : M. J.C. DUPLAN Maître de Conférences
IUT A	Directeur : M. le Professeur M. ODIN
IUT B	Directeur : M. le Professeur G. MAREST
Institut de Science Financière et d'Assurances	Directeur : M. le Professeur D. SERANT

- *Remerciements* -

Le travail présenté ici a été réalisé au sein du Laboratoire d'Electronique Nanotechnologies Capteurs (LENAC) de l'Université Claude Bernard Lyon 1.

Je tiens d'abord à remercier vivement Monsieur le Professeur Michel PITAVAL, Directeur du LENAC lors de mon arrivée en DEA, pour m'avoir accueilli au sein de cette équipe il y a maintenant quatre années, et pour la chaleureuse attention qu'il a porté à ce travail de thèse.

Mes sincères remerciements s'adressent ensuite à Monsieur Pierre MORIN, Directeur de Recherche CNRS et actuel directeur du LENAC, qui a dirigé et encadré ma thèse. Je le remercie pour ses précieux conseils, pour sa présence, sa patience, son soutien et sa confiance sans faille. Il a su me transmettre la rigueur, le courage, et un peu de tempérance, très salutaire dans les moments difficiles.

Je remercie également Pascal KLEIMANN, avec qui nous partageons notre bureau depuis quatre ans. Pascal a participé à l'intégralité de mon travail, et rien n'aurait pu se faire sans lui. Nous avons partagé des milliers d'heures de travail sans aucun accroc, ce qui est remarquable. Nous avons aussi partagé de nombreuses difficultés, et quelques longues soirées de travail sans que rien ne semble arrêter son enthousiasme scientifique. J'espère très sincèrement que notre travail commun ne s'arrêtera pas ici, car plus qu'un parfait binôme, j'ai trouvé en lui une amitié précieuse.

Je remercie messieurs Patrick TABELING, Directeur de Recherche CNRS à l'ESPCI, et Jean-Louis VIOVY, Directeur de recherche CNRS à l'institut CURIE, pour m'avoir fait l'honneur d'être rapporteurs de ce travail et d'avoir participé au jury de la soutenance de thèse.

Je remercie Madame le Professeur Elisabeth CHARLAIX, du Laboratoire de Physique de la Matière Condensée et Nanostructures (LPMCN) de l'Université Claude Bernard Lyon 1, pour m'avoir fait l'honneur de participer au jury de soutenance de ma thèse, et pour les très

nombreux conseils qu'elle m'a offert au long de ce travail. Sa porte a toujours été ouverte, et elle a toujours trouvé le temps de répondre à mes questions sur les surfaces et interfaces. Je la remercie donc vivement pour cette grande disponibilité.

Je remercie également Monsieur le Professeur Jean-Louis ROCCA, directeur de l'équipe séparation du Laboratoire des Sciences et Stratégies Analytiques (LSSA) de l'Université Claude Bernard Lyon 1, pour m'avoir fait l'honneur de faire partie du jury de soutenance de ma thèse. Je le remercie également pour sa grande disponibilité, et sa collaboration efficace.

Ce travail de recherche, qui se veut relativement pluridisciplinaire, est le fruit d'un travail d'équipe et de nombreuses collaborations avec différents laboratoires.

Je tiens tout d'abord à remercier ici Monsieur Jean-Paul STEGHENS, Pharmacien Praticien Hospitalier au CHU Edouard Herriot de Lyon, qui m'a initié aux techniques séparatives et à l'analyse biologique au début de ma thèse. Un temps très précieux a été gagné grâce à ses nombreux conseils avisés.

Je remercie également toute l'équipe du Centre Inter-universitaire de Microélectronique de Grenoble (CIME), et tout particulièrement Monsieur Jean-Michel TERROT, qui dirige cette salle blanche, ainsi que Irène PHENG, Bruno GONZALES et Christian UZEL qui l'assistent dans cette tâche. Leur collaboration a été particulièrement efficace, et leur amical soutient très apprécié, notamment lorsque « ce qui doit marcher, marchait hier, ne marche plus aujourd'hui, et marchera peut-être demain »; ce que seuls les lecteurs ayant travaillé en salle blanche comprendront.

Je tiens à remercier tout particulièrement Mr Luc DENOROY, Directeur de Recherche CNRS à l'Unité INSERM U512 de l'Université Claude Bernard Lyon 1. Nous avons pu bénéficier de ses compétences pour disposer rapidement de molécules d'intérêt biologiques, et adaptées à la détection de fluorescence. Je le remercie donc pour sa très grande disponibilité, sa gentillesse et sa collaboration très fructueuse.

J’adresse mes vifs remerciements à Messieurs Christophe MALHAIRE et Mustapha LEMITI, Maîtres de Conférences aux Laboratoire de Physique de la Matière de l’INSA de Lyon, pour leur aide précieuse et leur collaboration très appréciée.

Je remercie très vivement les membres de l’équipe séparation du LSSA avec qui j’ai eut de nombreux et efficaces rapports professionnels. Je pense ici à Jérôme RANDON (qui a toujours pris le temps de répondre a mes questions sur l’ECZ), Claire DEMESMAY, tout deux maîtres de Conférences, et Myriam CRONIER DE BELLAISTRE, doctorante à l’époque de notre collaboration ; sans qui l’expérience de caractérisation des charges de surfaces de tubes capillaires serait restée stérile et sans intérêt réel. Je remercie aussi Nathalie BERTONCINI, chargée de Recherche CNRS, et Maximilien BLAS, qui est le doctorant qu’elle encadre, pour leur agréable collaboration.

Je remercie l’ensemble des personnes avec lesquelles j’ai eut de moindres contacts, mais qui ont apporté ponctuellement une aide très utile à ce travail. Je pense ici à Monsieur le Professeur Olivier VITTORI, Directeur du LSSA ; à Béatrice LECA-BOUVIER, Maître de conférence au Laboratoire de Génie Enzymatique et Moléculaire (LGEM) de l’Université Claude Bernard Lyon 1; à Jean-Paul RIEU, Cécile COTTIN-BIZONNE et Laurent JOLY respectivement maître de conférence, ex-doctorante et doctorant du LPMCN. Je remercie également François BESSUEILLE, ex-doctorant à de l’Ecole Centrale de Lyon pour sa très efficace recette de silanisation du silicium. Je remercie enfin les personnels des ateliers de mécanique de l’UFR GEP et de l’UFR de Physique : Sam BENICHOU, Olivier DUCLOS, Gérard GUIRAUD et Roger MERLETTE. Ils ont parfois tendance à être oubliés alors que leur travail est loin d’être négligeable. Merci donc à eux pour avoir toujours rapidement répondu à mes demandes diverses. Je remercie Agnès DEMESMAY, qui a aimablement relu ce mémoire avec une impressionnante acuité : un regard neuf, et un peu de finesse portée à ce document scientifique.

J’adresse ici ma sympathie, mon amitié, et ma gratitude aux membres du LENAC, pour leur gentillesse, leur aide parfois scientifique et technique, toujours morale, et qui m’ont soutenus dans certains moments difficiles. Merci donc aux autres doctorants du laboratoire : Aimad EL-MOURABIT, Loubna HANNATI, Génaro CARILLO et Tewfik CHERIFI. Merci aussi aux membres permanents du LENAC, avec dans le désordre : Laurent QUIQUEREZ, notre cycliste invétéré que je ne désespère pas d’initier à une autre forme de deux-roues ;

Patrick PITTET, la définition même de la polyvalence scientifique, à qui je doit un bâti plasma qui fonctionne et un montage optique optimal; Marie-Pierre SOCQUET dont le café m'a tenu en éveil plus d'un soir; Brice SORLI, impressionnant lève-tôt dont les nourritures ne sont pas toutes spirituelles, mais m'ont caler quelques soirées; Olivier MARTY, jamais à cours de réconfort, de sourires, ni d'idées ; Rosaria FERIGNO, dont j'ai pu profiter de l'expérience sur le PDMS ; et enfin Jean-François CHATEAUX, mon « padawan », longtemps « juste derrière » mais très bientôt « toujours devant ».

Mes derniers remerciements s'adressent à mes amis de l'université Luc, Fred et Julien, avec qui les franches rigolades permettent de décompresser. Je remercie aussi pour leur soutient moral mes deux amis les plus proches, Olivier et Pierre-Yves, qui ont compris, accepté et presque encouragé mon absence de ces derniers mois à cause d'un travail envahissant.

Enfin, le remerciement principal, qui sort du fond du cœur va….

A mes sœurs et à mon frère,
A mon grand-père,
A mes parents,
A Laurence, pour son amour et sa patience,
A mon fils Julien, qui vient de fêter sa première année,
A son frère ou sa sœur, c'est encore une surprise, que nous attendons avec impatience,

Je leur dédie cette thèse

Table des matières

Introduction générale **15**

1 INTRODUCTION A LA MICROFLUIDIQUE ET AUX TECHNIQUES SEPARATIVES 19

1.1 GENERALITES ET HISTORIQUE DE LA MICROFLUIDIQUE 21

1.2 FONCTIONNALITES ELEMENTAIRES D'UN SYSTEME MICROFLUIDIQUE 22

1.2.1 Mélange de molécules en solution 22

1.2.2 Préconcentration de molécules 25

1.2.3 Pompage de fluides 27

1.2.4 Détection de molécules dans des systèmes microfluidiques 32

1.3 LES TECHNIQUES SEPARATIVES 39

1.3.1 Généralités sur les techniques séparatives 39

1.3.2 Principe de l'électrophorèse capillaire de zone 40

1.3.3 L'électrophorèse capillaire de zone sur puce microfluidique 42

1.3.4 Intérêt de la miniaturisation des microsystèmes séparatifs 45

1.4 FABRICATION DE SYSTEMES MICROFLUIDIQUES : MATERIAUX ET METHODES 46

1.4.1 Matériaux durs : silicium et verre 46

1.4.2 Méthodes douces : microcanaux formés dans des polymères 54

1.5 CONCLUSION 60

2 ETUDE THEORIQUE ET EXPERIMENTALE D'ECOULEMENTS HYDRODYNAMIQUES DANS DES MICROSYSTEMES FLUIDIQUES 63

2.1 INTRODUCTION 65

2.2 RAPPELS THEORIQUES SUR LES ECOULEMENTS HYDRODYNAMIQUES CONFINES 67

2.2.1 Equation de Navier-Stokes 67

2.2.2 Cas particulier des écoulements microfluidiques : notion de résistance microfluidique 70

2.2.3 Résolution de l'équation de Navier-Stokes pour un écoulement laminaire 72

2.3 REALISATION DES MICROCANAUX ET DU BANC DE MESURE DE DEBITS MICROFLUIDIQUES 75

2.3.1 Réalisation des microcanaux : procédé de fabrication 75
2.3.2 Mesure de micro-débits hydrodynamiques 77
2.4 METHODE DE CALCUL DES RESISTANCES MICROFLUIDIQUES DANS LES MICROCANAUX REALISES, ET CONFRONTATION AVEC L'EXPERIENCE 81
2.4.1 Etude préliminaire des pertes de charge 81
2.4.2 Calcul des pertes de charge dans le système microfluidique expérimental 82
2.4.3 Calcul théorique, et mesure des résistances microfluidiques des microcanaux réalisés 86
2.5 DISCUSSION DES RESULTATS 90
2.5.1 Interprétation des résultats 90
2.5.2 Comparaison avec la littérature 91
2.5.3 Abaques de résistances microfluidiques 100
2.6 CONCLUSIONS 106
3 ETUDE THEORIQUE ET EXPERIMENTALE DU POTENTIEL z DE SYSTEMES MICROFLUIDIQUES 107
3.1 INTRODUCTION 109
3.2 INTERACTION SURFACE CHARGEE/ELECTROLYTE 110
3.2.1 Origine physique des charges de surface 110
3.2.2 Modèles de répartition des charges dans l'électrolyte 110
3.2.3 Equation de Poisson-Boltzmann 113
3.2.4 Résolution de l'équation de Poisson Boltzmann pour des électrolytes symétriques 114
3.2.1 Résolution de l'équation de Poisson Boltzmann pour des électrolytes asymétriques 117
3.2.2 Limites des modèles présentés 117
3.3 DETERMINATION DU POTENTIEL ZETA D'UN SYSTEME MICROFLUIDIQUE PAR COURANT D'ECOULEMENT 119
3.3.1 Intérêt de la mesure de z 119
3.3.2 Méthodes de mesure de z : avantages et inconvénients 120
3.3.3 Calcul du courant d'écoulement 121
3.4 RESULTATS EXPERIMENTAUX 131

3.4.1 Banc de mesure de courants d'écoulements *131*
3.4.2 Première série d'expériences : capillaires de silice *133*
3.4.3 Deuxième série d'expériences : capillaires enduits au Zircone *136*
3.4.4 Discussion des résultats *139*
3.5 CONCLUSIONS 142

4 SYSTEMES MICROFLUIDIQUES PDMS POUR LA SEPARATION DE MOLECULES BIOLOGIQUES PAR ELECTROPHORESE CAPILLAIRE DE ZONE (ECZ) 143

4.1 INTRODUCTION : ASPECTS GENERAUX SUR LES MICROSYSTEMES SEPARATIFS REALISES 145
4.2 CONCEPTION DU MICROSYSTEME SEPARATIF 149
4.2.1 Position du problème *149*
4.2.2 Première analyse qualitative *151*
4.2.3 Forme générale d'un pic de séparation *153*
4.2.4 Performance d'une séparation par ECZ *155*
4.2.5 Prise en compte des écoulements hydrodynamiques parasites *156*
4.2.6 Prise en compte des longueurs caractéristiques des microcanaux *159*
4.2.7 Conclusion : récapitulatif et analyse globale *163*
4.3 DETERMINATION EXPERIMENTALE DU POTENTIEL ZETA DE SURFACES DE PDMS OXYDEES 166
4.3.1 Intérêt de la mesure *166*
4.3.2 Stabilité temporelle du potentiel de surface du PDMS oxydé *167*
4.3.3 Influence du pH du tampon sur le potentiel z du PDMS oxydé *169*
4.4 MISE EN OEUVRE DU MICROSYSTEME SEPARATIF REALISE 171
4.4.1 Dessin du microsystème séparatif *171*
4.4.2 Réalisation du banc expérimental *172*
4.4.3 Séparation de cinq acides aminés *173*
4.4.4 Séparations multiples d'arginine et de glycine *176*
4.4.5 Influence de la tension appliquée sur les paramètres de séparation *180*
4.5 CONCLUSION 183

Conclusion générale **185**

Introduction générale

La microfluidique est une discipline scientifique jeune, foisonnante, et située au croisement de la physique, de la chimie et de la biologie. Elle s'intéresse à la compréhension, à la manipulation et à l'exploitation d'écoulements de fluides dans des systèmes de dimension microscopique. Une des promesses les plus attrayantes de la microfluidique est la réalisation de « Lab-on-chip », dispositifs permettant de regrouper sur une seule puce l'ensemble des fonctions d'un laboratoire de chimie analytique conventionnel : le mélange, la préconcentration, la séparation, la quantification, etc. Ainsi, à terme, les analyses deviendront portables, plus rapides, moins chères et plus flexibles. Cette thèse se propose de réaliser dans un premier temps les deux fonctionnalités élémentaires d'un tel système, c'est à dire la séparation et la détection de molécules biologiques. Pour cela, ce mémoire s'articule autour de quatre chapitres :

Dans le premier, un tour d'horizon de l'état de l'art en microfluidique est proposé au lecteur. Une bibliographie relative aux fonctionnalités rencontrées aujourd'hui dans ce domaine est proposée dans un premier temps. Les techniques séparatives sont ensuite décrites, avec notamment une discussion sur l'intérêt qu'apporte la miniaturisation de l'expérience d'électrophorèse capillaire de zone. Enfin, les matériaux et méthodes de réalisation de dispositifs microfluidiques sont présentés dans une dernière partie.

Dans un deuxième chapitre, une étude théorique et expérimentale sur les écoulements hydrodynamiques dans des microcanaux de profondeur de l'ordre de 20 µm est proposée. Cette étude nous a permis de valider les équations de Navier-Stokes à ces échelles géométriques, résultats non triviaux à priori et parfois en désaccord avec d'autres travaux de la littérature. Une discussion comparative des résultats obtenus clôt ce chapitre.

Un troisième chapitre propose une méthode expérimentale de détermination des charges de surfaces de systèmes microfluidiques de géométries quelconques. Cette détermination est importante pour la compréhension et l'anticipation des phénomènes électroosmotiques nécessaires à la séparation efficace de molécules en solution par électrophorèse capillaire de zone. Une validation expérimentale de la méthode est réalisée en collaboration avec des chimistes sur des tubes capillaires.

Enfin, un dernier chapitre présente la réalisation des microsystèmes séparatifs ainsi que leurs tests sur des séparations d'acides aminés. Ces microsystèmes sont fabriqués à partir de matériaux polymères et ils font appel à la séparation par électrophorèse capillaire de zone. Une méthode de détection originale par fibres optiques intégrées est mise en œuvre. Les implications techniques et théoriques induites par l'insertion des fibres optiques dans le microsystème sont discutées, et prises en compte dans la conception des géométries de ces systèmes. Les premiers résultats obtenus sont très encourageants, notamment en terme de vitesse de séparation et de stabilité temporelle.

1 Introduction à la microfluidique et aux techniques séparatives

1.1 Généralités et historique de la microfluidique

La microfluidique peut se définir comme l'ensemble des travaux ayant trait à la compréhension et à la manipulation d'écoulements de fluides (monophasiques ou multiphasiques) aux échelles microscopiques. Cela comprend l'étude de microcanaux (symétriques ou non), de pompes, de mélangeurs, de séparateurs, de micro réacteurs chimiques, de diffuseurs de gouttes, etc.…

Ce domaine de recherche est récent et très foisonnant : le premier article se réclamant de la microfluidique date de 1983 [1], et depuis le nombre d'études sur ce domaine a suivi une très forte croissance. Pour se faire une idée sur ce point, la figure 1.1 représente le nombre d'articles publiés dans des revues ou dans des conférences contenant l'occurrence « microfluidic » en fonction de l'année de publication, par une recherche sur la base de données INSPEC :

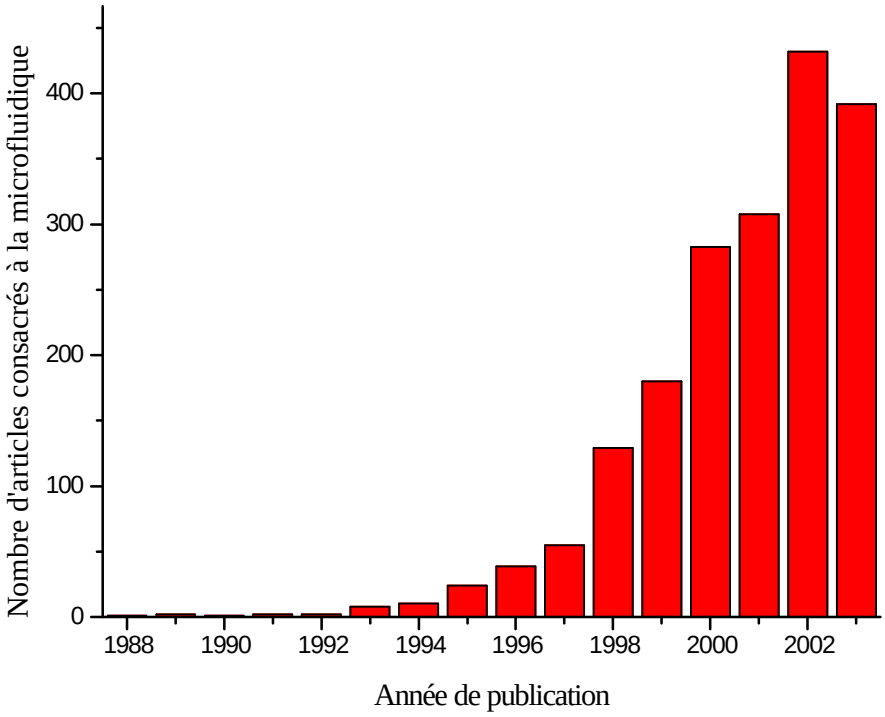


Figure 1.1 : Emergence des travaux de recherche en microfluidique

1.2 Fonctionnalités élémentaires d'un système microfluidique

Nous allons présenter ici quelques réalisations actuelles parmi les plus courantes de la microfluidique, afin de placer le travail de cette thèse dans un contexte plus général et de le mettre en perspective. Une des promesses les plus attrayantes de la microfluidique concerne la réalisation de « lab-on-chip », littéralement « laboratoires sur puce », qui se proposent de concentrer et d'intégrer sur un seul microdispositif l'ensemble des activités pratiquées habituellement dans un laboratoire de chimie analytique ou de biologie médicale.

La phase de séparation de molécules, qui est le sujet de cette thèse, n'est qu'une des activités parmi d'autres que doit réaliser un laboratoire sur puce, qui sont : le mélange de produits, la préconcentration de molécules, la séparation, le pompage de liquides, et la détection. On se propose dans ce chapitre de faire un tour d'horizon bibliographique des résultats présentés dans la littérature sur ces fonctionnalités microfluidiques.

1.2.1 Mélange de molécules en solution

Considérons, pour simplifier le problème, un système de mélange de deux solutions soumises à un écoulement. Dans un système fluidique de dimension classique, le mélange des deux molécules ne pose à priori pas de problème particulier. En effet, les turbulences dues aux grandes dimensions assurent à chaque molécule un trajet chaotique et donc une grande interpénétration des liquides introduits.

Pour un système microfluidique simple, les écoulements sont toujours laminaires (cf. chapitre 2), ce qui interdit l'établissement par définition les turbulences. Le mélange est alors uniquement dû à la diffusion des molécules, et considérablement réduit par rapport au cas de l'écoulement turbulent [2-5]. La figure 1.2 permet d'observer une telle zone de mélange dans un canal de section 90 µm * 90 µm pour un nombre de Reynolds (défini au deuxième chapitre) égal à 0.4 [2]:

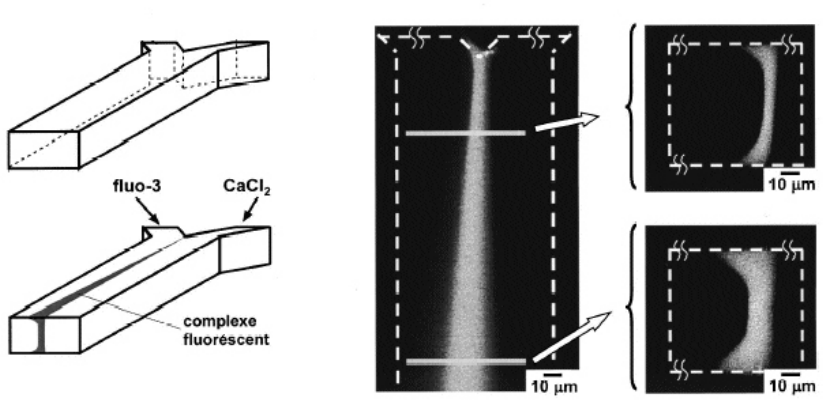


*Figure 1.2 : Mélange par diffusion de deux solutions aqueuses dans un canal microfluidique et à bas nombre de Reynolds (0.4). La section du canal est égale à 90 µm * 90 µm. Issu de [2].*

Pour palier cette difficulté, une première méthode consiste, lorsque cela est possible, à jouer sur la géométrie de l'écoulement pour améliorer l'efficacité de la diffusion des molécules, soit en diminuant sa largeur [6], soit en augmentant sa longueur (i.e. le temps de trajet, [7]). En effet, en considérant uniquement le processus de diffusion, les équations de diffusion indiquent qu'une molécule d'arginine ($D=0.5*10^{-5}$ cm^2/s) a besoin en moyenne de 14 secondes pour parcourir un canal de 30 µm de large, contre 350 secondes pour parcourir un canal de 150 µm de large. Mais ces modifications géométriques ont le défaut de diminuer considérablement le débit des écoulements (cf. abaques du chapitre 2), ce qui peut être rédhibitoire pour certaines applications.

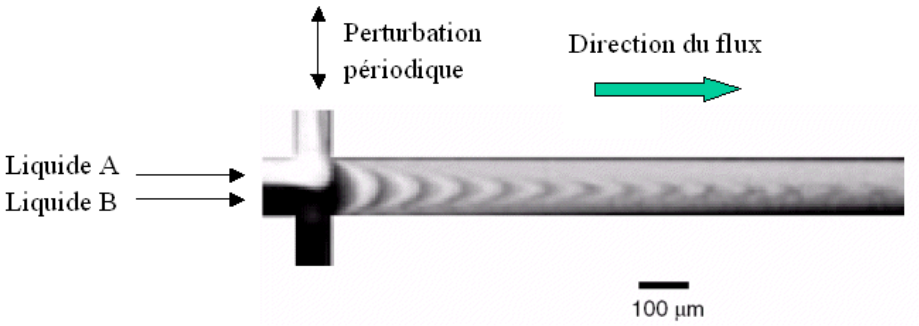
Notons ici qu'il est possible de réduire la dimension de la zone de mélange par une méthode de focalisation hydrodynamique [3,8], i.e. sans modifier la dimension ni la disposition des microcanaux. Il s'agit ici d'introduire des écoulements transverses de part et d'autre de l'écoulement principal, le contraignant ainsi à réduire ses dimensions, qui peuvent être ajustées par les débits des différents écoulements.

Une deuxième méthode de mélange microfluidique consiste à imposer au système des perturbations susceptibles d'introduire une contribution chaotique à l'écoulement, sans diminuer la section du microcanal, donc en conservant les caractéristiques laminaires. Ces perturbations peuvent avoir lieu :

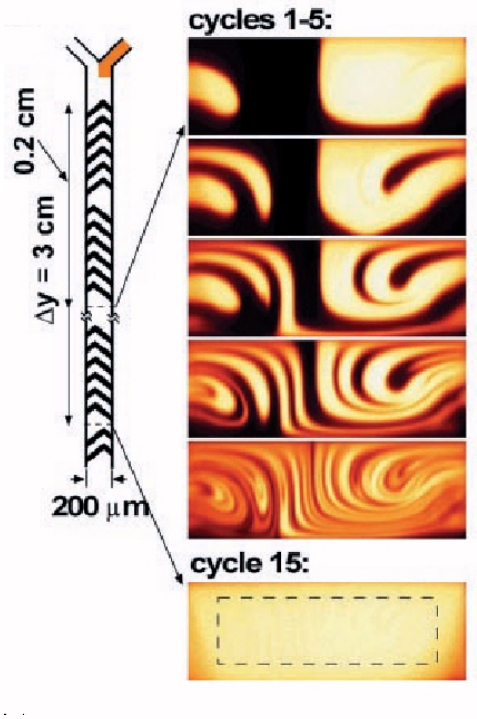
(1) Soit à la jonction des canaux d'arrivées de produits, avec par exemple des perturbations hydrodynamiques périodiques transverse simples (figure 1.3.a, [9,10]), ou multiples [11].

(2) Soit dans le microcanal de séparation, avec par exemple l'insertion de chevrons croisés sur une des parois du canal (perturbation hydrodynamique, figure 1.3.b [12]), ou par l'application de champs électriques diélectrophorétiques [13].

La figure 1.3 propose deux résultats expérimentaux proposés dans la littérature avec de tels dispositifs :



a) Perturbations hydrodynamiques sur la zone de jonction ([9])



b) Perturbations hydrodynamiques dans le canal de mélange ([12])

Figure 1.3 : Mélangeurs microfluidiques chaotiques

1.2.2 Préconcentration de molécules

Lors d'une analyse d'un mélange liquide très complexe (ce qui est souvent le cas avec des échantillons biologiques), il arrive parfois qu'il soit nécessaire de réaliser un premier tri avant la séparation et la quantification, afin de conserver les molécules d'intérêt et donc de simplifier le signal de séparation. D'autre part, les concentrations de ces molécules peuvent être inférieures aux seuils de détection du système de quantification, et il devient alors nécessaire de les augmenter localement avant la phase de séparation. Ces deux tâches peuvent être réalisées, simultanément ou non, dans une cellule de préconcentration microfluidique :

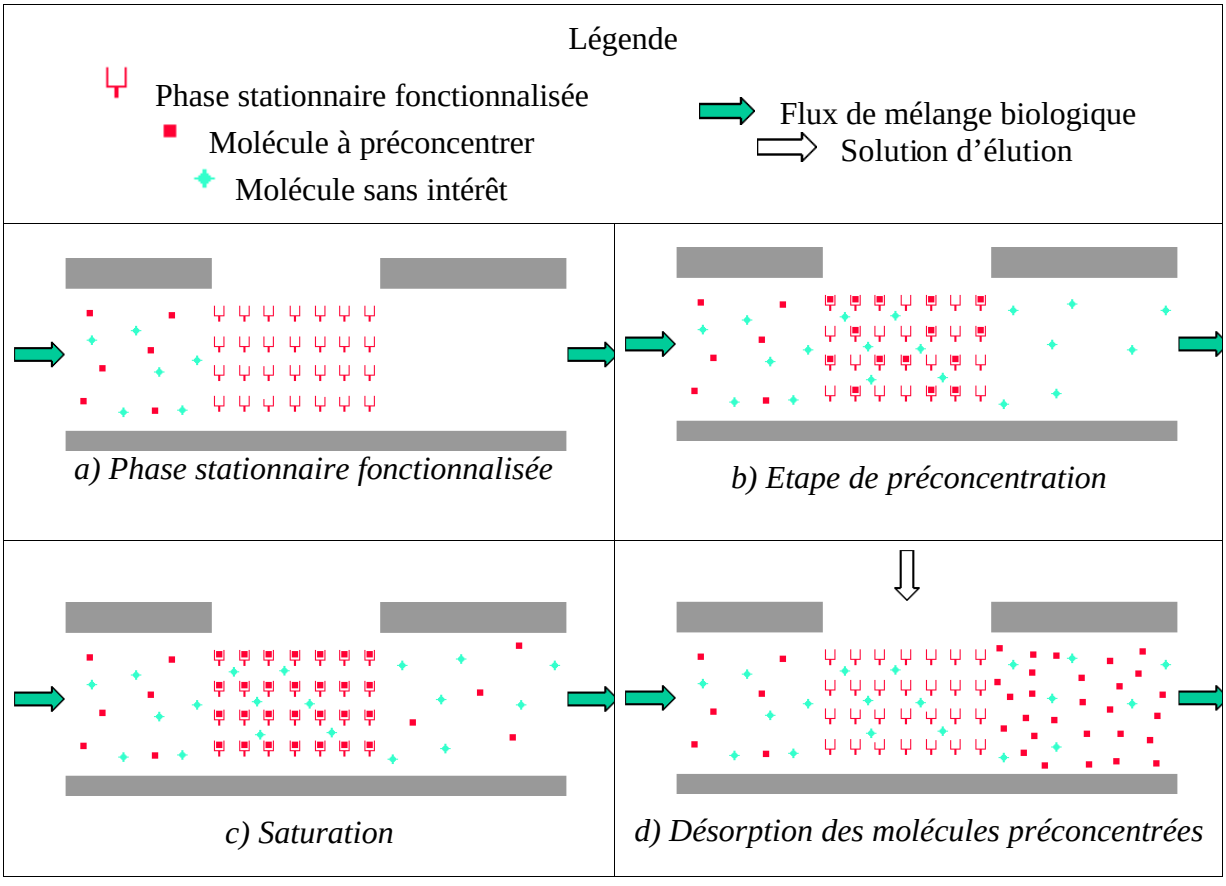


Figure 1.4 : Principe schématique de la préconcentration microfluidique en vue d'une amplification de la concentration

Le principe schématique d'une cellule de préconcentration est présenté en figure 1.4. Le microcanal est rempli en un endroit donné d'une phase stationnaire fonctionnalisée, c'est à dire possédant une interaction spécifique avec certaines molécules d'intérêt du mélange

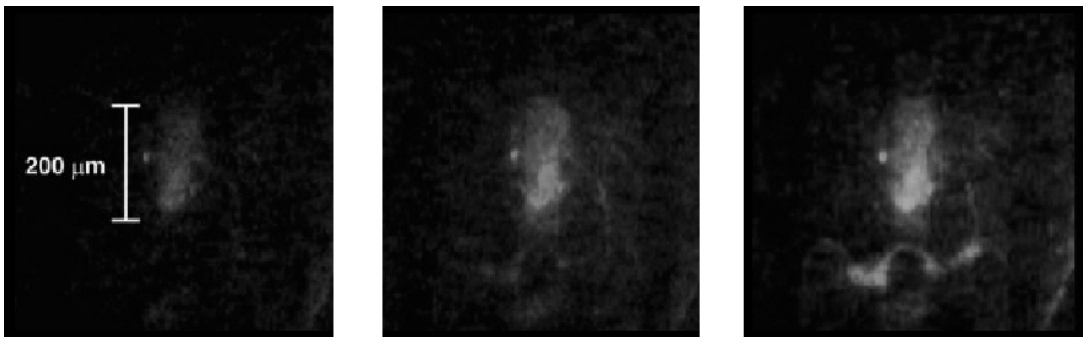
biologique (figure 1.4.a). Durant la phase de préconcentration, les molécules à fixer sont retenues dans la phase stationnaire, tandis que les molécules sans intérêt sont expulsées de la zone de préconcentration par le flux de liquide (figures 1.4.b et 1.14.c). En dernier lieu, les molécules préconcentrées sont désorbées par l'action d'une solution d'élution introduite dans le système (figure 1.4.d).

Il apparaît que la fonctionnalisation de la zone de préconcentration est le paramètre essentiel de la méthode de préconcentration. Or il existe sur ce point plusieurs solutions proposées dans la littérature :

Thomas et al. [14] proposent par exemple de marquer la zone de préconcentration par des anticorps ciblés sur les molécules à préconcentrer qui jouent le rôle d'antigènes, il s'agit alors d'une « immunoconcentration ». Des billes magnétiques ont été utilisées pour manipuler ces systèmes anticorps, et des études sont en cours au LENAC pour intégrer ces billes dans des microcanaux. Des interactions chimiques plus rudimentaires peuvent parfois suffire pour fixer les molécules [15].

Dans le cas de la préconcentration d'ADN, Khandurina et al. proposent une préconcentration de deux ordres de grandeur par l'intermédiaire d'une membrane poreuse [16,17].

Enfin, Huber et al. [18] sont parvenus à moduler l'interaction entre les molécules à préconcentrer et la surface fonctionnalisée, en modifiant la température de cellule de préconcentration par un module Peltier intégré à la puce (figure 1.5) :



t=0.0 sec *t=0.8 sec* *t=1.0 sec*

Figure 1.5 : Images de fluorescence d'une préconcentration d'un complexe myoglobine-fluorescéine à différents instants après le début du chauffage de la cellule de préconcentration [18].

1.2.3 Pompage de fluides

Pompes hydrodynamiques

Pompes externes

La solution qui vient en premier à l'esprit pour déplacer des fluides dans un système microfluidique consiste à utiliser les dispositifs classiques macroscopiques. Les écoulements sont alors imposés par des éléments externes au système microfluidique, soit des pousse-seringues (consigne en débit), soit des systèmes pneumatiques (consigne en pression). Mais l'expérience montre que cette solution n'est pas la plus avantageuse, en raison notamment de la difficulté à réaliser des connectiques macro/microfluidiques simples et fiables, c'est à dire sans fuites. Ce point n'est pas souvent discuté dans la littérature, alors qu'il est pourtant essentiel [3].

Nous avons toutefois utilisé cette méthode pour les mesures d'écoulements hydrodynamiques dans des microcanaux présentées au chapitre 2, et pour les caractérisations de charges de surfaces par courants d'écoulements présentées au chapitre 3. En ce qui concerne la liaison entre les éléments externes et les microcanaux réalisés dans du silicium, nous avons opté pour une méthode originale par la tranche ; via des tubes capillaires pour lesquels des produits commerciaux existent sur le marché, simplifiant ainsi grandement la connectique.

Pompes internes

Pour palier les problèmes de connectique, une solution consiste à intégrer une ou plusieurs pompes dans le système microfluidique, au prix d'une complexification du système. Ces pompes utilisent toutes globalement le même principe de fonctionnement, présenté en figure 1.6 : une cavité gravée dans le système microfluidique se voit imposer une variation temporelle de son volume par l'intermédiaire d'une membrane placée sur l'une de ses faces. Afin d'imposer un écoulement net dans le système, des microcanaux asymétriques, que l'on peut assimiler à des diodes microfluidiques, sont placés en amont et en aval de la cavité. On peut faire ici l'analogie avec un redressement électronique effectué par une ou plusieurs diodes en série avec un générateur sinusoïdal.

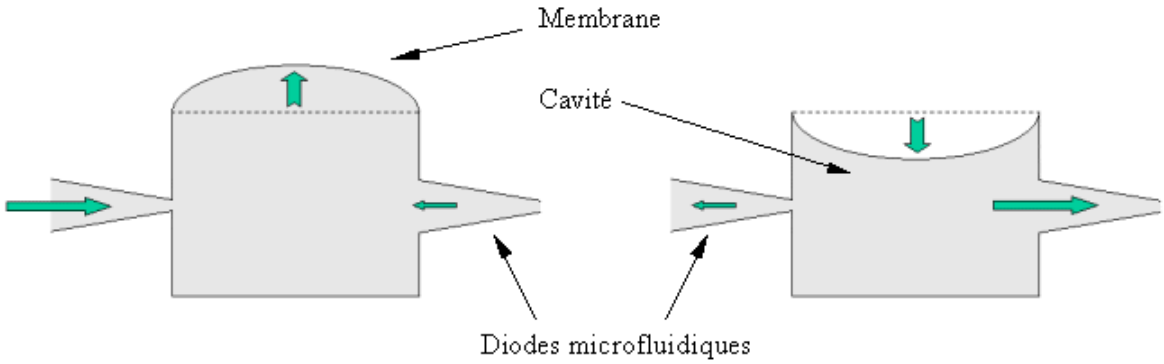
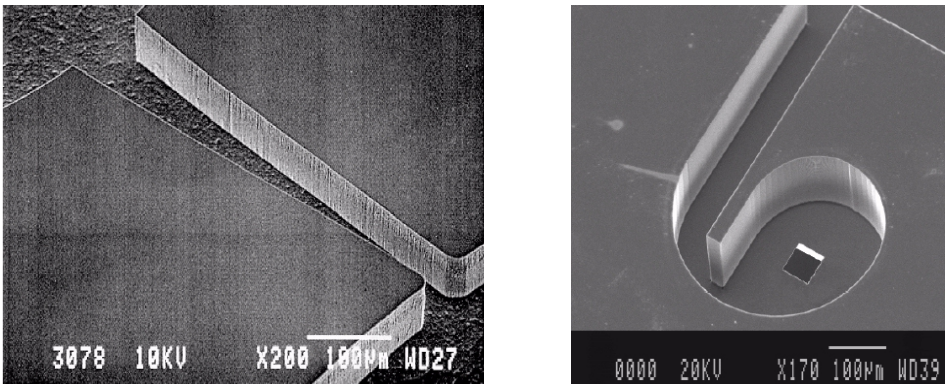


Figure 1.6 : Pompage hydrodynamique interne dans un système microfluidique

Le débit d'une telle pompe sera conditionné par trois paramètres : le volume déplacé par une oscillation de la membrane, la fréquence de ces oscillations; et l'efficacité des diodes microfluidiques, i.e. le rapport entre les débits obtenus suivant le sens de l'écoulement. L'optimisation géométrique de l'efficacité des diodes microfluidiques représente en soit une question non triviale à résoudre [19-27]. Il est reporté que l'efficacité d'une diode microfluidique décroît avec ses dimensions, et donc avec les nombres de Reynolds des écoulements associés [19].



Diode convergente/divergente 2D [23] *Diode vortex 3D [19]*

Figure 1.7 : Diodes microfluidiques

Un grand nombre de pompes hydrodynamiques internes ont été réalisées dans la littérature, aussi nous bornerons nous à citer seulement quelques réalisations. La différence principale entre ces travaux réside dans la manière de déplacer la membrane de la cavité du système. Ces actionneurs peuvent être piézoélectriques [28,29], électrostatiques [29-31], ou encore thermo-pneumatiques [32].

1.2.3.1 Pompes électrocinétiques : l'électro-osmose

Principe

L'électro-osmose peut se définir en première lecture comme un transfert d'énergie électrique en énergie cinétique. La figure 1.8 permet d'en comprendre le mécanisme :

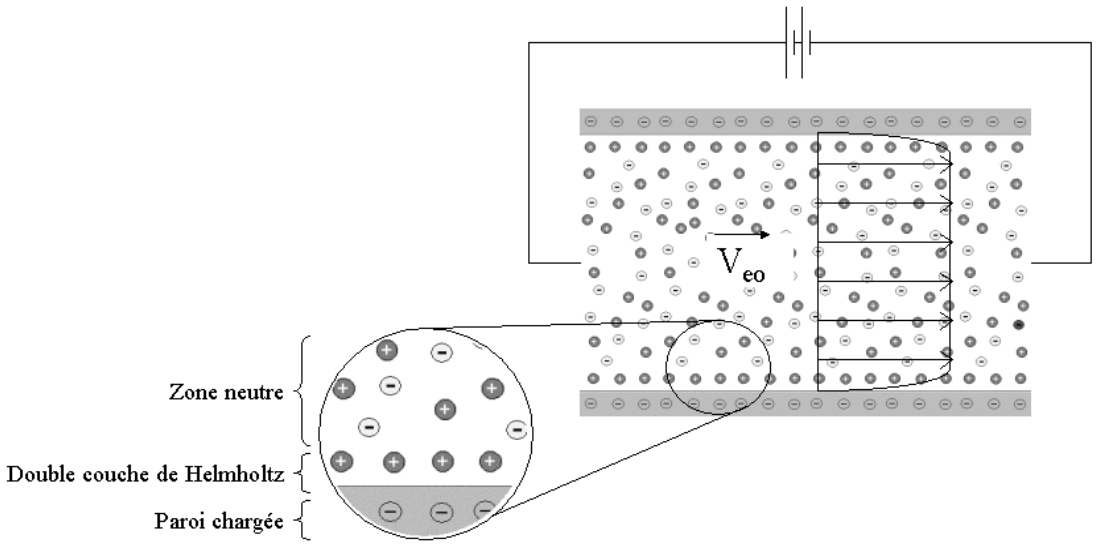


Figure 1.8 : Principe de l'électroosmose

Soit une coupe d'un canal, dont la surface est chargée lorsqu'elle est en contact avec un électrolyte. Ce point sera discuté en détail au chapitre 3, et nous ne considérerons ces charges que de manière qualitative pour l'instant. On choisira ici comme hypothèse que la paroi est chargée négativement.

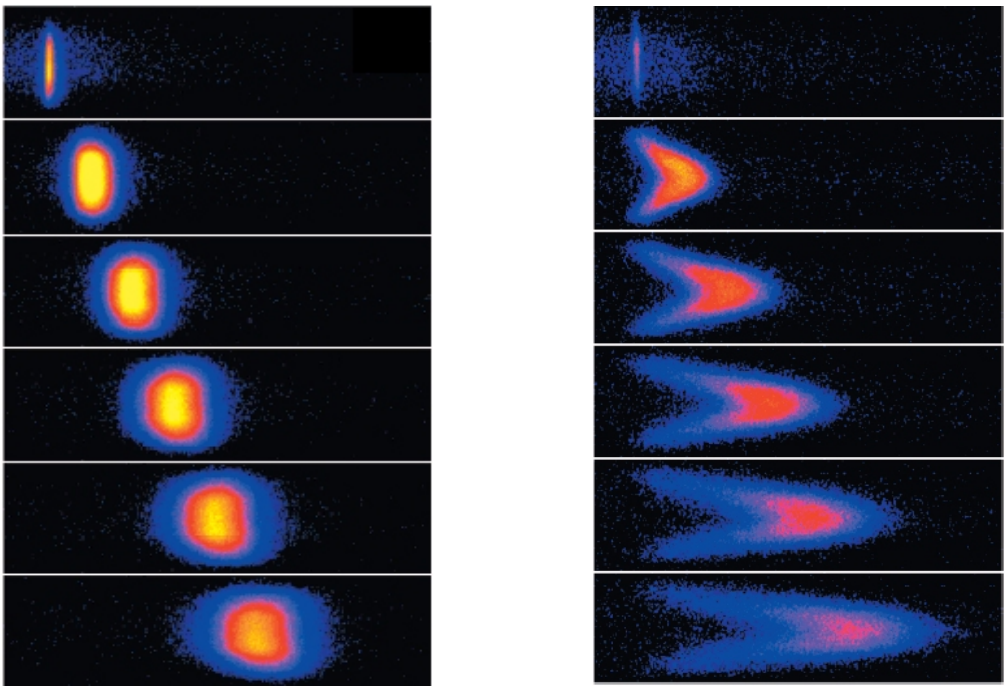
Cette charge négative est compensée dans l'électrolyte par une couche de contre-ions positifs, placés près de la paroi appelée double couche de Helmholtz, et dont l'épaisseur est typiquement égale à quelques centaines de nm. Ces ions positifs sont libres, contrairement aux charges négatives liées à la paroi. Au cœur du canal, le liquide est globalement neutre, et l'influence électrique de la paroi est nulle grâce à l'écrantage de la double couche de Helmholtz.

Lorsque l'on applique un champ longitudinal au canal, les ions situés dans la double couche de Helmholtz migrent le long de la paroi suivant les potentiels appliqués. Par frottements des ions sur les molécules du fluide, puis par frottement des molécules du fluide

entre elles, i.e. par viscosité, un écoulement net est induit dans le canal, avec une vitesse homogène sur la section en première approximation [33-36]. La vitesse électroosmotique du fluide est alors proportionnelle au champ électrique dans le canal (cf. paragraphe 1.3.2).

Intérêt de l'électroosmose pour les micro-systèmes séparatifs

Comme précisé au chapitre précédent, les écoulements électroosmotiques induisent un front de vitesse plat dans le microsystème fluidique. Or, à contrario, les profils de vitesse des écoulements hydrodynamiques sont de forme parabolique, ou approchante si la section du microcanal est complexe (cf. chapitre 2). Or, ces profils de vitesse ont un impact négatif sur la qualité d'un système séparatif, car ils induisent une dispersion supplémentaire à la seule diffusion moléculaire. Nous reviendrons en détail sur ce point au chapitre 4. Pour illustrer ce propos, la figure 1.9 présente deux images en coupe d'écoulements respectivement électroosmotiques (figure 1.9.a) et hydrodynamiques (figure 1.9.b) d'un échantillon de produit dans un canal, réalisées par Ross et al. [37]. On y voit nettement l'intérêt de déplacer les fluides par électroosmose :



a) Ecoulement électroosmotique *b) Ecoulement hydrodynamique*

Figure 1.9 : Conséquences des écoulements sur la forme des échantillons et sur leur diffusion (issu de [37])

1.2.3.2 Autres types de pompes microfluidiques

Nous proposons de clore ce paragraphe par la présentation de trois autres modes de déplacements de fluides dans des systèmes microfluidiques.

Le premier concerne une méthode alternative de pompage électrocinétique, ne nécessitant pas de haute tension comme dans le cas de l'électroosmose. Cette méthode consiste à appliquer des faibles tensions variables sur des structures d'électrodes inter-digitées placées sur une des parois du microcanal. Des articles théoriques expliquent en détail les phénomènes à l'origine du déplacement des fluides, qui dépassent le cadre de cette thèse [38-40]. Citons simplement que les écoulements sont dus principalement à des asymétries introduites dans le dessin des électrodes et/ou dans l'application des potentiels (figure 1.10), ainsi qu'au fait que les électrodes sont placées à de faibles distances les unes des autres, de l'ordre du micron [39,41]. Quelques dispositifs expérimentaux ont été réalisés [41-43].

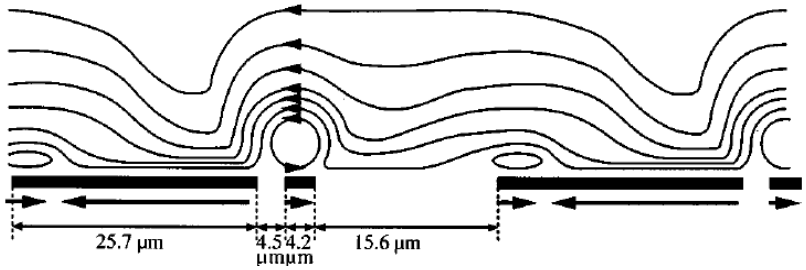


Figure 1.10 : Déplacement de fluide par application de tensions sinusoïdales sur des électrodes asymétriques interdigitées (issu de [41])

Lorsque que le fluide présente une surface libre, par exemple sous la forme d'une goutte posée sur un solide, il peut être déplacé grâce à des différences de tensions de surface imposées par des potentiels, des températures, etc. [44-46]. La figure 1.11 présente l'exemple d'un tel déplacement de goutte par effet électrostatique (ici de la gauche vers la droite). Ce type de déplacement peut être utilisé par exemple pour des mélanges de produits chimiques, car il apparaît que la fusion entre deux micro-gouttes de liquide par ce procédé permet un mélange très efficace. Notons cependant qu'à notre connaissance, aucune équipe n'a pu à ce jour connecter un tel système avec des microcanaux fermés.

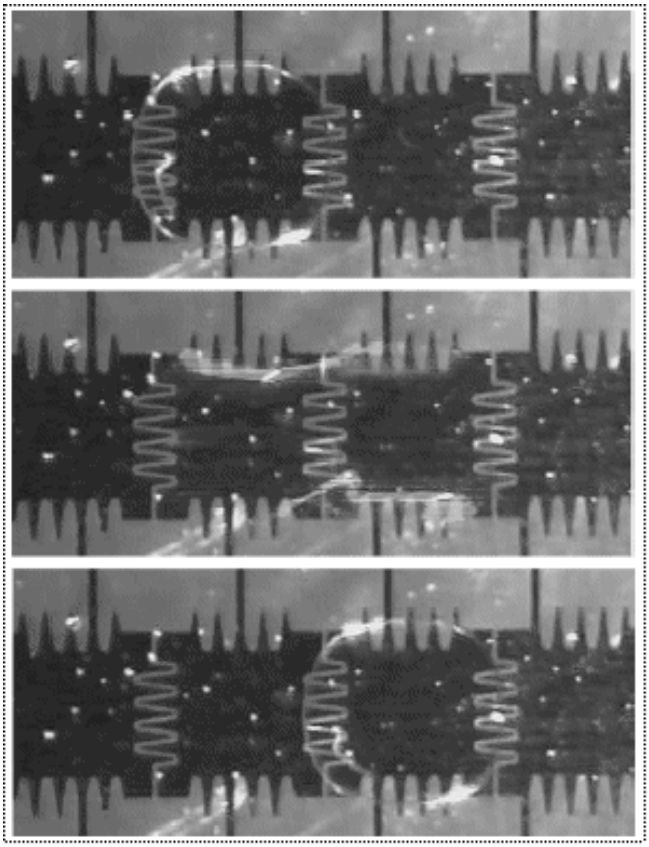


Figure 1.11 : Déplacement d'une goutte d'eau par effets électriques (issu de [45])

Notons enfin qu'à défaut de déplacer des fluides, il est possible sous certaines conditions de déplacer les corps introduits dans ces fluides. Citons ici la diélectrophorèse qui permet notamment de déplacer des cellules biologiques dans des dispositifs microfluidiques [47-52]. Certaines équipes exploitent ce phénomène pour la cytométrie [53-55].

1.2.4 Détection de molécules dans des systèmes microfluidiques

1.2.4.1 Méthodes électrochimiques

Les méthodes de détection électrochimique présentent deux avantages majeurs, qui en font de bons candidats pour la détection de molécules en solution dans des microsystèmes

séparatifs [56-66] : elles sont facilement intégrables [59,66], et ne nécessitent généralement pas de marquage particulier [61].

Il existe trois modes de détection électrochimique :

(1) Le mode conductimétrique, qui consiste à mesurer la résistance électrique d'un électrolyte, et par suite sa conductance. Cette méthode est très universelle car elle fonctionne pour la détection de toute molécule chargée en solution, comme par exemple le paracétamol, la créatinine, ou le glucose [64]. La conductance est proportionnelle à la concentration en ions de la solution, et des détections sont proposées pour des concentrations typiquement de l'ordre de la dizaine de µmol/l [61,63]. La limitation en sensibilité de cette méthode provient principalement de son manque de sélectivité, qui induit des fluctuations de signal produites par les ions du tampon qui perturbent la ligne de base [63].

(2) Le mode potentiométrique, qui consiste à mesurer des différences de potentiel à travers des membranes semi-perméables, sélectives aux ions à détecter. Ce mode est statique du point de vue des électrodes de mesures puisqu'il se produit à courant électrique nul [61,63]. La différence de potentiel entre deux électrodes de travail est proportionnelle au logarithme de la concentration des ions ; et il est ainsi possible de détecter des ions dans un microcanal jusqu'à des concentrations typiquement égales à 1 µmol/l [65].

(3) Le mode ampérométrique, qui consiste à fixer un potentiel à une électrode de travail, et à mesurer les fluctuations temporelles du courant [56-61]. Il est à noter que dans ce mode de travail, les processus de transfert de charges aux électrodes ne sont pas toujours possibles avec certaines molécules biologiques car elles ne sont pas électroactives. Dans ce cas, le principe de détection devient plus complexe. Les concentrations mesurées par cette méthode peuvent être de l'ordre du µmol/l dans des microcanaux pour des échantillons de molécules biologiques appropriées, comme par exemple de l'acide urique [66], ou des composés catéchols [59].

Notons ici que ces méthodes électrochimiques ont pour inconvénient majeur une certaine complexification dans la fabrication des dispositifs puisqu'une lithographie et un dépôt métallique sont nécessaires pour réaliser les électrodes de mesure, avec parfois des

difficultés d'alignement de ces électrodes par rapport aux microcanaux. On note aussi une passivation des électrodes dans certains cas, ce qui limite leur durée de vie.

1.2.4.2 Méthodes optiques

Les méthodes de détection optique sont les plus utilisées pour l'électrophorèse sur puce, et peuvent se classer en deux catégories : les méthodes d'absorbance, et les méthodes de fluorescence.

Absorbance

L'absorbance optique est la faculté intrinsèque de toute molécule à absorber tout ou partie d'un flux lumineux incident. Le spectre d'absorbance, souvent situé dans l'UV, est une signature de la molécule considérée; et son amplitude est proportionnelle à la quantité de molécules présentes dans le volume de mesure.

Cette méthode de mesure est très utilisée dans les systèmes commerciaux d'électrophorèse capillaire, mais assez peu exploitée dans le cas des puces pour l'électrophorèse à cause notamment d'une faible sensibilité [67-72]. Suivant les sources optiques utilisées et les configurations géométriques permises par le système, les concentration minimales détectables par cette méthode sont de l'ordre du µmol/l.

Fluorescence

Les méthodes de détection de molécules par fluorescence sont nettement plus utilisées que les méthodes d'absorbance dans la littérature. Ceci s'explique par deux aspects très favorables à cette méthode de détection. Tout d'abord, les systèmes de détection par fluorescence, dont nous détaillerons le principe et la mise en œuvre plus loin, sont souvent relativement simples à utiliser et à régler pour des puces séparatives. Ceci est un peu moins vrai pour des tubes capillaires [73-76]. En second lieu, l'expérience montre que les méthodes de fluorescence sont très sensibles par rapport aux méthodes d'absorbance. Typiquement les concentrations couramment mesurées par fluorescence sont de l'ordre du nmol/l, voir en deçà en raffinant le dispositif expérimental [73,77,78]. Par exemple, Jiang et al. sont parvenus à mesurer des concentrations de CY-5 égales à 9 pmol/l dans un canal microfluidique, soit 900

molécules dans le volume considéré [73]. La figure 1.12 [67] est une bonne illustration de la sensibilité des techniques de fluorescence, à comparer avec les mesures d'absorbance :

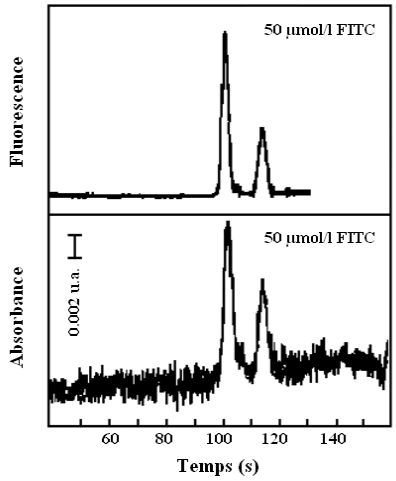


Figure 1.12 : Détection simultanée par absorbance et par fluorescence d'un pic de 50 µmol/l de FITC dans un canal microfluidique (issu de [67])

La mise en œuvre de la détection de fluorescence dans un microcanal peut se faire de deux manières. La première, qui est abondamment employée, utilise un microscope confocal de fluorescence avec une première voie pour l'excitation (un LASER dans la très grande majorité des cas) et une seconde voie pour la mesure du signal d'émission de fluorescence, via un détecteur optique (figure 1.13) [77,79-86]. L'inconvénient majeur de cette méthode est l'encombrement du microscope confocal, qui empêche la portabilité du système :

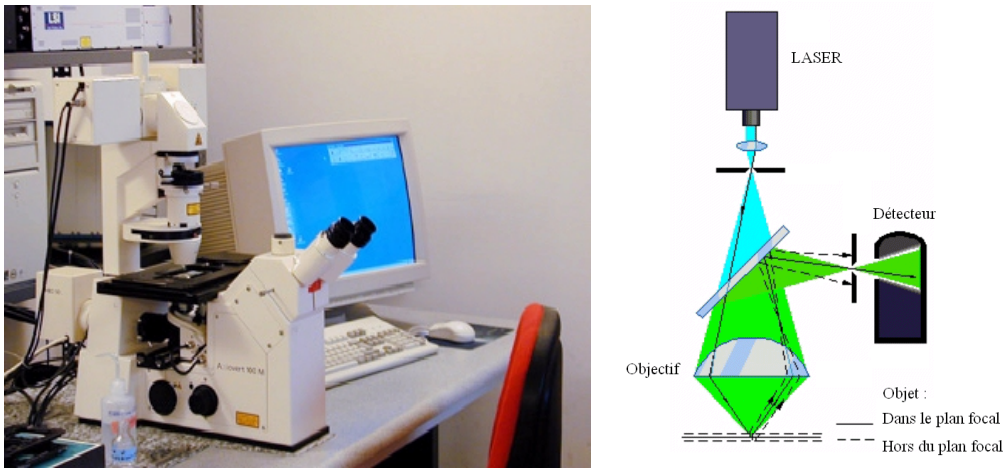


Figure 1.13 : Banc de détection par microscopie confocale de fluorescence

Une seconde voie, plus originale, consiste à intégrer la détection de fluorescence dans le microsystème séparatif. A notre connaissance, très peu de travaux ont été effectués sur ce sujet, mais leurs résultats sont encourageants [87-91]. Nous avons pour notre part choisit cette solution de travail, et nous reviendrons en détail au chapitre 4 sur les conséquences d'un tel choix sur les choix de réalisation technique des canaux, ainsi que sur la physique des écoulements dans les microcanaux.

La détection de fluorescence souffre d'un défaut majeur qu'il convient de signaler ici : la très grande majorité des molécules d'intérêt biologique ont des rendements quantiques faibles. De plus, dans une solution biologique typique, les longueurs d'ondes d'excitation des différentes molécules ne sont pas nécessairement compatibles. Une solution consiste alors à dériver les molécules biologiques par un fluorophore. Ceci ajoute alors une étape de complexification expérimentale : soit en dérivant les molécules avant injection dans le système ; soit en prévoyant une zone de dérivation, donc de mélange, dans le système séparatif microfluidique [80] (cf. paragraphe 1.3.3).

1.2.4.3 Spectrométrie de masse

La spectrométrie de masse est, par nature, une méthode de détection universelle, et elle est utilisée de manière couplée à l'électrophorèse sur tube capillaire depuis une quinzaine d'années [92]. Schématiquement, la spectrométrie de masse consiste à déplacer sous un champ électrique et/ou magnétique des molécules préalablement ionisées, et dont la trajectoire et/ou le temps de vol dépendent du rapport masse/charge. La quantification des espèces chimiques, très sensible puisque typiquement de l'ordre du nmol/l [93-96], est réalisée le plus souvent par un dispositif multiplicateur d'électrons similaire à un celui d'un photomultiplicateur. Dans le cas d'un spectromètre de masse, la première création de charges fait appel à une émission secondaire d'électrons créée par l'interaction des ions accélérés dans le spectromètre avec la matière.

La connectique entre le canal microfluidique et le spectromètre de masse se fait la plupart du temps : soit via un capillaire de transfert [94,95], soit via un orifice (souvent de forme pointue) prévu en sortie du dispositif pour diffuser les gouttes d'échantillons [96-101].

La figure 1.14 propose un tel type de couplage via capillaire, en sortie d'un microsystème séparatif par électrophorèse :

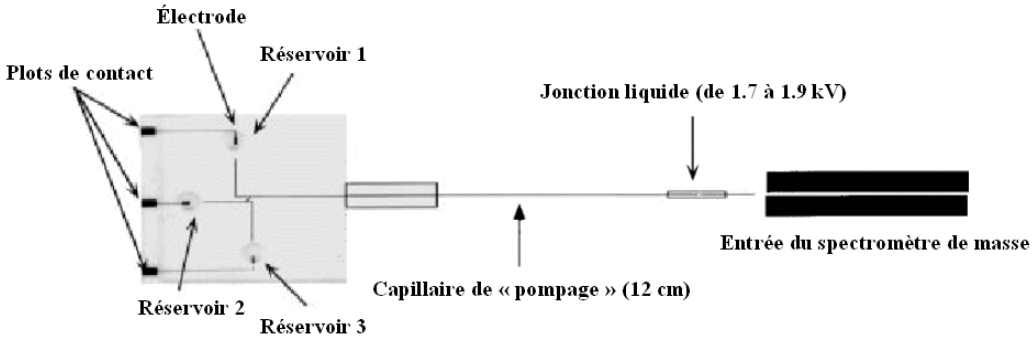


Figure 1.14 : Electrophorèse capillaire sur puce couplée, via un capillaire, à une détection par spectrométrie de masse (issu de [94])

Notons pour conclure sur ce point qu'à part de rares tentatives de miniaturisation de la zone de champ accélérateur [93], la spectrométrie de masse n'est pas une méthode expérimentale intégrée, ni intégrable à court ou moyen terme. Elle reste donc réservée aux laboratoires fixes, et interdit dans sa configuration actuelle la réalisation d'un dispositif complet de type lab-on-a-chip.

1.2.4.4 Autres méthodes de détection

Les méthodes de détection décrites dans les trois paragraphes précédents sont de très loin les plus abondamment rencontrées dans la littérature. Elles ne doivent cependant pas occulter d'autres techniques plus originales, parmi lesquelles nous pouvons citer des détections microfluidiques par spectrométrie Raman [102], par holographie [103], ou par résonance magnétique nucléaire [104].

1.2.4.5 Choix d'une méthode de détection

Ce tour d'horizon des techniques de mesure de molécules biologiques en solution dans des systèmes microfluidiques montre une très grande diversité des solutions possibles et des résultats correspondants.

Cela induit d'adapter un dispositif de mesure aux molécules envisagées et à leurs concentrations attendues. Pour résumer ces différentes approches expérimentales, il semble raisonnable de classer ces méthodes suivant trois critères : l'intégration possible ou non dans les systèmes, la sensibilité, et la gamme des molécules détectables.

Les détections électrochimiques sont facilement intégrables, au prix d'un alourdissement des processus de fabrication. Suivant le mode choisi, ces méthodes peuvent être soit très sensibles (potentiométrie, ampérométrie), mais à un nombre restreint de molécules ; soit très universelles (conductimétrie) mais alors peu sensibles dans ce cas.

Les techniques de spectrométrie de masse sont à la fois sensibles et universelles de part leur principe physique. Toutefois, l'appareillage expérimental associé est très coûteux, complexe et volumineux : il ne semble pas être intégrable à court ou moyen terme.

Les modes de détection par fluorescence sont très sensibles, et peuvent être rendus universels par la dérivation des molécules d'intérêt par un fluorophore. Ces techniques sont globalement peu intégrées à l'heure actuelle, mais cette voie reste permise et semble promise à des développements futurs certains. L'intégration de la détection de fluorescence est la voie que nous avons choisie pour cette thèse.

1.3 Les techniques séparatives

1.3.1 Généralités sur les techniques séparatives

La chimie analytique a pour but l'identification et la quantification des constituants chimiques d'un échantillon de matière. Pour se faire, une analyse chimique peut se décomposer en trois phases : la préparation de l'échantillon, la séparation des constituants de cet échantillon, que l'on nomme analytes, et leur quantification.

La quantification des analytes fait appel aux méthodes de détection évoquées au paragraphe 1.2.4 nous ne reviendrons donc pas sur ce point ici. La préparation des échantillons n'est pas du ressort de cette thèse et ne sera donc pas non plus discutée ici. Le dernier point, la séparation des analytes, est le thème de ce paragraphe, et nous allons aborder ici les méthodes qui ont été utilisées à cette fin.

Il existe de nombreuses méthodes permettant de séparer les molécules d'un échantillon, dont le choix est conditionné par la nature des molécules à séparer. Citons ici les méthodes chromatographiques en phases liquides (pour des molécules non volatiles) ou en phase vapeur (pour des molécules volatiles), qui séparent les molécules par un principe de temps de rétention différents lors de leur trajet dans une phase stationnaire avec laquelle elles interagissent plus ou moins selon leur nature [105]. La chromatographie en phase liquide est par exemple très adaptée pour séparer des composés électriquement neutres.

A contrario, si les molécules à séparer sont chargées en solution, il est possible de les séparer par électrophorèse. Le support de cette électrophorèse peut être un gel, il s'agit dans ce cas d'électrophorèse sur gel ; ou un milieu libre, tel qu'un tube ou un microcanal, par exemple, et l'on parle alors d'électrophorèse capillaire. Dans ce cas, les analytes séparés se déplacent à différentes vitesses suivant leur rapport taille sur charge, et forment des zones de concentrations distinctes lors de leur migration dans le système : on parle alors d'électrophorèse capillaire de zone (ECZ).

Il ne sera pas discuté en détail de toutes les techniques présentées brièvement ci-dessus, et largement reportées dans la littérature, mais seulement de l'électrophorèse capillaire de zone (ECZ), car c'est celle que nous avons utilisée dans nos travaux.

1.3.2 Principe de l'électrophorèse capillaire de zone

L'électrophorèse capillaire de zone (ECZ) est une méthode très adaptée à la séparation de molécules chargées en solution. Cette technique se prête donc particulièrement bien aux séparations d'ADN , d'acides aminés, de protéines, d'enzymes, de sucres, etc..[106]. Cette technique est assez récente, puisque les premiers articles la décrivant apparaissent dans les années 70, avec notamment Mikkers et al. qui mettent en œuvre une séparation dans un tube de PTFE de diamètre 200 µm en 1979 [107]. En 1981, Jorgenson et Lucaks développent une ECZ sur des tubes de silice revêtus d'octadécylsilane (ODS) et de diamètre 75µm [108]. Le premier dispositif commercial d'électrophorèse capillaire de zone date de 1988, proposé par la société Microphoretics [109].

Le processus expérimental d'une ECZ sur tube de silice peut se résumer en trois étapes [34,110] : l'injection de l'échantillon, la séparation des analytes, et leur quantification par une cellule de détection.

L'injection de l'échantillon à analyser dans le capillaire peut être hydrodynamique (par surpression ou par dépression), hydrostatique, ou électrocinétique. Dans tous les cas, pour un tube capillaire donné, les volumes d'échantillon injectés sont proportionnels au temps d'injection, et typiquement de l'ordre du picolitre ou du nanolitre [111,112].

Vient ensuite l'étape de séparation électrophorétique des échantillons. Le principe de la séparation électrophorétique est basé sur les rapports taille/charge des analytes à séparer. En effet, considérons par exemple un tube capillaire de charge de surface négative, et soumis à une tension V à ses bornes. Comme décrit au paragraphe 1.2.3.2, le tampon remplissant le tube est alors soumis à un écoulement électroosmotique dans le sens des potentiels décroissants. La relation de Helmoltz-Smoluchowski permet d'obtenir la vitesse électroosmotique v_{eo} en fonction de paramètres physiques de la séparation [105,113,114] :

$$\vec{V}_{eo} = \mu_{eo}.\vec{E} = \frac{\varepsilon_r.\varepsilon_0.\zeta}{\eta}.\vec{E} \qquad (1.1)$$

Où E est le champ électrique dans le tube, μ_{eo} la mobilité électroosmotique, ε_r la permittivité diélectrique relative de l'électrolyte, η sa viscosité dynamique, et ζ le potentiel de surface du tube par rapport à l'électrolyte (cf. chapitre 3).

Les molécules à séparer sont elles-mêmes soumises au champ dans le tube, et migrent à la vitesse électrophorétique [105,115] :

$$\vec{v}_e = \mu_e.\vec{E} = \frac{q}{6\pi.\eta.r}.\vec{E} \qquad (1.2)$$

où μ_e est la mobilité électrophorétique, q la charge de l'ion et r son rayon hydrodynamique apparent.

Les différents analytes de l'échantillon migrent donc à leur vitesse propre, appellée vitesse apparente, somme algébrique des vitesses électrophorétiques et électroosmotiques :

$$\vec{v}_{app} = \vec{v}_e + \vec{v}_{eo} = \mu_{app}.\vec{E} = (\mu_e + \mu_{eo}).\vec{E} = (\frac{q}{6\pi.\eta.r} + \frac{\varepsilon_o.\varepsilon_r.\zeta}{\eta}).\vec{E} \qquad (1.3)$$

Notons ici que la direction de la vitesse électrophorétique dépend de la charge de l'ion en solution, et que pour avoir une séparation totale et complète des ions, il faut impérativement qu'en valeur absolue le module de la vitesse électroosmotique soit supérieur à la valeur la plus grande de la vitesse électrophorétique opposée. Dans le cas où le tube possède une charge négative à la paroi (cas des surfaces de silice ou de PDMS), l'écoulement électroosmotique va dans le sens des potentiels décroissants, et les cations passent devant la cellule de détection avant les anions, comme l'indique la figure 1.15.

La détection des molécules séparées a lieu en bout de tube capillaire, avec les méthodes décrites au paragraphe 1.2.4.

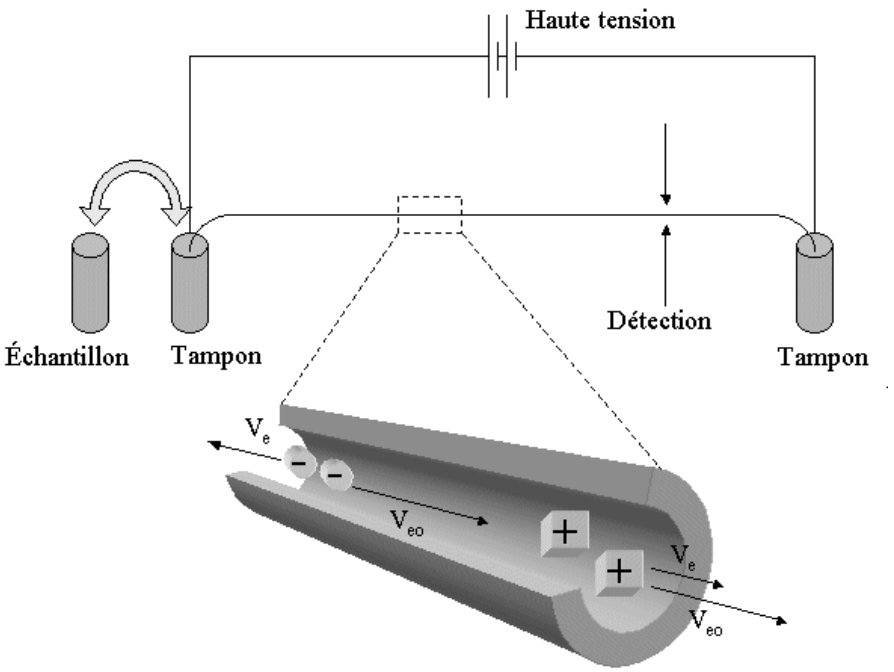


Figure 1.15 : Principe schématique de l'électrophorèse capillaire de zone (ECZ) sur tube capillaire

1.3.3 L'électrophorèse capillaire de zone sur puce microfluidique

Les premières expériences d'électrophorèses capillaires de zones réalisées avec des puces microfluidiques datent du début des années 1990. Les principes physiques utilisés ici sont globalement les mêmes que ceux qui régissent l'ECZ dans des tubes capillaires. La principale différence entre les deux modes de travail consiste dans le passage d'une géométrie à une dimension (un tube) possédant une seule entrée et une seule sortie, à une géométrie planaire à deux dimensions permettant un plus grand nombre d'entrées/sorties et une certaine complexification géométrique du système.

Ce changement de géométrie a de nombreuses conséquences. Par exemple, dans le cas d'une puce microfluidique, c'est la définition géométrique du microsystème, c'est à dire le dessin du réseau des microcanaux, qui définit les volumes de produits analysés :

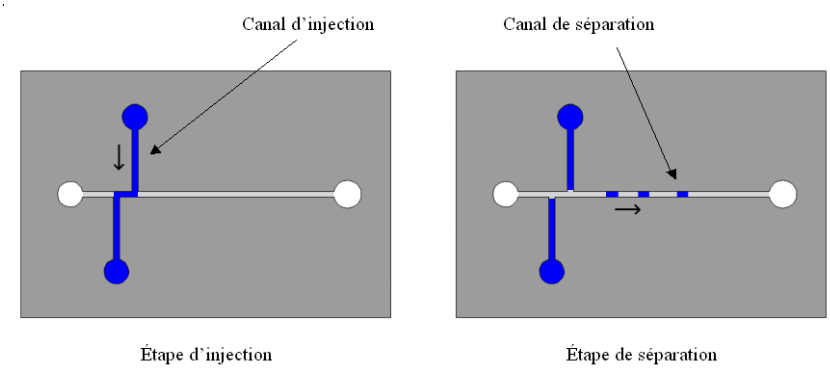


Figure 1.16 : Principe schématique de la séparation électrophorétique sur puce avec un injecteur en double T

Les premières réalisations de systèmes microfluidiques employaient à cet effet une géométrie en T [116,117]. Cette géométrie générant des difficultés de contrôle du volume injecté, les injecteurs en T ont été rapidement remplacés par des injecteurs en croix [112,118] ou en double T [119]. Dans ce dernier cas, deux canaux transverses sont dessinés, et c'est la zone de croisement entre ces deux canaux qui, en première lecture, permet de définir le volume injecté (cf. figure 1.16).

La figure 1.17 [120] présente les images (en microscopie de fluorescence) d'une injection suivie du début d'une séparation pour deux molécules de charges opposées, ici de l'arginine et de la glycine. La puce utilisée pour ces images est réalisée en verre et le volume d'injection est égal à 12 pL.

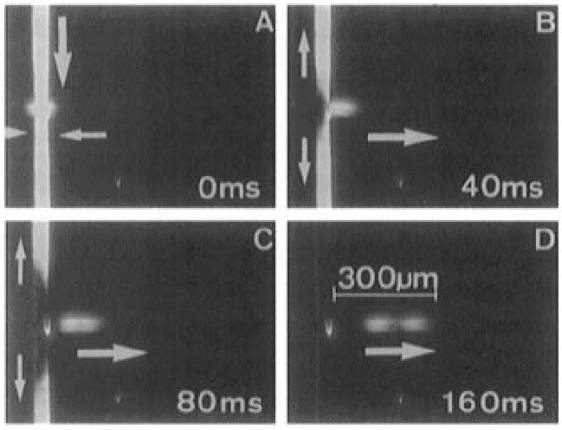
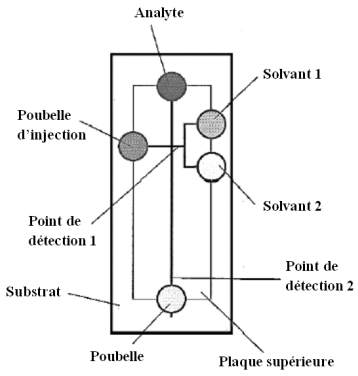
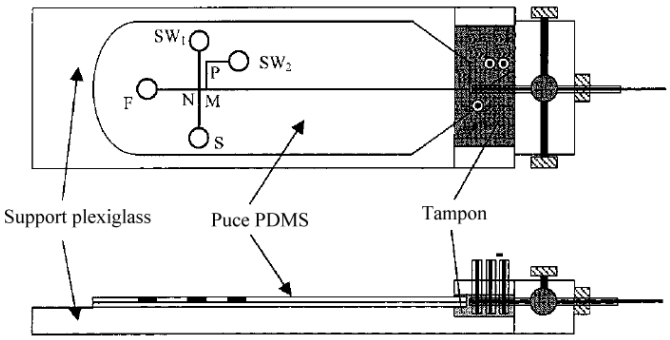


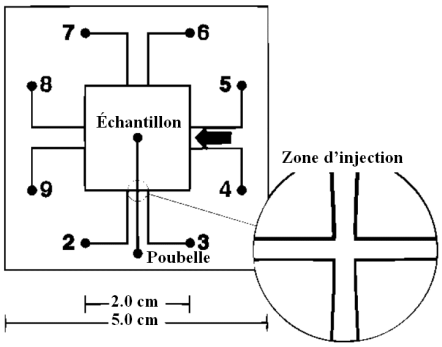
Figure 1.17 : Images vidéo d'une procédure d'injection/séparation en électrophorèse capillaire sur puce avec un injecteur en croix. La première image (A) correspond à l'injection, et les images suivantes correspondent à la séparation (B, C et D). Ici deux molécules sont séparées : l'arginine et la glycine (issu de [120]).

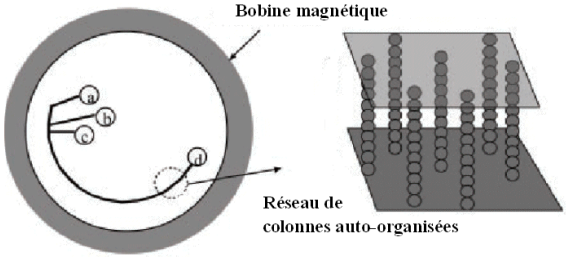
Comme décrit précédemment, il est possible de complexifier la structure présentée ci-dessus en intégrant par exemple un deuxième canal d'injection de produit (figure 1.18.a) afin de réaliser un mélange préalable à la séparation [121,122]. Ce type de système peut par exemple permettre de dériver des molécules non fluorescentes avant séparation. A contrario, on peut ajouter un deuxième canal de poubelle d'injection (figure 1.18.b) de manière à pouvoir choisir entre une injection en croix et une injection en double T, et moduler ainsi le volume d'injection [123]. D'autres équipes proposent des structures cycliques de canaux de séparation (figure 1.18.c), qui permettent de stocker sur des voies secondaires des molécules préalablement séparées [112,124,125]. Enfin, des réseaux de colonnes de billes magnétiques auto-alignées sont proposés pour séparer des brins d'ADN dans des microcanaux PDMS (figure 1.18.d) [126] :





a : Double canal d'injection [121] *b : Choix du volume d'injection [123]*





c : Séparation cyclique [112] *d : Colonnes de billes magnétiques [126]*

Figure 1.18 : Variantes de structures de séparations électrophorétiques sur puces

1.3.4 Intérêt de la miniaturisation des microsystèmes séparatifs

Le principal intérêt de la miniaturisation des microsystèmes séparatifs provient de la complexification permise par la géométrie planaire par rapport à une géométrie à une dimension, et donc par les fonctionnalités interconnectées sous la forme de réseaux de microcanaux. Ainsi, la séparation par électrophorèse capillaire de zone, qui est une étape de travail découplée des autres tâches dans des systèmes de dimension classique peut, quand elle est introduite dans des microsystèmes, être directement reliée à d'autres fonctionnalités élémentaires (mélange, dérivation, préconcentration, détection intégrée, voies de stockage, etc.…). La réalisation d'un laboratoire complet d'analyse chimique sur une seule puce (« Lab-on-chip ») devient envisageable.

Notons enfin que la miniaturisation de l'ECZ peut être intrinsèquement un facteur d'amélioration de la qualité des séparations, de leur durée et donc de leur coût. Nous reviendrons en détail sur ce point au quatrième chapitre.

1.4 Fabrication de systèmes microfluidiques : matériaux et méthodes

Quel que soit le matériau utilisé et l'application visée, l'étape technique essentielle d'une étude microfluidique consiste en la réalisation de microcanaux. Ce paragraphe se propose donc d'en présenter les matériaux et les méthodes de fabrication. L'utilisation des matériaux et des techniques planaires issues de la microélectronique impose trois étapes de fabrication pour la réalisation d'un canal microfluidique:

(1) La formation en surface du canal dans un matériau donné,
(2) Le perçage d'entrées/sorties pour la connectique fluidique,
(3) Le scellement du canal avec une seconde matrice plane.

Bien sûr, des variantes peuvent être proposées à ce schéma général en fonction des besoins, comme par exemple la formation de canaux à double ou triple profondeur, mais le schéma général en trois étapes sera toujours respecté, au moins de manière schématique.

Ce paragraphe se propose de présenter les matériaux les plus utilisés en microfluidique aujourd'hui, et les méthodes employées pour mener à bien les trois étapes proposées ci-dessus. Cependant, ces descriptions sont volontairement succinctes, et pour une lecture plus complète le lecteur est invité à consulter des ouvrages plus détaillés sur la question [3,127,128] ; ou les références bibliographiques indiquées pour chaque étape de fabrication, dans lesquelles il trouvera les détails techniques des processus à mettre en oeuvre.

1.4.1 Matériaux durs : silicium et verre

Le silicium est le matériau de base de la microélectronique grâce à ses propriétés semi-conductrices. Il est donc abondamment documenté dans la littérature, et c'est naturellement vers ce matériau que se sont tournées les premières équipes qui se sont intéressées à la

microfluidique [116,129,130]. Cependant, le silicium possède deux défauts majeurs pour les applications de séparations électrophorétiques :

(1) Il n'est pas transparent à la lumière visible, ce qui interdit les détections optiques.

(2) Il est mauvais isolant à température ambiante, et les couches de passivation électriques (de type SiO_2 ou Si_3N_4) en surface ne tiennent généralement pas les champs électriques appliqués transversalement au canal [116].

Les deux défauts du silicium présentés ci-dessus, rédhibitoires pour la séparation électrophorétique, amènent naturellement à se tourner vers le verre car ce matériau est transparent et bon isolant (typiquement 10^{20} Ω.m à 20°C [131]). Outre ces deux propriétés primordiales, le verre possède l'avantage d'être très résistant aux agressions chimiques et il interagit peu avec les solvants. Il convient de noter ici qu'en toute rigueur, il ne faut pas écrire « le verre », mais « les verres », car il en existe de nombreuses variétés. Ces verres sont choisis en fonction des caractéristiques désirées quant à leurs propriétés optiques (transmission des UV), leur qualités thermiques (coefficients de dilatation, points de fusion) ; ou encore leur pureté chimique qui joue un grand rôle dans les qualités de gravure.

Nous avons pour notre part travaillé avec le Pyrex 7740 (Corning) [132-134] et le SD2, développé par Hoya pour améliorer le collage silicium/verre. Ces deux verres sont dits « borosilicatés » car ils contiennent essentiellement de la silice et de l'oxyde de bore ; mais aussi des dopants, comme le sodium, présent entre 3% et 5% dans le Pyrex 7740.

1.4.1.1 Gravure de canaux

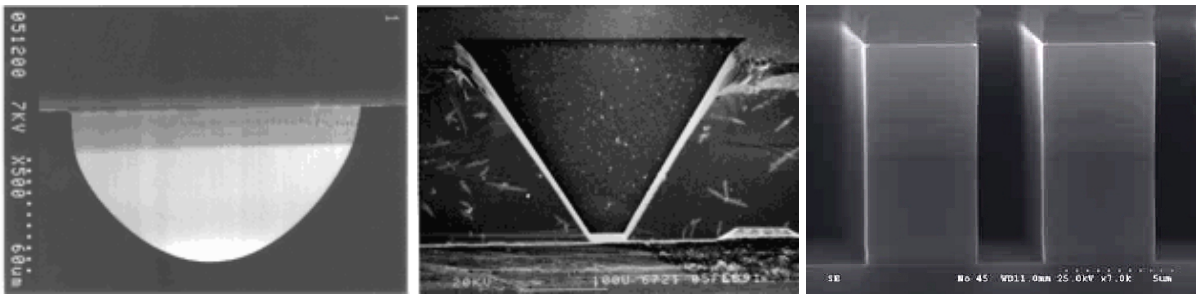
Gravure du silicium :

Il existe globalement trois modes de gravure de canaux dans le silicium, suivant la forme de la section droite recherchée [3,128,135] :

(1) La gravure humide isotrope du silicium permet d'obtenir des canaux de forme arrondie, et implique une solution acide, par exemple le HNA, qui est un mélange de $HF/HNO_3/CH_3COOH$ [3,128].

(2) La gravure humide anisotrope exploite les propriétés du cristal de silicium pour dégager des plans cristallins. Les profils obtenus sont saillants, et dans le cas de la gravure KOH, de pH basique, certains plans cristallins (comme le plan <111>) sont révélés [128]. Notons que dans ce cas de figure, les aspects cristallographiques de la gravure interdisent certaines formes de canaux, comme par exemple les courbes ou les angles pointus.

(3) La gravure sèche DRIE (gravure plasma profonde) permet, lorsque les paramètres sont correctement réglés, d'obtenir une gravure directive, et donc des canaux de sections rectangulaires [128].



a) Gravure humide isotrope [3] b) Gravure humide KOH [3] c) Gravure sèche DRIE

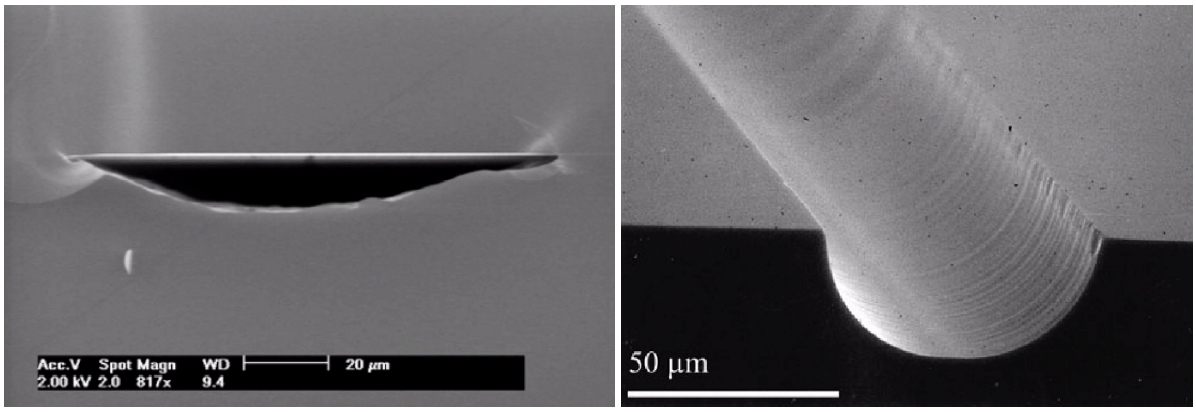
Figure 1.19 : Profils de gravure dans le silicium

Gravure du verre :

Bien qu'en théorie le verre puisse être gravé par DRIE comme le silicium, cette méthode de gravure est en pratique rarement utilisée à cette fin. En effet, dans le cas des verres borosilicatés, les ions libérés lors de la gravure (particulièrement le bore et le sodium) polluent de manière drastique les bâtis, ce qui leur interdit notamment de côtoyer des process de réalisation de circuit électroniques sur silicium, très sensibles à ce type de pollution. Le coût très élevé des équipements de DRIE réserve donc leur usage sur le verre aux équipes spécialisées dans ce domaine.

A cette méthode sèche est donc préférée la gravure humide par acide fluorhydrique (HF), utilisée dans la très grande majorité des travaux publiés sur la réalisation de microcanaux en verre [117-119,131,133,134,136-141]. Notons que cette gravure ne permet d'obtenir que des profils de gravure isotrope, ce qui limite les géométries réalisables.

Il est aussi possible de réaliser des canaux dans le verre par « powder blasting » ([142-144]). Cette solution, plus originale, consiste à graver le verre en projetant un jet de poudre d'un matériau dur sous pression. Cette méthode est plus simple et plus rapide que la précédente, mais elle aboutit à des canaux plus rugueux et moins bien définis qu'avec les méthodes humides, comme on peut le constater à la figure 1.20 :



a) Par powder blasting (issu de [142]) b) Par gravure humide HF (issu de [131])

Figure 1.20 : Profils de gravure de canaux dans le verre

1.4.1.2 Perçage d'entrées/sorties

Perçage du silicium

Le silicium étant un matériau dur et cristallin, il est très délicat de le percer avec précision par des voies classiques, c'est à dire avec des forêts diamantés ou en carbure de silicium. Cependant, cinq autres solutions s'offrent à l'expérimentateur :

(1) Une gravure DRIE de part en part du wafer, avec un masque de gravure suffisamment épais,

(2) Une gravure humide débouchante, méthode plus simple et moins coûteuse à mettre en œuvre que la première, mais beaucoup plus longue,

(3) Le perçage par laser,

(4) Le perçage par ultrasons,

(5) Le perçage par « powder blasting » [142-144], méthode que nous avons mise en œuvre au LENAC (figure 1.21). Pour se faire, la plaque à percer est protégée par un pochoir

métallique (qui est peu érodé par le jet), grâce auquel il est possible de reporter sur le silicium des trous avec une grande précision et une grande reproductibilité.

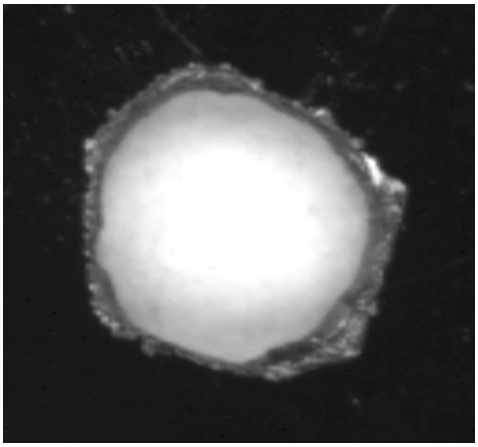


Figure 1.21 : Perçage de silicium par « powder blasting »

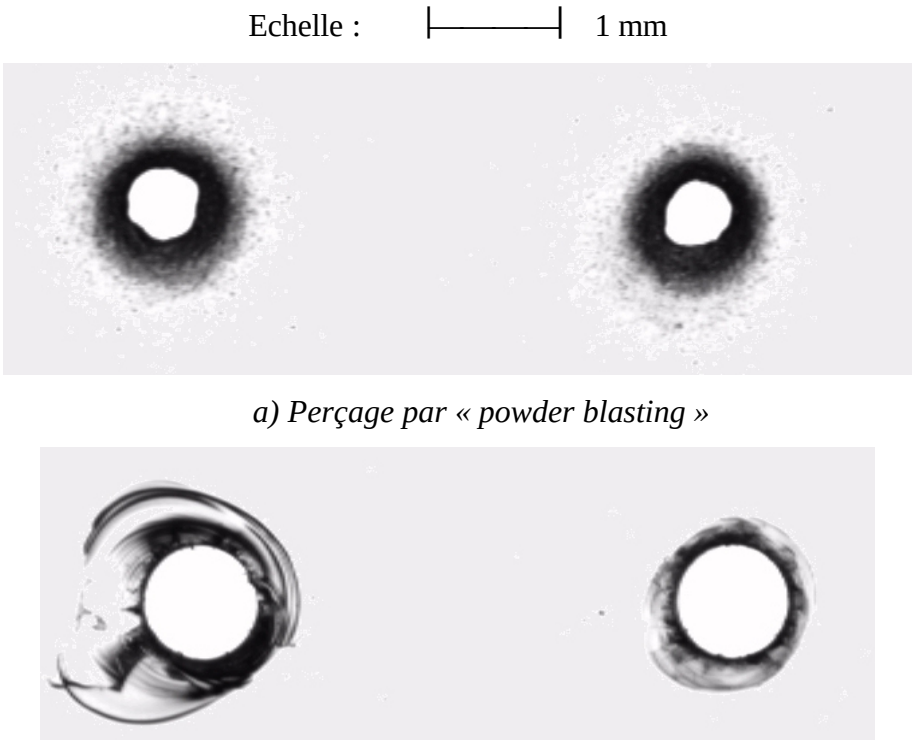
Perçage du verre

Matériau amorphe, le verre est plus simple à percer que le silicium par les voies classiques avec des forêts diamantés ou en carbure de silicium, car il est moins fragile. Malheureusement, cette solution n'est pas toujours envisageable pour deux raisons. Premièrement, les trous ainsi percés sont très souvent ébréchés (figure 1.22). De plus, l'expérience nous a montré que si la probabilité de casser un wafer de verre en le perçant est relativement faible, elle n'est toutefois pas négligeable et peut parfois poser des problèmes lorsque le nombre de trous à percer sur un même échantillon est élevé.

Le perçage du verre par voie chimique est envisageable, mais non trivial. En effet , cette méthode est non seulement très longue, mais il faut aussi obtenir un masque de gravure qui permette de graver l'épaisseur du wafer. Or l'expérience nous a montré que cela n'est pas toujours possible avec les masques les plus couramment utilisés.

Au vu de notre propre expérience, la méthode qui semble la plus intéressante pour percer le verre est celle du powder blasting qui permet, avec le même type de pochoirs que pour le silicium, de percer une plaque en quelques minutes. Il est à noter que le profil du trou obtenu par cette technique est toujours conique, ce qui n'est pas gênant pour ce qui nous concerne.

La figure 1.22 compare des trous de diamètre 1mm percés dans un wafer de verre de 500 µm d'épaisseur avec les méthodes classiques et par powder blasting, observés en transmission sur un scanner optique.



a) Perçage par « powder blasting »

b) Perçage par foret diamanté

Figure 1.22 : Techniques de perçage de wafers de verre vues en transmission

On observe bien sur ces images les défauts du perçage par foret diamanté, et l'aspect conique des trous percés par powder blasting.

1.4.1.3 Collage de plaques

Collage silicium-silicium

Il existe principalement deux solutions pour coller deux plaques de silicium : la méthode de collage directe par fusion, et les collages par couche intermédiaire.

Le collage par fusion, le plus utilisé, consiste à mettre en contact les deux plaques et à élever l'ensemble à une température de 800 °C à 1000 °C [128,145]. Une grande attention doit être portée à la propreté des plaques, car la rigidité du silicium interdit tout collage si trop de poussières sont déposées : typiquement, une poussière de un micron empêche le collage du wafer sur un centimètre carré. Il est important de noter ici que le collage ne se fait pas directement entre des atomes de silicium aux interfaces des wafers, mais par l'intermédiaire de ponts Si-O-H. En effet, aux conditions normales de travail, le silicium s'oxyde à l'air, et c'est cette couche d'oxyde natif - d'une épaisseur de l'ordre de quelques couches atomiques - qui intervient dans le collage. C'est la raison pour laquelle celui-ci a lieu à plus basses températures que celle de la fusion propre du silicium, à 1410°C [128].

Il est aussi parfois possible d'utiliser une couche de résine comme adhésif intermédiaire, à condition que la couche adhésive n'interagisse pas avec le fluide prévu pour être déplacé dans les canaux. L'avantage de cette méthode réside dans le fait qu'elle nécessite des températures de collage nettement plus basses que précédemment, par exemple 130 °C pour un collage via une résine de photolithographie [128].

Collage verre-verre

Le collage des plaques de verre par fusion intervient à plus basse température que pour le silicium, typiquement entre 450°C [132,146] et 650°C [147] suivant la nature du verre. De même que pour le silicium, ce collage fait appel aux liaisons Si-OH présentes en surface de la silice quand celle-ci est placée au contact de l'humidité de l'air [148]. Cependant, certains auteurs révèlent que, à condition que les surfaces de verre à coller soient suffisamment planes et propres, le collage par contact à température ambiante peut suffire pour certaines applications ne nécessitant pas de hautes pressions dans le système microfluidique [132].

D'autres auteurs proposent des solutions permettant d'améliorer ce collage à basse température, en créant un maximum de liaisons chimiques sur les surfaces de verres à coller. Pour ces auteurs, les adhésions ainsi obtenues sont parfois suffisantes pour certaines applications, le recuit correspondant au collage par fusion n'est présenté que comme un appoint au collage chimique pratiqué à basse température [132,146,148-152]. Par exemple, Nakanishi et al. proposent un collage par acide fluorhydrique (HF), qui consiste à placer une

goutte de HF dilué à quelques % entre deux surfaces de verre, puis de mettre l'ensemble sous pression pendant quelques heures [149,150]. Le HF attaque alors légèrement les surfaces de silice, et crée un grand nombre de liaisons entre les deux plaques. Dans le même esprit, Ito [151], Sato [152], et Wang [146] proposent un collage qu'ils nomment « water glass bonding », qui consiste typiquement à introduire entre les deux plaques préalablement rendues hydrophiles par un traitement au NH_4OH H_2O_2, une solution aqueuse de silicate de sodium (Na_2 + 2 SiO_2) et de mettre l'ensemble en pression une heure à 80°C [151].

Notons enfin la méthode proposée par Sayah et al. qui proposent une technique de collage assistée par pression [148], qui consiste à appliquer une pression de 500 bars sur les plaques portées à 340°C. Cette technique nécessite une presse chauffante, mais présente l'avantage de réclamer une température de collage relativement faible et une méthode expérimentale très simple à mettre en œuvre.

Collage silicium-verre : collage anodique

Le collage anodique permet d'obtenir des collages entre des plaques de silicium et de verre capables de résister à de grandes pressions. Il est donc très souvent utilisé en microfluidique, car il permet d'allier les techniques d'usinage du silicium avec un collage de qualité, plus simple à mettre en œuvre que le collage par fusion silicium-silicium.

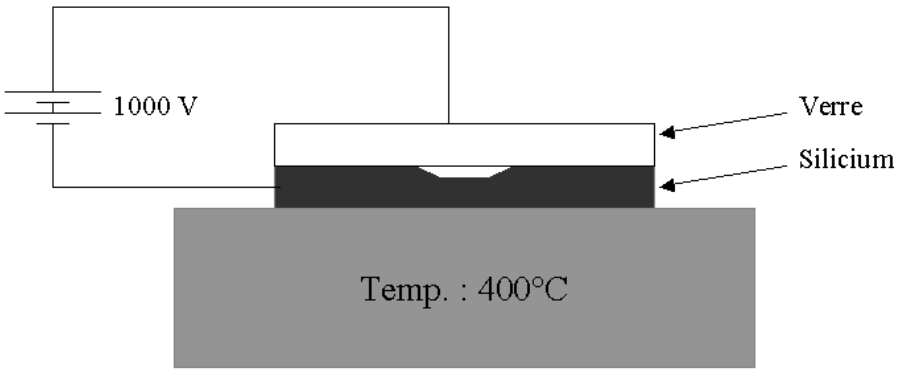


Figure 1.23 : Collage anodique silicium/verre

Le principe du collage anodique est présenté en figure 1.23. Une tension comprise entre 200 et 1000 V [128] est appliquée aux bornes du système constitué par les deux

plaquettes à coller. Le champ ainsi créé conduit à une migration des ions sodium contenus dans le verre, en direction du silicium. Ainsi, le champ électrique est maximal à l'interface, ce qui permet l'interpénétration des atomes des deux matériaux [3]. Afin de favoriser la mobilité des ions, la température est portée typiquement entre 200°C et 500°C [128].

1.4.2 Méthodes douces : microcanaux formés dans des polymères

Bien que les méthodes de réalisation de systèmes microfluidiques soient éprouvées avec des matériaux durs tels que le silicium et le verre, l'intérêt s'est reporté depuis quelques années vers d'autres types de matériaux de réalisation, comme des polymères, pour des raisons de simplicité d'usage et de coût. On parle alors de méthodes « douces » ou « molles » de fabrication de microcanaux. Parmi les polymères les plus utilisés, citons le PDMS (Polydiméthylsiloxane), le PMMA (Polyméthylmétracrylate) et le COC (Cyclo-Olefin Copolymer).

Le PDMS est un élastomère, transparent dans l'U.V. au delà de 350 nm [153], et possédant de bonnes qualités diélectriques (rigidité diélectrique de 21 kV/mm [154]). Il est donc très indiqué pour les expériences d'électrophorèse. Ce matériau se présente sous forme liquide à température ambiante, et après mélange avec un durcisseur, il se polymérise en respectant un budget thermique, spécifié par le fabricant : 4 heures à 60 °C, ou 1 heure à 100 °C, ou 15 minutes à 150 °C [154]. Cette étape de polymérisation, irréversible, aboutit à un matériau solide et souple.

Le PMMA et le COC sont deux matériaux thermoplastiques, solides (et rigides) à température ambiante, et qui deviennent vitreux lorsqu'ils sont portés au delà de leur température de transition vitreuse, respectivement égale à 106 °C et à 138 °C [155]. Ces transitions sont réversibles.

1.4.2.1 Fabrication des microcanaux

PDMS

Le processus de formation des microcanaux en PDMS que nous avons développé au LENAC est similaire à ceux proposés dans la littérature [81,87,91,95,156-159] :

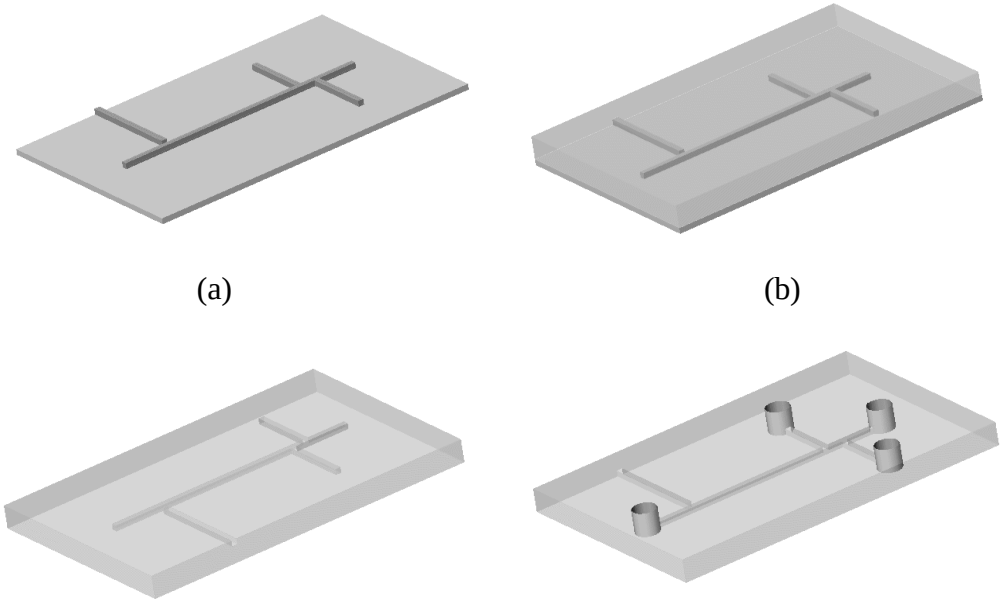
(1) Un moule est réalisé soit avec une résine épaisse, soit directement en silicium, par DRIE. Ce moule est constitué de structures dites « positives », c'est à dire avec des murs placés aux endroits où l'on désire obtenir des canaux dans la puce finale. Ce moule est préalablement silanisé afin de faciliter le démoulage du PDMS (figure 1.24.a),

(2) Le PDMS, liquide à température ambiante, est coulé sur le silicium, puis porté à 150°C pendant une heure, afin de le durcir (figure 1.24.b),

(3) La puce de PDMS est ensuite démoulée du support en silicium (figure 1.24.c),

(4) Des trous sont percés dans cette matrice de PDMS, de manière à créer la connectique macro/microfluidique. Notons ici que le perçage de trous dans le PDMS ne pose aucune difficulté, et ne nécessite pas de technique particulière, comme dans le cas du silicium et du verre (figure 1.24.d),

(5) Une plaque de PDMS plane, réalisée à partir d'une plaquette de silicium vierge, est collée à la puce précédemment fabriquée, étanchéifiant ainsi les microcanaux (figure 1.24.e).



(a) (b)

(c) (d)

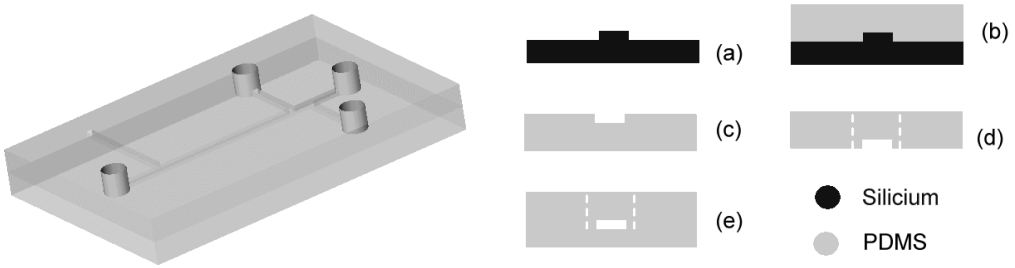


Figure 1.24 : Fabrication des puces microfluidiques par moulage de PDMS

Notons ici que cette méthode de fabrication présente de nombreux avantages de coût et de temps de développement. En effet, il est possible de fabriquer de cette manière un très grand nombre de puces microfluidiques à partir d'un seul moule de silicium, puisque celui-ci est réutilisable. Le temps de salle blanche est minimisé grâce à cette technique. De plus, le PDMS est un matériau peu onéreux, contrairement aux wafers de silicium et de verre. On peut donc, par cette technique de moulage, transférer à moindre coût la précision des techniques issues de la microélectronique vers des dispositifs à relativement bas coût. La figure 1.25 présente une image MEB d'un microcanal fabriqué en PDMS au laboratoire, de section 50 µm * 50 µm :

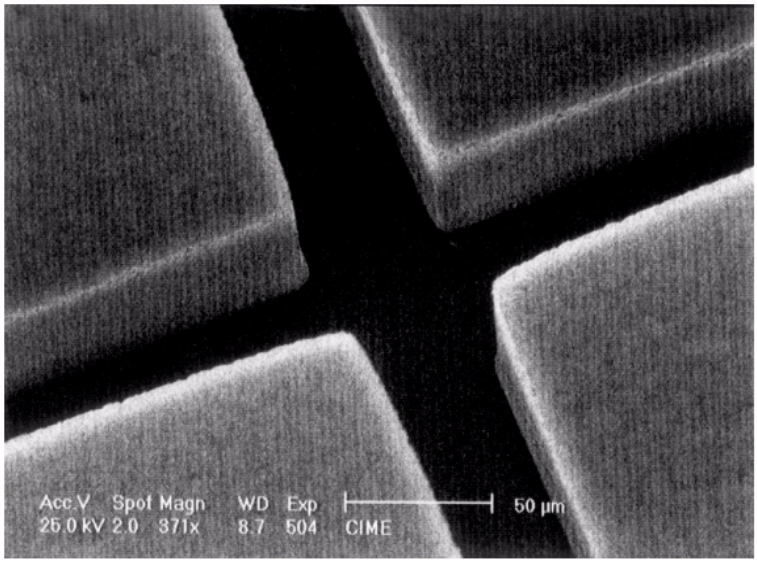


Figure 1.25 : Microcanal en PDMS

PMMA et COC

La méthode de fabrication des microcanaux en PMMA et en COC diffère de celle employée pour le PDMS. Le principal point commun entre les deux types de matériau concerne l'utilisation d'un moule de silicium.

Dans le cas des thermoplastiques, le moulage doit se faire à une température contrôlée, légèrement supérieure au point de transition vitreuse, et sous pression [58,155,160,161]. Pour se faire, nous utilisons une presse chauffante, capable d'appliquer des pressions jusqu'à 15 tonnes et des températures jusqu'à 200°C. Le thermoplastique ainsi moulé est refroidi à température ambiante, phase au cours de laquelle il durcit. Le temps de formation d'un canal par cette méthode est typiquement de l'ordre de la demi-heure [58]. La figure 1.26 présente une image MEB d'un réseau de microcanaux ainsi formés. Notons enfin que, contrairement au PMDS, le COC et la PMMA sont rigides à température ambiante, ce qui autorise leur perçage par des méthodes classiques.

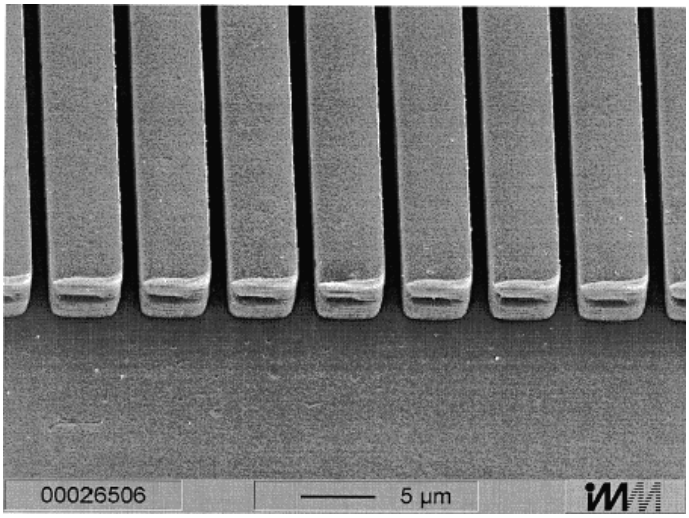


Figure 1.26 : Réseau de microcanaux en PMMA (issu de [155])

1.4.2.2 Collage de plaques

PDMS

Le PDMS adhère spontanément avec lui-même ou avec du verre, à condition que les surfaces collées soient suffisamment propres et planes. La littérature propose de

nombreuses études pour lesquelles ce collage réversible est suffisant [162-167]. Notons aussi que certains auteurs utilisent ce simple collage spontané pour réaliser avec succès des séparations électrophorétiques [37,81,86,159,168].

Cependant, malgré les résultats obtenus par d'autres équipes avec du PDMS natif, nous n'avons pas voulu nous contenter de ce collage pour deux raisons : premièrement, l'introduction de fibres optiques intégrées dans la puce pour la détection de fluorescence impose des contraintes mécaniques sur le PDMS et requière donc un collage de bonne qualité pour garantir l'étanchéité des canaux. Nous reviendrons plus en détail sur ce point au chapitre 4. En deuxième lieu, le PDMS natif est un matériau hydrophobe, et l'expérience nous a montré qu'il est très difficile de remplir des systèmes microfluidiques présentant de telles surfaces. La moindre présence de poussière ou de défaut de surface du canal implique des bulles d'air dont il n'est pas trivial de se débarrasser.

Or, il existe une méthode physique permettant de coller le PDMS de manière permanente, et de le rendre conjointement hydrophile : le traitement par plasma O_2. Cette méthode, largement reportée dans la littérature [37,156-158,169-173], consiste à exposer pendant quelques minutes les surfaces de PDMS dans un plasma d'oxygène. Après ce traitement, les surfaces sont mises en contact quelques secondes, et un collage permanent est ainsi obtenu. La figure 1.27 présente une image en coupe d'un canal ainsi collé, de section 70 µm * 130 µm :

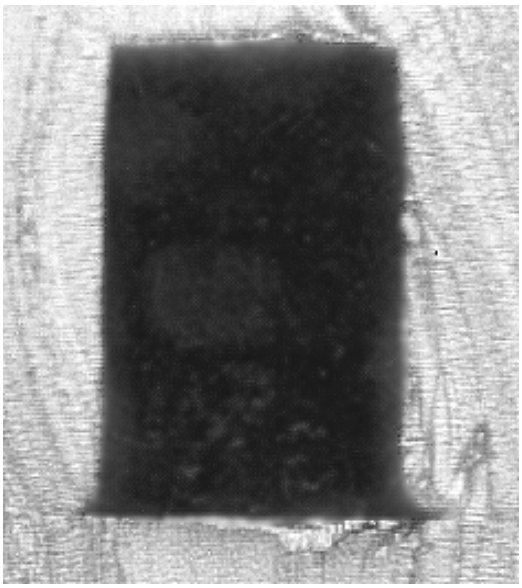
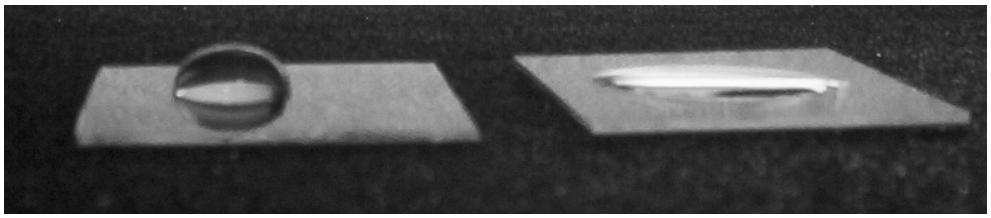


Figure 1.27 : Vue en coupe d'un canal PDMS collé par plasma O_2

Notons ici que l'aspect hydrophile des canaux exposés au plasma O_2 est expérimentalement très pratique, car il permet un remplissage spontané, par capillarité, sans utiliser de pompes et sans souffrir de la présence de bulles d'air résiduelles. La figure 1.28 présente le comportement de deux surfaces de PDMS, l'une oxydée, l'autre non. Les deux gouttes d'eau font le même volume : 100 µl.



Avant traitement plasma *Après traitement plasma*

Figure 1.28 : Conséquence du traitement plasma sur l'hydrophobicité du PDMS

Le traitement plasma O_2 possède un dernier avantage, qui consiste à accélérer les séparations par rapport à un même canal fabriqué dans du PDMS natif [174]. Nous discuterons plus en détail ce point au chapitre 4, avec notamment une étude du comportement de relaxation temporelle du PDMS oxydé.

PMMA et COC

Le PMMA et le COC se collent par fusion bonding. Pour cela, il suffit de presser l'une contre l'autre les plaques à coller et de porter conjointement l'ensemble à une température inférieure à la température de transition vitreuse. Notons ici que le choix du couple pression/température de collage est choisi avec précaution, car si ces valeurs sont trop élevées, l'expérience montre que la plaque plane flue dans les canaux préalablement formés : les plaques sont collées, mais les canaux sont bouchés. Il est possible d'améliorer et de simplifier ces collages en traitant les surfaces par une fine couche de solvant déposée à la tournette [58].

1.5 Conclusion

Comme le lecteur aura pu le constater à la lecture de ce chapitre, la microfluidique est un domaine de recherche assez récent et très foisonnant. Ce chapitre se proposait d'être un tour d'horizon de ce que représente la microfluidique aujourd'hui (bien qu'il ne soit évidemment pas exhaustif), mais aussi une introduction aux problématiques rencontrées au cours de ce travail de thèse.

Nous y avons décrit dans un premier temps les fonctionnalités élémentaires que proposent les systèmes microfluidiques actuels en vue de la réalisation de « Laboratoires sur puce », à savoir le mélange, la préconcentration, le pompage de fluides, la détection et la séparation.

Concernant ce travail de thèse, nous nous sommes intéressés à la séparation de molécules par électrophorèse capillaire de zone, couplée à une détection des molécules par fibres optiques intégrées. En effet, le tour d'horizon des techniques de détection de molécules dans des systèmes microfluidiques nous a conduit à développer ce système de détection, ce qui impose certaines contraintes géométriques. Ces contraintes ne sont pas sans poser quelques difficultés théoriques, notamment du point de vue des écoulements hydrodynamiques. Ces écoulements parasites peuvent perturber drastiquement les séparations, comme nous pourrons le constater au chapitre 4, à la lumière des résultats obtenus lors d'une étude d'écoulements hydrodynamiques, proposée au deuxième chapitre.

Nous y avons décrit dans une dernière partie les matériaux et les méthodes de réalisations de microcanaux. Suivant les fonctionnalités recherchées, il est possible de réaliser des systèmes microfluidiques dans des matériaux durs tels que le silicium et le verre ; ou dans des matériaux polymères, pour un coût moins élevé. Cette deuxième solution a été retenue, notamment parce qu'elle autorise des géométries plus complexes qu'avec le verre, et parce que le silicium n'est pas adapté aux expériences d'électrophorèses ni aux détection optiques.

Les écoulements électroosmotiques, indispensables à l'expérience d'électrophorèse capillaire de zone, font intervenir la charge de surface de matériaux mis en présence de

solutions aqueuses. Dans le cas du PDMS, que nous avons employé, cette charge de surface est assez mal connue ; notamment lorsqu'il est traité par un plasma O_2, utilisé pour son collage et pour le bon remplissage des canaux. Or, une bonne caractérisation de ces charges de surface est indispensable afin de réaliser des dispositifs homogènes et des séparations reproductibles. Une méthode expérimentale de mesure de cette charge de surface, par courants d'écoulements, est proposée au chapitre 3. Elle peut être appliquée à tout système microfluidique, et elle sera exploitée pour la caractérisation du PDMS au quatrième chapitre.

2 Etude théorique et expérimentale d'écoulements hydrodynamiques dans des microsystèmes fluidiques

2.1 Introduction

Parmi les nombreux domaines d'étude de la microfluidique, les écoulements liquides hydrodynamiques confinés dans des microcanaux présentent un grand intérêt, aussi bien théorique qu'expérimental, par exemple pour la conception des microsystèmes fluidiques séparatifs ou pour la compréhension du déplacement de fluides par pression dans des systèmes types diffuseurs, diodes ou pompes microfluidiques. Aux petites échelles, de l'ordre du micron ou en deçà, la prédominance des effets de surface liquide/solide devant les effets de volume peut modifier le comportement physique des écoulements confinés, et il était intéressant pour nous de qualifier ces phénomènes dans les gammes de dimensions rencontrées au LENAC.

La question qui vient alors naturellement à l'esprit est de savoir si les lois macroscopiques de la mécanique des fluides, maintes fois vérifiées aux grandes échelles (a partir du mm) sont toujours satisfaisantes pour décrire les écoulements aux échelles qui nous concernent, c'est à dire la dizaine de micron. Répondre à cette question consiste donc à confronter les équations macroscopiques de la mécanique des fluides et les mesures expérimentales dans un microsystème fluidique en fonction des paramètres géométriques et physiques mis en jeu lors de l'écoulement. On citera ici principalement la définition géométrique du microsystème, les interactions paroi/fluide, et les pertes de charge visqueuses lors de l'écoulement. Or, une étude bibliographique sur l'hydrodynamique dans les microcanaux montrait au début de nos travaux, en 2001, des incohérences manifestes et des résultats expérimentaux nettement divergents entre les différentes études proposées dans la littérature, comme nous le verrons au paragraphe 2.4.2. Ces contradictions entre plusieurs études antérieures n'ont fait qu'amplifier et motiver notre intérêt pour ce travail.

Posons dès maintenant quelques ordres de grandeurs sur les écoulements afin de bien appréhender les échelles misent en jeu. Dans un tube de section circulaire, par exemple, la formule de Poiseuille prévoit que le débit d'un fluide est proportionnel au diamètre du tube à l'exposant 4 [175]. Donc, une diminution du diamètre du tube par 20 (en passant par exemple d'un tube de 1mm de diamètre à un tube de 50µm de diamètre) induit une diminution du débit

hydrodynamique d'un facteur 160000. Pour être un peu plus précis, prenons l'exemple d'un tube capillaire typique de ceux que nous avons étudiés, de diamètre 50 µm, de longueur 1 m et rempli d'eau sous une pression de 1 bar. Ce tube voit le fluide se déplacer à un débit de 46 µl/h, soit $1.27*10^{-11}$ m^3/s. A ce rythme, l'écoulement d'un litre prend 2 ans et 171 jours, ce qui implique, entre autre, de trouver de nouvelles techniques de mesure de débit, différentes de celles proposées pour des dimensions classiques.

On se propose ici de présenter les résultats obtenus au LENAC, avec, dans un premier temps, un rappel sur les notions fondamentales concernant les équations macroscopiques de la mécanique des fluides et leur simplification dans le cas d'écoulements laminaires. Un algorithme simple et rapide de résolution des équations de Navier-Stokes en régime laminaire est présenté en fin de ce paragraphe. Les méthodes de fabrication des microcanaux et la réalisation du banc expérimental sont proposées dans un deuxième temps. La simulation des écoulements dans les microcanaux et la confrontation avec les résultats expérimentaux font l'objet d'une troisième partie. Enfin, ces résultats sont discutés et comparés avec la littérature. En dernier lieu, des abaques de débits hydrodynamiques sont proposées pour les trois principales sections de microcanaux réalisées en microtechnologies, comme outils de détermination de débits microfluidiques.

2.2 Rappels théoriques sur les écoulements hydrodynamiques confinés

2.2.1 Equation de Navier-Stokes

La relation entre la vitesse d'un fluide visqueux incompressible en tout point d'un canal et la pression absolue qui lui est appliquée est donnée par l'équation de Navier-Stokes [176]:

$$\frac{\partial \vec{v}}{\partial t} + \left(\vec{v} \cdot \vec{\nabla}\right).\vec{v} = -\vec{\nabla}\left(\frac{P}{\rho}\right) + \upsilon.\Delta\vec{v} \qquad (2.1)$$

Où P et ρ sont respectivement la pression absolue et la masse volumique, ν est la viscosité cinématique du fluide, et $\vec{v}$ est le vecteur vélocité du fluide de composantes (u, v, w) exprimées dans le repère fixe Eulerien (x, y, z, t). :

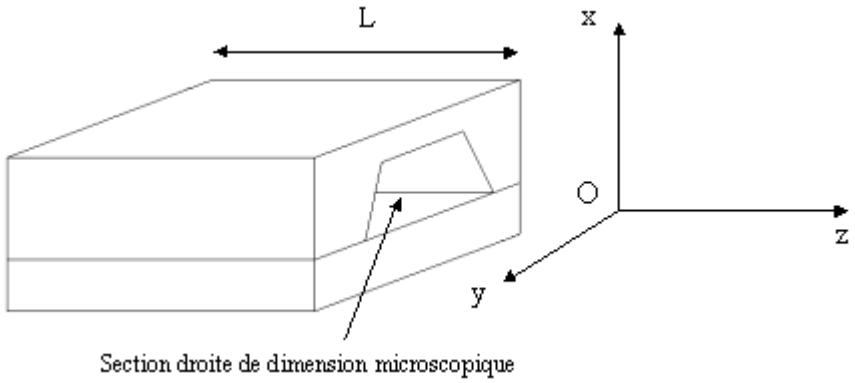


Figure 2.1 : Définition de la géométrie du problème

L'équation (1) peut se décomposer sur les trois composantes de la vélocité :

$$\begin{cases} \dfrac{\partial u}{\partial t} + u\dfrac{\partial u}{\partial x} + v\dfrac{\partial u}{\partial y} + w\dfrac{\partial u}{\partial z} = -\dfrac{1}{\rho}\dfrac{\partial P}{\partial x} + \upsilon\left(\dfrac{\partial^2 u}{\partial x^2} + \dfrac{\partial^2 u}{\partial y^2} + \dfrac{\partial^2 u}{\partial z^2}\right) \\ \dfrac{\partial v}{\partial t} + u\dfrac{\partial v}{\partial x} + v\dfrac{\partial v}{\partial y} + w\dfrac{\partial v}{\partial z} = -\dfrac{1}{\rho}\dfrac{\partial P}{\partial y} + \upsilon\left(\dfrac{\partial^2 v}{\partial x^2} + \dfrac{\partial^2 v}{\partial y^2} + \dfrac{\partial^2 v}{\partial z^2}\right) \\ \dfrac{\partial w}{\partial t} + u\dfrac{\partial w}{\partial x} + v\dfrac{\partial w}{\partial y} + w\dfrac{\partial w}{\partial z} = -\dfrac{1}{\rho}\dfrac{\partial P}{\partial z} + \upsilon\left(\dfrac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \dfrac{\partial^2 w}{\partial y^2} + \dfrac{\partial^2 w}{\partial z^2}\right) \end{cases} \quad (2.2)$$

Il n'existe pas de solution analytique générale à ce système d'équations. Pour le résoudre, il est nécessaire de faire des simplifications dont les hypothèses sont à priori toujours vraies pour des microcanaux, et dont le but de cette étude était la vérification expérimentale.

Aux échelles macroscopiques, l'équation de Navier-Stokes (2.1) et sa forme développée (2.2) admettent deux types de solutions suivant la pression appliquée et la dimension du conduit: le régime laminaire et le régime turbulent. Dans le premier cas, les lignes de courant dans le fluide sont parallèles aux parois du canal et elles ne s'interpénètrent pas. Ce régime est caractérisé expérimentalement par le fait que la vitesse du fluide (et donc son débit) est proportionnelle à la pression appliquée. Dans le cas de l'écoulement turbulent, quand la pression appliquée devient très grande, la vitesse n'est plus proportionnelle à la pression, et des formes d'écoulements rotationnels apparaissent.

Or, la littérature montre que dans des dimensions supérieures à celle de nos microcanaux, les écoulements restent toujours laminaires dans les gammes de pression qui nous concernent [20,130,177]. Nous avons donc naturellement admis l'hypothèse d'écoulements toujours laminaires.

Soit un microcanal de longueur L très grande par rapport à sa section, supposée invariante transversalement au microcanal. L'hypothèse d'écoulements laminaires induit que le vecteur vélocité du fluide est unidirectionnel, orienté dans le sens de la longueur (suivant l'axe Oz, figure 2.1), et que sa norme ne dépend que de sa position (x,y) sur la section du microcanal. De plus, la pression est constante sur une section, et elle décroît linéairement avec la position sur l'axe transverse au canal (Oz). En définissant ΔP comme la différence de pression totale entre l'entrée et la sortie du canal, le système d'équation (2.2) devient :

$$\frac{\partial w}{\partial t} = -\frac{1}{\rho}\frac{\Delta P}{L} + \upsilon\left(\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial y^2}\right) \tag{2.3}$$

Lorsque l'écoulement est établi et permanent, le terme dérivatif est nul et l'équation (2.3) se simplifie comme :

$$\frac{1}{\eta}\frac{\Delta P}{L} = \left(\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial y^2}\right) \tag{2.4}$$

Où η est la viscosité dynamique définie comme le produit de ρ par υ.

Notons que dans le cas de l'eau, η varie très sensiblement avec la température. Richter [178] propose une relation empirique entre la viscosité dynamique et la température :

$$\eta = \frac{0.1}{-120 + 2.14282.(T - 8.435 + \sqrt{8078.4 + (T - 8.435)^2})} \tag{2.5}$$

Où T est la température absolue.

La figure 2.2 présente la courbe de viscosité de l'eau pour une gamme de température comprise entre 15°C et 35°C :

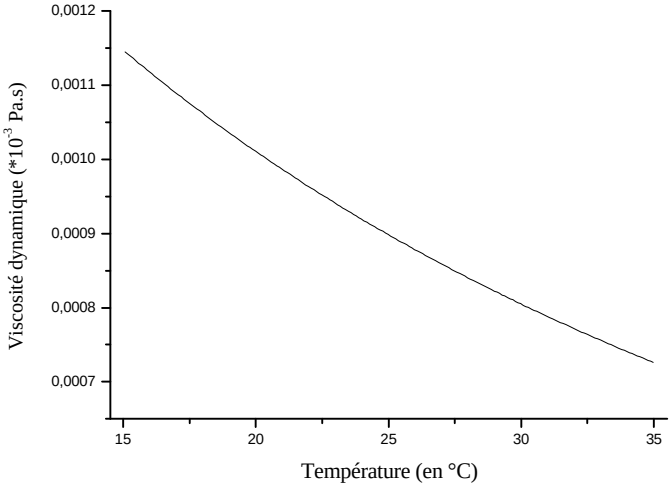


Figure 2.2 : Evolution de la viscosité de l'eau en fonction de la température

Notons ici que la viscosité du fluide, qui est une grandeur macroscopique, n'est pas forcément triviale pour le cas de l'écoulement dans un microcanal. En effet, les solutions laminaires de l'équation de Navier-Stokes considèrent le fluide comme une succession de couches atomiques glissant les unes sur les autres. On dit alors que le fluide est Newtonien. Dans ce cadre descriptif, la viscosité devient le paramètre quantitatif décrivant les pertes de charge par forces de frottements entre les couches de liquides glissant les unes sur les autres. Dans le cas où les dimensions du canal deviennent très faibles, par exemple de l'ordre de grandeur de quelques distances atomiques, les interactions « molécules/parois » deviennent non négligeables par rapport aux interactions « molécules/molécules ». Le concept de viscosité ne suffit alors plus pour décrire les pertes de charge dans l'écoulement, et il doit être révisé. En effet, la viscosité effective –ou apparente- du liquide sera plus élevée ou plus faible suivant le type d'interaction entre les molécules du fluide et la paroi. Par exemple, dans le cas d'une paroi hydrophobe, l'écoulement est favorisé, et la viscosité effective du fluide diminuera avec la dimension du canal. Cependant, dans notre cas, une molécule d'eau présente une dimension de l'ordre de quelques angström, c'est à dire cinq décades inférieures à celle des canaux que nous avons étudiés. L'hypothèse d'un fluide newtonien « classique » nous est alors apparue raisonnable pour les écoulements micrométriques et nous l'avons adoptée comme un postulat posé à priori sur les écoulements dans des microcanaux.

2.2.2 Cas particulier des écoulements microfluidiques : notion de résistance microfluidique

L'équation (2.4) amène quelques commentaires préliminaires à sa résolution. En effet, elle montre clairement que la vitesse du fluide est proportionnelle à la pression appliquée ΔP, et inversement proportionnelle au produit de la viscosité dynamique par la longueur du microcanal. De plus, cette équation ne dépend pas des formes géométriques du canal. Cette contrainte géométrique sur l'écoulement intervient seulement dans l'application des conditions aux limites, en l'occurrence une vitesse nulle à la paroi pour les matériaux hydrophiles (cas du verre et de l'oxyde natif du silicium). On a donc bien une relation entre la vitesse du fluide et le couple « forme de la section / dimensions du microcanal » , mais la résolution de l'équation (2.4) peut admettre une méthode générale indépendante de ces contraintes géométriques.

Comme précisé précédemment, une des principales caractéristiques des écoulements microfluidiques est leur caractère invariablement laminaire. La vitesse du fluide en tout point et donc le débit du système Q sont donc toujours, par définition, proportionnels à la pression appliquée ΔP, et inversement. Par analogie avec la loi d'Ohm, on pourra donc écrire :

$$\Delta P = R_{\mu f} .Q \quad \text{et} \quad Q= G_{\mu f} . \Delta P \tag{2.6}$$

Où $R_{\mu f}$ et $G_{\mu f}$ sont respectivement la résistance microfluidique et la conductance microfluidique du microsystème considéré. Notons que le débit Q est la conséquence physique de la pression appliquée ΔP. Donc, bien que les notions de résistances microfluidiques et de conductances microfluidiques soient équivalentes mathématiquement, puisque inverses l'une de l'autre, la conductance microfluidique semble à priori la plus indiquée pour la description physique d'un montage microfluidique. L'association de plusieurs éléments microfluidiques en série ou en parallèle sera équivalente à celle des conducteurs ohmiques. C'est pourquoi dans la suite de ce chapitre, nous considérerons les résistances microfluidiques des microcanaux afin de simplifier nos calculs, car ils seront toujours associés en série.

Il semble important à ce stade de notre étude de résumer les différentes hypothèses et définitions qui ont été émises pour décrire les écoulements hydrodynamiques dans des microcanaux de dimensions micrométriques :

(1) Aux échelles considérées (quelques dizaines de microns), l'eau est un fluide visqueux Newtonien,

(2) L'écoulement hydrodynamique est laminaire, établi et permanent,

(3) La vitesse du fluide est nulle sur les parois du canal,

(4) La vitesse du fluide en tout point résout l'équation : $\frac{1}{\eta}\frac{\Delta P}{L} = \left(\frac{\partial^2 w}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 w}{\partial y^2}\right)$

(5) Le débit du fluide est proportionnel à la pression. On nomme résistance microfluidique $R_{\mu f}$ du microcanal la pression à appliquer sur le fluide (en bar) pour obtenir un écoulement égal à 1 µl/h.

2.2.3 Résolution de l'équation de Navier-Stokes pour un écoulement laminaire

L'équation (4) est une équation dont la forme « laplacien d'une variable = constante » est relativement classique et dont on retrouve assez fréquemment l'usage en physique (par exemple l'équation de Poisson).

Cette forme d'équation est donc assez connue, et concernant les écoulements hydrodynamiques, elle admet une solution analytique seulement pour les géométries « circulaires » et «plans infinis ». Le tableau 2.1 rappelle ces résultats [176] :

Géométrie	Circulaire r : distance d'un point au centre, R : rayon du tube L : longueur du tube	Plan « infini » x= distance d'un point au centre L longueur du plan 2.d : épaisseur du plan
Vitesse (en m/s)	$V(r) = \frac{\Delta P.(R^2 - r^2)}{4.\eta.L}$	$V(x) = \frac{\Delta P.(d^2 - x^2)}{2.\eta.L}$
Débit (en m^3/s)	$Q = \frac{\pi.\Delta P.R^4}{8.\eta.L}$	$Q = \frac{\pi.\Delta P.2.l.d^3}{3.\eta.L}$ (si l est la largeur du plan : l>>d)

Tableau 2.1 : Solutions analytiques de l'équation de Navier-Stokes

Lorsque la section est de forme quelconque, les résolutions analytiques ne permettent plus de décrire l'écoulement. On trouve dans la littérature des formules semi-empiriques pour un certain nombre de sections [20]. Mais il a été relevé des contradictions entre ces formules (toutes différentes) et les mesures de débit correspondantes [20]. Cela nous a conduit à développer notre propre méthode de résolution de l'équation (2.4) par des algorithmes numériques sous MATLAB. Afin de s'adapter à tout type de section, notre algorithme a été conçu de manière à ce que seule la représentation matricielle d'une section quelconque (par une matrice de 0 et de 1) suffise pour simuler sa résistance microfluidique. Cet algorithme repose sur une méthode numérique par différence finie de résolution de l'équation (2.4), qui consiste à discrétiser la section du microcanal par maillage rectangulaire, puis à résoudre le Laplacien par une expression numérique approchée :

$$\frac{w_{i+1,j} - 2w_{i,j} + w_{i-1,j}}{\Delta x^2} + \frac{w_{i,j+1} - 2w_{i,j} + w_{i,j-1}}{\Delta y^2} = \frac{\Delta P}{\eta . L} \qquad (2.7)$$

Où i et j sont les indices de position sur la section du microcanal, Δx et Δy les pas de discrétisation, et $w_{i,j}$ la matrice de vitesse du fluide à travers la section. Comme défini précédemment, les conditions aux limites du problème imposent une vitesse nulle sur la paroi du microcanal. L'équation (2.5) est alors résolue de manière itérative, en appliquant comme valeur initiale une expression pseudo-aléatoire sur la vitesse $w_{i,j}$. La robustesse de notre algorithme a été vérifiée dans un premier temps avec succès par comparaison du profil de vitesse simulé dans un microtube avec la formule de Poiseuille.

Dans notre cas, les microcanaux présentent une section de forme trapézoïdale. En effet, une des méthodes de gravure du silicium consiste à plonger le substrat dans un bain chimique KOH (voie humide). Cette gravure est anisotrope, c'est à dire que certains plans cristallins sont gravés plus rapidement que d'autres.

Il en résulte un profil de gravure trapézoïdal avec un angle d'attaque de 54.7°. La figure 2.3 présente les résultats de simulation obtenus sur un tel microcanal, d'épaisseur 21.3 µm, de largeur 57.5 µm et de longueur 44.9 cm. Ce canal est remplie d'eau à 25°c sous une pression de 1 bar. Les deux graphiques de la figure 2.3 montrent la vitesse transversale du fluide sur la section sous deux formes : en courbe 3D de vitesse en fonction de la position, et en courbes de niveau d'isovitesses. Le débit simulé correspondant vaut 19.9 µl/h, c'est à dire une résistance microfluidique du microcanal $R_{\mu f}$ égale à 50.2 mbar/(µl.h^{-1}).

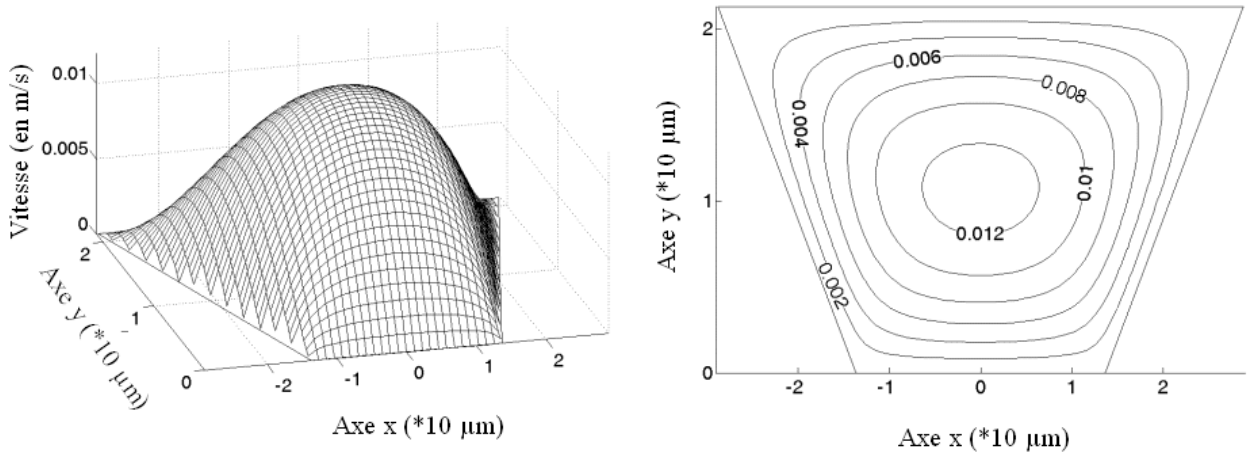


Figure 2.3 : Profil de vitesse simulé (en m/s) du fluide dans le cas d'un microcanal de section trapézoïdale de profondeur 21.3 µm, de largeur 57.5 µm, de longueur 44.9 cm, et d'angle 54.7°. Ce microcanal est rempli d'eau à 25° C sous une pression de 1 bar.

Les courbes de la figure 2.3 conduisent à une observation très importante sur la répartition du profil de vitesse dans le canal. En effet, il apparaît clairement que le profil de vitesse prend assez rapidement des formes assez douces dans le canal, pour être quasiment identique à celui d'un tube circulaire au milieu de celui-ci, c'est à dire avec une forme parabolique. Par conséquent, l'influence de la rugosité des parois (mesurée de l'ordre de quelques nm) sur le débit peut être considérée comme négligeable, car c'est la partie centrale de la section qui intervient le plus dans le calcul de cette grandeur. Notons cependant que cette faible influence de la rugosité sur le débit ne reste vrai que pour des conditions aux limites de type « non glissement à la paroi ». En effet, dans certains cas (silicium poreux par exemple) la rugosité des parois peut entraîner un glissement, qui augmentera le débit du canal à pression constante sans que la forme globale de la vitesse du fluide ne soit modifiée. Dans ce cas, la rugosité n'est plus un facteur à négliger.

2.3 Réalisation des microcanaux et du banc de mesure de débits microfluidiques

2.3.1 Réalisation des microcanaux : procédé de fabrication

La réalisation de ces canaux, hormis les aspects habituels liés à leurs faibles dimensions, a été pensée en fonction d'une contrainte originale que nous nous sommes imposée sur la connectique d'entrée/sortie des microcanaux. En effet, l'étude bibliographique sur ce sujet montre que la stratégie quasi-systématiquement adoptée pour relier les microcanaux au monde macroscopique consiste à percer des trous dans les plaques sur lesquelles sont gravés les canaux (ou sur les plaques de scellement, ce qui revient au même), puis à presser sur ces trous des tubes flexibles [20,129,130,179,180]. L'étanchéité est alors assurée par des joints montés en force sur le système. Cette méthode a comme principal défaut d'être assez lourde à mettre en œuvre, avec une étanchéité pratiquement impossible à vérifier lorsque les débits sont très faibles, puisque les fuites sont masquées par l'évaporation relative très rapide du liquide par rapport aux débits mesurés.

Il nous a donc semblé intéressant de proposer une méthode de connectique différente, car nous avons par ailleurs au LENAC une bonne expérience sur la manipulation des tubes capillaires de faibles dimensions. L'originalité de notre démarche consiste donc à insérer des tubes capillaires dans la tranche du dispositif, en contact direct avec les entrées/sorties du microcanal, et à assurer l'étanchéité du système par un bouchon de colle. Les tubes capillaires que nous avons utilisés à cet effet ont un diamètre interne de 50 µm et de diamètre externe de 150 µm, ils sont donc compatibles avec les wafers d'épaisseur 500 µm dans lesquels nous avons gravé les microcanaux. Cette technique de connectique impose de réaliser une double gravure dans le silicium, avec des canaux profonds (de l'ordre de 150µm) dans lesquels sont placés les capillaires d'entrée/sortie, et les microcanaux proprement dits, dont la profondeur fait typiquement 20 µm. Le procédé de fabrication est présenté en figure 2.4.

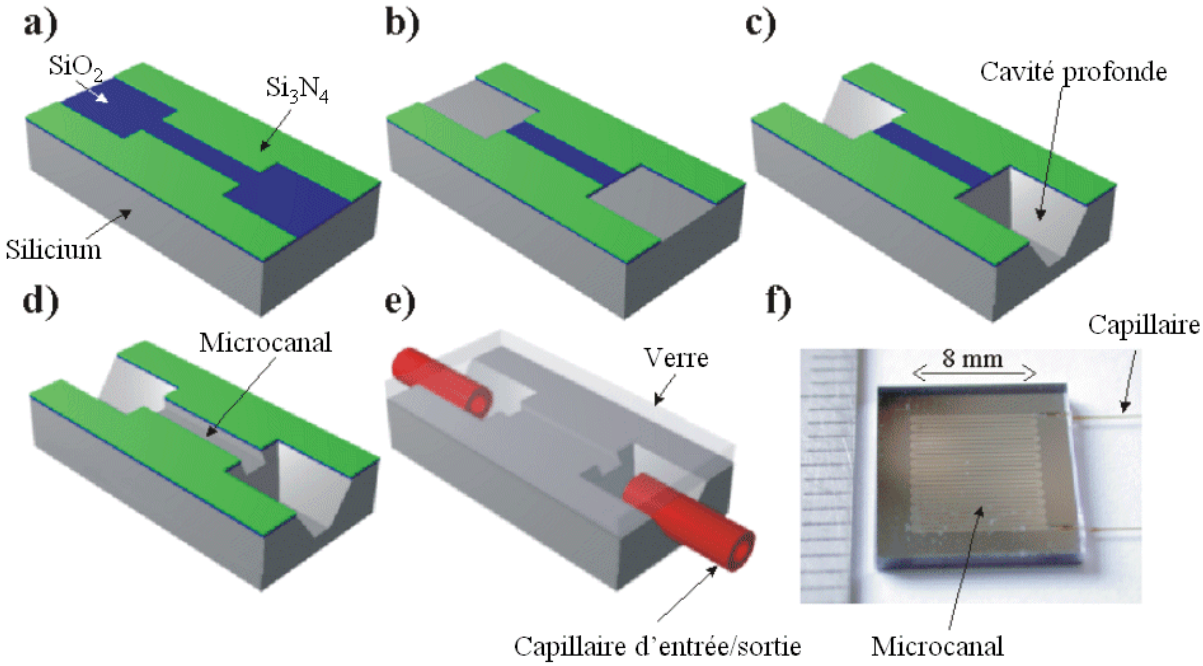


Figure 2.4 : Procédé de réalisation des microcanaux

La fabrication des microcanaux procède des étapes suivantes :

(1) Oxydation du silicium (800 nm), dépôt de 200 nm de nitrure Si_3N_4. Lithographie des motifs « canaux profonds + microcanaux » (figure 2.4.a). Attaque du nitrure.

(2) Lithographie des motifs « canaux profonds ». Attaque du SiO_2 (figure 2.4.b)

(3) Gravure KOH des canaux profonds dans le silicium (figure 2.4.c).

(4) Attaque du SiO_2, gravure KOH du silicium sur une faible profondeur pour les microcanaux (figure 2.4.d)

(5) Scellement des canaux par « collage anodique » silicium/verre (figure 2.4.e).

(6) Découpe des échantillons. Insertion des capillaires dans les canaux profonds puis collage (figure 2.4.f).

On distingue sur la droite de l'image figure 2.4.f les capillaires de connectique d'entrée/sortie. On remarque aussi que les canaux ne sont pas de forme droite mais en serpentin. Cette géométrie complique quelque peu l'écoulement dans le canal, en supprimant notamment l'hypothèse d'écoulement 2D , mais elle permet d'obtenir des canaux de grande longueur (typiquement de 25 à 45 cm) sur une petite surface de silicium (de l'ordre du cm^2).

Pour conserver les hypothèses d'un écoulement laminaire à deux dimensions, il a fallu admettre quelques simplifications théoriques, que nous présentons en détail au paragraphe 2.3.1.

Cinq types de microcanaux ont été réalisés, afin de varier les conditions expérimentales ainsi que les débits attendus. Leurs caractéristiques géométriques, ainsi que celles des capillaires d'entrée/sorties sont présentées au tableau 2.2 (paragraphe 2.3.3). La profondeur des microcanaux a été déterminée au profilomètre, et les autres paramètres géométriques ont été mesurés grâce à un microscope optique. Lors des mesures de profondeur, nous avons observé une variation de profondeur dans un même microcanal en fonction de la position de la mesure, typiquement de l'ordre de 0.1µm. Ceci s'explique par des inhomogénéités locales de gravure du silicium, courantes dans ce type de techniques de réalisations. Ces variations, ne dépassant jamais la centaine de nanomètre, ont été prises en compte pour l'estimation théorique des débits attendus.

Concernant les tubes capillaires, leur section a été observée au microscope, et nous avons mesuré un diamètre de 52.5±1.0 µm. La dispersion sur leur longueur mesurée provient de la précision de mesure de celle-ci avec un double décimètre par l'expérimentateur.

2.3.2 Mesure de micro-débits hydrodynamiques

2.3.2.1 Banc de mesure microfluidique

Une des principales difficultés des études d'écoulements microfluidiques consiste dans la mesure d'écoulements dont le débit est typiquement de l'ordre de grandeur du µl/h, avec une faible erreur expérimentale. Ces écoulements étant -à priori- toujours laminaires, la mesure de la résistance microfluidique de chaque microcanal se fera par simple rapport des débits mesurés sur les pressions correspondantes. On trouve dans la littérature quelques exemples de bancs expérimentaux de débits microfluidiques. Ces bancs de mesure reposent principalement sur quatre méthodes :

(1) La mesure d'une masse de fluide déplacée dans un laps de temps donné pendant l'écoulement : soit par pesée dans un septum, soit par flexion d'un capillaire [181].

(2) Les mesures de suivi vélocimétrique de particules dans le fluide [182,183].

(3) Les mesures différentielles de températures du fluide par deux capteurs placés autour d'une source de chaleur [184].

(4) La mesure de vitesse de déplacement d'un ménisque dans un tube gradué servant de référence volumique placé en amont ou en aval du microcanal [20,129,178-181].

Nous avons choisi d'utiliser cette dernière méthode car elle présente l'avantage d'une grande souplesse expérimentale, et parce qu'elle est robuste par rapport à d'éventuels problèmes d'évaporation des fluides testés (de l'éthanol et de l'eau principalement). Le schéma du banc expérimental est présenté en figure 2.5.

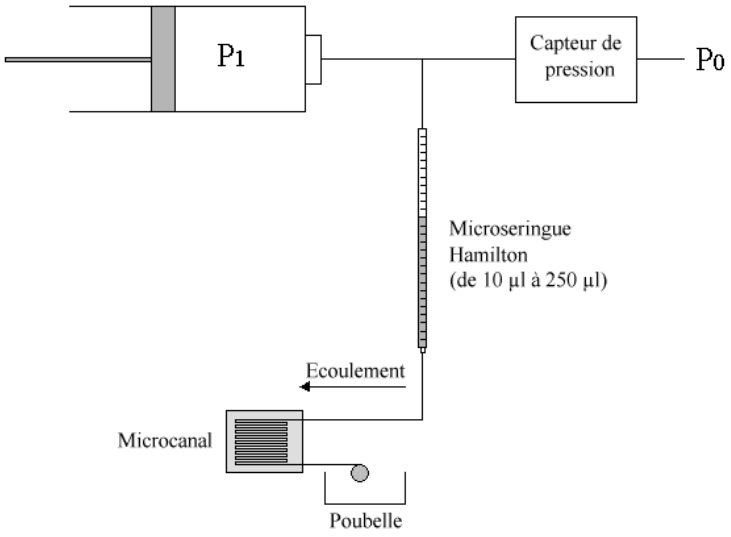


Figure 2.5 : Dispositif expérimental de mesure de débits microfluidiques

On détaille ce banc expérimental d'amont en aval comme suit :

(1) Une seringue de grand volume (60 mL) est remplie d'air et connectée à un capteur différentiel de pression. Cette seringue a pour fonction d'appliquer une pression statique P_1 sur le fluide étudié. La pression appliquée sur le fluide est alors $\Delta P=P_1-P_0$.

(2) Le fluide remplit une seconde seringue de faible volume, de 10 µl à 250 µl selon le microcanal étudié, qui sert de réservoir et de volume de référence.

(3) Cette seconde seringue est connectée en aval au microcanal par l'intermédiaire d'un tube capillaire.

(4) Le microcanal débouche sur une poubelle par l'intermédiaire d'un second tube capillaire.

L'utilisation de seringues comme tubes gradués est très pratique à plusieurs titres. En effet, ces seringues sont calibrées et graduées avec une grande précision, on peut adapter la seringue au débit attendu car les volumes proposés couvrent une large gamme, et enfin la connectique seringue/capillaire est proposée commercialement. On gagne ainsi en temps de développement et en fiabilité de la mesure.

2.3.2.2 Incertitudes de mesures des débits microfluidiques

La mesure du débit se fait par mesure de déplacement de ménisque dans un tube gradué servant de volume de référence. La valeur de débit est alors :

$$Q = \frac{V}{t} \tag{2.8}$$

Où V est le volume de liquide déplacé pendant le temps t. Soit ΔV l'incertitude de mesure sur le volume, et Δt l'incertitude de mesure sur le temps. On a :

$$\frac{\Delta Q}{Q} = \frac{\Delta V}{V} + \frac{\Delta t}{t} \tag{2.9}$$

Or, dans la pratique, le terme $\Delta t/t$ est toujours négligeable puisque les mesures durent typiquement de quelques minutes à une heure avec un déclenchement de l'opérateur au chronomètre, donc un biais de l'ordre de la seconde. On pourra donc écrire :

$$\frac{\Delta Q}{Q} = \frac{\Delta V}{V} \tag{2.10}$$

Soit

$$\Delta Q = \frac{\Delta V}{t} \tag{2.11}$$

On peut ainsi estimer facilement les débits minimums mesurables sur notre banc expérimental. En effet, ces débits doivent correspondre à une erreur expérimentale acceptable pour un temps de mesure raisonnable. Sur ces points, nous nous sommes fixés la limite d'une

erreur relative maximale de 10% pour un durée expérimentale maximale de une heure. La plus petite seringue présente une erreur de mesure de volume minimale égale à 0.2 µl (seringue Hamilton 10 µl). Compte tenu des contraintes que nous nous sommes imposés, on doit donc mesurer un déplacement d'au moins 2 µl dans une durée de une heure au maximum, ce qui nous permet de mesurer un débit minimal de 2 µl/h (ou $5*10^{-13}$ m^3/s ou encore 57 an/l).

2.3.2.3 Validation expérimentale du banc de mesure

Le banc de mesure de débits microfluidiques a été validé en mesurant des écoulements d'eau dans un certain nombre de tubes capillaires en silice, notamment dans le cadre d'un stage de DESS que nous avons encadré au LENAC [185]. Ce type d'étude hydrodynamique dans des capillaires présente l'intérêt d'avoir été déjà réalisée avec succès par d'autres équipes [20,175,186]. C'est donc une base expérimentale robuste, qui offre de plus l'avantage d'être très simple et rapide à mettre en oeuvre.

Il n'est pas utile de présenter tous les résultas obtenus sur ces capillaires, aussi nous limiterons-nous à un exemple de mesure d'écoulement sur le type de tube utilisé pour la connectique d'entrée/sortie des microcanaux car ce résultat nous servira par la suite. Soit un tel tube capillaire de longueur 199±1 mm. La température de la pièce était de 22.5°C lors de l'expérience. La formule de Poiseuille (tableau 2.1) indique que, compte tenu des incertitudes de mesures sur les paramètres géométriques du capillaire, la résistance microfluidique attendue est égale à 2.8±0.2 mbar/(µl.h^{-1}).

L'expérience a été réalisée avec une seringue de 100 µl utilisée comme volume de référence, et sous différentes pressions sur une gamme [0-1] bar, sans que l'on observe de fuite pendant le temps expérimental. La résistance microfluidique mesurée sur ce capillaire est égale à 2.7±0.1 mbar/(µl.h^{-1}), avec un coefficient de corrélation de 0.9990 entre la pression et le débit, validant ainsi le banc expérimental et l'hypothèse d'écoulement laminaire.

2.4 Méthode de calcul des résistances microfluidiques dans les microcanaux réalisés, et confrontation avec l'expérience

2.4.1 Etude préliminaire des pertes de charge

La figure 2.6 représente de manière schématique le dispositif microfluidique expérimental en terme de perte de charge : tous les éléments microfluidiques sont en série, traversés par le même débit Q. Ainsi, la résistance microfluidique totale R_T est égale à la somme des résistances microfluidiques de chaque élément. On peut donc dissocier la pression totale appliquée sur le fluide en quatre contributions :

(1) $\Delta P_S = R_S.Q$, la perte de charge dans le tube de référence volumique (micro seringue Hamilton)

(2) $\Delta P_C = R_C.Q$, la perte de charge dans les tubes capillaires

(3) $\Delta P_J = R_J.Q$, la perte de charge dans les deux zones de jonction entre les capillaires et le microcanal,

(4) $\Delta P_M = R_M.Q$, la perte de charge dans le microcanal.

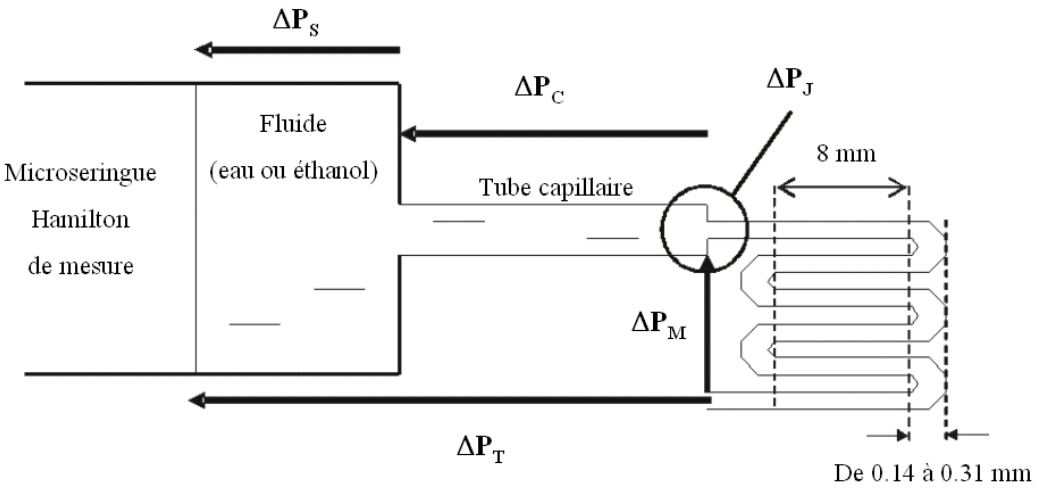


Figure 2.6 : Description schématique des pertes de charges dans le dispositif microfluidique total

Il apparaît clairement qu'une étude théorique très complète de l'écoulement hydrodynamique dans le microcanal impose de traiter les pertes de charges ΔP_J et ΔP_M avec des outils numériques de simulation en 3D. Deux réponses s'imposent alors pour traiter ce problème. Soit on approche ces pertes de charge par des éléments 2D, au prix d'un ajout « d'incertitudes théoriques » ; soit on traite les aspects 3D en tant que tels, au prix du temps de développement et de calculs nécessaire à cette étude. Ces deux réponses ont été abordées conjointement, avec comme intérêt premier de déterminer quantitativement le coût en précision de calcul du passage d'une modélisation complète en 3D à une modélisation 2D.

2.4.2 Calcul des pertes de charge dans le système microfluidique expérimental

2.4.2.1 Calcul de DP_S et DP_C

Soient les pertes de charges ΔP_S, ΔP_C comme définies au paragraphe précédent. Dans les deux cas, la géométrie est de type « tube cylindrique», et le calcul des résistances microfluidiques est donné par la formule de Poiseuille (cf. tableau 2.1) :

$$R_{tube} = \frac{128.\eta.L}{\pi.D^4} \qquad (2.12)$$

L'équation 2.12 montre la dépendance de la résistance microfluidique en inverse du diamètre à l'exposant quatre, ce qui amène deux remarques importantes. On pourra toujours négliger la perte de charge dans la seringue ΔP_S, devant celles des autres éléments du dispositif expérimental, car le diamètre de celle-ci est supérieur au mm dans tous les cas. De plus, la précision sur la détermination du diamètre des capillaires revêt une importance capitale sur la précision de calcul de la résistance microfluidique du système total, via la grandeur ΔP_C. C'est la raison pour laquelle nous avons préféré mesurer les diamètres des capillaires plutôt que de nous fier aux valeurs annoncées par le fabricant.

2.4.2.2 Calcul de DP_J et DP_M

Enoncé des hypothèses 2D

Comme défini précédemment, la perte de charge ΔP_J correspond aux deux zones de jonction entre les capillaires et le microcanal. Ces zones sont très courtes en longueur, de l'ordre de grandeur du millimètre, et de section similaire aux autres éléments géométriques du microcanal. Or, à section constante, la résistance microfluidique d'un élément est proportionnelle à sa longueur. Sachant que les microcanaux présentent une longueur minimale de 20 cm (cf. tableau 2.2, paragraphe 2.3.3), il apparaît clairement que ΔP_J est négligeable devant les autres pertes de charge dans le système microfluidique.

ΔP_M représente la perte de charge dans le microcanal proprement dit, que l'on peut séparer en deux classes de contributions : celles des portions droites du microcanal, et celles des portions courbées en forme de demi-tour, que nous appellerons « coudes », disposés sur chaque extrémité des portions droites. Ces pertes de charge dans les coudes ne sont pas négligeables à priori dans l'écoulement, et leur détermination ne peut pas se faire par calcul numérique 2D car leur section n'est pas constante, comme le montre la figure 2.7 :

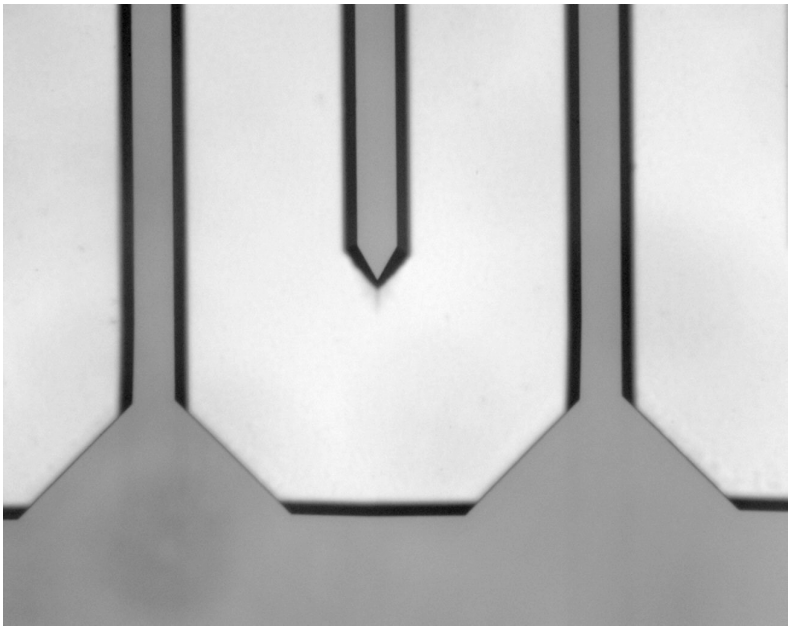


Figure 2.7 : Exemple de coude pour un canal microfluidique de type « C »
(Les canaux font 142 µm de large)

L'observation de ce type d'image montre dans tous les cas que la section du canal dans le coude est plus large que dans sa portion droite. Ceci s'explique par la sur-gravure du silicium dans le KOH. Or, la perte de charge d'un système varie globalement comme l'inverse de sa largeur. Donc, la perte de charge dans le coude est inférieure à la perte de charge correspondant à la même longueur de portion droite du canal, variable, que l'on sait calculer par simulation 2D :

$$0<R_{coude} < R_{\text{« canal droit de longueur équivalente au coude »}}$$

On pourra donc encadrer la résistance microfluidique théorique du microcanal complet comme suit :

$$R_{\text{« portions droites »}}<R_{\text{« microcanal complet »}} < R_{\text{« portions droites »}}+ R_{\text{« canaux droits équivalents au coude »}}$$

Cela revient à encadrer la longueur réelle du microcanal en la définissant comme une longueur virtuelle comprise entre la longueur des portions droites et la somme des longueurs des portions droites avec celles des coudes :

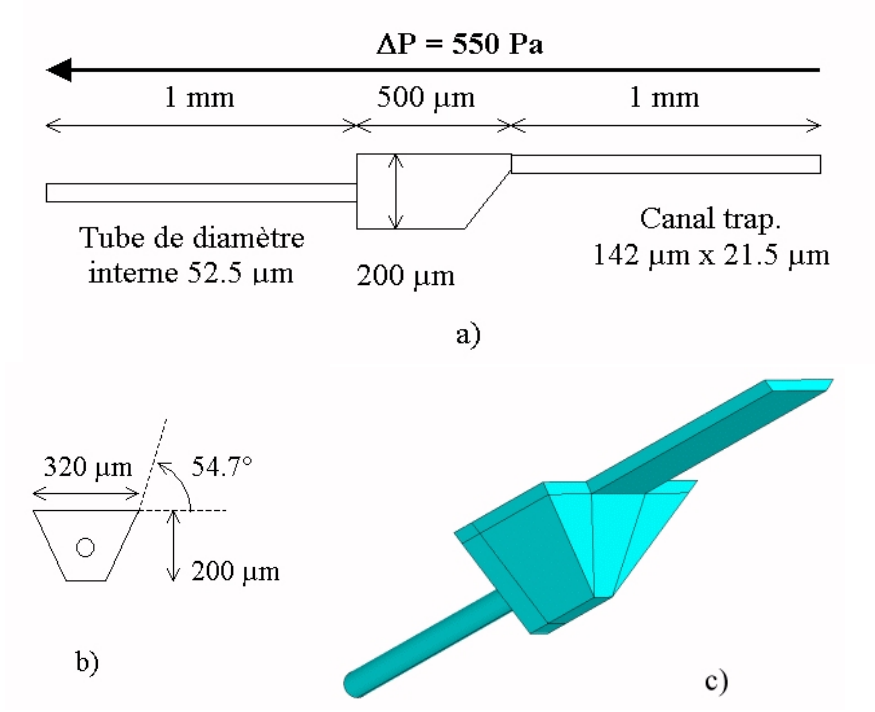
$$L_{\text{« portions droites »}}<L_{\text{« microcanal complet »}} < L_{\text{« portions droites »}}+ L_{\text{« canaux droits équivalents au coude »}}$$

Cet encadrement induit donc une dispersion virtuelle sur la longueur des microcanaux, qui a été prise en compte dans sa définition géométrique en tableau 2.2 (cf. paragraphe 2.3.3).

Vérification des hypothèses 2D par simulation numérique 3D

Pour vérifier les hypothèses et simplifications 2D proposées au paragraphe précédent, nous avons pu procéder à des simulations numériques sous le logiciel 3D ANSYS grâce à une collaboration avec C. Malhaire du Laboratoire de Physique de la Matière à l'INSA de Lyon.

Pour estimer la perte de charge ΔP_J dans les jonctions capillaires /canaux, nous avons simulé l'élément suivant, issue de la géométrie de type « C » (cf. tableau 2.2, paragraphe 2.3.3) :

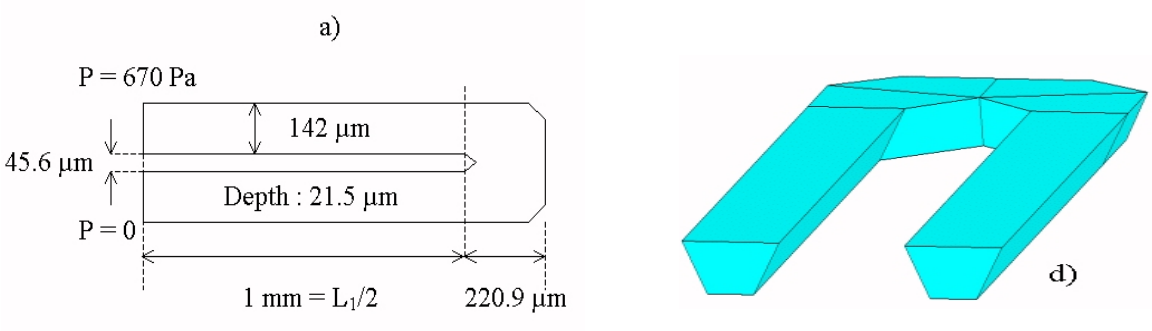


a) vue de profil, b) vue de face, c) vue 3D

Figure 2.8 : Jonction microfluidique capillaire/microcanal

Pour cette simulation, nous avons résolu l'équation de Navier-Stokes avec des conditions aux limites de non glissement à la paroi et une pression différentielle appliquée sur le fluide égale à 550 Pa, c'est à dire à peu près la perte de charge globale rencontrée pour une telle portion du système microfluidique en conditions expérimentales lorsque l'on applique un bar sur l'ensemble du système microfluidique. Le fluide simulé est de l'eau à 27.6°C. La simulation montre que la partie centrale, correspondant à la jonction proprement dite, ne contribue que pour une perte de charge égale à 8 Pa sur 550 Pa. L'hypothèse « ΔP_J négligeable » est donc tout à fait raisonnable.

Le calcul de la perte de charge induite par une portion de « demi-tour » dans un microcanal a été fait avec le même logiciel et avec les mêmes conditions aux limites que pour la simulation précédente. La géométrie simulée, issue du microcanal « C » est présentée en figure 2.9 :



a) Vue de dessus *b) Vue 3D*

Figure 2.9 : Portion de « demi-tour » d'un canal microfluidique

Par exemple, pour une température de 27.6°C, la simulation 3D donne une résistance microfluidique du coude égale à 5.6 µbar/(µl.h^{-1}). La simulation 2D de la portion droite équivalente, c'est à dire de longueur égale à 440 µm, donne une résistance microfluidique égale à 11.4 µbar/(µl.h^{-1}). La même étude a été faite pour l'ensemble des microcanaux (de « A » à « E »), et les résultats obtenus sont toujours identiques. On peut donc bien estimer la perte de charge 3D dans le "demi-tour" du microcanal en l'encadrant par des simulations 2D de canaux droits, et l'hypothèse de longueur virtuelle du microcanal du paragraphe précédent est validée.

2.4.3 Calcul théorique, et mesure des résistances microfluidiques des microcanaux réalisés

Les conductances microfluidiques théoriques attendues dans les microcanaux trapézoïdaux ont été calculées avec les hypothèses théoriques et les simplifications de simulations exposées dans les paragraphes précédents.

Le tableau 2.2 présente les géométries des différents microsystèmes fluidiques réalisés, les dispersions (réelles ou virtuelles) sur leurs dimensions, les résistances microfluidiques calculées par notre algorithme 2D de résolution de l'équation de Navier-Stokes, et enfin les valeurs mesurées de ces résistances. Notons ici que les dispersions sur les paramètres géométriques des microcanaux et des capillaires de connectique induisent des

dispersions sur les valeurs théoriques des résistances microfluidiques, ce qui est antinomique. Dans un soucis de rigueur, on parlera donc non pas de « valeurs théoriques » de la résistance microfluidique d'un microsystème, mais plutôt d'une « estimation calculée » de cette résistance.

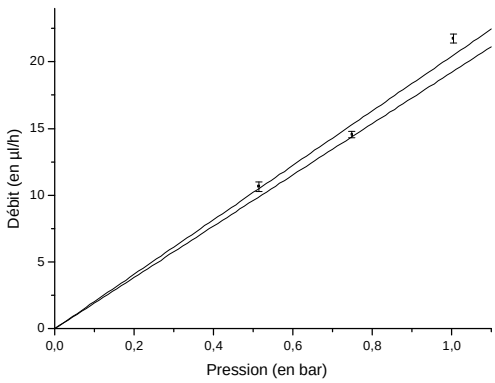
Microsystème fluidique		A	B	C	D	E
Température (°C) Lors de l'expérience		25.3 ±0.3	28.0 ±0.3	27.6 ±0.1	27.0 ±0.2	27.7 ±0.2
Microcanal	Profondeur (µm)	21.4±0.1	21.4±0.1	21.5±0.1	21.4±0.1	21.3±0.1
	Largeur (µm)	58±0.5	94±0.5	142±0.5	199±0.5	267±0.5
	Longueur (cm)	44.4±0.5	44.1±0.7	32.8±0.8	24.9±0.8	20.6±1.0
	Valeur estimée de R_M en mbar/(µl.h^{-1})	**48.8±1.4**	**19.6±0.7**	**8.3±0.4**	**4.3±0.2**	**2.5±0.2**
Capillaire	Diamètre (µm)	52.5±1.0	52.5±1.0	52.5±1.0	52.5±1.0	52.5±1.0
	Longueur (cm)	14.2±0.2	9.4±0.2	10.8±0.2	8.9±0.2	9.0±0.2
	Valeur estimée de R_C en mbar/(µl.h^{-1})	**1.9±0.2**	**1.2±0.2**	**1.4±0.2**	**1.1±0.2**	**1.1±0.2**
Microsystème complet	***Valeur estimée de R_T en mbar/(µl.h^{-1})***	**50.7±1.6**	**20.8±0.9**	**9.7±0.6**	**5.4±0.4**	**3.6±0.4**
	Valeur mesurée de R_T en mbar/(µl.h^{-1})	**47.5±2.7**	**20.0±0.3**	**10.2±0.4**	**5.3±0.1**	**3.7±0.1**

Tableau 2.2: Paramètres géométriques et résistances microfluidiques des microsystèmes réalisés

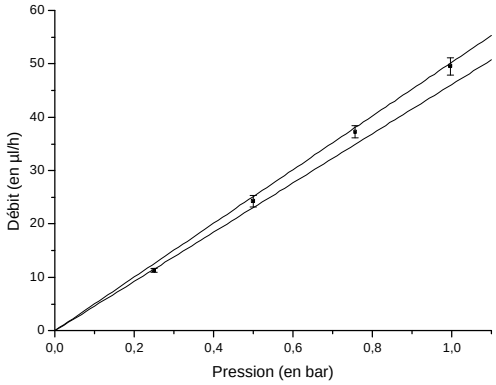
Le détail des mesures expérimentales est reporté dans le tableau 2.3 et représenté graphiquement à la figure 2.10. Sur chaque graphique, les deux droites représentent les valeurs extremum de la résistance microfluidique des microcanaux estimées par le calcul, et les points de mesure sont représentés avec leurs incertitudes associées.

Type de microsystème	**A**		**B**		**C**		**D**		**E**	
Mesures expérimentales (pression ΔP en bar, débit Q en µl/h)	ΔP	Q	ΔP	Q	ΔP	Q	ΔP	Q	ΔP	Q
			0.249	11.0	0.256	23.0	0.256	44.7	0.255	69.4
				11.7		24.0		46.2		71.8
	0.514	10.3	0.500	23.2	0.458	49.3	0.506	87.5	0.449	133.1
		11.0		25.3		50.8		90.3		137.7
	0.749	14.3	0.757	36.1	0.753	73.4	0.761	139.0	0.753	198.2
		14.8		38.4		75.9		142.9		204.8
	1.004	21.4	0.997	47.9	0.996	95.2	1.004	187.8	1.004	263.4
		22.1		51.2		99.2		193.5		273.1
Taux de corrélation débit/pression expérimental	0.9965		0.9998		0.9977		0.9992		0.9980	

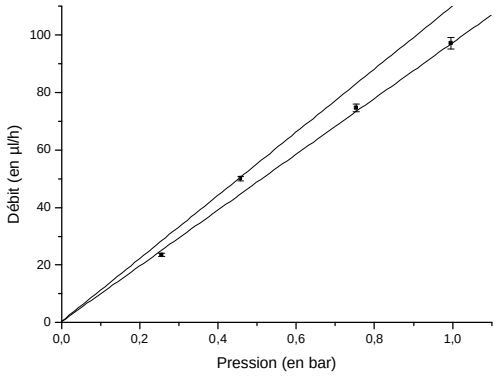
Tableau 2.3 : Détail des valeurs expérimentales



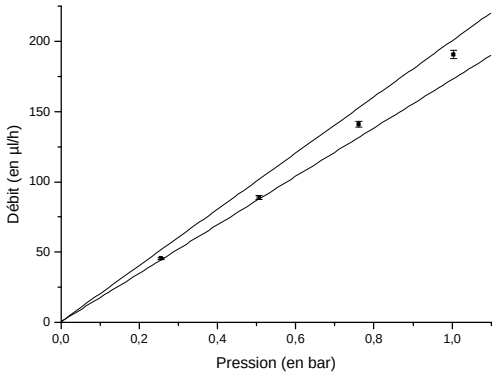
a) Dispositif microfluidique « A »



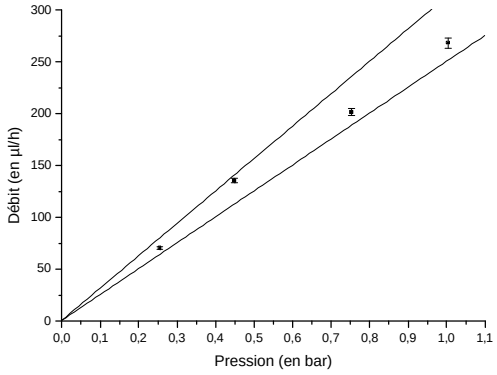
b) Dispositif microfluidique « B »



c) Dispositif microfluidique « C »



d) Dispositif microfluidique « D »



e) Dispositif microfluidique « E »

Figure 2.10 : Mesures d'écoulements des dispositifs microfluidiques réalisés

2.5 Discussion des résultats

2.5.1 Interprétation des résultats

On observe sur les figures 2.10.a à 2.10.e une bonne correspondance globale entre les débits théoriques estimés pour chaque microcanal et les débits mesurés expérimentalement. On notera toutefois que certains points s'écartent légèrement des courbes théoriques. Ceci peut s'expliquer de différentes manières. On notera par exemple qu'un débit expérimental peut être surestimé en cas de fuite de liquide dans le système en amont du microcanal malgré toutes nos précautions sur la connectique. Or ces fuites sont indétectables à ces échelles de débits. Nous avons aussi remarqué que la présence d'une bulle d'air dans le microcanal avait tendance à ralentir l'écoulement, voire parfois à le bloquer. Certaines bulles indécelables car trop petites ont pu peut-être ainsi diminuer le débit mesuré pour certains échantillons.

C'est pourquoi nous nous garderons de juger individuellement chaque mesure expérimentale, mais de garder plutôt une approche globale pour chaque microcanal. Pour cela, on se reportera à la valeur de résistance microfluidique déduite des mesures ainsi que la corrélation entre le débit mesuré et la pression appliquée sur le fluide.

Notons ici que les coefficients de corrélation déterminés entre la pression appliquée sur le fluide et le débit mesuré pour chaque microcanal, en dernière ligne du tableau 2.3, sont tous très proches de 1. Nous avons là un indice purement expérimental permettant d'affirmer la validité physique de l'hypothèse d'écoulements laminaires émise au paragraphe 2.1.2.

Pour résumer nos résultats expérimentaux en un seul graphique, la figure 2.11 présente une comparaison (sous forme d'un rapport) entre les résistances microfluidiques estimées théoriquement et mesurées pour chaque microcanal :

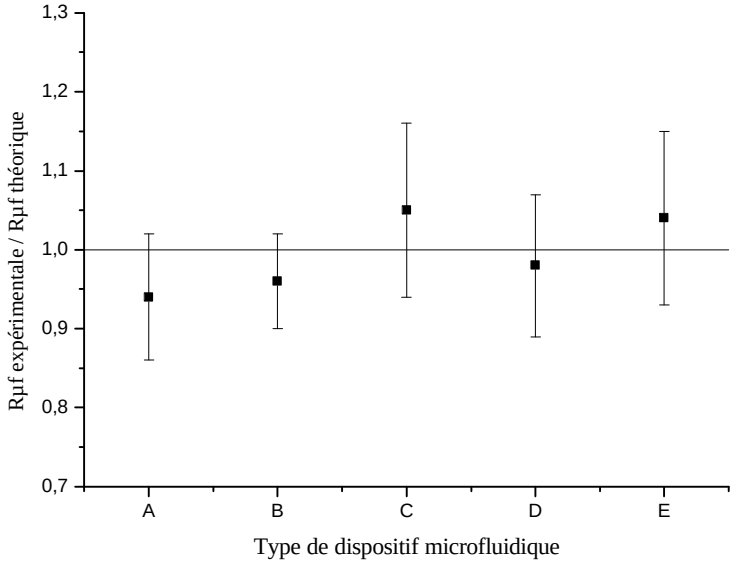


Figure 2.11 : Rapport entre résistance microfluidique expérimentale et résistance microfluidique théorique pour les cinq types de systèmes microfluidiques réalisés

On observe sur cette figure une bonne correspondance entre les résistances microfluidiques estimées de manière théorique et les résistances microfluidiques expérimentales puisque le rapport entre ces grandeurs ne s'éloigne jamais de plus de 6% de l'unité.

Ce résultat tend donc à montrer que dans les dimensions décamicrométriques, les modèles macroscopiques de mécanique des fluides sont toujours valides, et que les écoulements sont toujours laminaires.

2.5.2 Comparaison avec la littérature

Lors de notre étude, nous avons trouvé une très bonne correspondance entre les résistances microfluidiques mesurées pour chaque microsystème et les valeurs calculées à partir des équations macroscopiques de la mécanique des fluides, associées aux hypothèses d'écoulements laminaires. Or, au début de ce travail, ce type de résultat expérimental était très loin de faire l'unanimité dans le milieu scientifique, comme nous le verrons dans ce

paragraphe. On se propose donc ici de présenter un panel sûrement non exhaustif de travaux réalisés sur le thème de l'hydrodynamique dans les microcanaux, dans le but de mettre en perspective notre travail dans un cadre plus large.

2.5.2.1 Remarque préliminaire sur la lecture de ce paragraphe

Avant de détailler les résultats de la littérature, un éclaircissement s'impose quant au mode de représentation des résultats obtenus dans d'autres équipes. Pour notre part, nous avons choisi de représenter les résultats sous la forme d'une résistance microfluidique, c'est à dire le rapport entre la pression dans un dispositif et le débit du fluide. Cette grandeur n'est pas la seule pour représenter un écoulement microfluidique, et de nombreux auteurs préfèrent utiliser des paramètres réduits :

(1) Le nombre de Reynolds Re, défini comme [127] :

$$Re = \frac{\rho . < v > .D}{\eta} \qquad (2.13)$$

où ρ est la densité du fluide, $<v>$ sa vitesse moyenne dans le canal, η sa viscosité dynamique, et D la plus petite grandeur caractéristique du système.

Dans le cas de microcanaux, l'équation 2.13 peut s'écrire [187] :

$$Re = \frac{\rho . Q . D_h}{\eta . S} \qquad (2.14)$$

Avec ρ la densité dynamique du fluide (en $kg.m^{-3}$), Q le débit du fluide (en $m^3.s^{-1}$), S la section du canal (en m^2), η la viscosité du fluide (en $kg.m^{-1}.s^{-1}$), et D_h le diamètre hydraulique, défini comme le diamètre d'un tube cylindrique dont la surface de coupe est égale à celle du microcanal.

Dans notre cas, D_h varie entre 44 µm et 70 µm, et Re varie entre 0.02 et 0.34. Notons ici que la transition d'un écoulement laminaire à un écoulement turbulent a lieu pour des valeurs de Re de l'ordre de 2000. On confirme par le calcul le caractère invariablement laminaire des écoulements dans nos microcanaux.

(2) Le facteur de frottement f, nombre sans dimension qui s'exprime comme [20]:

$$f = \frac{\Delta P.D_h}{2.\rho.L.<v>^2} \tag{2.15}$$

Où ΔP est la pression appliquée sur le fluide en Pa, et les autres grandeurs définies comme précédemment. On peut écrire cette équation sous la forme :

$$f = \frac{\pi^2.\Delta P.Dh^5}{512.\rho.L.Q^2} \tag{2.16}$$

Dans notre cas, f varie entre 3 et 23.

(3) On peut enfin définir le coefficient de friction C, ou encore nombre de Poiseuille Po, comme le produit du facteur de friction par le nombre de Reynolds :

$$Po = f.Re = \frac{\pi^2.\Delta P.D_h^6}{512.\eta.S.L.Q} \tag{2.17}$$

Dans notre cas, Po varie entre 0.46 et 1.02

2.5.2.2 Résultats de la littérature

La figure 2.12, reprise d'un article de Paupautsky et al. [188], propose sous forme graphique un condensé de résultats d'expériences hydrodynamiques effectuées avant l'année 1999 :

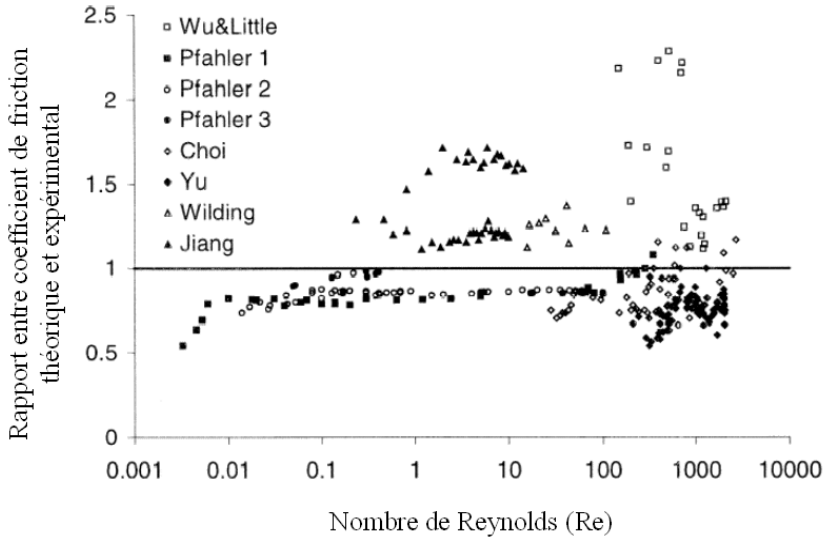


Figure 2.12 : Condensé de travaux sur l'hydrodynamique (issu de [188]).

Il apparaît clairement sur ce graphique, que, pour ce qui concerne les écoulements microfluidiques (Re<100), les résultats obtenus sont pour le moins divergents avec les théories classiques, mais aussi contradictoires entre eux. A la lumière de cette figure, on peut classer les travaux présentés dans la littérature en quatre catégories : certains ne répondent pas à la question posée sur la validité des équations macroscopiques aux dimensions microscopiques à cause d'incohérences d'un échantillon à l'autre; d'autres surestiment systématiquement les débits expérimentaux ; d'autres encore, au contraire, les sous-estiment ; et enfin, certains auteurs observent que les équations macroscopiques sont toujours vérifiées dans des microcanaux.

Etudes dont les résultats sont incohérents d'un échantillon à l'autre

Dans la première catégorie, Pfhaler et al. [130] semblent être les premiers auteurs à revendiquer des études d'écoulements hydrodynamiques de fluides sur des canaux de dimensions microscopiques (de section rectangulaire 53 µm* 135 µm), en 1990. Leurs résultats, présentés sous la forme d'une dépendance du nombre de Poiseuille en fonction de Re divergent nettement d'avec les équations macroscopiques (entre 50% et 100%), le facteur de friction étant tantôt sous-estimé, tantôt surestimé suivant les échantillons.

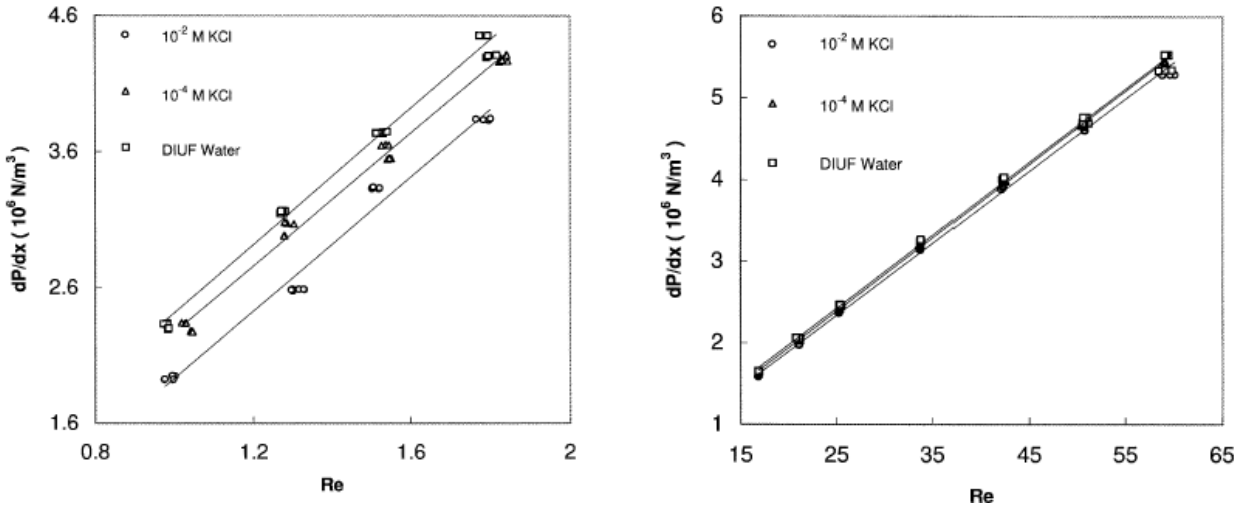
En 2000, une thèse est soutenue à l'INSA de Toulouse par M. Anduze sur « l'étude expérimentale et numérique de microécoulements liquides dans les microsystèmes fluidiques » [20]. Il y est question d'écoulements dans des canaux de forme circulaire, triangulaire ou trapézoïdale, dont les diamètres hydrauliques sont compris entre 3.5 µm et 14.8 µm. Afin d'augmenter le débit mesuré, ces canaux sont placés en configuration parallèle (entre 57 canaux et 250 canaux). Des problèmes de caractérisations géométriques des microcanaux ne permettent pas de conclure de manière précise sur les mesures de débits, mais il est observé une relation décroissante entre le nombre de Reynolds et le nombre de Poiseuille expérimental.

Etudes qui sur-estiment les débits expérimentaux par rapport aux lois macroscopiques

Concernant les auteurs qui mesurent systématiquement des débits supérieurs aux prévisions théoriques, on peut classer Peng et Peterson [177], qui observent des différences de l'ordre de la décade entre les valeurs théoriques et expérimentales de la relation reliant Re et f pour de l'eau et des canaux parallèles rectangulaires dont les diamètres hydrauliques varient entre 130 µm et 267 µm. Leur méthode de mesure n'est pas précisée.

De même, Paupautsky et al. [188] proposent des mesures d'écoulement pour lesquelles les débits minimaux mesurés sont de l'ordre de 36 µl/h. Ils observent un débit systématiquement supérieur aux prévisions théoriques, avec toutefois de faibles différences mesurées.

Li publie en 1998 puis en 2001 trois articles [187,189,190], dans lesquels une influence des charges à la paroi sur l'écoulement est débattue théoriquement puis expérimentalement. Une diminution de la viscosité effective du liquide en fonction de la concentration des ions dans le fluide est observée. Notons que cette variation de la viscosité du fluide est très dépendante de la section du canal : négligeable quand celui-ci présente une profondeur de 40 µm, elle devient observable pour un canal de 14 µm de profondeur :



Canal de 14 µm *Canal de 40µm*

Figure 2.13 : Observations expérimentales de l'influence de la concentration d'une solution aqueuse sur l'écoulement (issu de [187])

Etudes qui sous-estiment les débits expérimentaux par rapport aux lois macroscopiques

Parmi les auteurs en désaccord avec les articles présentés ci-dessus, citons Urbanek et al. [129], qui observent une sous-estimation expérimentale systématique des débits mesurés, de 5% à 35% selon les échantillons. Pour cela, ils ont mesuré des débits de propanol et de pentanol dans des canaux trapézoïdaux et triangulaires dont les diamètres hydrauliques varient entre 13 µm et 26 µm. Notons que dans cette publication, Urbanek ne détaille pas complètement la géométrie des canaux, en ne précisant pas, par exemple, leur longueur.

Mala et Li proposent en 2000 [191] une étude aux conclusions similaires, sur des canaux trapézoïdaux de diamètres hydrauliques compris entre 51 µm et 169 µm et remplis avec de l'eau. En effet, les coefficients de friction C expérimentaux (qui varient en inverse du débit) sont systématiquement supérieurs aux valeurs théoriques, avec un biais autour de 20%. Pour expliquer leurs résultats, les auteurs proposent un modèle appelé « modèle de viscosité rugueuse », qui ajoute une viscosité empirique supplémentaire au fluide.

De même, Bau et Pfahler présentent en 2001 une étude de la viscosité apparente de l'eau, de l'isopropanol, et du silicone dans des canaux de profondeur comprise entre 0.5 µm et

200 µm. Ils observent aussi une viscosité globale supérieure de 20% à celle décrite macroscopiquement.

Plus récemment, en 2004, Hsieh et al. [182] proposent des mesures de suivi optique de particules dans un canal de section rectangulaire 200 µm par 115 µm. ils observent bien des écoulement laminaires aux bas nombres de Reynolds, mais notent une divergence des facteurs de friction mesurés par rapport aux théories conventionnelles. Les pressions appliquées sur le fluide sont supérieures aux calculs théoriques, à débit donné. Cette publication, récente, montre que la physique des microécoulements n'est toujours pas encore parfaitement définie dans la littérature.

Etudes pour lesquelles les lois macroscopiques sont vérifiées

Richter et al. [178] sont les premiers auteurs, en 1997, pour lesquels les équations classiques de la mécanique des fluides sont globalement en accord avec les mesures. Le banc de mesure est du même type que le nôtre, et les débit minimaux mesurés de l'ordre de 0.1 µl/h. Les canaux, de section triangulaire, voient leur largeur varier entre 28 µm et 182 µm et sont remplis avec de l'eau.

De même, des microcanaux de section rectangulaire sont étudiés par Xu et al. [179] en 2000. Les diamètres hydrauliques sont compris entre 30 µm et 350 µm et remplis d'eau. Les nombres de Reynolds sont compris entre 10 et 1000, la mesure de débit est réalisée via une pesée de liquide, et les résultats, présentés sous la forme d'une dépendance du facteur de frottement en fonction du nombre de Reynolds, sont en accord avec les prévisions théoriques de Navier-Stockes pour des microcanaux silicium/verre.

En 2002, Chen et Giordano [192] présentent une étude sur des écoulements dans des canaux jusqu'à une profondeur de 42 nm seulement. La mesure des débits est très élégante puisqu'elle a lieu sur le même wafer que le canal, annulant ainsi les risques de fuite, et simplifiant grandement la connectique. Ces auteurs trouvent que pour de l'eau, l'équation de Poiseuille pour un écoulement plan est toujours valide, alors qu'elle diverge pour des molécules de plus grande taille aux plus faibles profondeurs explorées (de 1 µm à 42 nm, figure 2.14). Le grand intérêt de cet article est qu'il apporte un début de réponse à la question

de la limite physique à partir de laquelle la dimension du canal perturbe la notion macroscopique de viscosité. La grandeur α proposée par les auteurs correspond à la conductance microfluidique définie au paragraphe 2.1.2, et tend à augmenter avec la diminution du canal :

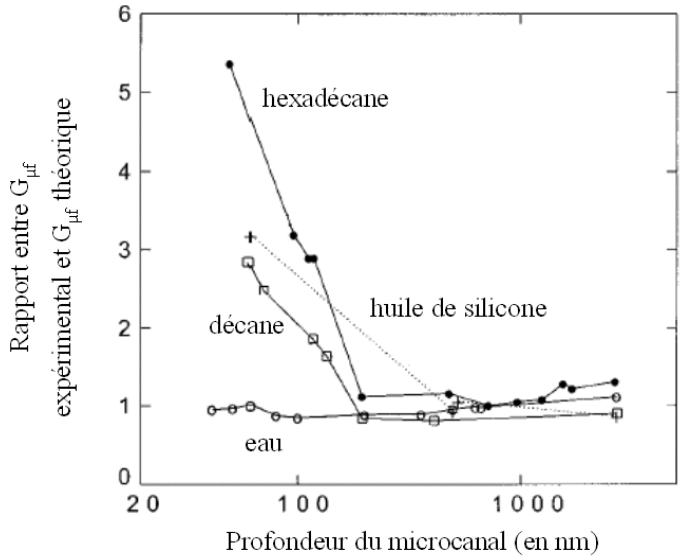


Figure 2.14 : Ecoulements plans infinis dans des canaux nanométriques (issu de[192])

Des mesures de débit ont aussi été effectuées sur des tubes capillaires, et il est intéressant de noter que dans ce cas les lois macroscopiques sont toujours respectées, quels que soient les auteurs, même pour ceux qui observent des divergences pour d'autres formes de section de dimensions similaires.

Parmi ces auteurs; Mala et Li [175] ont étudié des tubes dont le diamètre est compris entre 63 µm et 254 µm, et remplis avec de l'eau. Aux basses pressions, l'accord est respecté, mais les résultats divergent à plus grande pression. Les nombres de Reynolds explorés sont de l'ordre de plusieurs centaines, et les écoulements ne sont plus laminaires. Les débits sont alors sous-estimés par l'équation de Poiseuille, ce qui est cohérent avec les caractéristiques déjà observées sur un écoulement turbulent aux échelles classiques.

De même, dans sa thèse, Anduze [20] observe une parfaite concordance entre la formule de Poiseuille et les débits expérimentaux est observée pour des capillaires de diamètre compris entre 13 µm et 258 µm.

On peut enfin citer Judy et al., qui publient en 2002 une étude sur des tubes capillaires de section circulaire ou carré en silice ou en métal, de diamètre compris entre 15 µm et 150 µm. Les nombres de Reynolds explorés sont compris entre 8 et 2300. Ces auteurs mesurent une parfaite adéquation entre les coefficients de friction mesurés et les expressions théoriques pour l'ensemble des tubes. Les liquides testés sont l'eau, l'éthanol et l'isopropanol.

2.5.2.3 Bilan

Il serait dommage de terminer ce tour d'horizon bibliographique sans faire quelques remarques générales sur les résultats publiés et sur leurs contradictions. La question posée ici est bien de savoir si aux échelles décamicrométriques les équations de Navier-Stokes et les modèles physiques macroscopiques sont pertinents pour décrire les écoulements microfluidiques.

Le premier point qui a suscité notre intérêt était de constater que les résultats des travaux publiés sur-estiment tantôt les écoulements, pour les sous-estimer ailleurs, comme on l'observe très bien sur la figure 2.12, publiée par Paupautsky [188]. A la question posée ci-dessus, notre travail va dans le sens d'une réponse positive, ce qui n'était pas évident lors de son lancement. Notons que cette conclusion affirmative est partagée par d'autres équipes, par exemple par Richter [178], et par Cheng et Giordano [192] à des échelles encore plus petites, de l'ordre quelques dizaines de nm pour l'eau. Pourquoi trouve-t-on autant de divergences dans la littérature, alors que ces expériences peuvent paraître relativement simples au premier abord ?

Il semble que l'on peut avancer deux principaux éléments de réponse à cette question. Le premier point concerne la connectique micro/macrofluidique. Cet élément est rarement évoqué de manière détaillée, alors qu'il est essentiel pour ces échelles de débit. C'est pourquoi nous avons pris le parti de proposer une connectique sur la tranche comme décrite précédemment, plus robuste à nos yeux que les éléments « planaires » proposés habituellement. Cette connectique « radiale » a cependant un coût non négligeable sur la complexification de la fabrication des canaux, et limite donc le nombre d'échantillons fabriqués. Notons pour conclure ce point que toutes les études publiées sur des capillaires,

pour lesquels des éléments commerciaux de connectiques très fiables existent, montrent une concordance entre les écoulements microscopiques et les lois macroscopiques.

Le deuxième point concerne la résolution des équations de Navier-Stokes. En effet, s'il existe une solution analytique pour des tubes capillaires, ce n'est pas le cas pour les formes de section plus compliquées telles que la section trapézoïdale. Les auteurs proposent néanmoins différentes formules reliant les grandeurs de l'écoulement, souvent légèrement contradictoires entre elles [20]. C'est pourquoi nous avons choisi de développer un algorithme de résolution de Navier-Stokes, au prix du temps de développement et de calcul. Les méthodes numériques, même si elles ne sont pas toujours les plus « nobles » du point de vue de la physique présentent au moins l'avantage pragmatique d'être très robuste quand elle sont utilisées avec prudence.

Notons enfin que la multiplicité des modes de représentation graphique des écoulements a tendance, à notre avis, à perdre le lecteur. Ils est aussi intéressant de remarquer que les auteurs qui observent une concordance entre les microdébits et les lois macroscopiques présentent toujours leurs résultats comme la relation entre la pression et le débit [20,178,192], sans passer par les grandeurs calculées secondaires que sont : le nombre de Reynolds, le facteur de frottement et le coefficient de frottement.

2.5.3 Abaques de résistances microfluidiques

2.5.3.1 Remarque préliminaire :

Cette étude nous a permis de démontrer expérimentalement la validité des équations de Navier-Stokes ainsi que l'hypothèse du fluide Newtonien pour les écoulements confinés dans des canaux de dimensions décamicrométriques.

Nous proposons donc au lecteur trois abaques représentant la résistance microfluidique théorique d'un microcanal en fonction de la forme de la section droite et de ses dimensions géométriques. Les trois formes de section proposées sont celles que l'on rencontre couramment en microtechnologies : le profil trapézoïdal à 54.7° par gravure humide KOH du

silicium <100>, le profil rectangulaire par gravure DRIE, et le profil de gravure isotrope (rectangle + quarts de cercles). Un parcours de la littérature ne nous a pas permis de trouver de telles abaques, alors qu'elles présentent à nos yeux un grand intérêt : obtenir un outil permettant de déterminer rapidement le débit théorique attendu d'un microcanal.

2.5.3.2 Mode d'emploi des abaques

Les figures 2.15 à 2.17 représentent les trois abaques calculées à partir de l'algorithme présenté au paragraphe 2.1.3 pour les sections rectangulaires, trapézoïdales et isotropes définies au premier chapitre :

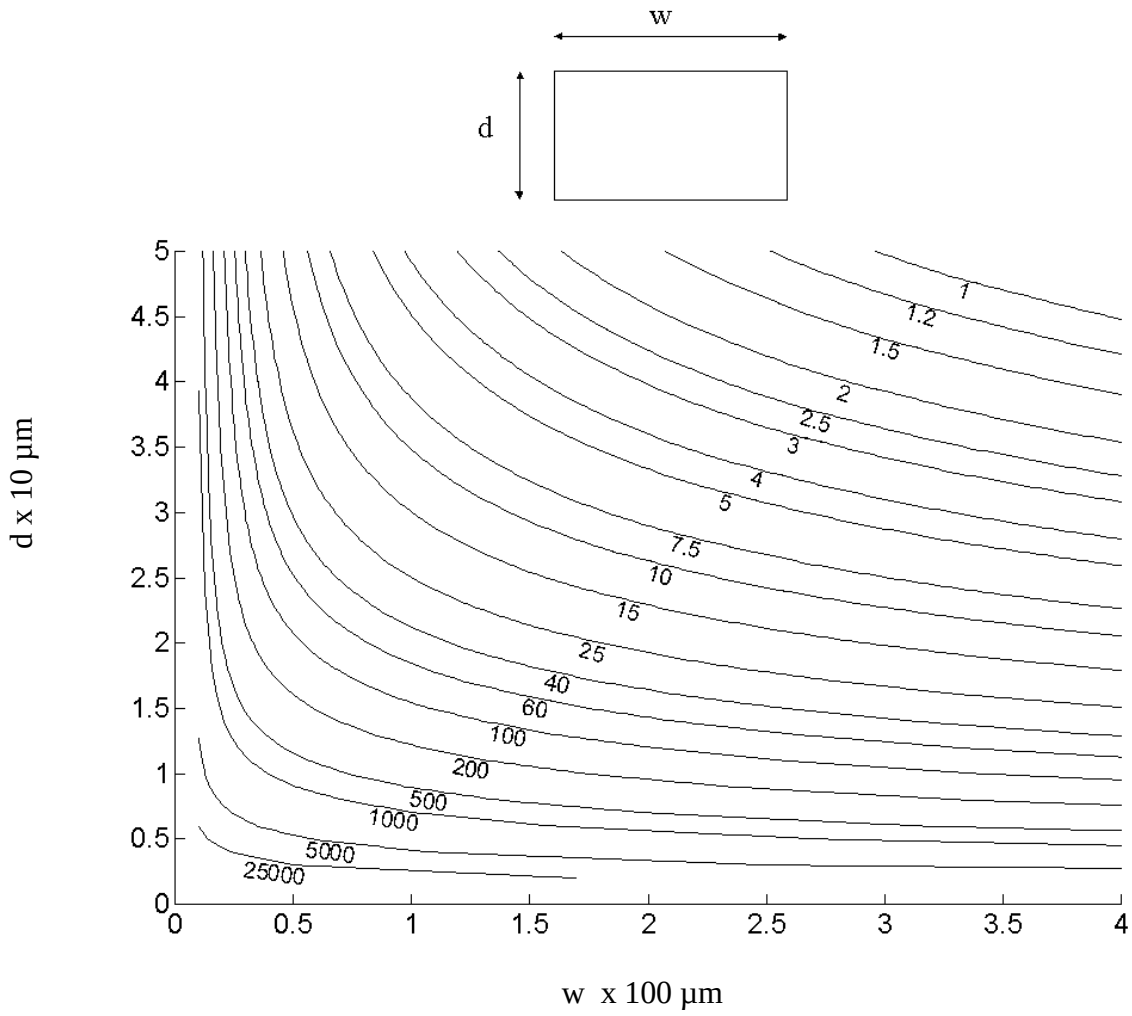


Figure 2.15 : Abaque de résistance microfluidique normalisée R_N en mbar/(µl.h^{-1}) pour un canal de section rectangulaire. Sa longueur est égale à 1m et il est rempli par un fluide Newtonien de viscosité $h=10^{-3}$ Pa.s.

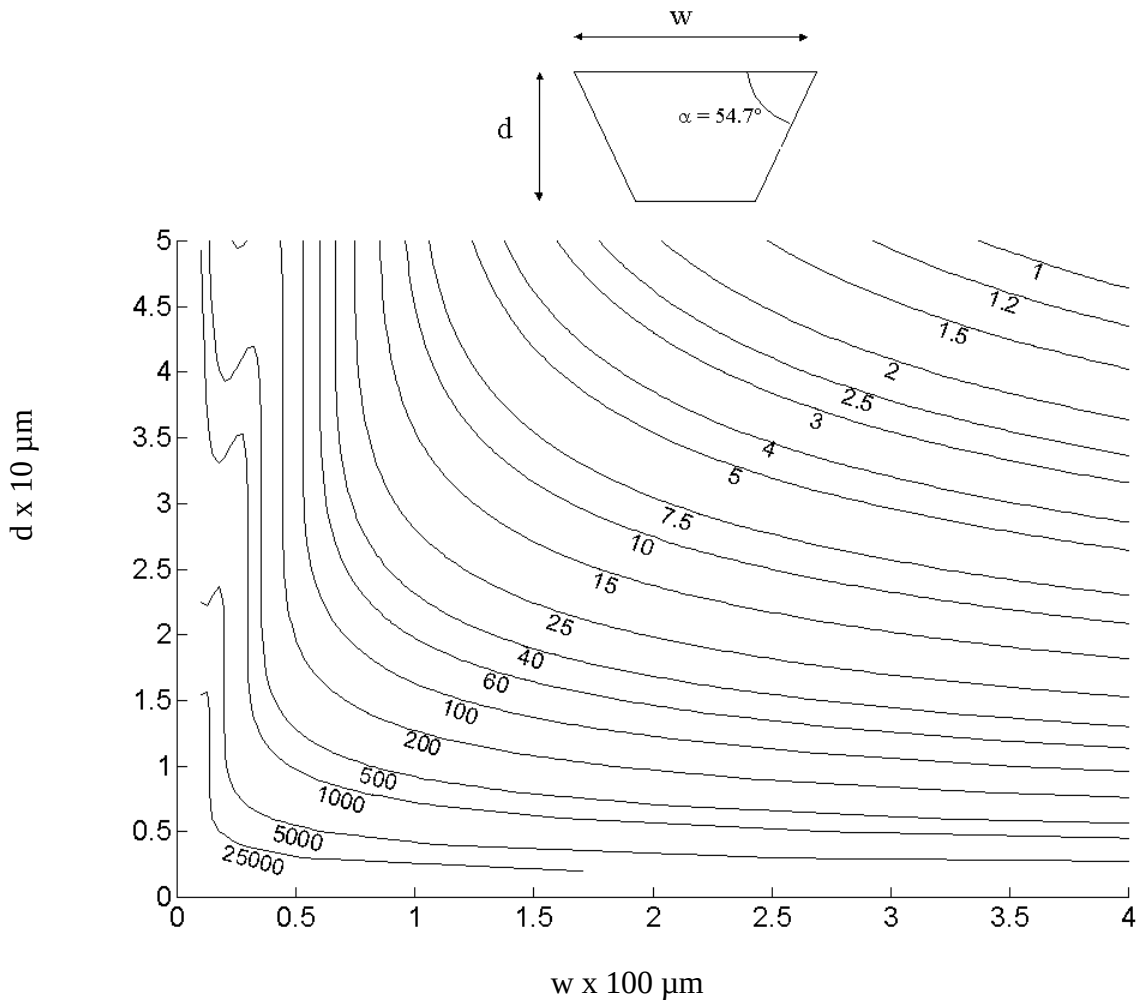


Figure 2.16 : Abaque de résistance microfluidique normalisée R_N en mbar/(µl.h^{-1}) pour un canal de section trapézoïdal. Sa longueur est égale à 1m et il est rempli par un fluide Newtonien de viscosité $h=10^{-3}$ Pa.s.

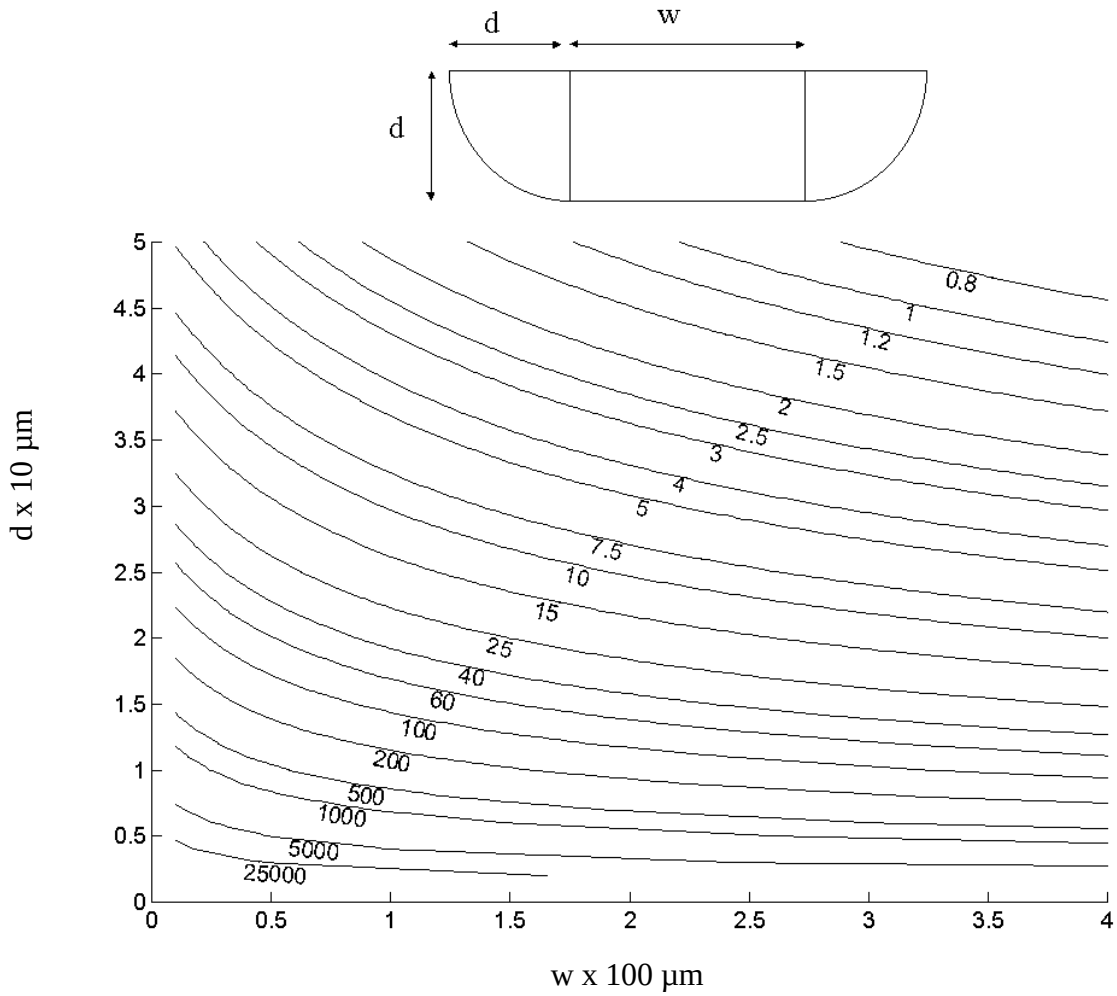


Figure 2.17 : Abaque de résistance microfluidique normalisée R_N en mbar/(µl.h^{-1}) pour un canal de section isotrope. Sa longueur est égale à 1m et il est rempli par un fluide Newtonien de viscosité h=10^{-3} Pa.s.

Ces abaques sont normalisées pour un canal de longueur 1 mètre et un fluide Newtonien de viscosité 10^{-3} Pa.s (eau à 20°C). La résistance microfluidique d'un canal sera donc calculée de la manière suivante :

$$R_M = R_N.L.\eta \qquad (2.18)$$

Où η est exprimée en 10^{-3} Pa.s, et L en mètre.

Prenons l'exemple du microcanal D présenté précédemment. Ce microcanal, de section trapézoïdale a pour paramètres géométriques : w = 200 µm, d = 22 µm, L = 0.25 m.

Il est rempli d'eau 27°C (η=0.859 10^{-3} Pa.s, cf. équation 2.5). La lecture de l'abaque donne R_N = 20 mbar/(µl.h^{-1}). Alors :

$$R_M = 20 * 0.25 * 0.859 = 4.3 \text{ mbar/(µl.h}^{-1}) \qquad (2.19)$$

Ce microcanal est connecté au monde macroscopique avec un capillaire de diamètre 52.5 µm et de longueur 8.9 cm. La formule de résistance microfluidique d'un capillaire (2.12) donne :

$$R_C = 1.1 \text{ mbar/(µl.h}^{-1}) \qquad (2.20)$$

Ainsi, la résistance microfluidique théorique du système complet est égale à :

$$R_D = R_M + R_C = 5.4 \text{ mbar/(µl.h}^{-1}) \qquad (2.21)$$

Ce calcul est en bon accord avec les mesures puisque nous avons trouvé une résistance microfluidique expérimentale égale à : 5.3±0.1 mbar/(µl.h^{-1}) pour ce microsystème.

2.6 Conclusions

L'étude des écoulements liquides hydrodynamiques dans des canaux de dimensions décamicrométriques a montré une bonne correspondance entre les débits calculés et les débits mesurés pour cinq types de microcanaux différents dans les gammes de pressions de l'ordre du bar et dans les gammes de débits de 10 µl/h à quelques centaines de µl/h. Les hypothèses macroscopiques de la mécanique des fluides ainsi que les équations de Navier Stokes sont donc encore suffisantes pour décrire ce type d'écoulements, qui sont toujours laminaires grâce aux très faibles dimensions mises en jeu. Nos résultats présentent un intérêt pour les études microfluidiques en général, puisque nous sommes maintenant en mesure d'obtenir une bonne estimation du débit attendu dans un microcanal de n'importe quelle forme de section et de n'importe quelle dimension micrométrique. Ceci a été fort utile lors de la conception des puces microfluidiques de séparations de molécules biologiques (chapitre 4).

Notons que nos conclusions sont en contradiction avec de nombreuses équipes qui ont travaillé sur le même sujet, et qui mesurent des débits expérimentaux différents de leurs estimations théoriques. Cependant, d'autres travaux abondent dans le sens de nos conclusions, dont l'un est postérieur à notre étude [178,192].

Des abaques sont proposées au lecteur comme outil de détermination rapide du débit hydrodynamique de canaux réalisés avec les techniques courantes de salles blanches.

3 Etude théorique et expérimentale du potentiel z de systèmes microfluidiques

3.1 Introduction

Lorsqu'un solide est placé en contact avec un électrolyte, une charge surfacique peut apparaître à l'interface liquide/solide. On peut ramener cette charge de surface à un potentiel électrostatique, noté Ψ_0 ou ζ (zêta) selon les modèles, correspondant à l'énergie perdue par un contre-ion (de charge opposée à la surface) quand il se déplace depuis cette surface jusqu'à l'infini.

Ce potentiel de surface est très important pour la séparation de molécules biologiques dans des systèmes microfluidiques. Il est en effet à l'origine de l'électroosmose, phénomène physique qui permet de déplacer les liquide contenants les molécules à analyser dans les systèmes microfluidiques. Or, après discussion avec nos collègues de chimie analytique, il est apparu que la vitesse électroosmotique d'un dispositif de séparation électrophorétique, c'est à dire in fine le potentiel de surface, n'est pas toujours simple à prévoir de manière théorique ni à qualifier expérimentalement.

Ainsi, nous proposons une méthode de caractérisation des charges de surfaces spécifique aux systèmes microfluidiques, par mesure de courants d'écoulements. Ce banc expérimental a été validé dans un premier temps sur des capillaires de silice, puis exploité pour une étude plus complète sur des capillaires enduits de zircone lors d'une collaboration avec le LSSA (UCBL) dans le cadre d'une thèse de ce laboratoire.

Ce chapitre se compose de trois parties principales. Dans un premier temps, nous rappelons l'origine physico-chimique des charges de surfaces, et les modèles présentant la répartition des contre-ions dans l'électrolyte. Ensuite, nous présentons la mesure de courant d'écoulements dans un système microfluidique, son intérêt, la méthode de mesure, et le lien théorique entre ces courants et ζ. Enfin, dans une dernière partie, plusieurs validations expérimentales du banc de mesure de courants d'écoulements sont présentées puis discutées.

3.2 Interaction surface chargée/électrolyte

3.2.1 Origine physique des charges de surface

Lorsqu'un solide est placé en contact avec un électrolyte, une charge surfacique peut apparaître à l'interface liquide/solide.

Si la surface considérée est un diélectrique, cette charge de surface provient principalement de deux phénomènes physico-chimiques. Il peut s'agir de l'ionisation des atomes de surface au contact de l'électrolyte par un processus de dissociation ionique. Par exemple, les surfaces de silice s'ionisent toujours négativement dans les électrolytes aqueux sous la forme : $\equiv SiOH + OH \leftrightarrow \equiv SiO^- + H^+$ [193]. La charge de surface peut aussi apparaître par le biais d'une interaction physique entre le solide et l'électrolyte, par exemple dans le cas d'une adsorption des ions chargés en solution sur la paroi solide. On peut aussi, et c'est le cas général, observer une charge de surface due à la conjonction des deux phénomènes.

Dans le cas d'une surface conductrice, on parle alors d'électrode. Les effets présentés précédemment existent toujours, mais la charge de surface peut aussi correspondre à une polarisation de l'électrode par rapport à l'électrolyte. Deux régimes peuvent alors se distinguer suivant la différence de potentiel imposée à l'électrode : le régime électrostatique, lorsque les tensions appliquées ne dépassent pas les potentiels de réaction des couples métal/ions en solution, et le régime électrocinétique dans le cas contraire.

3.2.2 Modèles de répartition des charges dans l'électrolyte

Soit une interface liquide/solide plane et chargée en présence d'un électrolyte. Les répartitions spatiales dans l'électrolyte du potentiel électrostatique et des charges volumiques ont été à l'origine de nombreux travaux, et il en a résulté plusieurs modèles que nous allons présenter ici [113,194].

Le premier modèle proposé est attribué à Helmholtz : les contre-ions en solution se répartissent près de la paroi en une couche unique, à la manière d'un condensateur plan. La distance entre les deux couches chargées est très faible, puisque typiquement de l'ordre de quelques longueurs atomiques. En fait, si ce modèle est valable pour le respect de la neutralité électrique du système global électrolyte + paroi, il s'avère être insuffisant car il ne prend pas en compte l'énergie thermique – et donc la diffusion – des ions en solution.

Gouy et Chapman proposent un second modèle, plus élaboré, intégrant la compétition entre l'interaction électrostatique ion/interface et l'énergie de diffusion thermique des ions dans le liquide. La figure 3.1 propose une forme générale des répartitions ioniques et des potentiels électrostatiques dans l'électrolyte d'après ce modèle :

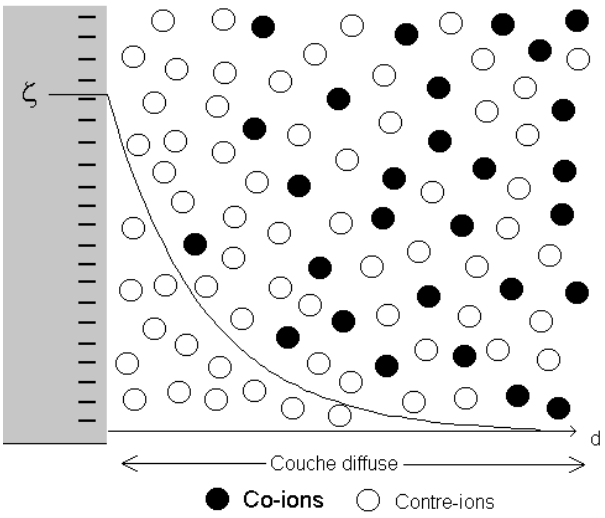


Figure 3.1 : Modèle de Gouy-Chapman

Les ions de l'électrolyte se répartissent dans une couche diffuse qui pénètre relativement loin dans l'électrolyte, entre quelques nm et un micron suivant les cas. Nous entrerons plus en détail sur la forme mathématique de cette répartition des charges plus loin dans ce chapitre.

Un troisième modèle plus élaboré consiste à considérer deux couches d'ions dans l'électrolyte, et on parle alors du modèle de Gouy-Chapman-Stern (figure 3.2) :

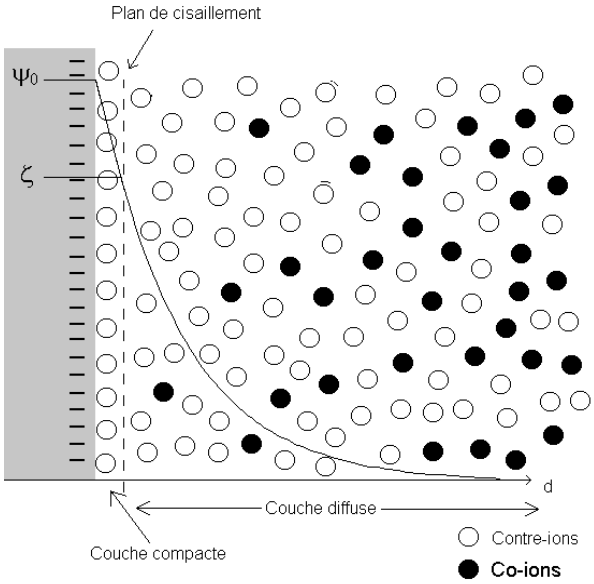


Figure 3.2 : Modèle Gouy-Chapman-Stern

Dans ce modèle, une première couche de contre-ions immobiles est présente au contact direct de l'interface chargée. On l'appelle « couche compacte ». Elle est suivie d'une seconde couche d'ions mobiles dans l'électrolyte, appelée « couche diffuse ». Le plan de jonction entre la couche compacte et la couche diffuse est appelé « plan de cisaillement ». Le potentiel électrostatique suit alors deux régimes dans l'électrolyte. Dans la couche compacte, il décroît de manière linéaire, puis il suit une forme générale plus complexe dans la couche diffuse. On nomme potentiel zêta (ζ) le potentiel électrostatique de la surface de cisaillement. A cause de l'immobilité des ions de la couche compacte, c'est ζ et non pas Ψ_0 qui intervient dans les phénomènes électrocinétiques prenant effet aux interfaces liquides-solides.

Cependant, le potentiel zêta dépend par définition du potentiel de surface $\Psi_{0,}$ mais aussi des phénomènes physico-chimiques intervenants dans la couche compacte. Or, ces phénomènes peuvent parfois être très complexes, et faire l'objet à eux seuls d'études poussées. En ce qui nous concerne, notre intérêt réside principalement dans les conséquences électrocinétiques et dans l'exploitation du potentiel zêta pour le déplacement de fluides, non pas de ses origines. C'est pourquoi le modèle de Gouy-Chapman-Stern, bien qu'il soit le plus complet, ne sera volontairement pas retenu dans les modélisations théoriques de nos travaux. Nous utiliserons un modèle plus simple, et correspondant mieux à notre approche du problème, que l'on pourrait considérer comme un modèle de Gouy-Chapman-Stern simplifié :

c'est à dire un modèle de Gouy-Chapman dans lequel le potentiel de surface n'est pas Ψ_0,mais ζ.

En somme, nous supprimerons dans nos modèles la couche compacte, tout en gardant à l'esprit que le potentiel z n'est pas le véritable potentiel de surface, et qu'il est susceptible d'être modifié par des traitements de surface ou des changements d'électrolytes [193].

3.2.3 Equation de Poisson-Boltzmann

Considérons une surface chargée en solution, de potentiel électrostatique ζ et des ions répartis près de celle-ci suivant le modèle de Gouy-Chapman. Les ions de la couche diffuse sont soumis en première approximation à deux interactions [113,194]:

(1) D'une part, les ions sont soumis à l'énergie thermique, qui tend à diffuser les ions de même nature de manière homogène dans l'électrolyte, et qui s'écrit comme : $E_{th}=kT$; où k est la constante de Boltzmann et T la température absolue.

(2) A contrario, l'énergie électrostatique tend pour sa part à concentrer les ions de charge opposée au potentiel zêta près de la paroi. Cette énergie s'écrit : $E_{st}=Z.e.\Psi$; où e est la charge de l'électron, Z la valence des ions considérés, et Ψ le potentiel électrostatique en tout point de la solution.

La compétition entre ces deux contributions concurrentes suit une loi de distribution statistique de Boltzmann, et l'on écrira la charge volumique nette dans l'électrolyte comme [113,194]:

$$\rho = \sum_i \rho_i = \sum_i n_{i0}.e.Z_i.e^{\frac{-Z_i.e.\Psi}{kT}} \qquad (3.1)$$

où Z_i est la valence des ions de nature i, et n_{i0} leur concentration infiniment loin de la surface.

Indépendamment des modèles de répartition des ions, une deuxième relation relie la densité de charge au potentiel électrostatique, par l'équation de Poisson [113,194] :

$$\Delta\Psi = -\frac{\rho}{\varepsilon} \tag{3.2}$$

On peut alors écrire une équation unique sur le potentiel dans l'électrolyte, la loi de Poisson-Boltzmann :

$$\Delta\Psi = \frac{\sum_i e.z_i.n_{i0}.e^{-z_i.e.\Psi/kT}}{\varepsilon} \tag{3.3}$$

Cette équation différentielle non linéaire admet une solution analytique lorsque l'électrolyte est symétrique, c'est à dire de type Z :Z. Pour tout autre type d'électrolyte, la résolution numérique devient nécessaire.

Nous discuterons dans les deux chapitres suivants les modes de résolution de l'équation de Poisson-Boltzmann (dans le cas analytique puis dans le cas numérique), et nous nous intéresserons aux conséquences physiques des solutions obtenues.

3.2.4 Résolution de l'équation de Poisson Boltzmann pour des électrolytes symétriques

La résolution de l'équation de Poisson-Boltzmann pour un électrolyte symétrique n'est pas forcément la plus représentative des situations rencontrées expérimentalement. En effet, si certaines expériences sont parfois réalisées avec des électrolytes simples, comme le KCl par exemple, c'est bien souvent pour s'affranchir de la complexité de l'électrolyte et avoir un modèle physique simple permettant de comprendre et de décrire le phénomène. A contrario, en chimie analytique, les tampons de séparation utilisés sont bien souvent très complexes, et c'est pourquoi nous avons développé une méthode de résolution numérique, plus universelle, qui fait l'objet du prochain paragraphe. Donc, même si le modèle de l'électrolyte symétrique n'est pas forcément le plus pertinent, sa résolution permet de comprendre la répartition du potentiel et de poser quelques ordres de grandeur.

Dans le cas d'un électrolyte symétrique simple de type Z:Z, les densités de charges respectives des ions s'écrivent :

$$\rho_- = -e.z.n_0.\exp(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad \text{et} \quad \rho_+ = e.z.n_0.\exp(-\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \tag{3.4}$$

Donc la densité de charge totale est égale à

$$\rho_T = \rho_+ + \rho_- = e.z.n_0.\exp(\frac{-z.e.\Psi}{k.T}) - e.z.n_0.\exp(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) = -\frac{2.e.z.n_0}{\varepsilon}.\sinh(z_i.e.\Psi / k.T) \tag{3.5}$$

et l'équation de Poisson-Boltzmann peut s'écrire [113,194]:

$$\Delta\Psi = \frac{2.e.z.n_0}{\varepsilon}.\sinh(z_i.e.\Psi / kT) \tag{3.6}$$

Deux cas se présentent alors, suivant la valeur du potentiel zêta, et donc des potentiels absolus attendus en solution.

Potentiel z négligeable devant l'énergie thermique

Lorsque ce potentiel est faible, l'énergie électrostatique devient négligeable devant l'énergie thermique (25 mV à température ambiante), et le terme en sinus hyperbolique se simplifie pour donner :

$$\Delta\Psi = \frac{2.e^2.z^2.n_0}{k.T.\varepsilon}.\Psi \tag{3.7}$$

L'équation devient linéaire, et donc très simple à résoudre. La solution est alors :

$$\Psi(d) = \zeta.\exp^{-\kappa.d} \tag{3.7}$$

Où d est la distance à la paroi chargée, et κ^{-1} est la longueur de Debye :

$$\kappa = \sqrt{\frac{2.n_0.e^2.z^2}{\varepsilon_r.\varepsilon_0.k.T}} \tag{3.8}$$

Il est intéressant de noter que la forme exponentielle de la décroissance du potentiel électrostatique est plus rapide que la forme classique dans le vide, qui est linéaire avec la

distance au plan pour une charge uniformément répartie. Cet effet est dû à l'écrantage du champ par les ions de la couche diffuse. L'écriture des ordres de grandeurs s'impose ici. Considérons un électrolyte aqueux de permittivité relative 80, à température ambiante en présence d'un électrolyte de type 1 :1, la longueur de Debye vaut alors :

Concentration en mol/l	10^{-7}	10^{-6}	10^{-5}	10^{-4}	10^{-3}	10^{-2}
κ^{-1} en nm	974	308	97.4	30.8	9.74	3.08

Tableau 3.1 : Longueur de Debye en fonction de la concentration en électrolyte 1 :1

Ce tableau amène une remarque essentielle pour la compréhension des phénomènes électrocinétiques dans les électrolytes aqueux : quel que soit la concentration des ions en solution, la distance d'interaction entre une surface chargée et un ion en solution ne dépassera jamais l'ordre de grandeur du micron. Donc, on pourra toujours considérer que la couche ionique diffuse est un phénomène uniquement de surface.

Potentiel z grand devant l'énergie thermique

Lorsque le potentiel de surface est élevé, la solution simplifiée précédente ne s'applique plus, et le potentiel s'écrit alors :

$$\frac{d^2\Psi}{dx^2} = \frac{2.e.z.n_0}{\varepsilon}\sinh(z.e.\Psi / k.T) \qquad (3.9)$$

Une première intégration donne [113] :

$$\frac{d\Psi}{dx} = -\kappa.\frac{2.k.T}{z.\varepsilon}.\sinh(z.e.\Psi / kT) \qquad (3.10)$$

Avec κ^{-1} la longueur de Debye définie précédemment. Une seconde intégration conduit à la forme générale du potentiel électrostatique [113] :

$$\Psi(x) = \frac{4.k.T}{e}.a\tanh\left(\tanh(\frac{z.e.\zeta}{4.k.T}).\exp^{-\kappa.x}\right) \qquad (3.11)$$

Remarque : Une démonstration complète de ces deux intégrations est proposée en annexe A de ce document.

3.2.1 Résolution de l'équation de Poisson Boltzmann pour des électrolytes asymétriques

Lorsque l'électrolyte n'est pas symétrique, et/ou que le nombre d'ions le composant est supérieur à deux, la linéarisation de l'équation de Poisson-Boltzmann n'est plus possible. Il faut utiliser des méthodes numériques pour résoudre le potentiel. On écrit alors l'équation de Poisson-Boltzmann en approchant le laplacien par des différences finies :

$$\frac{\Psi(n+1)+\Psi(n-1)-2.\Psi(n)}{h^2} = \frac{\sum_i e.z_i.n_{i0}.\exp(\frac{z_i.e.\Psi(n)}{k.T})}{\varepsilon} \qquad (3.12)$$

où n est un nœud de l'axe sur lequel varie Ψ, et h est le pas de discrétisation.

3.2.2 Limites des modèles présentés

Le modèle de Gouy-Chapman et l'équation de Poisson-Boltzmann doivent être considérés avec précaution quant à leur domaine de validité. Par exemple, si l'on applique rigoureusement la statistique de Boltzmann pour un ion monovalent de concentration native égale à un mmol/l, et un potentiel de surface égal à un volt, la concentration des contre-ions à la paroi est égale à $7*10^{13}$ mol/l à température ambiante. Evidemment, ce chiffre n'est pas réaliste car il conduit à des densités de l'ordre de 10^{37} ions/m3 ou encore une distance moyenne de l'ordre de 10^{-13} m entre deux ions.

La raison de ces chiffres absurdes tient dans la non considération des dimensions des ions, considérés comme des charges ponctuelles, dans la statistique de Boltzmann. Remarquons toutefois qu'aux gammes de potentiels de surface auxquels nous avons affaire, c'est à dire typiquement moins de 100 mV, ces chiffres sont plus raisonnables, avec par

exemple une distance moyenne entre deux ions de l'ordre de 10^{-8} m pour une concentration initiale de 1 mmol/l.

De même, la permittivité diélectrique relative de l'eau, que nous prenons égale à 78.5, est valable pour des faibles concentrations ioniques. Elle devient cependant caduque aux très grandes concentrations en ions, que nous n'avons pas rencontrées au cours de ce travail.

D'une manière générale, lorsque les concentrations ioniques et/ou les potentiels de surface deviennent trop élevés pour être décrits par les théories classiques, il faut alors travailler en simulations moléculaires, en considérant les ions comme des corps solides et l'électrolyte comme un objet à n corps [195].

3.3 Détermination du potentiel zêta d'un système microfluidique par courant d'écoulement

3.3.1 Intérêt de la mesure de z

La mesure du potentiel ζ d'un couple surface chargée/électrolyte est une étape préliminaire importante pour les expériences de séparations électrophorétiques. En effet, le phénomène électroosmotique exploite la couche diffuse de contre-ions pour déplacer l'électrolyte dans le système microfluidique considéré (microcanal ou capillaire), et il est donc important de connaître les propriétés physiques de cette couche.

La relation de Helmoltz-Smoluchowski donne la forme générale de la vitesse électroosmotique v_{eo} en fonction des paramètres physiques de la séparation [113] :

$$\vec{V}_{eo} = \mu_{eo}.\vec{E} = \frac{\varepsilon_r.\varepsilon_0.\zeta}{\eta}.\vec{E} \qquad (3.13)$$

Où E est le champ électrique dans le système microfluidique, μ_{eo} la mobilité électroosmotique, ε_r la permittivité diélectrique relative de l'électrolyte, et η sa viscosité. Or, dans cette formule, seuls la viscosité du fluide, sa permittivité diélectrique relative et le champ appliqué sont des grandeurs simples à quantifier et connues à priori par l'expérimentateur.

A contrario, le potentiel zêta est une grandeur très complexe et qui ne peut pas être déterminée à priori de manière théorique. Il est en effet conditionné comme nous l'avons vu par de très nombreux facteurs physiques et chimiques, parfois très fluctuants en fonction des conditions expérimentales. Comme nous l'avons déjà abordé, ces facteurs sont essentiellement :

(1) La nature chimique de la paroi microfluidique (métal, verre, téflon, polymère, …)

(2) Les traitements de surface subis par la paroi (oxydation, gravure,…)

(3) La qualité de l'interface liquide/solide (rugosité, propreté,…)

(4) La nature des ions qui composent l'électrolyte (interactions chimiques éventuelles avec la paroi, adsorption,…)

(5) Le pH de l'électrolyte,

(6) La force ionique de l'électrolyte.

L'expérience montre que dans la pratique la mobilité électroosmotique d'un couple système microfluidique/électrolyte n'est toujours déterminée que de manière empirique. Il est donc intéressant de proposer une méthode simple et rapide permettant de mesurer la mobilité électroosmotique dans un système microfluidique quelconque, très utile dans les phases de développement de celui-ci.

3.3.2 Méthodes de mesure de z : avantages et inconvénients

La méthode la plus utilisée pour mesurer le potentiel ζ consiste à mesurer la vitesse électroosmotique du couple surface/électrolyte, dans un capillaire par exemple, puis de remonter à ζ par la formule de Helmoltz-Smoluchowski.

Pour se faire, trois voies sont possibles :

(1) Utiliser des mesures de vélocimétrie sur des particules en suspension dans le fluide [196]. Cependant, cette méthode est très peu utilisée et semble lourde à mettre en oeuvre.

(2) Injecter un marqueur chimique neutre dans le système (de l'acétone diluée dans le tampon, par exemple), puis de mesurer V_{eo} par l'intermédiaire du déplacement de ce marqueur [168,193].

(3) Remplir les réservoirs d'entrées/sorties par l'électrolyte étudié à deux concentrations proches et suivre l'évolution temporelle du courant traversant le système [174,197].

Ces méthodes présentent malheureusement un inconvénient majeur, qui concerne le temps nécessaire à la recherche d'une mobilité électroosmotique dont on ne connaît rien à priori, surtout quand la valeur absolue de celle-ci est très faible. En effet, dans ce cas, lorsque v_{eo} est faible, il faut attendre des temps parfois très longs (de l'ordre de l'heure) pour que le marqueur neutre se déplace du point d'injection vers la cellule de détection. Or, quand on ne

connaît pas à priori le sens de la vitesse électroosmotique v_{eo} à travers le microsystème, il devient nécessaire de faire l'expérience avec les deux sens possibles du champ appliqué E dans le microsystème, sans garantie de voir passer dans des temps raisonnables le marqueur neutre devant la fenêtre de détection. On obtient alors des temps expérimentaux très longs qui rendent parfois cette méthode de caractérisation fastidieuse.

Nous proposons ici une autre méthode de caractérisation du potentiel ζ, permettant de palier en partie cet inconvénient : il s'agit des mesures de courant d'écoulement, qui reposent sur le principe physique dual de l'écoulement électroosmotique : lorsque l'on applique une pression sur le fluide dans un microsystème aux parois chargées, celui-ci se déplace, et cet écoulement hydrodynamique entraîne les contre-ions présents en excédent dans la couche diffuse près des parois. Le courant électrique ainsi généré est appelé courant d'écoulement I_e. A ce courant d'écoulement correspond une différence de potentiel aux bornes du microsystème, appelé potentiel d'écoulement V_e. Ce courant et ce potentiel d'écoulement sont directement liés à la présence, au signe et à la valeur du potentiel zêta par l'intermédiaire des contre-ions de la couche diffuse. La mesure des paramètres I_e et/ou V_e permet donc de remonter à la charge de surface de l'interface liquide/solide.

3.3.3 Calcul du courant d'écoulement

3.3.3.1 Simplifications théoriques dans le cas d'écoulements microfluidiques

Soit un canal de géométrie quelconque, dont les parois sont chargées en solution, et à l'intérieur duquel un électrolyte se déplace sous l'action d'une pression statique. Soit v(x,y,z) la vitesse du fluide et ρ(x,y,z) la densité volumique de charge en tout point du système.

Dans le cas particulier d'un système microfluidique, nous avons montré expérimentalement que les écoulements sont toujours laminaires (cf. chapitre 2), et donc que la vitesse du fluide est toujours normale à la section droite du microcanal considéré. On pourra alors écrire :

$$v(x,y,z)=v(x,y) \quad \text{et} \quad \rho(x,y,z) =\rho(x,y) \tag{3.14}$$

Et définir le courant d'écoulement comme :

$$I_e = \iint_S v(x,y).\rho(x,y).dx.dy \tag{3.15}$$

où S est la section droite du canal.

Or, puisque l'écoulement du fluide est laminaire, on pourra toujours écrire que la vitesse est proportionnelle à la pression ΔP appliquée sur l'électrolyte :

$$v(x,y) = \Gamma(x,y).\Delta P \tag{3.16}$$

et donc :

$$I_e = \iint_S \rho(x,y).\Gamma(x,y).\Delta P.dS \tag{3.17}$$

Il apparaît clairement que le courant d'écoulement est proportionnel à la pression appliquée :

$$I_e = \Delta P.(\iint_S \rho(x,y).\Gamma(x,y).dS) \tag{3.18}$$

C'est à dire un courant d'écoulement proportionnel à la pression :

$$I_e = \beta.\Delta P \tag{3.19}$$

Le calcul de la relation en β et ζ est effectué en détail en annexe B. Ce calcul fait appel à deux hypothèses qu'il est important d'énoncer ici :

(1) Infiniment loin de la paroi le liquide est de charge volumique nulle. Les contre-ions sont situés dans une bande de liquide comprise entre la paroi et quelques longueurs de Debye κ^{-1}. Or, dans la gamme de concentration en ions des électrolytes utilisés ($C > 10^{-5}$ mol/l => $\kappa^{-1} < 100$ nm), la longueur de Debye sera toujours très petite devant les dimensions de la section du microcanal (quelques dizaines de μm). On fait donc l'hypothèse que l'on pourra

toujours approximer la paroi du microcanal ou du microtube par un plan, du point de vue de la double couche de Helmholtz.

(2) On supposera une condition aux limites de vitesse nulle à la paroi. De plus, sur les premières longueurs de Debye, il est toujours possible d'écrire que la vitesse varie linéairement avec la distance à la paroi.

On obtient alors :

$$\beta = -\frac{\varepsilon.A}{\eta.L}.\zeta \qquad (3.20)$$

Pour un microcanal de longueur L, de section quelconque d'aire A, et rempli d'eau de viscosité dynamique η et de permittivité diélectrique ε.

Remarque : La formule ci-dessus semble montrer que le courant d'écoulement ne dépend pas des paramètres de nature, de valence et de charge des ions qui composent l'électrolyte, mais il n'en est rien. Cette dépendance est liée à la valeur du potentiel ζ, paramètre complexe que l'on cherche justement à quantifier. C'est pourquoi les paramètres cités ci-dessus n'apparaissent pas directement dans cette formule.

Un deuxième avantage lié aux faibles dimensions des systèmes fluidiques étudiés réside dans la méthode de mesure électrocinétique employée. En effet, dans ce type d'expérience, nous avons à priori le choix entre deux types de mesure : celle du courant d'écoulement ou celle du potentiel d'écoulement. Ce choix sera conditionné par la géométrie des canaux et les gammes attendues concernant les grandeurs électriques expérimentales.

Dans le cas de la mesure du potentiel d'écoulement, l'appareil de mesure utilisé (un voltmètre) a toujours, par hypothèse, une impédance d'entrée infinie. Or, les ions déplacés par l'écoulement créent une DDP aux bornes du système microfluidique, et donc un champ électrique. Il en résulte dans ce type de mesure un courant de retour des ions à travers le système microfluidique, dans tout le volume, et un état d'équilibre est rapidement atteint [198,199]. Le potentiel mesuré doit donc tenir compte du courant d'écoulement, du courant de retour, des paramètres de l'écoulement, mais aussi des conductivités de surface et de volume de l'électrolyte , ce qui complique la méthode [199-204].

Dans le cas d'une mesure de courant d'écoulement, la résistance d'entrée de l'appareil de mesure est supposée négligeable devant l'impédance du dipôle mesuré, mais non nulle. Or, si cette hypothèse peut se révéler être erronée quand le système est de grandes dimensions (car la résistance équivalente à l'électrolyte dans le canal peut être très faible); elle devient tout à fait réaliste quand le système fluidique étudié est de dimensions décamicrométriques, c'est à dire avec une section plus petite que la centaine de microns. Nous reviendrons en détail sur ce point, avec des ordres de grandeur, au paragraphe 3.3.1. Dans ce cas, tous les ions déplacés par l'écoulement transfèrent leur charge aux électrodes de mesure, et le courant mesuré dans l'ampèremètre est égal au courant d'écoulement. La détermination précise des conductivités de surface et de volume de l'électrolyte n'est plus nécessaire, ce qui simplifie grandement le travail. Nous avons donc privilégié la méthode de mesure électrocinétique par courant d'écoulement pour la caractérisation des charges de surface de systèmes microfluidiques.

3.3.3.2 Validation des hypothèses formulées par simulation sous FEMLAB

Le calcul de la relation entre la mesure expérimentale du courant d'écoulement et le potentiel zêta, présenté au paragraphe précédent, fait appel à quelques hypothèses théoriques dont il convient de vérifier ici la validité. Pour se faire, nous avons calculé la vitesse du fluide, la densité volumique de charge et la densité de courant pour un capillaire de section carrée sur lequel nous avons effectué des expériences de courant d'écoulement (cf. chapitre 3.3.2) grâce au logiciel de simulation FEMLAB.

La vitesse du fluide pour un capillaire carré de section carrée, de largeur 100µm, de longueur 7 cm est présentée en figure 3.3. Le fluide simulé est de l'eau à 20°C sous l'action d'une pression de 1 bar. L'origine des axes x et y de la figure est placée sur un coin de la section droite du canal :

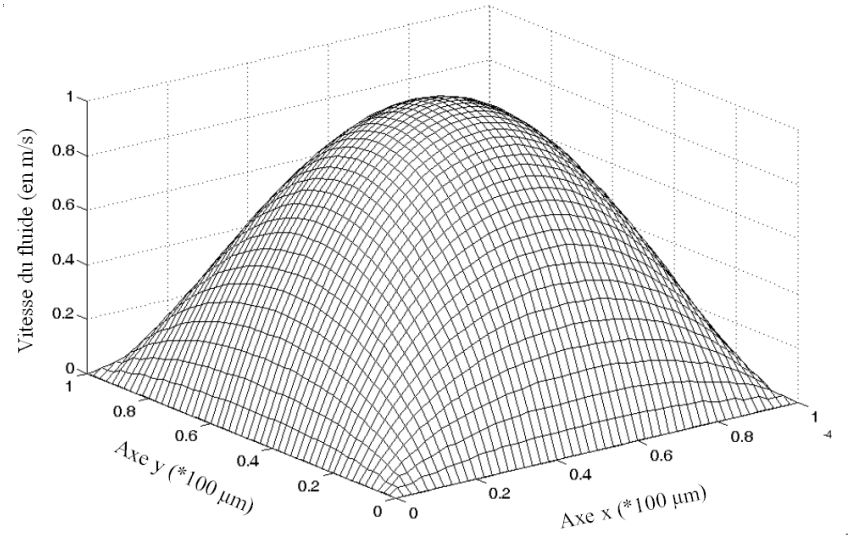


Figure 3.3 : Vitesse du fluide (en m/s) dans un capillaire de section carrée, de largeur 100 µm, et de longueur 7 cm. Le fluide simulé est de l'eau à 20°C sous l'action d'une pression de 1 bar.

On observe bien sur cette figure que la vitesse du fluide croît linéairement avec la distance à la surface du canal sur les premiers microns, pour ensuite retrouver une forme parabolique proche de l'écoulement dans un capillaire cylindrique.

La deuxième hypothèse fondamentale consiste à considérer la surface du microcanal comme un plan, du point de vue de la double couche de Helmholtz. La figure 3.4 représente la densité de charge (en C/m3) dans le coin du capillaire présenté précédemment et dont le potentiel ζ est égal à –64 mV. L'électrolyte dans le capillaire est du KCl dissous dans de l'eau à une concentration de 10^{-4} mol/l :

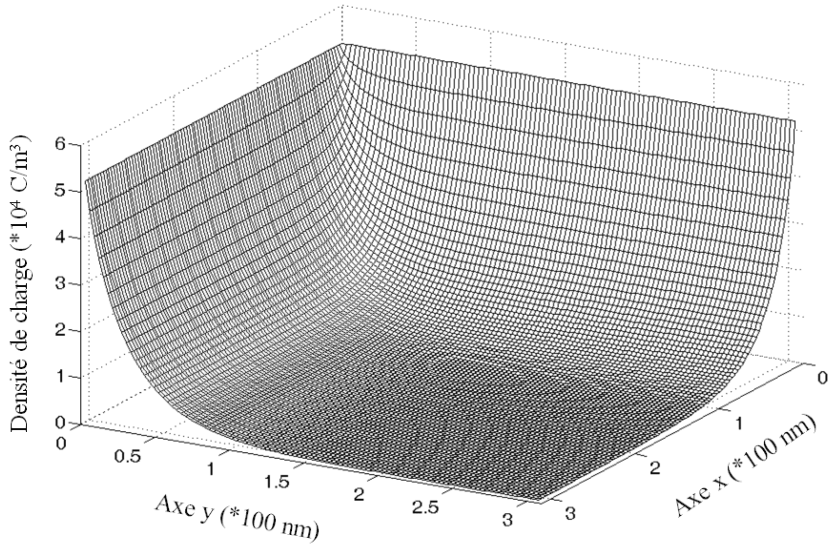


Figure 3.4 : Densité de charge dans le coin d'un capillaire de section carrée, de largeur 100 µm, de longueur 7 cm, avec un potentiel z égal à –64 mV. L'électrolyte est du KCl dissous dans l'eau à une concentration de 10^{-4} mol/l.

On observe sur cette figure que la densité de charge est invariante transversalement dès que l'on se place à plus 100 nm du coin de la section droite du capillaire. Cela signifie que l'hypothèse d'une surface plane sera vraie dès que l'ordre de grandeur des discontinuités géométriques de la surface sera supérieur à quelques microns.

Les calculs de la vitesse du fluide et de la densité de charge permettent de représenter la densité de courant dans le capillaire. La figure 3.5 représente la densité de courant près d'un coin de la section droite du capillaire, calculée en faisant le produit de la densité de charge par la vitesse du fluide, avec les mêmes paramètres que précédemment :

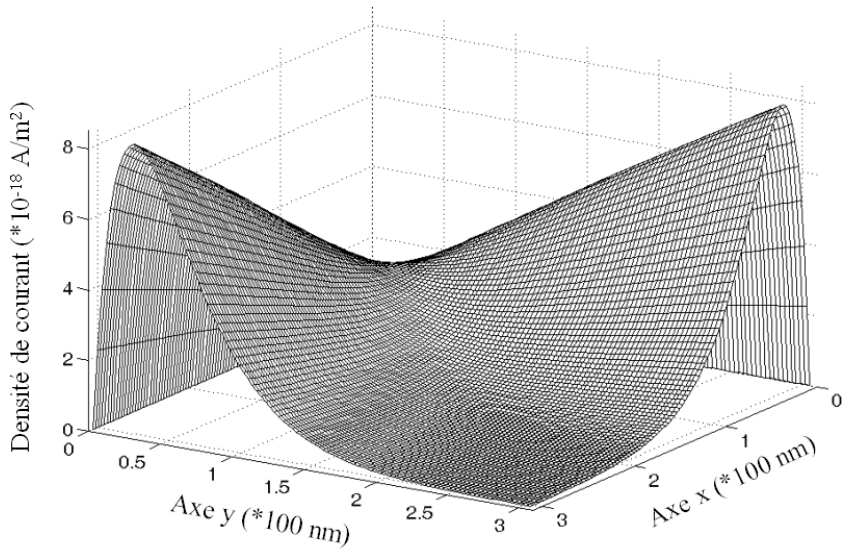


Figure 3.5 : Densité de courant dans le coin d'un capillaire de section carrée, de largeur 100 µm, de longueur 7 cm, avec un potentiel z égal à –64 mV. L'électrolyte est du KCl dissous dans l'eau à une concentration de 10^{-4} mol/l, sous l'action d'une pression de 1 bar. Les axes x et y de la figure représentent la distance par rapport au coin en m.

L'intégration de la densité de courant ainsi calculée donne une valeur de β égale à 636 pA/bar, alors que l'on obtient un coefficient β égal à 675 pA/bar avec l'équation analytique (3.20). Les simulations numériques sont donc fiables, aux erreurs de discrétisation de l'espace près.

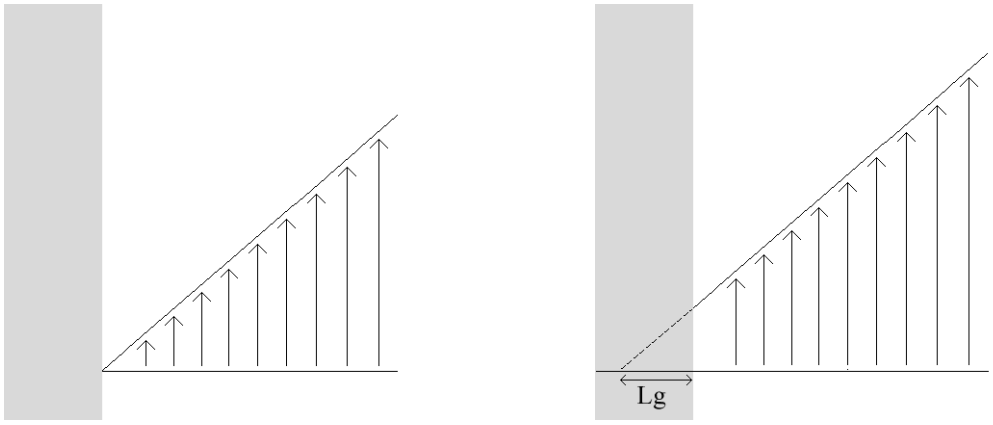
3.3.3.3 Hypothèse de glissement à la paroi

Tous les calculs analytiques ou numériques présentés ci-dessus font l'hypothèse hydrodynamique d'une condition aux limites de non glissement à la paroi lors de la résolution de l'équation de Navier-Stokes. Cette hypothèse est tout à fait justifiée et réaliste pour des surfaces de silice ou pour n'importe quel autre matériau hydrophile. Dans ce cas de figure, les résultats de calculs numériques et analytiques montrent clairement que, à potentiel ζ égal, le courant d'écoulement est indépendant de la concentration des ions dans l'électrolyte.

En effet, avec une hypothèse de non glissement, lorsque la concentration n_0 des ions est élevée, leur vitesse d'écoulement est faible car ceux-ci sont proches de la paroi à cause de la longueur de Debye, qui varie en inverse de la racine carré de n_0 (cf. équation 3.8). A l'inverse, lorsque la concentration des ions est plus faible, leur moindre proportion est compensée par leur éloignement à la paroi, i.e. leur vitesse plus élevée ; et le courant d'écoulement résultant est globalement inchangé.

Il n'en sera pas de même lorsque la paroi du système microfluidique est hydrophobe, i.e. lorsqu'il y a glissement à la paroi. Dans ce cas, le courant d'écoulement devient très fortement dépendant de la concentration de l'électrolyte -à potentiel ζ constant- et tend à croître avec celle-ci. En effet, lorsque la vitesse du fluide n'est pas nulle à la paroi, l'augmentation de la concentration locale des ions n'est plus compensée par la diminution relative de leur vitesse.

La condition aux limites hydrodynamique correspondante au glissement d'un fluide sur un solide est décrite de manière phénoménologique par une longueur, la « longueur de glissement » Lg. Cette grandeur est définie comme la distance géométrique entre l'interface liquide/solide et le point virtuel à l'intérieur du solide pour lequel la vitesse extrapolée s'annule (figure 3.6) :



Non glissement (Lg=0) *Glissement (Lg¹0)*

Figure 3.6 : Profils de vitesse près de la paroi et définition géométrique de la longueur de glissement hydrodynamique

Afin de proposer au lecteur quelques ordres de grandeur, la figure 3.7 présente les résultats obtenus par simulation sous le logiciel Matlab du courant d'écoulement dans un tube capillaire cylindrique en fonction de la concentration en électrolyte, pour différentes valeurs de longueur de glissement, comprises entre 0 nm et 50 nm. Le tube capillaire a un diamètre de 100 µm, une longueur de 10 cm, son potentiel ζ vaut –40 mV. L'électrolyte est symétrique (type KCl), sa concentration est comprise entre 10^{-5} mol/l et 10^{-2} mol/l :

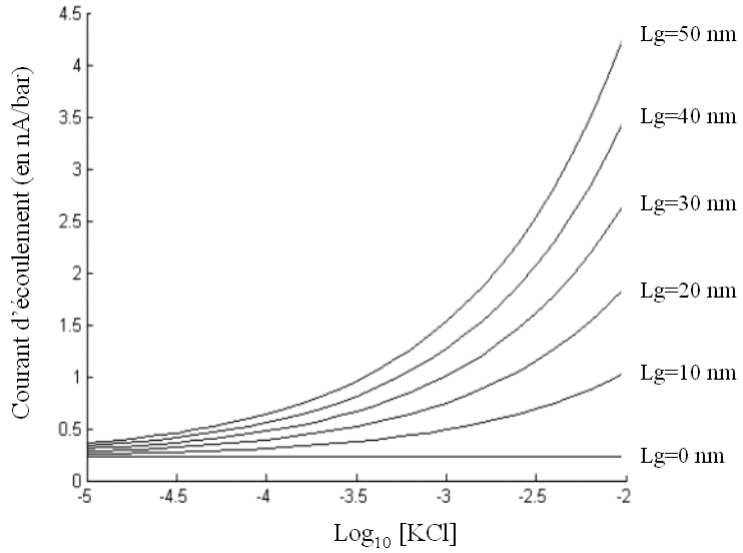


Figure 3.7 : Courant d'écoulement (en A/bar) en fonction de la concentration en électrolyte pour différentes valeurs de longueur de glissement.
Tube capillaire de diamètre 100 µm et de longueur 10 cm.
z=-40 mV et $h=10^{-3}$ Pa.s (eau à 20°C).

Les courbes de simulation de la figure 3.7 confirment bien que lorsqu'il y a non glissement à la paroi, le courant d'écoulement ne dépend pas de la concentration, comme prévu par l'équation (3.20). On observe aussi comme prévu une très rapide augmentation de la valeur du courant d'écoulement en fonction de la longueur de glissement. L'expérience de courant d'écoulement est donc très sensible au glissement, d'autant plus que la concentration en électrolyte est élevée, i.e. que la longueur de Debye dans l'électrolyte est faible.

Cette dernière remarque est très importante, puisqu'elle induit qu'il est théoriquement possible de quantifier la longueur de glissement et le potentiel zêta d'un couple électrolyte/surface simultanément en faisant des mesures de courant d'écoulement à plusieurs

concentrations en électrolyte [205]. Des expériences préliminaires ont été réalisées dans ce sens en collaboration avec Cécile Cottin-Bizonne du LPMCN pour tester notre hypothèse théorique. Pour se faire, des capillaires de silice ont été rendus hydrophobes par silanisation de la surface. Malheureusement, ces expériences n'ont pas donné de résultats satisfaisants, à cause probablement de la difficulté à silaniser de manière correcte et homogène nos capillaires. Le laboratoire LPMCN sait cependant très bien silaniser des lames de verre, c'est pourquoi une étude est en cours dans ce laboratoire sur les même types d'expériences réalisées avec la géométrie « écoulement plan infini ».

Remarquons enfin qu'une telle étude de longueur de glissement serait très difficile à mettre en place par mesure de débit dans des microcanaux du type de celle réalisée au chapitre 2. En effet, dans les gammes géométriques sur lesquelles nous avons travaillé, les erreurs de mesures sur les débits seraient beaucoup plus élevées que les variations apportées par la longueur de glissement qui sont typiquement égales à la centaine de nm au plus.

3.4 Résultats expérimentaux

3.4.1 Banc de mesure de courants d'écoulements

Le banc de mesure expérimental est très simple dans son principe, et dérive de celui mis en place pour les mesures de débits microfluidiques :

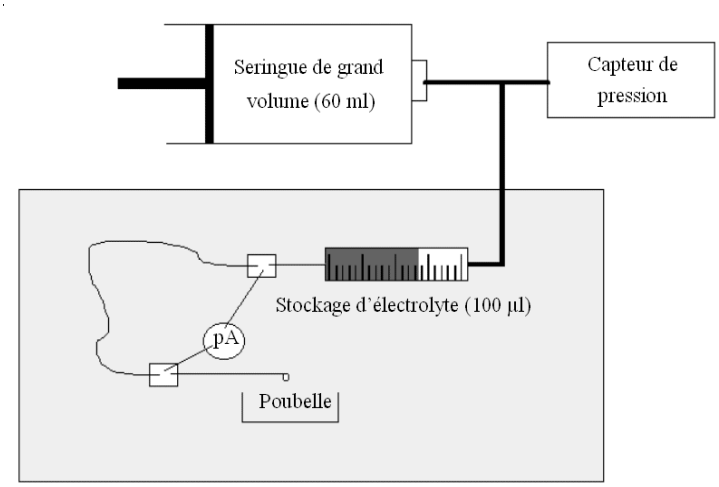


Figure 3.8 : Banc expérimental de mesure de courant d'écoulement

Une seringue de grand volume (typiquement 60 ml) remplie d'air sert à appliquer une pression statique sur l'électrolyte, mesurée grâce à un capteur différentiel de pression. Un tube calibré de faible volume (typiquement 100µl) est utilisé comme réservoir électrolytique et est relié à la première seringue. Le système microfluidique à caractériser est relié en amont à la sortie du tube de faible volume, et en aval à une poubelle. L'étanchéité de l'ensemble est assurée soit par des collages, soit par des éléments commerciaux lorsque cela est possible (connecteurs peek Upchurch Scientific pour les capillaires). Nous avons effectué de nombreuses expériences jusqu'à des pressions de 1 bar sans jamais rencontrer de fuites dans le système expérimental. Gusev et al. [206] proposent un montage expérimental équivalent, mais pouvant supporter des pressions de l'ordre de plusieurs centaines de bar, dans le but de mesurer des potentiels d'écoulement de l'ordre du Volt. Nous avons pour notre part choisi de

travailler à plus basse pression, de manière à simplifier la connectique et l'utilisation du banc expérimental, au prix de faibles courants d'écoulements mesurés.

Dans un premier temps, pour les électrolytes contenant du chlore, le courant d'écoulement est mesuré via deux électrodes d'argent placées en amont et en aval et reliées à un picoampèremètre. En effet, ce métal est le candidat idéal pour former des contacts ohmiques entre une solution contenant des ions chlorure et l'appareillage de mesures électriques via une couche de surface Ag/AgCl, c'est pourquoi on le retrouve dans de nombreux travaux [198,199,206-208]. Pour les mesures effectuées avec des tampons non chlorés, le choix du matériau des électrodes s'est reporté vers le platine pour sa grande stabilité électrochimique et sa bonne conduction ionique.

L'ensemble du dispositif expérimental est placé dans une cage de Faraday afin de le protéger des rayonnements électromagnétiques parasites. Les électrodes sont reliées au picoampèremètre par un câble coaxial. Les expériences préliminaires ont montré l'importance cruciale de ce blindage au vu des gammes de courants mesurés (le pA pour les plus faibles).

Nous avons vu au paragraphe 3.2 que le picoampèremètre doit avoir une résistance d'entrée nettement plus faible que celle de l'électrolyte remplissant le microsystème qu'il court-circuite. Tout le courant électrique créé hydrodynamiquement est ainsi collecté dans l'appareil de mesure. Donnons ici quelques ordres de grandeurs : le picoampèremètre utilisé, un Keithley 485, présente une résistance d'entrée qui varie suivant la gamme de mesure et le courant mesuré, mais cette résistance ne dépasse jamais la valeur de 100 kΩ d'après la documentation technique. Or, les capillaires les plus gros que nous avons testés ont un diamètre de 100µm pour une longueur de l'ordre de 10 cm. Les électrolytes utilisés ont des conductivités maximales de l'ordre de 0.1 S/m ($14.2*10^{-2}$ S/m pour du KCl à une concentration de $1*10^{-3}$ mol/l KCl [204]). Les résistances électrolytiques sont donc toujours supérieures à 100 MΩ dans les capillaires, ce qui est au moins trois décades supérieur à la résistance du picoampèremètre. L'erreur induite par cette résistance de court-circuitage sera donc toujours inférieure à 0.1%. On pourra donc toujours la négliger par rapport aux erreurs induites par les sources de bruit (pollutions chimiques, bruit électronique, perturbations électromagnétiques,..).

Notons enfin que le banc de mesure actuel, adapté à des capillaires et à des canaux microfluidiques, permet de réaliser une mesure en quelques minutes seulement, montage du capillaire ou du canal compris.

3.4.2 Première série d'expériences : capillaires de silice

Le banc expérimental de détermination de potentiel ζ par mesures de courant d'écoulement a été validé dans un premier temps avec des tubes capillaires en silice commerciaux (Polymicro Technologies). La silice en effet présente l'avantage d'être un matériau dont la charge de surface est très bien caractérisée, car très utilisée pour les séparations électrophorétiques. On peut donc se référer à la littérature, dans laquelle de nombreux travaux ont été réalisés sur des lames de verre [198-200,202-204,209,210], mais peu sur des tubes capillaires [201,206,211].

La figure 3.9 et le tableau 3.2 présentent les résultats obtenus sur deux capillaires, l'un de section carrée, et l'autre de section circulaire :

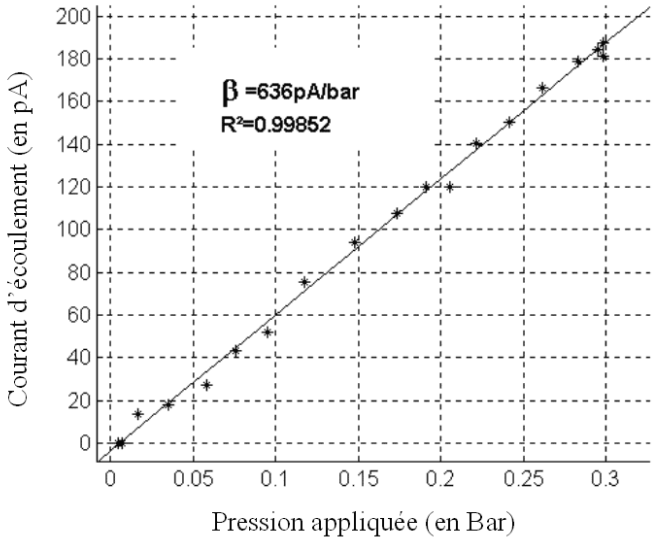


Figure 3.9 : Courant d'écoulement expérimental en fonction de la pression appliquée pour un capillaire de section carrée, d'arête 100 µm, et de longueur 7.0 cm rempli de KCL à 10^{-3} mol/l et à une température de 20 °C.

Section du capillaire	Circulaire (diamètre 100 µm)	Carrée (arête 100 µm)
Longueur	7.0 cm	7.0 cm
β expérimental (KCl 10^{-4} mol/l à pH≈6.0)	681 pA/bar à 24°C	636 pA/bar à 20°C
ζ déduit	-77 mV (cf. équation A11)	- 64 mV (cf. équation A11t)
β expérimental (KCl 10^{-3} mol/l à pH≈6.0)	493 pA/bar à 22°C	649pA/bar à 20°C
ζ déduit	-59 mV (cf. équation A11)	-65 mV (cf. équation A11)

Tableau 3.2 : Mesures de courant d'écoulement et calcul du potentiel z

La figure 3.9 montre une très bonne proportionnalité entre le courant d'écoulement et la pression appliquée (taux de corrélation supérieur à 0.998). Ceci est la signature d'un écoulement laminaire dans les capillaires, déjà observé dans d'autres expériences au chapitre 2. Les valeurs de ζ obtenues, entre –59 mV et –77 mV sont en accord avec celles proposées dans la littérature [202-204,206,210], sachant que la valeur communément admise est autour de –65 mV à pH 6 [198].

On remarquera toutefois que le potentiel zêta mesuré dans le capillaire de section circulaire semble varier avec la concentration, au contraire du capillaire de section carrée. De la même manière, on trouve dans la littérature certains auteurs qui observent une variation de ζ en fonction de la concentration en KCl dans la gamme [10^{-3} mol/l ; 10^{-4} mol/l] [202,210], tandis que d'autres n'observent pas cet effet [203,204]. Cela souligne la grande variabilité du potentiel ζ en fonction des paramètres physico-chimiques du couple paroi/électrolyte, et l'aspect non maîtrisable et non-reproductible de certains de ces paramètres.

Dans notre cas, on peut sans doute expliquer ces variations de la valeur mesurée de ζ par l'influence du pH de l'électrolyte. En effet, le potentiel ζ de la silice dépend fortement du pH de l'électrolyte en contact avec la surface [203] :

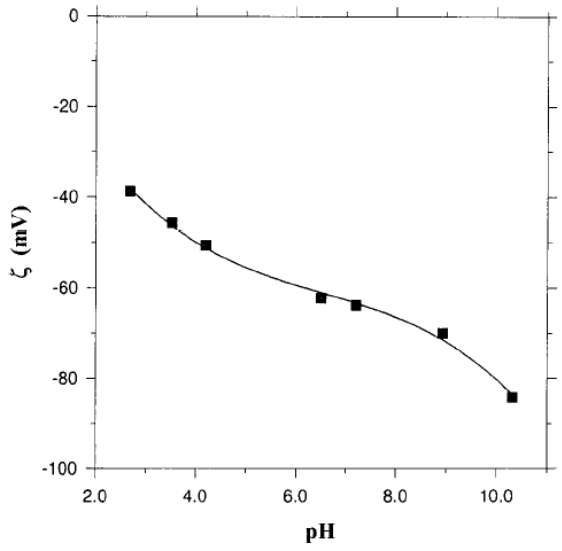


Figure 3.10 : Variation du potentiel z de la silice en solution aqueuse en fonction du pH (issu de [203])

Or, les pH des solutions que nous avons mesurés sont très proches de 6 et les solutions utilisées (KCl dissous dans l'eau) ne sont pas tamponnées. Nous ne pouvons donc pas assurer qu'elles étaient exactement à pH 6 lors des expériences, à cause des fluctuations éventuelles dues aux pollutions ioniques des gaz de l'air solubles dans l'eau.

Il est aussi à noter une importante fluctuation des résultats de mesure en fonction du temps lors d'une même session expérimentale. La figure 3.11 présente les courants d'écoulements mesurés sur un capillaire de section cylindrique, avec pour diamètre 100 µm et pour longueur 7 cm au cours d'une session expérimentale. L'électrolyte est du KCl à 10^{-4} mol/l et à 24°C. On observe une variation de la pente β mesurée lors de cette session expérimentale dans une gamme [-681 pA/bar ; -496 pA/bar]. Or nous avons pu constater une telle dispersion temporelle pour tous les échantillons qui ont été testés. Nous avons aussi observé que les valeurs mesurées reviennent à leur valeur initiale ou « nominale » après un nettoyage à la soude, très efficace dans le cas de la silice.

Ce problème de stabilité temporelle est un facteur limitant de l'expérience, et pourtant il est apparu que ces observations sont très habituelles aussi bien en mesures de courants d'écoulement qu'en mesures de potentiels d'écoulement, même si elles ne sont jamais décrites dans la littérature. Ce phénomène n'est toujours pas expliqué actuellement, mais une

des hypothèses que l'on peut avancer serait une dégradation électrochimique de la paroi à cause des champs électriques locaux induits par les transports électrocinétiques. Pour palier cette difficulté, et afin de présenter des résultats comparables entre eux, nous nous sommes imposé comme règle empirique de considérer comme valeur « vraie » de β la première mesurée. C'est pourquoi dans cet exemple, nous avons retenu β= – 681 pA/bar pour le calcul de ζ (-77 mV dans ce cas).

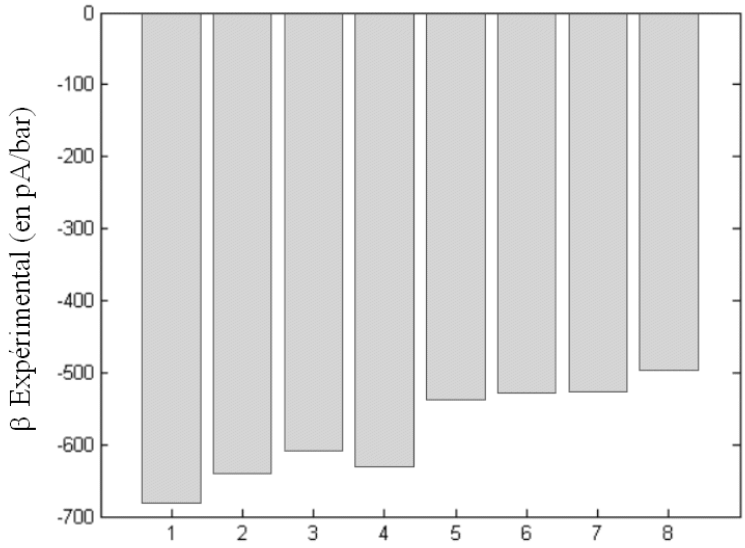


Figure 3.11 : Variations de b mesuré au cours d'une session expérimentale (capillaire de silice, section circulaire, diamètre 100 µm, longueur 7 cm, KCl à 10^{-4} mol/l)

3.4.3 Deuxième série d'expériences : capillaires enduits au Zircone

La mesure du potentiel ζ de la silice en solution aqueuse ne présente pas d'intérêt expérimental original; car cette charge de surface est connue et largement reportée dans la littérature [198,199,202-204,206,207].

Après validation du banc expérimental sur des capillaires de silice, nous avons confronté les mesures de courant d'écoulement avec des mesures de vitesses électroosmotiques pour différents capillaires, dont pour certains les surfaces ont été modifiées, et avec différents électrolytes. Ce travail étant très orienté vers la chimie

analytique, il a été réalisé en collaboration avec Myriam Crosnier de Bellaistre dans le cadre de sa thèse au LSSA (UCBL), qui est venue utiliser le banc expérimental au LENAC.

Nous ne présenterons pas ici tous les résultats obtenus par le LSSA lors de ces travaux, car leur interprétation est essentiellement physico-chimique et n'entre pas dans le cadre direct de cette thèse. Nous nous contenterons donc de présenter deux exemples parmi d'autres, afin de démontrer simplement l'intérêt scientifique du montage expérimental mis au point au LENAC.

3.4.3.1 Exemple n°1 : capillaires enduits de zircone et variation de concentration de sulfates

La charge de surface de la silice varie beaucoup en fonction du pH de la solution, mais reste toujours négative quel que soit l'électrolyte utilisé [203]. Il est donc intéressant de modifier la surface interne d'un capillaire afin d'en modifier les propriétés physico-chimiques, et notamment de permettre la réversibilité de la mobilité électroosmotique en fonction du pH.

Ceci peut se faire notamment avec une enduction au zircone, ZrO_2, sur des capillaires de silice, sur lesquels nous avons mesuré expérimentalement une variation de ζ par courant d'écoulement en fonction de la concentration en SO_4^{2-} d'un mélange $NaCl/SO_4^{2-}$ en solution aqueuse [193]. La figure 3.12 présente les résultats obtenus lors de cette étude, ainsi qu'une comparaison avec les mesures de vitesses électroosmotiques préalablement réalisées. La courbe correspond aux mesures de courants d'écoulement, et les barres correspondent aux mesures directes de mobilités électroosmotiques μ_{eo} :

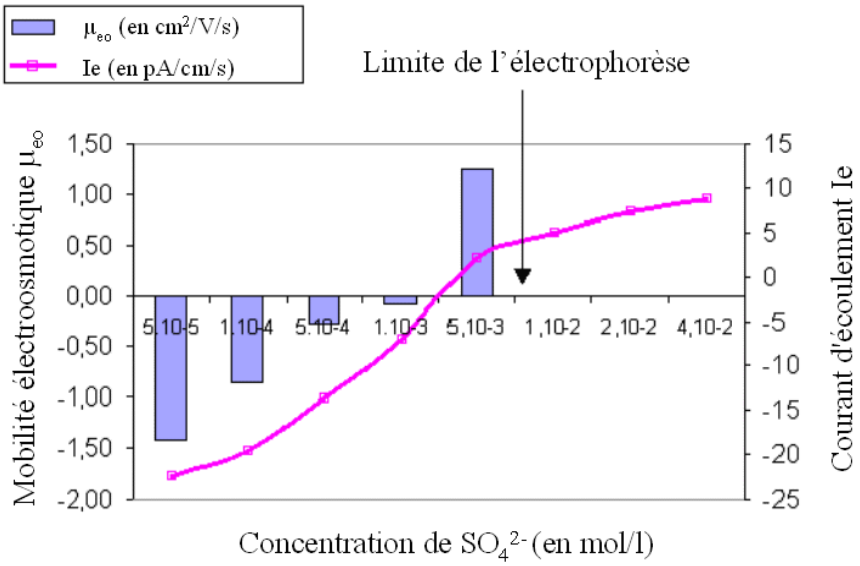


Figure 3.12 : Comparaison entre mobilité électrophorétique et courants d'écoulements pour un capillaire enduit de zircone en fonction de la concentration en SO_4^{2-} d'un mélange $NaCl/SO_4^{2-}$ en solution aqueuse

Notons que l'unité de courant d'écoulement proposée ici est le pA/cm/s. Cette unité correspond à un courant d'écoulement normalisé à la vitesse moyenne de l'électrolyte dans le capillaire. Ainsi, le courant d'écoulement est indépendant de la pression exercée, des dimensions géométriques du capillaire, et de la température de l'électrolyte lors de expérience. Nous avons choisi cette unité car elle permet une comparaison rapide du courant d'écoulement et de la mobilité électroosmotique sans calculer le potentiel ζ de manière explicite.

La figure 3.12 montre une bonne corrélation entre les deux types de mesures réalisées, avec notamment une parfaite correspondance entre leurs signes, et donc sur la concentration pour laquelle il y a transition de signe de ζ. On observe toutefois que les valeurs mesurées par les deux méthodes ne se correspondent pas en valeur absolue, même si les courbes de tendances sont respectées. Une explication de ces différences sera proposée au chapitre de discussion des résultats.

3.4.3.2 Exemple n°2 : capillaires enduits de zircone et solvant organique

Le même type d'expérience que précédemment a été réalisé en modifiant le tampon électroosmotique, i.e. en introduisant un solvant organique -l'acétonitrile- en solution. La courbe de la figure 3.13 présente la compilation de 18 résultats de mesures du potentiel zêta effectuées avec les deux méthodes expérimentales. Pour ces mesures, des électrodes de platine ont été utilisées afin d'obtenir un meilleur contact ohmique entre l'électrolyte et le picoampèremètre.

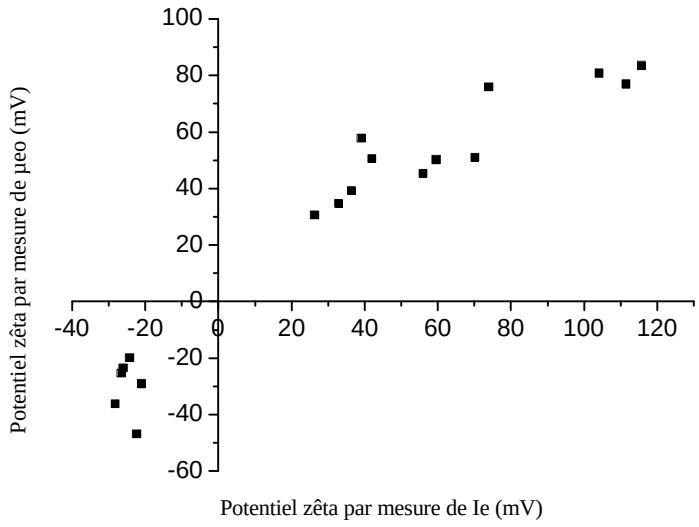


Figure 3.13 : Comparaison entre mobilité électrophorétique et courants d'écoulements pour des capillaires enduits de zircone.

Comme précédemment, on peut remarquer une parfaite correspondance dans les signes de ζ entre les deux méthodes. Le coefficient de corrélation des points expérimentaux est égal à 0.957.

3.4.4 Discussion des résultats

Les courbes présentées ci-dessus ne sont qu'une partie de tous les résultats obtenus lors des expériences préliminaires et de notre collaboration avec le LSSA, et l'ensemble du travail réalisé représente en tout plusieurs centaines d'expériences de courant d'écoulement.

Ce grand nombre d'expériences réalisées montre clairement les avantages du montage expérimental mis au point au LENAC pour la détermination des charges de surfaces de systèmes microfluidiques. En effet, ces expériences sont non seulement très simples à mettre en œuvre mais plus rapides qu'avec la méthode classique puisque l'on peut estimer un potentiel de surface en quelques minutes seulement.

Du point de vue de la qualité des résultats obtenus, on a pu montrer que les mesures de courant d'écoulement donnent des indications très fiables quant au signe de la charge de surface, et donc sur le signe de la mobilité électroosmotique.

Ce bilan positif doit être tempéré par les valeurs comparées du courant d'écoulement et de la mobilité électroosmotique des figures 3.12 et 3.13. Il apparaît en effet une divergence entre les deux méthodes de mesure qui ne permet pas aujourd'hui, par exemple, de prévoir la vitesse électroosmotique d'un système microfluidique de manière très précise. Toutefois, la méthode de caractérisation de charges de surfaces par courant d'écoulement peut cependant être proposée comme une mesure alternative et préliminaire permettant de gagner du temps, principalement lorsque les mobilités électroosmotiques sont faibles et que l'on ne connaît pas leur signe.

Nous pouvons apporter deux explications à ces différences observées ci-dessus. La première provient très probablement des électrodes utilisées pour la mesure de courant. En effet, nous avons fait l'hypothèse dans ce travail d'un bon transfert de charge entre l'électrolyte et les électrodes. Cette hypothèse n'est peut être pas toujours correctement vérifiée, et nous avons par exemple observé une dégradation des électrodes aux temps longs, ce qui a nécessité leur changement. Le problème du transfert de charges électrochimiques aux électrodes est essentiel, mais il sort du cadre de cette thèse, et une étude complète en collaboration avec des électrochimistes sera nécessaire à l'avenir pour mieux comprendre le phénomène. Il serait par exemple intéressant de tester d'autres matériaux (or, carbone,…) permettant d'obtenir un contact ohmique universel, c'est à dire avec le plus grand nombre d'électrolytes possible, et avec une durée de vie la plus grande possible.

La deuxième cause pouvant probablement expliquer des écarts de mesures sur les courants d'écoulement provient des fluctuations de la charge de l'interface liquide/solide à temps court (observées à la figure 3.11). Ce point est encore obscur, et il conviendrait, pour

palier ce problème, de trouver des méthodes de nettoyage simples et rapides garantissant une meilleure reproductibilité à court terme des mesures.

3.5 Conclusions

Les mesures de courant d'écoulements sont des expériences simples à mettre en œuvre et permettant d'obtenir une bonne indication sur la mobilité électroosmotique d'un couple électrolyte/système microfluidique. Des premiers résultats expérimentaux ont été obtenus sur des capillaires de section carrée ou circulaire, fonctionnalisés ou non, et avec plusieurs types d'électrolytes, démontrant l'intérêt du montage développé au LENAC.

On a pu ainsi montrer que les mesures de courant d'écoulement permettent par leur simplicité de mise en œuvre d'obtenir simplement et rapidement une bonne indication sur le signe et la valeur de la mobilité électroosmotique dans un capillaire ou dans un système microfluidique.

Une suite intéressante de cette étude consisterait à régler certains problèmes expérimentaux évoqués précédemment (dégradation des électrodes, universalité des électrodes par rapport au tampon, reproductibilité des mesures à court et à long terme,…). Pour cela, il semble nécessaire de développer une collaboration avec des équipes d'électrochimistes afin de bien comprendre les effets aux électrodes.

Nous verrons au chapitre suivant que le banc de mesure de courants d'écoulements a été adapté pour la détermination des charges de surface de microcanaux réalisés dans du PDMS. Ce dernier matériau présente un grand intérêt car il est très utilisé en électrophorèse; tandis que sa charge de surface n'est pas encore parfaitement caractérisée dans la littérature, notamment pour la dynamique du PDMS oxydé au plasma O_2.

4 Systèmes microfluidiques PDMS pour la séparation de molécules biologiques par électrophorèse capillaire de zone (ECZ)

4.1 Introduction : aspects généraux sur les microsystèmes séparatifs réalisés

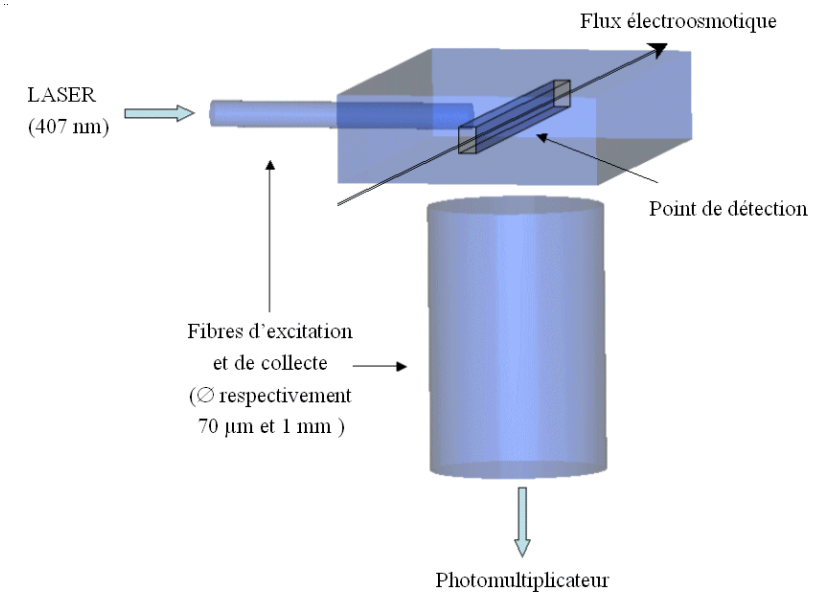
Les premiers microdispositifs séparatifs utilisant l'ECZ datent du début des années 1990 [79,116,117]. D'abord fabriquées avec du silicium puis avec du verre, ces premières puces ont obtenu des résultats expérimentaux encourageants et suscité un véritable engouement dans la communauté des chimistes analytiques, non démenti depuis. Ces dernières années, des solutions nouvelles pour la fabrication des microsystèmes sont proposées, par exemple avec des polymères comme le PDMS, qui permettent d'obtenir des microcanaux rapidement et à moindre coût.

Ce thème de recherche étant nouveau au laboratoire, nous avons choisi de proposer dans un premier temps une structure dont la forme générale est très classique, c'est à dire avec un seul canal d'injection et un seul canal de séparation afin de bien comprendre les phénomènes physiques mis en jeu lors des séparations.

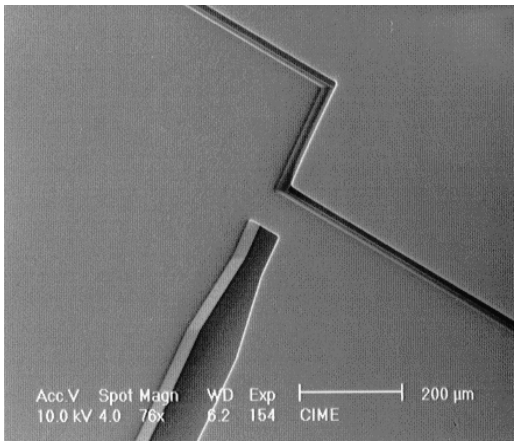
Les travaux publiés par d'autres équipes et qui traitent des séparations par ECZ dans des puces microfluidiques nous ont conduits à mettre en œuvre une détection originale des molécules séparées, dont l'objectif est de permettre de disposer à terme de systèmes séparatifs portables. Cette détection exploite le principe de la fluorescence induite par laser. Contrairement à la très grande majorité des travaux dans ce domaine, qui utilisent cette détection via un microscope confocal de fluorescence, nous avons développé un système de fibres optiques intégrées dont le rôle est d'acheminer et de collecter les signaux optiques d'excitation et d'émission au plus près du canal.

Le détail de cette détection est présenté en figure 4.1. Un canal secondaire, perpendiculaire au canal de séparation, permet de guider mécaniquement la fibre optique d'excitation au plus près du point de détection (typiquement 100 µm, voir figure 4.1.b). Cette fibre présente un diamètre de cœur de 50 µm, et un diamètre de gaine égal à 70 µm. Ce diamètre externe est la plus petite dimension que nous ayons trouvée dans le commerce pour une fibre optique. De plus, l'expérience nous a montré qu'un plus petit diamètre rendrait très

délicate la manipulation de la fibre. Elle est connectée à un LASER (de longueur d'onde 407 nm) dont la lumière est filtrée afin de s'affranchir de raies secondaires d'émission. Une seconde fibre optique, de plus grand diamètre (1mm) servant pour la collecte du signal d'émission, est placée à l'aplomb du point de détection perpendiculairement au plan de la puce. Cette fibre est reliée à un photomultiplicateur, via un filtre de collecte, qui filtre la longueur d'onde d'excitation et ne conserve que le signal de fluorescence. Une électronique associée au PMT permet d'obtenir un signal en tension, signature du passage des molécules séparées au point de détection. L'ensemble ainsi formé est très compact et le remplacement d'un microsystème, fibre d'excitation incluse, ne réclame que quelques minutes de travail.



a) Principe



b) Mise en œuvre

Figure 4.1 : Détection de fluorescence par fibres optiques intégrées

Le matériau de réalisation de ces systèmes microfluidiques est le PDMS. Pour des raisons optiques évidentes, le silicium n'est pas indiqué pour la détection de fluorescence, nous l'avons donc rejeté. Le verre est un bon candidat optique, mais le coût de réalisation de microcanaux dans ce matériau et l'absence de salle blanche rapidement accessible sur l'université nous ont dirigés vers les techniques de réalisation par polymères, dont la mise en œuvre dans notre laboratoire a été possible relativement simplement.

Ainsi notre travail en salle blanche, réalisé en collaboration avec le CIME à Grenoble, a pu être mis en valeur avec un minimum de temps passé à l'extérieur du laboratoire. La fabrication de puces microfluidiques par les techniques de moulage présentées au premier chapitre est rapide, puisqu'un opérateur peut en fabriquer environ cinq par journée avec une seule matrice de silicium.

Le choix d'une détection par fibres optiques intégrées n'est pas sans conséquences sur les systèmes séparatifs réalisés. D'un point de vue technologique, cela signifie que l'ensemble des microcanaux de la puce microfluidique doivent présenter une profondeur de 70µm. Il est possible de s'affranchir de cette profondeur unique en choisissant une solution de gravure de la matrice de moulage sur plusieurs profondeurs, solution que nous n'avons pas retenue dans un premier temps pour des raisons de complexité de fabrication. Or, cette profondeur de 70 µm n'est pas courante pour les systèmes séparatifs microfluidiques, pour lesquels les profondeurs atteintes sont typiquement de l'ordre de 20 à 30 µm au maximum. Notons ici en outre que cette « grande » profondeur est un argument supplémentaire de ne pas utiliser le verre pour réaliser les microcanaux. En effet, non seulement elle est relativement difficile à atteindre par gravure humide à cause de la détérioration du masque de gravure, mais surtout les sections imposées par la forme isotrope de la gravure auraient été trop importantes d'un point de vue hydrodynamique. Ceci aurait été incompatible avec une bonne efficacité de séparation, comme nous le verrons au prochain paragraphe.

Le PDMS se confirme donc comme un bon candidat compte-tenu de cette contrainte sur la détection que nous nous sommes imposée car il autorise, via la gravure profonde du silicium, des sections de microcanaux rectangulaires à haut facteur de forme, ou carrées, ce qui permet d'obtenir :

(1) Un excellent guidage mécanique de la fibre d'excitation,

(2) Des interfaces optiques planes,

(3) De grandes profondeurs de canaux, au sens microfluidique du terme, si désiré.

Enfin, le choix de la section des canaux nous permet d'ajuster au mieux la qualité des séparations dès la conception du microsystème séparatif, ce qui fait l'objet du prochain paragraphe.

4.2 Conception du microsystème séparatif

4.2.1 Position du problème

L'efficacité d'une séparation, quelle que soit la méthode séparative employée, n'est pas une grandeur absolue pour un système donné. Elle dépend au contraire intrinsèquement des couples formés par le système séparatif et par chaque analyte. Le concepteur d'un système microfluidique séparatif peut donc idéalement en optimiser l'efficacité, mais il sera toujours dépendant des caractéristiques physico-chimiques intrinsèques de chaque analyte.

Définitions de la géométrie du microsystème séparatif

Un microcanal séparatif peut se décrire suivant cinq paramètres géométriques :
(1) La section S du microcanal,
(2) La longueur totale du canal de séparation L,
(3) La distance l entre le point d'injection et le point de détection,
(4) La longueur L_{inj} correspondant au volume de produit injecté,
(5) La longueur L_{det} correspondant à la largeur de la fenêtre de détection.

Dans la suite de cette discussion nous poserons α le rapport entre les longueurs l et L :

$$a = \frac{l}{L}$$

Nous nous intéresserons donc dans cette partie du chapitre aux relations entre ces paramètres géométriques et la performance des systèmes séparatifs réalisés.

Sources d'élargissement

Du point de vue du signal de détection des molécules séparées, la performance du système est directement liée à la largeur temporelle des pics. Or il existe de multiples sources physiques d'élargissement des pics :

(1) La diffusion moléculaire des analytes au cours de leur trajet dans le microsystème séparatif [105,212-214]. Phénomène dû à l'agitation thermique, la diffusion moléculaire est la contribution inéluctable à la largeur des pics. Elle correspond donc à la limite supérieure d'efficacité des systèmes séparatifs.

(2) La longueur de la zone d'injection, qui peut perturber la qualité du système microfluidique si elle n'est pas correctement dimensionnée dans la conception du dispositif [214,215]. Cette largeur correspondra à un compromis nécessaire entre une quantité d'échantillon injectée suffisante pour la détection et la finesse des pics.

(3) La longueur de la zone de détection, dont il a été montré que l'action est identique à celle de la zone d'injection [215,216].

(4) Les écoulements hydrodynamiques entre les différentes entrées/sorties du système, qui se somment aux écoulements électroosmotiques et les parasitent. Dans ce domaine, l'expérience montre que les écoulements hydrodynamiques peuvent élargir les pics de séparation (cf. 1.6 du premier chapitre), voire empêcher totalement la séparation électrophorétique. Il faut donc impérativement en tenir compte lors de la conception des microsystèmes séparatifs. Ce point sera détaillé au paragraphe 4.2.5.

(5) L'effet Joule dans les microcanaux [105,217,218]. D'un point de vue électrocinétique, le microcanal peut être considéré comme une résistance électrique, et le passage d'un courant échauffe le tampon. Des variations locales de température peuvent être observées, qui perturbent les écoulements et augmentent les effets dispersifs à cause notamment des gradients de coefficients de diffusion.

(6) L'électrodispersion dans l'échantillon. Ce phénomène a lieu si les ions du tampon de l'échantillon présentent une mobilité différente de celle du tampon de séparation [219]. Cet effet peut être parfois bénéfique, il s'agit alors de « stacking » [76].

(7) L'adsorption spécifique des ions sur les parois, qui tend à élargir les pics, mais surtout à leur donner une forme dissymétrique [218].

(8) Les défauts de surface, les poussières éventuelles, ou les perturbations volontaires de la géométrie du microcanal de séparation (virages, coudes,…) [212,218].

4.2.2 Première analyse qualitative

Nous proposons ici d'analyser de manière qualitative les effets qui n'ont pas, ou peu, de conséquences sur la géométrie de microsystèmes séparatifs, ou qui ne sont pas quantifiables à priori. Nous n'en tiendrons pas compte dans la conception des microsystèmes séparatifs.

Il s'agit d'abord, évidemment, des défauts de surface et des poussières. Concernant les dispersions induites par les géométries particulières des microcanaux (coudes, et virages principalement), nous avons veillé à les contenir au maximum, notamment en ne dessinant jamais d'angle saillant dans les portions séparatives des microcanaux [212].

De même, nous n'avons pas tenu compte (au niveau de la conception des microsystèmes) de l'adsorption des molécules aux parois, car ce phénomène est difficilement quantifiable à priori. Cela ne doit pas empêcher d'y être expérimentalement très attentif, non seulement parce que le PDMS est un matériau particulièrement médiocre de ce point de vue, comme l'ont montré certaines équipes [156,168-171], mais aussi parce qu'une trop grande adsorption peut rompre la symétrie des pics de séparation, voire complètement empêcher la séparation. Des solutions existent néanmoins pour s'en affranchir, en revêtant par exemple les surfaces de PDMS de couches moléculaires spécifiques [170,171].

Nous pouvons aussi classer ici l'effet Joule, bien qu'il soit évidemment sensible à la géométrie des canaux et à la résistivité du tampon de séparation. En effet, les problèmes liés aux échauffements dus à l'effet Joule sont le plus souvent résolus selon une démarche uniquement expérimentale. Nous adapterons en effet toujours les tensions appliquées sur les microsystèmes afin de ne pas dépasser une température limite de fonctionnement. Pour cela, nous traçons pour chaque microcanal considéré une caractéristique I-V. Il suffira donc ensuite de travailler dans la zone linéaire de cette caractéristique, correspondant à la validité de la loi d'Ohm. La figure 4.2 propose un exemple d'une telle courbe expérimentale. Notons aussi que dans le cas des systèmes d'ECZ sur capillaires commerciaux, le capillaire peut être placé dans un tube thermostaté, ce qui permet une meilleure homogénéisation de la température dans le tampon de séparation. Notons enfin que l'incidence de l'effet Joule sur la géométrie est du même ordre que celle des écoulements hydrodynamiques, c'est à dire que pour contrer ces

effets, nous devrons augmenter les longueurs des canaux et diminuer leurs sections. Ainsi, l'effet Joule sera toujours indirectement inclus dans la prise en compte de l'hydrodynamique, qui fait l'objet du paragraphe 4.2.5.

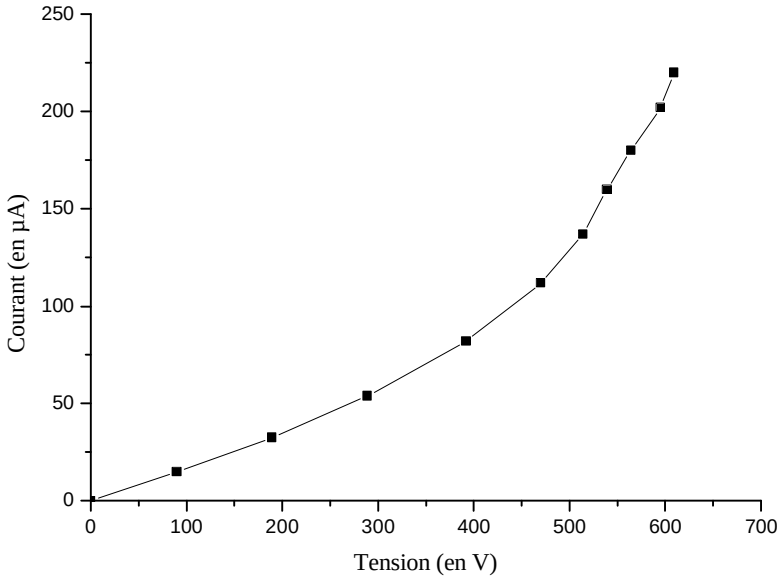


*Figure 4.2 : Caractéristique I-V dans un microcanal avec apparition d'un échauffement par effet Joule. Microcanal de section rectangulaire 50 µm*130µm,de longueur 10 mm, rempli de tampon borate à pH=9.2 et à concentration 75 mmol/l.*

Notons enfin les élargissements dus à l'électrodispersion, dont nous ne tiendrons pas compte ici non plus, car ce phénomène ne peut pas être quantifié simplement à priori, et réclame au contraire une certaine expérience de l'ECZ. C'est pourquoi nous avons utilisé au cours de ce travail les tampons fournis par nos collègues chimistes, afin de travailler dans les mêmes conditions expérimentales que les leurs et à la lumière de leur expérience.

Ainsi, les causes d'élargissement dont nous ne tiendrons pas quantitativement compte ici sont la diffusion, les écoulements hydrodynamiques parasites et les dispersions causées par les longueurs d'injection et de détection. Avant de quantifier ces effets, nous nous proposons d'étudier la forme générale d'un pic de dispersion et d'introduire les grandeurs permettant de qualifier la qualité d'une séparation.

4.2.3 Forme générale d'un pic de séparation

Nous proposons ici de définir la forme générale d'un échantillon au cours de sa migration dans le microsystème d'analyse. Pour cela, considérons un analyte injecté dans le système séparatif avec une géométrie quelconque, suivant un processus identique à celui présenté en figure 1.16 du premier chapitre. Soit C(x, t) la concentration locale à un instant t au cours de sa migration dans le canal de séparation. La figure 4.3 représente la forme d'un tel pic lors de son déplacement par électrophorèse capillaire de zone.

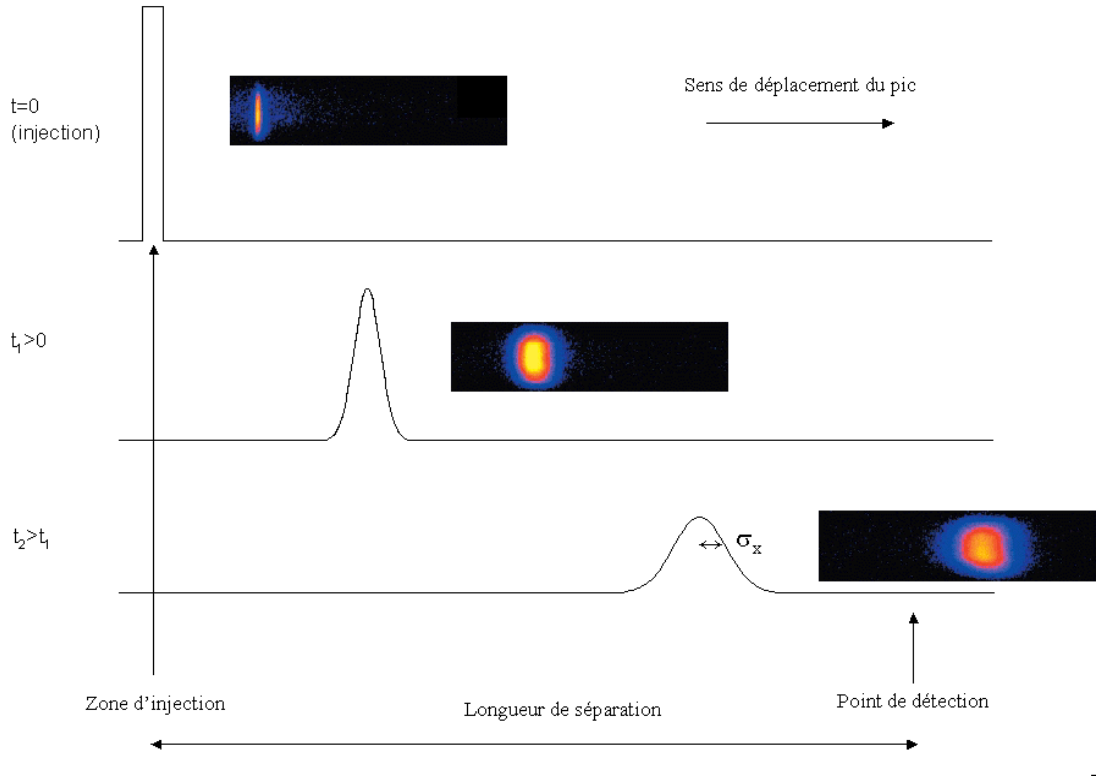


Figure 4.3 : Profil spatial de concentration d'un analyte lors de son déplacement à différents instants de la séparation

Il a été montré que cette concentration suit, en première approximation, une forme gaussienne lors de son déplacement dans le canal de séparation [213,214]:

$$C(x,t) = \frac{Q_{inj}}{\sqrt{2\pi}.\sigma_x} \exp\left(\frac{-(x-\delta)^2}{2.\sigma_x{}^2}\right) \qquad (4.1)$$

où δ est la distance parcourue depuis le point d'injection pendant le temps de migration t, x la variable spatiale (unique) du système séparatif (x=0 au point d'injection), et σ_x la dispersion spatiale du pic sur cette dimension (demi-largeur à 60% de l'amplitude), qui est une fonction croissante du temps. La constante Q_{inj} est définie comme l'intégrale de la concentration sur x :

$$Q_{inj} = \int C(x,t).dx \tag{4.2}$$

Si la section du microcanal est supposée invariante, Q_{inj} est déterminée en fonction de la concentration initiale du produit dans le volume d'injection C_v, et de la longueur de la zone d'injection L_{inj} :

$$Q_{inj} = C_v.L_{inj} \tag{4.3}$$

La contribution totale des sources d'élargissements présentées au paragraphe précédent sur la dispersion du pic s'écrit comme la somme quadratique des contributions individuelles listées au précédent paragraphe [214,215] :

$$\sigma_x^2 = \sigma_{diffusion}^2 + \sigma_{injection}^2 + \sigma_{détection}^2 + \sigma_{hydrodynamqiue}^2 \tag{4.4}$$

Où $\sigma_{diffusion}$, $\sigma_{injection}$, $\sigma_{détection}$, et $\sigma_{hydrodynamique}$ sont les dispersions de la gaussienne respectivement dues à la diffusion, à l'injection, à la détection, et aux écoulements hydrodynamiques parasites.

Dans la pratique, les molécules séparées sont observées uniquement au point de détection x=l. On écrira donc à ce point :

$$C(l,t) = C(t) = \frac{Q_{inj}}{\sqrt{2\pi}.\sigma_x} \exp\left(\frac{-(l-\delta)^2}{2.\sigma_x{}^2}\right) \tag{4.5}$$

à condition que la vitesse de passage du pic devant la cellule de détection soit suffisamment élevée pour que celui-ci reste temporellement gaussien en première approximation. En posant $\delta = v*t$ et $l = v*t_m$, avec v la vitesse de déplacement de la molécule considérée et t_m le temps de migration du pic depuis le point d'injection jusqu'au point de détection :

$$C(t) = \frac{Q_{inj}}{\sqrt{2\pi}.\sigma_x} \exp\left(\frac{-v^2.(t-t_m)^2}{2.\sigma_x{}^2}\right) \quad (4.6)$$

Cette relation peut aussi s'écrire :

$$C(t) = \frac{Q_{inj}}{\sqrt{2\pi}.\sigma_x} \exp\left(\frac{-(t-t_m)^2}{2.\sigma_t{}^2}\right) \quad (4.7)$$

où σ_t est la variance temporelle du signal de détection des molécules. Ce paramètre se déduit de l'identification des termes gaussiens des équations (4.6) et (4.7) au temps de migration t_m :

$$\sigma_t = \frac{\sigma_x}{v} = \frac{L}{\mu_{app}.V}.\sqrt{\sigma^2_{diffusion} + \sigma^2_{injection} + \sigma^2_{détection} + \sigma^2_{hydrodynamique}} \quad (4.8)$$

D'où, finalement :

$$C(t) = \frac{Q_{inj}}{\sqrt{2.\pi}.v.\sigma_t} \exp\left(\frac{-(t-t_m)^2}{2.\sigma_t{}^2}\right) \quad (4.9)$$

4.2.4 Performance d'une séparation par ECZ

La performance d'une séparation par ECZ, ou d'une manière générale de tout processus séparatif, peut se quantifier suivant deux grandeurs : le temps de séparation, que l'on cherchera toujours à minimiser et la résolution des pics, que l'on cherchera à maximiser.

Temps de séparation

Soit un pic de séparation d'un analyte chargé par ECZ, et $\mu_{app}=\mu_e+\mu_{eo}$ la somme des mobilités électrophorétiques et électroosmotiques définies au premier chapitre. Alors la vitesse du pic s'écrit :

$$v = \frac{\mu_{app}.V}{L} \quad (4.10)$$

Où V est la tension appliquée au microcanal.

Compte tenu des grandeurs définies précédemment, le temps de migration du pic considéré, t_m, s'écrit :

$$t_m = \frac{l}{v} = \frac{\alpha.L^2}{\mu_{app}.V} \tag{4.11}$$

Résolution d'une séparation et nombre de plateaux théoriques :

Soit deux pics gaussiens correspondants à deux analytes, de temps de migration respectifs t_{m1} et t_{m2}, et de dispersion temporelle à la détection σ_{t1} et σ_{t2}. On définit la résolution de la séparation des analytes comme [105,115] :

$$Rs = \frac{t_{m2} - t_{m1}}{2(\sigma_{t1} + \sigma_{t2})} \tag{4.12}$$

Cette expression peut se simplifier comme [105]:

$$Rs = \frac{\sqrt{N}}{4}.\frac{\mu_{e2} - \mu_{e1}}{\mu_{eo} + \frac{\mu_{e2} + \mu_{e1}}{2}} \tag{4.13}$$

Où N est défini comme le nombre de plateaux théoriques, qui s'écrit :

$$N = (\frac{l}{\sigma_x})^2 = (\frac{t_m}{\sigma_t})^2 \tag{4.14}$$

Ainsi, pour obtenir une séparation efficace, il faudra que les pics soient les plus fins possibles et que les mobilités des analytes soient suffisamment différenciées. Comme le concepteur du microsystème ne connaît pas à priori les mobilités apparentes μ_{app} des analytes à séparer, il s'attachera dans un premier temps à maximiser le nombre de plateaux théoriques du système séparatif.

4.2.5 Prise en compte des écoulements hydrodynamiques parasites

Nous allons quantifier ici les effets négatifs dus aux écoulements hydrodynamiques parasites, et ainsi raisonner sur les sections des microcanaux réalisés.

Les premiers dispositifs que nous avons fabriqués présentaient une section égale à 130 µm * 50 µm, dans le but d'utiliser des fibres optiques de diamètre externe 130 µm, plus simples à manipuler que les fibres de diamètre 70 µm. Or, nous avons constaté expérimentalement sur ces échantillons une impossibilité à réaliser des séparations électrophorétiques de bonne qualité et reproductibles. Une observation directe de la zone d'injection sous un microscope a mis au jour la présence d'écoulements de produits qui parasitaient parfois totalement le processus d'injection/séparation décrit au premier chapitre.

La compréhension de ces difficultés expérimentales est venue de l'étude des écoulements hydrodynamiques parasites dans les microcanaux. En effet, les équations de Navier-Stokes montrent que pour un microcanal de section 130 µm* 50 µm, de longueur 1 cm (qui est la distance entre deux godets d'entrées/sorties à l'injection des premiers dispositifs réalisés), la vitesse du fluide au centre du microcanal est égale à 300 µm/s pour une pression de 10 Pa, soit une hauteur d'eau égale à 1 mm entre deux entrées/sorties. Or, les vitesses électrophorétiques des molécules sur lesquelles nous avons travaillé sont de l'ordre du mm/s dans le PDMS, avec les tensions que nous avons utilisées. On conçoit donc aisément que les écoulements hydrodynamiques puissent concurrencer et perturber les écoulements électroosmotiques - au moins sur une certaine portion de la section du microcanal - car il est difficile de contrôler manuellement des différences de hauteur de liquide de l'ordre du mm dans les godets d'entrées/sorties.

Il est possible de réduire ces effets en modifiant les sections des microcanaux ainsi que leurs longueurs. Ainsi, nous avons doublé les longueurs de chaque canal d'entrées/sorties du côté de l'injection et réduit les largeurs des microcanaux en nous basant sur les résultats du tableau 4.1. Ainsi nous avons choisi de travailler avec une largeur de microcanaux égale à 30µm. Ainsi, en théorie, les écoulements hydrodynamiques y sont six fois plus faibles qu'avec les premières puces réalisées pour des conditions aux limites égales.

Largeur du canal (en µm)	10	20	30	40	50
Vitesse au centre de la section (en µm/s)	7	25	54	85	120

Tableau 4.1 : Vitesse hydrodynamique de tampon en fonction de la largeur d'un microcanal de longueur 2 cm et de profondeur 70 µm.
La viscosité du liquide est égale à 10^{-3} Pa.s

Notons aussi qu'un facteur physique supplémentaire à la seule gravité peut induire des pressions supplémentaires sur les fluides, et donc amplifier le phénomène : il s'agit de la nature des parois des godets d'entrées/sorties, qui peut être très handicapante si elle n'est pas prise en compte. Ceci a été démontré expérimentalement par Heo et al. [85], qui ont comparé de grandes différences de qualité de séparation en fonction de différents types de godets d'entrées/sorties (PDMS, verre, verre silanisé).

Or, le PDMS est un très mauvais candidat de ce point de vue. En effet, lors du traitement par plasma O_2, les surfaces des godets ne sont pas exposées de manière homogène (contrairement à la face qui contient les microcanaux). Il en résulte de grandes différences de tensions de surfaces d'un godet à l'autre, que nous avons observées expérimentalement et qui peuvent poser certains problèmes. Nous avons donc choisi à la lecture de l'article de Heo et aux vues de nos propres expériences d'utiliser des surfaces présentant des ménisques aqueux neutres. Pour cela, des embouts de micro pipettes plastiques nous ont intéressés car les ménisques aqueux y sont toujours plans, comme le montre la figure 4.4. Ces embouts plastiques étant très peu onéreux et très simples à manipuler, nous les avons adoptés pour l'ensemble des expériences de séparation présentées dans ce chapitre.

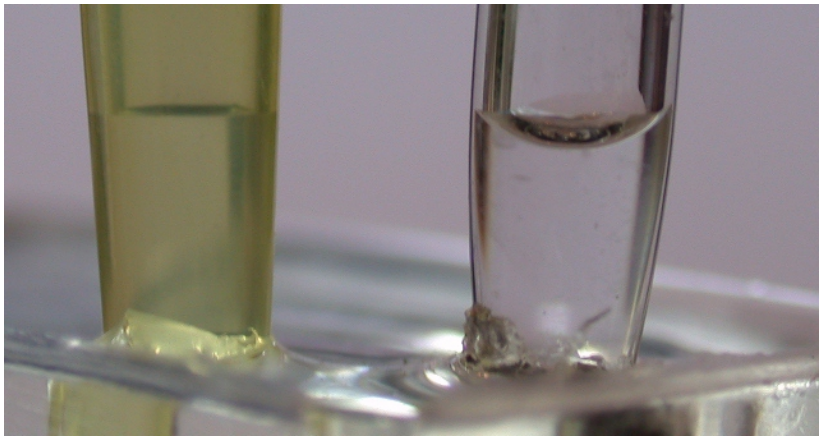


Figure 4.4 : Ménisques de tampon aqueux dans des embouts de micro pipettes plastiques (à gauche) et dans des godets en verre (à droite).

L'expérience nous a montré que le choix d'une réduction de la section ainsi que des godets d'entrées/sorties adaptés a permis d'obtenir des séparations très satisfaisantes avec notre deuxième série d'échantillons, comme nous le verrons plus loin dans ce chapitre.

Toutefois, nous ne sommes malheureusement toujours pas en mesure de quantifier de manière absolue l'effet des écoulements hydrodynamiques sur l'efficacité des séparations. Il faudrait pour cela avoir une connaissance parfaite des conditions aux limites appliquées au fluide dans chaque godet d'entrées/sorties ; ce qui est très loin d'être réalisable, d'une part à cause de la difficulté de mesurer des différences de hauteur aussi faibles que celles que l'on rencontre, et d'autre part parce que ces hauteurs fluctuent continûment au cours de l'expérience de séparation.

Il faut donc lire les résultats présentés ici comme une contribution au problème de nature uniquement relative. En effet, la résolution de l'équation de Navier-Stokes nous permet seulement de quantifier si un microsystème sera plus efficace qu'un autre du point de vue des écoulement hydrodynamiques parasites.

4.2.6 Prise en compte des longueurs caractéristiques des microcanaux

Ce paragraphe se propose d'exprimer la qualité d'une séparation en fonction des paramètres géométriques L, l, L_{inj} et L_{det} , dans l'hypothèse d'une section des microcanaux telle que les écoulements hydrodynamiques soient négligeables devant les autres effets.

La qualité d'une séparation électrophorétique se quantifie par le nombre théorique de plateaux, défini en 4.2.4. Si l est la longueur de séparation et σ_x la dispersion spatiale, N s'écrit comme le carré du rapport entre ces deux grandeurs. Lorsque l'influence des écoulements hydrodynamiques parasites sur la dispersion devient négligeable, celle-ci peut se simplifier de l'expression (4.4) en :

$$\sigma_x^2 = \sigma_{diffusion}^2 + \sigma_{injection}^2 + \sigma_{détection}^2 \qquad (4.15)$$

Où la variance induite par la diffusion moléculaire est donnée par l'équation d'Einstein [214,215]:

$$\sigma_{diffusion}^2 = 2.D.t_m \qquad (4.16)$$

Avec D le coefficient de diffusion de la molécule considérée.

Les termes provenant de l'injection et de la détection sont donnés par l'équation de Sternberg [214,215] :

$$\sigma^2_{\text{injection}} + \sigma^2_{\text{détection}} = \frac{L^2_{\text{inj}}}{12} + \frac{L^2_{\text{det}}}{12} \tag{4.17}$$

Cette dernière expression peut se simplifier en considérant une longueur équivalente à la somme des contributions de la longueur d'injection et de longueur de détection comme la somme quadratique :

$$L_{\text{eq}} = \sqrt{L^2_{\text{inj}} + L^2_{\text{det}}} \tag{4.18}$$

Et donc :

$$\sigma^2_x = 2.D.t_m + \frac{L^2_{\text{eq}}}{12} \tag{4.19}$$

ou encore, d'après (4.8), (4.11) et (4.19) :

$$\sigma_t = \frac{L}{\mu_{\text{app}}.V}.\sqrt{2.D.\frac{\alpha.L^2}{\mu_{\text{app}}.V} + \frac{L^2_{\text{eq}}}{12}} \tag{4.20}$$

Soit, enfin [214] :

$$N = \frac{\alpha^2.L^2}{\frac{2.D.\alpha.L^2}{\mu_{\text{app}}.V} + \frac{L^2_{\text{eq}}}{12}} \tag{4.21}$$

Introduction de la diffusion relative

Le calcul du nombre de plateaux théoriques pourra se simplifier dans deux cas extrêmes, suivant que la diffusion moléculaire est négligeable devant la longueur L_{eq}, ou inversement. Pour quantifier le rapport entre ces contributions, nous introduisons ici le terme de diffusion relative D_r :

$$D_r = \frac{24.D.\alpha.L^2}{\mu_{\text{app}}.V.L^2_{\text{eq}}} = \frac{24.D.l^2}{\mu_{\text{app}}.V.L^2_{\text{eq}}.\alpha} \tag{4.22}$$

Nous proposons de poser ici quelques ordres de grandeur, avec les valeurs de diffusion moléculaire, de mobilité électroosmotique et de tension typiquement rencontrées au cours des séparations que nous avons effectuées. Considérons ici par exemple la molécule de glycine dérivée au NDA pour laquelle nous avons lors des séparations : $D \cong 0.5\ 10^{-5}$ cm²/s, $\mu \cong 2\ 10^{-4}$ cm²/v/s, $\alpha \cong 0.7$, et $V \cong 2000$ V (cf. paragraphe 4.4.3). Le calcul donne :

$$D_r \cong 2*10^{-4}.(\frac{L}{L_{eq}})^2 \qquad (4.23)$$

Cette expression nous servira par la suite à déterminer dans quel régime le microsystème séparatif fonctionne.

Premier cas : diffusion négligeable ou petite longueur de séparation, i.e. $D_r << 1$

Supposons que la diffusion relative soit très petite devant l'unité, c'est à dire que la diffusion moléculaire soit négligeable dans les processus physiques d'élargissement des pics, et/ou que les longueurs de séparation sont très petites.

Alors la dispersion temporelle du pic ne dépend pas du temps de migration :

$$\sigma_t = \frac{L.L_{eq}}{\sqrt{12}.\mu_{app}.V} \qquad (4.24)$$

Et le nombre de plateaux théorique devient [214] :

$$N = \frac{12.\alpha^2.L^2}{L_{eq}^2} = \frac{12.l^2}{L_{eq}^2} \qquad (4.25)$$

Ces calculs indiquent que, lorsque la diffusion est négligeable devant les autres paramètres d'élargissement des pics, le rapport l/L_{eq}, ainsi que la grandeur α doivent être maximisés. De plus, l'équation (4.25) présente un grand intérêt car elle permet de calibrer le rapport entre L_{eq} et l en fonction du nombre de plateaux théorique désiré. Par exemple, pour obtenir un nombre de plateaux supérieur à 20000 (ordre de grandeur obtenu typiquement en ECZ sur capillaire, que nous adopterons comme limite théorique basse), il faut respecter :

$$l > 40.L_{eq} \qquad (4.26)$$

Soit, si $L_{inj}=L_{det}$, une longueur d'injection et une longueur de détection toutes deux inférieures à 2% de la longueur utile du microcanal séparatif.

Notons que dans ce cas le paramètre typique de diffusion relative telle que proposée à l'équation (4.23) est égal à 0.3. Cette valeur doit seulement être considérée comme un ordre de grandeur. Elle indique en revanche clairement que, compte tenu de la contrainte en nombre de plateaux que nous nous somme imposée (N>20000), nous devrons impérativement respecter un rapport minimal de 50 entre les longueurs L_{eq} et l, et que dans ce cas la diffusion ne peut pas être négligeable devant les autres facteurs d'élargissement. Il en aurait été tout autrement si nous nous étions imposé une contrainte moins astreignante sur les nombres de plateaux théoriques.

Deuxième cas : diffusion prépondérante, grande longueur de séparation, i.e. $D_r>>1$

Dans le cas où le canal de séparation est long, et/ou que les coefficients de diffusion moléculaire des analytes sont élevés (i.e. masse molaire faible), alors la dispersion temporelle des analytes s'écrit :

$$\sigma_t = \frac{1}{v}.\sqrt{2.D.t_m} = \frac{\sqrt{2.D}}{l}.t_m^{3/2} \qquad (4.27)$$

Et le nombre de plateaux théorique devient [214] :

$$N = \frac{\mu_{app}.V.\alpha}{2.D} \qquad (4.28)$$

Cette relation montre que le nombre de plateaux est indépendant de la longueur totale du microcanal, à condition que celui-ci respecte la condition $D_r>>1$ [115].

Cette remarque est très importante car elle montre que lorsque la diffusion est prépondérante, le concepteur cherchera globalement à minimiser la longueur des microcanaux, afin de minimiser le temps expérimental. Enfin, la tension de séparation sera choisie la plus grande possible, tout en veillant à ne pas induire trop d'échauffements par effet Joule.

L'équation (4.26) montre aussi que le nombre de plateaux théorique ne sera pas le même pour toutes les molécules séparées, pour tout autre paramètre constant au cours de la

séparation. N étant proportionnel à la mobilité électrophorétique μ_{app}, il sera par suite inversement proportionnel au temps de migration t_m de chaque analyte.

4.2.7 Conclusion : récapitulatif et analyse globale

Nous proposons de conclure cette discussion sur la conception des puces électrophorétiques en proposant au lecteur un récapitulatif des relations des paragraphes précédents, sous la forme du tableau 4.2. La première colonne du tableau représente les différentes contraintes physiques imposées au microsystème séparatif, et la ligne supérieure correspond aux paramètres accessibles au concepteur, qui permettent d'ajuster ces contraintes. Il faut donc lire ce tableau ligne à ligne : par exemple, les écoulements hydrodynamiques imposent une section faible, mais des valeurs indifférentes sur α, sur L (à condition que S soit suffisamment faible) et sur V.

	Section	α	L	V
Temps de migration	Indifférent	Faible	Faible	Elevé
Nombre de plateaux (avec D_r>>1))	Indifférent *	Elevé	Indifférent**	Elevé
Hydrodynamique	Faible	Indifférent	Indifférent *	Indifférent
Effet Joule	Faible	Indifférent	Indifférent *	Faible
Sensibilité de détection	Elevée	Indifférent	Elevé ***	Indifférent

** A condition que les écoulements hydrodynamiques parasites et l'effet Joule soient pris en compte dans le calcul de la section.*

*** Mais « Elevé » si D_r<<1, cas rarement rencontré.*

**** Par l'intermédiaire de la longueur équivalente à la zone d'injection et la zone de détection (cf. équations (4.21) et (4.24))*

Tableau 4.2 : Contraintes sur la conception d'un microsystème séparatif par ECZ

Comme le lecteur peut le constater, chacun des aspects de la conception d'un microsystème séparatif résulte d'un nécessaire compromis entre les différentes contraintes physiques qui lui sont imposées. Ainsi, nous proposons de dégager une démarche de conception des microsystèmes séparatifs, que l'on peut présenter comme suit :

(1) Définition de la section des microcanaux. Cette section aura comme profondeur minimale le diamètre externe de la fibre d'excitation intégrée. Le concepteur choisira donc une largeur des canaux, entre un maximum imposé par l'effet Joule et les écoulements hydrodynamiques parasites, et un minimum imposé par les techniques de réalisation et la sensibilité de détection. Il est à noter que l'influence de la section sur les écoulements hydrodynamiques est plus importante que celle des longueurs des canaux. Le paramètre de section sera donc privilégié de ce point de vue.

(2) Définition du rapport α entre la longueur de séparation l et la longueur totale L. Dans la pratique, ce rapport est toujours choisi le plus proche possible de l'unité.

(3) Définition de la longueur totale L du microsystème séparatif. Ici un compromis doit être fait entre la sensibilité de détection et le temps expérimental, en faisant l'hypothèse que l'effet Joule et les écoulements hydrodynamiques ont déjà été pris en compte dans la définition de la section. Pour notre part, le choix de cette longueur a été fait en tenant compte des concentrations d'analytes attendues, qui fixe d'abord les ordres de grandeur de L_{inj} et L_{det}, puis celui de L, qui doit typiquement leur être au moins cent fois supérieure (cf. équation (4.26)). Le temps de séparation ne doit cependant pas être oublié, et un rapide calcul des temps attendus en fonction des valeurs typiques de mobilités électrophorétiques et des tensions appliquées permet d'ajuster le choix précédemment fait.

(4) Définition de la tension de séparation. Cette tension sera la plus grande possible, dans la limite des échauffements par effet Joule.

Un dernier point à prendre en compte concerne les aspects purement instrumentaux de la détection des molécules séparées. D'une part, l'expérimentateur devra veiller au rapport entre le signal de fluorescence des analytes et le signal de fond dû aux poussières et autres sources de lumière parasites. Cela signifie qu'il faudra veiller à s'abriter des sources de lumière parasites et exclure les microsystèmes dont la propreté ne sera pas suffisante au regard des concentrations attendues pour chaque analyte. D'autre part, il faudra veiller à régler la fréquence d'échantillonnage du signal en fonction de la vitesse de passage des pics

devant la cellule de détection. Nous nous sommes imposé de ce point de vue un minimum de vingt points par pic, afin de pouvoir les ajuster à des gaussiennes sans trop de difficulté.

Nous voulons attirer ici l'attention du lecteur sur le fait que ces conclusions ne sont que partielles, car des nombreuses interactions « secondaires » existent entre les différents paramètres de conception, qui n'ont pas été détaillées afin de ne pas alourdir le raisonnement. En outre, rappelons que certains phénomènes dispersifs n'ont pas été exprimés ici (adsorption, électrodispersion, etc..), qui auraient put modifier légèrement certains de nos choix.

L'électrophorèse capillaire de zone, et d'une manière générale la chimie analytique, sont des domaines où l'expérience est essentielle. C'est la raison pour laquelle nous avons été relativement prudents dans un premier temps sur la conception de ces premiers microsystèmes séparatifs, afin d'engranger de l'expérience dans ce domaine sans prendre trop de risques d'échec.

4.3 Détermination expérimentale du potentiel zêta de surfaces de PDMS oxydées

4.3.1 Intérêt de la mesure

Lors de l'expérience d'électrophorèse capillaire de zone, la charge de surface du matériau contenant le tampon de séparation est un paramètre physique essentiel à la compréhension de la séparation. En effet, comme défini au premier chapitre, la vitesse électroosmotique est proportionnelle au potentiel zêta de la surface, et elle doit être suffisamment élevée pour déplacer les espèces migrant à contre flux électroosmotique, lorsque les deux signes de charge électrique sont présents dans l'échantillon à analyser.

Dans le cas de la silice, le potentiel zêta est toujours négatif, et la détermination de ce potentiel a fait l'objet de nombreux travaux dans la littérature, dont nous avons déjà discuté au troisième chapitre.

Un certain nombre d'études montre que le PDMS natif possède une charge de surface stable, négative [156,168,220], et que l'expérience d'électrophorèse est réalisable avec des microsystèmes réalisés avec ce matériau [81,86,168]. Pour des raisons pratiques de collage et de remplissage des microcanaux, nous oxydons le PDMS, comme cela est abondamment proposé dans la littérature [156,158,159,169,170,174,187,221]. Or, si le potentiel zêta du PDMS natif est assez bien documenté aujourd'hui, ce n'est pas le cas lorsqu'il est oxydé, et un certain nombre de questions demandent à être résolues. Il nous a donc paru intéressant de réaliser une telle étude en prélude aux expériences de séparation, par mesure de courants d'écoulement en adaptant le banc de mesure proposé au troisième chapitre aux microcanaux PDMS.

Toutes les mesures présentées dans ce paragraphe ont été réalisées sur du PDMS oxydé, afin de se placer dans les conditions de surface des microsystèmes utilisés pour les séparations. Deux facteurs clefs ont particulièrement attiré notre attention :

(1) La stabilité temporelle du potentiel de surface du PDMS oxydé lorsque celui-ci est laissé au contact de l'air, ou lorsqu'il est rempli par le tampon de séparation,

(2) Le comportement du potentiel de surface en fonction du pH du tampon de séparation.

4.3.2 Stabilité temporelle du potentiel de surface du PDMS oxydé

S'il a été démontré que la charge de surface du PDMS natif est très stable dans le temps, cela n'est pas le cas lorsque ce matériau est oxydé, et celui-ci aura tendance à retourner à son état natif après un certain temps de relaxation. C'est cette dynamique que nous nous sommes attachés à mesurer ici.

La stabilité temporelle de la charge de surface du PDMS oxydé est un facteur essentiel à la compréhension des expériences d'ECZ réalisées avec ce matériau. En effet, une mesure de ζ en fonction du temps passé en présence d'air après oxydation, permet par exemple d'anticiper d'éventuelles variations des mobilités observées pour chaque analyte. Cette mesure permet aussi de connaître le temps pendant lequel l'expérimentateur peut coller les microcanaux sans induire de problème de remplissage ou d'électroosmose. La manière de conduire les expérimentations ne sera évidemment pas la même si ce temps est de l'ordre de la seconde ou de l'heure. On nommera ici t_{air} le temps pendant lequel le PDMS est laissé au contact de l'air entre le traitement plasma et le remplissage par un tampon.

Pour se faire, nous avons suivi la procédure expérimentale suivante :

(1) Fabrication d'un canal de section rectangulaire (30 µm*70 µm), de forme droite, en suivant la procédure de fabrication exposée au premier chapitre.

(2) Oxydation et collage du microcanal,

(3) Remplissage par le tampon de séparation au bout d'un temps t_{air} après l'arrêt du plasma O_2 . Installation du microcanal dans le banc de mesure de potentiel ζ par courant d'écoulement,

(4) Stabilisation des courants dans le microsystème,

(5) Mesure des courants d'écoulements. Chaque microsystème voit sa charge de surface mesurée à trois reprises, afin de déceler d'éventuelles erreurs de mesure.

La valeur minimale accessible de t_{air} est égale à 35 secondes, ce qui correspond au temps nécessaire pour remettre la chambre du bâti plasma à pression atmosphérique et pour manipuler les microcanaux après l'oxydation. Les résultats obtenus sont proposés à la figure 4.5 :

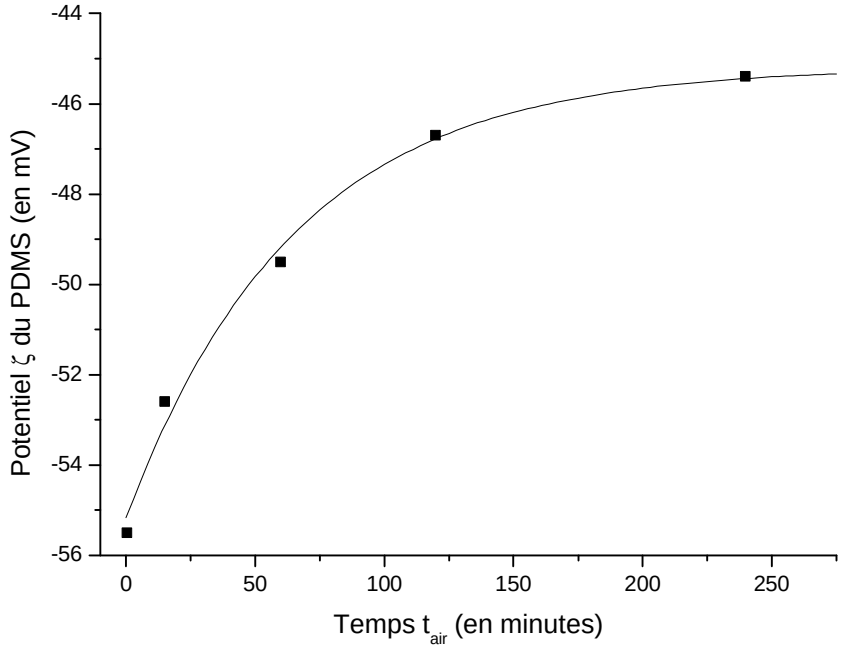


Figure 4.5 : Mesure du potentiel z du PDMS en fonction du temps t_{air} entre le traitement par un plasma O_2 et le remplissage par le tampon de séparation.

Nous avons ajusté ces points expérimentaux par une courbe de la forme :

$$\zeta(t_{air}) = \zeta_{natif} + \Delta\zeta.\exp(-\frac{t_{air}}{\tau}) \qquad (4.29)$$

Où ζ_{natif} est le potentiel du PDMS oxydé au bout d'un temps de relaxation infini, qui est supposé être celui du PDMS natif, $\Delta\zeta$ est la variation de charge de surface à l'instant t_{air} nul, et τ le temps caractéristique de cette relaxation. Les valeurs obtenues sont : ζ_{natif} = -45.2 mV, $\Delta\zeta$ = 10.0 mV, et τ= 65 min.

Ces valeurs montrent que le PDMS oxydé est relativement stable à l'air, et que l'expérimentateur peut coller et remplir les microcanaux sans se précipiter. En effet, nous

avons par exemple réussi à remplir des canaux uniquement grâce aux forces capillaires quatre heures après notre traitement plasma ; contrairement à ce qui est parfois indiqué dans la littérature, comme par exemple par M^{c} Donald qui indique un retour à l'hydrophobicité en un temps de l'ordre de 30 minutes [169].

Notons que le gain en potentiel zêta (donc en vitesse électroosmotique) que nous observons entre le PDMS natif et le PDMS oxydé, est de l'ordre de 20%, ce qui n'est pas très élevé et semble plus faible que les valeurs proposées dans la littérature [221].

Le même type d'expérience a été réalisé en mesurant le potentiel ζ de microcanaux de PDMS remplis de tampon immédiatement après le traitement plasma. On nomme t_{tampon} le temps entre le remplissage par le tampon et la mesure du potentiel ζ par courant d'écoulement. Les valeurs de ζ mesurées à t_{tampon}=0 et à t_{tampon}=2 heures sont respectivement égales à -54.0 mV et -49.9 mV. La relaxation de la charge de surface du PDMS oxydé est donc plus lente au contact du tampon qu'au contact de l'air, mais la surface ne peut toutefois pas être considérée comme stable sur une gamme de temps de l'ordre de l'heure, contrairement à ce qu'affirme par exemple Ren [174]. Nous devrons donc en tenir compte dans l'interprétation des résultats de séparation.

4.3.3 Influence du pH du tampon sur le potentiel z du PDMS oxydé

Lors de l'expérience d'ECZ dans des tubes capillaires en silice, le pH du tampon est une des principales variables d'ajustement du potentiel de surface, et donc de la mobilité électroosmotique du tampon [105]. Dans le cas de surfaces de silice, le potentiel zêta est toujours négatif et croissant en valeur absolue avec le pH. Il en est de même pour les surfaces de PDMS natif, avec des valeurs de charge de surface toujours plus faibles que celles de la silice [165,168].

Or, il a été démontré que la surface du PDMS oxydé est un intermédiaire chimique entre la surface de PDMS natif et la surface de silice [164,174,222]. Il est donc raisonnable de penser que la courbe de ζ en fonction du pH pour le PDMS oxydé sera comprise entre celle du PDMS natif et celle du verre, avec notamment un potentiel ζ toujours négatif et croissant en valeur absolue avec le pH. La figure 4.6 permet de vérifier cette hypothèse. La procédure

expérimentale est identique à celle du paragraphe chapitre précédent, et les canaux ont été remplis le plus rapidement possible après oxydation par une solution de KCL dissous à 75 mmol/l et dont le pH a été ajusté par des dilutions de HCl ou de NaOH. Cette concentration de KCL a été choisie relativement élevée pour placer l'électrolyte dans des conditions ioniques proches de celle du tampon de séparation.

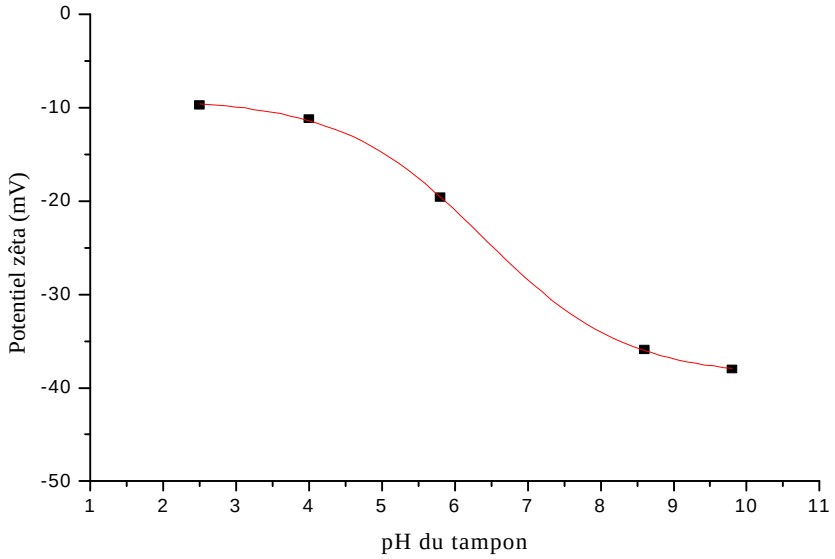


Figure 4.6 : Mesure de z du PDMS oxydé en fonction du pH du tampon (KCL à 75 mmol/l + ajustement par HCl ou NaOH)

Ainsi, puisque le PDMS oxydé a un comportement globalement identique à celui de la silice, nous avons choisi de travailler dans un premier temps avec les tampons de séparation de nos collègues chimistes, afin de nous placer dans les mêmes conditions expérimentales de ce point de vue. Ainsi, lorsque les analytes sont simples à séparer et tous cationiques, nous travaillerons à pH bas pour minimiser l'adsorption aux parois et μ_{eo} ; et lorsque certains analytes seront anioniques, nous nous efforcerons de maximiser μ_{eo} en augmentant le pH du tampon séparatif.

4.4 Mise en oeuvre du microsystème séparatif réalisé

4.4.1 Dessin du microsystème séparatif

Après une première génération de microsystèmes séparatifs qui n'a pas donné satisfaction à cause d'écoulements hydrodynamiques trop importants, une deuxième série d'échantillons a été réalisée. Ces microsystèmes séparatifs tiennent compte des conclusions du paragraphe 4.3.

Leurs dimensions sont les suivantes (figure 4.7) :

(1) Section rectangulaire constante, de profondeur 70 µm et de largeur 30 µm,

(2) Longueur d'injection égale à 100 µm

(3) Longueur de détection variable : 30 µm, 150 µm ou 250 µm.

(4) Longueur de séparation l=3,0 cm. Cette longueur est relativement conservatrice compte-tenu de la relation (4.26), puisque ici $l=110*L_{eq}$ (lorsque L_{det}=250 µm). Dans ce cas, la diffusion relative D_r est typiquement égale à 2.5, ce qui nous assure une diffusion moléculaire prépondérante quelle que soit la longueur de détection utilisée.

(5) Longueur du microcanal de séparation L égale à 4,5 cm.

(6) Rapport de longueur α égal à 66%.

(7) Tension de séparation : tension maximale accessible, soit 2000 V.

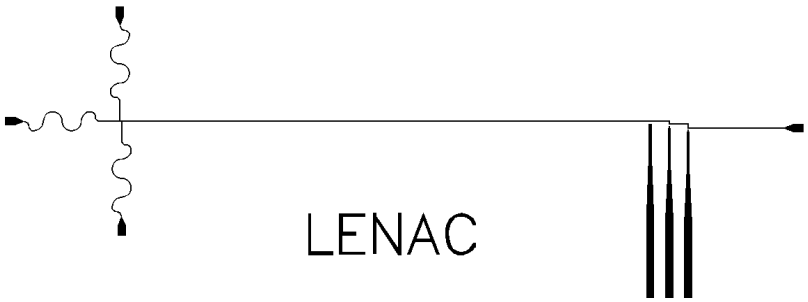


Figure 4.7 : Dessin du microsystème séparatif réalisé

4.4.2 Réalisation du banc expérimental

Un banc expérimental a été réalisé au LENAC dans le but de tester les microsystèmes séparatifs fabriqués. Nous nous sommes imposé ici de réaliser le maximum d'éléments du banc expérimental en interne au laboratoire afin d'être le plus souple et réactif possible. Pour décrire le travail réalisé, nous pouvons le décomposer en trois grands thèmes :

Fabrication des microsystèmes PDMS

Cette fabrication suit le principe général de moulage décrit au premier chapitre. Les moules de silicium sont dessinés au LENAC sur le logiciel de microélectronique CADENCE. La fabrication du masque de lithographie est confiée à une entreprise extérieure car nous n'avons pas les moyens techniques de le faire par nous même. La lithographie est réalisée au CIME, salle blanche de Grenoble avec laquelle nous avons un contrat nous permettant d'y accéder régulièrement. La gravure DRIE du moule de silicium est réalisée au même endroit.

Ces wafers sont ensuite silanisés au LENAC, et prêts à l'emploi. Le mélange du PDMS suit la recette préconisée par le fabricant, à savoir un rapport en masse de 1 pour 10 entre le durcisseur et le liquide mère. Le durcissement dure une heure à 150°C. L'oxydation des échantillons de PDMS est exécutée dans un bâti plasma O_2 pendant 2 minutes et trente secondes, sous une pression d'O_2 égale à 200 mTorr et une puissance de 50W. Juste après oxydation, le PDMS est immédiatement collé et rempli de tampon par capillarité. Les puces microfluidiques sont prêtes à l'emploi.

Partie électronique

Les commandes des tensions d'injection et de séparation se font par le biais d'une carte électronique réalisée au laboratoire, commandée par un PC via port USB. Cette carte se décompose en deux parties distinctes, une partie de commande et une partie de puissance sur laquelle sont placés les modules haute tension et des relais.

Le signal de fluorescence est recueilli par un photomultiplicateur. La tension de sortie du photomultiplicateur sera posée comme unité arbitraire de fluorescence, et stockée via une carte d'acquisition.

Partie logicielle

Le logiciel de commande des modules haute tension a été réalisé au laboratoire. Ce développement en interne nous a permis d'être très réactifs quant à la réponse aux besoins expérimentaux.

Un programme de traitement automatique des données a été conçu sous MATLAB, qui permet d'estimer rapidement les pics des électrophérogrammes par des gaussiennes et d'en tirer les informations pertinentes : temps de migration, nombre de plateaux, etc…

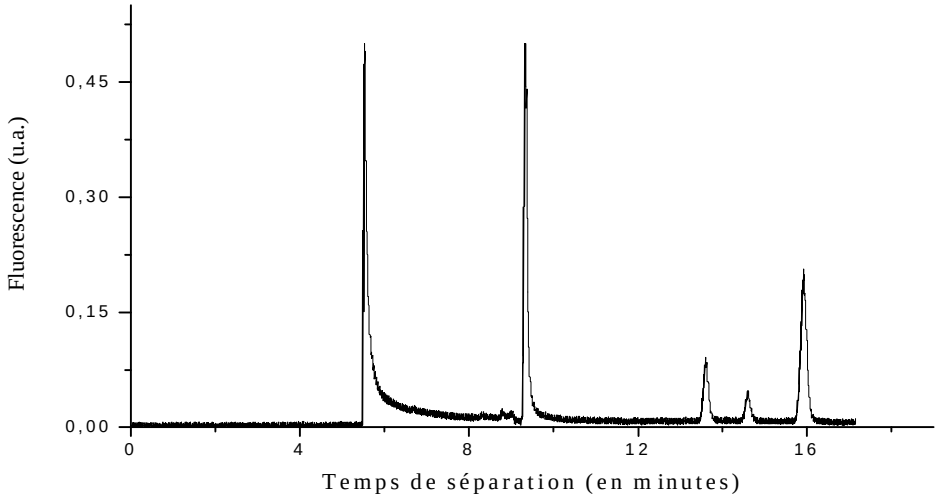
4.4.3 Séparation de cinq acides aminés

Les premières séparations électrophorétiques que nous avons mises en œuvre ont été effectuées sur cinq acides aminés dérivés au NDA (Naphtalène-2.3-dicarboxyaldehyde) : arginine (Arg), glycine (Gly), acide α-aminoadipique (AAd), acide glutamique (Glu), et acide aspartique (Asp).

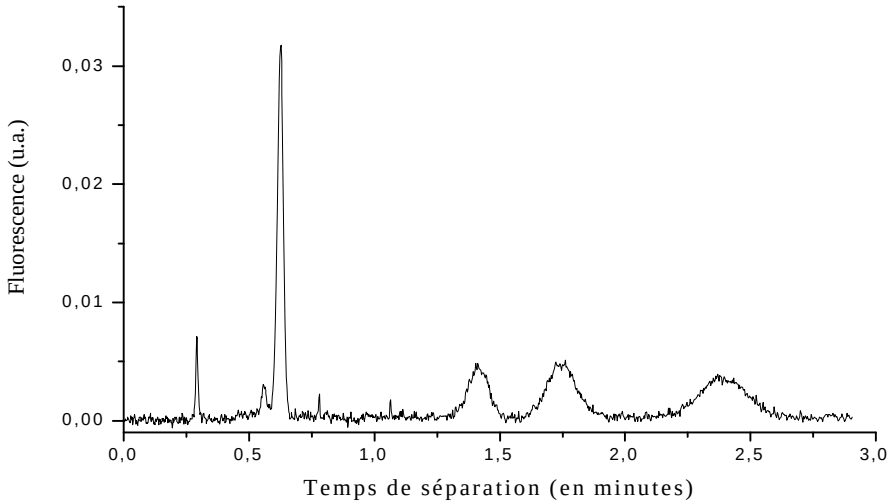
Ce choix est le fruit de notre collaboration avec Mr Denoroy (DR CNRS, INSERM U512), qui s'intéresse aux mécanismes biochimiques des fonctions neuronales et de certaines régulations physiologiques. Quatre molécules étudiées ici sont impliquées dans la neurotransmission, d'où l'intérêt de leur séparation, et la cinquième, l'AAd, sert de standard interne pour l'analyse des séparations. Nous avons donc bénéficié de son expérience, et notamment des processus de dérivation qu'il a mis au point au cours de ses travaux. Le NDA a un spectre d'absorbance dans les longueurs d'onde du bleu, très adapté à notre LASER, et ré-émet le signal de fluorescence dans le vert. Des filtres d'excitation et de collecte ont été adaptés sur le montage en fonction de ces caractéristiques optiques.

Afin d'offrir une base de comparaison aux séparations effectuées avec nos systèmes microfluidiques, ces molécules ont été tout d'abord séparées dans un système commercial d'électrophorèse sur tube capillaire. Le résultat obtenu est présenté en figure 4.8.a). Les paramètres géométriques de l'expérience sont les suivants : diamètre du capillaire 75 µm, longueur totale 50 cm, longueur de séparation 38 cm. La tension de séparation est égale à 38 kV et un courant de 38 µA est débité dans le système. L'échantillon est injecté pendant 5

secondes à une pression de 0.1 Psi, soit un volume injecté égal à 1.07 nl pour le capillaire considéré.



a) Par ECZ sur tube capillaire



b) Par ECZ sur puce microfluidique

Figure 4.8 : Electrophorégrammes d'une séparation de cinq composés peptidiques. Les pics de séparation représentent dans l'ordre d'arrivée : arginine-NDA (Arg), glycine-NDA (Gly), acide a-aminoapidique-NDA (AAd), acide glutamique (Glu), et acide aspartique (Asp).

Les concentrations des molécules sont égales à 9 µmol/l pour l'arginine et la glycine, 9.3 µmol/l pour l'acide α-aminoadipique, 11.3 µmol/l pour l'acide glutamique, et 65 µmol/l pour l'acide aspartique. Les nombres de molécules injectées sont donc égaux à 5.8 10^9 pour

l'arginine et la glycine, 6.0 10^9 pour l'acide α-aminoapidique, 7.3 10^9 pour l'acide glutamique, et 41.9 10^9 pour l'acide aspartique.

La même séparation a été réalisée sur notre puce microfluidique, et le résultat est présenté en figure 4.8.b). Dans notre cas, le volume d'injection est égal à 0.21 nL. Les analytes étant tous dilués à environ 30µmol/l, cela correspond à environ 6.0 10^9 molécules de chaque espèce par injection. Les tensions d'injection et de séparation sont respectivement égales à 1000 V et 2000 V, pour des courants de 30 µA et 25 µA.

L'électrophérogramme obtenu démontre une séparation correcte des cinq analytes, cependant nettement moins efficace qu'avec le tube capillaire en terme de finesse de pics de séparation. Cependant, notons que les pics de séparation sont très symétriques, ce qui est le signe d'une faible adsorption aux parois, ainsi que d'une faible électrodispersion. Notons enfin la grande rapidité de notre séparation, qui est effectuée en moins de trois minutes sous 2 kV contre 16 minutes sous 15 kV.

Cette séparation a été reproduite sur plusieurs microsystèmes séparatifs, et donne des résultats reproductibles. Ces premières expériences permettent donc de poser quelques ordres de grandeur sur les séparations effectuées : temps de migration, vitesses de migration, mobilités électrophorétiques, nombre de plateaux et surface du pic de chaque analyte séparé.

Analyte	Arg-NDA	Gly-NDA	Aad-NDA	Glu-NDA	Asp-NDA
Temps de migration (s)	16.5	36.5	89.3	103.8	142.5
Vitesse de migration (cm/s)	0.181	0.082	0.036	0.029	0.021
Mobilité apparente(*10^{-4} cm²/V/s)	4.1	1.8	0.81	0.65	0.48
Nombre de plateaux	4010	2750	1240	927	694
Surface de la courbe (*10^{-3} u.a.)	4.5	55	25	38	44

Tableau 4.3 : Caractéristiques des pics de séparation des cinq acides aminés

Le lecteur remarquera, à la lecture de ce tableau, des nombres de plateaux théoriques plus faibles que ceux que nous nous étions fixés comme limite théorique au paragraphe 4.2. De plus ces valeurs ne correspondent pas aux prévisions théoriques de la formule (4.19). En effet, dans le cas du pic de glycine, par exemple, cette formule conduit à une valeur théorique du nombre de plateaux égale à 24000, nettement supérieure à la valeur expérimentale. Ceci s'explique certainement par le fait que nous n'avons pas tenu compte des écoulements hydrodynamiques dans le calcul exact de la dispersion de l'échantillon. Or, il est raisonnable de penser que ces écoulements, qui ne posent plus de problèmes ici pour la séparation en tant que telle, sont certainement une source d'élargissement des pics non négligeable. Cependant, les résultats obtenus ici sont tout à fait comparables à ceux obtenus par d'autres équipes dans des configurations moins contraignantes du point de vue de ces écoulements [86].

Notons enfin l'efficacité de notre détection de fluorescence par fibre optique d'excitation intégrée, comparable aux résultats de la littérature qui présentent des détections optiques intégrées [87,88,90,172]. De nombreuses améliorations sont prévues pour augmenter cette sensibilité de détection, avec dans un premier temps l'emploi d'un LASER d'excitation plus puissant. Des expériences préliminaires avec un autre LASER que celui du LENAC (de puissance 20 mW contre 3 mW) ont donné d'excellents résultats qui vont dans ce sens. Une autre voie d'amélioration consisterait à employer des fibres optiques plus grandes pour l'excitation, en diminuant la largeur des microcanaux pour compenser cette augmentation de profondeur. On pourrait par exemple utiliser des fibres de diamètre de 100 µm de cœur et de diamètre externe 130 µm, ce qui nous assurerait un meilleur couplage optique entre le LASER et le point de détection. Cela n'est toutefois pas sans difficultés technologiques de réalisation du moule de silicium, ni sans risque de le casser lors du démoulage. De nouvelles matrices de silicium sont prévues pour tester ceci dans un futur proche.

4.4.4 Séparations multiples d'arginine et de glycine

Un des facteurs clefs sur lequel nous avons focalisé notre attention concerne la stabilité temporelle du système microfluidique séparatif. La question posée ici est de savoir combien de séparations successives le système est capable d'effectuer avant qu'il ne devienne instable. Cette question a été étudiée par Heo [85], auquel nous avons déjà fait référence au

paragraphe 4.2.5, lors de l'étude des écoulements hydrodynamiques parasites. Il a notamment montré la grande influence de la nature des godets d'entrée/sortie, dont nous avons tenu compte en employant des embouts plastiques de micro pipettes.

Cette stabilité temporelle a été testée en effectuant des séparations séquentielles d'arginine et de glycine. Les paramètres de ces séparations sont les suivants :

(1) Injection et séparation « flottantes » : les godets de séparation et d'injection sont flottants lors des étapes d'injection et de séparation, respectivement. Ce choix a été effectué pour ne pas vider les canaux d'injection au cours de la séparation, et pour pouvoir ainsi ré-injecter rapidement les molécules entre deux cycles. Ceci se fait au détriment de la qualité de la ligne de base, car des molécules passent constamment des canaux d'injection au canal de séparation par diffusion au cours de l'expérience. Pour limiter ce problème, nous avons ajusté les niveaux de liquide dans les godets d'entrées/sorties afin que les écoulements hydrodynamiques compensent ce problème, et l'expérience nous a montré que ce choix était judicieux (cf. figure 4.9).

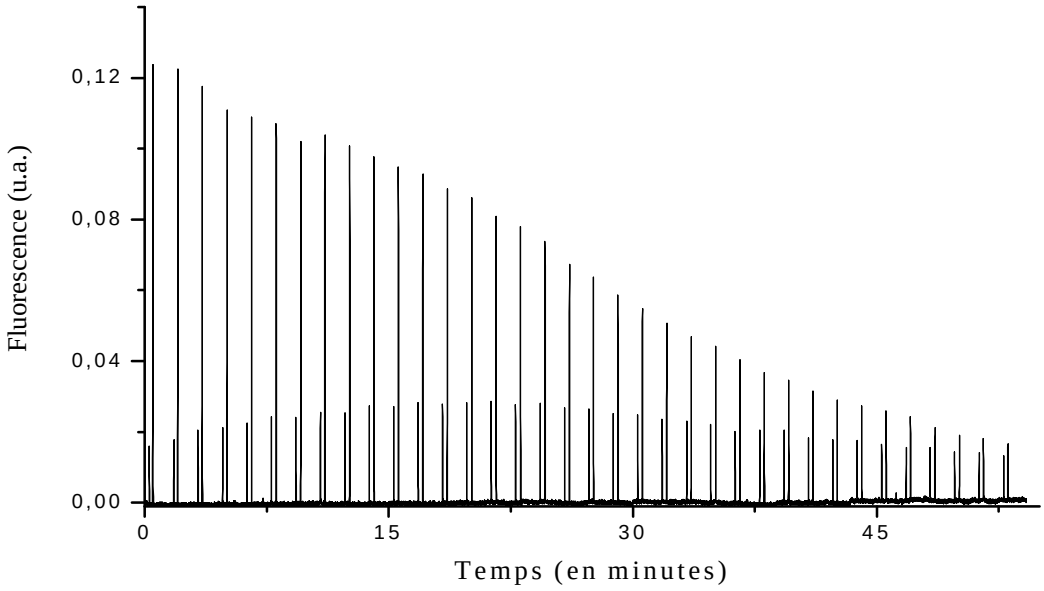
(2) Injection : 10 s à 1000 V,

(3) Séparation : 80 s à 200 V, soit un cycle complet en une minute et trente secondes.

Le résultat obtenu est présenté à la figure 4.9. La figure 4.9.a) représente l'électrophérogramme de 35 cycles d'injection/séparation successifs, et la figure 4.9.b) est un détail sur les trois premiers cycles. Ces électrophérogrammes démontrent une très bonne stabilité du système, nettement supérieure à celle obtenue par Heo qui se limite à 10 cycles. On notera toutefois une dérive de la ligne de base à partir du $30^{ème}$ cycle environ, ainsi qu'une forte décroissance du pic de glycine au cours du temps, tandis que le pic d'arginine est de hauteur relativement stable.

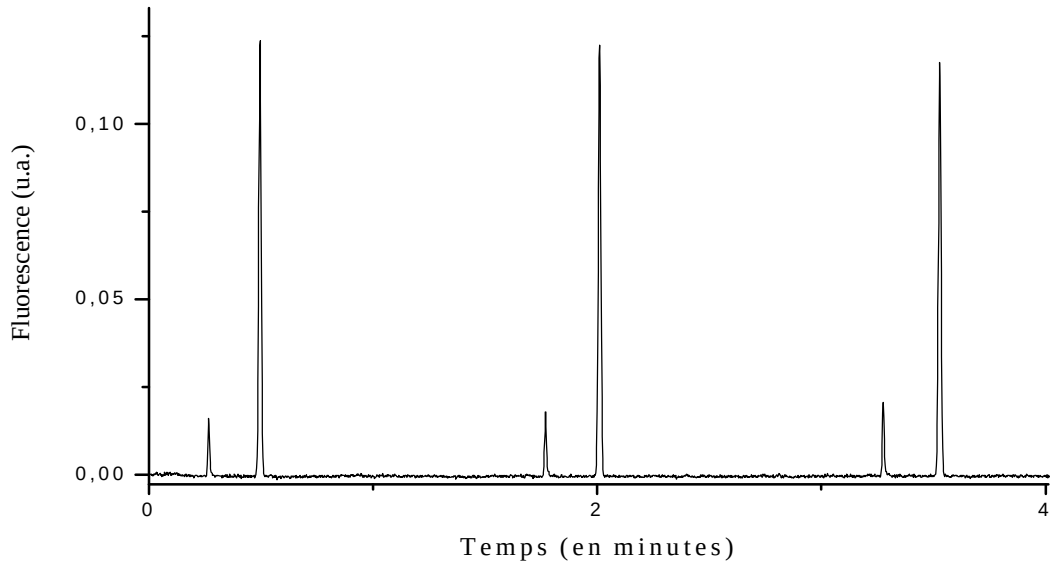
Ce problème de stabilité des hauteurs de pics n'a pas été sans nous poser question, car ce point est essentiel en terme de quantification des analytes. Pour le comprendre, des expériences similaires ont été effectuées par Mr Denoroy sur des capillaires de silices et des appareils d'ECZ commerciaux. Il est apparu très nettement au cours de ces expériences que ces instabilités sont d'origine chimique car elle dépendent fortement de la concentration d'arginine et de glycine avant dérivation au NDA. Lorsque ces molécules sont en faible concentration, les électrophérogrammes sont stables, alors que les pics décroissent de la

même manière que les nôtres lorsque la concentration devient similaire à celle de nos produits. Ce problème est donc très certainement dû à la stabilité de la réaction de dérivation, et ne semble pas provenir de l'utilisation du PDMS en lui-même. Il sera donc normalement assez facilement réglé dans un proche avenir, quand notre système de détection sera amélioré, et donc que les concentrations de produit seront plus faibles.



a)

Electrophérogramme des 35 cycles injection/séparation



b) Détail des trois premiers cycles

Figure 4.9 : Stabilité temporelle du microsystème séparatif

La figure 4.10 présente une étude plus détaillée de ces séparations, en considérant le temps d'arrivée des pics d'arginine et de glycine au cours des cycles. Cette figure montre clairement une stabilisation de ces temps au bout du quinzième cycle. Les légères fluctuations des premiers cycles sont certainement dues à l'adsorption des analytes sur les parois, qui modifient leur potentiel ζ, mais aussi aux variations temporelles du potentiel de surface du PDMS oxydé, que nous avons déjà observées au paragraphe 4.3.2.

Notons ici qu'il est possible de déterminer un encadrement du potentiel zêta du PDMS grâce à ces valeurs de temps de migration. En effet, l'arginine est cationique et la glycine anionique. Ainsi, la vitesse électroosmotique du tampon est encadrée par les vitesses apparentes de ces deux molécules. Il est donc possible d'encadrer le potentiel zêta du PDMS grâce à ces vitesses et la relation d'Helmoltz-Smoluchowski, soit entre -30 mV et -60 mV. Ce résultat est cohérent avec ceux obtenus lors des expériences de courant d'écoulement du paragraphe 4.3.

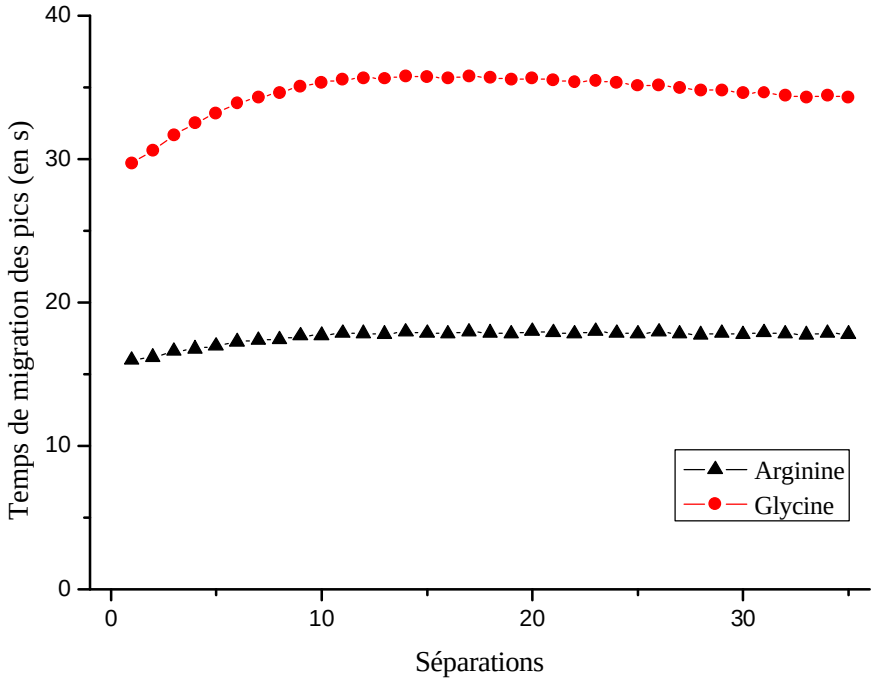
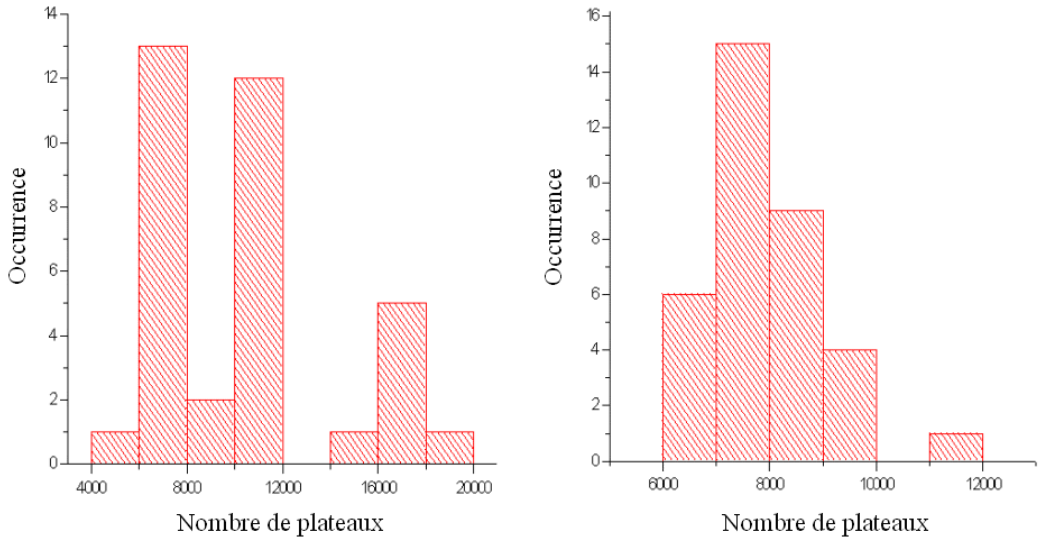


Figure 4.10 : Temps d'arrivée des pics

Les nombres de plateaux des pics d'arginine et de glycine sont cependant nettement plus fluctuants que leurs temps de migration, puisque l'on calcule respectivement une

moyenne de 10650 et 7920 et une dispersion de 3970 et 1110 pour ces deux grandeurs. La figure 4.11 représente des histogrammes statistiques de ces nombres de plateaux.



a) Arginine *b) Glycine*

Figure 4.11 : Statistique des nombres de plateaux des deux pics séparés

Ces résultats ont démontré que le microsystème séparatif est stable dans le temps, et qu'il permet de réaliser plusieurs dizaines de séparations successives. Outre son aspect qualitatif, cette conclusion est d'un grand intérêt car elle permet d'envisager à court terme de réaliser des voies de stockage des analytes séparés en vue de leur collecte et/ou d'un traitement individuel de chacun deux. Ainsi une nouvelle fonctionnalité originale serait intégrée au microsystème, qui comporterait alors une fonction de quantification et de purification des mélanges considérés.

4.4.5 Influence de la tension appliquée sur les paramètres de séparation

La dernière série d'expériences que nous présenterons ici concerne la vérification des lois proposées au paragraphe 2.2, et notamment l'influence de la tension de séparation appliquée au microsystème séparatif. Pour cela, nous nous somme intéressés à deux paramètres de pics de glycine : le temps de migration et le nombre de plateaux.

Concernant le temps de migration, la formule (4.8) indiquait que celui-ci est proportionnel à la tension appliquée, ce qui est vérifié à la figure 4.12 :

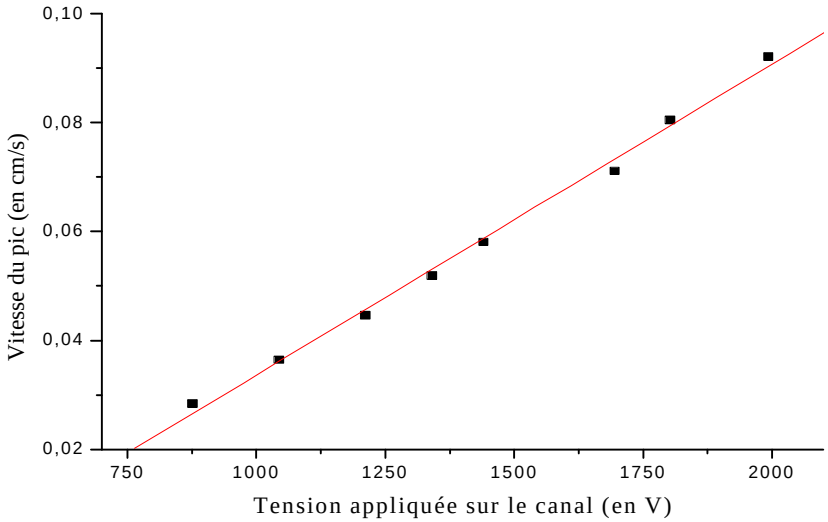


Figure 4.12 : Vitesse du pic de glycine en fonction de la tension de séparation

Un ajustement de ces points expérimentaux par une droite des moindres carrés permet de déterminer la mobilité apparente de cette molécule, égale ici 1.7 10^{-4} cm²/V/s, valeur très proche de celle déterminée au paragraphe 4.4.3.

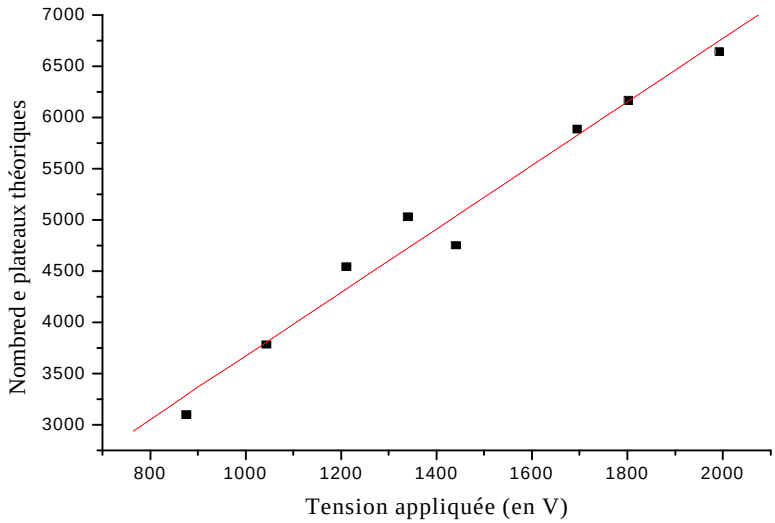


Figure 4.13 : Nombre de plateaux théorique du pic de glycine en fonction de la tension de séparation

La relation expérimentale entre le nombre de plateaux du pic de glycine et la tension appliquée est présentée en figure 4.13. Cette relation est bien linéaire, aux erreurs de mesure près, comme prévu par la relation (4.26).

Connaissant la mobilité électrophorétique de la molécule et le rapport de longueurs α, il est possible de déduire le coefficient de diffusion effectif de cette molécule à partir de la pente entre N et V. Dans ce cas, nous trouvons $D^*=1.82\ 10^{-5}$ cm²/s. Or, compte-tenu de la masse molaire du couple glycine-NDA (M=260 g/mol), le coefficient de diffusion théorique attendu est de l'ordre de $0.5\ 10^{-5}$ cm²/s à 25°C, d'après l'équation d'Einstein-Stokes.

Cette différence peut certainement s'expliquer par les écoulements hydrodynamiques parasites qui induisent des dispersions supplémentaires, mais aussi par l'échauffement du fluide, car le coefficient de diffusion d'une molécule croît avec la température. La réduction de la section serait un moyen efficace de lutter conjointement contre ces élargissements supplémentaires à la seule diffusion moléculaire. Pour cela, il faudrait diminuer la largeur des microcanaux, dans les limites permises par notre méthode de fabrication.

4.5 Conclusion

Des systèmes microfluidiques ont été réalisés en utilisant les techniques de moulage de polymères sur silicium. Ces microsystèmes séparatifs utilisent une méthode de détection de fluorescence par fibres optiques intégrées, qui a donné de bons résultats expérimentaux en terme de sensibilité de détection.

Les charges de surface du PDMS oxydé au plasma O_2 ont été mesurées en fonction de leurs temps de relaxation dans l'air et dans l'eau, et en fonction du pH. Concernant les temps de relaxation, des conclusions contradictoires avec la littérature ont été obtenues ; probablement dues aux différences de conditions expérimentales du plasma rencontrées d'une équipe à l'autre.

Une étude théorique des relations entre les grandeurs géométriques du système séparatif et les qualités de séparations attendues a été proposée. Les résultats expérimentaux valident certaines conclusions obtenues, mais une dispersion expérimentale supérieure à la dispersion théorique attendue a été observée. Cet écart provient très probablement des contributions hydrodynamiques parasites encore présentes d'une manière non négligeable dans les écoulements nets des molécules. Une solution pour s'en affranchir et vérifier cette hypothèse consisterait à réduire drastiquement la largeur des microcanaux, dans la limite des techniques de fabrication des systèmes microfluidiques.

Ces premiers résultats encourageants offrent de nombreuses perspectives de travail. Outre la réduction des largeurs des microcanaux, l'augmentation du diamètre des fibres, l'utilisation d'un LASER d'excitation plus puissant, il est aussi envisagé à court terme d'inclure sur la puce microfluidique des fonctions de mélange (pour la dérivation), de stockage spécifique, et la séparation d'acides aminés issus de prélèvements biologiques dans le cerveau du rat. A plus long terme, des collaborations et des projets sont en cours pour la réalisation de systèmes microfluidiques sur d'autres supports polymères (COC, PMMA), et il est prévu d'inclure une fonction de préconcentration dans la puce. Enfin, des séparations électrochromatographiques (pour les analytes neutres) sont envisagées.

Conclusion générale

Le sujet de cette thèse concerne l'étude de systèmes microfluidiques et l'application des résultats obtenus à la séparation de molécules biologiques par électrophorèse sur puce polymère.

Dans un premier chapitre, nous proposons un état de l'art sur les principales fonctionnalités rencontrées en microfluidique aujourd'hui, ainsi que sur les techniques et matériaux de réalisation de ces microsystèmes. Ce état de l'art démontre au lecteur la grande diversité rencontrée dans cette discipline jeune et en plein essor. La technique de séparation par électrophorèse capillaire de zone sur puce microfluidique est présentée, et l'intérêt de la miniaturisation de cette expérience est discuté.

L'expérience nous a montré que les écoulements hydrodynamiques dans des microsystèmes séparatifs par électrophorèse capillaire, bien qu'ils ne soient pas prépondérants à priori, peuvent parasiter les séparations dès que certaines limites de dimension sont atteintes. Ainsi, leur compréhension et leur quantification est fondamentale. C'est l'objet du deuxième chapitre, dans lequel nous démontrons expérimentalement la validité des équations de Navier-Stokes aux échelles décamicrométriques ainsi que les propriétés invariablement laminaires des écoulements à ces dimensions. Ces conclusions ont été exploitées pour la conception des microsystèmes séparatifs. Un bilan des résultats de la littérature montre leurs contradictions et permet de recadrer notre travail dans un contexte chronologique. Un outil de résolution des équations de Navier-Stokes pour toutes les formes de sections de microcanaux est proposé, ainsi que des abaques originales de résistances microfluidiques des sections les plus couramment rencontrées en microfluidique.

L'électrophorèse capillaire de zone exploite, pour déplacer les molécules que l'on cherche à séparer, le phénomène d'électroosmose, défini au premier chapitre. Or, pour comprendre et anticiper les écoulements électroosmotiques dans les systèmes réalisés, la connaissance des charges de surface du système est primordiale. Pour cela, un banc de mesure original est proposé au troisième chapitre, qui permet de mesurer ces charges quel que soit le système microfluidique considéré. Ce banc repose sur le principe des courants d'écoulement. Il est validé dans un premier temps sur des surfaces de silice, très documentées dans la littérature, puis il est exploité dans un deuxième temps par nos collègues chimistes. Les

résultats expérimentaux obtenus sont très encourageants car ils concordent avec d'autres méthodes de mesure, plus longues et plus complexes à mettre en œuvre que celle proposée ici.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous décrivons la structure des microsystèmes réalisés. La détection par fibres optiques intégrées a des implications théoriques et techniques, dont nous avons tenu compte lors de la conception de ces systèmes séparatifs, notamment à la lumière des résultats obtenus dans le deuxième chapitre. Une caractérisation des charges de surface du PDMS oxydé, très peu documentées dans la littérature, est proposée en utilisant la méthode des courants d'écoulement développée au troisième chapitre. Enfin, des séparations d'acides aminés ont été obtenues, démontrant la qualité des microsystèmes réalisés. Une très bonne stabilité temporelle a été observée, et des gains de temps significatifs sont démontrés sur des séparations types. Les équations proposées au début de ce chapitre sur les dispersions de pics sont vérifiées, et une analyse de ces résultats est proposée avec notamment une discussion sur la contribution relative de la diffusion moléculaire devant les autres sources d'élargissement.

Les premiers résultats obtenus sont très encourageants, et ils permettent d'envisager à moyen terme des dispositifs d'analyse chimique et biologique complets et portables. Un progrès certain dans les techniques séparatives est donc envisageable, et pour cela des perspectives au travail de cette thèse sont déjà prévues. Il s'agirait par exemple d'inclure progressivement dans la puce des structures de mélange (pour la dérivation des molécules biologiques), de détection (avec notamment l'intégration du capteur BDJ développé au LENAC), des voies de stockage des molécules séparées, etc..

Références bibliographiques

Références bibliographiques

1. J.G.Martner. Recent advances in ink jet technology. Ultrasonics-International-83.-Conference-Proceedings. 1983. Butterworths, Sevenoaks, UK.

2. R.F.Ismagilov, A.D.Stroock, P.J.A.Kenis, and G.Whitesides, "Experimental and theoretical scaling laws for transverse diffusive broadening in two-phase laminar flows in microchannels," *Applied Physics Letters* **76**, 2376-2378 (2000).

3. P.Tabeling, *Introduction à la microfluidique*, (Belin, 2003).

4. C.N.Baroud, F.Okkels, L.Ménétrier, and P.Tabeling, "Reaction-diffusion dynamics : confrontation between theory and experiment in a microfludic reactor," *Physical Review E* **67**, 060104-1-060104-4 (2003).

5. D.Gobby, P.Angeli, and A.Gavriilidis, "Mixing characteristics of T-type microfluidic mixers," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **11**, 126-132 (2001).

6. M.Koch, D.Chatelain, A.Evans, and A.Brunnschweiler, "Two simple micromixers based on silicon," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **8**, 123-126 (1998).

7. J.H.Tsai and L.Lin, "Active microfluidic mixer and gas bubble filter driven by thermal bubble micropump," *Sensors and Actuators A* **97-98**, 665-671 (2002).

8. J.B.Knight, A.Vishwanath, J.P.Brody, and R.H.Austin, "Hydrodynamic focusing on a silicon chip : mixing nanoliters in microseconds," *Physical Review Letters* **80**, 3863-3866 (1998).

9. Y.K.Lee, J.Deval, and P.Tabeling. Chaotic mixing in electrokinetically and pressure driven micro flows. [14th IEEE Workshop on Micro Electro Mechanical Systems], 483-486. 2001. Interlaken, Switzerland.

10. F.Okkels and P.Tabeling, "Spatiotemporal resonances in mixing of open viscous fluids," *Physical Review Letters* **92**, 038301-1-038301-4 (2004).

11. X.Niu and Y.K.Lee, "Efficient spatial-temporal chaotic mixing in microchannels," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **13**, 454-462 (2003).

12. A.D.Stroock, S.K.W.Dertinger, A Ajdari, I.Mezic, H.A.Stone, and G.Whitesides, "Chaotic mixer for microchannels," *Science* **295**, 647-651 (2002).

13. J.Deval, P.Tabeling, and C.H.Ho. A dielectrophoretic chaotic mixer. [15th IEEE Workshop on Micro Electro Mechanical Systems], 36-39. 2002. Las Vegas, U.S.A.

14. V.Thomas, K.Bergström, G.Quash, and K.Holmberg, "Hydrophilized and functionalized microtiter olates for the site-specific coupling of antigens and antibodies : apllication to the diagnosis of viral cardiac and autoimmune diseases," *Colloids and Surfaces A* **77**, 125-139 (1993).

15. L.M.Barret, F.Svec, and Y.Fintschenko. Preconcenration of proteins on chip using a photoinitiated polymer monolith containing immobilized tanic acid. [7th International conference on miniaturized chemical and biochemical analysis sytems], 1077-1080. 2003. Squaw Valley, Calirfornia, U.S.A.

16. T. E. M. K. J.Khandurina, S.C.Jacobson, L.C.Waters, R.S.Foote, and J.M.Ramsey, "Integrated system for rapid PCR-based DNA analysis in microfluidic devices," *Analytical Chemistry* **72**, 2995-3000 (2000).

17. J.Khandurina, S.C.Jacobson, L.C.Waters, R.S.Foote, and J.M.Ramsey, "Microfabricated porous membrane structure for sample concentration and electrophoretic analysis," *Analytical Chemistry* **71**, 1819 (1999).

18. D.L.Huber, R.P.Manginell, M.A.Samara, B.I.Kim, and B.C.Bunker, "Programmed adsorption and release of proteins in a microfluidic device," *Science* **301**, 352-354 (2003).

19. M.Anduze, S.Colin, R.Caen, H.Camon, V.Conedera, and T.Do Conto, "Analysis and testing of a microfluidic vortex microdiode," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **11**, 108-112 (2001).

20. M.Anduze, "Etude expérimentale et numérique de microécoulements liquides dans les microsystèmes fluidiques," (I.N.S.A.T., 2000).

21. A.Olsson, P.Enoksson, G.Stemme, and E.Stemme, "A valve-less planar pump isotropically etched in silicon," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **6**, 87-91 (1996).

22. R.Zengerle and M.Richter, "Simulation of microfluid systems," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **4**, 192-204 (1994).

23. A.Olsson, G.Stemme, and E.Stemme, "Numerical and experimental studies of flat-xalled diffuser elements for valve-less micropumps," *Sensors and Actuators A* **84**, 165-175 (2000).

24. S.Bendib and O.Français. Analytical study of microchannel and pasive microvalve "application to micropump simulator". Design, characterization, and packaging for MEMS and Microelectronics. 2001. Adelaide, Australia.

25. S.Bendib, O.Français, H.Willaime, and P.Tabeling. Analytical study and characterisation of micro-channel and passive micro-diode. 12th Micromechanics Europe Workshop, 147-150. 2001. Cork, Ireland.

26. M.Turowski, Z.Chen, and A.Przekwas, "Automated generation of compact models for fluidic microsystems," *Analog Integrated Circuits and Signal Processing* **29**, 27-36 (2001).

27. T.Gerlach, "Microdiffusers as dynamic passive valves for micropump applications," *Sensors and Actuators A* **69**, 181-191 (1997).

28. M.Stehr, S.Messmer, H.sandmaier, and R.Zengerle, "The VAMP - a new device for handling liquids or gases," *Sensors and Actuators A* **57**, 153-157 (1996).

29. M.Richter, R.Linnemann, and P.Woias, "Robust design of gas and liquid micropumps," *Sensors and Actuators A* **68**, 480-486 (1998).

30. P.Voigt, G.Schrag, and G.Wachutka, "Electrofluidic full-system modelling of a flap valve micropump based on kirchhoffian network theory," *Sensors and Actuators A* **66**, 9-14 (1998).

31. O.Français and I.Dufour, "Dynamic simulation of an electrostatic micropump with pull-in and hysteresis phenomena," *Sensors and Actuators A* **70**, 56-60 (1998).

32. W.K.Schomburg, R.Ahrens, W.Bacher, C.Goll, S.Meinzer, and A.Quinte, "AMANDA low-cost production of microfluidic devices," *Sensors and Actuators A* **70**, 153-158 (1998).

33. A.G.Ewing, R.A.Wallingford, and T.M.Olefirowicz, "Capillary electrophoresis," *Analytical Chemistry* **61**, 292-303 (1989).

34. F.Robert, J.P.Bouilloux, and L.Denoroy, "L'électrophorèse capillaire : principe et applications," *Annales de Biologie Clinique* **49**, 137-148 (1991).

35. S.Arulanandam and D.Li, "Liquid transport in rectangular microchannels by electroosmotic pumping," *Colloids and Surfaces A* **161**, 89-102 (2000).

36. N.A.Pantakar and H.H.Hu, "Numerical simulation of electroosmotic flow," *Analytical Chemistry* **70**, 1870-1881 (1998).

37. D.Ross, T.J.Johnson, and L.E.Locascio, "Imaging of electroosmotic flow in plastic microchannels," *Analytical Chemistry* **73**, 2509-2515 (2001).

38. A.D.Stroock, S.K.W.Dertinger, G.Whitesides, and A.Ajdari, "Patterning flows using grooved surfaces," *Analytical Chemistry* **74**, 5306-5312 (2002).

39. A.Ajdari, "Electrokinetic "ratched" pumps for microfluidics," *Applied Physics A* **75**, 271-274 (2002).

40. A.Gonzales, A.Ramos, N.G.Green, A.Castellanos, and H.Morgan, "Fluid flow induced by nonuniform ac electric fields in electrolytes on microelectrodes. II A liner double-layer analysis.," *Physical Review E* **61**, 4019-4028 (2000).

41. A.B.D.Brown, C.G.Smith, and A.R.Rennie, "Pumping of water xith ac electricc fields applied to asymmetric pairs of microelectrodes," *Physical Review E* **63**, 016305-1-016305-8 (2000).

42. V.Studer, A.Pépin, Y.Chen, and A.Ajdari, "Fabrication of microfluidic devices for AC electrokinetic fluid pumping," *Microelectronic engineering* **61-62**, 915-920 (2002).

43. A.Gonzales, A.Ramos, N.G.Green, A.Castellanos, and H.Morgan, "Fluid flow induced by nonuniform ac electric fields in electrolytes on microelectrodes. I. Experimental measurement," *Physical Review E* **61**, 4011-4018 (2000).

44. O.Sandre, L.Gorre-Talini, A Ajdari, J.Prost, and P.Silberzan, "Moving droplets on asymmetrical structured surfaces," *Physical Review E* **30**, 2964-2972 (1999).

45. M.G.Pollack, R.B.Fair, and D.Shenderov, "Electrowetting-based actuation of liquid droplets for microfluidic applications," *Applied Physics Letters* **77**, 1725-1726 (2000).

46. H.Reng, R.B.Fair, M.G.Pollack, and E.J.Shaughnessy, "Dynamics or electro-wetting droplet transport," *Sensors and Actuators B* **B87**, 201-206 (2002).

47. M.S.Talary, J.P.H.Burt, J.A.Tame, and R.Pethig, "Electromanipulation and separation of cells using travelling electric fields," *Journal of Physics D* **29**, 2198-2203 (1996).

48. M.P.Hugues, R.Pethig, and X.B.Wang, "Dielectrophoresis forces on particles in travelling electric fields," *Journal of Physics D* **28**, 482 (1995).

49. L.Cui and H.Morgan, "Design and fabrication of travelling wave delectrophoresis structures," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **10**, 72-79 (2000).

50. X.B.Wang, Y.Huang, J.P.H.Burt, and R.Pethig, "Selective dielectrophoretic confinement of bioparticles in potential energy wells," *Journal of Physics D* **26**, 1278-1285 (1993).

51. X.B.Wang, Y.Huang, F.F.Becker, and P.R.C.Gascoyne, "A unified theory of dielectrophoresis and travellling wave dielectrophoresis," *Journal of Physics D* **27**, 1571-1574 (1994).

52. M.Liamas, V.Giner, and M.Sancho, "The dynamic evolution of cel chaining in a biological suspension induced by an electrical field," *Journal of Physics D* **31**, 3160-3167 (1998).

53. A.Y.Fu, C.Spence, A.Scherer, F.H.Arnold, and S.R.Quake, "A microfabricated fluorescence-activated cell sorter," *Nature Biotechnology* **17**, 1109-1111 (1999).

54. R.Pethig, M.S.Talary, and R.S.Lee, "Ehancing traveling-wave dielectrophoresis with signal superposition," *IEEE Engineering in Medicine and Biology* **November/December 2003**, 43-50 (2003).

55. J.Johari, Y.Hübner, J.C.Hull, J.W.Dale, and M.P.Hugues, "Dielectrophoretic assay of bacterial resistance to antibiotics," *Physics in Medecine and Biology* **48**, N193-N198 (2003).

56. M.A.Schwarz, B.Galliker, K.Fluri, T.Kappes, and P.C.Hauser, "A two-electrode configuration for simplifed amperometric detection in a microfabricated electrophoretic separation device," *The Analyst* **126**, 147-151 (2001).

57. A.T.Woolley, K.Lao, A.N.Glazer, and R.A.Mathies, "Capillary electrophoresis chips with integrated electrochemical detection," *Analytical Chemistry* **70**, 684-688 (1998).

58. J.Wang, M.Pumera, M.°P.Chatrathi, A.Escarpa, R.Konrad, A.Griebel, W.Dörner, and H.Löwe, "Towards disposable lab-on-a-chip : Poly(methylmethacrylate) microchip electrophoresis device with electrochemical detection," *Electrophoresis* **23**, 596-601 (2002).

59. R.S.Martin, K.L.Ratzlaff, B.H.Huynh, and S.M.Lunte, "In-channel electrochemical detection for microchip capillary electrophoresis using an electrical isolated potentiostat," *Analytical Chemistry* **74**, 1136-1143 (2002).

60. P.F.Gavin and A.C.Ewing, "Characterization of electrochemical array detection for continuous channel electrophoretic separations in micrometer and submicrometer channels," *Analytical Chemistry* **69**, 3838-3845 (1997).

61. W.R.Vandaveer IV, S.A.Pasas, R.S.Martin, and S.M.Lunte, "Recent developments in amperometric detection for microchip capillary electrophoresis," *Electrophoresis* 3667-3677 (2002).

62. J.Rossier, F.Reymond, and P.E.Michel, "Polymer microfluidic chips for electrochemcal and biochemical analyses," *Electrophoresis* **23**, 867 (2002).

63. J.Tanyanyiwa, S.Leuthardt, and P.C.Hauser, "Conductimetric and potentieometric detection in conventional and microchip capillary electrophoresis," *Electrophoresis* **23**, 3659-3666 (2002).

64. J.E.Pearson, A.Gill, and P.Vadgama, "Analytical aspects of biosensors," *Annals of Clinical Biochemistry* **37**, 119-145 (2000).

65. R.Tantra and A.Manz, "Integrated potentiometric detector for use in chip-based flow cells," *Analytical Chemistry* **72**, 2875-2878 (2000).

66. J.C.Fanguy and C.S.Henry, "The analysis of uric acid in urine using microchip capillary electrophoresis with electrochemical detection," *Electrophoresis* **23**, 767-773 (2002).

67. Z.Liang, N.Chiem, G.Ocvirk, T.Tang, K.Fluri, and D.J.Harrison, "Microfabrication of a planar absorbance and fuorescence cell for integrated capilary electrophoresis devices," *Analytical Chemistry* **68**, 1040-1046 (1996).

68. P.G.Vahey, S.H.Park, B.J.Marquardt, Y.Xia, L.W.Burgess, and R.E.Synovec, "Development of a positive pressure driven micro-fabricated liquid chromatographic analyser through rapid-prototyping with poly(dimethylsiloxane). optimizing chromatographic efficiency with sub-nanoliter injections," *Talanta* **51**, 1205-1212 (2000).

69. R.J.Jackman, T.M.Floyd, R.Ghodssi, M.A.Schmidt, and K.F.Jensen, "Microfluidic systems with on-line UV detection fabricated in photodefinable epoxy," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **11**, 263-269 (2001).

70. N.J.Petersen, K.B.Mogensen, and J.P.Kutter, "Performance of an in-plane detection cell with integrated wavaguides for UV/Vis absorbance measurements on micofluidic separation devices," *Electrophoresis* **23**, 3528-3536 (2002).

71. A.Vegvari and S.Hjerten, "A hybrid microdevice for electrophoresis and electrochromatography using UV detection," *Electrophoresis* **23**, 3479-3486 (2002).

72. M.Ludwig, F.Kohler, and D.Belder, "High-speed chiral separations on a microchip with UV detection," *Electrophoresis* **24**, 3233-3238 (2003).

73. G.Jiang, S.Attiya, G.Ocvirk, W.E.Lee, and D.J.Harrison, "Red diode laser induced fluorescence detection with a confocal microscope on a microchip for capillary electrophoresis," *Biosensors & Bioelectronics* **14**, 861-869 (2000).

74. L.J.Jin, T.Wang, and S.F.Y.Li, "Indirect laser-induced fluorescence detection of valproic acid in human serum by capillary electrophoresis," *Electrophoresis* **20**, 1856-1861 (1999).

75. L.Annovazzi, S.Viglio, E.Perani, M.Luisetti, J.Baraniuk, B.Casado, G.Cetta, and P.Ladarola, "Capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection as a novel sensitive approach for the analysis of desmosines in real samples," *Electrophoresis* **25**, 683-691 (2004).

76. L.Bert, F.Robert, L.Denoroy, L.Stoppini, and B.Renaud, "Enhanced temporal resolution for the microdialysis of catecholmines and excitatory amino acids using capillary electrophoresis with laser-inducedfluorescence detection . Analytical developments and in-vitro validations," *Journal of chromatography A* **755**, 99-111 (1996).

77. J.C.Fister, S.C.Jacobson, L.M.Davis, and J.M.Ramsey, "Counting single chromophore molecules for ultrasensitive analysis and separations on microchip devices," *Analytical Chemistry* **70**, 431-437 (1998).

78. B.B.Haab and R.A.Mathies, "Single-molecule detection of DNA separations in microfbricated capillary electrophoresis chips employing focused molecular streams," *Analytical Chemistry* **71**, 5137-5145 (1999).

79. D.J.Harrison, Z.H.Fan, K.Seiler, A.Manz, and H.M.Widmer, "Rapid separation of fluorescein derivates using a micromachined capillary electrophoresis system," *Analytica Chimica Acta* **283**, 361-366 (1993).

80. S.C.Jacobson, L.B.Koutny, R.Hergenröder, A.W.Moore, and J.M.Ramsey, "Microchip capillary electrophoresis with an integrated postcolumn reactor," *Analytical Chemistry* **66**, 3472-3476 (1994).

81. C.S.Effenhauser, G.J.M.Bruin, A.Paulus, and M.Ehrat, "Integrated capillary electrophoresis on flexible silicone microdevices : analysis of DNA restriction fragments and detection of single DNA molecules on microchips," *Analytical Chemistry* **69**, 3451-3457 (1997).

82. G.Ocvirk, T.Tang, and D.J.Harrison, "Optimization of confocal epifluorescence microscopy for microchip-based miniturized total analysis systems," *Analyst* **123**, 1429-1434 (1998).

83. Y.Zhang, H.K.Lee, and S.F.Y.Li, "Fluorescence detection in short capillary and chip using a variable wavelength epi-fluorescence microscope," *Talanta* **45**, 613-618 (1998).

84. J.Ferrance and J.P.Landers, "Exploiting sensitive laser-induced fluorescence detection on electrophoretic microchips for executing rapid clinical diagnostics," *Luminescence* **16**, 79-88 (2001).

85. Y.S.Heo, S.Chung, K.Cho, C.Chung, D.C.Han, and J.K.Chang, "Effects of peak anomalies with the hydrophilic or hydrophobic properties of reservoirs during serial injection on a acapillary electrophoresis microchip," *Journal of chromatography A* **1013**, 111-122 (2003).

86. N.A.Lacher, N.F.de Rooij, E.Verpoorte, and S.M.Lunte, "Comparison of the performance characterisitcs of poly(dimethylsiloxane) and pyrex microchip

electrophoresis devices for peptide separations," *Journal of chromatography A* **1004**, 225-235 (2003).

87. M.L.Chabinyc, D.T.Chiu, J.C.McDonald, A.D.Stroock, J.F.Christian, A.M.Karger, and G.M.Whitesides, "An integrated fluorescence detection system in poly(dimethylsiloxane) for microfluidic apllications," *Analytical Chemistry* 4498 (2001).

88. J.Hübner, K.B.Mogensen, A.M.Jorgensen, P.Friis, P.Telleman, and J.P.Kutter, "Integrated optical measurement system for fluorescence spectroscopy in microfluidic channels," *Review of Scientific Instruments* **72**, 229-233 (2001).

89. J.Krüger, K.Singh, A.O' Neill, C.Jackson, A.Morrison, and P.O'Brien, "Development of a microfluidic device for fluorescence activated cell sorting," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **12**, 486-494 (2002).

90. S.Qi, X.Liu, S.Ford, J.Barrows, G.Thomas, K.Kelly, A.McCandless, K.Lian, J.Goettert, and S.A.Soper, "Microfluidic devices fabricated in poly(dimethylmetacrylate) usng hot-embossing with integrated sampling capillary and fiber optics for fluorescence detection," *Lab on a Chip* **2**, 88-95 (2002).

91. J.C.McDonald, M.L.Chabinyc, S.J.Metallo, J.R.Anderson, A.D.Stroock, and G.M.Whitesides, "Prototyping of microfluidic devices in poly(dimethylsiloxane) using solid-object printing," *Analytical Chemistry* **74**, 1537-1545 (2002).

92. P.S.Kopplin and M.Frommsberger, "Capillary electrophoresis - mass spectrometry 15 years of developments and applications," *Electrophoresis* **24**, 3837-3867 (2003).

93. H.J.Yoon, J.H.Kim, E.S.Choi, S.S.Yang, and K.W.Jung, "Fabrication of a novel micro time-of-flight mass spectrometer," *Sensors and Actuators A* **97-98**, 441-447 (2002).

94. D.Figeys, Y.Ning, and R.Aebersold, "A microfabricated device for rapid protein identification by microelectrospray ion trap mass spectrometry," *Analytical Chemistry* **69**, 3153-3160 (1997).

95. J.H.Chan, A.T.Timperman, D.Qin, and R.Aebersold, "Microfabricated polymer devices for automated sample delivery of peptides for analysis by electrospray ionization tandem mass spectrometry," *Analytical Chemistry* **71**, 4437-4444 (1999).

96. Q.Xue, F.Foret, Y.M.Dunayevskiy, P.M.Zavracky, N.E.McGruer, and B.L.Karger, "Multichannel microchip electrospray mass spectrometry," *Analytical Chemistry* **69**, 426-430 (1997).

97. N.Lion, V.Gobry, H.Jensen, J.S.Rossier, and H.Girault, "Integration of a membrane-based desalting step in a microfabricated disposable polymer injector for mass spectrometric protein analysis," *Electrophoresis* **23**, 3583-3588 (2002).

98. V.Gobry, J.V.Oostrum, M.Martinelli, T.C.Rohner, F.Reymond, J.S.Rossier, and H.H.Girault, "Microfabricated polymer injector for direct mass spectrometry coupling," *Proteomics* **2**, 405-412 (2002).

99. W.C.Sung, S.Y.Huang, P.C.Lao, G.B.Lee, C.W.Li, and S.H.Chen, "Poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic device with electrospray ionization-mass spectrometry interface for protein identification," *Electrophoresis* **24**, 3648-3654 (2003).

100. J.Wen, Y.Lin, F.Xiang, D.W.Matson, H.R.Udseth, and R.D.Smith, "Microfabricated isoelectric focusing device for direct electrospray ionization-mass spectrometry," *Electrophoresis* **21**, 191-197 (2000).

101. R.S.Ramsey and J.M.Ramsey, "Generating electrospray from microchip devices using electroosmotic pumping," *Analytical Chemistry* **69**, 1174-1178 (1997).

102. P.A.Walker, M.D.Morris, M.A.Burns, and B.N.Johnson, "Isotachophoretic separations on a microchip. Normal Raman spectroscopy detection," *Analytical Chemistry* **70**, 3766-3769 (1998).

103. N.Burggraf, B.Krattiger, A.J.de Mello, N.F.de Rooij, and A.Manz, "Holographic refractive index detector for application in microchip-based separation systems," *Analyst* **123**, 1443-1447 (1998).

104. B.Sorli, J.F.Chateaux, M.Pitaval, H.Chahboune, B.Favre, A.Briguet, and P.Morin, "Micro-spectrometer for NMR : analysis of small quantities *in vitro*," *Measurement Science and Technology* **15**, 877-880 (2004).

105. M.Crosnier De Bellaistre, "Les colonnes capillaires à base d'oxyde de zirconium dans les techniques sépartives miniaturisées," (Université Claude Bernard Lyon 1, 2003).

106. G.J.M.Bruin, "Recent developments in electrokinetically driven analysis on microfabricated devices," *Electrophoresis* 3931-3951 (2000).

107. F.E.P.Mikkers, F.M.Everaerts, and T.P.E.M.Verheggen, "High performance zone electrophoresis," *Journal of chromatography* **169**, 11-20 (1979).

108. J.W.Jorgenson and K.D.A.Lucaks, "Zone electrophoresis in open-tubular glass capillaries," *Analytical Chemistry* **53**, 1298-1302 (1981).

109. R.Weinberger, "The evolution of capilary electrophoresis : past, present and future," *American Laboratory* **34**, 32-40 (2002).

110. J.L.Viovy, "Electrophoresis of DNA and other polyelectrolytes: physical mechanisms," *Review of Moderns Physics* **72**, 813-872 (2000).

111. R.A.Wallingford and A.G.Ewing, "capillary zone electrophoresis with electrochemical detection in 12.7 µm diameter columns," *Analytical Chemistry* **60**, 1975-1977 (1988).

112. F.V.Heeren, E.Verpoorte, A.Manz, and W.Thormann, "Micellar electrokinetic chromatography separations and analyses of biologicals samples on a cyclic planar microstructure," *Analytical Chemistry* **68**, 2044-2053 (1996).

113. R.J.Hunter, *Foundations of colloid science*, (Oxford, 2001).

114. T.Tsuda, G.Nakagawa, and K.Nomura, "Open-tubular microcapillary liquid chromatography with electro-osmosis flow using a UV detector," *Journal of chromatography* **248**, 241-247 (1982).

115. L.Debusschere, "Electrophorèse capillaire : Préconcentration par électromigration et couplage avec la spectrométrie de masse pour l'analyse de composés organométalliques," (Université Claude Bernard Lyon 1, 1997).

116. A.Manz, D.J.Harrison, E.Verpoorte, J.C.Fettinger, A.Paulus, H.Lüdi, and H.M.Widmer, "Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems," *Journal of chromatography* **593**, 253-258 (1992).

117. D.J.Harrison, A.Manz, Z.H.Fan, H.Lüdi, and H.M.Widmer, "Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip," *Analytical Chemistry* **64**, 1926-1932 (1992).

118. Z.H.Fan and D.J.Harrison, "Micromachining of capillary electrophoresis injectors and separators on glass chips and evaluation of flow at capillary intersections," *Analytical Chemistry* **66**, 177-184 (1994).

119. C.S.Effenhauser, A.Manz, and H.M.Widmer, "Glass chips for high-speed capillary electrophoresis separations with submicrometer plate heights," *Analytical Chemistry* **65**, 2637-2642 (1993).

120. F.V.Heeren, E.Verpoorte, A.Manz, and W.Thormann, "Micellar electrokinetic chromatography separations and analyses of biologicals samples on a cyclic planar microstructure," *Analitycal Chemistry* **68**, 2044-2053 (2004).

121. J.P.Kutter, S.C.Jacobson, and J.M.Ramsey, "Intagrated microchip device with electrokinetically controlled solvent mixing for isocratic and gradient elution in micellar electrokinetic chromatography," *Analytical Chemistry* **69**, 5165-5171 (1997).

122. J.Lichtenberg, E.Verpoorte, and N.F.de Rooij, "Sample preconcentration by field amplification stacking for microchip-based capillary electrophoresis," *Electrophoresis* 258-271 (2001).

123. Y.H.Dou, N.Bao, J.J.Xu, and H.Y.Chen, "A dynamically modified microfluidic poly(dimethylsiloxane) chip with electrochemical detection for biological analysis," *Electrophoresis* **23**, 3558-3566 (2002).

124. V.Dolnik, S.Liu, and S.Jovanovich, "Capillary electrophoresis on microchip," *Electrophoresis* **21**, 41-54 (2000).

125. N.Burggraf, A.Manz, E.Verpoorte, C.S.Effenhauser, H.M.Widmer, and N.F.de Rooij, "A novel approach to ion separations in solution : synchronized cyclic capillary electrophoresis (SCCE)," *Sensors and Actuators B* **20**, 103-110 (1994).

126. P.S.Doyle, J.Bibette, A.Bancaud, and J.L.Viovy, "Self assembled magnetic matrices for DNA separation chips," *Science* **295**, 2237 (2002).

127. M.Koch, A.Evans, and A.Brunnschweiler, *Microfluidic Technology and Applications*, (Research Studies Press LTD., 2000).

128. M.J.Madou, *Fundamentals of microfabrication (second edition)*, (CRC press, 2002).

129. W.Urbanek, J.N.Zemel, and H.H.Bau, "An investigation of the temperature dependance of Poiseuille numbers in microchannel flow," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **3**, 206-208 (1993).

130. J.Pfalher, J.Harley, H.Bau, and J.Zemel, "Liquid transport in micron and submicron channels," *Sensors and Actuators A* **A21-A23**, 431-434 (1990).

131. A.Grosse, M.Grewe, and H.Fouckhardt, "Deep wet etching of fused silica glass for hollow capillary optical leaky waveguides in microfluidic devices," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **11**, 257-262 (2001).

132. N.Chiem, L.L.Schultz, P.Anderson, C.Skinner, and D.J.Harrison, "Room temperature bonding of micromachined glass devices for capillary electrophoresis," *Sensors and Actuators B* **63**, 147-152 (2000).

133. A.Daridon, V.Fascio, J.Lichtenberg, R.Wütrich, H.Langen, E.Verpoorte, and N.F.de Rooij, "Multi-layer microfluidic glas chips for microanalytical applications," *Fresenius Journal of Analitycal Chemistry* **371**, 261-269 (2001).

134. T.Corman, P.Enoksson, and G.Stemme, "Deep wet etching of borosilicate glass using an anodically bonded silicon substrate as mask," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **8**, 84-87 (1998).

135. W.Lang, "Silicon microstructuring technology," *Materials Science and Technology* **R17**, 1-55 (1996).

136. H.Nakanishi, T.Nishimoto, A.Arai, H.Abe, M.Kanai, Y.Fujiyama, and T.Yoshida, "Fabrication of quartz microchips with optical slit and development of a linear imaging UV detector for microchip electrophoresis systems," *Electrophoresis* **22**, 230-234 (2001).

137. J.K.Kang and C.B.Musgrave, "The mechanism pf HF/$H_{2O\ chemical\ etching\ of\ SiO2}$," *Journal of Chemical Physics* **116**, 275-280 (2002).

138. S.C.Jacobson, R.Hergenröder, L.B.Koutny, and J.M.Ramsey, "Open channel electrochromatography on a microchip," *Analytical Chemistry* **66**, 2369-2373 (1994).

139. M.Stjerntröm and J.Roeraade, "Method for fabrication of microfluidic systems in glass," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **8**, 33-38 (1998).

140. A.Berthold, P.M.Sarro, and M.J.Vellekoop. Two-step glass etching for micro-fluidic devices. SeSens 2000, 613-616. 2000. Veldhoven, Netherlands. 1-12-2000.

141. Z.Huang, J.C.Sanders, C.Dunsmor, H.Ahmadzadeh, and J.P.Landers, "A method for UV-bonding in the fabrication of glass electrophoretic microchips," *Electrophoresis* **22**, 3924-3929 (2001).

142. D.Solignac, A.Sayah, S.Constantin, R.Freitag, and M.A.M Gijs, "Powder blasting for the realisation of microchips for bio-analytic applications," *Sensors and Actuators A* **92**, 388-393 (2001).

143. S.Schlautmann, H.Wensink, R.Schasfoort, M.C.Elwenspoek, and A.v.d.Berg, "Powder-blasting technology as an alternative tool for microfabrication of capillary electrophoresis chips with integrated conductivity sensors," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **11**, 386-389 (2001).

144. H.Wensink, S.Schlautmann, M.H.Goedbloed, and M.C.Elwenspoek, "Fine tuning the roughness of powder blasted surfaces," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **12**, 616-620 (2002).

145. M.Shimbo, F.Furukawa, K.Fukuda, and K.Tanzawa, "Silicon-to-silicon direct bonding method," *Journal of Apllied Physics* **60**, 2987-2989 (1986).

146. H.Y.Wang, R.S.Foote, S.C.Jacobson, J.H.Schneibel, and J.M.Ramsey, "Low temperature bonding for microfabrication of chemical analysis devices," *Sensors and Actuators B* **45**, 199-207 (1997).

147. S.Constantin, R.Freitag, D.Solignac, A.Sayah, and M.A.M.Gijs, "Utilisation of the sol-gel technique for the development of novel stationary phases for capillary electrochromatography on a chip," *Sensors and Actuators B* **78**, 267-272 (2001).

148. A.Sayah, D.Solignac, and M.A.M.Gijs, "Development of novel low temperature bonding technologies for microchip chemical analysis applications," *Sensors and Actuators A* **84**, 103-108 (2000).

149. H.Nakanishi, T.Nishimoto, R.Nakamura, A.Yotsumoto, T.Yoshida, and S.Shoji, "Studies on SiO_{2}-SiO2 Bonding with hydrofluoric acid. Room temperature and low stress bonding technique for MEMS," *Sensors and Actuators A* **79**, 237-244 (2000).

150. H.Nakanishi, T.Nishimoto, M.Kanai, T.Saitoh, R.Nakamura, T.Yoshida, and S.Shoji, "Condition optimization, reliability evaluation of SiO2-SiO2 HF bonding and its application for UV detection micro flow cell," *Sensors and Actuators A* **83**, 136-141 (2000).

151. T.Ito, K.Sobue, and S.Ohya, "Water glass bonding for micro-total analysis system," *Sensors and Actuators B* **81**, 187-195 (2002).

152. A.Satoh, "Water glass bonding," *Sensors and Actuators A* 160-168 (2004).

153. T.Fujii, "PDMS-Based microfluidic devices for biomedical applications," *Microelectronic engineering* **61-62**, 907-914 (2002).

154. Dow corning. Sylgard 184 silicone elastomer product infromation. 2004.

155. H.Becker and C.Gärtner, "Polymer microfabrication methods for microfluidic analytical applications," *Electrophoresis* **21**, 12-26 (2000).

156. D.C.Duffy, J.C.McDonald, O.J.A.Schueller, and G.M.Whitesides, "Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimetylsiloxane)," *Analytical Chemistry* **70**, 4974-4984 (1998).

157. J.M.K.Ng, I.Gitlin, A.D.Stroock, and G.M.Whitesides, "Components for integrated poly(dimethylsiloxane) microfluidic systems," *Electrophoresis* **23**, 3461-3473 (2002).

158. J.C.McDonald and G.M.Whitesides, "Poly(dimethylsiloxane) as a material for fabricating microfluidic devices," *Accounts of Chemical Research* **35**, 491-499 (2002).

159. S.K.Sia and G.M.Whitesides, "Microfluidic devices fabricated in poly(dimethylsiloxane) for biological studies," *Electrophoresis* **24**, 3563-3576 (2003).

160. H.Becker and L.E.Locascio, "Polymer microfluidc devices," *Talanta* **56**, 267-287 (2002).

161. L.Martynova, L.E.Locascio, M.Gaitan, G.W.Kramer, R.G.Christensen, and W.A.MacCrehan, "Fabrication of plastic microfluidic channels by imprinting method," *Analytical Chemistry* **69**, 4783-4789 (1997).

162. H.P.Chou, C.Spence, A.Scherer, and S.Quake, "A microfabricated device for sizing and sorting DNA molecules," *Apllied Physical Science, Biophysics* **96**, 11-13 (1999).

163. A.Bernard, B.Michel, and E.Delamarche, "Micromosaic immunoassays," *Analytical Chemistry* **73**, 8-12 (2001).

164. B.E.Sientz, N.A.Penner, E.Lugowska, and F.Regnier, "Nanoliter capillary electrochromatography columns based on collocated monolithic support structures molded in poly(dimethylsiloxane)," *Electrophoresis* **22**, 3736-3743 (2001).

165. A.M.Spehar, S.Koster, V.Linder, S.Kulmala, N.F.de Rooij, E.Verpoorte, H.Sigrist, and W.Thormann, "Electrokinetic characterization of poly(dimethylsiloxane) microchannels," *Electrophoresis* **24**, 3674-3678 (2003).

166. S.Camou, H.Fujita, and T.Fujii, "PDMS 2D optical lens integrated with microfluidic channels: principle and characterization," *Lab on a Chip* **3**, 40-45 (2003).

167. I.Rodriguez, P.Spicar-Mihalic, C.L.Kuyper, G.S.Fiorini, and D.T.Chiu, "Rapid prototyping of glass microchannels," *Analytica Chimica Acta* **496**, 205-215 (2003).

168. G.Ocvirk, M.Munroe, T.Tang, R.Oleschuk, K.Westra, and D.J.Harrison, "Electrokinetic control of fluid flow in native poly(dimethylsiloxane) capillary electrophoresis devices," *Electrophoresis* **21**, 107-115 (2000).

169. J.C.McDonald, D.C.Duffy, J.R.Anderson, D.T.Chiu, H.Wu, O.J.A.Schueller, and G.M.Whitesides, "Fabrication of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane)," *Electrophoresis* **21**, 27-40 (2000).

170. Y.Liu, J.C.Fanguy, J.M.Bledsoe, and C.S.Henry, "Dynamic coating using polyelectrolyte multilayers for chemical control of electroosmotic flow in capillary electrophoresis microchips," *Analytical Chemistry* **72**, 5939-5944 (2000).

171. V.Linder, E.Verpoorte, W.Thormann, N.F.de Rooij, and H.Sigrist, "Surface biopassivation of replicated poly(dimethylsiloxane) microfluidic channels and application to heterogeneous immunoreaction with on-chip fluorescence detection," *Analytical Chemistry* **73**, 4181-4189 (2001).

172. B.G.Splawn and F.E.Lytle, "On-chip absorption measurements using an integrated waveguide," *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **373**, 519-525 (2002).

173. H.Makamba, J.H.Kim, K.Lim, N.Park, and J.H.Hahn, "Surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchannels," *Electrophoresis* **24**, 3607-3619 (2003).

174. X.Ren, M.Bachman, C.Sims, G.P.Li, and N.Allbritton, "Electroosmotic properties of microfluidic channels composed of poly(dimethylsiloxane)," *Journal of chromatography B* **762**, 117-125 (2001).

175. G.M.Mala and D.Li, "Flow characteristics of water in microtubes," *International Journal of Heat and Fluid Flow* **20**, 142-148 (1999).

176. R.Ouziaux and J.Perrier, *Mécanique des fluides appliquée*, Dunod, ed., 1994).

177. X.F.Peng and G.P.Peterson, "Convective heat transfer and flow friction for water flow in microchannel structures," *International Journal of Heat and Mass Transfer* **39**, 2599-2608 (1996).

178. M.Richter, P.Woias, and D.Weiß, "Microchannels for applications in liquid dosing and flow-rate measurement," *Sensors and Actuators A* **A62**, 480-483 (1997).

179. B.Xu, N.T.Wong, and K.T.Oii, "Experimental invstigation of flow friction for liquid flow in microchannel," *International Communications in Heat and Mass Transfer* **27**, 203-207 (2000).

180. W.Qu, G.M.Mala, and D.Li, "Heat transfer for water flow in trapezoidal silicon microchannels," *International Journal of Heat and Mass Transfer* **43**, 3925-3936 (2000).

181. G.Schnell, "Measurement of very small liquid flows," *Experimental Thermal and Fluid Science* **15**, 406-412 (1997).

182. S.S.Hsieh, C.Y.Lin, C.F.Huang, and H.H.Tsai, "Liquid flow in a micro-channel," *Journal of Micromechanics and Microengineering* **14**, 436-445 (2004).

183. J.B.Edel, E.K.Hill, and A.J.de Mello, "Velocity measurement of particulate flow in microfluidic channels using single point confocal fluorescence detection," *Analyst* **126**, 1953-1957 (2001).

184. A.Rasmussen, C.Mavriplis, M.E.Zaghloul, O.Mikulchenko, and K.Mayaram, "Simulation and optimization of a microfluidic flow sensor," *Sensors and Actuators A* **88**, 121-132 (2001).

185. P.Azoley, "Etude, réalisation et caractérisation de microcanaux," (DESS Nanotechnologies, UCBL, 2003).

186. J.Judy, D.Maynes, and B.W.Webb, "Characterization of frictionnal pressure drop for liquid flows through microchannels," *International Journal of Heat and Mass Transfer* **45**, 3477-3489 (2002).

187. L.Ren, W.Qu, and D.Li, "Interfacial electrokinetic effects on liquid flow in microchannels," *International Journal of Heat and Mass Transfer* **44**, 3125-3134 (2001).

188. I.Paupautsky, J.Brazzle, Timothy Ameel, and A.B.Frazier, "Laminar fluid behavior in microchannels using micropolar fluid theory," *Sensors and Actuators A* **73**, 101-108 (1999).

189. C Yang and D.Li, "Analysis of electrokinetic effects on the liquid flow in rectangular microchannels," *Colloids and Surfaces A* **143**, 339-353 (1998).

190. D.Li, "Electro-viscous effects on pressure-driven liquid flow in microchannels," *Colloids and Surfaces A* **195**, 35-57 (2001).

191. Q.Weilin, G.M.Mala, and L.Dongqing, "Pressure-driven water flows in trapezoïdal silicon microchannels," *International Journal of Heat and Mass Transfer* **43**, 353-364 (2000).

192. J.T.Cheng and N.Giordano, "Fluid flow through nanometer-scale channels," *Physical Review E* **65**, 1063-1065 (2002).

193. M.Crosnier De Bellaistre, O.Mathieu, J.Randon, and J.L.Rocca, "Control of electroosmosis flow in zirconia-coated capillaries," *Journal of chromatography A* **971**, 199-205 (2002).

194. J.Israelachvili, *Intermolecular and surface forces*, (Academic Press, 1991).

195. M.Jardat, T.Cartailler, and P.Turq, "Counterion and polyion dynamics in highly asymmetrical electrolyte solutions," *Journal of Chemical Physics* **115**, 1066-1072 (2001).

196. M.J.Kim, A.Bestok, and K.D.Kihm, "Electro-osmosis-driven micro-channels flows : a comparative study of microscopic particle image velocimetry measurements and numerical simulations," *Experiments in Fluids* **33**, 170-180 (2002).

197. S.Arulanandam and D.Li, "Determining zeta potentiel and surface conductance by monitoring the current in electro-osmotic flow," *Journal of Colloid and Interface Science* **225**, 421-428 (2000).

198. F.Ozon, "Adsorption de polyampholytes sur des surfaces chargées," (Université Louis Pasteur Strasbourg 1, 2001).

199. F.Ozon, J.M.di Meglio, and J.F.Joanny, "Adsorption of polyampholytes on charged surfaces," *European Physical Journal E* **8**, 321-330 (2002).

200. R.Schweiss, P.B.Welzel, C.Werner, and W.Knoll, "Interfacial charge of organic thin films characterized by streaming potential and streaming current measurements," *Colloids and Surfaces A* **195**, 97-102 (2001).

201. T.Wang and R.A.Hartwick, "Capillary modification and evaluation using streaming potential and frontal chromatography for protein analysis in capillary electrophoresis," *Journal of chromatography* **594**, 325-334 (1992).

202. C.Werner, H.Körber, R.Zimmerman, S.Dukhin, and H.J.Jacobasch, "Extended electrokinetic characterization of flat solid surfaces," *Journal of Colloid and Interface Science* **208**, 329-346 (1998).

203. Y.Gu and D.Li, "The Zeta-potential of glass surface in contact with aqueous solutions," *Journal of Colloid and Interface Science* **226**, 328-339 (2000).

204. D.Erickson, D.Li, and C.Werner, "An improved method or determining the zeta-potential and surface conductance," *Journal of Colloid and Interface Science* **232**, 186-197 (2000).

205. J.Yang and D.Y.Kwok, "A new method to determine Zeta potential and slip coefficient simultaneously," *Journal of physical chemistry B* **106**, 12851-12855 (2002).

206. I.Gusev and C.Horvath, "Streaming potential in open and packed fused-silica capillaries," *Journal of chromatography A* **948**, 203-223 (2002).

207. A.J.V.D.Linde and B.H.Bijsterbosch, "Electrode polarization and its implications in streaming potential and streaming current measurements," *Colloids and Surfaces* **41**, 345-352 (1989).

208. J.C.Reijenga, G.V.A.Aben, Th.P.E.M Verheggen, and F.M.Everaest, "Effect of electroosmosis on detection in isotachophoresis," *Journal of chromatography* **260**, 241-254 (1983).

209. G.Dominguez and G.Touchard, "Streaming current development in a rectangular channel," *Journal of Electrostatics* **40&41**, 153-159 (1997).

210. P.J.Scales, F.Grieser, and T.W.Healy, "Electrokinetics of the silica-solution interface : a flat plate streaming potential study," *Langmuir* **8**, 965-974 (1992).

211. R.M.Hurd and N.Hackerman, "Electrokinetic potentials of bulk metals by streaming current measurements," *Journal of the electrochemical society* **102**, 594-597 (1955).

212. L.M.Fu, R.J.Yang, and G.B.Lee, "Analysis of geometry effects on band spreading of microchip electrophoresis," *Electrophoresis* **23**, 602-612 (2002).

213. R.Bharadwaj, J.G.Santiago, and B.Mohammadi, "Design and optimization of on-chip capillary electrophoresis," *Electrophoresis* **23**, 2729-2744 (2002).

214. X.Huang, W.F.Coleman, and R.N.Zare, "Analysis of factors causing peak broadening in capillary zone electrophoresis," *Journal of chromatography* **480**, 95-110 (1989).

215. H.Zhang, X.Song, Z.Shi, G.Yang, and Z.Hu, "Capillary zone electrophoresis for the determination of average hydrodynamic velocity and diffusion coefficient," *Fresenius Journal of Analitycal Chemistry* **365**, 499-503 (1999).

216. S.C.Jacobson, R.Hergenröder, L.B.Koutny, R.J.Warmack, and J.M.Ramsey, "Effect of injection schemes and column geometry on the performance of microchip electrophoresis devices," *Analytical Chemistry* **66**, 1107-1113 (1994).

217. B.Rabanal, E.de Paz, N.Walser, and A.Negro, "Operating parameter effects in capillary zone electrophoresis (CZE) : analysis of pentamidine, hydroxystilbamidine, propamidine, dapi,and stillbamidine in body fluids," *Journal of Liquid Chromatography and Related Technologies* **24**, 29-45 (2001).

218. S.Ghosal, "Fluid mechanics of electroosmotic flow and its effect on brand broadening in capillary electrophoresis," *Electrophoresis* **25**, 214-228 (2004).

219. P.Gebauer and P.Bocek, "Predicting peak symmetry in capillary zone electrophoresis : the concept of the peak shape diagram," *Analytical Chemistry* **69**, 1557-1563 (1997).

220. B.J.Kirby and E.F.Hasselbrink Jr., "Zeta potential of microfluidic substrates : 2. Data for polymers," *Electrophoresis* **25**, 203-213 (2004).

221. B.Wang, Z.A.Kanji, E.Dodwell, J.H.Horton, and R.D.Oleschuk, "Surface characterization using chemical force microscopy and the flow performance of modified polydimethylsiloxane for microfluidic device applications," *Electrophoresis* **24**, 1442-1450 (2003).

222. M.K.Chaudhury and G.M.Whitesides, "Direct measurement of interfacil interactions between semspherical lenses and flat sheets of poly(dimethylsiloxane) and their chemical derivatives," *Langmuir* **7**, 1013-1025 (1991).

Annexes

Annexe A

Résolution de l'équation de Poisson-Boltzmann dans le cas d'un électrolyte symétrique et un potentiel z non négligeable devant l'énergie thermique

L'équation de Poisson-Boltzmann permet de calculer la répartition du potentiel électrostatique dans un électrolyte en fonction de ses caractéristiques (concentration ionique, valence des ions, et température), et du potentiel de surface ζ :

$$\Delta\Psi = -\frac{\sum_i e.z_i.n_{i0}.\exp(\frac{z_i.e.\Psi}{k.T})}{\varepsilon} \quad (A.1)$$

Lorsque l'électrolyte est symétrique, cette équation se réduit à :

$$\Delta\Psi = \frac{2*e*z*n_0}{\varepsilon}\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad (A.2)$$

Dans le cas où le potentiel de surface est élevé, la linéarisation du sinus hyperbolique n'est plus possible. Le potentiel ne dépendant que de la distance x à la paroi, on écrit :

$$\frac{d^2\Psi}{dx^2} = \frac{2.e.z.n_0}{\varepsilon}\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad (A.3)$$

Pour résoudre cette équation différentielle, on peut écrire [113] :

$$2.\frac{d\Psi}{dx}\frac{d^2\Psi}{dx^2} = \frac{4.e.z.n_0}{\varepsilon}.\frac{d\Psi}{dx}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad (A.4)$$

$$\frac{d}{dx}(\frac{d\Psi}{dx})^2 = \frac{4.e.z.n_0}{\varepsilon}.\frac{d\Psi}{dx}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad (A.5)$$

$$\frac{d}{dx}(\frac{d\Psi}{dx})^2.dx = \frac{4.e.z.n_0}{k.T}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}).d\Psi \quad (A.6)$$

En intégrant entre un point quelconque α de la double couche et l'infini, avec $\Psi(\infty)=0$ et $\Psi'(\infty)=0$:

$$\int_\alpha^\infty \frac{d}{dx}(\frac{d\Psi}{dx})^2.dx = \int_{\Psi(\alpha)}^0 \frac{4.e.z.n_0}{\varepsilon}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}).d\Psi \quad (A.7)$$

$$\left[(\frac{d\Psi}{dx})^2\right]_\alpha^\infty = \frac{4.e.z.n_0}{\varepsilon}.\frac{k.T}{z.e}.\left[\cosh(\frac{z.e.\Psi}{k.T})\right]_{\Psi(\alpha)}^0 \quad (A.8)$$

$$\left[(\frac{d\Psi}{dx})^2\right]_\alpha^\infty = \frac{4.n_0.k.T}{\varepsilon}.\left[\cosh(\frac{z.e.\Psi}{k.T})\right]_{\Psi(\alpha)}^0 \quad (A.9)$$

$$(\frac{d\Psi(\alpha)}{dx})^2 = \frac{4.n_0.k.T}{\varepsilon}.(\cosh(\frac{z.e.\Psi(\alpha)}{k.T}) - 1) \quad (A.10)$$

Que l'on peut généraliser sur l'ensemble du domaine de définition de Ψ :

$$(\frac{d\Psi}{dx})^2 = \frac{4.n_0.k.T}{\varepsilon}.(\cosh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) - 1) \quad (A.11)$$

Or :

$$\sinh^2(\frac{a}{2}) = \frac{\cosh(a) - 1}{2} \quad (A.12)$$

Donc :

$$\frac{d\Psi}{dx} = -\sqrt{\frac{8.n_0.k.T}{\varepsilon}}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{k.T}) \quad (A.13)$$

Notons ici que le signe de l'expression est négatif car le potentiel électrostatique et sa dérivée sont par hypothèse nuls à l'infini.

Et, avec

$$\kappa = \sqrt{\frac{2.n_0.e^2.z_i^2}{e_r.e_0.k.T}} \quad (A.14)$$

$$\frac{d\Psi}{dx} = -\kappa.\frac{2.k.T}{z.e}.\sinh(\frac{z.e.\Psi}{2.k.T}) \quad (A.15)$$

Il est alors possible de résoudre le potentiel en intégrant une fois supplémentaire de la manière suivante :

On pose $$k = \frac{z.e}{4.k.T} \quad (A.16)$$

Et l'équation (A.15) devient :

$$\frac{d\Psi}{dx} = -\frac{\kappa}{2.k}.\sinh(2.k.\Psi) = -\frac{\kappa}{k}.\sinh(k.\Psi).\cosh(k.\Psi) \quad (A.17)$$

$$\frac{k.\frac{d\Psi}{dx}}{\sinh(k.\Psi).\cosh(k.\Psi)} = -\kappa \quad (A.18)$$

$$\frac{k.\frac{d\Psi}{dx}}{\frac{\cosh^2(k.\Psi)}{\sinh(k.\Psi)}{\cosh(k.\Psi)}} = \frac{\frac{d}{dx}(\tanh(k.\Psi))}{\tanh(k.\Psi)} = -\kappa \quad (A.19)$$

En intégrant entre la couche glissante (x=0) et une position quelconque α dans le fluide :

$$\int_0^{\alpha} \frac{\frac{d}{dx}(\tanh(k.\Psi))}{\tanh(k.\Psi)}.dx = \int_0^{\alpha} -\kappa.dx \tag{A.20}$$

$$\ln\left[\tanh(k.\Psi(\alpha))\right] - \ln\left[\tanh(k.\zeta)\right] = -\kappa.\alpha \tag{A.21}$$

Que l'on peut généraliser sur le domaine de définition de Ψ :

$$\ln\left[\tanh(k.\Psi)\right] - \ln\left[\tanh(k.\zeta)\right] = \ln\left(\frac{\tanh(k.\Psi)}{\tanh(k.\zeta)}\right) = -\kappa.x \tag{A.22}$$

d'où :

$$\frac{\tanh(k.\Psi)}{\tanh(k.\zeta)} = \exp(-\kappa.x) \tag{A.23}$$

et :

$$\tanh(k.\Psi) = \tanh(k.\zeta).\exp(-\kappa.x) \tag{A.24}$$

soit, enfin :

$$\psi(x) = \frac{4.k.T}{e}.\operatorname{atanh}\left[\tanh\left(\frac{z\,e\,\zeta}{4\,k\,T}\right).\exp(-\kappa.x)\right] \tag{A.25}$$

Annexe B

Calcul de l'expression du courant d'écoulement dans un système microfluidique de section quelconque

Soit un système microfluidique de section quelconque et invariante sur sa longueur. La surface de ce microcanal possède une charge surfacique en présence d'une solution aqueuse.

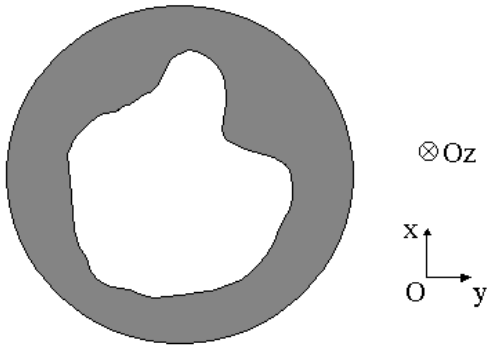


Figure B.1 : Géométrie du canal et définition du repère d'écoulement

Une double-couche de contre-ions se forme spontanément dans le liquide pour neutraliser le potentiel zêta de la surface. Lorsque le liquide est soumis à une pression, il se déplace suivant l'axe Oz, et il y a création d'un courant induit appelé courant d'écoulement, que l'on définira comme :

$$I_e = \iint_S v(x, y).\rho(x, y).dx.dy = \beta.\Delta P \qquad (B.1)$$

où v(x,y) est la vitesse du fluide, ρ(x,y) est la densité de charge nette dans le liquide, et S la section droite du canal.

La résolution analytique de cette intégrale impose d'admettre quelques hypothèses fondamentales :

Infiniment loin de la paroi le liquide est de charge volumique nulle. Les contres-ions sont situés dans une bande de liquide comprise entre la paroi et quelques longueurs de Debye λ^{-1}. On supposera que dans la gamme de concentration en ions des électrolytes utilisés ($C > 10^{-5}$ mol/l => $\lambda^{-1} < 100$ nm), la longueur de debye sera toujours très petite devant les dimensions de la section (quelques dizaines de µm). On fait donc l'hypothèse que l'on pourra toujours approximer la paroi du microcanal ou du microtube par un plan du point de vue de la double couche de Helmholtz.

La vitesse du fluide est normale à la section du système microfluidique et invariante par translation sur l'axe Oz. Ceci résulte du caractère laminaire de l'écoulement, comme nous

l'avons expérimentalement démontré au chapitre relatif à l'étude des écoulements hydrodynamiques dans un système microfluidique.

On supposera une condition aux limites de vitesse nulle à la paroi. De plus, sur les premières longueurs de Debye, on pourra toujours écrire que la vitesse varie linéairement avec la distance à la paroi.

Puisque l'interface chargée est assimilable à un plan en première approximation, on pourra définir le problème sur un nouveau système de coordonnées intrinsèques comme suit :

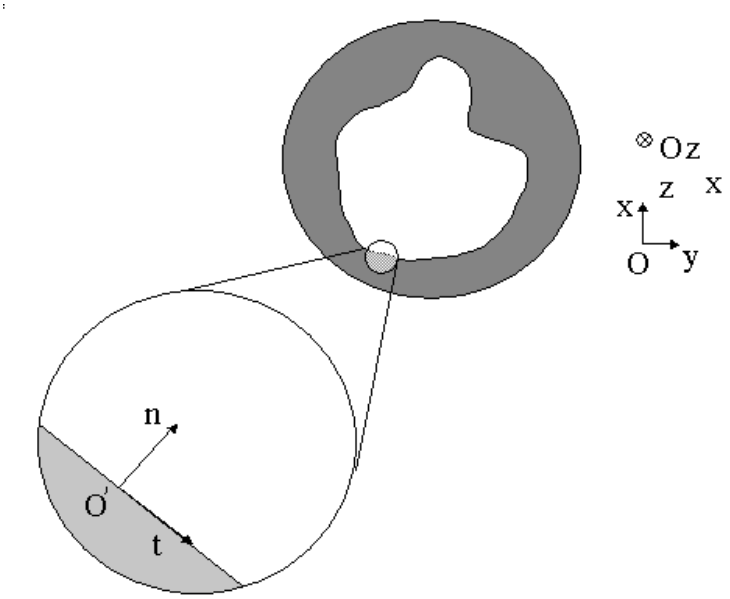


Figure B.2 : Définition des coordonnées géométriques intrinsèques de l'écoulement des contre-ions à la paroi

Où O' est l'origine placée sur la paroi, n la coordonnée normale à la paroi et t la coordonnée longitudinale à la paroi. Les propriétés de la double-couche de Helmholtz nous permettent d'écrire :

$$I_e = \int_P \int_0^{\alpha} v(n,t).\rho(n,t).dn.dt \qquad (B.2)$$

où P est défini comme le contour de la section droite du microcanal, et α est une distance égale à quelques longueurs de Debye, telle que :

$$\rho(\alpha, t) \cong 0 \qquad (B.3)$$

et

$$\left.\frac{\partial \rho(n,t)}{\partial n}\right|_{\alpha} \cong 0 \qquad \text{(B.4)}$$

Puisque la vitesse à la paroi varie linéairement avec n, on écrira :

$$v(n,t) = \beta(t).n \qquad \text{(B.5)}$$

Où β est fonction de la position longitudinale t sur le périmètre P.

A contrario, l'hypothèse de paroi plane permet de dissocier la charge volumique dans la double couche, grandeur purement surfacique, et la position longitudinale t :

$$\rho(n,t) = \rho(n) \qquad \text{(B.6)}$$

Par suite :

$$I_e = \int_P \int_0^{\alpha} \beta(t).n.\rho(n).dn.dt \qquad \text{(B.7)}$$

L'équation de poisson permet de ramener la charge volumique ρ à un potentiel électrostatique ψ :

$$\rho(n) = -\varepsilon.\Delta\Psi(n) = -\varepsilon.\frac{d^2\Psi(n)}{dn^2} \qquad \text{(B.8)}$$

Avec ε la permittivité diélectrique du fluide et les conditions aux limites sur ψ :

$$\Psi(0) \cong \zeta\,,\ \Psi(\alpha) \cong 0 \ \text{ et } \left.\frac{d\Psi(n)}{dn}\right|_{\alpha} = 0 \qquad \text{(B.9)}$$

D'où :

$$I_e = -\varepsilon.\int_P \int_0^{\alpha} \beta(t).n.\frac{d^2\Psi(n)}{dn^2}.dn.dt \qquad \text{(B.10)}$$

$$I_e = -\varepsilon.\int_P \beta(t).\left(\int_0^{\alpha} n.\frac{d^2\Psi(n)}{dn^2}.dn\right).dt \qquad \text{(B.11)}$$

$$I_e = -\varepsilon.\left(\int_P \beta(t).dt\right).\left(\int_0^{\alpha} n.\frac{d^2\Psi(n)}{dn^2}.dn\right) \qquad \text{(B.12)}$$

En intégrant par partie le deuxième terme du produit :

$$\int_0^{\alpha} n.\frac{d^2\Psi(n)}{dn^2}.dn = \left[n.\frac{d\Psi(n)}{dn} \right]_0^{\alpha} - \int_0^{\alpha} \frac{d\Psi(n)}{dn} dn = (\alpha.\frac{d\Psi(n)}{dn}\Big|_{\alpha} - 0) - (\Psi(\alpha) - \Psi(0)) = \Psi(0) = \zeta \quad \text{(B.13)}$$

D'où :

$$I_e = -\varepsilon.\zeta.(\int_P \beta(t).dt) \quad \text{(B.14)}$$

$$I_e = -\varepsilon.\zeta.(\int_P \frac{\partial v(n,t)}{\partial n}.dt) \quad \text{(B.15)}$$

Calcul de $\int_P \frac{\partial v(n,t)}{\partial n}.dt$ *:*

Cas d'un capillaire circulaire :

Dans le cas d'un capillaire circulaire de rayon R, de longueur L et rempli d'eau de viscosité dynamique η contrainte sous une pression ΔP (cf. formule de Poiseuille [176]) :

$$v(n,t) = v(n) = \frac{\Delta P.R}{2.\eta.L}.n \quad \text{(B.16)}$$

D'où :

$$\int_P \frac{\partial v(n,t)}{\partial n}.dt = \int_P \frac{dv(n)}{dn}.dt = \int_P \frac{\Delta P.R}{2.\eta.L}.dt = \frac{\Delta P.R}{2.\eta.L}.\int_P dt = \frac{\Delta P.R}{2.\eta.L}.(2.\pi.R) = \frac{\Delta P.\pi.R^2}{\eta.L} \quad \text{(B.17)}$$

Et :

$$Ie = -\frac{\varepsilon.\Delta P.\pi.R^2}{\eta.L}.\zeta \quad \text{(B.18)}$$

Cas général :

Dans le cas d'un microcanal de section quelconque, de longueur L et rempli d'eau de viscosité dynamique η contrainte sous une pression ΔP, l'équation de Navier-Stokes pour un écoulement laminaire s'écrit :

$$\Delta v = \frac{\Delta P}{\eta.L} \quad \text{(B.19)}$$

Or, plus généralement, d'après le premier théorème de Green, si F et G sont deux fonctions quelconques définies sur une tranche du microcanal d'épaisseur Δz, on pourra toujours écrire :

$$\iint_{St} F.\frac{\partial G}{\partial n}.dS = \iiint_{Vt} (F.\Delta G + \overrightarrow{grad}F.\overrightarrow{grad}G).dV \qquad (B.20)$$

où St et Vt sont respectivement le volume de la tranche et sa surface extérieure, et n la normale à la surface en tout point de celle-ci :

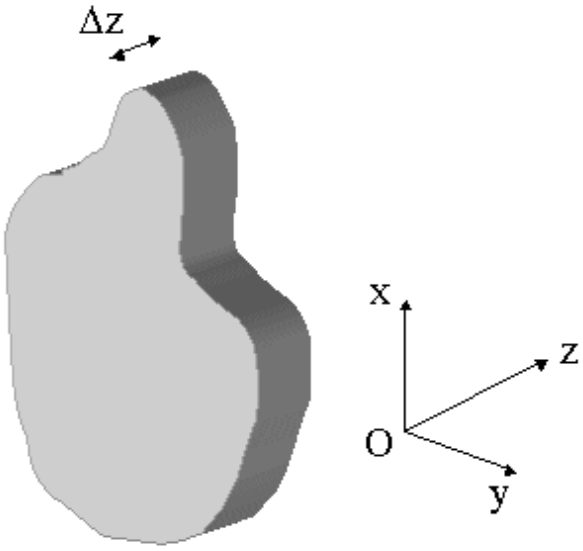


Figure B.3 : Application du premier théorème de Green sur une tranche du microcanal

En posant F=1 et G=v :

$$\iint_{St} \frac{\partial v}{\partial n}.dS = \iiint_{Vt} \Delta v.dV \qquad (B.21)$$

Or, si A est l'aire de la section droite du microcanal :

$$\iiint_{Vt} \Delta v.dV = \iiint_{Vt} \frac{\Delta P}{\eta.L} dV = \frac{\Delta P}{\eta.L}.\iiint_{Vt} dV = \frac{\Delta P}{\eta.L}.A.\Delta z \qquad (B.22)$$

Et en décomposant l'intégrale du gradient de v sur la surface St :

$$\iint_{S_t} \frac{\partial v}{\partial n}.dS = \iint_{S_1} \frac{\partial v}{\partial n}.dS_1 + \iint_{S_2} \frac{\partial v}{\partial n}.dS_2 + \iint_{S_3} \frac{\partial v}{\partial n}.dS_3 \qquad (B.23)$$

Où S_1 et S_2 sont les surfaces normales à l'axe Oz et S_3 est la surface parallèle à l'axe Oz (en gris foncé sur la figure truc). La vitesse du fluide étant invariante suivant z (écoulement laminaire et fluide incompressible), les deux premier termes sont nuls et :

$$\iint_{St} \frac{\partial v}{\partial n}.dS = \iint_{S3} \frac{\partial v}{\partial n}.dS_3 = \int_P \int_{\Delta z} \frac{\partial v}{\partial n}.dt.dz = (\int_P \frac{\partial v}{\partial n}.dt).(\int_{\Delta z} dz) = \Delta z.\int_P \frac{\partial v}{\partial n}.dt \qquad (B.24)$$

Donc l'égalité $\iint_{St} \frac{\partial v}{\partial n}.dS = \iiint_{Vt} Dv.dV$ s'exprimera comme :

$$\Delta z.\int_P \frac{\partial v}{\partial n}.dt = \frac{\Delta P}{\eta.L}.A.\Delta z \qquad (B.25)$$

c'est à dire :

$$\int_P \frac{\partial v}{\partial n}.dt = \frac{\Delta P}{\eta.L}.A \qquad (B.26)$$

Où encore, dans le repère intrinsèque défini précédemment :

$$\int_P \frac{\partial v(n,t)}{\partial n}.dt = \frac{\Delta P}{\eta.L}.A \qquad (B.27)$$

D'où l'expression générale du courant d'écoulement :

$$I_e = -\varepsilon.\zeta.(\int_P \frac{\partial v(n,t)}{\partial n}.dt) \qquad (B.28)$$

$$I_e = -\frac{\varepsilon.\Delta P.A}{\eta.L}.\zeta \qquad (B.29)$$

C'est à dire, en posant $\beta = \frac{Ie}{\Delta P}$:

$$\beta = -\frac{\varepsilon.A}{\eta.L}.\zeta \qquad (B.30)$$