



**HAL**  
open science

# Etudes de systèmes microfluidiques : agrégation de particules, électrocinétique linéaire, analyse de protéines

Edouard Brunet

► **To cite this version:**

Edouard Brunet. Etudes de systèmes microfluidiques : agrégation de particules, électrocinétique linéaire, analyse de protéines. Biophysique [physics.bio-ph]. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2004. Français. NNT : . tel-00007776v2

**HAL Id: tel-00007776**

**<https://pastel.hal.science/tel-00007776v2>**

Submitted on 27 Dec 2004

**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.

THÈSE DE DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ PARIS 6

Spécialité

Constituants Élémentaires, Systèmes Complexes

présentée par Edouard BRUNET

Pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PARIS 6

---

## Études de systèmes microfluidiques :

agrégation de particules, électrocinétique linéaire, analyse de protéines

---

Soutenue le 20 septembre 2004

Devant la commission d'examen formée de :

M.	Armand AJDARI	Examineur
Mme	Valérie CABUIL	Examineur
Mme.	Elisabeth CHARLAIX	Présidente
M.	Philippe RENAUD	Rapporteur
M.	Patrick TABELING	Examineur
M.	Jean-Louis VIOVY	Rapporteur



## Remerciements

J'adresse mes remerciements les plus sincères à Valérie Cabuil, Elisabeth Charlaix, Philippe Renaud et Jean-Louis Viovy qui m'ont fait l'honneur de bien vouloir juger ce travail.

Je tiens également à remercier mes deux directeurs de thèse, Armand Ajdari et Patrick Tabeling, dont la complémentarité m'a permis de mener à terme ce travail dans les meilleures conditions.

Je remercie tout particulièrement Guillaume Degré, qui a eu le courage de poursuivre les expériences d'agrégation jusqu'à leur donner un relief insoupçonné, et Arash Dodge avec qui je me suis fort réjoui de travailler sur le "lab on a chip".

Durant ces trois années, j'ai eu la chance d'oeuvrer dans un environnement parfois acrobatique mais toujours agréable et productif grâce à l'action conjuguée de l'ensemble des membres du MMN. Je remercie donc chaleureusement, par ordre d'arrivée au laboratoire, Hervé, Charles, Fridolin, Rémi, Pierre, Laure, Guillaume, Arash, Jacques, Jean-Baptiste, Jacques, Julie, Valessa, Barbara pour leurs conseils avisés et les nombreux cafés partagés.

Je remercie enfin Christille et Agnès qui ont su m'encourager tout au long de ces années, consciemment ou inconsciemment.



# Table des matières

<b>Préambule</b>	<b>9</b>
<b>1 Introduction générale</b>	<b>11</b>
1.1 Aperçu historique . . . . .	11
1.1.1 Les origines de la microfluidique . . . . .	11
1.1.2 Les microsytèmes d’analyses intégrés . . . . .	12
1.2 Quelques rappels sur les systèmes microfluidiques . . . . .	13
1.2.1 L’hydrodynamique à bas nombre de Reynolds . . . . .	14
1.2.2 L’influence des surfaces . . . . .	15
1.2.3 L’importance de la microfabrication . . . . .	16
1.3 Présentation des trois thèmes abordés durant la thèse . . . . .	16
1.3.1 Agrégation de particules . . . . .	17
1.3.2 Électrocinétique linéaire pour géométries microfluidiques non triviales .	18
1.3.3 Laboratoire sur puce pour la protéomique . . . . .	18
<b>2 La microfabrication</b>	<b>19</b>
2.1 Les techniques de microfabrication <i>dures</i> . . . . .	19
2.1.1 La lithographie . . . . .	20
2.1.2 Les techniques de gravures . . . . .	22
2.1.3 Le collage ( <i>bonding</i> ) . . . . .	23
2.2 Les techniques de microfabrication <i>douces</i> . . . . .	24
2.2.1 Le poly(di méthyl siloxane), ou PDMS . . . . .	24
2.2.2 Autres techniques douces . . . . .	26
2.3 Détails des protocoles utilisés . . . . .	27
2.3.1 Fabrication d’un circuit en verre/silicium . . . . .	27
2.3.2 Circuits en PDMS . . . . .	28
<b>I Agrégation de particules paramagnétiques</b>	<b>33</b>
<b>1 Introduction</b>	<b>35</b>
<b>2 Aggregation of paramagnetic particles in the presence of a hydrodynamic shear</b>	<b>37</b>

<b>3 Conclusion</b>	<b>49</b>
3.1 L'influence du cisaillement sur la dynamique d'agrégation . . . . .	49
3.2 Application aux tests d'agglutination . . . . .	49
<b>II Électrocinétique linéaire en microfluidique : quelques analyses théoriques</b>	<b>51</b>
<b>1 Introduction</b>	<b>53</b>
1.1 Électrocinétique : origines historique et physique . . . . .	53
1.1.1 Quelques travaux fondateurs. Présentation du couplage linéaire. . . . .	53
1.1.2 Origine microscopique : la double couche diffuse. . . . .	55
1.1.3 Les équations de l'électrocinétique. . . . .	58
1.2 Le renouveau de l'électrocinétique par l'intermédiaire de la microfluidique . . . . .	62
1.2.1 La porte d'entrée : l'électrophorèse capillaire . . . . .	62
1.2.2 Un plus : le contrôle des motifs de formes et de charges . . . . .	62
1.2.3 Plan de la partie . . . . .	63
<b>2 Généralisations des relations de symétrie</b>	<b>65</b>
2.1 Introduction . . . . .	65
2.1.1 Démonstration thermodynamique. Production d'entropie de l'électrocinétique . . . . .	65
2.1.2 Calculs explicites des flux . . . . .	67
2.2 Generalized Onsager relations for electrokinetic effects in anisotropic and heterogeneous geometries . . . . .	68
<b>3 L'approximation des couches minces</b>	<b>79</b>
3.1 Approximation de fine couche de Debye . . . . .	79
3.1.1 L'approximation de couches minces (TDL) . . . . .	80
3.1.2 Couplage électro-hydrodynamique . . . . .	80
3.2 Relations de réciprocité . . . . .	81
3.2.1 Formalisme du <i>Théorème Réciproque</i> . . . . .	81
3.2.2 Applications aux relations d'Onsager . . . . .	84
3.3 Conclusion . . . . .	85
<b>4 Structures des flux électrocinétiques dans des géométries modulées</b>	<b>87</b>
4.1 Introduction . . . . .	87
4.1.1 Géométrie et approximations . . . . .	88
4.2 Présentation qualitative . . . . .	89
4.2.1 Rappel : canal droit, charge de surface homogène . . . . .	90
4.2.2 Canal droit, charge de surface modulée . . . . .	90
4.2.3 Canal ondulé, charge de surface homogène . . . . .	91
4.2.4 Canal ondulé, charge de surface modulée . . . . .	91
4.2.5 Cas des modulations perpendiculaires au flux . . . . .	92
4.3 Calculs de la structure des flux . . . . .	92
4.3.1 Canal droit de charge homogène . . . . .	93
4.3.2 Canal droit dont la charge de surface est modulée . . . . .	93

4.3.3	Canal de forme modulée et de charge de surface homogène . . . . .	95
4.3.4	Conclusions pour un canal ondulé de charge homogène . . . . .	99
4.3.5	Canal de forme et de charge modulée . . . . .	100
4.4	Applications des résultats : trois propositions . . . . .	101
4.4.1	Utilisation du formalisme de couche mince dans les simulations numériques . . . . .	102
4.4.2	Perturbation de la trajectoire d'un traceur . . . . .	102
4.4.3	Anticipation du fonctionnement d'une pompe "transverse" . . . . .	103
4.5	Conclusion . . . . .	104
<b>III Laboratoire sur puce pour la protéomique</b>		<b>107</b>
<b>1</b>	<b>Introduction</b>	<b>109</b>
1.1	Analyse de protéines et microfluidique . . . . .	109
1.1.1	Le protocole biologique . . . . .	110
1.1.2	Quelques réalisations microfluidiques . . . . .	111
1.2	Présentation du projet protéomique . . . . .	111
1.2.1	Objectifs et attentes . . . . .	111
1.2.2	Description du microsystème . . . . .	112
1.2.3	Le choix du PDMS . . . . .	113
<b>2</b>	<b>Le module de séparation</b>	<b>115</b>
2.1	Principe de l'électrophorèse capillaire . . . . .	115
2.1.1	La mobilité électrophorétique . . . . .	115
2.1.2	Conditions pour une séparation dans un capillaire . . . . .	116
2.1.3	Nombre de plateaux théoriques et résolution . . . . .	117
2.2	Système expérimental . . . . .	118
2.2.1	Fabrication . . . . .	118
2.2.2	Le contrôle des tensions . . . . .	118
2.2.3	Choix du traitement de surface . . . . .	119
2.2.4	Choix du tampon . . . . .	120
2.2.5	Marqueur fluorescent et protéines utilisés . . . . .	120
2.2.6	La phase d'injection . . . . .	121
2.2.7	Le système de détection . . . . .	122
2.3	Résultats . . . . .	123
2.3.1	Caractérisation du module de séparation . . . . .	123
2.3.2	Séparation d'un mélange de protéines . . . . .	126
2.4	Paramètres influençant la séparation . . . . .	126
2.4.1	Sources d'élargissement des pics . . . . .	126
2.4.2	Rôle du champ électrique . . . . .	127
2.4.3	Augmentation de la longueur du canal . . . . .	127
2.5	Sélection d'un spot de protéine et liaison avec le module de digestion . . . . .	127



<b>3</b>	<b>Le module de digestion enzymatique</b>	<b>129</b>
3.1	Principe de fonctionnement : la “dispersion de Taylor” . . . . .	129
3.2	Système expérimental . . . . .	129
3.2.1	Fabrication . . . . .	129
3.2.2	Le système d’actuation . . . . .	130
3.2.3	Protocole de digestion . . . . .	130
3.2.4	Méthodes de caractérisation . . . . .	131
3.3	Résultats . . . . .	132
3.3.1	Étude de la dynamique du mélange . . . . .	132
3.3.2	Analyses de la digestion enzymatique . . . . .	133
3.4	Conclusion . . . . .	135
<b>4</b>	<b>Bilan et perspectives du projet protéomique</b>	<b>137</b>
4.1	Le module de séparation . . . . .	137
4.2	Le module de digestion . . . . .	137
4.3	Fonctionnement global du système . . . . .	138
	<b>Bibliographie</b>	<b>139</b>
	<b>Résumé et abstract</b>	<b>148</b>

## Préambule

La microfluidique est un domaine de recherche en pleine expansion depuis une dizaine d'années, dont la vitalité est nourrie par la diversité de ses applications. Sa définition historique, de physicien, est l'étude des écoulements fluides dans des canaux, capillaires ou milieux poreux, dont la dimension la plus faible est de l'ordre de quelques microns. Cette définition n'est aujourd'hui plus suffisante pour couvrir l'ensemble des activités de recherches désignées par le terme "microfluidique", qui comprend entre autres l'étude de phénomènes physiques, la chimie analytique ou encore la biologie moléculaire.

Cette diversité d'applications explique l'engouement actuel pour ce domaine de recherche, dont le développement a principalement eu lieu dans les universités possédant des centres de microfabrication qui se sont ouverts sur les départements de chimie et de biologie. Plusieurs pays possèdent de nombreux centres de recherche utilisant des techniques microfluidiques. Nous pouvons citer, entre autres, les États Unis, le Japon, la Suisse, les Pays-Bas, la Grande-Bretagne. L'un des exemples le plus marquant de l'intérêt porté à la microfluidique par une large communauté de chercheurs est la multiplicité des colloques ou sessions "microfluidique" dans les conférences nationales et internationales. La France est actuellement en train de développer activement ce domaine de recherche et dans la continuité de ce développement, un laboratoire de microfluidique a été créé à l'ESPCI en 2001, quelques mois avant le début de ma thèse.

Trois thèmes de recherches ont alors été définis pour satisfaire un double objectif. Tout d'abord nous voulions montrer la diversité des sujets d'études pouvant être abordés sous un angle microfluidique et illustrer ainsi la richesse de ce domaine de recherche. D'autre part l'utilisation de différentes techniques de microfabrication ainsi que la présence d'une étude théorique a permis d'accompagner la mise en place du laboratoire et des techniques de microfabrication sans porter préjudice à l'avancement de ce travail de thèse. Bien entendu chacun des thèmes présente un intérêt intrinsèque sans lequel son étude ne serait être justifiée. Mon travail de thèse s'est donc articulé autour des trois axes principaux suivants.

- Tout d'abord nous avons étudié **l'influence d'un cisaillement hydrodynamique sur un processus d'agrégation de particules paramagnétiques**. Les processus d'agrégation sont présents dans de nombreuses situations, où ils peuvent être souhaitables ou au contraire un phénomène parasite. Nous verrons dans la première partie de ce manuscrit (p. 35) les avantages que présente une approche microfluidique lors de l'étude d'un tel système : bon contrôle des écoulements, observation directe aisée dans des canaux microfabriqués en verre-silicium ou en poly(diméthyl siloxane).
- La seconde partie (p. 53) est quant à elle orientée vers un thème de recherche initié ou plutôt réactivé par la microfluidique : **l'électrocinétique linéaire**, couplage entre les flux hydrodynamiques et les courants électriques. Des courants électriques peuvent être induit par des gradients de pression et réciproquement un champ électrique peut générer un flux hydrodynamique, les deux phénomènes dépendant de l'état de surface du canal utilisé. La possibilité offerte par les techniques de microfabrication de contrôler la topographie des surfaces a permis le développement de nombreux systèmes utilisant des effets électrocinétiques. L'objectif du travail théorique présenté ici est d'étendre l'étude de ces phénomènes aux géométries complexes rencontrées dans les systèmes microfluidiques.
- La dernière partie de ce manuscrit (p. 109) présente la réalisation d'un **microsystème d'analyse de protéines**, illustrant le domaine le plus actif de la microfluidique : les

microsystèmes d’analyses intégrés appliqués à la biologie. L’étude des protéines, la protéomique, est un axe de recherche extrêmement développé et de nombreux groupes cherchent à améliorer leurs techniques d’analyses en utilisant l’outil microfluidique. La microfluidique et les techniques de microfabrication sont ici utilisées pour permettre le bon contrôle des très faibles volumes d’échantillons mis en jeu. Il est également possible d’implémenter sur le même système plusieurs fonctions d’analyses afin de limiter les contaminations et diminuer les temps d’analyse. Le système que nous avons développé permet la préparation d’un mélange de protéines en vue d’une analyse par spectrométrie de masse. Fabriqué en poly(diméthyl siloxane) en utilisant les techniques de microfabrication “douce” à deux niveaux, il comporte un étage de séparation électrophorétique suivi d’une étape de digestion enzymatique mettant en œuvre des pompes et des vannes microfabriquées.

La structure du manuscrit est la suivante. Le chapitre premier (p. 11) est une introduction générale sur la microfluidique suivie de la présentation des trois thèmes abordés. Le chapitre second (p. 19) présente les techniques de microfabrication utilisées au cours de ce travail. Les trois thèmes présentés ci-dessus sont ensuite traités dans trois parties totalement indépendantes : la première partie décrit les expériences d’agrégation de particules en présence d’un cisaillement (p. 35), la deuxième partie traite des phénomènes électrocinétique dans un contexte microfluidique (p. 53) et la dernière partie présente le microsystème d’analyse de protéines que nous avons développé (p. 109). Les références bibliographiques sont regroupés à la fin du manuscrit (p. 139).

# Chapitre 1

## Introduction générale

### 1.1 Aperçu historique

#### 1.1.1 Les origines de la microfluidique

La *microfluidique* est l'étude des écoulements à l'échelle de quelques microns dans des systèmes microfabriqués. Cette définition lapidaire traduit difficilement la variété des sujets d'études couverts par ce domaine qui vont de la chimie analytique aux têtes d'imprimantes à jet d'encre. Cette pluralité des sujets se retrouve dès les premières réalisations microfluidiques qui datent de la fin des années 70. Il est difficile de désigner tel ou tel système comme étant le premier circuit microfluidique jamais fabriqué. Néanmoins deux systèmes apparaissent régulièrement comme des ancêtres [1,2]. En 1978, Little a développé un micro-système réfrigérant pouvant atteindre 80 K en quelques minutes à partir d'un cycle de Joule-Thomson, où les échanges thermiques sont grandement accrus grâce à la miniaturisation [3,4]. En 1979, le premier système de chromatographie a été réalisé par Terry [5] pour séparer des hydrocarbures en phase gazeuse. Ce système possédait déjà plusieurs fonctions avancées, telles une vanne pneumatique et un capteur de débit, mais il a fallu attendre près de 20 ans pour assister à un réel développement de la microfluidique. On peut expliquer ce retard par la technicité nécessaire à la fabrication des micro-systèmes et aux cloisonnements existants entre technologues, physiciens et chimistes. Le transfert des connaissances a été permis par la multiplication des centres de micro-fabrication au sein des grandes universités. Étrangement, les techniques de micro-fabrication ont été utilisées tout d'abord pour créer des microsystèmes complexes comme des accéléromètres, avant d'être appliquées à des systèmes plus simples que sont les microcanaux. La redécouverte des microcanaux permit à des physiciens d'étudier des phénomènes fondamentaux puis des chimistes et des biologistes commencèrent à utiliser la microfluidique à partir du milieu des années 90.

Parmi le grand nombre d'applications de la microfluidique, deux principales directions peuvent être distinguées. D'une part l'utilisation de la microfluidique comme outil pour étudier des phénomènes avec une plus grande précision. Dans cette optique nous pouvons mentionner, entre autres, les phénomènes de glissements à l'interface liquide-solide [6, 7], la percolation, l'étirement de macromolécules dans des écoulements [8] et le processus d'agrégation de particules soumises à un écoulement, qui sera traité dans la deuxième partie de ce manuscrit.

D'autre part, la microfluidique peut être utilisée pour créer des systèmes d'analyses chimiques ou biologiques. Les apports de la microfluidique sont alors multiples : grande sensibilité, portabilité ou haut débit. Ce domaine des microsystèmes d'analyses totales intégrées,

plus connu sous le nom de MicroTaS, est actuellement un des plus actifs.

### 1.1.2 Les microsytèmes d'analyses intégrés

#### 1990 : l'introduction du concept de $\mu$ TAS

Nous avons mentionné ci-dessus le premier microsytème de chromatographie en phase gazeuse qui date de la fin des années 70. Mais l'intérêt de la microfluidique pour réaliser des analyses chimiques ou biologiques n'est apparu qu'au début des années 1990 avec l'introduction par A. Manz du concept de "Micro Total Analysis System" [9]. Un  $\mu$ TAS regroupe sur le même substrat un ensemble de fonctions permettant l'analyse complète d'un échantillon, on parle alors de "laboratoire sur puce". Dans sa forme la plus évoluée, un sytème d'analyses intégrés doit comporter toutes les étapes de préparation de l'échantillon brut, une goutte de sang par exemple, les étapes de séparation, d'analyse et de détection menant au résultat escompté. Les avantages apportés par la minuaturation sont nombreux, mais nous pouvons mentionner tout particulièrement la diminution des volumes des échantillons et des réactifs ainsi que la possibilité de réaliser un grand nombre d'analyses parallèlement sur le même sytème (*high throughput*). Ces deux aspects étant particulièrement intéressants pour les analyses biologiques, les applications des microsytèmes ont dépassé le domaine de la chimie analytique pour investir celui des analyses biologiques.

#### 2004 : un domaine en pleine croissance

Aujourd'hui le domaine des  $\mu$ TAS est très actif, il suffit pour s'en convaincre de compter la part grandissante des articles traitant de microsytèmes publiés dans des journaux "généralistes" comme *Analytical Chemistry*, *Electrophoresis* ou encore *Physical Review Letters*, et le succès grandissant des conférences liées à ce domaine comme  $\mu$ TAS ou *Nanotech*.

Plusieurs articles de revues, publiés ces dernières années, permettent d'appréhender la richesse de ce domaine. Une vision globale des microsytèmes est donnée par les revues de A. Manz [2, 10] mises à jour récemment [11]. Plus spécifiquement, des revues traitant des microsytèmes d'analyses médicales [12], dédiés à la protéomique [13] ou aux sytèmes en polymères [14, 15] ont été publiées en 2002-2003.

Plus particulièrement, les sytèmes destinés à la biologie couvrent l'ensemble du spectre allant de l'ADN à la cellule en passant par les protéines. Sans prétendre à la moindre exhaustivité, on peut mentionner des sytèmes permettant de séparer l'ADN [16, 17], d'étudier la cristallisation des protéines [18], ou encore de trier des cellules [19]. Des microsytèmes permettent également d'analyser des mélanges de protéines en utilisant une digestion enzymatique suivie d'une analyse par électrophorèse [20, 21, 22].

Des sytèmes plus complets ont récemment été présentés, se rapprochant du concept de  $\mu$ TAS introduit précédemment. Nous pouvons mentionner le sytème portable développé à l'université de Berkeley [23] qui permet de détecter la présence de bactéries dans un échantillon brut à l'aide d'un protocole basé sur l'amplification de l'ADN, l'identification étant réalisée par électrophorèse capillaire. Un sytème similaire a également été développé par Motorola jusqu'à un stade avancé avant que le projet ne soit stoppé [24].

Ces exemples d'intégrations très poussées restent marginales car l'intérêt de sytèmes réellement portables n'est pas encore démontré pour des applications civiles. L'objectif actuel est plus de développer des plates-formes d'analyses autonomes pour des laboratoires de recherche

ou des instituts médicaux. La grande majorité des systèmes développés actuellement comporte donc deux ou trois fonctions s'insérant dans un protocole d'analyse "macroscopique" plus complexe, la miniaturisation permettant un meilleur contrôle des flux et une plus grande sensibilité.

### Quelques perspectives scientifiques et industrielles

Bien entendu il ne s'agit pas ici de produire une analyse du domaine des  $\mu$ TAS à long terme mais de souligner quelques points qui paraissent importants. Le développement des microsystèmes nécessite des investissements importants que peu d'institutions de recherche publiques peuvent supporter seules, malgré l'utilisation de nouveaux matériaux plastiques et élastomères. De plus ce domaine de recherche a un but applicatif clair et se tourne donc naturellement vers le secteur privé afin de développer des systèmes complets.

Plusieurs sociétés ont investi ce domaine ces dernières années et proposent des produits performants. Parmi celles-ci on peut citer Caliper et Agilent qui proposent des systèmes d'analyses par électrophorèse, ainsi que Fluidigm qui vend des systèmes d'aide à la cristallisation de protéines. En comparaison avec le nombre élevé de microsystèmes développés dans les laboratoires, le passage au stade industriel reste pour l'instant marginal. Mais lorsque le pas est franchi, les perspectives industrielles sont de l'ordre du milliard d'euros par an.

L'activité de recherche est très active, tout particulièrement dans le domaine de la biologie mais cette variété peut poser des problèmes de visibilité. Il est difficile de comparer objectivement les différentes méthodes utilisées, chaque groupe présentant les meilleurs résultats obtenus pour un type d'analyse donné. Il serait utile de définir des analyses standard qui serviraient d'étalons à tous les systèmes. Se pose alors le problème d'identifier le protocole d'analyse qui sera le plus utilisé dans les prochaines années, comme l'a été l'électrophorèse capillaire automatisée pour le séquençage du génome. Dans le cas de la protéomique, seule l'utilisation de la spectrométrie de masse paraît certaine, ce qui explique le développement des microsystèmes possédant une interface avec un spectromètre [25, 26].

Du point de vue de l'utilisateur, il existe une forme de conservatisme, liée également au manque de visibilité, qui freine le développement des microsystèmes dans les centres d'analyses. L'absence d'une plate-forme de détection standardisée est également un handicap souvent évoqué.

En conclusion, le domaine des microsystèmes doit entrer dans une phase de maturation où un tri devra s'effectuer parmi le grand nombre de technologies et de matériaux disponibles. L'introduction de standards permettra également une meilleure visibilité, incitant utilisateurs et industriels à se tourner vers les microsystèmes. Dans une optique de recherche plus fondamentale, on peut mentionner l'utilisation de nouveaux matériaux, la mise au point et l'intégration de systèmes de détections sensibles ou encore l'amélioration des connections entre les échantillons macroscopiques et les microsystèmes par le biais de systèmes de préconcentrations.

## 1.2 Quelques rappels sur les systèmes microfluidiques

Les dimensions typiques des microsystèmes sont comprises entre une fraction de micron et le millimètre. Si l'on excepte les phénomènes de raréfaction des gaz qui mettent en jeu des comportements physiques particuliers, la physique des microsystèmes ne diffère pas de la physique classique. Néanmoins l'augmentation du rapport surface sur volume nécessite

de prendre davantage en compte des phénomènes surfaciques le plus souvent négligés à plus grande échelle. Parallèlement certaines forces telle la gravité peuvent devenir négligeables.

Nous ne détaillerons pas ici l'ensemble des phénomènes physiques pouvant être mis en jeu dans les microsystèmes mais nous nous concentrerons sur quelques points fondamentaux qui prendront toute leur place dans la suite de ce mémoire. Nous soulignerons ensuite l'importance de la microfabrication, dont les principales techniques utilisées au cours de ce travail seront présentées dans le prochain chapitre.

### 1.2.1 L'hydrodynamique à bas nombre de Reynolds

Lorsque l'on traite de *microfluidique* il semble indispensable d'introduire l'hydrodynamique à bas nombre de Reynolds ( $Re$ ) défini par :

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

où  $U$  et  $L$  représentent la vitesse et la longueur typique de l'écoulement,  $\eta$  et  $\rho$  étant la viscosité et la masse volumique du fluide. Ce nombre sans dimension est le rapport des forces inertielles vis-à-vis des forces visqueuses. Lorsque le nombre de Reynolds est petit, l'équation de Navier-Stokes

$$\frac{D\mathbf{v}}{Dt} = -\frac{1}{\rho}\nabla p + \nu\Delta\mathbf{u} + \frac{1}{\rho}\mathbf{F} \quad (1.2)$$

devient, si l'on considère de plus un écoulement stationnaire,

$$\eta\Delta\mathbf{v} - \nabla p + \mathbf{F} = 0 \quad (1.3)$$

où  $\eta$  est la viscosité dynamique et  $\mathbf{F}$  est une force extérieure par unité de volume.

Les canaux utilisés dans les systèmes microfluidiques ont souvent des rapports d'aspects importants. Leur largeur  $w$  est grande devant l'épaisseur  $h$  ce qui permet de négliger les effets de bords, la vitesse étant uniforme sur toute la largeur. En utilisant cette approximation ( $w/h \ll 1$ ) dans le cas où il n'y a pas de force extérieure  $\mathbf{F}$  appliquée, la résolution de l'équation précédente est de la forme :

$$v = -z(h-z)\frac{1}{2\eta}\nabla P, \quad (1.4)$$

où  $\nabla P$  est le gradient de pression uniforme sur toute la longueur du canal. Le débit correspondant  $Q$  est donné par :

$$Q = -\frac{h^3 w}{12\eta}\nabla P, \quad (1.5)$$

ce qui correspond à une vitesse moyenne  $v_0$  :

$$v_0 = -\frac{h^2}{12\eta}\nabla P. \quad (1.6)$$

La vitesse moyenne de l'écoulement varie comme le carré de l'épaisseur du canal. La miniaturisation est donc très défavorable aux flux hydrodynamiques générés par des gradients de pression. De plus un nombre de Reynolds petit implique l'absence des phénomènes turbulents qui sont utilisés dans les systèmes macroscopiques pour assurer le mélange. Ce problème du

mélange, crucial dans les systèmes d'analyses intégrés, sera traité dans la dernière partie du manuscrit.

Néanmoins l'absence de turbulence présente des avantages. Il est ainsi possible d'obtenir des valeurs de cisaillement conséquentes, de l'ordre de plusieurs dizaines de hertz, en conservant un caractère laminaire à l'écoulement. Cet aspect est utilisé actuellement au laboratoire pour étudier la rhéologie de fluides complexes. Nous utiliserons également cette caractéristique pour étudier l'influence du cisaillement sur la dynamique d'agrégation de particules (Part.I,p.35).

### 1.2.2 L'influence des surfaces

Comme mentionné précédemment il est nécessaire de prendre en compte les forces surfaciques qui pouvaient souvent être négligées dans les systèmes de tailles centimétriques. Nous nous intéresserons dans cette section à deux d'entre elles qui joueront un grand rôle dans la suite de ce travail.

#### L'électrocinétique

Lorsqu'un électrolyte est au contact d'une surface, celle-ci se charge spontanément et acquiert un potentiel électrique  $\zeta$ . Cette charge surfacique perturbe la distribution des ions sur une distance  $\lambda_D$  comprise en pratique entre 1 et 100 nm. La charge de l'électrolyte est alors non-nulle à proximité de la paroi.

Cette couche chargée peut être advectée par un flux hydrodynamique générant un courant électrique appelé *courant d'écoulement*. De manière symétrique si l'on applique un champ électrique tangent à la paroi, cette couche chargée se déplace, entraînant un flux hydrodynamique appelé flux électroosmotique.

Nous détaillerons dans la partie II les effets électrocinétiques. D'une manière générale si un champ électrique  $\mathbf{E}$  est appliqué dans un canal dont les parois sont au potentiel  $\zeta$ , la vitesse du flux est donnée par :

$$\mathbf{v} = -\frac{\zeta\varepsilon}{\eta}\mathbf{E} \quad (1.7)$$

où  $\varepsilon$  et  $\eta$  sont la permittivité et la viscosité du fluide.

Cette vitesse est uniforme sur toute la largeur du canal, il s'agit d'un écoulement de type *bouchon*. Pour une différence de potentiel électrique donnée entre les deux extrémités d'un canal, la vitesse du flux sera donc indépendante de l'épaisseur du canal. À la différence d'un écoulement de Poiseuille, où la vitesse moyenne dépend du carré de l'épaisseur, le flux électroosmotique subit la minaturisation sans dommage.

De plus, l'aspect *Electrique* des M E MS encourage la réalisation de systèmes fluidiques contrôlés par des champs électriques. Toutes les techniques de microfabrication permettant le dépôt d'électrodes, et elles sont nombreuses [27], peuvent potentiellement être utilisées pour contrôler des flux électroosmotiques.

Des systèmes microfluidiques ont également été conçus autour d'effets électrocinétiques induits par des champs alternatifs créés par des réseaux d'électrodes microfabriqués [28,29,30].

#### L'adsorption

Le phénomène d'adsorption décrit l'accumulation d'objets aux interfaces liquide-solide ou plus généralement entre deux phases. L'origine de ce comportement est la différence d'affinité



existant entre un objet (molécule, particule solide, . . .) et chacune des deux phases.

Dans le cas d'un objet en suspension dans un canal, l'objet peut "aimer" davantage les parois que le solvant. Si un tel objet entre en contact avec une paroi, cette situation est plus favorable du point de vue énergétique, il voudra donc y rester le plus longtemps possible. Les objets présents dans le système sont à l'équilibre à une certaine concentration dans le volume, les parois étant également recouvertes d'objets à une concentration surfacique donnée. La miniaturisation augmentant le rapport surface sur volume, la proportion d'objets adsorbés sera plus importante dans un système microfluidique, toute chose étant égale par ailleurs. De plus la diminution des distances accélère le phénomène d'adsorption qui utilise la diffusion pour amener les objets au contact des parois.

Le phénomène d'adsorption peut être utilisé en chromatographie pour séparer des analytes ayant des affinités différentes pour les parois. La vitesse moyenne des analytes est alors celle du fluide multipliée par la fraction de temps où ils ne sont pas adsorbés. On peut également le considérer comme un phénomène parasite très gênant lors du transport d'un produit à l'intérieur d'un capillaire. Bien entendu cela est gênant lorsque le fonctionnement n'est pas continu. Dans le cas contraire les parois saturent, ayant une capacité d'adsorption finie, et après une phase transitoire l'adsorption n'est plus un problème. Mais dans le cas du transport d'une quantité finie de produit à travers un circuit microfluidique, une partie importante, voire la totalité, peut se "perdre" en cours de route. L'adsorption étant un phénomène dynamique, un deuxième problème peut apparaître si le produit adsorbé retourne en solution à un moment inopportun. L'adsorption peut également perturber les flux électroosmotiques en modifiant la charge de surface des microcanaux.

Ces phénomènes seront illustrés dans les deuxième et dernière parties de ce manuscrit où l'adsorption de particules et de protéines seront présentes.

### 1.2.3 L'importance de la microfabrication

La microfluidique est directement issue du monde des MEMS (Micro Electro Mechanical Systems) qui s'est développé à partir des techniques de microfabrications mises au point pour la microélectronique. Depuis la fin des années 90, des méthodes de fabrication ont été développées spécifiquement pour la microfluidique, comme la lithographie molle. Cet héritage technologique est toujours très présent car les avantages liés à la miniaturisation dépendent considérablement de l'étape de fabrication.

Un bon contrôle des écoulements et une bonne reproductibilité ne peut être assuré que dans des systèmes dont les dimensions sont parfaitement définies. De plus tous les phénomènes de surfaces, dont l'importance a été introduite dans la section précédente, dépendent considérablement des techniques de microfabrication.

Nous détaillerons dans le chapitre suivant (p. 19) les techniques utilisées au cours de ce travail pour réaliser les microsystèmes.

## 1.3 Présentation des trois thèmes abordés durant la thèse

En conclusion de ce chapitre d'introduction, les trois parties formant le cœur de ce manuscrit seront présentées brièvement. Il n'existe pas de fil conducteur logique liant ces parties, chacune pouvant être lues indépendamment. Néanmoins la réunion de ces trois thèmes illustre la variété des sujets et des approches offerts par la microfluidique.

Le premier d'entre eux exploite le très bon contrôle des écoulements que l'on peut obtenir dans un microcanal. Nous avons étudié un phénomène d'agrégation en présence d'un cisaillement hydrodynamique. La microfluidique est ici utilisée comme un nouvel outil pour le physicien.

Le second thème est une étude théorique des phénomènes électrocinétiques. L'objectif est ici de donner un formalisme et quelques outils analytiques adaptés aux microsystèmes, en étendant les études originelles des effets électrocinétiques dans des canaux homogènes et droits [31, 32, 33] à la variété des géométries permises par les techniques de microfabrication.

Issue d'une collaboration avec le Laboratoire de Biologie et Diversité Cellulaire de l'ESCPI, le troisième projet est un exemple de  $\mu$ TAS d'analyse de protéines. Il s'agit là d'une application classique de la microfluidique, mais qui présente l'originalité de coupler dans le même système deux modes de contrôle des écoulements : l'électroosmose et des pompes intégrées.

### 1.3.1 Agrégation de particules

Nous avons vu que les circuits microfluidiques permettaient un très bon contrôle des écoulements. Ces systèmes sont donc particulièrement adaptés pour étudier l'influence des écoulements sur des processus physiques. Nous nous intéresserons dans la partie I à l'influence d'un écoulement laminaire sur la cinétique d'agrégation de particules paramagnétiques soumise à un champ magnétique colinéaire à l'écoulement.

Soumises à un champ magnétique, les particules acquièrent un moment dipolaire. Pour minimiser l'énergie du système, les dipôles s'alignent en direction du champ pour former des chaînes de particules. La portée de l'interaction magnétique étant limitée, le mouvement entre les particules est Brownien à grande distance. En l'absence d'écoulement, l'agrégation est contrôlée par la diffusion et la taille des chaînes évolue avec le temps en puissance  $\frac{1}{2}$ .

Un mode d'agrégation gouverné par la diffusion devient donc défavorable lorsque le diamètre des particules est trop grand. Pour s'affranchir de cette limite, nous nous avons remplacé le transport par diffusion par un transport par advection. À courte distance l'interaction dipolaire domine toujours, et permet la formation des chaînes, mais le processus qui approche les particules n'est plus la diffusion mais un gradient de vitesse (Fig. 1.1).

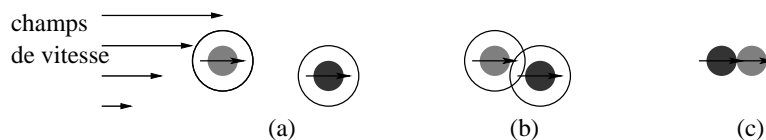


FIG. 1.1 – Processus d'agrégation sous écoulement. (a) Deux particules se trouvent sur des lignes de champ de vitesse différentes ; (b) la particule la plus rapide a rattrapé la plus lente, l'interaction dipolaire permet alors la formation d'un doublet.

Nous montrerons que ce processus d'agrégation dépend linéairement du temps, le taux de croissance résultant de la compétition entre l'interaction magnétique et la force de trainée visqueuse. Un modèle basé sur l'équation de diffusion-agrégation (Théorie de Smoluchovski) sera développé pour décrire le comportement de ce système.

Cette partie sera centrée autour d'un article à paraître dans Journal of Colloids and Interface Science.

### 1.3.2 Électrocinétique linéaire pour géométries microfluidiques non triviales

La partie suivante présente des travaux théoriques traitant des phénomènes électrocinétiques. L'électrocinétique réunit les phénomènes de transports hydrodynamiques et électriques pouvant avoir lieu au sein d'un électrolyte. Plus spécifiquement nous allons présenter les phénomènes d'électroosmose et de courant d'écoulement qui peuvent se développer au sein d'un circuit microfluidique.

Après avoir introduit le formalisme linéaire qui sera utilisé dans toute la suite, les symétries entre courant d'écoulement et flux électroosmotique seront prouvées dans le cas d'une topologie quelconque <sup>1</sup>. Nous appliquerons ensuite l'approximation de couche de Debye fine, classique pour l'électroosmose, au cas du courant d'écoulement. Nous vérifierons au passage que les symétries introduites précédemment sont toujours valides dans le cas de cette approximation. Dans le dernier chapitre nous donnerons les structures des courants électriques et des flux hydrodynamiques se développant dans des géométries modulées modèles qui ont montré leur intérêt dans plusieurs systèmes microfluidiques [35, 36].

### 1.3.3 Laboratoire sur puce pour la protéomique

Évoqués lors de l'introduction, les microsystèmes d'analyses intégrés (*Micro Total Analysis System*) sont l'un des domaines les plus actifs de la microfluidique et tout spécialement ceux destinés à la biologie. Les contraintes associées aux analyses biologiques sont nombreuses. Nous pouvons mentionner tout particulièrement :

- les diverses contaminations,
- la complexité et le nombre des opérations,
- les très faibles volumes mis en jeu.

Cette dernière caractéristique illustre le mieux l'utilité de la microfluidique dans le domaine biologique. Mais la miniaturisation n'est pas la seule motivation. En effet la possibilité de coupler diverses opérations dans le même système permet à la fois d'augmenter la rapidité des analyses tout en limitant drastiquement les pollutions et contaminations liées aux manipulations extérieures.

Suivant cet esprit, en collaboration avec le laboratoire de biologie de l'ESPCI, nous avons développé un laboratoire sur puce d'analyse de protéines en PDMS (poly(diméthylsiloxane)). Il comporte un étage de séparation électrophorétique suivi d'une étape de digestion enzymatique. L'analyse des peptides résultants de la digestion est effectuée par spectrométrie de masse. Nous décrirons ce système dans la dernière partie (p. III).

L'originalité principale de ce système est la coexistence sur la même "puce" d'une partie où les flux sont contrôlés par des champs électriques et d'une partie "actuation" où les flux sont contrôlés à l'aide de pompes et de vannes intégrées. Pour réaliser ce système nous avons utilisé une technologie à deux niveaux que nous présenterons dans le prochain chapitre (Sec. 2.2.1 p. 24).

---

<sup>1</sup>Ce chapitre est la reproduction d'un article publié dans Phys. Rev. E en janvier 2004 [34]

## Chapitre 2

# La microfabrication

Le développement de la microfluidique est conjointe à l'utilisation de nouvelle méthode de fabrication des systèmes fluidiques. Historiquement la microfluidique est une branche du monde des *Micro Electro Mechanicals Systems*, plus connu sous le vocable MEMS. Ces derniers sont les descendants directs des techniques de microfabrication développées pour la microélectronique au cours des années 1970. Principalement à base de silicium les MEMS ont vu leur domaine d'application s'étendre aux systèmes fluidiques grâce à la mise au point des méthodes de gravures profondes et de collages, permettant de creuser des canaux dans un substrat puis de les refermer à l'aide d'un couvercle, l'étanchéité étant assurée par le processus de collage. Parallèlement aux techniques microélectroniciennes, il est apparu à la fin des années 1990 des techniques dites "douces" permettant de réaliser des canaux dans des élastomères ou des plastiques.

Les travaux expérimentaux présentés dans ce manuscrit ont nécessité les deux types de techniques, dures et douces. Nous allons donc en présenter les grands principes en commençant par les techniques "dures". L'objectif de cette section n'est pas fournir des descriptions exhaustives des différents procédés [37, 27] mais de se concentrer sur leurs principales caractéristiques ainsi que sur certains aspects moins standard de fabrication utilisés au cours de ce travail. Le détail des protocoles de fabrication sera donné sous une forme condensée à la fin de ce chapitre.

### 2.1 Les techniques de microfabrication *dures*

La dénomination "dures" provient des matériaux utilisés : le verre et surtout le silicium. Dérivant des procédés planaires de la microélectronique les géométries sont principalement bi-dimensionnelles.

Nous avons mentionné précédemment le motif élémentaire des systèmes microfluidiques : le canal. Vu de dessus il s'agit d'un simple trait de largeur donnée. La première étape est donc de définir les dimensions latérales du canal par lithographie puis de graver le substrat à la profondeur désirée.

### 2.1.1 La lithographie

#### Les grands principes

La lithographie permet de créer des structures d'épaisseur uniforme dans une résine photosensible déposée sur un substrat le plus souvent en verre ou en silicium. Dans la suite nous utiliserons le terme *wafers* pour dénomer tous les substrats.

Trois étapes sont nécessaires pour réaliser une lithographie :

1. l'enduction de la résine,
2. l'insolation et
3. le développement.

**L'enduction** Le dépôt de résine s'effectue à l'aide d'une tournette ou spin-coater, qui permet un étalement uniforme de la résine. L'épaisseur obtenue dépend de la vitesse de rotation  $\omega$  du wafer et de la viscosité  $\eta$  de la résine.

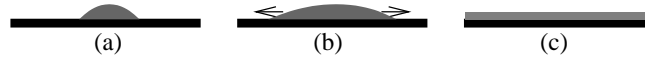


FIG. 2.1 – Les trois étapes de l'enduction : (a) dépôt d'une goutte de résine au milieu du wafer ; (b) pré-étalement à 500 rpm pendant 10s ; (c) étalement pendant 30s à 1000-4000 rpm pour obtenir l'épaisseur voulue.

La résine étalée est ensuite chauffée pour évaporer le solvant afin d'obtenir une couche solide.

**Insolation** La résine étant sensible aux U.V. on utilise un masque opaque pour réaliser l'équivalent d'un tirage photographique. Ce dernier peut être en chrome ce qui permet des résolutions micrométriques, ou plus simplement en film transparent utilisé dans les procédés d'imprimerie offset, lorsqu'une résolution latérale de quelques microns suffit.

Le masque définissant les structures désirées est mis au contact du wafer enduit de résine puis éclairé ( insolé ) par un faisceau parallèle de lumière U.V. (365nm ou 405 nm) ( Fig. 2.2).

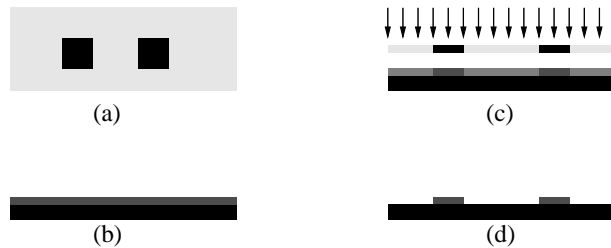


FIG. 2.2 – Principe de la lithographie. Un masque opaque aux U.V. (a) est dessiné à l'aide d'un logiciel de CAD Une résine (positive) est déposée à l'aide d'une tournette (b) puis insolée par un faisceau parrallèle d'U.V. (c). Après le développement, les motifs des masques ont été transférés sur le wafer (d).

**Les résines négatives** comme la SU8<sup>1</sup> contiennent un catalyseur photo-actif qui permet la réticulation de la résine. Après insolation la résine est chauffée pour permettre les réactions de réticulation. Les structures insolées sont celles qui resteront après le développement.

**Les résines positives** comme la SJR-5740<sup>2</sup>, réagissent différemment à l'insolation. Les photons initient une cascade de réactions chimiques dégradant la résine. Les structures obtenues à la fin du processus sont celles qui n'ont pas été insolées.

**Développement** Le wafer est alors mis au contact d'un produit chimique qui dissout la résine insolée dans le cas des résines positives, ou la résine non-insolée dans le cas des résines négatives.

Après rinçage on obtient alors les structures voulues dont les dimensions latérales sont définies par le masque et l'épaisseur par l'étape d'enduction (Fig. 2.3).

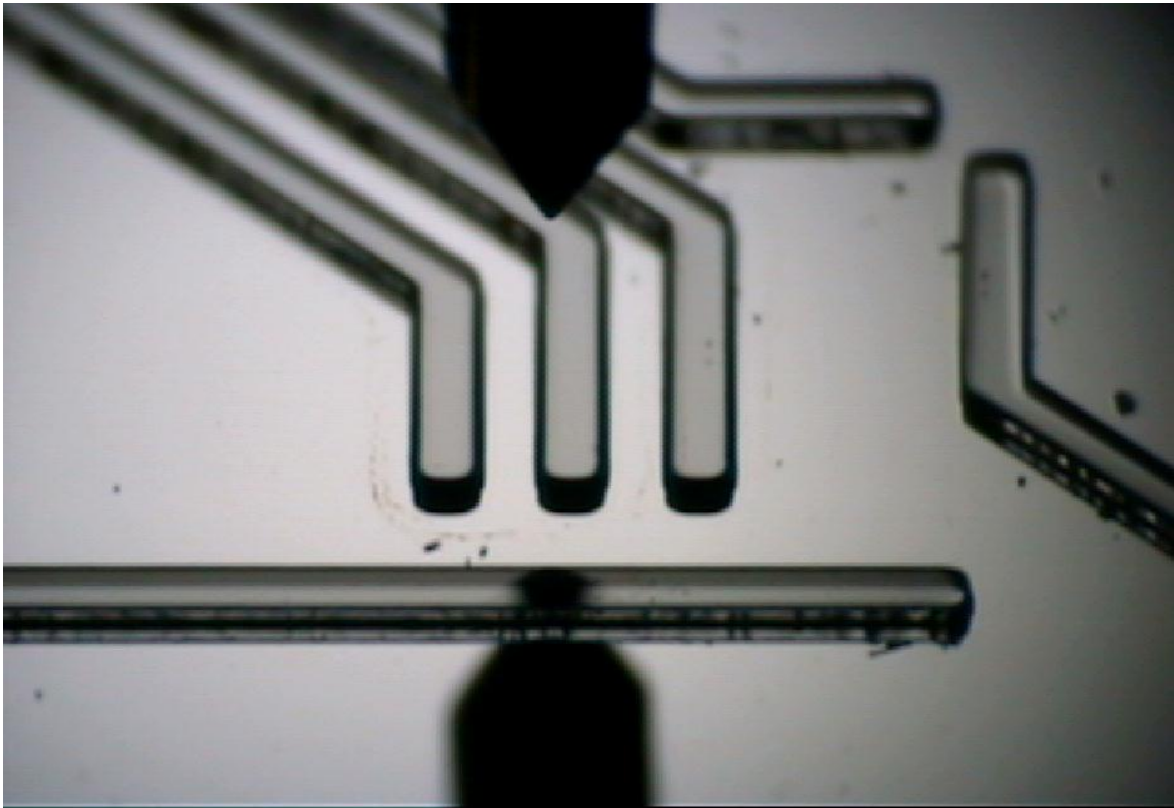


FIG. 2.3 – Exemple de structure en résine SU8. Les canaux ont une largeur de 200 microns et un épaisseur de 70 microns. La pointe noire est le stylet du profilomètre qui permet de caractériser les structures.

À la différence des négatives, les résines positives ne sont pas réticulées à la fin du procédé. Cela a l'avantage de pouvoir nettoyer plus facilement le wafer en cas de mauvaise manipulation ou lorsque l'étape de lithographie n'est qu'un intermédiaire de fabrication. De plus si l'on

---

<sup>1</sup>Microtech Corporation

<sup>2</sup>Shipley

chauffe cette résine au-dessus de sa température de transition vitreuse, les forces capillaires peuvent arrondir un canal rectangulaire. L'intérêt de ce recuit sera discuté dans la section 2.2.1.

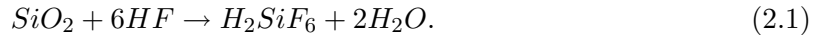
### 2.1.2 Les techniques de gravures

Le principe de toutes les gravures est de "creuser" à l'aide d'une attaque chimique ou physique le substrat à des endroits déterminés par une étape de lithographie. Le plus souvent la couche de résine n'est pas suffisante pour protéger le substrat. Il est donc nécessaire de déposer une couche protectrice intermédiaire. La règle du jeu principale de la microfabrication est de trouver des couples matériau/attaque indépendants les uns des autres. L'indépendance permet de graver sélectivement les différentes couches protectrices (Fig. 2.4).

Les étchants peuvent être sous forme liquide, il s'agit alors de gravure *humide*. Les étchants sous forme gazeuse réalisent des gravures *sèches*.

#### La gravure humide

Par gravure humide on entend tous les procédés d'attaques chimiques en phase liquide. Pour les substrats en verre, le réactif le plus utilisé est l'acide fluorhydrique qui dissout la silice selon la réaction suivante :



La gravure est alors isotrope et la forme des canaux est circulaire. Dans ce cas, le dépôt protecteur est constitué d'une couche d'or de quelques centaines angstroms, une fine couche de chrome intermédiaire facilitant l'adhésion de l'or sur le verre.

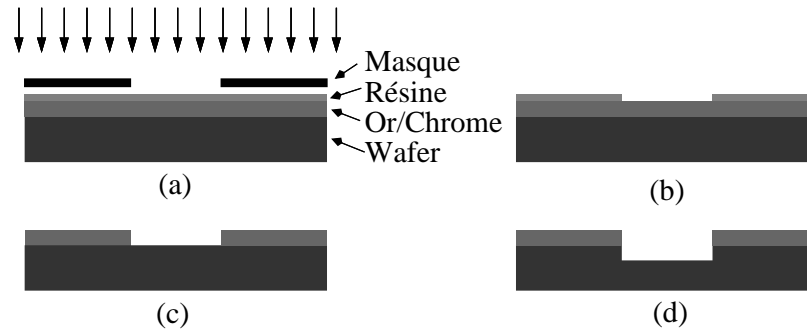


FIG. 2.4 – Protocole de gravure du verre par l'acide fluorhydrique. (a) et (b) représentent les étapes de lithographie. Après le développement de la résine, l'or et le chrome sont attaqués pour mettre à nu le verre (c). Le verre est ensuite gravé (d) puis les couches de protection sont finalement enlevées.

Si l'on veut graver du silicium, on peut utiliser de l'hydroxyde de Potassium et un dépôt d'oxyde de silicium comme couche protectrice. Dans ce cas les canaux obtenus sont le plus souvent de forme trapézoïdale car le KOH grave préférentiellement suivant la direction (111). La forme du canal dépend alors de l'orientation cristalline du wafer de silicium.

#### La gravure sèche : DRIE

La Deep Reactive Ion Etching est l'alternance d'une étape de gravure par bombardement d'un plasma d'hexafluorure de soufre ( $SF_6$ ) et d'une étape de protection par dépôt d'une

fine couche de fluoro-carbone (Fig 2.5). Cette couche de protection ne résiste pas à l’attaque directe des ions mais est suffisante pour limiter la gravure latérale dûe aux réflexions.



FIG. 2.5 – Principe de la DRIE. La première étape de gravure (a) est suivie du dépôt d’une couche protectrice (b) qui résiste à l’attaque indirecte durant la deuxième étape de gravure (c). Le cycle de protection-gravure se poursuit ensuite (d).

En utilisant ce procédé il est possible d’obtenir des structures ayant des rapports d’aspect très importants, ainsi que de traverser de part en part des wafers de silicium pour créer, entre autres, des connexions fluidiques.

### 2.1.3 Le collage (*bonding*)

Le dernier aspect des méthodes de fabrication dures est le collage, ou *bonding*. Le plus souvent la circulation des fluides s’effectuent dans des canaux fermés, bien que l’on assiste au développement de systèmes ouverts utilisant des gouttes [38,39]. Il est donc indispensable d’assurer l’étanchéité des canaux en collant d’une manière ou d’une autre un couvercle au dessus des canaux

Si l’on excepte l’utilisation des colles chimiques, deux techniques sont particulièrement usitées en microfluidique :

1. le collage anodique et
2. la fusion.

#### Le collage anodique

Le collage anodique (*anodic bonding*) consiste à mettre au contact à haute température ( $400^{\circ}C$ ) un wafer en silicium et un wafer en verre puis d’appliquer une différence de potentiel de plusieurs centaines de volts entre eux. La migration des ions jusqu’à l’interface assure un collage électrostatique de grande résistance. Une partie des circuits utilisés pour étudier l’aggrégation de particules paramagnétiques (Part I, p. 35) a été réalisée par cette technique à l’ESIEE<sup>3</sup>.

Mis à part la nécessité d’utiliser une machine complexe, ce type de collage n’est possible qu’entre du silicium et un verre possédant un dopage particulier en ions sodium. Son utilisation est donc impossible pour réaliser des systèmes en verre totalement transparents.

#### Le collage par fusion

Le “fusion bonding” consiste à chauffer juste au-dessus de leur température de transition vitreuse deux wafers en verre mis en contact. Une fois revenu à température ambiante, les

<sup>3</sup>École Supérieure d’Ingénieurs en Électronique et Électrotechnique, Marnes-la-Vallée



couches superficielles des deux substrats ont fusionné ce qui assure l'étanchéité du système.

L'avantage de cette technique est double. Elle permet de réaliser des systèmes entièrement en verre, donc transparents, en utilisant simplement un four programmable.

La réalisation de circuits microfluidiques en verre collés par fusion bonding est donc envisageable relativement rapidement et à un coût raisonnable par rapport aux techniques associées au silicium. Néanmoins le désir de concevoir rapidement des prototypes ou des systèmes à usage unique peu coûteux a introduit des nouveaux matériaux plus adaptés à ces considérations.

## 2.2 Les techniques de microfabrication *douces*

Parmi les nouveaux matériaux utilisés pour les systèmes microfluidiques, deux catégories sont particulièrement utilisées :

1. les plastiques comme le polycarbonate et
2. les élastomères et tout particulièrement le poly(diméthylsiloxane).

### 2.2.1 Le poly(di méthyl siloxane), ou PDMS

Le PDMS est un polymère dont la formule chimique du motif de base est représentée Fig. 2.6. Il se présente sous la forme d'un liquide visqueux, transparent dans le visible. Pour

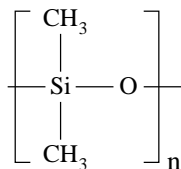


FIG. 2.6 – Formule chimique du PDMS

obtenir un élastomère, il faut le mélanger à un agent réticulant puis le chauffer pendant quelques heures pour activer les réactions de réticulations.

Il existe deux types de PDMS sur le marché, dont les caractéristiques sont similaires :

- le Sylgard 184 de Dow Corning et
- le RTV 615 de Bayer Silicones.

Nous avons commencé à utiliser uniquement du Sylgard avant d'introduire du RTV dans certains procédés. Les protocoles suivis étant similaires, nous emploierons le vocable PDMS indifféremment pour les deux produits lors de la description des protocoles.

### Réalisation d'un canal en PDMS

Il faut tout d'abord réaliser un moule ou *master* qui présente en relief les structures que l'on désire obtenir. Ce master est réalisé en résine par photolithographie puis mis en présence de vapeur de hexaméthyl-dichloro-silane (HMDS). Cette étape permet de déposer une couche moléculaire de HMDS qui facilite le démoulage du PDMS.

Le PDMS et l'agent réticulant sont alors intimement mélangés dans les proportions 10 :1. Le mélange est placé dans une cloche à vide jusqu'à disparition des bulles d'air pouvant être présentes puis versé sur le moule (Fig. 2.7.b).

La durée et la température de l'étape de réticulation déterminent les caractéristiques mécaniques de l'élastomère [40]. Le protocole standard suivi implique une température de  $72^{\circ}\text{C}$  pendant 2 heures.

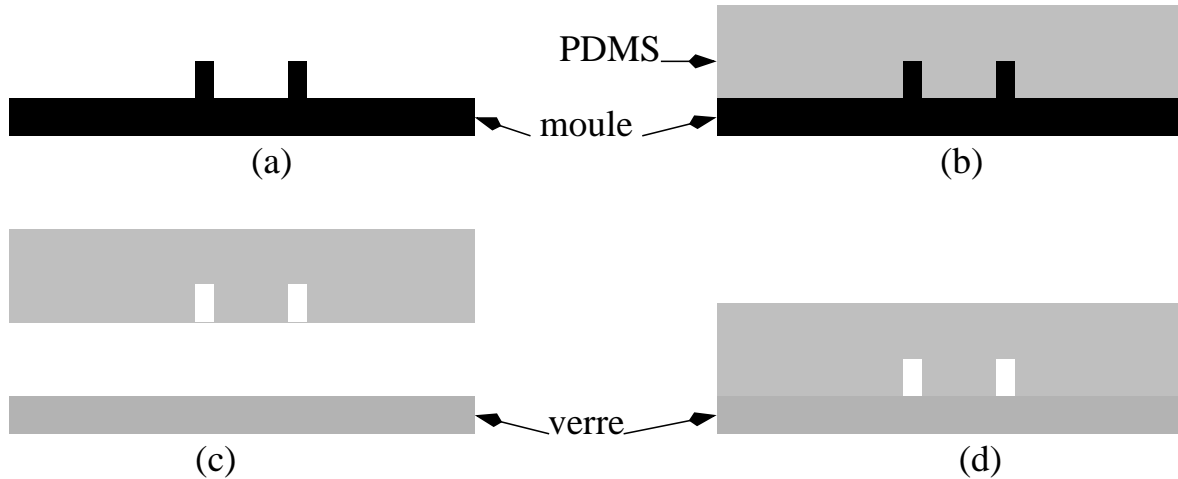


FIG. 2.7 – Étapes nécessaires à la réalisation d'un canal en PDMS. (a) Fabrication du moule; (b) Réticulation du PDMS; (c) Nettoyage plasma; (d) Collage.

Le PDMS étant réticulé, il est démoulé puis les connexions sont percées à l'aide d'un poinçon de diamètre adéquat. La fermeture des canaux s'effectue alors à l'aide d'un substrat en verre ou en PDMS réticulé (Fig. 2.7.d). Le collage peut être réversible, en utilisant simplement l'affinité existant entre des surfaces propres de même nature. Ou bien irréversible en utilisant un plasma d'oxygène. Dans ce cas une couche nanométrique de  $\text{SiO}_2$  se forme à la surface du PDMS ainsi que des fonctions silanols  $\text{Si}-\text{OH}$ . Si les surfaces de verre ou de PDMS exposées à ce plasma sont rapidement mises en contact, des liaisons covalentes sont créées, produisant un collage de grande qualité [41].

### Systemes à deux niveaux

Le PDMS étant un élastomère, une fine membrane peut facilement se déformer sous l'action d'une pression. En utilisant cette propriété, l'équipe de S. Quake a développé des systèmes à deux niveaux comportant des vannes et des pompes péristaltiques [42].

Une vanne est composée d'un canal de contrôle, connecté à une source de pression, placé au dessus du canal fluide que l'on veut fermer. La couche de PDMS séparant ces deux canaux ayant une épaisseur d'une vingtaine de microns, si l'on applique une surpression dans le canal d'actuation la membrane se déforme jusqu'à fermer le canal fluide.

Le protocole utilisé pour réaliser de tels systèmes est décrit dans la figure ( 2.9). Deux paramètres sont cruciaux : l'épaisseur de la fine couche de PDMS et le collage entre les différents niveaux.

Pour déposer une épaisseur contrôlée et fine de PDMS sur un moule, il est indispensable d'utiliser une tournette. L'épaisseur de la couche de PDMS est alors une fonction de la vitesse de rotation du wafer et de la durée d'enduction (Fig. 2.8).

Ces systèmes étant contrôlés par la pression, le collage entre les différentes couches doit être de très résistant. Deux méthodes existent pour réaliser un tel collage. En premier lieu nous

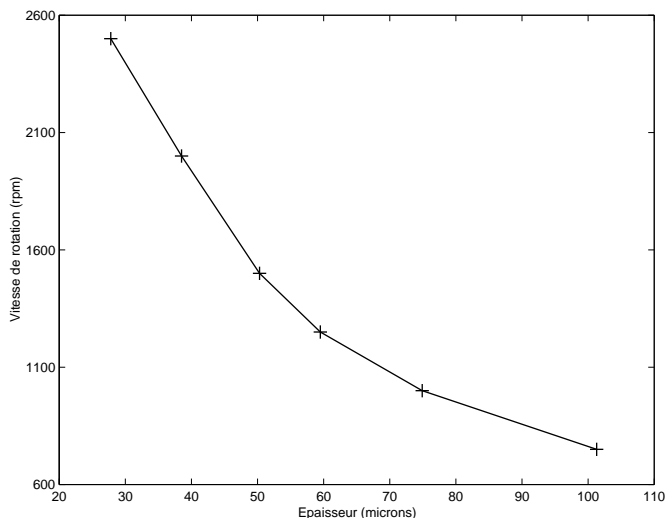


FIG. 2.8 – Vitesse de rotation en fonction de l'épaisseur de PDMS voulue. La durée de l'enduction est de 40 secondes, après une phase d'étalement de 10 s à 500 rotations par minutes (rpm).

pouvons utiliser le protocole à base de plasma d'oxygène présenté ci-dessus. Cette technique fonctionne parfaitement avec le PDMS Sylgard si l'on procède à un recuit juste après le collage.

Il est également possible de modifier les ratios réticulant/PDMS entre les différentes couches pour créer des ponts entre elles. Ce procédé fonctionne très bien avec le PDMS RTV en utilisant des ratios de 1/5 et 1/15 pour les deux couches de PDMS. Cette méthode est extrêmement robuste, l'unique paramètre critique étant la durée de la phase de réticulation antérieure au collage. Pour une température de 72 degrés cette phase doit durer 25 minutes. Le collage étant réalisé, la réticulation doit être poursuivie pendant au moins 1h30.

### 2.2.2 Autres techniques douces

La technologie liée au PDMS est la plus répandue actuellement dans le domaine de la microfluidique. Mais un certain nombre d'inconvénients liés à ses propriétés chimiques ainsi qu'au caractère bidimensionnel des structures obtenues ont encouragé le développement de technologies autour d'autres matériaux.

La première d'entre-elles est très proche de la technologie liée au PDMS. Il s'agit du matriçage, ou *embossing*. Une feuille de PolyCarbonate (PC) ou de Poly MethAcrylate de Methyl (PMMA) est chauffée au-dessus de sa température de transition vitreuse et pressée sur un moule rigide. Il est possible d'obtenir des structures de grande précision uniquement limitée par la précision du moule utilisé. Ainsi en utilisant des moules en silicium gravés par faisceau d'électrons, des résolutions nanométriques peuvent être atteintes [43].

Pour quitter le monde bidimensionnel, un procédé de *microstéréolithographie* à trois dimensions a été développé à l'EPFL [44]. Il consiste à reprendre les principes de la lithographie présentée précédemment en remplaçant l'étape d'insolation uniforme par un balayage laser à trois dimensions.

Dans le même esprit, la technique de *l'ablation laser* permet de réaliser des structures tridimensionnelles en "sculptant" une matrice de polymère à l'aide d'un faisceau laser intense.

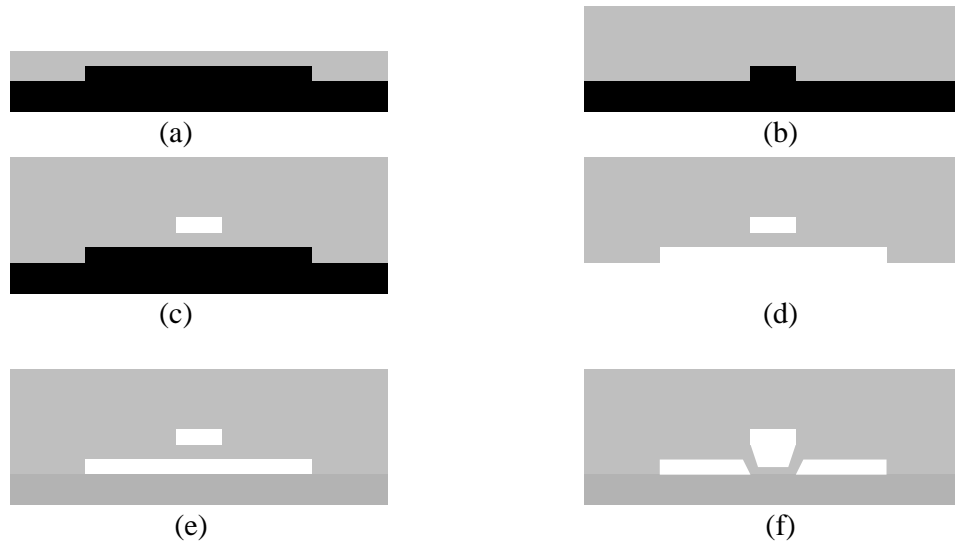


FIG. 2.9 – Étapes nécessaires pour la réalisation d'un système à deux niveaux. Réalisation de la membrane en PDMS à l'aide d'une tournette (a) et de la couche épaisse (b). Après réticulation, les connexions sont percées dans la couche épaisse qui est ensuite collée sur la membrane (c). Les deux niveaux sont décollés du moule (d), les connexions fluidiques sont percées et l'ensemble est collé sur substrat (e). Lorsque qu'une surpression est imposée dans le canal d'actuation, la membrane se déforme et ferme le canal fluide (f).

En modifiant les conditions de fabrication il est possible de modifier les caractéristiques physico-chimiques des surfaces [45], ce qui présente un intérêt non-négligeable.

## 2.3 Détails des protocoles utilisés

L'objet de cette section est de fournir les protocoles employés pour fabriquer les microsystèmes présentés dans ce manuscrit. Par souci de clarté, les différentes étapes seront présentées sous la forme d'un tableau synthétique incluant tous les paramètres pertinents.

### 2.3.1 Fabrication d'un circuit en verre/silicium

Une partie des canaux utilisés dans les expériences d'agrégations de particules ont été fabriqués à l'ESIEE grâce aux technologies dures. Les dépôts des couches de protection métallique (or, chrome, aluminium), les étapes de DRIE ainsi que les collages anodiques ont été réalisés par le personnel de la salle blanche de l'ESIEE. Nous n'avons participé directement qu'aux étapes de gravure humide.

Les circuits faisant quelques centimètres carrés, une dizaine de microcircuits sont fabriqués simultanément sur un wafer de 4 pouces de diamètre.

#### Gravure humide d'un wafer en verre

1. dépôt chrome (100 nm),
2. dépôt or (300 nm),

3. lithographie : enduction de la résine, insolation, développement,
4. attaque Or,
5. attaque Chrome,
6. gravure acide fluorhydrique à 25%, durée 15 minutes,
7. dissolution de la résine puis attaque or et attaque chrome

Ce protocole permet de fabriquer des canaux de 20 microns d'épaisseur. La vitesse de gravure dépend fortement de l'âge de la solution de HF utilisée ainsi que de la température. Il est donc nécessaire de faire une mesure de profondeur intermédiaire lors de la gravure pour calculer la vitesse de gravure réelle, y compris dans l'atmosphère contrôlée d'une salle blanche.

### Perçage du wafer en silicium et collage anodique

Le wafer en silicium est percé de part en part par DRIE pour créer les entrées des fluides. Un dépôt d'aluminium est alors utilisé comme couche protectrice.

Les deux wafers, en verre et en silicium, sont alignés puis collés par collage anodique. Une scie circulaire diamantée découpe ensuite le "sandwich" verre/silicium pour obtenir les microcanaux.

### Connectique utilisée

La liaison entre le canal microfluidique et l'extérieur est assurée par l'intermédiaire d'un guide en inox collé avec de la colle Araldite.

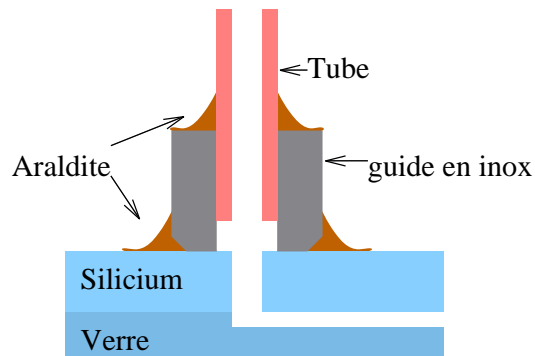


FIG. 2.10 – Connectique utilisée avec les circuits en silicium/verre. Pour assurer un meilleur contrôle des flux nous avons utilisé des tubes rigides en inox de 1.5 mm de diamètre extérieur.

### 2.3.2 Circuits en PDMS

Nous avons adaptés les protocoles présentés dans la littérature [46, 47, 42, 48] pour réaliser des systèmes en poly(diméthylsiloxane) à un ou deux niveaux. Les protocoles suivants permettent de réaliser un circuit microfluidique à deux niveaux, les canaux d'actuations étant au-dessus des canaux fluidiques.

### Masques pour les étapes de lithographies

Les masques utilisés pour les lithographies sont dessinés à l'aide du logiciel L-Edit. Après la conversion des fichiers au format postscript, ces derniers sont envoyés chez un imprimeur qui procède au "flashage" à une résolution de 3600 dpi. Les films transparents obtenus sont ensuite découpés et scotchés sur une plaque de quartz de 5 pouces de coté, adaptée au système de lithographie du laboratoire (aligneur MJB4, Suss Corporation).

### Moule pour les canaux d'actuation

Ils sont réalisés en résine SU8-2015 (Microtech Corporation) selon les protocoles standard fournis par le fabricant.

1. Nettoyage du wafer (acétone, toluène, ethanol, azote).
2. Enduction de la résine :
  - (a) pré-étalement : 10 s à 500 tr/min,
  - (b) étalement : 40 s à 1000 tr/min.
3. Soft bake (évaporation du solvant) : 60 s à 65°C puis 120 s à 95°C,
4. Exposition : 250 mJ/cm<sup>2</sup> à 365 nm,
5. Post exposure bake (réticulation) : 60 s à 65°C puis 120 s à 95°C,
6. Développement : 3 min dans un béccher de "SU8 Developer".
7. Rinçage à l'eau désionisée, séchage à l'azote.

Ce protocole permet de réaliser des structures de 30 microns d'épaisseur.

### Moule pour les canaux fluidiques

Ils sont réalisés en résine SJR-5740 (Shipley) selon les protocoles standard fournis par le fabricant.

1. Nettoyage du wafer (acétone, toluène, ethanol, azote).
2. Enduction de la résine :
  - (a) étalement d'une goutte de *primer Microposit* à 1000 tr/min pour augmenter l'adhésion de la résine,
  - (b) pré-étalement : 10 s à 500 tr/min,
  - (c) étalement (quick spin) : 10 s à 1000 tr/min.
3. soft bake (évaporation du solvant) : 180 s à 105°C
4. exposition : 1000 mJ/cm<sup>2</sup> à 405 nm,
5. développement : 3 min dans un béccher de *developer Microposit 2401* dilué 4 fois dans de l'eau désionisée.
6. rinçage à l'eau désionisée, séchage à l'azote.
7. recuit à 120 °C pendant 20 minutes pour arrondir les structures.

Ce protocole permet de réaliser des canaux arrondis de 30 microns d'épaisseur.

## Moulage du PDMS

Ces étapes décrivent la fabrication des deux couches de PDMS constituant le système. La fine couche contient les canaux fluidiques, la couche plus épaisse les canaux d'actuations.

1. préparation du PDMS : mélange intime des 2 constituants (PDMS/réticulant= 10/1 en masse),
2. dégazage : dans une cloche à vide jusqu'à disparition des bulles,
3. silanisation des wafers pour faciliter le démoulage : 20 minutes en présence de vapeur de HMDS<sup>4</sup>,
4. dépôt du PDMS sur les moules  
**fine couche de 50  $\mu\text{m}$**  réalisée à la tournette : pré-étalement de 10 s à 500 tr/min, étalement de 40 s à 1500 tr/min.  
**couche supérieure de 5 mm** le moule est placé dans une boîte de Pétri puis recouvert de la quantité de PDMS voulue,
5. réticulation : 73°C pendant 2 heures.

## Achèvement du système

Cette dernière séquence permet de terminer le système en perçant les connections et en collant entre eux les différents éléments.

1. Décollement de la couche supérieure et perçage des connections à l'aide d'un poinçon (gauge 20),
2. Collage par plasma d'oxygène de la couche supérieure sur la membrane (30 s à 400 mTorr, Plasma Cleaner, Harrick Scientific)
3. Décollement simultané des deux niveaux de PDMS et perçage des reservoirs (poinçon de 4 mm) et des connections fluidiques (poinçon G20)
4. Collage au plasma d'oxygène de l'ensemble sur un wafer en verre.

## Connectique utilisée

La mise sous pression des canaux fluidiques et des canaux d'actuations nécessite des connections de bonne qualité entre le circuit en PDMS et l'extérieur. Nous avons utilisé des tubes en inox de diamètre externe 0.61 mm et des tuyaux en Tygon dont le diamètre interne est 0.51 mm (Fig. 2.11).

---

<sup>4</sup>HexaMethylDichloroSilane, primer Microposit, Shipley

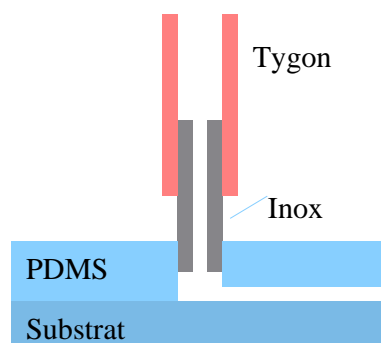


FIG. 2.11 – Principe des connections utilisées pour les circuits en PDMS.





Première partie

Agrégation de particules  
paramagnétiques



# Chapitre 1

## Introduction

Comme énoncé à la fin du chapitre d'introduction, cette partie décrit l'étude d'un phénomène d'agrégation de particules paramagnétiques soumises à un cisaillement.

Les phénomènes d'agrégation sont présents dans un grand nombre de situations, naturelles ou artificielles [49]. Les objets formés peuvent avoir des formes différentes en fonction du type d'agrégation. Dans le cas de l'agrégation limitée par la diffusion, les agrégats sont fractals alors qu'ils peuvent être linéaires en présence d'une interaction dipolaire entre les particules [50].

La présence ou non d'un écoulement hydrodynamique peut également avoir une grande influence sur les processus d'agrégations, on parle alors d'agrégation "orthocinétique". Un cisaillement peut accélérer la rencontre entre les objets mais également produire la rupture des agrégats déjà formés [51]. Cette influence est évaluée grâce au nombre de Péclet :

$$Pe = \frac{Sa^2}{D} \approx \mu \frac{Sa^3}{kT}, \quad (1.1)$$

où  $S$  est le cisaillement,  $a$  le rayon de la particule,  $D$  le coefficient de diffusion,  $\mu$  la viscosité du fluide,  $k$  la constante de Boltzmann et  $T$  la température. Lorsque  $Pe$  est grand devant l'unité, les particules suivent les lignes du champ de vitesse. Un nombre de Péclet petit signifie que les trajectoires des particules sont dominées par le mouvement brownien.

Nous nous sommes intéressés à la première situation en utilisant des particules paramagnétiques. Soumises à un champ magnétique, ces dernières acquièrent un moment dipolaire. L'interaction dipolaire magnétique existant entre deux particules permet de s'affranchir des forces de van der Waals qui sont à courte portée, seules responsables de l'agrégation dans la plupart des expériences réalisées auparavant [52, 51]. Les agrégats obtenus sont alors des chaînes colinéaires au champ magnétique, ce dernier étant dirigé suivant la direction de l'écoulement.

En utilisant des canaux microfluidiques en PDMS ou en silicium/verre, nous avons obtenu des cisaillements de quelques dizaines de  $s^{-1}$  au sein d'écoulements laminaires stables. De plus l'utilisation de microcanaux transparents nous a permis d'observer directement la cinétique d'agrégation. Ce point présente un avantage important vis-à-vis d'études précédentes où les agrégats sont caractérisés à la sortie d'un capillaire [51].

Nous avons montré que l'évolution de la longueur moyenne des chaînes formées était linéaire avec le temps. Un modèle théorique basé sur la théorie de Smoluchovski prédit une dépendance en puissance 1/4 du taux de croissance en fonction du cisaillement, ce qui est conforme aux observations expérimentales.

Ce travail sera présenté sous la forme d'un article en instance de publication dans le "Journal of Colloids and Interface Science" [53].

## Chapitre 2

# Aggregation of paramagnetic particles in the presence of a hydrodynamic shear

# Aggregation of paramagnetic particles in the presence of a hydrodynamic shear

E. Brunet\*, G. Degré, F. Okkels, P. Tabeling

Laboratoire Microfluidique, MEMS et Nanostructures, CNRS UMR 7083, Ecole Supérieure de Physique et Chimie de Paris, 10 rue Vauquelin, Paris, France

Received 18 February 2004; accepted 13 August 2004

## Abstract

We present an experimental study of the aggregation of paramagnetic particles, in the presence of controlled laminar shear flow, conducted in microchannels subjected to an external magnetic field. The microfluidic channels are made of either glass/silicon or polydimethylsiloxane. In ranges of time up to hundreds of seconds, the growth mechanism of the linear chain consists of the accumulation of isolated particles or small clusters onto existing chains, which are all moving at different speeds. In this time regime the chain length increases linearly and has a growth rate that increases as a power law with the shear. At longer times the chain lengths saturate. The Smoluchovski model, which assumes single particle–chain interactions only, closely reproduces the observations both qualitatively and quantitatively. In particular, the evolution of the growth rate of the mean chain length with respect to the shear rate  $S$ , predicted as  $S^{1/4}$ , is found to be consistent with the experiments. © 2004 Elsevier Inc. All rights reserved.

**Keywords:** Orthokinetic aggregation; Paramagnetic particles; Shear flow; Microfluidic

## 1. Introduction

Most patterns produced in natural or industrial situations, e.g., fingers, dendrites, fractals, result from aggregation processes [1,2]. Aggregation processes inevitably generate clusters, and clusters often affect the physical properties of the system in which they have formed. For example, they may perturb the optical absorption of transparent media, control the mechanical or rheological properties of materials or liquids, or, more generally, they may be a source of phenomena such as rain or snow. One issue is to be able to understand and predict aggregation rates, as well as the sizes and structures of aggregates. Various factors may affect these characteristics; and in this paper we concentrate on the presence of a shear flow. Shear flows tend to bring particles close to each other more rapidly than Brownian motion does, thus changing aggregation dynamics by speeding up the process. Aggregation in the presence of a shear flow is known as “or-

thokinetic” aggregation. It is known that shear flows enhance the rate of formation of aggregates if the Peclet number, which is based on the particle radius, is large. The Peclet number is defined by the expression

$$Pe = \frac{Sa^2}{D} \sim \mu \frac{Sa^3}{kT} > 1, \quad (1)$$

where  $S$  is the shear,  $a$  is the particle radius,  $D$  is the diffusion constant,  $\mu$  is the fluid viscosity,  $k$  is the Boltzmann constant, and  $T$  is the absolute temperature. When  $Pe$  is large, particles follow the flow streamlines, while for small  $Pe$ , particles undergo Brownian motion. In the first case, the Smoluchovski theory predicts that the rate of formation of the clusters, induced by van der Waals attractive interaction, is proportional to the shear rate (see Refs. [1,2]). This is the shear-enhanced aggregation regime, which holds true for a certain range of Peclet numbers. At high shear, one expects the clusters to break up under the action of large shear stresses. When this happens, the aggregation rate indeed levels off or decreases. Several experiments, dedicated to investigating these phenomena [3–10], confirmed such expectations, though only qualitatively. Reference [4] showed

\* Corresponding author. Fax: +33-1-40-79-51-57.

E-mail address: [edouard.brunet@espci.fr](mailto:edouard.brunet@espci.fr) (E. Brunet).

that the rate of increase of the cluster mass increases with the shear rate at early times. Later on, the rates tend to level off, suggesting that too-large clusters hardly sustain the hydrodynamical stresses exerted on them.

One difficulty in carrying out orthokinetic aggregation experiments, based on van der Waals interactions, lies in the nature of the attractive forces. Such forces are sensitive to even minute variations on the particle surfaces exposed to the liquid, as well as to the presence of impurities in the solution; moreover, these forces may be screened, either partially or totally, by Debye–Hückel layers, which in turn are also sensitive to the surface characteristics of the particles and the properties of the solution. These complex interactions tend to make the reproducibility of the experiments difficult, and complicate the interpretation of the data. The important experimental efforts made on the subject [3–10], though providing invaluable information on the process, seem to illustrate these difficulties. On the other hand, systems developing electric and magnetic attractive forces offer the advantage working with long-range attractive forces, which are less sensitive to subtle variation in the characteristics of liquid/particles interfaces. Furthermore, such forces can be monitored easily by changing the externally applied field. Experiments dealing with magnetic and dielectric aggregation in the case of perikinetic aggregation (i.e., in a fluid at rest) have been undertaken by several investigators [11–15]. These experiments resulted in consistent well-controlled data and, as a whole, confirmed Smoluchovski theory to a good degree of accuracy as long as the delicate hydrodynamic interaction between clusters is properly taken into account. Also important to mention are the numerical studies of the chain-formation process for dense suspensions of magnetic particles carried out in the presence of a magnetic field, with or without a shear flow [16–22].

In this study, we investigate orthokinetic aggregation in microchannels in the presence of an external magnetic field, using dilute suspensions of superparamagnetic particles. We work in miniaturized devices because they offer the following advantages:

- It is possible to operate with a shear of substantial amplitude while keeping the flow laminar. This claim can be formalized by introducing the flow Reynolds number  $Re$  given by

$$Re = \frac{Sl^2}{\nu}, \quad (2)$$

in which  $S$  represents a typical shear,  $l$  is the system size, and  $\nu$  is the kinematic viscosity of the fluid. From the equation, it is evident that by reducing  $l$  it would be possible to work with high shears while still keeping the Reynolds number low. This goal is achieved without constraining the choice of the fluids, which is important when one uses particles, maintained in suspension by exploiting a subtle balance between van der Waals attractive and electrical repulsive forces.

- Due to the channel flow geometry and the use of transparent materials, it is possible to take detailed visual observations of the entire process in real time.

It is also appropriate to note that this is one example, among a few others [23,24], of a case where MEMS technology can help to investigate a physical process at a fundamental level.

This paper is organized as follows: the first part will describe the experimental setup and the techniques of observation; this part will be followed by the results, after which we will develop a theoretical model that interprets our observations, largely based on Smoluchovski theory. In conclusion, we will compare experimental results with theoretical prediction.

## 2. Description of the experiment

A sketch of the experiment is shown in Figs. 1 and 2. We use channels that are either molded in polydimethylsiloxane (PDMS), using a method initially developed by Ref. [25] or

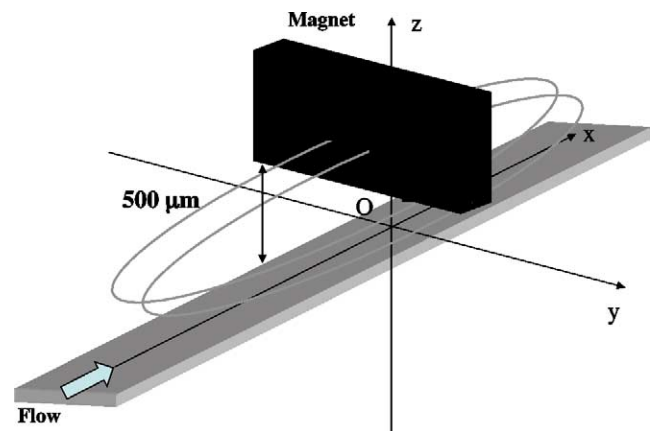


Fig. 1. Schematic view of the experimental setup for Configuration I. Shown here are the permanent magnet (located 500  $\mu\text{m}$  above the channel), the channel, and a sketch of the magnetic field lines.

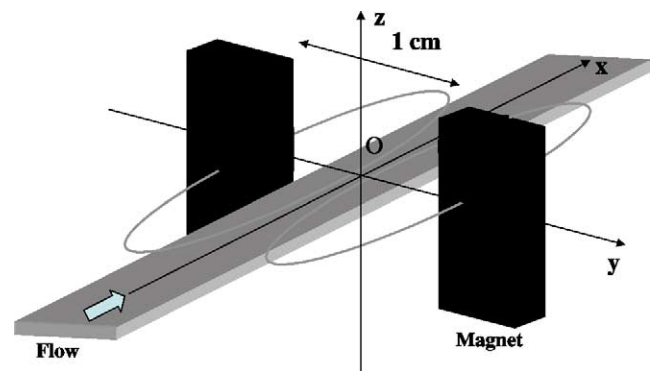


Fig. 2. Schematic view of the experimental setup for Configuration II. Shown here are the pair of permanent magnets, the channel, and a sketch of the magnetic field lines. The magnets are oriented in parallel directions and are located 5 mm from the channel lateral walls.



etched in glass covered by a silicon wafer and anodically bonded to glass. In all cases, channel dimensions are 20  $\mu\text{m}$  deep, 200  $\mu\text{m}$  wide, and 20 mm long. A flow is imposed along the channel by means of a Harvard PHD 2000 syringe pump, with flowrates between 5 and 80 nl/min. In the channel, the flow has a Poiseuille profile with a flow rate  $Q$ , which is imposed by the syringe pump. For the analysis of the data, at this point, it will be convenient to introduce the wall shear stress  $S$ , defined by the relation

$$S = \frac{6Q}{wb^2}, \quad (3)$$

where  $w$  is the channel width and  $b$  its depth. The values of  $S$ , in this experiment, range from 1 to 50  $\text{s}^{-1}$ .

The particles are 0.83  $\mu\text{m}$  in diameter and encapsulate  $\text{Fe}_3\text{O}_4$  microdomains (Bang Laboratories). They are superparamagnetic, with a susceptibility equal to 0.9. Their diffusion coefficient can be estimated by the Stokes–Einstein formula:

$$D \approx 7 \times 10^{-9} \text{ cm}^2/\text{s}. \quad (4)$$

The buffer in these experiments is PBS (potassium buffer sulfate) solution at pH 7.5. SDS (sodium dodecyl sulfate), in concentration 1.5 g/L is added to prevent spontaneous flocculation of the beads in the absence of magnetic field, and also to prevent particle adhesion onto the channel walls. The bead concentration we use in the experiments varies between 4 and 10  $\mu\text{g}/\text{ml}$ . With such concentrations, the mean distance between particles varies between 20 and 25  $\mu\text{m}$ , i.e., more than 20 times the bead diameter. The system is thus dilute.

The magnetic field is generated by samarium cobalt magnets of dimensions 3  $\times$  5  $\times$  8 mm, which are capable of delivering a maximum magnetic field of 0.3 T. In this paper, we consider two configurations, diagrammed in Figs. 1 and 2:

- Configuration I (see Fig. 1): one single magnet is used to produce the magnetic field. It is positioned above the channel 500  $\mu\text{m}$  from the upper wall of the channel, as shown in Fig. 1. In this configuration, the maximum magnetic field seen by the flow is 40 mT. All experiments in Configuration I are carried out in silicon–glass microchannels.
- Configuration II (see Fig. 2): one pair of magnets is used to produce the magnetic field. The pair is located across the channel, as shown in Fig. 2. The distance between the channel and the near side of the magnet is 5 mm. In this configuration, the maximum magnetic field exerted on the flow is 17 mT. All experiments performed in Configuration II use PDMS microchannels.

In Configuration II the magnetic field has been mapped using a Hall effect sensor. The field produced by the magnet pair is confirmed to be a superposition of two dipolar fields. At the center of the magnets, where the microchannel

is placed, the magnetic field intensity variation is less than 1% on the scale of the microchannel in the ( $y$ ) and ( $z$ ) directions, and less than 5% in the ( $x$ ) direction.

In Configuration I, the upper part of the silicon chip is equipped with a guide that allows placement of the magnet above the microchannel (to create the geometry shown in Fig. 1) with good accuracy (0.2 mm) and reproducibility. This geometry creates a magnetic field parallel to the direction of the flow.

In Configuration II, a mechanical setup is used to fine-tune the position of the magnets. The two magnets are permanently fixed to a metal support in order to create the geometry shown in Fig. 2. This support is then put in a mechanical guide, and the ensemble is placed on micro-positioners moving in three dimensions with a precision of about 0.1 mm. The mechanical contact between the guide and the magnets support creates a 0.1-mm uncertainty in the position of the magnets leading to variation in intensity of the magnetic field of about 2% over all experiments. Once the mechanical guide is placed, the mechanical contact with the support allows us to position the magnets reproducibly.

Previous experiments were performed to the fine-tune position of the guide in order to create a magnetic field parallel to the direction of the flow, and well centered with respect to the channel.

The experimental protocol we use in the experiment consists of first imposing the fluid flow, without magnetic field, and then, at time  $t = 0$ , rapidly bringing the magnets close to the channel. We then investigate the temporal evolution of the system. Since it takes a fraction of a second to bring the magnets close to the channel, and it takes tens of seconds to create chains of appreciable length, one may assume that the particles are immersed instantaneously in a magnetic field.

Observations are made using a LEICA inverted microscope with 10x objective and 10- $\mu\text{m}$  depth of field; the image thus represents an average of the intensity field. In the experiment, we visualize the particles using dark-field microscopy. This technique provides acceptable signal-to-noise ratios for further image processing. The image is recorded on a computer and then processed using the software NIH-IMAGE. The program allows, among others, the determination of the mean length  $L(t)$ , along with the corresponding number  $N(t)$  of isolated particles carried by the flow.

### 3. Qualitative aspects of the aggregation process

Fig. 3 shows the evolution of a system in Configuration I (one single magnet), as observed from the central region of the magnet, from the initial time  $t = 0$  (when the magnetic field is imposed) to time  $t = 60$  s, when the fluid is at rest, i.e., without flow. Essentially there is neither aggregation nor chains. In fact, in this setup, it is necessary to wait 2 h to see just a few short chains form. This is consistent with the estimates diffusive time in this problem. The sequence of Fig. 4 shows the same system, but with a flow equal to 40 nl/min

(a) initial time  $t=0$ , without flow(b)  $t=60$ s, without flow

Fig. 3. The evolution of a system without flow subjected at  $t = 0$  to a magnetic field parallel to the larger side of the figure. The larger side of the figure represents  $80 \mu\text{m}$ .

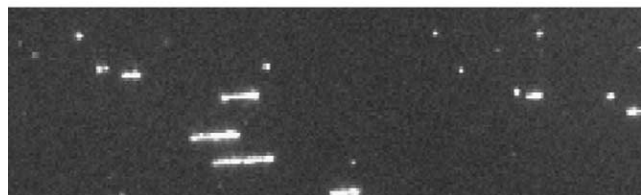
(a)  $t=5$ s, with a flow-rate  $Q=40\text{nl/mn}$ (b)  $t=78$ s, with a flow-rate  $Q=40\text{nl/mn}$ (c)  $t=180$ s, with a flow-rate  $Q=40\text{nl/mn}$ 

Fig. 4. Same system as Fig. 3 but subjected to a flow rate, from the left to the right equal to  $40 \text{ nl/min}$ . The larger side of the figure represents  $80 \mu\text{m}$ .

driven along the channels. The effect is spectacular: chains are formed after a few tens of seconds and have lengths continuously growing in time. Most of the chains are advected

by the flow at different speeds, and some are intermittently held at the wall.

The capture mechanism, for both Configurations I and II is shown in Fig. 5. The sequence of images shows that aggregation most frequently relies on particle–chain interaction: one chain and one particle, each located on two nearby streamlines (and thus moving at different speeds), approach one another and have the opportunity to aggregate. Chain–chain aggregation is also observed, but it occurs much less frequently, particularly at short times (i.e., in the first 100 s). The aggregation process essentially takes place in the bulk, within fluid layers located close to the walls. However, especially after 60 s, one may occasionally observe chains sticking temporarily to the wall and growing by the same mechanism. In these experiments, the major event seems to be the accumulation of particles or small clusters accumulating onto existing chains, which were forced to approach each other by the action of the shear. This process differs from purely diffusive aggregation, which involves chain–chain interactions. This point will be discussed later in this paper.

From the analysis of the motion of the chains formed in these experiments, it appears that most of the aggregation process takes place in the vicinity of the channel walls, within a few micrometers. Particles located at the center of the channel, where the shear is lower, move much faster and do not form clusters.

#### 4. Characterization of the aggregation process

##### 4.1. Temporal evolution of the number of particles

The observations we report in this subsection are all made at a fixed position, at the center of the magnet pair, in both Configuration I and II. For Configuration I, the number of objects, i.e., chains or particles (per unit volume) is shown in Fig. 6, for a flow-rate of  $40 \text{ nl/min}$ . Here we count the number of isolated objects present in the field of view at a given time. Since the most significant contribution comes from individual particles, especially in the first 200 s,  $N(t)$  can be interpreted as the number of individual particles that have still not been incorporated into aggregates.

Fig. 6 shows that  $N(t)$  decreases with time, at rates varying from a few hundredths to  $0.20\%$  per seconds. The origin of this decrease is mainly due to the overall depletion of the particles now incorporated into chains. At longer times, the system seems to reach a steady state. We have tried to characterize the evolution of  $N(t)$  but did not find simple laws describing one whole set of data. One difficulty is that  $N(t)$  is perturbed by uncontrolled adhesion of particles onto the walls prior to their arrival at the observation window. This effect is even more pronounced in Configuration II, where the channels are made of PDMS (see Fig. 7). Transient adhesion in this setup similarly generates fluctuations in the number of particles passing in the field of view and probably explains the early increase of  $N(t)$  of the lower concentra-

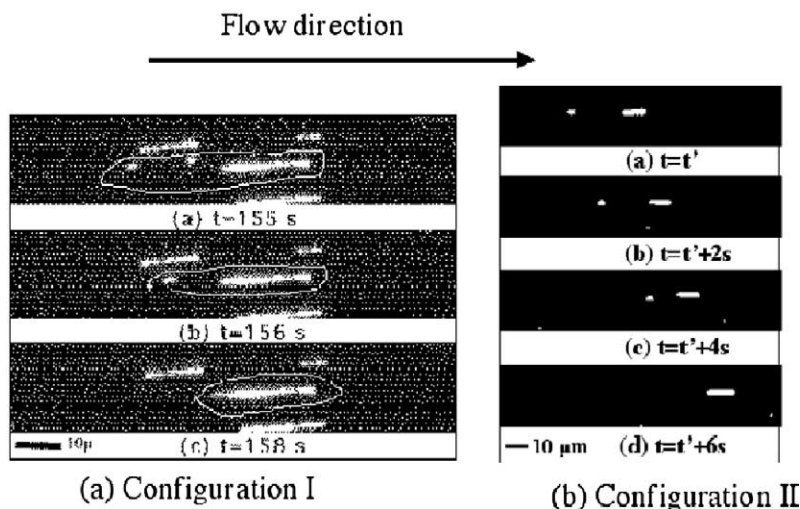


Fig. 5. Sequence of images showing the capture process. (a) (Configuration I) The flow goes from left to right at 40 nl/min, and the magnetic field is longitudinal with respect to the flow. The first image shows (within the hand-drawn circle) two particles approaching a chain and held at the wall for a few seconds. Some time later, both have been aggregated. (b) (Configuration II) Here the flow is 15 nl/min. Here a particle is moving faster than a chain, and is eventually caught by it.

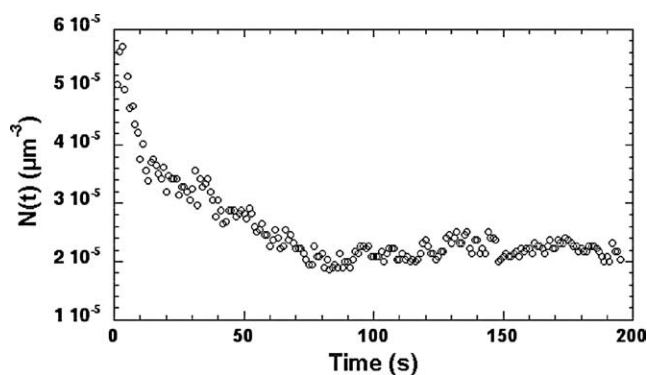


Fig. 6. Evolution of the number of particles (per unit of volume) with time, in Configuration I, for a flow rate equal to 40 nl/min.

tion curve in Fig. 7. Both the fabrication protocol and the use of SDS surfactant allow the reduction of this phenomenon to a moderate level, though throughout the experimental work adhesion remained a source of substantial perturbations, directly observable for quantities such as  $N(t)$ .

#### 4.2. Temporal evolution of the chain length

Fig. 8 represents the evolution of the averaged chain length  $L(t)$  in Configuration I for two different flow rates, and times ranging between 0 and 200 s. Later times will be considered, in more detail, at the end of the section.

As shown in Fig. 8, the averaged chain length  $L(t)$  increases linearly during the observed range of time. There is an offset at the origin due to optical diffraction and to the limited resolution of the camera. Diffraction generates a sort of halo around each particle, and around the chain tips; as a consequence, each particle—whose diameter is submicrometric—appears to have a size on the order of a few micrometers. Thus, on the plots representing the evolu-

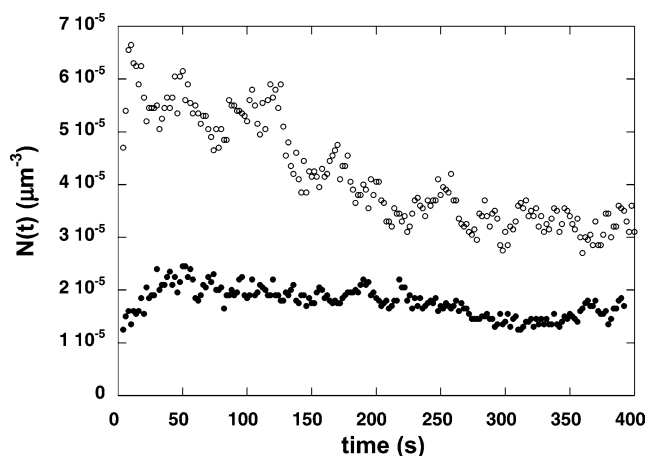


Fig. 7. Evolution of the number of particles per unit volume with time for two different initial densities, in Configuration II, for a flow rate equal to 15 nl/min.

tion of the chain length with time, there appears to be an offset of a few micrometers in amplitude on the ordinate axis. This does not change the majority of the characteristics of the  $L(t)$  plots, in particular their linear evolution with time and their slopes.

The linear dependence is also observed in Configuration II: as shown in Fig. 9, which represents  $L(t) - L(0)$  normalized by the concentration and as a function of time, using lin–lin (a) and log–log (b) coordinates.

A best fit to the plot of Fig. 9b, in the form of a power law, provides an exponent indistinguishable from one. This reinforces the idea that  $L(t)$  is a linear function of time and rules out fractional power laws, such as are usually found in perikinet magnetic aggregation.

Thus, both Figs. 8, 9 show that  $L(t)$  is a linear function of time, within the ranges of time displayed on the figures. The corresponding slopes—denoted by  $\beta$ —increase



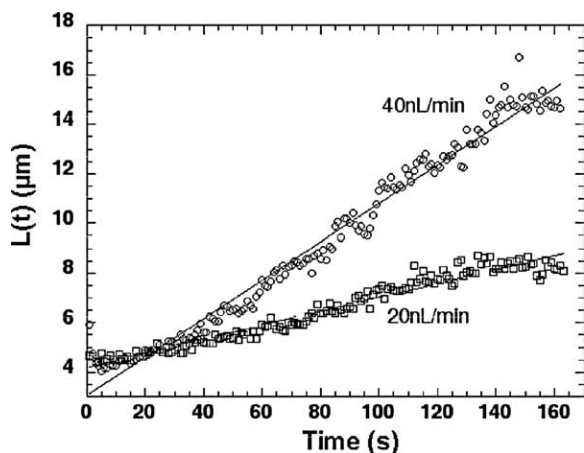


Fig. 8. Evolution of the chain lengths, with time, for two different flow rates (20 and 40 nl/min), in Configuration I. The initial number of particles, visible in the field of view, is 80 for the lower flow rate and 100 for the larger one. The straight lines are linear best fits.

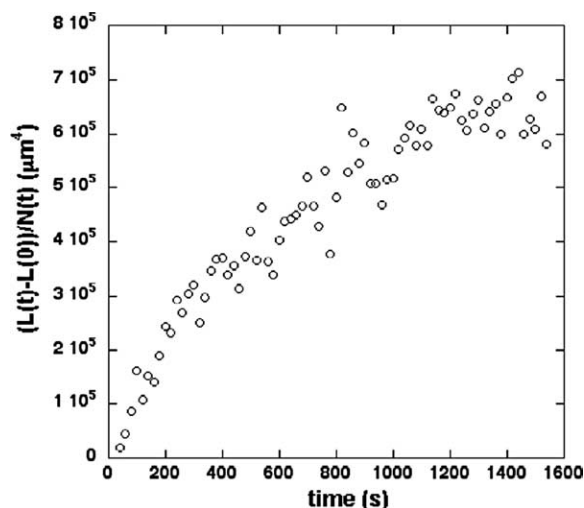


Fig. 10. Long-time evolution of the averaged length of the chain, for a flow rate of 20 nl/min, in Configuration II.

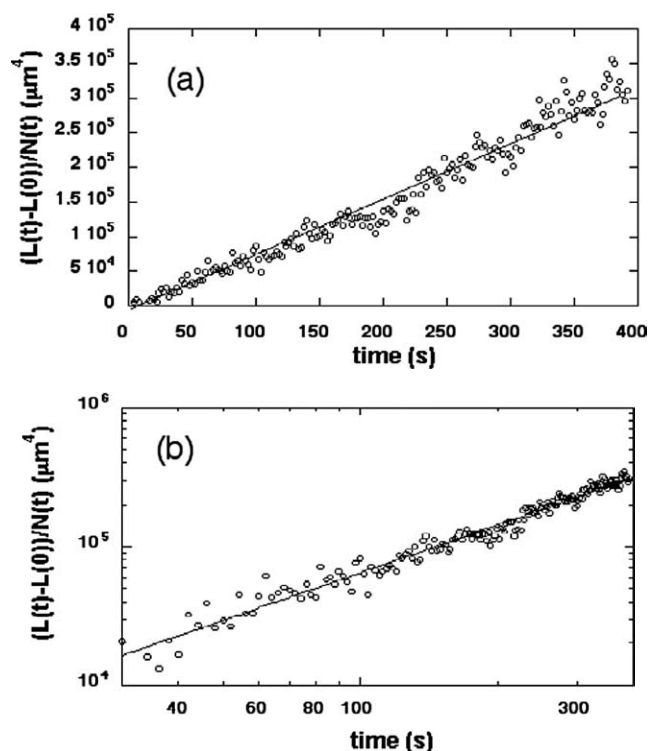


Fig. 9. Evolution of the length of the chains (diminished by its value  $L(0)$  at the origin) for a flow rate equal to 15 nl/min, in Configuration II. The plot is shown in both linear and logarithmic coordinates. On the logarithmic plot, the straight line is a best fit, assuming a power law. The corresponding slope is 1.1.

with the flow rate, as can be expected from physical reasoning: the larger the flow rate, the larger the shear, and thus the faster the aggregation rates. The slopes also vary with the magnetic field: from Configuration I to II, the field has decreased by a factor of 2.4 and the slopes have decreased, roughly by a factor of 4. The linearity holds in an appreciable range of time, and this regime may characterize the early

times, which in the present experiment would be in the range from 0 to 300 s, for flow rates ranging from 5 to 80 nl/min.

The longer-time evolution of the chain length is shown in Fig. 10. In this figure, the saturation regime is apparent, indicating that a steady state is achieved. The saturation originates in the fact that, at long times, all the incoming particles have traveled the same amount of time in the magnetic field before they reach the observation window. Therefore, the chains do not grow any further and their length saturates. In other words, at long times, we always reproduce the same situation—particles are immersed in the magnetic field for a prescribed amount of time that is equal to the traveling time from outside the magnet region to the observation window. It is thus logical that the observables are statistically steady. We have tried to characterize how the system reaches the equilibrium state, but we did not find any evidence for any well-defined law that would represent all the experimental measurements.

In this present experiment, the existence of a steady state at long times is related to the finite size of the magnets. One may tentatively propose an expression for a characteristic time that marks the end of the linear growth regime, apparently due to the limited size of the magnets. The expression for such a time is

$$\tau = \frac{L}{U}, \tag{5}$$

where  $L$  is the magnet size (which determines the extent of the magnetic field lines), and  $U$  is the mean velocity in the microchannel. With  $L = 6$  mm and  $U$  ranging between 10 and 100  $\mu\text{m/s}$ ,  $\tau$  falls between 60 and 600 s, which is consistent with our observations. Therefore, we propose that in our system, the end of the “short-time” regime is governed by  $\tau$ .

The way the chain length increases with time depends on the number of incoming particles. This is shown on Fig. 11, where the evolution of the length  $L(t)$  for Configuration II

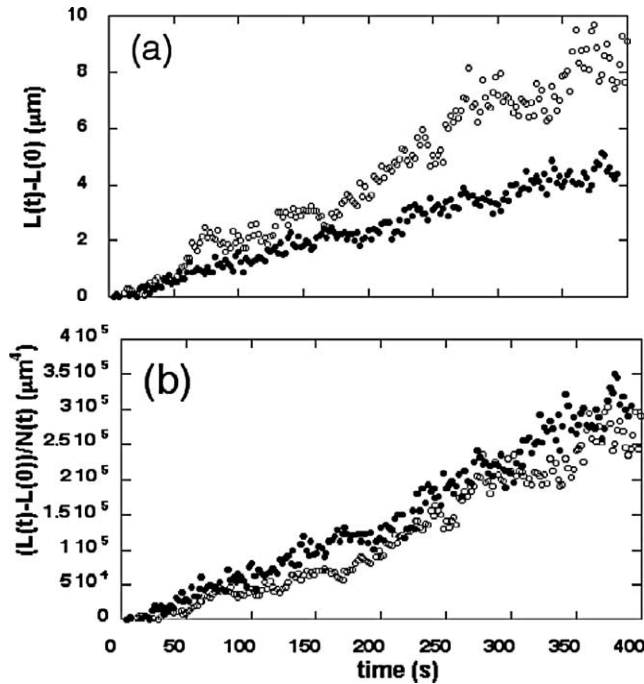


Fig. 11. Plots showing the influence of the particle concentration  $N(t)$  on the evolution of the chain length, in Configuration II, for a flow rate equal to 15 nl/min. (a)  $L(t)$  for different concentrations; (b) same data, but divided by  $N(t)$ : plot of  $M(t)$  as a function of time.

has been plotted as a function of time, for the same flow rate but two distinct values of the initial density of incoming particles. The effect is substantial: increasing the initial density by a factor of 2 increases the slope by about the same factor. However, the ratio of length over particle density however does not depend on the initial density. This is also illustrated by Fig. 11, where we have plotted the quantity,

$$M(t) = \frac{L(t) - L(0)}{N(t)} \quad (6)$$

for the same experimental conditions as stated. The two sets of data collapse onto a single experimental law. We still obtain a straight line for  $M(t)$ , because, as mentioned earlier,  $N(t)$  varies relatively slowly as compared to  $L(t)$ , and can thus be treated as constant.

Another characteristic worth being investigated is the evolution of  $L(t)$  along the channel. This evolution is shown in Fig. 12, where the data are obtained at a fixed flow rate in Configuration II.

From Fig. 12, it is possible to conclude that the evolution of  $L(t)$  depends on the position of measurement along the channel. However, there is a domain, located at the center of the magnet where the plots of  $L(t)$  seem independent of position.

These characteristics can be understood by noting that on the scale of the microchannel, the magnetic field varies relatively slowly in space. There is thus a zone of appreciable size where the magnetic field can be considered as uniform. In this region, at early times, the particles are subjected to the same magnetic field and therefore experience

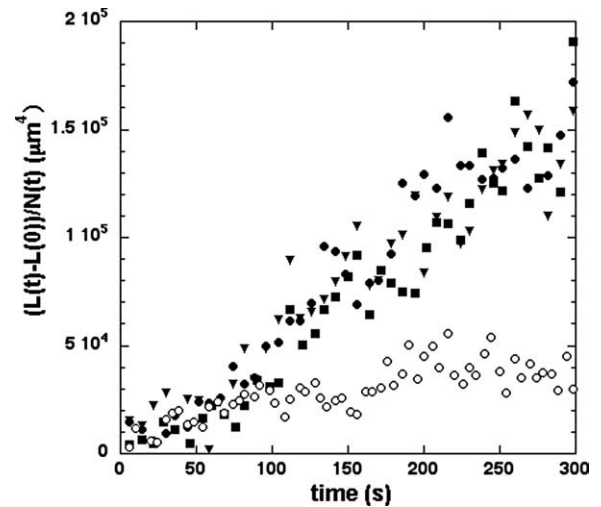


Fig. 12. Evolution of the chain length with time at different positions  $x$  along the channel, for a flow rate equal to 5 nl/min, in Configuration II.  $x = 0$  is taken as the center of the magnet system. Various positions are  $x = -0.5$  mm (full circle),  $x = 0$  mm (full square),  $x = 0.5$  mm (full triangle), and  $x = -4.5$  mm (open circle).

the entire aggregation process under the same conditions. We thus have a collapse of the plots. This ceases to be true for the lower curve, i.e., close to the edge of the magnet (at  $x = -4.5$  mm), where the particles are subjected to a less intense magnetic field and therefore experience a slower aggregation rate.

For the rest of the paper, we will consider data taken in the “homogeneous” domain only.

#### 4.3. Growth-rate analysis of the chains

In the linear regime, the previous series of measurements lead to the experimental law for chain growth

$$L(t) = N(t)\beta(t), \quad (7)$$

where, as previously,  $N(t)$  is the (weakly) varying numbers of particles per unit volume,  $\beta$  is the chain-length growth rate, and  $t$  is time. We have plotted the evolution of the slopes  $\beta$  with the shear rate  $S$ , estimated near the walls, where most of the chains lie, and the result for Configuration II is shown in Fig. 13. We obtain the following power law as fitting the data:

$$\beta \approx (500 \pm 200)S^{0.25 \pm 0.1}. \quad (8)$$

Note, however, that the accuracy of the exponent is poor, and the scatter in the data is such that other experimental laws could also be proposed.

It is interesting to note that in the present study, we do not reach regimes where the chains are broken by the action of the shear. This feature is probably explained by the fact that we restricted ourselves to moderate shears (below  $50 \text{ s}^{-1}$ ), and that the magnetic field favors the formation of chains aligned with the shear.

## 5. A theoretical model for magnetic aggregation in the presence of a shear (orthokinetic aggregation)

### 5.1. Interactions involved in the system

Paramagnetic particles subjected to a magnetic field spontaneously acquire a dipolar moment  $\mu$ , which is defined by

$$\mu = \frac{4}{3}\pi a^3 \chi B, \quad (9)$$

where  $a$  is the particle radius,  $\chi$  is the magnetic susceptibility, and  $B$  is the applied magnetic field. In a uniform magnetic field, dipolar moments are parallel, and two parti-

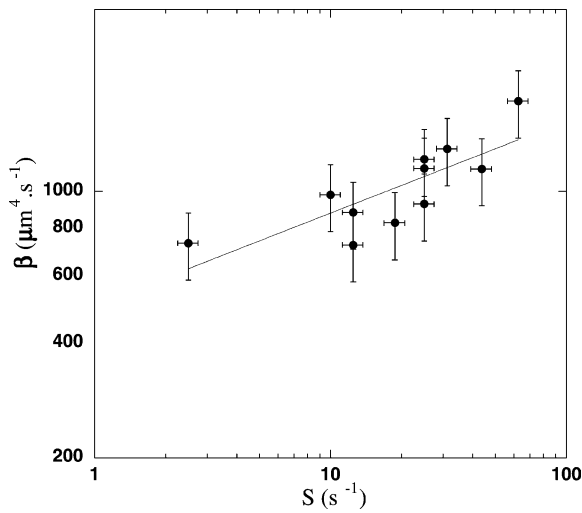


Fig. 13. Evolution of the growth rate of the chain length  $L(t)$  against the shear  $S$ . The full line is a best fit, with a slope equal to 0.25.

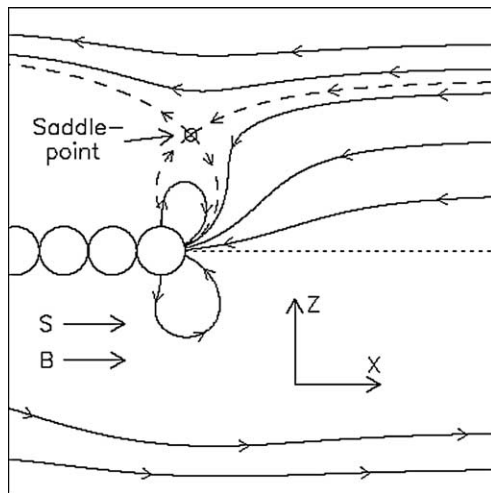


Fig. 14. Schematic representation of the local flow field of a free particle around a cluster (chain of circles). Restricting ourselves to the upper half of the plane, the region of free particles trapped by the cluster is bounded by the stable manifold (upper dashed lines) and the cluster axis (dotted center line).

cles interact via the dipolar potential given by the expression

$$\psi(r, \theta) = \frac{\mu^2}{4\pi\mu_0} \frac{1 - 3\cos^2\theta}{r^3}, \quad (10)$$

where  $r$  is the distance between the two particles,  $\theta$  is the angle between the magnetic field and the separation vector, and  $\mu_0$  is the magnetic permeability.

In aggregation processes, systems include, after some time, isolated particles and chains of various lengths and the expression of the interaction forces between these objects depend on whether we consider particle–particle, chain–particle, or chain–chain interactions. Guided by experimental data, we concentrate here on particle–chain interactions. We consider a long chain placed at a fixed position on the  $xy$ -plane (i.e., at  $z = 0$ ), exposed to a simple shear flow directed along  $x$  and given by the flow field

$$u_x(z) = Sz, \quad (11)$$

where  $S$  represents the shear and ( $z$ ) the distance from the  $xy$ -plane (see Fig. 14). Neglecting Brownian motion and van der Waals forces, the only contributions to the aggregation process are the magnetic dipolar force and the drag force from the shear flow. The dipolar force produced by the chain (which is assumed to be long) onto the particle, decreases with  $r^3$ , where  $r$  is the distance between the chain and the particle. By comparing this decrease with the linear increase of the drag force along  $z$ , one can deduce that they must balance at a certain characteristic distance from the cluster. This flow field, representing the sum of the two contributions, is calculated numerically and shown in Fig. 14.

Far upstream, the particles are simply advected by the shear flow, with a motion parallel to the  $x$ -axis. As one approaches the chain, the trajectory is increasingly perturbed by the magnetic force, resulting in a saddle point that plays an important role in the process of aggregation as it divides the particles into two groups: ones that are caught by the cluster or ones that continue with the shear flow. In Fig. 14 the trajectories of particles trapped by the cluster are bounded by the stable manifold of the saddle point (the upper right slanted line) and the cluster axis (the dotted center line). Particles being caught are trapped at the tip of the chain, thus increasing its linear length. The distance between the saddle point and the cluster axis is a characteristic length of the system and its expression is given by

$$l = 0.57\lambda, \quad (12)$$

where  $\lambda$  is a characteristic scale defined by

$$\lambda = P^{1/4}a, \quad (13)$$

in which  $P$  is a dimensionless number.  $P$  is defined by

$$P = \frac{B^2 \chi}{S\eta\mu_0}, \quad (14)$$

where  $\eta$  is the viscosity and  $\mu_0$  is the magnetic permeability.  $P$  represents a balance between drag and dipolar forces.

A large  $P$  means that the interaction between chains and particles extends much beyond the particle size. A small  $P$  corresponds to the opposite situation which we will not consider in this paper. For large  $P$ , it is interesting to note that  $\lambda$  provides an estimate for the distance over which the chain and the particle interact.

So far, we have concentrated on the particle–chain interaction, but similar reasoning can be done for particle–particle and chain–chain interactions, which lead to the determination of interaction lengths similar to  $\lambda$ . The interaction length we find is known as  $\lambda_{pp}$  and for the particle–particle situation is defined by

$$\lambda_{pp} = P^{1/5}a, \quad (15)$$

while in the case of the chain–chain situation, the interaction length is

$$\lambda_{cc} = \left(\frac{Pa}{L}\right)^{1/3} a, \quad (16)$$

with  $L$  defining the chain length. For extended chains (i.e., longer than  $P^{1/4}a$ ), there is the hierarchy between the interaction distances

$$\lambda_{cc} < \lambda_{pp} < \lambda, \quad (17)$$

which illustrates that the particle–chain interaction extends farther than the other interaction distances. The particle–particle interaction length is smaller than  $\lambda$  because the magnetic field produced by a dipole decreases faster than that for a chain. The chain–chain interaction length is also smaller than  $\lambda$  because the drag force developing on a chain is larger than the drag force affecting an individual particle.

As a whole, the system favors particle–chain interaction, and this may explain why such interactions are most frequently seen in these experiments.

## 5.2. Aggregation laws

We now assume that particle–chain interactions prevail, and neglect the others. In the previous analysis of chain–particle interaction, the position of the saddle point extends as a bell-shaped curve into the transverse direction ( $y$ ), with the overall size characterized by  $\lambda$ . Numerically determining the upstream stable manifold of the saddle point gives the “collision cross section,” or capture area, of the fixed cluster (i.e., the  $yz$ -position of all upstream particles being caught by the cluster) and this cross section is found to be proportional to  $\lambda^2$ .

A simple deterministic model of the aggregation process, based on the hypothesis that particle–chain interactions prevail, leads us to consider that all upstream particles within the collision surface are trapped by the chain. This defines a trapping volume  $V$  (per unit time) which is illustrated in Fig. 15.

The expression of  $V$  is given to order of magnitude by the following formula:

$$V \approx S\lambda^3. \quad (18)$$

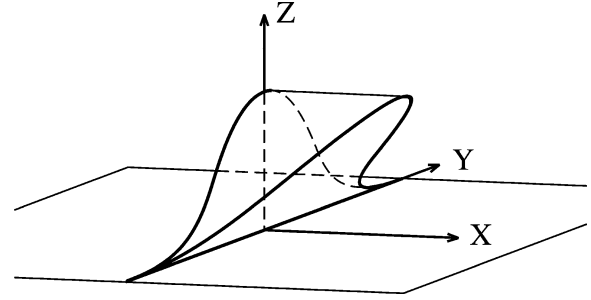


Fig. 15. Schematic illustration of the trapping volume in which particles are aggregated by a cluster in one time unit.

The chain length  $L$  can further be determined by the equation

$$\frac{dL}{dt} = N(t)aV \approx N(t)aS\lambda^3, \quad (19)$$

where  $N(t)$  is the number of incoming particles per unit of volume. Integrating the equation under the assumption that  $N(t)$  varies weakly in time, one obtains

$$L(t) = \beta N(t)t, \quad (20)$$

where  $\beta$  is equal to

$$\beta \approx aS\lambda^3. \quad (21)$$

It is interesting to note that the same result is obtained by using the Smoluchovski equations. The Smoluchovski equations are defined by

$$\frac{dN_k}{dt} = \frac{1}{2} \sum_{i+j=k} K_{ij}N_iN_j - N_k \sum_{j=1}^{\infty} K_{kj}N_j, \quad (22)$$

with  $K_{ij}$  is the kernel, giving the rate of formation of a cluster of size  $i$  combined with a cluster of size  $j$  to form a cluster of size  $k = i + j$ . The first term of the above equation represents the formation of clusters of size  $k$  by aggregation, while the second term represents the loss of clusters of size  $k$  by further aggregation. The assumption we have made in our theoretical model is that the population is composed of two elements:  $N$  isolated particles (per unit volume) and  $N_c$  chains (per unit volume). Moreover, the isolated particle population decays because particles aggregate to existing chains. Taking these assumptions into account, the Smoluchovski equations reduce to

$$\frac{dN}{dt} \approx -NN_cK, \quad (23)$$

with  $K$  representing an appropriate kernel. In orthokinetic aggregation,  $K$  is equal to the shear  $S$  multiplied by the capture volume, which is on our case on the order of  $\lambda^3$ . We thus define the expression

$$\frac{dN}{dt} \approx -N(t)N_cS\lambda^3. \quad (24)$$

Assuming further that the isolated particles are homogeneously captured by the chains, we finally obtain

$$\frac{dL}{dt} = -\frac{a}{N_c} \frac{dN}{dt} \approx N(t)aS\lambda^3. \quad (25)$$



We thus obtain the same equation as above, leading, for weakly varying  $N(t)$ , to linear growth of the chain. The theoretical description we proposed above is indeed a particular case of general Smoluchovski theory.

## 6. Comparison between the theory and the experiment

The fact that the particles closely follow the streamlines of the fluid flow indicates that we are in a regime where, as compared to Brownian motion, the effect of shear is significant. This effect is confirmed by an estimate of the Peclet number, based on the particle radius, which is found to lie in the range  $10^3$ – $10^4$  throughout the experiment. In the theory, the shear should be uniform, while in the experiment, we observed a Poiseuille flow, and therefore the shear is not uniform at all. However, we observed that chains are formed close to the walls; therefore one may assume that, once the experimental parameters are fixed, all processes take place under the same shear, equal to the wall shear  $S$ , introduced at the beginning of the paper

In theory, it is expected that the chain length increases linearly with time. The expression for this linear law reads

$$L(t) = \beta N(t)t, \quad (26)$$

where  $\beta$  is equal to

$$\beta \sim aS\lambda^3 \sim a^4 B^{3/2} S^{1/4}. \quad (27)$$

The theoretical formula giving  $L(t)$  as a function of time closely reproduces experimental findings in the early time domain. At late times (several hundreds of seconds), we observed deviations from this law, as presented in the experimental measurements. These deviations are probably due to the finite size of the magnets. Also at early times, the proportionality of the length growth rate to the particle density  $N(t)$  predicted by the theory is observed experimentally.

On more quantitative grounds, the order of magnitude for the dimensionless number  $P$  is  $10^4$ , and that of the capture radius  $\lambda$  is, roughly, 10 particle radii, i.e., 5  $\mu\text{m}$  for Configuration II and a bit more for Configuration I. This order of magnitude is consistent with the qualitative study of the capture mechanism, as presented previously. As for the aggregation rate  $\beta$ , only partial information could be obtained from the experiment. Theory predicts an order of magnitude of  $10^{-11} \text{ cm}^4/\text{s}$  for  $\beta$ , which is compatible with the  $10^{-10} \text{ cm}^4/\text{s}$  found in the experiment. The dependence of  $\beta$  on the magnetic field was verified, for two values of  $B$ , for which  $\beta$  increases in a way consistent with  $B^{3/2}$ . The prediction related to the influence of the shear on  $\beta$  is also compatible with experiment: measurements shown in Fig. 13 indicate that  $\beta$  increases with the shear  $S$  as a power law, with an exponent equal to  $0.25 \pm 0.1$ . This is also consistent with the predicted value of  $1/4$ . However, the large error bar should lead to taking this agreement as qualitative. As a whole, one may conclude that theoretical modeling provides an acceptable representation of the experimental findings. Table 1 summarizes this discussion.

Table 1

Quantity	Theory	Experiment
$L(t)$	Linear in time	Linear in time
$L(t)$	Proportional to $N(t)$	Proportional to $N(t)$
$\beta$	$10^{-11} \text{ cm}^4/\text{s}$	$10^{-10} \text{ cm}^4/\text{s}$
$\beta$	$S^{1/4}$	$S^{0.25 \pm 0.1}$
$\beta$	$B^{3/2}$	Consistency

## 7. Conclusion

In conclusion, this paper analyzes the aggregation process leading to the formation of chains in the presence of shear flows in microchannels using paramagnetic particles immersed in an external magnetic field. We described the chain formation process both theoretically and experimentally and found that theory explains the experiment quite satisfactorily. Perhaps the key feature of the process is that the chains interact predominantly with small aggregates or individual particles, rather than with chains of comparable size. Why is this so? We noted that the interaction between particles and chains involves a length larger than the one holding for particle–particle and chain–chain interactions. Thus, aggregation is most likely to occur between small clusters and chains. In a confined system, this interaction would prevail until exhaustion of the isolated particles. Afterward, perhaps, chain–chain interaction would come into play. In our system, we continuously supply the system with particles, allowing the particle–chain aggregation mechanism to work indefinitely. Once chain–particle interactions are assumed to prevail, it is logically inferred that the length increases linearly in time. This result is obtained either directly or by using the Smoluchovski equations.

## Acknowledgments

The authors thank B. Michaud, J. Bibette, A. Ajdari, C. Baroud, and S. Chen for their valuable discussions. We are grateful to O. Francais and L. Rousseau (ESIEE) for the channel microfabrication. We also thank CNRS, the Ministry of Research, and the Ecole Supérieure de Physique et Chimie Industrielle for their support.

## References

- [1] R. Julien, R. Botet, Aggregation and Fractal Aggregates, World Scientific, Singapore, 1992.
- [2] T. Vicsek, Fractal Growth Phenomena, second ed., World Scientific, Singapore, 1992.
- [3] L.M. Krutzer, J.V. Diemen, H.N. Stein, J. Colloid Interface Sci. 171 (1995) 429.
- [4] F.L. Berre, G. Chauveteau, E. Pfefferkorn, J. Colloid Interface Sci. 199 (1998) 13.
- [5] O. Atteia, Colloids Surf. A 139 (1998) 171.
- [6] Y. Adachi, Adv. Colloid Interface Sci. 56 (1995) 1.
- [7] M. Vanni, G. Baldi, Adv. Colloid Interface Sci. 97 (2002) 151.



- [8] H. Mousa, W. Agterof, J. Mellema, *J. Colloid Interface Sci.* 240 (2001) 340.
- [9] T. Serra, X. Casamitjana, *J. Colloid Interface Sci.* 206 (1998) 505.
- [10] C.J. Chin, S. Yiacoumi, C. Tsouris, *J. Colloid Interface Sci.* 206 (1998) 532.
- [11] J.H.E. Promislow, A.P. Gast, M. Fermigier, *J. Chem. Phys.* 102 (1995) 5492.
- [12] J.E. Martin, K.M. Hill, C.P. Tigges, *Phys. Rev. E* 59 (1999) 5676.
- [13] G. Helgesen, A.T. Skjeltorp, P.P. Mors, R. Botet, R. Jullien, *Phys. Rev. Lett.* 61 (1988) 1736.
- [14] S. Melle, M.A. Rubio, G.G. Fuller, *Phys. Rev. Lett.* 87 (2001) 115, 501.
- [15] C.J. Chin, S. Yiacoumi, C. Tsouris, *Colloids Surf. A* 204 (2002) 63.
- [16] S. Miyazima, P. Meakin, F. Family, *Phys. Rev. A* 36 (1987) 1421.
- [17] R. Tao, *Phys. Rev. Lett.* 73 (1994) 205.
- [18] M. Mohebi, N. Jamasbi, J. Liu, *Phys. Rev. E* 54 (1996) 5407.
- [19] A. Satoh, R.W. Chantrell, G.N. Coverdale, S. Kamiyama, *J. Colloid Interface Sci.* 203 (1998) 233.
- [20] A. Satoh, R.W. Chantrell, G.N. Coverdale, *J. Colloid Interface Sci.* 209 (1999) 44.
- [21] R.B. Jones, *J. Chem. Phys.* 115 (2001) 5319.
- [22] R. Tao, Q. Jiang, *Phys. Rev. Lett.* 73 (1994) 205.
- [23] P. Tabeling, *Introduction à la Microfluidique*, Belin, Paris, 2003.
- [24] G.E. Karniadakis, A. Beskok, *Micro Flows: Fundamentals and Simulation*, Springer-Verlag, New York, 2002.
- [25] D.C. Duffy, J.C. McDonald, O.J.A. Schueller, G.M. Whitesides, *Anal. Chem.* 70 (1998) 4974.

# Chapitre 3

## Conclusion

### 3.1 L'influence du cisaillement sur la dynamique d'agrégation

L'influence du cisaillement sur un processus d'agrégation a été étudiée expérimentalement dans un canal microfluidique en utilisant des particules paramagnétiques soumise à un champ colinéaire à l'écoulement. Nous avons montré que le processus d'agrégation dominant était l'interaction entre une chaîne et une particule, menant à une croissance linéaire de la longueur des chaînes avec le temps. En utilisant les équations de Smoluchovski, nous avons montré que le taux de croissance, qui résulte de la compétition entre les forces de trainée visqueuse et l'interaction dipolaire magnétique, varie comme la puissance 1/4 du cisaillement, ce qui est compatible avec les observations expérimentales.

### 3.2 Application aux tests d'agglutination

L'utilisation de l'outil microfluidique a permis de caractériser un processus d'agrégation sous écoulement. La possibilité d'observer in-situ l'évolution de la taille des chaînes nous a encouragé à compléter cette étude fondamentale par une série d'expériences plus applicatives basées sur les tests d'agglutination.

Les tests d'agglutination utilisent le fait que des particules fonctionnalisées par un antigène forment des agrégats en présence de l'anticorps correspondant. Parmi les nombreuses variantes [54], certains protocoles utilisent des particules paramagnétiques pour augmenter la sensibilité de la détection.

Nous inspirant de ces méthodes, nous les avons adaptées à un format microfluidique en utilisant des particules fonctionnalisées par de la streptavidine afin de détecter de la protéine A biotynilée. La liaison biotin-streptavidine étant très robuste, lorsque la protéine A était présente dans la solution les chaînes formées en présence du champ magnétique ne se désagrégèrent plus une fois le champ magnétique éteint. Le nombre de chaînes demeurant en solution une fois le champ magnétique coupé est directement lié à la concentration en protéine.

La limite de détection que nous avons pu atteindre dans ce système était de 10 fMol/L, ce qui est extrêmement satisfaisant pour une analyse aussi simple et rapide (quelques minutes). Ces expériences, réalisées au laboratoire par Guillaume Degré, seront prochainement l'objet d'une publication où le protocole et les résultats seront décrits plus précisément.

L'étude de ce phénomène d'agrégation et l'application présentée ci-dessus illustre l'intérêt d'une approche microfluidique pour étudier des phénomènes physiques, qui peuvent ensuite

être utilisés pour des applications inattendues.

Deuxième partie

Électrocinétique linéaire en  
microfluidique : quelques analyses  
théoriques



# Chapitre 1

## Introduction

Cette partie décrit une étude théorique des effets électrocinétiques pouvant se développer dans des circuits microfluidiques et plus généralement dans tous systèmes mettant en jeu un électrolyte au contact d'une surface chargée. Elle est une généralisation de travaux antérieurs [33, 31, 32, 55] afin de répondre à des situations nouvelles que la microfabrication permet de réaliser expérimentalement.

Par effets électrocinétiques, il faut entendre les relations liant les courants hydrodynamiques et électriques aux champs de pressions et aux champs électriques. Ainsi un gradient de pression imposé aux bornes d'un capillaire provoque un flux hydrodynamique mais également un courant électrique communément appelé *courant d'écoulement*. De manière *symétrique*, et nous verrons dans la suite à quel point ce terme est approprié, un champ électrique peut induire un flux hydrodynamique, classiquement dénommé *flux électroosmotique*.

L'origine de ce couplage électro-hydrodynamique est la présence au sein de l'électrolyte d'une région non-neutre à proximité de l'interface solide-liquide. Cette couche d'ions diffuse peut être advectée par un écoulement hydrodynamique ce qui génère un courant électrique. De même un champ électrique extérieur peut déplacer ces ions qui, par transfert de quantité de mouvement, entraîneront l'ensemble du liquide.

Dans les deux cas une cause extérieure volumique induit un effet surfacique. Si l'on considère un tube de longueur  $L$  et de rayon  $R$ , la force appliquée sera proportionnelle à  $\pi R^2 L$  et la force induite proportionnelle à  $e$  l'épaisseur typique de la couche diffuse. L'efficacité  $\tau$  du couplage est donc

$$\tau = \frac{\text{Force induite}}{\text{Force appliquée}} \propto \frac{1}{R} \quad (1.1)$$

Lorsque les dimensions latérales diminuent, ce couplage peut devenir très important. C'est pour cela que les effets électrocinétiques sont présents dans les milieux poreux et les systèmes microfluidiques.

### 1.1 Électrocinétique : origines historique et physique

#### 1.1.1 Quelques travaux fondateurs. Présentation du couplage linéaire.

Le tableau 1.1.1 retrace quelques travaux théoriques et expérimentaux fondateurs de l'électrocinétique depuis les premières observations de Reuss [56] au début du 19<sup>ème</sup> siècle. En 1852 Wiedemann [57] a observé qu'une différence de potentiel électrique  $\Phi$  appliquée aux bornes

Année	Auteur	Références	Expériences et Théorie
1809	Reuss	[56]	Électrophorèse et électro-osmose dans des suspensions d'argile
1852	Wiedemann	[57]	Débit électro-osmotique proportionnel au champ électrique
1861	Quincke	[58]	Potentiel d'écoulement dans des capillaires en verre
1879	von Helmholtz	[59]	Équations pour l'électroosmose et le courant d'écoulement
1892	Saxén	[60]	Symétries entre courant d'écoulement et débit électroosmotique
1909	Freundlich	[61]	Création du terme <i>Electrokinetics</i>
1910	Gouy	[62]	Théorie de la double couche diffuse
1923	Debye et Hückel	[63]	Approximation des faibles potentiels
1924	Stern	[64]	Couches de Stern
1931	Onsager	[65, 66]	Relations de symétrie d'Onsager
1951	Mazur et Overbeek	[33]	Démonstration des relations de Saxén

TAB. 1.1 – Principaux modèles et observations de phénomènes électrocinétique depuis les premières observations de Reuss [56] au début du 19<sup>ème</sup> siècle et la mise en évidence expérimentale de la symétrie entre courant d'écoulement et flux électroosmotique par Saxén [60] jusqu'aux travaux de Mazur et Overbeek [33] qui ont démontré ces mêmes relations.

d'un capillaire induisait un flux hydrodynamique  $Q$  proportionnel au courant électrique ou au champ appliqué. Si le capillaire est fermé aux deux extrémités, une chute de pression s'établit dans la capillaire afin d'assurer un débit nul. Cette chute de pression est également proportionnelle au courant électrique.

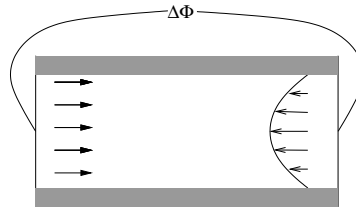


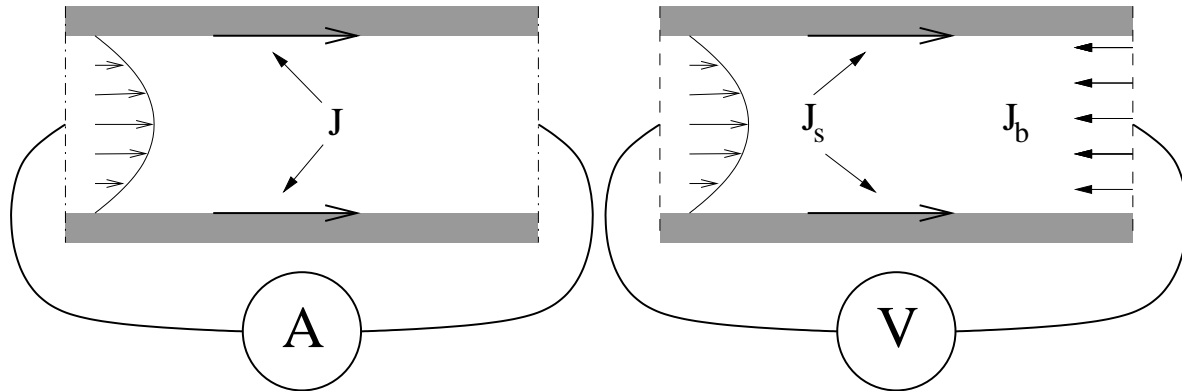
FIG. 1.1 – Représentation schématique du flux électroosmotique (à gauche) et du flux de recirculation (à droite).

D'autre part lorsqu'un flux hydrodynamique  $Q$  est imposé à travers un capillaire, un courant électrique  $J$  proportionnel au flux circule à travers le capillaire (Fig. 1.2(a)). Si le circuit électrique est ouvert (i.e. les charges ne peuvent circuler à l'extérieur du capillaire), une différence de potentiel électrique proportionnelle à  $Q$  s'établit entre les deux extrémités (Fig. 1.2(b)).

### Notation matricielle

En ajoutant la loi de Darcy ( $Q = K(-\nabla P)$ ) et la loi d'Ohm ( $J = S(-\nabla\Phi)$ ) à l'ensemble des relations précédentes on peut traduire les relations entre les champs appliqués et les flux, dans le régime de réponse linéaire, à l'aide de la matrice suivante :

$$\begin{bmatrix} Q \\ J \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} K & M_{12} \\ M_{21} & S \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} -\nabla P \\ -\nabla\Phi \end{bmatrix}. \quad (1.2)$$



(a) Mesure du courant d'écoulement  $J$  aux bornes d'un capillaire.

(b) Mesure du potentiel d'écoulement.  $J_s$  est le courant électrique advecté par le flux,  $J_b$  est un courant de recirculation tel que le courant total est nul.

FIG. 1.2 – Représentation schématique du courant d'écoulement et du potentiel d'écoulement.

Saxén a montré expérimentalement que les coefficients  $M_{12}$  et  $M_{21}$  étaient égaux. Dans le chapitre 2 nous étudierons plus spécifiquement ces relations de symétrie ou de réciprocité.

Pour calculer les coefficients  $M_{12}$  et  $M_{21}$  il est nécessaire d'explicitier l'origine microscopique des effets électrocinétiques.

### 1.1.2 Origine microscopique : la double couche diffuse.

#### La génération des charges de surface.

La plupart des matériaux plongés dans un électrolyte se chargent spontanément en surface. L'origine de ces charges de surfaces est diverse mais nous pouvons mentionner les trois mécanismes suivant :

- la dissociation des groupes de surface,
- l'adsorption d'ions de la solution et
- les défauts cristallins.

Les défauts cristallins sont responsables des densités de charges présentes dans les suspensions d'argiles [67]. Ces charges résultent de la substitution d'un ion du réseau cristallin par un autre de même taille mais de charge plus faible.

L'adsorption d'ions à la surface est présente dans de nombreux systèmes en tant que phénomène parasite [68, 69]. Cependant, elle a également été utilisée par différents groupes pour contrôler la charge de surface à l'aide de polyélectrolytes [70, 71, 72].

La dissociation des groupements chimiques présents à la surface est le mécanisme le plus répandu, où tout du moins un des plus documentés ([73] par exemple). Il s'agit du mécanisme à l'origine des charges présentes à la surface du PDMS et du verre, où des groupes hydroxyles sont le siège des réactions suivantes :

- en milieu basique  $M - OH + OH^- \leftrightarrow M - O^- + H_2O$ ,
- en milieu acide  $M - OH + H_3O^+ \leftrightarrow M - OH_2^+ + H_2O$ .



### Modèle de Gouy-Chapman

La présence d'une surface chargée perturbe bien évidemment la distribution des ions de l'électrolyte. Le premier modèle, du à Helmholtz, considère simplement une distribution de charge opposée dans la solution (Fig. 1.3).

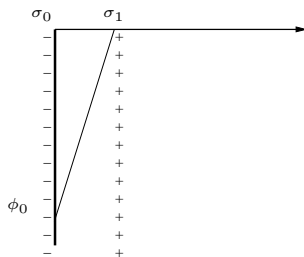


FIG. 1.3 – Modèle de Helmholtz pour une interface chargée.

Le développement de la physique statistique a rendu rapidement obsolète cette vision statique. Au sein de l'électrolyte il y a compétition entre les forces électrostatiques et l'agitation thermique ( $kT$ ). Les ions de signe opposé à ceux de la surface, les *contre-ions*, sont donc prédominants proche de celle-ci, mais les ions de même signe ne sont pas complètement exclus de cette région (Fig. 1.4).

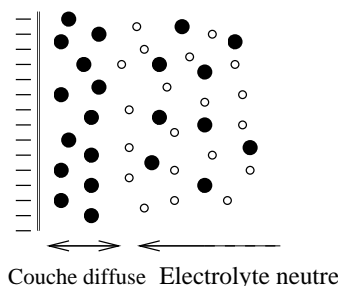


FIG. 1.4 – Représentation schématique de la couche diffuse. ( Contre-ions + : ● ; Co-ions - : ○.)

Un grand nombre de modèles ont été développés pour décrire la distribution des ions dans l'électrolyte [74]. Schématiquement ces modèles comportent deux domaines distincts (voir Fig.1.5). Le premier, de très faible épaisseur ( $\leq 1$  nm), est composé d'une ou plusieurs couches condensées d'ions qui constituent la couche de Stern (ou *inner double layer*). Le second est une couche *diffuse* de contre-ions qui se développe sur une distance de l'ordre de la dizaine de nanomètres. La surface virtuelle séparant ces deux domaines est appelée *Outer Helmholtz Plane* (OHP). Hunter [73] décrit le potentiel de surface déterminant les effets électrocinétiques comme étant celui correspondant au début de cette couche diffuse. On considère généralement que cette surface, dénommée parfois *plan de cisaillement*, est le lieu où s'applique la condition de non-glissement hydrodynamique. Le potentiel de surface est communément appelé potentiel  $\zeta$ .

Dans toute la suite nous assimilerons le plan de Helmholtz et le plan de cisaillement (*Shear Plane*) à partir duquel l'électrolyte peut se mouvoir. Nous appellerons donc par la suite *charge surfacique* la somme des charges présentes à l'interface solide-liquide et celles immobilisées dans la couche de Stern. De plus nous négligerons la conduction électrique de la

couche de Stern vis à vis de celle de l'électrolyte [75, 76].

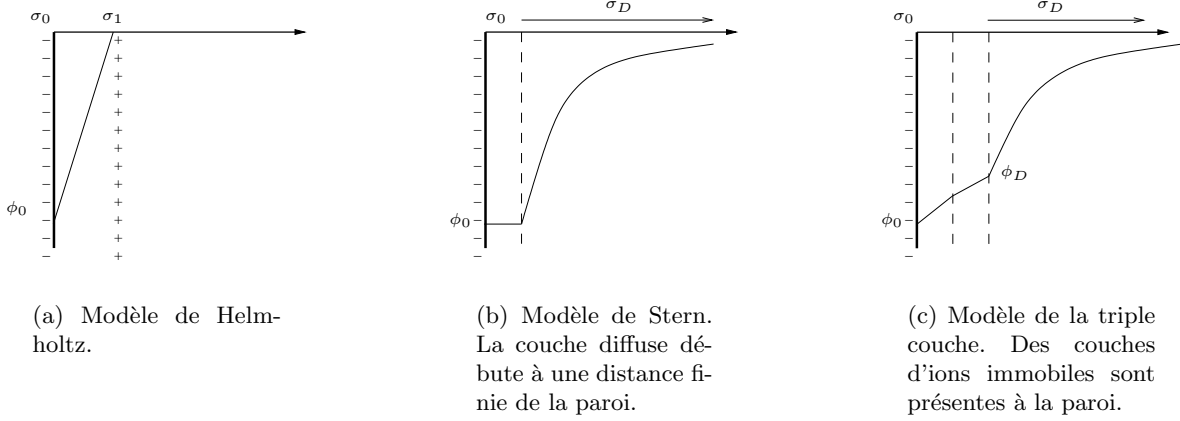


FIG. 1.5 – Représentation des différents modèles.  $\phi_D$  est le potentiel au début de la couche diffuse, par la suite il sera noté  $\zeta$ .  $\phi_0$  est le potentiel à l'interface liquide-solide dont la charge surfacique est  $\sigma_0$ .

Pour caractériser cette couche diffuse, il faut déterminer la distribution des charges et le potentiel électrique. Ce problème a été résolu indépendamment par Gouy [62] et Chapman en utilisant l'équation de Poisson :

$$\nabla^2 \phi = -\frac{\rho}{\varepsilon} \quad (1.3)$$

et l'équation de Boltzmann :

$$c_i = c_i^0 \exp(-z_i \phi / kT), \quad (1.4)$$

où  $z_i$  est la charge de l'espèce  $i$  et  $c_i^0$  sa concentration à grande distance de la surface où l'on a pris  $\phi = 0$ .

En introduisant la densité de charge  $\rho = \sum_i n_i z_i$ , on obtient l'équation de *Poisson-Boltzmann* :

$$\nabla^2 \phi = -\frac{1}{\varepsilon} \sum_i c_i^0 z_i \exp(-z_i \phi / kT). \quad (1.5)$$

Cette équation ne possède pas de solutions analytiques simples sauf dans des cas très particuliers. Pour illustrer notre propos nous allons considérer dans la suite une surface plane de charge homogène, au contact d'un électrolyte symétrique dont les ions sont de charge  $z$  et  $-z$ . Une couche diffuse se développe dans la solution et l'équation (1.4) peut alors s'écrire

$$\frac{d^2 \phi}{dx^2} = \frac{2c^0 z}{\varepsilon} \sinh\left(\frac{z\phi}{kT}\right) \quad (1.6)$$

où  $\mathbf{x}$  est la normale à la paroi. Après quelques manipulations et en considérant comme précédemment que le potentiel est nul à grande distance et que le potentiel à la surface, en  $z = 0$ , vaut  $\phi = \zeta$  on obtient

$$\tanh(z\phi/4kT) = \tanh(z\zeta/4kT) \exp(-x/\lambda_D), \quad (1.7)$$

avec

$$\lambda_D = \left( \frac{\varepsilon kT}{\sum_i n_i^0 z_i^2} \right)^{-1/2} \quad (1.8)$$

la longueur de Debye.

Cette longueur caractérise l'étendue spatiale de la couche diffuse de contre-ions. Usuellement de l'ordre de quelques nanomètres, elle introduit une nouvelle longueur caractéristique dans le système. Ainsi pour étudier le comportement électrocinétique d'un capillaire, trois longueurs sont déterminantes :

- le diamètre du capillaire ( $\approx 1 - 100\mu\text{m}$ ),
- sa longueur typique ( $\approx 0,1 - 10\text{cm}$ ) et
- la longueur de Debye ( $\approx 1 - 100\text{nm}$ ).

A ces trois longueurs peut s'ajouter la dimension caractéristique des motifs de formes ou de charges de surface dans le cas de canaux texturés.

La gamme étendue de variation de ces longueurs pose problème lors de l'étude analytique ou numérique de tels systèmes. Une méthode couramment employée est d'étudier d'une part la couche diffuse et d'autre part le reste de la solution puis de relier les solutions à la frontière de la couche de Debye. Cette méthode est intéressante lorsque l'on veut étudier l'ensemble du système. Mais le plus souvent il n'est pas nécessaire de connaître la structure des flux dans la couche diffuse. On utilise alors l'approximation de fine couche de Debye. De plus, nous verrons dans la suite que dans le cas des potentiels de surface faibles, les équations se simplifient avantageusement.

### L'approximation de Debye-Hückel

Dans le cas des faibles potentiels ( $|z_i e \phi| < kT$ ), on peut linéariser l'équation 1.4 pour obtenir

$$\nabla^2 \phi = -\frac{1}{\varepsilon} \sum_i n_i^0 z_i + \sum_i z_i^2 \phi / kT \quad (1.9)$$

où le premier terme doit être nul pour préserver l'électro-neutralité loin de la surface. En introduisant la longueur de Debye  $\lambda_D$  on obtient

$$\nabla^2 \phi = \lambda_D^{-2} \phi. \quad (1.10)$$

Cette approximation est très fréquemment utilisée dans les systèmes faiblement chargés et particulièrement dans le domaine de la microfluidique. Cela permet d'obtenir une expression simple du profil de densité de charges dans l'électrolyte.

De plus si l'on considère que cette longueur est faible devant les autres longueurs caractéristiques nous nous trouvons dans l'approximation de couche de Debye fine, communément appelée *Thin Double Layer* approximation (TDL). Lorsque nous utiliserons cette approximation (Sec 3.1), son intérêt sera discuté ainsi que son domaine de validité.

#### 1.1.3 Les équations de l'électrocinétique.

Pour introduire l'origine microscopique des effets électrocinétiques, nous allons considérer un électrolyte contenant  $N$  espèces ioniques au contact d'une surface chargée au potentiel  $\zeta$ .

Le flux de l'espèce ionique  $i$  de concentration locale  $c_i$  est donné en régime stationnaire par

$$\mathbf{j}_i = -\mathcal{D}_i [\nabla c_i + (z_i c_i / kT) \nabla \phi] + c_i \mathbf{v} \quad (1.11)$$

où  $\mathcal{D}_i$  et  $z_i$  sont le coefficient de diffusion et la charge de l'ion  $i$ ,  $\phi$  est le potentiel électrique local et  $\mathbf{v}$  la vitesse du fluide. Le terme de diffusion brownienne et celui dû au champ électrique

peuvent être réunis à l'aide du potentiel chimique défini par :

$$\mu_i = z_i \phi + kT \ln c_i. \quad (1.12)$$

L'équation (1.11) s'écrit alors

$$\mathbf{j}_i = -\frac{D_i}{kT} c_i \nabla \mu_i + c_i \mathbf{v}. \quad (1.13)$$

Pour sa part la vitesse du fluide est donnée par l'équation de Stokes en régime stationnaire :

$$\eta \nabla^2 \mathbf{v} - \nabla p - \sum_i c_i \nabla \mu_i = 0 \quad (1.14)$$

où  $\eta$  est la viscosité du fluide et  $p$  la pression..

À ces équations s'ajoutent les lois de conservations en régime stationnaire

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0, \quad (1.15)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{j}_i = 0. \quad (1.16)$$

et les conditions aux limites suivantes :

$$\mathbf{j}_i \cdot \mathbf{n} = 0, \quad (1.17)$$

$$\mathbf{v}_{paroi} = \mathbf{0}, \quad (1.18)$$

$$\phi_{paroi} = \zeta \quad (1.19)$$

où  $\mathbf{n}$  est la normale à la paroi et  $\zeta$  le potentiel de surface défini précédemment (Sec 1.1.2). La condition sur le flux électrique (Eq.1.17) est valide pour des surfaces isolantes. Les conditions aux limites pour la vitesse et le potentiel ((1.18) et (1.19)) sont choisies pour satisfaire la définition du plan de cisaillement.

À l'équilibre thermodynamique les flux ioniques et la vitesse du fluide sont nuls ainsi que les variations des potentiels ( $\nabla \mu_i = 0$ ). Le système d'équations permet alors de retrouver les équations de Poisson-Boltzmann et de la pression osmotique.

Mais si l'on perturbe le système, la non-linéarité des équations complique grandement leur résolution. Il est donc souvent indispensable de simplifier le système en s'affranchissant des non-linéarités.

### Linéarisation des équations de l'électrocinétique.

L'approximation la plus répandue consiste à ne considérer que des systèmes soumis à des faibles perturbations autour de l'équilibre. Nous utiliserons dans ce chapitre des notations telles que

$$c_i = c_i^0 + \hat{c}_i. \quad (1.20)$$

Les solutions à l'équilibre pour le champ de vitesse et les potentiels chimiques sont :

$$\mathbf{v}^0 = 0, \quad (1.21)$$

$$\mu_i^0 = cste_i. \quad (1.22)$$

En utilisant des notations similaires pour les  $\mu_i$  et en négligeant les produits de perturbations, on obtient des équations linéarisées pour les flux ioniques

$$\hat{\mathbf{j}}_i = -\frac{\mathcal{D}_i}{kT} c_i^0 \nabla \hat{\mu}_i + c_i^0 \hat{\mathbf{v}} \quad (1.23)$$

et pour le champ de vitesse

$$\eta \nabla^2 \hat{\mathbf{v}} - \nabla \hat{p} - \sum_i c_i^0 \nabla \hat{\mu}_i = 0. \quad (1.24)$$

Les conditions aux limites pour les flux et les potentiels s'écrivent alors :

$$\hat{\mathbf{j}}_i \cdot \mathbf{n} = 0, \quad (1.25)$$

$$\hat{\mathbf{v}}_{paroi} = \mathbf{0}, \quad (1.26)$$

$$\hat{\phi}_{paroi} = 0. \quad (1.27)$$

Cette linéarisation n'est valide que si la double couche n'est que faiblement perturbée. Il est donc nécessaire que les gradients locaux du potentiel chimique appliqué ainsi que les forces hydrodynamique qui s'exercent sur la double couche soient plus faibles que les forces cohésives. Ces dernières sont de l'ordre de  $e\zeta/\lambda_D$  et  $kT/\lambda_D$  car comme mentionné précédemment la couche diffuse résulte d'une compétition entre l'énergie électrostatique et l'agitation thermique.

Dans le cas de géométries simples il est aisé d'évaluer ces gradients locaux à partir des gradients macroscopiques. Mais cela n'est plus vrai pour les systèmes de topologies plus complexes où les gradients locaux peuvent être bien plus importants que ceux appliqués, comme dans le cas d'une constriction au milieu d'un capillaire. Néanmoins nous considérerons dans la suite que cette approximation de réponse linéaire est toujours valide.

Ce système d'équations est maintenant linéaire ce qui simplifie les calculs des effets électrocinétiques, ceux-ci restent néanmoins difficiles dans le cas général. Pour illustrer notre propos nous allons calculer à l'aide de ces équations les effets électrocinétiques dans un électrolyte de concentration homogène à proximité d'un plan de charge homogène [73] (N.B. : dans cette géométrie particulièrement simple (Fig. 1.6), les équations non-linéaires sont également solvables).

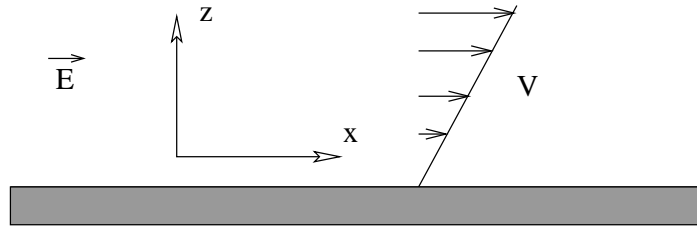


FIG. 1.6 – Géométrie utilisée pour déterminer les effets électrocinétiques à proximité d'un plan chargé de potentiel de surface  $\zeta$  uniforme.

**L'électrosmose.** Si l'on applique un champ électrique  $\hat{\mathbf{E}} = \hat{E} \mathbf{x}$  parallèle au plan, l'équation (1.24) devient

$$\eta \frac{\partial^2 \hat{v}_x}{\partial z^2} - \frac{\partial \hat{p}}{\partial x} - \sum_i c_i^0 z_i \hat{E} = 0, \quad (1.28)$$

car dans le cas où aucun gradient de concentration n'est présent, le potentiel chimique est  $\hat{\mu}_i = z_i \hat{\phi}$ .

En utilisant l'équation de Poisson nous obtenons en l'absence de gradient de pression, la relation suivante

$$\eta \frac{\partial^2 \hat{v}_x}{\partial z^2} = \varepsilon \frac{\partial^2 \phi^0}{\partial x^2} \hat{E}, \quad (1.29)$$

qui s'intègre simplement en utilisant les conditions aux limites à la paroi (1.25) et en considérant que la vitesse est constante loin de la paroi ( $\partial_z \hat{v}_x = 0$  à  $z \rightarrow \infty$ ) :

$$\hat{v}_x = \frac{\varepsilon}{\eta} (\phi_0 - \zeta) \hat{E}. \quad (1.30)$$

À l'extérieur de la couche diffuse, où le potentiel est nul, la vitesse du fluide  $v_{eo}$  est constante ce qui correspond à un écoulement *bouchon* :

$$\hat{v}_{eo} = -\frac{\varepsilon \zeta}{\eta} \hat{E}. \quad (1.31)$$

Cette vitesse électroosmotique est alors proportionnelle au champ appliqué et au potentiel de surface.

**Courant d'écoulement.** Nous nous intéressons maintenant aux flux de charges advectées par un fluide en mouvement sous l'effet d'un gradient de pression extérieur.

Le potentiel chimique appliqué étant nul, les équations pour les flux ioniques (1.23) deviennent

$$\hat{j}_i = c_i^0 \hat{v}_x. \quad (1.32)$$

Le courant électrique total  $J$  parallèle à la paroi est alors

$$\hat{J} = \int_z \sum_i z_i c_i^0 \hat{v}_x, \quad (1.33)$$

qui en utilisant l'équation de Poisson devient

$$\hat{J} = \int_z \varepsilon \frac{\partial^2 \phi^0}{\partial z^2} \hat{v}_x. \quad (1.34)$$

En intégrant par parties l'équation précédente on obtient pour un champ de vitesse linéaire à proximité de la paroi ( $v_x = \hat{\gamma} z$ ) (Fig. 1.6) :

$$\hat{J} = -\varepsilon \zeta \hat{\gamma}. \quad (1.35)$$

Le cisaillement  $\gamma$  dépend linéairement du champ de pression, le courant d'écoulement est donc également proportionnel au champ de pression et au potentiel de surface  $\zeta$ .

Dans le chapitre suivant nous donnerons les relations complètes permettant de relier les flux aux champs appliqués.

Les effets électrocinétiques permettent donc de sonder les surfaces à partir de mesures macroscopiques. Les mesures de courants d'écoulements ont donc été utilisées pour caractériser des systèmes poreux [77], des suspensions colloïdales [78] ainsi que des surfaces [79, 80, 76, 81, 82].

## 1.2 Le renouveau de l'électrocinétique par l'intermédiaire de la microfluidique

### 1.2.1 La porte d'entrée : l'électrophorèse capillaire

Le développement de l'électrophorèse capillaire a vu apparaître des systèmes miniaturisés mettant en jeu des rapports surface sur volume de plus en plus importants. L'augmentation de ce rapport ainsi que la difficulté de réaliser des capillaires exempts de charges de surface ont remis à la mode ce phénomène ancien qu'est l'électroosmose.

Pouvant être assimilé à un effet parasite, l'électroosmose peut également être utilisée sciemment afin d'améliorer les séparations électrophorétiques [69] ou plus simplement comme moyen de transport et de contrôle des flux dans des capillaires et dans tous les systèmes fluidiques de faibles dimensions transverses [83].

Classiquement les flux hydrodynamiques sont contrôlés par des gradients de pression ( $-\frac{\Delta P}{L}$ ). Dans un capillaire circulaire de rayon  $a$  le débit  $Q$  associé à un tel gradient est donné par

$$Q^{(p)} = \frac{\pi a^4}{12\eta} \left( -\frac{\Delta P}{L} \right). \quad (1.36)$$

La miniaturisation est donc très défavorable pour ce moyen de transport qui nécessite des pressions importantes lorsque les dimensions diminuent.

Pour sa part le débit électroosmotique est donné par

$$Q^{(e)} = -\mu\pi a^2 \left( -\frac{\Delta\phi}{L} \right) \quad (1.37)$$

où  $\mu = \frac{\varepsilon\zeta}{\eta}$  est le coefficient de glissement calculé en (1.31). La dépendance de ce débit vis-à-vis de la miniaturisation est bien plus favorable.

Cet aspect ainsi que les avancées technologiques autorisant le contrôle du potentiel de surface  $\zeta$ , a permis le développement de l'électroosmose comme moyen de transport privilégié des fluides dans les microsystèmes.

### 1.2.2 Un plus : le contrôle des motifs de formes et de charges

Le développement des technologies de microfabrication permet de réaliser des systèmes microfluidiques de plus en plus complexes. Ces derniers ne sont plus simplement de simples capillaires interconnectés dont la surface est homogène mais des réseaux de canaux de tailles et de formes diverses.

Il est donc nécessaire d'étendre les équations "historiques" de l'électroosmose aux situations diverses rencontrées dans les circuits microfluidiques actuels. Pour cela il faut tenir compte de canaux dont la topologie, contrôlée, peut être variée et dont la charge de surface n'est plus homogène mais présente des motifs plus ou moins complexe.

De plus on peut noter dans le contexte microfluidique le déséquilibre de traitement entre les deux effets électrocinétiques majeurs que sont l'électroosmose et le courant d'écoulement. Bien que ce dernier soit encore utilisé pour mesurer des potentiels de surface [84,85,80] son intérêt a été éclipsé par celui de l'électroosmose. En effet l'électrophorèse est utilisée fréquemment dans les systèmes de séparations, de plus nous avons montré ci-dessus l'intérêt de l'électroosmose pour déplacer les fluides dans les microcircuits. Ainsi le lien fondamental qui unit ces deux effets électrocinétiques et l'utilisation de la symétrie profonde existante entre ces effets n'est

que très rarement mis en œuvre dans des réalisations microfluidiques. On peut néanmoins mentionner des mesures de débits par l'intermédiaire du potentiel d'écoulement [35] mais pour lesquels les coefficients de couplages n'étaient qu'imparfaitement connus.

### 1.2.3 Plan de la partie

Ce travail a donc un double objectif. D'une part donner un ensemble d'équations de l'électrocinétique adaptées aux systèmes microfluidiques. D'autre part rétablir l'équilibre de traitement entre l'électrosmose et le courant d'écoulement afin de donner les outils nécessaires à l'utilisation des symétries inhérentes à l'électrocinétiques, et surtout de comprendre les structures des courant d'écoulement générés dans des géométries non triviales.

Pour cela nous nous intéresserons tout d'abord aux relations de symétrie existantes entre champs et flux, en les généralisant aux systèmes de formes et de charges quelconques (Chap. 2).

Puis nous préciserons comment l'approximation de couche de Debye mince, souvent utilisée pour l'électrosmose, peut être adaptée pour les problèmes de potentiels d'écoulements (Chap. 3). Ceci nous permettra de retrouver dans ce cadre les relations de symétries précédentes.

Dans le chapitre 4 nous utiliserons ce formalisme simplifié pour calculer les structures des flux hydrodynamiques et des courants électriques dans des géométries modèles, qui ont montré leur pertinence dans plusieurs réalisations expérimentales. Nous pouvons mentionner tout particulièrement les canaux de formes et/ou de charges modulées qui ont mis en évidence la présence de rouleaux de recirculations [70] et d'effets transverses [35] (Fig. 1.7).

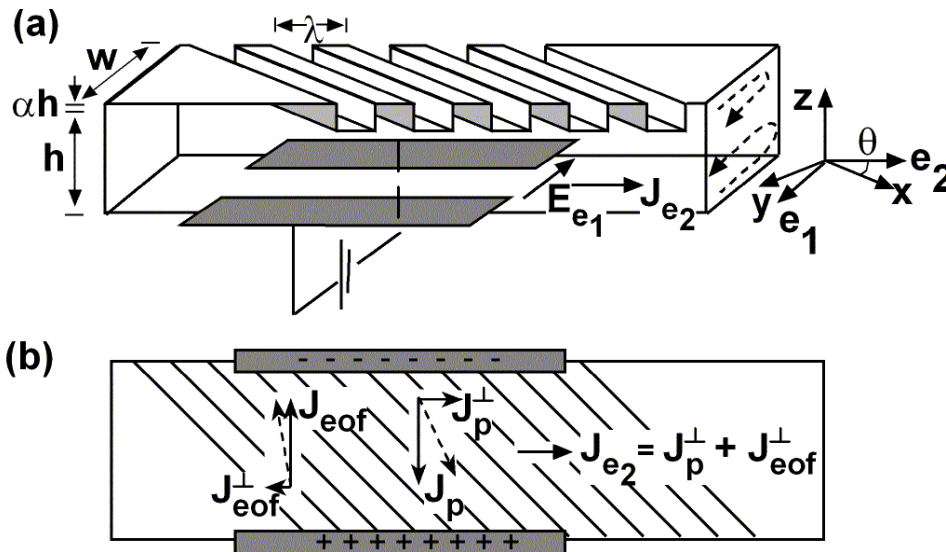


FIG. 1.7 – Exemple de canaux texturés induisant des effets transverse.

Un effet transverse est obtenu lorsque qu'un champ appliqué suivant une direction induit un flux dans une direction perpendiculaire.





## Chapitre 2

# Généralisations des relations de symétrie

Ce chapitre est structuré principalement autour de la reproduction d'un article publié dans *Physical Review E* [34]. Ce dernier propose une démonstration explicite des relations de symétrie et de réciprocité existantes entre l'électroosmose et le courant d'écoulement dans des géométries et topologies non triviales, et plus généralement le caractère symétrique de la matrice introduite par l'équation (1.2).

### 2.1 Introduction

Les relations de Saxén sont un ensemble d'équations exprimant la symétrie existante entre les effets électrocinétiques. Ainsi la relation de proportionnalité entre le débit électroosmotique et la différence de potentiel électrique appliquée est égale à celle liant le courant d'écoulement à la chute de pression :

$$\left. \frac{Q}{\Delta\Phi} \right)_{\Delta P=0} = \left. \frac{J}{\Delta P} \right)_{J=0}. \quad (2.1)$$

Overbeek et Mazur ont démontré en 1951 [33] les relations de Saxén en utilisant une approche thermodynamique générale et une approche hydrodynamique restreinte à des capillaires de section constante et de surface homogène. Après avoir exposé ces démonstrations, nous présenterons une démonstration hydrodynamique plus générale.

#### 2.1.1 Démonstration thermodynamique. Production d'entropie de l'électrocinétique

Nous présentons ici les grandes lignes de la démonstration de Mazur et Overbeek basée sur des considérations de thermodynamique hors équilibre. Bien que nous n'utiliserons pas cette approche, il est intéressant d'en exposer les grandes lignes car le lien avec les démonstrations classique des symétries d'Onsager [86,87,66,65] est directe. De plus cela permet de saisir plus aisément les fondements physiques de ces relations de symétries.

Dans la suite nous considérerons deux récipients de volume  $V^1$  et  $V^2$ , à la pression  $P^1$  et  $P^2 = P^1 - P$  et au potentiel électrique  $E^1$  et  $E^2 = E^1 - E$  respectivement. Ils sont reliés par un capillaire, l'ensemble étant à la température  $T$ . Les récipients contiennent  $n - 1$  espèces

chargées de charge  $z_1, z_2, \dots, z_{n-1}$ , et une espèce neutre. La concentration des différentes espèces est identique dans les deux récipients.

### Calcul de la production d'entropie

L'objectif est de retrouver les relations liant les *Flux* aux *Forces* conjuguées en calculant la production d'entropie de ce système hors équilibre. Pour cela nous écrivons l'équation de Gibbs pour le récipient (1).

$$TdS^1 = dU^1 + P^1 dV^1 - \sum_{i=1}^{n-1} (\mu_i^1 + z_i E^1) dc_i^1 - \mu_n dc_n^1 \quad (2.2)$$

avec  $\mu_i$  le potentiel chimique et  $c_i$  la concentration de l'espèce  $i$ . Une équation similaire existe pour le récipient (2). En utilisant les relations de conservations de la masse, la variation d'entropie du système est donnée par

$$dS = \frac{1}{T} \left[ dU^1 + dU^2 + P^1 dV^1 + P^2 dV^2 - \sum_{i=1}^{n-1} (\Delta\mu_i + z_i E) dc_i^1 - \Delta\mu_n dc_n^1 \right] \quad (2.3)$$

où  $\Delta\mu_i = \mu_i^1 - \mu_i^2$ .

En utilisant la première loi de la thermodynamique et en séparant l'entropie fournie par l'extérieur et celle créée en interne  $d_{int}S$ , on obtient pour cette dernière :

$$d_{int}S = -\frac{1}{T} \left[ \sum_{i=1}^{n-1} (\Delta\mu_i + z_i E) dc_i^1 + \Delta\mu_n dc_n^1 \right] \quad (2.4)$$

La concentration des espèces étant identique dans les deux récipients on a  $\Delta\mu_i = v_i P$  avec  $v_i$  le volume partiel de l'espèce  $i$ . En nommant  $I$  le courant total de charge et  $Q$  le flux de liquide traversant le capillaire, on obtient

$$T \frac{d_{int}S}{dt} = IE + QP \quad (2.5)$$

Nous retrouvons la forme usuelle des relations entre *Forces* et *Courants* nécessaires pour appliquer les relations d'Onsager. Nous pouvons remarquer que dans le cas où les concentrations des différentes espèces ne sont pas égales, l'équation ci-dessus reste valide à condition de tenir compte de la *pression osmotique* dans l'expression des potentiels chimiques  $\mu_i$ .

### Applications des relations d'Onsager [65, 66]

Si les différences de potentiel sont faibles, les courants en dépendent linéairement

$$I = L_{11}E + L_{12}P \quad (2.6)$$

$$Q = L_{21}E + L_{22}P. \quad (2.7)$$

La création d'entropie peut s'exprimer en utilisant la matrice  $L$  définie ci-dessus.

$$T \frac{d_{int}S}{dt} = {}^t[I \quad Q][E \quad P] \quad (2.8)$$

$$= [E \quad P]L[E \quad P]. \quad (2.9)$$

La création d'entropie étant positive, cela impose que la matrice  $L$  soit symétrique positive, avec  $L_{12} = L_{21}$  et

$$\left(\frac{I}{P}\right)_{E=0} = \left(\frac{Q}{E}\right)_{P=0}$$

qui expriment la symétrie entre courant d'écoulement et flux électroosmotique. D'autres relations en découlent immédiatement entre flux et courants comme par exemple :

$$\left(\frac{I}{P}\right)_{Q=0} = \left(\frac{Q}{E}\right)_{I=0}, \quad (2.10)$$

$$\left(\frac{I}{Q}\right)_{E=0} = -\left(\frac{P}{E}\right)_{Q=0} \quad (2.11)$$

et

$$\left(\frac{Q}{I}\right)_{P=0} = \left(\frac{E}{P}\right)_{I=0}. \quad (2.12)$$

Il est à noter que chacune des relations précédentes correspond à des expériences particulières. La relation (2.10) permet de prédire la chute de pression aux bornes d'un capillaire fermé ( $Q = 0$ ) induit par un champ électrique en mesurant le courant d'écoulement généré par un flux hydrodynamique.

### 2.1.2 Calculs explicites des flux

La seconde démonstration de Mazur et Overbeek repose sur la similarité existante entre les équations gouvernant le champs électrique et le champ de vitesse dans un capillaire rectiligne de charge homogène.

#### Électro-osmose dans un capillaire

Considérons un capillaire de longueur  $l$  (suivant  $z$ ) et de section de forme quelconque mais constante dans le plan  $(xy)$ , rempli d'un électrolyte de densité de charge  $\rho^0$  et de potentiel  $\phi^0$  à l'équilibre. Les dimensions transverses sont suffisamment importantes pour que le potentiel loin des parois soit nul.

En l'absence de gradient de pression et pour un écoulement uni-axial, le champ de vitesse provoqué par l'application d'une différence de potentiel  $\Delta\hat{\phi}$ , est donné par

$$\eta \left( \frac{\partial^2 \hat{v}_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \hat{v}_z}{\partial y^2} \right) = -\rho^0 \left( -\frac{\Delta\hat{\phi}}{L} \right). \quad (2.13)$$

En introduisant l'équation de Poisson pour exprimer la charge en fonction du potentiel électrique, nous obtenons

$$\eta \left( \frac{\partial^2 \hat{v}_z}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \hat{v}_z}{\partial y^2} \right) = \varepsilon \left( \frac{\partial^2 \phi^0}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi^0}{\partial y^2} \right) \left( -\frac{\Delta\hat{\phi}}{L} \right) \quad (2.14)$$

dont la solution est

$$\hat{v}_z = -\frac{\varepsilon}{\eta} (\zeta - \phi^0) \left( -\frac{\Delta\hat{\phi}}{L} \right) \quad (2.15)$$

où  $\zeta$  est le potentiel à la surface. Il suffit alors d'intégrer cette vitesse sur la section du capillaire pour obtenir le débit électro-osmotique :

$$\hat{Q} = -\frac{\varepsilon}{\eta} \iint \left(1 - \frac{\phi^0}{\zeta}\right) dx dy \left(-\frac{\Delta \hat{\phi}}{L}\right). \quad (2.16)$$

### Courant d'écoulement

Le courant d'écoulement correspond aux charges advectées par le flux hydrodynamique créé par une différence de pression  $\Delta \hat{P}$ . En utilisant le même système que précédemment son expression dans le régime linéaire est

$$\hat{J} = \iint \hat{v}_z \rho^0 dx dy = -\varepsilon \iint \hat{v}_z \left(\frac{\partial^2 \phi^0}{\partial x^2} + \frac{\partial^2 \phi^0}{\partial y^2}\right) dx dy. \quad (2.17)$$

À l'aide d'une double intégration par parties et en introduisant l'équation de Stokes, la relation précédente devient

$$\hat{J} = -\frac{\varepsilon}{\eta} \iint \left(1 - \frac{\phi^0}{\zeta}\right) dx dy \left(-\frac{\Delta \hat{P}}{L}\right). \quad (2.18)$$

On obtient donc le même coefficient de proportionnalité entre le flux et le champ pour l'électroosmose (2.16) et pour le courant d'écoulement (2.18) :

$$\begin{aligned} \hat{Q} &= C \left(-\frac{\Delta \hat{P}}{L}\right), \\ \hat{J} &= C \left(-\frac{\Delta \hat{\phi}}{L}\right) \end{aligned}$$

avec

$$C = -\frac{\varepsilon}{\eta} \iint \left(1 - \frac{\phi^0}{\zeta}\right) dx dy.$$

Les démonstrations ci-dessus ont servi de base à un grand nombre de travaux traitant d'électrocinétiques ([73, 88, 89, 90, 91] par exemple). Mais si la démonstration reposant sur la thermodynamique est applicable à toutes les situations, la deuxième dépend fortement du capillaire utilisé. Il est donc intéressant d'étudier ces relations de symétries dans un cadre plus général afin de vérifier à quelles conditions les symétries découlent des équations électrocinétiques. C'est ce point qui est traité dans la section suivante qui reproduit un article publié en janvier 2004.

## 2.2 Generalized Onsager relations for electrokinetic effects in anisotropic and heterogeneous geometries

# Generalized Onsager relations for electrokinetic effects in anisotropic and heterogeneous geometries

 Edouard Brunet<sup>1</sup> and Armand Ajdari<sup>2,\*</sup>
<sup>1</sup>Laboratoire MMN, UMR CNRS-ESPCI 7083, 10 rue Vauquelin, F-75231 Paris Cedex 05, France

<sup>2</sup>Laboratoire de Physico-Chimie Théorique, UMR CNRS-ESPCI 7083, 10 rue Vauquelin, F-75231 Paris Cedex 05, France

(Received 12 September 2003; published 26 January 2004)

We lay down a general formalism to describe the linear electrohydrodynamic response of systems of arbitrary topology, symmetry and heterogeneity, and through an explicit proof, we demonstrate a set of general Onsager relations between the corresponding electrokinetic coefficients. This generalizes a classical result of Mazur and Overbeek [P. Mazur and J.T.G. Overbeek, Recl. Trav. Chim. Pays-Bas. **70**, 83 (1951)] to situations that may become of practical relevance in particular in the field of microfluidic devices. Technically, our proof of the symmetry of the generalized conductance matrix relies on an adaptation of the reciprocal theorem of low-Reynolds-number hydrodynamics.

DOI: 10.1103/PhysRevE.69.016306

PACS number(s): 47.60.+i, 47.65.+a, 47.55.Mh, 85.85.+j

## I. INTRODUCTION

A few decades ago Mazur and Overbeek proved the existence of relations between electro-hydrodynamic couplings in a capillary containing an electrolyte solution [1]. In particular, the magnitude of the electro-osmotic effect (the solvent flow generated by the application of an electric field) is directly related to that of the streaming current effect (a pressure drop across the capillary can drive an electric current between its ends). This relation holds as a so-called Onsager relation, valid within linear response of fluxes to fields in the vicinity of thermodynamic equilibrium (see De Groot and Mazur [2]).

Formally their result is equivalent to the following statement: the matrix that relates, in the linear response regime, the flow of liquid  $Q$  and the electrical current  $I_{el}$  through the capillary (see Fig. 1, top), to the pressure drop  $\Delta p$  and electrostatic potential drop  $\Delta\phi$  across that channel,

$$\begin{bmatrix} Q \\ I_{el} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_{11} & M_{12} \\ M_{21} & M_{22} \end{bmatrix} \begin{bmatrix} -\Delta p \\ -\Delta\phi \end{bmatrix}, \quad (1)$$

is a symmetric matrix  $M_{12}=M_{21}$ . The sign convention is such that  $\mathbf{M}$  is a positive definite matrix.

Technically the proof of Mazur and Overbeek consisted of three pieces. First they showed explicitly, using coupled local equations for hydrodynamics and electrostatics, that the above-mentioned relation is true *for a capillary of arbitrary but constant cross section, and of constant surface (zeta) potential*. Second, using a general close-to-equilibrium thermodynamic formulation, they showed that one should expect such relations *for a channel connecting two points with identical ionic concentrations*. This second proof holds regardless of the specific description of electrohydrodynamics within the channel, and regardless of the channel wall properties. In a third step, they derived subsequent relations for a network of such 1D channels.

In the present paper, we complete the picture by providing a generalized explicit proof of Onsager relations between various electrokinetic coefficients, starting from the commonly used microscopic equations for hydrodynamics, electrostatics and ion transport in dilute electrolyte solutions. This proof holds for geometries of *arbitrary surface properties and shapes* [e.g., arbitrary strength and distribution of the surface (zeta) potential], of arbitrary topologies (e.g., devices with many inlets that cannot be described simply as networks of 1D channels), and for variations of the ionic concentrations.

A motivation for this study is the developing possibilities offered by microfabrication to tailor microfluidic or porous media of controlled heterogeneity and anisotropy for functional purposes such as (pumping, flow control, mixing, separation) [3–11]. In particular our proof is relevant for transverse effects in patterned microchannels, for nodes in circuits of microchannels, and for anisotropic (e.g., layered) porous materials.

To provide the reader with a flavor of our results, we provide two examples of consequences of our general approach (see the bottom of Fig. 1).

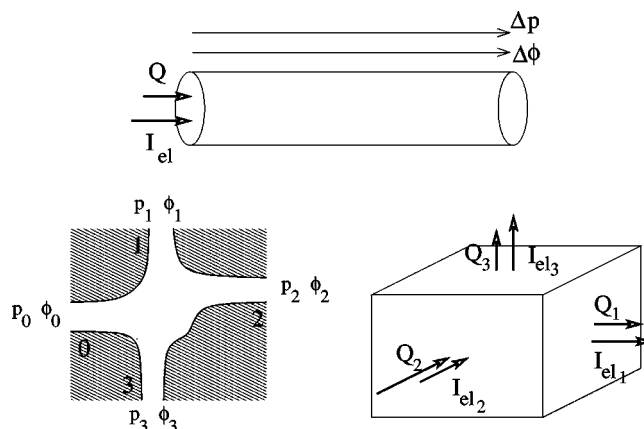


FIG. 1. Top: a simple capillary. Bottom: examples of geometries covered by our approach, a 4-branch node (left) and the unit cell of a periodic porous material (right).

\*Author to whom all correspondence should be addressed. Email address: armand@turner.pct.espci.fr

(a) The linear response of the 4-branch node in Fig. 1, is described (in the absence of applied ionic gradients) by a *symmetric* matrix relating the flow rate and electrical current exiting through each branch  $Q_\alpha$  and  $I_{el\alpha}$  ( $\alpha=0, \dots, 3$ ), to the pressures and potential (relative to that of the inlet 0)  $\Delta p_\alpha = p_\alpha - p_0$  and  $\Delta \phi_\alpha = \phi_\alpha - \phi_0$ :

$$\begin{bmatrix} Q_1 \\ Q_2 \\ Q_3 \\ I_{el1} \\ I_{el2} \\ I_{el3} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_{11} & M_{12} & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ M_{21} & M_{22} & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \\ \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot & \cdot \end{bmatrix} \begin{bmatrix} -\Delta p_1 \\ -\Delta p_2 \\ -\Delta p_3 \\ -\Delta \phi_1 \\ -\Delta \phi_2 \\ -\Delta \phi_3 \end{bmatrix} \quad (2)$$

with the conservation rules  $Q_0 = Q_1 + Q_2 + Q_3$  and  $I_{el0} = I_{el1} + I_{el2} + I_{el3}$ . Our main point is that this matrix is symmetric:  $M_{uv} = M_{vu}$ . So for example  $M_{26}$ , which describes how an electrostatic potential applied on branch 3 generates a flow in branch 2 (cross channel electro-osmosis), is equal to  $M_{62}$  which describes how a pressure applied on branch 2 generates an electric current in branch 3 (cross-channel streaming potential). In passing we also clarify when and in what sense one can use a *single* pressure  $p_\alpha$  and a *single* potential  $\phi_\alpha$  to characterize (the section of) an inlet, and therefore write compact expressions such as Eqs. (1) and (2).

(b) Currents through a 3D periodic porous medium, again in the absence of net ionic gradients can also be described by Eq. (2), with now the  $Q_\alpha$  and  $I_{el\alpha}$  being the flow and electrical current along one of the periodicity direction  $\alpha$ , and the  $\Delta p_\alpha$  and  $\Delta \phi_\alpha$  being the pressure and potential drop over a period in this direction (Fig. 1, bottom left). Again cross effects are related by the symmetry of the matrix.

We take a few steps to obtain these results, and proceed as follows.

In Sec. II we define notations and our starting equations. We then present their equilibrium solution, and the equations describing linear response for small deviations from the equilibrium.

In Sec. III, we perform a calculation analogous to the reciprocal theorem of low-Reynolds-number hydrodynamics which yields the essence of our generalized symmetry proof, at a formal level however.

To make things more explicit and practical, we specialize in Sec. IV to two cases: (Sec. IV A) a periodic system, and (Sec. IV B) a system with ports or inlets that are either smooth (so that integral quantities such as potential and pressure are well defined for each of them) or distant from one another (compared to the ports diameters of the ports). We then explore consequences of the symmetry proof for these two cases (Sec. IV C).

We close in Sec. V with a summary of our results, a few technical comments, and connections to related papers in the literature.

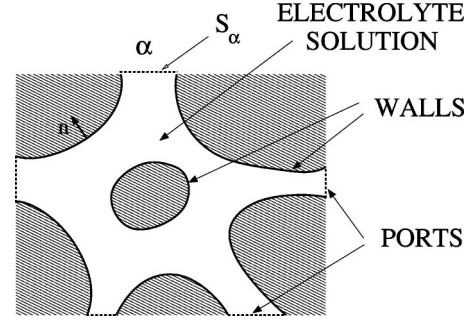


FIG. 2. Scheme of a volume of electrolyte (white) bounded by external and internal walls (hatched), and in contact with the outer world through  $N$  ports (here  $N=5$ ).

## II. STARTING POINT: LOCAL EQUATIONS AND NOTATIONS

As depicted in Fig. 2, we consider a dilute electrolyte solution in a region of space bounded by (1) walls (that can be internal or external) and (2)  $N$  surfaces  $S_\alpha$  (with  $\alpha = 0, \dots, N-1$ ) through which the electrolyte is connected to the outside, which we will call ‘‘ports’’ or ‘‘inlets’’ indifferently ( $N=2$  corresponds to the usual case of a simple channel).

*Bulk equations.* The solvent hosts  $K$  ionic species of respective ionic charge  $q_i$  and local concentration  $c_i(\mathbf{x})$ . The local charge density is thus  $\rho = \sum_{i=1,K} q_i c_i$ . The solution is taken incompressible and of viscosity  $\eta$ , and inertial effects are assumed negligible. Thus the flow field  $\mathbf{v}$  is given by

$$\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma} + \rho \mathbf{E} = \mathbf{0}, \quad (3)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{v} = 0, \quad (4)$$

where the hydrodynamic stress tensor is

$$\boldsymbol{\sigma} = -p \mathbf{I} + \eta (\nabla \mathbf{v} + \nabla \mathbf{v}^T), \quad (5)$$

with  $p$  the pressure.  $\mathbf{E} = -\nabla \phi$  is the local electric field, given by the Poisson equation

$$\epsilon \nabla^2 \phi + \rho = 0. \quad (6)$$

We focus on steady-state situations where the concentration fields  $c_i$  are governed by time independent conservation equations for the corresponding currents:

$$\mathbf{j}_i = -m_i c_i \nabla \mu_i + c_i \mathbf{v}, \quad (7)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{j}_i = 0, \quad (8)$$

where  $\mu_i(\mathbf{x}) = q_i \phi + k_B T \ln(c_i)$  is the chemical potential of species  $i$ , and  $m_i$  its mobility.

Let us also introduce, for reasons that will become clear later,

$$\Pi = p - p_{osmotic} = p - k_B T \sum_{i=1,K} c_i, \quad (9)$$

$$\boldsymbol{\sigma}_0 = -\Pi\mathbf{I} + \eta({}^t\nabla\mathbf{v} + \nabla\mathbf{v}). \quad (10)$$

Equation (3) can be modified to read

$$\nabla \cdot \boldsymbol{\sigma}_0 - \sum_{i=1,K} c_i \nabla \mu_i = \mathbf{0}. \quad (11)$$

*Boundary conditions.* The above set of equation must be supplemented by boundary conditions on the walls and on the ports' surfaces.

On the walls, we require that there is no ion injection or absorption, and impose a no-slip boundary condition for the flow:

$$\mathbf{j}_i|_{wall} \cdot \mathbf{n} = 0, \quad (12)$$

$$\mathbf{v}|_{wall} = \mathbf{0}, \quad (13)$$

where  $\mathbf{n}$  is the local normal to the wall (oriented outwards from the solution). In principle, we then have to add a boundary condition for the electrostatic potential  $\phi$ , related to the local surface property of the wall. This local condition is typically that the surface potential is imposed or that a given surface charge density results in constraints for the normal gradient of the potential. However, it turns out that we need not specify this ‘‘electrical geometry’’ of the problem for the proof presented in this paper. Therefore, to limit the notations we proceed without formally expressing the electrostatic boundary condition on the walls.

The last elements to close the problem are the boundary conditions on the ports surfaces  $S_\alpha$ , which characterize the external forcing on the system. Depending on the problem at hand, these local boundary conditions can be expressed in terms of conditions on either the potentials ( $\phi, p, \mu_i$ ), or the fluxes ( $\mathbf{v}, \mathbf{j}_i$ ), or a combination of both.

The bulk equations together with the boundary conditions constitute a well-defined problem, whereby the system responds to the applied forcing described by the boundary conditions on the ports surface. Note that this response is in general nonlinear due to the nonlinear couplings in Eqs. (3) and (7).

*Thermodynamic equilibrium.* At thermodynamic equilibrium, the currents and flow are zero,  $\mathbf{v}_{eq} = \mathbf{0}$ ,  $\mathbf{j}_{ieq} = \mathbf{0}$ , and the related potentials are spatially homogeneous  $\nabla \Pi_{eq} = \mathbf{0}$  and  $\nabla \mu_{ieq} = \mathbf{0}$ , the latter corresponding to Boltzmann distributions for the ionic concentrations  $c_{ieq} = c_i^0 \exp(-(q_i \phi_{eq})/(k_B T))$ .

*Linear response.* To describe the linear response of the system, we denote with a hat the perturbations about the equilibrium values given above (e.g.,  $\mathbf{v} = \mathbf{v}_{eq} + \hat{\mathbf{v}}$ ,  $\mathbf{j}_i = \mathbf{j}_{ieq} + \hat{\mathbf{j}}_i$ , etc.). We then linearize the equations written above by retaining only terms that are first order terms in ‘‘hat’’ quantities. We therefore focus on the solutions to the following set of equations:

$$\nabla \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}} + \hat{\rho} \mathbf{E}_{eq} + \rho_{eq} \hat{\mathbf{E}} = \mathbf{0}, \quad (14)$$

$$\nabla \cdot \hat{\mathbf{v}} = 0, \quad (15)$$

with

$$\hat{\boldsymbol{\sigma}} = -\hat{p}\mathbf{I} + \eta({}^t\nabla\hat{\mathbf{v}} + \nabla\hat{\mathbf{v}}) \quad (16)$$

and  $\hat{\mathbf{E}} = -\nabla\hat{\phi}$ , where

$$\epsilon \nabla^2 \hat{\phi} + \hat{\rho} = 0. \quad (17)$$

$$\hat{\mathbf{j}}_i = -m_i c_i c_{ieq} \nabla \hat{\mu}_i + c_{ieq} \hat{\mathbf{v}}, \quad (18)$$

$$\nabla \cdot \hat{\mathbf{j}}_i = 0, \quad (19)$$

and also

$$\nabla \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}}_0 - \sum_{i=1,K} c_{ieq} \nabla \hat{\mu}_i = \mathbf{0}. \quad (20)$$

The boundary conditions are a direct transposition of those for the full problem

$$\hat{\mathbf{j}}_i|_{wall} \cdot \mathbf{n} = 0, \quad (21)$$

$$\hat{\mathbf{v}}|_{wall} = \mathbf{0}. \quad (22)$$

For reasons stated above we will not explicit the linearized electrostatic boundary conditions. Note, however, that this boundary condition for the *perturbation of the electrostatic potential*  $\hat{\phi}$  is in general homogeneous, with no reference any more to the surface potential or charge density of the walls [this information is now fully contained in the  $c_{ieq}(\mathbf{x})$  fields].

This set of equations (14)–(22) and the unwritten electrostatic boundary condition is now a linear one, whereby the local flows and fields respond in proportion and additively to the effects applied on the ports surfaces  $S_\alpha$ . We will from now on limit ourselves to this linear response regime.

Let us however point out that the range of validity of this linearization procedure is difficult to express in a general way. Formally, we have neglected  $\hat{\rho} \hat{\mathbf{E}}$  in Eq. (14),  $-m_i \hat{c}_i \nabla \hat{\mu}_i + \hat{c}_i \hat{\mathbf{v}}$  in Eq. (18), and  $-\sum_{i=1,K} \hat{c}_i \nabla \hat{\mu}_i$  in Eq. (20). It is far from obvious to assert in a general way when those terms are, at steady state, negligible compared to those linear in the drivings. Physically, a clear requirement is that the structure of the charged double layers is only weakly distorted. This translates into the requirement that locally ‘‘applied’’ chemical potential gradients (created by potential drops or concentration differences between the ports) be weaker than  $e\phi_s/\lambda_D$  and  $k_B T/\lambda_D$  (where  $\phi_s$  represents a typical surface potential and  $\lambda_D$  the Debye length), and so should the typical local ‘‘applied’’ convective hydrodynamic drag  $\hat{v}/m_i$  in these charged layers. However these local ‘‘applied’’ quantities may depend in a complex fashion on the macroscopically applied driving. For example in a porous medium, the local field in a thin slot may be significantly larger than the macroscopically applied one. In general, the domain of validity of linear response thus depends on geometrical features of the specific system (tortuosity, surface charge patterns, etc.).



### III. RECIPROCAL THEOREM

We start by a variant of the reciprocal theorem for zero-Reynolds-number hydrodynamics [12], adapted to electrokinetic phenomena (in a way related but different than its adaptation in the nice derivation of electrophoretic mobilities of particles by Teubner [13]). We consider two independent solutions of the linearized problem (around the same equilibrium solution), that we design by superscripts (1) and (2). These two solutions correspond to different external forcings, i.e., different boundary conditions on the surfaces of the ports (for example one could be generated by applied pressure differences, and the other by potential differences, but we need not specify anything at this point). Then thanks to incompressibility for solution (2):

$$\begin{aligned} \nabla \cdot (\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)}) &= (\nabla \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(1)}) \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)} \\ &+ \frac{1}{2} \eta (\nabla \hat{\mathbf{v}}^{(1)} + \nabla \hat{\mathbf{v}}^{(2)}) : (\nabla \hat{\mathbf{v}}^{(2)} + \nabla \hat{\mathbf{v}}^{(1)}). \end{aligned} \quad (23)$$

Then from Eq. (20), with  $\nabla \mu_{ieq} = 0$ :

$$(\nabla \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(1)}) \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)} = \sum_{i=1,K} c_{ieq} \nabla \hat{\mu}_i^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)} \quad (24)$$

which can be related to other quantities by

$$\begin{aligned} \nabla \cdot (\hat{\mu}_i^{(1)} \hat{\mathbf{j}}_i^{(2)}) &= \nabla \hat{\mu}_i^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{j}}_i^{(2)} \\ &= -m_i c_{ieq} \nabla \hat{\mu}_i^{(1)} \cdot \nabla \hat{\mu}_i^{(2)} + \nabla \hat{\mu}_i^{(1)} \cdot (c_{ieq} \hat{\mathbf{v}}^{(2)}) \end{aligned} \quad (25)$$

where the first equality holds because the ionic currents are divergence free.

Using the three results above, the following quantity is symmetrical in the exchange between superscripts (1) and (2):

$$\begin{aligned} \nabla \cdot (\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)}) - \nabla \cdot \left( \sum_{i=1,K} \hat{\mu}_i^{(1)} \hat{\mathbf{j}}_i^{(2)} \right) \\ = \nabla \cdot (\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(2)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(1)}) - \nabla \cdot \left( \sum_{i=1,K} \hat{\mu}_i^{(2)} \hat{\mathbf{j}}_i^{(1)} \right). \end{aligned} \quad (26)$$

The next step consists in integrating these relations over the volume occupied by the electrolyte solution. We transform the integral of divergences into fluxes through the surface bounding the electrolyte. Given the boundary conditions (12) and (13), that apply similarly to the linearized perturbations  $\hat{\mathbf{v}}$  and  $\hat{\mathbf{j}}_i$ , the surface integrals over the walls vanish and we are left with the fluxes through the ports surfaces only. Therefore, the above symmetry, reads in integral form

$$\begin{aligned} \sum_{\alpha=0,N-1} \iint_{S_\alpha} dS \left( \mathbf{n} \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)} - \sum_{i=1,K} (\hat{\mu}_i^{(1)} \mathbf{n} \cdot \hat{\mathbf{j}}_i^{(2)}) \right) \\ = \sum_{\alpha=0,N-1} \iint_{S_\alpha} dS \left( \mathbf{n} \cdot \hat{\boldsymbol{\sigma}}_0^{(2)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(1)} - \sum_{i=1,K} (\hat{\mu}_i^{(2)} \mathbf{n} \cdot \hat{\mathbf{j}}_i^{(1)}) \right). \end{aligned} \quad (27)$$

*This symmetry is actually that of the linear operator relating the currents  $\hat{\mathbf{v}}$  and  $\hat{\mathbf{j}}_i$  through the boundaries of the system, to the generalized forces  $\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0$  and  $-\hat{\mu}_i$  applied there. As such this expression is the core of this paper, in a rather formal presentation.*

To get closer to a more operational form such as that of Eq. (2) in the Introduction, a first step is to explicit for each port the average values of the driving potentials, and the fluxes emerging from this port. Let us define  $\hat{Q}_\alpha = \iint_{S_\alpha} dS \mathbf{n} \cdot \hat{\mathbf{v}}$  and  $\hat{J}_{i\alpha} = \iint_{S_\alpha} dS \mathbf{n} \cdot \hat{\mathbf{j}}_i$  the flow and ionic fluxes emerging from port  $\alpha$ , and  $\hat{\Pi}_\alpha$  and  $\hat{\mu}_{i\alpha}$  the average values of  $\hat{\Pi}$  and  $\hat{\mu}_i$  over the port section  $S_\alpha$ . Then the previous equation reads

$$\begin{aligned} - \sum_{\alpha=0,N-1} \hat{Q}_\alpha^{(2)} \hat{\Pi}_\alpha^{(1)} - \sum_{\alpha=0,N-1} \sum_{i=1,K} \hat{J}_{i\alpha}^{(2)} \hat{\mu}_{i\alpha}^{(1)} \\ + \sum_{\alpha=0,N-1} \iint_{S_\alpha} dS \mathbf{n} \cdot (\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0(\mathbf{x}) + \hat{\Pi}_\alpha \mathbf{1})^{(1)} \cdot \hat{\mathbf{v}}^{(2)} \\ - \sum_{\alpha=0,N-1} \sum_{i=1,K} \iint_{S_\alpha} dS ([\hat{\mu}_i(\mathbf{x}) - \hat{\mu}_{i\alpha}]^{(1)} \mathbf{n} \cdot \hat{\mathbf{j}}_i^{(2)}) \\ = \text{same formula with } (1 \leftrightarrow 2). \end{aligned} \quad (28)$$

Although this formula appears more cumbersome than the previous one (27), we have actually made progress: indeed the first line is in a form that permits the compact matrix treatment alluded to in the Introduction, and in the two following ones appear quantities such as  $[-\hat{\Pi}(\mathbf{x})\mathbf{1} + \hat{\Pi}_\alpha \mathbf{1}]$  and  $[\hat{\mu}_i(\mathbf{x}) - \hat{\mu}_{i\alpha}]$  which are zero when averaged over the port area  $S_\alpha$ .

### IV. EXPLICIT ONSAGER SYMMETRY RELATIONS

In this section we focus on three situations where these terms [second and third line of Eq. (28)] either cancel out or are negligible compared to those of the first line. If the system is periodic the cancellation is exact, a case treated in Sec. IV A. These terms can be neglected in two other situations that we analyze in Sec. IV B: systems with ‘‘smooth inlets’’ and systems with ‘‘long inlets.’’ In both Secs. IV A and IV B we show that a general conductance matrix is symmetric, and bring the two cases to a common formalism, so as to be able to explore in Sec. IV C in a unified way the explicit consequences of this symmetry for the two cases.

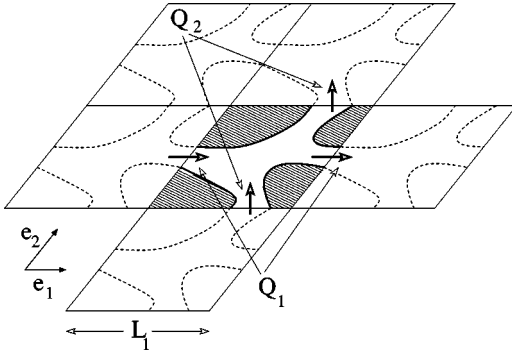


FIG. 3. *Top view* of a slab geometry with two nonorthogonal periodicity directions ( $D=2$ ) and with no obvious symmetry of the unit cell. The system is bounded by two parallel solid walls in the third perpendicular direction. The currents are periodic, so the quantities flowing through the periodic repeats of connecting ports are constant (here only the net flow  $Q$  is depicted but this holds also for the ionic currents). In contrast the local values of the potentials increase by a constant value from one unit cell to the next.

### A. Periodic systems

Suppose that the system we consider is actually periodic, so that we can focus on a unit cell, repeated at distances  $L_\gamma$  along the vectors  $\mathbf{e}_\gamma$  (that need not be orthogonal); see Fig. 3. The system need not have additional symmetries such as isotropy or centrosymmetry. Obviously the number of periodicity directions  $D$  is smaller than or equal to the spatial dimension (typically 3).  $D=1$  corresponds to a periodic channel,  $D=2$  to a periodic slab geometry (e.g., that of Fig. 3), and  $D=3$  is a three-dimensional periodic medium (see, e.g., Fig. 1, bottom left).

Due to the periodicity of the system, the solutions (1) and (2) described in Sec. III are then also periodic, which actually means that the velocities and currents are periodic, but that the potentials  $\hat{\Pi}$  and  $\hat{\mu}_i$  increase over a unit cell in the direction  $\mathbf{e}_\gamma$  by fixed values  $\Delta\hat{\Pi}_\gamma$  and  $\Delta\hat{\mu}_{i\gamma}$ . As a consequence, the quantities  $[\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0(\mathbf{x}) + \hat{\Pi}_\alpha \mathbf{1}]$  and  $[\hat{\mu}_i(\mathbf{x}) - \hat{\mu}_{i\alpha}]$  in Eq. (28) are periodic, so that the terms where they appear cancel out when summing on the two opposite faces of the unit cell in a given direction.

So updating the notations in Eq. (28) so that  $\hat{Q}_\gamma$  and  $\hat{J}_{i\gamma}$  are the flow and ionic fluxes through the ports of the unit cell facing the direction  $\gamma$ , the symmetry relation (27) simplifies to

$$\begin{aligned} & \sum_{\gamma=1,D} \hat{Q}_\gamma^{(2)} \Delta\hat{\Pi}_\gamma^{(1)} + \sum_{\gamma=1,D} \sum_{i=1,K} \hat{J}_{i\gamma}^{(2)} \Delta\hat{\mu}_{i\gamma}^{(1)} \\ &= \sum_{\gamma=1,D} \hat{Q}_\gamma^{(1)} \Delta\hat{\Pi}_\gamma^{(2)} + \sum_{\gamma=1,D} \sum_{i=1,K} \hat{J}_{i\gamma}^{(1)} \Delta\hat{\mu}_{i\gamma}^{(2)}. \end{aligned} \quad (29)$$

This demonstrates the total symmetry of the  $D(K+1) \times D(K+1)$  “conductance” tensor  $\mathbf{M}$  that relates the generalized forces  $-\Delta\hat{\Pi}_\gamma, -\Delta\hat{\mu}_{i\gamma}$  to the generalized fluxes  $\hat{Q}_\gamma, \hat{J}_{i\gamma}$ . To make this point explicit let us use the convenient notation  $\hat{Q} = \hat{J}_0$  and  $\hat{\Pi} = \hat{\mu}_0$ . This is standard (see, e.g., Ref.

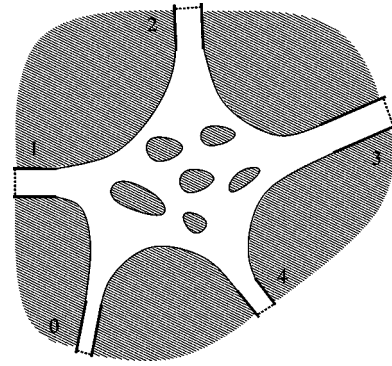


FIG. 4. Scheme of media connected to the outer world by “smooth sections” (thicker lines) of constant surface characteristics, so that the potentials  $\Pi_\alpha, \mu_{i\alpha}$  are well defined and constant on a section (dashed lines). In this specific case there are  $N=5$  ports.

[2], Chap. XV), with the index zero describing global quantities in the system and  $i=1,K$  the ionic species (alternatively one can describe the solvent explicitly as a species). The reason why  $\Pi$  is the proper “potential” related to  $Q$  is also described in [2]. Then the linear response of the system is defined by

$$\hat{J}_{i\gamma} = M_{i\gamma,j\delta} (-\Delta\hat{\mu}_{j\delta}) \quad (30)$$

with indices  $i$  and  $j$  running from 0 to  $K$ , and  $\gamma$  and  $\delta$  from 1 to  $D$ , and summation over repeated indices is implicit. The minus sign here is such that  $\mathbf{M}$  is a positive matrix [actually  $\sum_{i,\gamma} \hat{J}_{i\gamma} (-\Delta\hat{\mu}_{i\gamma})$  is the dissipation rate in the system, which is always positive]. Equation (29) now reads

$$\Delta\hat{\mu}_{i\gamma}^{(1)} (M_{i\gamma,j\delta} - M_{j\delta,i\gamma}) \Delta\hat{\mu}_{j\delta}^{(2)} = 0 \quad (31)$$

whatever the values of the potential drops, which leads us to the central result of this paper in compact form:

$$M_{i\gamma,j\delta} = M_{j\delta,i\gamma}. \quad (32)$$

### B. Smooth inlets or long inlets

We now focus on the case of a nonperiodic system, with  $N$  ports, that could be thought of as a complex node in a network, or maybe a complex subsection of the network (see Fig. 4). To be able to work practically with the integral relation (28), it is convenient to neglect the terms in the second and third line of Eq. (28).

Although this cannot be done blindly, there are two cases where it appears legitimate.

(a) If the ports consist of smooth homogeneous cylindrical sections, it is expected that the pressure and chemical potentials have almost constant value over the integration surfaces  $S_\alpha$ , so that  $[\hat{\boldsymbol{\sigma}}_0(\mathbf{x}) + \hat{\Pi}_\alpha \mathbf{1}]$  and  $[\hat{\mu}_i(\mathbf{x}) - \hat{\mu}_{i\alpha}]$  are very small.

(b) If the inlets are very long compared to the dimensions of the port, it is to be expected that the above mentioned quantities (that reflect differences within a section  $S_\alpha$ ) are small compared to the pressure and potential drop across the whole system, so that the terms in the first line of Eq. (28) will dominate.

We now make the assumption that one or both of these conditions is fulfilled and proceed. Then, using again for compactness the notations  $Q = J_0$  and  $\Pi = \mu_0$ , the relation between the potentials  $\hat{\mu}_{i\alpha}$  and the emerging fluxes  $\hat{J}_{i\alpha}$  at various ports for the two solutions (1) and (2) of the linearized response problem read

$$\sum_{\alpha=0, N-1} \sum_{i=0, K} \hat{J}_{i\alpha}^{(2)} \hat{\mu}_{i\alpha}^{(1)} = \sum_{\alpha=0, N-1} \sum_{i=0, K} \hat{J}_{i\alpha}^{(1)} \hat{\mu}_{i\alpha}^{(2)}. \quad (33)$$

Note the difference with the case of periodic systems: here local potentials (for each port) appear, rather than potential drops along a period. To restore the usual fact that linear response usually connects currents to potential differences, we remark that the local conservation laws for the flow and ionic species result at steady state in the obvious  $(K+1)$  global conservation rules:  $\sum_{\alpha=0, N-1} \hat{J}_{i\alpha} = 0$ . Then taking port 0 as the reference and defining here  $\Delta \hat{\mu}_i = \hat{\mu}_i - \hat{\mu}_0$ , Eq. (33) can be reformulated as

$$\sum_{\alpha=1, N-1} \sum_{i=0, K} \hat{J}_{i\alpha}^{(2)} \Delta \hat{\mu}_{i\alpha}^{(1)} = \sum_{\alpha=1, N-1} \sum_{i=0, K} \hat{J}_{i\alpha}^{(1)} \Delta \hat{\mu}_{i\alpha}^{(2)}. \quad (34)$$

From then on, all the results and formalism of the previous Sec. IVA for periodic systems can be applied, and the relations obtained there [Eqs. (30) and (32)] hold also in the present case, with the indices  $\alpha = 1, \dots, N-1$  replacing  $\gamma = 1, \dots, D$ , and the  $\Delta \hat{\mu}_i$  having different definitions.

This formal identity allows us to explore the consequences of the symmetry of the conductance tensor in a unified way below.

### C. Consequences of the symmetry of the conductance matrix

A more explicit and practically useful expression of the Onsager relations (30) and (32) is

$$\left( \frac{\hat{J}_{i\gamma}}{\Delta \hat{\mu}_{j\delta}} \right)_{\Delta \hat{\mu}_{j'\delta'} | (j', \delta') \neq (j, \delta) = 0} = \left( \frac{\hat{J}_{j\delta}}{\Delta \hat{\mu}_{i\gamma}} \right)_{\Delta \hat{\mu}_{i'\gamma'} | (i', \gamma') \neq (i, \gamma) = 0}. \quad (35)$$

Let us explore briefly ways to use this general result.

(i) *If concentrations are not varied (no osmotic stresses).* All the rather formal approach above simplifies a lot if the concentrations do not vary. Then  $\Delta \Pi = \Delta p$ ,  $\Delta \mu_i = q_i \Delta \phi$ , and the total electric current  $I_{el} = \sum_{i=1, K} q_i J_i$  naturally shows up. Then Eq. (29) is replaced by

$$\sum_{\gamma} (\hat{Q}_{\gamma}^{(2)} \Delta \hat{p}_{\gamma}^{(1)} + \hat{I}_{el, \gamma}^{(2)} \Delta \hat{\phi}_{\gamma}^{(1)}) = \sum_{\gamma} (\hat{Q}_{\gamma}^{(1)} \Delta \hat{p}_{\gamma}^{(2)} + \hat{I}_{el, \gamma}^{(1)} \Delta \hat{\phi}_{\gamma}^{(2)}). \quad (36)$$

We have therefore symmetry relations for the simplified conductance matrix. For periodic systems, this matrix is now  $(2D)^2$  and gives the flow  $Q_{\gamma}$  and total electric current  $I_{el, \gamma}$  through the unit cell in direction  $\gamma$ , as a function of pressure and electrostatic potential drops over a period  $\Delta \hat{p}_{\delta}$  and  $\Delta \hat{\phi}_{\delta}$

in direction  $\delta$ . For an  $N$ -port ‘‘node,’’ the matrix is  $(2(N-1))^2$ , and gives the flow  $Q_{\gamma}$  and total electric current  $I_{el, \gamma}$  exiting through the port  $\gamma$  ( $\gamma = 1, \dots, N-1$ ), as a function of the pressure and electrostatic potential of port  $\delta$  ( $\delta = 1, \dots, N-1$ ) relative to that of port 0,  $\Delta \hat{p}_{\delta}$  and  $\Delta \hat{\phi}_{\delta}$ .

Equation (35) is replaced by symmetry relations for the electric response,

$$\left( \frac{\hat{I}_{el, \gamma}}{\Delta \hat{\phi}_{\delta}} \right)_{\Delta \hat{\phi}_{\delta' \neq \delta} = 0, \Delta \hat{p}_{\beta} = 0} = \left( \frac{\hat{I}_{el, \delta}}{\Delta \hat{\phi}_{\gamma}} \right)_{\Delta \hat{\phi}_{\gamma' \neq \gamma} = 0, \Delta \hat{p}_{\beta} = 0} \quad (37)$$

for the hydrodynamic response,

$$\left( \frac{\hat{Q}_{\gamma}}{\Delta \hat{p}_{\delta}} \right)_{\Delta \hat{p}_{\delta' \neq \delta} = 0, \Delta \hat{\phi}_{\beta} = 0} = \left( \frac{\hat{Q}_{\delta}}{\Delta \hat{p}_{\gamma}} \right)_{\Delta \hat{p}_{\gamma' \neq \gamma} = 0, \Delta \hat{\phi}_{\beta} = 0} \quad (38)$$

and for the electrohydrodynamic couplings,

$$\left( \frac{\hat{I}_{el, \gamma}}{\Delta \hat{p}_{\delta}} \right)_{\Delta \hat{p}_{\delta' \neq \delta} = 0, \Delta \hat{\phi}_{\beta} = 0} = \left( \frac{\hat{Q}_{\delta}}{\Delta \hat{\phi}_{\gamma}} \right)_{\Delta \hat{\phi}_{\gamma' \neq \gamma} = 0, \Delta \hat{p}_{\beta} = 0}. \quad (39)$$

Equation (39) states precisely how in a periodic medium cross-direction streaming currents (a pressure drop along  $\mathbf{e}_{\delta}$  generates an electric current along  $\mathbf{e}_{\gamma}$ ) are related to cross-direction electro-osmotic effects (a potential difference along  $\mathbf{e}_{\gamma}$  results in a flow along  $\mathbf{e}_{\delta}$ ). A similar statement holds to relate consequences of action on various ports of a ‘‘node.’’ These equations are generalizations of relations in the paper by Mazur and Overbeek [1] which dealt with the case  $D = 1$  (and homogeneous geometries). An explicit application for the case  $D = 3$  has been given above in the introduction of the present paper.

As a note, we remark that although Eq. (38) was listed as describing the hydrodynamic response of the system, the coefficients appearing on its two sides potentially reflect (transverse) electroviscous effects, whereby a flow generates potential drops that in turn produce electro-osmotic flows that contribute to the global hydrodynamic response. Such effects are already present in straight channels (see, e.g., the discussion and references in [14]), although usually weak unless the channel is thin, the surface charge is strong and the ionic strength weak. The same limits should be relevant for the detectability of transverse electroviscous effects.

(ii) *Resistance matrix.* Of course the reverse matrix giving the potential drops as functions of the currents is symmetric too, so that in the general case:

$$\left( \frac{\Delta \hat{\mu}_{i\gamma}}{\hat{J}_{j\delta}} \right)_{\hat{J}_{j'\delta'} | (j', \delta') \neq (j, \delta) = 0} = \left( \frac{\Delta \hat{\mu}_{j\delta}}{\hat{J}_{i\gamma}} \right)_{\hat{J}_{i'\gamma'} | (i', \gamma') \neq (i, \gamma) = 0}. \quad (40)$$

In the absence of concentration biases, equations similar to Eqs. (37), (38), and (39) hold for the inverse (resistance) quantities. For example electrohydrodynamic couplings are related by

$$\begin{pmatrix} \Delta \hat{\phi}_\gamma \\ \hat{Q}_\delta \end{pmatrix}_{\hat{Q}_{\delta' \neq \delta} = 0, \hat{I}_{\text{el}\beta} = 0} = \begin{pmatrix} \Delta \hat{p}_\delta \\ \hat{I}_{\text{el}\gamma} \end{pmatrix}_{\hat{I}_{\text{el}\gamma' \neq \gamma} = 0, \hat{Q}_\beta = 0} \quad (41)$$

that relates a cross direction streaming potential to a cross-direction electro-osmotically induced pressure drop in a hydrodynamically closed system.

(iii) *Many more relations (but nothing new)*. Actually, as was done for the simpler cases considered in their seminal paper by Mazur and Overbeek [1], many relations can be obtained in addition to those displayed in Eqs. (35), (37), (38), (39), (40), and (41). Indeed up to now we have established equalities between coefficients describing the response of the system in situations where either all potential drops but one are fixed to zero (conductivity matrix) or all currents but one are fixed to zero (resistance matrix). Actually one can consider many other combinations where for each direction (or port)  $\gamma$  and each species  $i$  (including the global flow  $i=0$ ) either the corresponding current or the corresponding potential drop is zero, but for one of those quantities in the system which is the driving force.

For example, it is easy to demonstrate from the symmetry of the matrix in Eq. (2) in the Introduction that for the systems depicted in the bottom of Fig. 1,

$$\begin{pmatrix} \Delta \hat{\phi}_3 \\ \Delta \hat{p}_1 \end{pmatrix}_{\hat{I}_{\text{el}i=1,2,3} = 0} = - \begin{pmatrix} \hat{Q}_1 \\ \hat{I}_{\text{el}3} \end{pmatrix}_{\hat{I}_{\text{el}i=1,2} = 0} \quad (42)$$

$$\begin{matrix} \hat{Q}_2 = 0 & \hat{Q}_2 = 0 \\ \Delta \hat{p}_3 = 0 & \Delta \hat{p}_i = 0 \end{matrix}$$

Such equations are in some sense generalizations to more complex geometries of Saxén's law [15]; see [1] and Sec. 9.11.6 in [16]. Note that there is nothing new in these relations in the sense that they are all contained in the symmetry of the original conductance matrix  $\mathbf{M}$  (32). However it is worth pointing out that each of the response coefficients in these formulas corresponds to a particular experiment (with given boundary conditions), so one needs to be careful in laying down properly the formalism to assess to what extent the outcome of two different experiments are directly related to one another (see for example the discussion of the phenomenology of electrokinetics in different experiments by Lorenz [14]).

(iv) *A comment on matrix representation*. Let us make here a short practical statement: up to now the generalized conductance has been described by a tensor  $\mathbf{M}$  with components  $M_{i\gamma,j\delta}$ .

It is often simpler to describe the response in terms of a matrix, as was done for example in the Introduction, where all the flows and currents are treated as a multicomponent vector. The two forms are equivalent provided things are written properly. There are two convenient ways of writing such linear systems: either sort the components by species first, or by port or direction first. The first strategy leads to the following matrix:

$$\begin{bmatrix} \hat{Q}_1 \\ \hat{Q}_2 \\ \dots \\ \hat{J}_{i=1,\alpha=1} \\ \hat{J}_{i=1,\alpha=2} \\ \dots \\ \hat{J}_{2,1} \\ \hat{J}_{2,2} \\ \dots \end{bmatrix} = [C_{u,v}]_{u=1,\dots,\Gamma}^{v=1,\dots,\Gamma} \begin{bmatrix} -\Delta \hat{\pi}_1 \\ -\Delta \hat{\pi}_2 \\ \dots \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=1,\alpha=1} \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=1,\alpha=2} \\ \dots \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=2,1} \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=2,2} \\ \dots \end{bmatrix}, \quad (43)$$

where  $\Gamma = (K+1)D$  for a periodic system and  $\Gamma = (K+1) \times (N-1)$  for a  $N$ -port node.

The alternative sorting (by ports) yields

$$\begin{bmatrix} \hat{Q}_1 \\ \hat{J}_{i=1,\alpha=1} \\ \hat{J}_{i=2,\alpha=1} \\ \dots \\ \hat{Q}_2 \\ \hat{J}_{1,2} \\ \hat{J}_{2,2} \\ \dots \end{bmatrix} = [L_{u,v}]_{u=1,\dots,\Gamma}^{v=1,\dots,\Gamma} \begin{bmatrix} -\Delta \hat{\pi}_1 \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=1,\alpha=1} \\ -\Delta \hat{\mu}_{i=2,\alpha=1} \\ \dots \\ -\Delta \hat{\pi}_2 \\ -\Delta \hat{\mu}_{1,2} \\ -\Delta \hat{\mu}_{2,2} \\ \dots \end{bmatrix}. \quad (44)$$

The matrices  $C$  and  $L$  defined above are both symmetric and the two formalisms can be used indifferently.

This picture is of course easily adapted to the simpler case where there are no applied ionic concentration gradients (see, e.g., the Introduction).

(v) *A last point*. Let us close this section by recalling that the most general form for the symmetry relation is the integral equations (27) and (28). To be able to replace the integral over each port surface  $S_\alpha$  by a local potential (osmotic pressure, chemical or electrostatic potential) times a flux, one needs additional hypothesis: we have exploited here two practically important ones: periodicity and smooth or long ports.

## V. DISCUSSION AND CONCLUDING REMARKS

To summarize, we have demonstrated that the electrohydrodynamic response of an electrolyte solution to applied pressures, electric fields, or chemical potential differences is described in the linear response regime by a symmetric matrix. This translates into general symmetry relations (35) and (40), and other combinations [see Sec. IV C (iii)]. When osmotic effects can be neglected (no ionic concentration drops) the description can be further simplified [e.g., Eqs. (37), (38), and (39)].

The proof presented here has a rather large range of validity, as it applies regardless of many features of the system (topology, shape, geometry, homogeneity or amplitude of the surface charge density or potential). The main restriction is



that the result is limited to the linear response regime. As discussed in Sec. II the extension of this regime in parameter space may be very system dependent, although an obvious constraint is that the average applied fields be weaker than the typical equilibrium ones in the charged double layers. Upon entering the nonlinear regime, which is clearly relevant for many high electric-field applications in microfluidics, there is no *a priori* reason for the “symmetry” between effects to remain valid, and a case by case study is required. A much weaker restriction on our results is that the formalism used (in particular for the expressions of the chemical potentials and osmotic pressure) is specific to dilute electrolyte solutions. It is of course possible to perform the same proof with a more general scheme, following Chap. XV in [2], but we chose to start with the equations of Sec. II as they are commonly used (see, e.g., the textbook [16]).

Beyond the formal symmetry relations per se, our systematic construction of the proof reveals a few noticeable features.

Quite remarkably, and as anticipated in the formulation of the problem (Sec. II), we never had to specify the value of the surface charge density on the surface of the walls. However, as discussed in Sec. II, they definitely affect the values of the linear response coefficients, as they determine the  $c_{ieq}$  for example. They likely also show up in an explicit computation of the range of applicability of the linear response formalism. In a related way, we never had to specify the explicit geometry of the system (shape, topology and size of the walls).

The formalism that we have developed is applicable to pure hydrodynamics in the case where there is no electrokinetic coupling. Then only flow rates and pressure drops appear, but the description of nodes or structured media by symmetric matrices remains true, the symmetry then relating cross channel hydrodynamic effects [see, e.g., Eq. (38)].

Our systematic approach also highlights that when addressing electrokinetic effects, one should keep in the description the ionic concentration differences and fluxes and the osmotic terms. This point is often forgotten for the simpler use of the sole global flow and electrical current variables, which yields an easier and more compact formalism (see, e.g., the Introduction of the present paper). To decide whether or not this simple approach is applicable or not to a specific experiment one should proceed with care.

A field of application of this work would be some extension of the work by Marino *et al.* [6]. In that elegant paper, equations similar to those of Sec. II are solved numerically for a few periodic porous geometries that are isotropic (at least statistically) and with constant surface charge. The au-

thors actually numerically demonstrated the symmetry of the matrix  $\mathbf{M}$  for these situations. More generally, for this kind of numerical work, Onsager symmetry relations can be either used as a control on the numerics by checking that they hold in the results, or taken for granted to bypass some computations and save computing time.

Another domain where these relations may find some use is the on purpose fabrication of anisotropic microfluidic devices. In [8] such devices were shown to allow for the realizations of various functionalities (flow detection, transverse pumping, mixing). The symmetry of the matrix was there taken for granted, and used to relate the various coefficients describing these effects. This symmetry could be of use for example to characterize microfabricated geometries independently of their use: for example one could validate the fabrication of an anisotropic structure for transverse electroosmotic pumping (see [11] for a working example) by measuring a transverse streaming current if this measurement is simpler to perform.

The relations presented in this paper for nonperiodic systems (Sec. IV B) could also be of use to describe nodes or crossings in a microfluidic system. Indeed if these crossing areas are not small, it is necessary to take them into account to describe the global response of the microfluidic network (i.e., they cannot be described by a set of simple scalar potentials and conservation laws as in Kirchhoff’s laws for electrical circuits). To apply the results of Sec. IV, it may be necessary to include in the “node” short sections of the channel emerging from it, so as to justify the approximations at the beginning of Sec. IV B which allow to characterize the state of an inlet by average scalar quantities (generalized potentials).

In conclusion, as is common with explicit demonstrations of Onsager symmetry relations, the outcome of this paper appears somewhat formal and not fundamentally surprising (as the symmetry is built in the local equations used at the beginning). However, the careful writing down of such a formalism, along the lines of the thermodynamics of irreversible processes, is a useful guide to connect with one another the outcome of various experiments, the more as the situation at hand can be rather complex (electrokinetic effects are complex even in simple geometries, and we are discussing geometries with heterogeneities and broken symmetries).

## ACKNOWLEDGMENTS

A.A. acknowledges support from The Ministère de la Recherche and helpful suggestions from Abe Stroock.

- 
- [1] P. Mazur and J.T.G. Overbeek, *Recl. Trav. Chim. Pays-Bas* **70**, 83 (1951).  
 [2] S.R. De Groot and P. Mazur, *Non-equilibrium Thermodynamics* (North-Holland, Amsterdam, 1969).  
 [3] A. Ajdari, *Phys. Rev. Lett.* **75**, 755 (1995); *Phys. Rev. E* **53**, 4996 (1996).

- [4] A.D. Stroock *et al.*, *Phys. Rev. Lett.* **84**, 3314 (2000).  
 [5] S.L.R. Barker *et al.*, *Anal. Chem.* **72**, 5925 (2000).  
 [6] S. Marino, M. Shapiro, and P.M. Adler, *J. Colloid Interface Sci.* **243**, 391 (2001).  
 [7] D. Erickson and D. Li, *Langmuir* **18**, 8948 (2002).  
 [8] A. Ajdari, *Phys. Rev. E* **65**, 016301 (2002).

- [9] A.D. Stroock, S.K. Dertinger, G.M. Whitesides, and A. Ajdari, *Anal. Chem.* **74**, 5306 (2002).
- [10] T.L. Johnson, D. Ross, and L.E. Locascio, *Anal. Chem.* **74**, 45 (2002).
- [11] I. Gitlin, A.D. Stroock, A. Ajdari, and G. Whitesides, *Appl. Phys. Lett.* **83**, 1486 (2003).
- [12] J. Happel and H. Brenner, *Low Reynolds Number Hydrodynamics* (Martinus Nijhoff Publishers, The Hague, 1983).
- [13] M. Teubner, *J. Chem. Phys.* **76**, 5564 (1982).
- [14] P.B. Lorenz, *J. Phys. Chem.* **56**, 775 (1952).
- [15] U. Saxén, *Wied Ann.* **47**, 46 (1892).
- [16] R.J. Hunter, *Foundations of Colloid Science* (Oxford University Press, New York, 1991).



## Chapitre 3

# L'approximation des couches minces

L'objectif de ce chapitre est de poursuivre l'étude des effets électrocinétiques dans le cadre d'une approximation très répandue : l'approximation de fine couche de Debye. Bien que celle-ci soit utilisée couramment pour l'électroosmose c'est rarement le cas pour le courant d'écoulement. Nous étudierons donc l'influence de cette approximation sur les courants et les champs électriques induits par un flux hydrodynamique.

Après avoir introduit cette approximation nous expliciterons les équations de l'électrocinétiques valides dans cette situation. Nous utiliserons ensuite une variation de la méthode utilisée chapitre 2 pour retrouver les relations de symétrie précédentes. Ce formalisme sera utilisé dans le chapitre 4 pour l'analyse de géométries spécifiques.

### 3.1 Approximation de fine couche de Debye

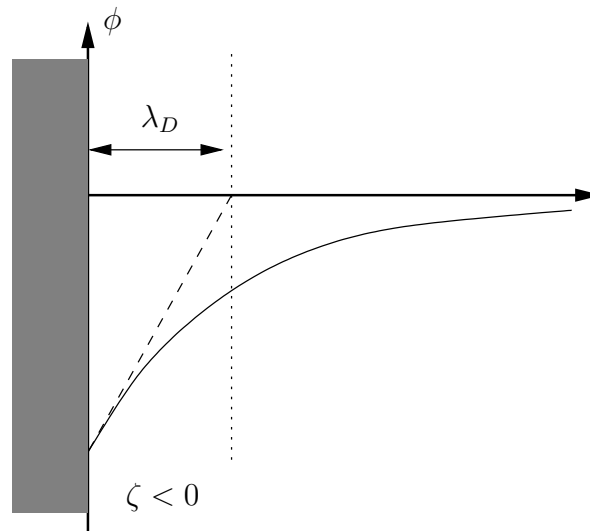


FIG. 3.1 – Profil du potentiel électrique  $\phi$  et définitions de la longueur de Debye  $\lambda_d$ . Le potentiel de surface  $\zeta$  est pris négatif.

La figure (3.1) représente le potentiel à proximité d'une paroi chargée. Nous avons explicité dans l'introduction la forme de ce potentiel ainsi que les effets électrocinétiques associés à une



telle géométrie.

Reprenons les équations du courant d'écoulement Eq. (1.35) et du flux électroosmotique Eq. (1.31) :

$$J = -\varepsilon\zeta\dot{\gamma}, \quad (3.1)$$

$$v = -\frac{\varepsilon\zeta}{\eta}E. \quad (3.2)$$

Le principe de l'approximation de couche de Debye fine est de considérer que toutes les variations spatiales de charges et de formes sont grandes devant l'épaisseur typique de la couche diffuse  $\lambda_D$ .

### 3.1.1 L'approximation de couches minces (TDL)

L'approximation TDL peut être considéré comme un retour aux origines de l'électrocinétique avec le modèle de Helmholtz qui assimile la couche de contre-ions à un plan chargé symétriquement à la charge de surface (Fig.1.3), bien que cette analogie ne soit que partiellement exacte puisque la structure de la double couche détermine le potentiel  $\zeta$ , et donc le coefficient de couplage.

En effet, cette approximation consiste à considérer que la couche diffuse peut être assimilée à une *surface chargée mobile* confondue avec l'interface liquide-solide. Le couplage électrohydrodynamique se produit alors par l'intermédiaire de cette surface.

### 3.1.2 Couplage électro-hydrodynamique

Si la longueur de Debye est très faible devant toutes les autres longueurs typiques, on peut considérer que les surfaces sont localement planes et de charges homogènes. On peut alors utiliser les équations du courant d'écoulement et du flux électroosmotique calculées dans cette situation (Eqs. (1.30) et (1.31)).

#### Effet du champ électrique : électroosmose

L'approximation de couche fine de Debye considère que le potentiel  $\phi$  s'annule dans l'électrolyte. La vitesse électroosmotique  $v_{eo}$  est donc atteinte dès l'interface liquide-solide. Pour déterminer le champ de vitesse, nous calculons le champ électrique locale à l'aide de l'équation de Laplace et la condition aux limites :

$$\nabla^2\phi^{(e)} = 0, \quad (3.3)$$

$$\mathbf{j}^{(e)} \cdot \mathbf{n} = 0, \quad (3.4)$$

qui est utilisé pour calculer la vitesse de glissement du fluide à la paroi :

$$\mathbf{v}_s^{(e)} = -\mu(-\nabla\phi_s^{(e)}) \quad (3.5)$$

où  $\mu = \varepsilon\zeta/\eta$  est la *mobilité électroosmotique*. Le champ de vitesse est alors calculé à l'aide des équations de Stokes et de conservation :

$$\eta\nabla^2\mathbf{v}^{(e)} - \nabla p^{(e)} = 0 \quad (3.6)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{v}^{(e)} = 0 \quad (3.7)$$

$$\mathbf{v}_s^{(e)} = -\mu\nabla\phi_s^{(e)}. \quad (3.8)$$

### Effet de la pression :courant d'écoulement

Lorsque la longueur de Debye est faible devant toutes les autres longueurs caractéristiques, il est possible de linéariser le profil de vitesse sur une distance  $\lambda_D$ . On peut alors utiliser l'équation ( 1.35) valide dans cette situation. Le courant d'écoulement, localisé à la surface, est alors décrit par les équations suivantes :

$$\mathbf{j}_s^{(p)} = -\varepsilon\zeta\dot{\gamma}_n^{(p)} \quad (3.9)$$

$$\nabla_s \cdot \mathbf{j}_s^{(p)} = \mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \mathbf{n} \quad (3.10)$$

où  $\dot{\gamma}_n^{(p)} = [\nabla \mathbf{v}^t + \nabla \mathbf{v}] \cdot (\mathbf{I} - \mathbf{n}\mathbf{n})$  est le cisaillement à proximité de la surface et dirigé selon  $\mathbf{t}$  et  $\nabla_s \cdot \mathbf{j}_s^{(p)}$  représente la conservation du courant de surface.

La condition de conservation (3.10) peut créer un terme de source de courant localisée à la surface et orienté en direction du fluide. Ce courant volumique  $\mathbf{j}_b^{(p)}$  et le champ électrique correspondant doit être pris en considération pour une compréhension correct des phénomènes électrocinétiques. Ce courant et ce potentiel volumique sont décrits par :

$$\Delta \phi_b^{(p)} = 0, \quad (3.11)$$

$$\mathbf{j}_b^{(p)} = -\gamma_{el} \nabla \phi^{(p)}, \quad (3.12)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{j}_b^{(p)} = 0. \quad (3.13)$$

**N. B.** Nous avons considéré dans ce qui précède le cas où les potentiels de surfaces sont suffisamment faibles pour négliger les termes en  $\zeta^2$ . Dans le cas contraire, il faudrait prendre en compte l'effet *électrovisqueux* : un flux hydrodynamique induit un champ électrique qui génère lui-même un flux électroosmotique opposé au flux d'origine

$$\Delta P \rightarrow \mathbf{v}^{(p)} \rightarrow \mathbf{J}^{(p)} \rightarrow \mathbf{E}^{(p)} \rightarrow \mathbf{v}^{(p)}. \quad (3.14)$$

Le débit généré par une différence de pression est donc plus faible que celui attendu.

Le phénomène symétrique existe pour le courant électrique, qui se traduit par une résistance électrique plus important. on peut alors parler d'effet *hydrorésistif* :

$$\mathbf{E}^{(e)} \rightarrow \mathbf{v}^{(e)} \rightarrow \delta\rho^{(e)} \rightarrow \mathbf{E}^{(e)} \rightarrow \mathbf{J}^{(e)}. \quad (3.15)$$

Le courant électrique induit par une différence de potentiel est plus faible que celui attendu.

## 3.2 Relations de réciprocité

Pour illustrer la cohérence de l'approximation de couches minces, nous allons démontrer les relations de symétrie de l'électrocinétique en utilisant cette approximation. Pour cela nous utiliserons une variante du théorème réciproque introduit dans la section précédente pour dériver les relations voulues.

### 3.2.1 Formalisme du *Théorème Réciproque*

#### Notations et outils

Dans la suite nous utiliserons les exposants  $(p)$  et  $(e)$  pour distinguer les situations induites par une pression ou un potentiel électrique.

Le tenseur des contraintes hydrodynamique est classiquement défini par

$$\sigma_{ij} = \eta \left( \frac{\partial v_i}{\partial x_j} + \frac{\partial v_j}{\partial x_i} \right) - p \delta_{ij} \quad (3.16)$$

et nous introduisons un opérateur permettant d'extraire la partie tangentielle à une surface d'un vecteur lorsque le vecteur normal à cette surface est  $\mathbf{n}$  :

$$T_{ij} = \delta_{ij} - n_i \cdot n_j. \quad (3.17)$$

Enfin nous considérons un capillaire à une entrée *in* et une sortie *out* dont la paroi sera notée *tube* (Fig. 3.2). La limitation à deux orifices n'est en aucun cas une contrainte formelle mais à pour but d'alléger les notations intégrales.

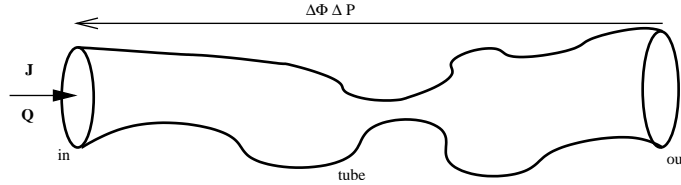


FIG. 3.2 – Capillaire utilisé dans le dérivation des relations de symétrie.

Nous nous inspirons ici d'un travail de Teubner qui a appliqué ce théorème au déplacement électrophorétique [92]. Le théorème réciproque permet de mettre en relation les tenseurs des contraintes  $\boldsymbol{\sigma}^{e,p}$  et les champs de vitesses  $\mathbf{v}^{e,p}$  correspondant aux solutions des deux problèmes, électrique ( $e$ ) et hydrodynamique ( $p$ ), décrit dans la section précédente (Sec. 3.1) <sup>1</sup> :

$$\nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{v}^{(e)}) = \nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}^{(e)} \cdot \mathbf{v}^{(p)}) \quad (3.18)$$

Nous utiliserons les équations du couplage électro-hydrodynamique (3.5) à (3.13) pour exprimer les tenseurs de contraintes et les champs de vitesse dans le cas où l'on applique un champ électrique ou un champ de pression.

### Application du théorème réciproque

Nous appliquons le théorème réciproque (Eq. (3.18)) dans le volume limité par les parois du canal et les sections extrêmes.

$$\iiint dV \nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{v}^{(e)}) = \iiint dV \nabla \cdot (\boldsymbol{\sigma}^{(e)} \cdot \mathbf{v}^{(p)}) \quad (3.19)$$

En utilisant le théorème de Stokes pour transformer les intégrations sur le volume en intégrales surfaciques avec un vecteur normal  $\mathbf{n}$  dirigés vers le fluide et  $d\mathbf{S} = dS \mathbf{n}$  on obtient

$$\iint \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{v}^{(e)} = \iint \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(e)} \cdot \mathbf{v}^{(p)} \quad (3.20)$$

$\Leftrightarrow$

$$I_1 + I_2 = I_3 \quad (3.21)$$

<sup>1</sup>Une jolie illustration de ce théorème pour l'étude de la propulsion de micro-organismes a été réalisé par H. Stone [93]

avec

$$I_1 = \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{v}^{(e)} \quad (3.22)$$

$$I_2 = \iint_{tube} \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{v}^{(e)} \quad (3.23)$$

$$I_3 = \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(e)} \cdot \mathbf{v}^{(p)} + \iint_{tube} \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(e)} \cdot \underbrace{\mathbf{v}^{(p)}}_0 \quad (3.24)$$

où  $\Delta_{in-out} \iint_S = \iint_{S_{in}} - \iint_{S_{out}}$ . Dans l'équation 3.24 nous avons utilisé la condition de vitesse nulle à la paroi vérifiée lorsque le flux est induit par un gradient de pression.

Nous allons maintenant transformer ces intégrales pour faire apparaître les produits des flux et des champs aux extrémités. Pour cela nous utilisons les relations suivantes valides sur les surfaces en employant le tenseur  $\mathbf{T} = [\mathbf{I} - \mathbf{n} \cdot \mathbf{n}]$  (3.17) :

1.  $\mathbf{v}_s^{(e)} = -\mu \mathbf{T} \mathbf{E}^{(e)}$  qui exprime la vitesse de glissement à la paroi à l'aide de la mobilité électroosmotique locale  $\mu$  et du champ électrique tangentiel,
2.  $\mathbf{j}_s^{(p)} = \mu \dot{\gamma} = \mu \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot \mathbf{T}$  qui exprime le courant surfacique à l'aide du gradient de vitesse du fluide à la paroi  $\dot{\gamma}$  (Eq. 3.10),
3.  $\mathbf{T} \mathbf{E}^{(e)} = -\nabla_s \phi^{(e)}$  qui est simplement le gradient de potentiel à la surface.

À l'aide de ces relations nous pouvons exprimer l'intégrale  $I_2$  comme

$$\begin{aligned} I_2 &= \iint_{tube} \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot (-\mu \mathbf{E}^{(e)}) \\ &= \iint_{tube} \mathbf{n} \cdot \boldsymbol{\sigma}^{(p)} \cdot (\mu \partial_s \phi^{(e)} \cdot \mathbf{t}) \text{ où } \mathbf{t} \text{ est le vecteur tangent à la paroi} \\ &= \iint_{tube} \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \partial_s \phi^{(e)} \end{aligned}$$

ce qui donne en terme de courant et de potentiel

$$\begin{aligned} I_2 &= \iint_{tube} \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \nabla_s \phi^{(e)} \\ &= \Delta_{in-out} \oint \mathbf{dl} \cdot \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \phi^{(e)} - \iint_{tube} \nabla_s \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \phi^{(e)} \end{aligned}$$

Les courants étant à divergence nulle et après quelques manipulations d'intégrales nous avons

$$I_2 = \Delta_{in-out} \oint \mathbf{dl} \cdot \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \phi^{(e)} + \iint_{tube} \mathbf{n} \cdot (\mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \phi^{(e)})$$

L'intégrale curviligne sur les orifices peut s'exprimer en fonction du courant surfacique total  $J_s^{(p)} = \oint \mathbf{dl} \cdot \mathbf{j}_s^{(p)}$  et du potentiel électrique  $\Phi^{(e)}$  que l'on peut imposer sur les sections :

$$I_2 = \Delta_{in-out} (J_s^{(p)} \cdot \Phi^{(e)}) - \iiint dV \nabla \cdot (\mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \phi^{(e)}) + \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot (\mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \phi^{(e)})$$

Une dernière série de manipulations d'intégrales et de divergence permet enfin d'obtenir  $I_2$  en fonction des potentiels et des courants aux niveaux des orifices :

$$\begin{aligned} I_2 &= \Delta_{in-out} \oint d\mathbf{l} \cdot \mathbf{j}_s^{(p)} \cdot \phi^{(e)} - \iiint dV \nabla \cdot (\mathbf{j}_b^{(e)} \phi^{(p)}) + \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot (\mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \phi^{(e)}) \\ &= \Delta_{in-out} (J_s^{(p)} \cdot \Phi^{(e)}) - \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot (\mathbf{j}_b^{(e)} \cdot \phi^{(p)}) + \Delta_{in-out} \iint_S \mathbf{n} \cdot (\mathbf{j}_b^{(p)} \cdot \phi^{(e)}). \end{aligned}$$

Des expressions similaires sont obtenues pour  $I_1$  et  $I_3$ . En utilisant la conservation des flux et en considérant des champs homogènes aux extrémités nous obtenons la relation générale

$$\Delta_{in-out} \left( -P^{(p)} \cdot Q^{(e)} + J_s^{(p)} \cdot \Phi^{(e)} - J^{(e)} \cdot \Phi^{(p)} + J_b^{(p)} \cdot \Phi^{(e)} \right) = \Delta_{in-out} \left( -P^{(e)} \cdot Q^{(p)} \right)$$

qui, exprimée terme de chute de pression et de potentiel, s'écrit

$$\left( J_s^{(p)} + J_b^{(p)} \right) \cdot \Delta \Phi^{(e)} - J^{(e)} \cdot \Delta \Phi^{(p)} = Q^{(e)} \cdot \Delta P^{(p)} - Q^{(p)} \cdot \Delta P^{(e)} \quad (3.25)$$

Soulignons que dans le cas du potentiel d'écoulement, le courant à travers les surfaces d'accès a deux contributions ( $J^{(p)} = J_s^{(p)} + J_b^{(p)}$ ), alors que pour l'électroosmose on ne tient compte que du courant de conduction en volume ( $J^{(e)}$ ).

### 3.2.2 Applications aux relations d'Onsager

Ainsi à l'aide de l'équation (3.25) on retrouve la symétrie de la relation matricielle énoncé dans l'introduction (Eq. (1.2)) :

$$\begin{bmatrix} \mathbf{Q} \\ \mathbf{J} \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} K & M \\ M & S \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} -\nabla P \\ -\nabla \Phi \end{bmatrix}. \quad (3.26)$$

Nous pouvons également dériver l'ensemble des relations de Saxén qui sont donc valides dans l'approximation TDL, et ce quelque soit la forme du capillaire et l'éventuelle hétérogénéité du potentiel  $\zeta$  :

$$\left( \frac{J^{(e)}}{\Delta P^{(e)}} \right)_{\Delta \Phi^{(e)}=0} = \left( \frac{Q^{(p)}}{\Delta \Phi^{(p)}} \right)_{\Delta P^{(p)}=0} \quad (3.27)$$

$$\left( \frac{Q^{(e)}}{\Delta \Phi^{(e)}} \right)_{J^{(e)}=0} = - \left( \frac{J^{(p)}}{\Delta P^{(p)}} \right)_{Q^{(p)}=0} \quad (3.28)$$

$$\left( \frac{J^{(e)}}{Q^{(e)}} \right)_{\Delta \Phi^{(e)}=0} = - \left( \frac{\Delta P^{(p)}}{\Delta \Phi^{(p)}} \right)_{Q^{(p)}=0} \quad (3.29)$$

$$\left( \frac{\Delta P^{(e)}}{J^{(e)}} \right)_{\Delta Q^{(e)}=0} = \left( \frac{\Delta \Phi^{(p)}}{Q^{(p)}} \right)_{J^{(p)}=0} \quad (3.30)$$

### 3.3 Conclusion

Ce chapitre a permis d'introduire une approximation classique utilisée en microfluidique : l'approximation de fine couche de Debye. Celle-ci considère que la distance  $\lambda_D$  sur laquelle se développe la couche diffuse est très faible devant toutes les autres dimensions du système.

Ces conditions étant vérifiées, l'équation du courant d'écoulement se simplifie car le gradient de vitesse est alors linéaire sur toute l'épaisseur de la couche de Debye dans laquelle est confiné le courant de surface. Ce dernier étant uniquement déterminé par le potentiel de surface et le champ de vitesse, la conservation du courant impose d'introduire des courants de recirculations dans le fluide dans les cas non triviaux où le capillaire n'est pas rectiligne et de charge uniforme.

De plus le potentiel induit par la surface étant nulle à l'extérieur de cette couche fine, on peut traduire l'électroosmose par une condition de glissement sur la paroi, assimilée à l'extérieure de la couche de Debye.

Cette approximation permet donc de développer des équations pour décrire l'électroosmose et le courant d'écoulement en considérant un couplage localisé uniquement à l'interface liquide-solide. Ces équations sont déjà largement utilisées pour l'électroosmose. L'apport principal de ce travail est concentré dans les équations (3.10)-(3.13) qui formalisent cette approximation pour le courant d'écoulement.

Le couplage se traduit alors simplement en modifiant les conditions aux limites des équations de Stokes et de Laplace. Un tel formalisme a été utilisé ici pour retrouver les relations de symétries du chapitre 2. Il sera abondamment utilisé dans le chapitre 4 où seront calculées les structures des courants d'écoulements et des flux électroosmotiques dans diverses géométries.



## Chapitre 4

# Structures des flux électrocinétiques dans des géométries modulées

### 4.1 Introduction

Ce chapitre a pour but de donner la structure des courants électrocinétiques qui se développent dans des canaux microfluidiques modèles dont l'intérêt a été démontré par plusieurs réalisations expérimentales [35, 94, 36, 95, 72, 70]. Il s'agit de canaux rectangulaires dont la topologie des parois peut être modulée afin d'obtenir des effets *transverses* et des phénomènes de recirculations, comportements que nous détaillerons par la suite.

L'utilisation de tels systèmes a été rendue possible par le développement des techniques de microfabrication (chap. 2 p. 19). Les expérimentateurs ont maintenant à leur disposition des canaux dont la paroi inférieure peut être crénelée ou bien posséder des motifs de charges de surfaces périodiques. Mais peu de travaux théoriques se sont attachés à décrire de tels systèmes de manière générale, le plus souvent en utilisant des approximations de lubrification [55] ou des analyses numériques [36, 96, 97, 94, 98, 80, 99, 100]. La figure suivante (Fig. 4.1) illustre l'écart entre le système d'étude modèle [32], un canal rectangulaire, et les systèmes disponibles actuellement qui peuvent posséder plusieurs entrées et sorties [101], une surface présentant des structures en relief [36, 102] ou dont la charge est modulée [70]. Bien entendu aucune contrainte technologique n'interdit de coupler ces différentes caractéristiques. Il n'existe alors plus de modèle analytique permettant de prédire le comportement électrocinétique de tels systèmes.

L'objet de ce chapitre est de fournir les solutions analytiques pour les flux électriques et hydrodynamiques dans un certain nombre de géométries modèles en utilisant le formalisme de couches minces introduit au chapitre précédent.

Après avoir explicité la géométrie des canaux et les approximations utilisées, nous présenterons qualitativement les structures des flux hydrodynamiques et électriques pour les situations suivantes :

1. Canal droit de charge homogène (rappels),
2. Canal droit avec une modulation de charge sinusoïdale,
3. Canal d'épaisseur modulée et de charge homogène,
4. Canal d'épaisseur et de charge modulées.



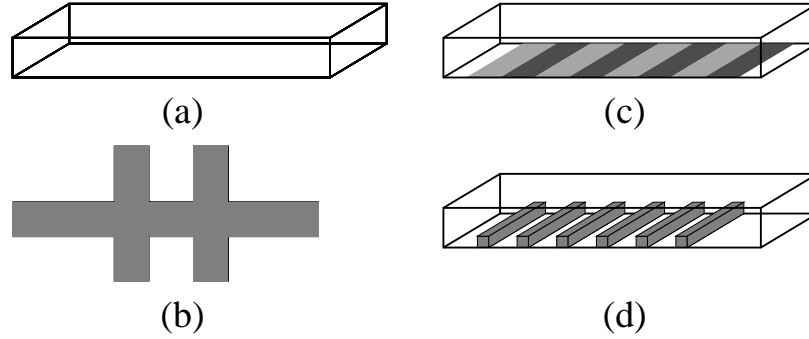


FIG. 4.1 – Exemples de géométries où des phénomènes électrocinétiques peuvent prendre place : (a) canal rectangulaire simple [32], (b) système d'injection d'électrophorèse capillaire [101], (c) canal dont la charge de surface est modulée [70], (d) canal dont la surface est texturée [36,102].

Les calculs explicites seront donnés dans la dernière section. Nous validerons la cohérence de nos approximations en vérifiant les relations de symétries entre flux électroosmotique et courant d'écoulement. Les résultats seront également confrontés aux calculs obtenus en lubrification [55] dans la limite où cette approximation est valable.

#### 4.1.1 Géométrie et approximations

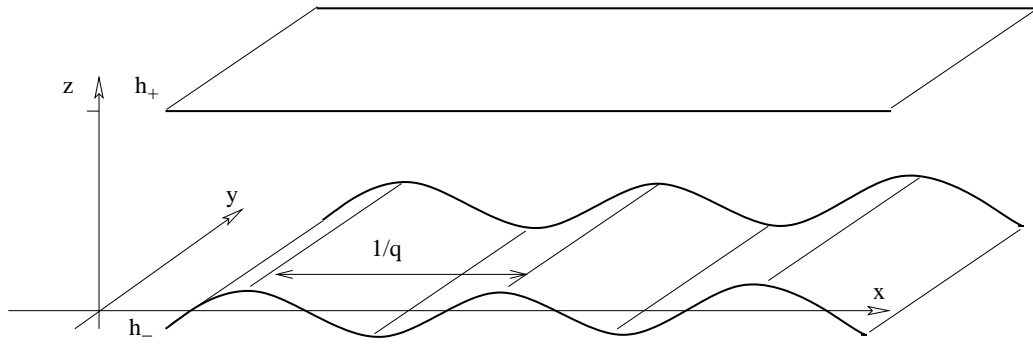


FIG. 4.2 – Les deux surfaces définissant le canal. La surface du haut et celle du bas sont définies respectivement par  $z = h_+(x, y)$  et  $z = h_-(x, y)$  et portent une charge  $\sigma_+(x, y)$  et  $\sigma_-(x, y)$ .

Les plans définissant le canal sont perpendiculaires à l'axe  $z$ . La paroi du bas ( $h_-$ ) et du haut ( $h_+$ ) sont décrites par

$$h_- = \alpha H \cos(qx) \quad (4.1)$$

$$h_+ = H \quad (4.2)$$

où  $\mathbf{q} = q\mathbf{x}$  est le vecteur d'onde des modulations et  $\alpha$  est un paramètre sans dimension égal à zéro lorsque le canal est droit. Pour des valeurs petites mais non nulle de  $\alpha$ , il est possible d'obtenir des solutions pour les courants et les flux par un développement en perturbation en puissance de  $\alpha$ . Nous nous restreindrons ici au deuxième ordre en  $\alpha$ , plus exactement au premier ordre produisant un effet non nul.

Les parois portent une densité de charge  $\sigma$  qui peut être homogène ou modulée symétriquement suivant  $\sigma = \sigma_0 \cos(qx + \theta)$ .

### Couplage électro-hydrodynamique

Tout d'abord, reprenons les équations de l'électrocinétique dans le cadre de l'approximation des couches minces. Comme précédemment les grandeurs dépendant de l'application d'un champ de pression seront notées  $X^{(p)}$ , celles dépendant d'un champ électrique étant notées  $X^{(e)}$ .

**Effets électriques** En utilisant l'approximation de fine couche de Debye, les équations du flux électroosmotique sont :

$$\eta \nabla^2 \mathbf{v}^{(e)} - \nabla p^{(e)} = 0 \quad (4.3)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{v}^{(e)} = 0 \quad (4.4)$$

$$\mathbf{v}_s^{(e)} = -\mu \nabla \phi_s^{(e)}. \quad (4.5)$$

**Effets de la pression** Le courant d'écoulement induit par un gradient de pression peut être décomposé, dans le cas de l'approximation TDL, en une contribution volumique et une contribution surfacique suivant

$$\mathbf{j}^{(p)} = \mathbf{j}_b^{(p)} + \mathbf{j}_s^{(p)}.$$

Les équations du terme volumique sont :

$$\Delta \phi_b^{(p)} = 0 \quad (4.6)$$

$$\mathbf{j}_b^{(p)} = -\gamma_{el} \nabla \phi_b^{(p)} \quad (4.7)$$

$$\nabla \cdot \mathbf{j}_b^{(p)} = 0 \quad (4.8)$$

et celle du terme surfacique

$$\mathbf{j}_s^{(p)} = -\sigma \lambda_D \hat{\gamma}_n^{(p)} \quad (4.9)$$

$$\nabla_s \cdot \mathbf{j}_s^{(p)} = \mathbf{j}_b \cdot \mathbf{n}. \quad (4.10)$$

Comme dans le chapitre précédent, nous ne considérons que les effets au premier ordre en  $\sigma$ . Nous négligerons donc les effets électrovisqueux par exemple.

## 4.2 Présentation qualitative de la géométrie des courants hydrodynamiques et électriques générés

Avant de donner les équations décrivant les flux dans la section suivante, nous allons dériver qualitativement la géométrie des courants électriques et hydrodynamiques générés par des champs de pression ou électriques imposés. Ils seront représentés schématiquement dans le cas où le vecteur d'onde des modulations est parallèle aux flux. La situation où le vecteur d'onde est perpendiculaire aux flux sera présentée ensuite.

Bien entendu les schémas présentés dans cette section sont conformes aux résultats des calculs analytiques de la section suivante (p. 92).

### 4.2.1 Rappel : canal droit, charge de surface homogène

Le schéma suivant (Fig. 4.3) représente les effets électrocinétiques se développant dans un canal rectiligne de charge de surface homogène.

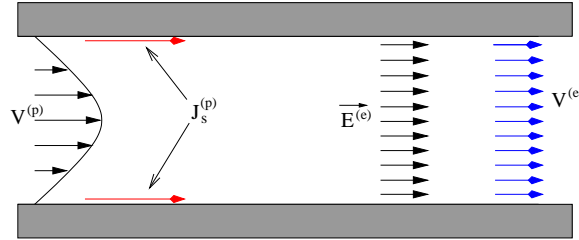


FIG. 4.3 – Représentation schématique des effets électrocinétiques dans un canal rectiligne et homogène.

Le flux électrosmotique est un écoulement bouchon, uniforme sur toute l'épaisseur du canal, tandis que le courant d'écoulement est localisé à la surface.

### 4.2.2 Canal droit, charge de surface modulée

Lorsque la charge de surface est modulée, les flux ne sont plus invariant par translation. Des courants de recirculation doivent donc se développer dans le canal pour assurer les lois de conservations (masse et courant électrique).

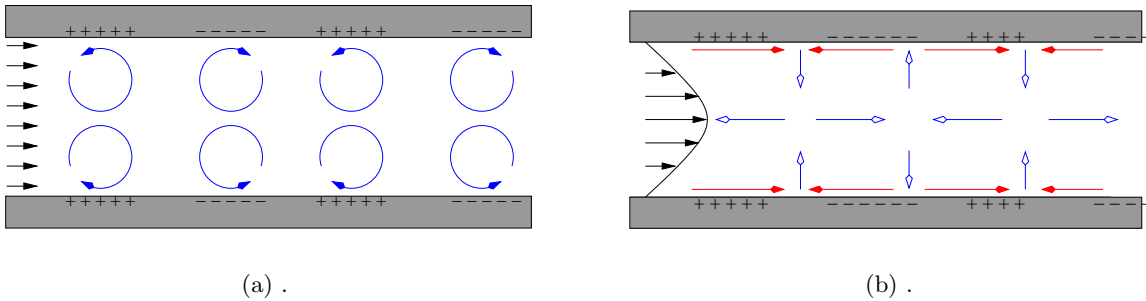


FIG. 4.4 – Flux électrosmotique (a) et courant d'écoulement (b) se développant dans un canal droit dont la charge de surface est modulée. Le courant localisé à la surface  $\mathbf{J}_s$  est symbolisé par une flèche pleine rouge, celui en volume  $\mathbf{J}_b$  par une flèche vide bleue.

### Flux électrosmotique

La présence d'une vitesse de glissement à la paroi dont le sens varie périodiquement induit des rouleaux dans l'épaisseur du canal. Ces rouleaux de recirculation ont été mis en évidence expérimentalement par Stroock et al dans des canaux microfluidique à l'aide de particules fluorescentes neutres [70]. On peut remarquer que si l'on observe la trajectoire d'une particule chargée dans un tel système, elle se déplacera sous l'action du champ électrique induit et sa position dans l'épaisseur du canal oscillera pour suivre les lignes de courant hydrodynamique.

### Courant d'écoulement

Le courant de surface est modulé suivant la modulation de la charge de surface. Comme nous l'avons vu dans le chapitre précédent, cela impose l'injection de courant électrique dans le volume pour assurer la conservation des charges. Il existe une différence fondamentale entre cette situation et la recirculation hydrodynamique évoquée précédemment. Dans le cas électrique le rotationnel du courant est nul, on ne peut donc pas parler de rouleaux de recirculation car les lignes de courant ne se bouclent pas dans le volume, les parois faisant office de générateur de courant.

#### 4.2.3 Canal ondulé, charge de surface homogène

Par symétrie, on peut s'attendre à n'obtenir des effets globaux non-nuls à l'ordre deux en  $\alpha$ . Nous verrons dans la section suivante que ces effets sont d'amplitudes différentes dans le cas où les flux sont perpendiculaires aux modulations, ce qui peut mener à des effets transverses.

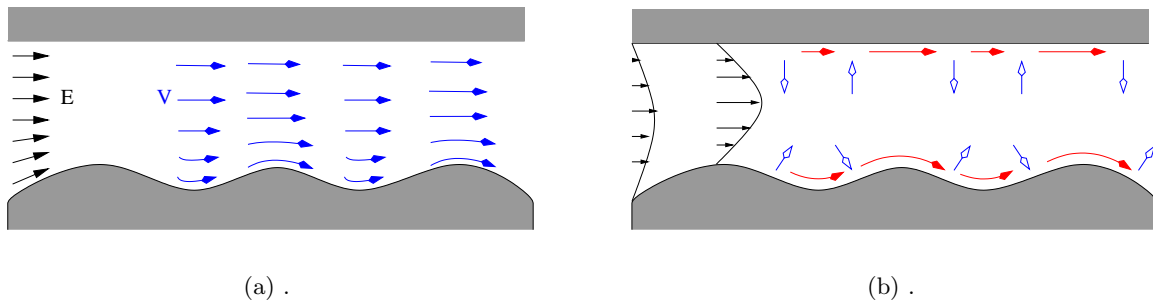


FIG. 4.5 – Flux électroosmotique (a) et courant d'écoulement (b) se développant dans un canal ondulé dont la charge de surface est homogène.

### Flux électroosmotique

La charge de surface étant homogène, le champ de vitesse électroosmotique suit le champ électrique. La vitesse est donc tangentielle aux parois et plus élevée au niveau des rétrécissements, afin d'assurer la conservation du débit.

### Courant d'écoulement

Pour assurer un débit uniforme le long du canal, la vitesse hydrodynamique doit être plus importante au niveau des rétrécissements, son gradient l'est également. Le courant d'écoulement est donc plus important à ces endroits, ce qui impose un phénomène de recirculation dans le volume.

#### 4.2.4 Canal ondulé, charge de surface modulée

Contrairement au cas précédent, la modulation de la charge de surface brise la symétrie du système. On peut donc s'attendre à obtenir des effets globaux au premier ordre en  $\alpha$  et proportionnels à la modulation de charge. Nous verrons dans la section suivante que cette situation mène également à des effets transverses.

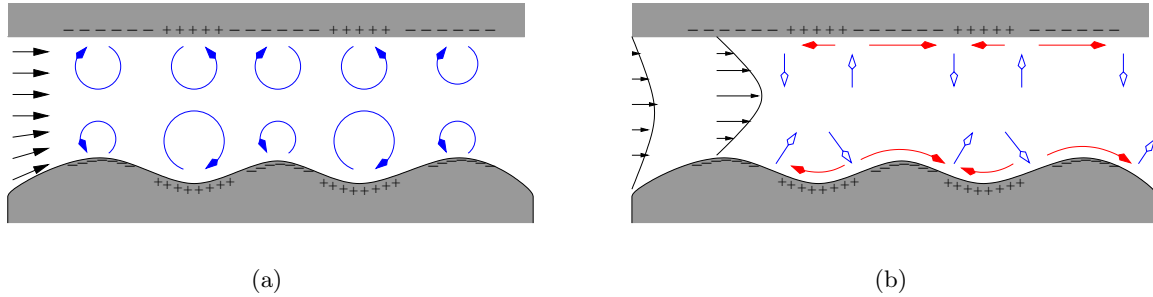


FIG. 4.6 – Flux électroosmotique (a) et courant d’écoulement (b) se développant dans un canal ondulé dont la charge de surface est modulée.

### Flux électroosmotique

Comme précédemment, la vitesse de glissement est plus élevée au niveau des rétrécissements, mais sa direction change périodiquement. Des rouleaux de recirculations d’intensité différente se développent donc dans le canal, menant à un débit électroosmotique non-nul.

### Courant d’écoulement

Comme précédemment, le courant d’écoulement est plus intense au niveau des rétrécissements vis-à-vis des évasements. Les charges de surfaces étant opposées dans ces deux situations, la symétrie est brisée. Un courant électrique moyen non-nul est donc transporté en alternance par la composante surfacique (au niveau des rétrécissements), et par la composante volumique (au niveau des évasements).

#### 4.2.5 Cas des modulations perpendiculaires au flux

Comme nous l’avons énoncé au début de cette section, lorsque les modulations sont perpendiculaires aux flux les structures d’écoulements sont moins démonstratives.

L’invariance par translation dans la direction de l’écoulement impose des écoulement électroosmotiques uniaxiaux, dont l’intensité est modulée latéralement. Du point de vue des courants d’écoulement, la situation est particulièrement simple car ils sont toujours localisés à la surface, leur intensité étant modulée suivant une direction perpendiculaire.

Néanmoins nous verrons que l’amplitude des effets globaux diffèrent du cas où les flux sont parallèles aux modulations, ce qui permettra d’envisager des structures générant des effets non-diagonaux, ou transverses.

### 4.3 Calculs de la structure des flux

La linéarité du système nous autorise d’étudier séparément les situations où les flux et les champs sont parallèles et perpendiculaires à  $x$ . Dans la suite nous donnerons donc successivement les résultats correspondant aux deux situations.

Par souci de clarté, nous traiterons chaque situation de manière identique :

- a. champ électrique imposé,
- b. électrosomose,

- c. champ de vitesse imposé,
- d. courant d'écoulement,
- e. synthèse sous forme matricielle.

Les effets directs sont indépendants des charges de surfaces. Nous donnerons donc les structures des champs imposés pour chaque nouvelle situation rencontrée, puis nous y ferons référence lorsqu'elle se représentera.

#### 4.3.1 Canal droit de charge homogène

La résolution dans ce cas est directe (Figure 4.3).

- a) **Champ électrique imposé** Le champ électrique est uniforme dans le canal :

$$E = -\frac{\Delta\Phi}{L}. \quad (4.11)$$

- b) **Flux électroosmotique** Le champ électrique étant uniforme, on obtient un écoulement bouchon pour l'électroosmose :

$$\mathbf{v}^{(e)} = -\mu\frac{\Delta\Phi}{L} \quad (4.12)$$

- c) **Champ de vitesse imposé** Nous obtenons un flux parabolique dont l'équation est donnée par :

$$\mathbf{v}^{(p)} = \frac{1}{2\eta}z(H-z)\left(-\frac{\Delta P}{L}\right) \quad (4.13)$$

- d) **Courant d'écoulement** En calculant le gradient de vitesse à la paroi, on obtient pour le courant de surface l'expression suivante :

$$\mathbf{j}^{(p)} = -\mu H/2\left(-\frac{\Delta P}{L}\right). \quad (4.14)$$

- e) **Synthèse** Les résultats précédents peuvent être transcrits sous une forme matricielle reliant les flux, courant électrique total  $J$  et débit hydrodynamique  $Q$ , aux champs imposés :

$$\begin{bmatrix} Q \\ J \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} & -\mu H \\ -\mu H & \gamma_{el}H \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \left(-\frac{\Delta P}{L}\right) \\ \left(-\frac{\Delta\phi}{L}\right) \end{bmatrix}. \quad (4.15)$$

#### 4.3.2 Canal droit dont la charge de surface est modulée

Nous considérons la même géométrie que ci-dessus mais avec une charge de surface modulée sur les deux parois

$$\sigma_+ = \sigma_- = \sigma_0 \cos(qx).$$

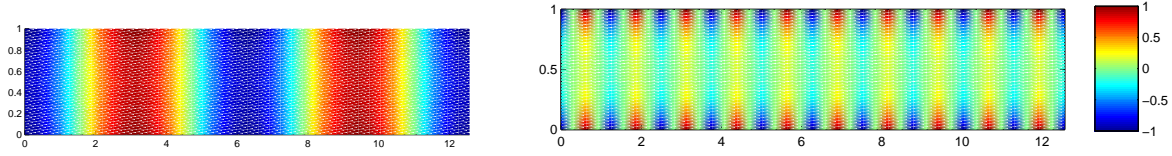
Les effets directs sont identiques à ceux du cas précédemment traité, nous ne redonnerons donc pas leur expression.

### Gradients suivant $y$ , perpendiculaires à la modulation.

**b) Flux électroosmotique** Par symétrie, le champ de vitesse est uniaxial selon  $\mathbf{y}$  :

$$\mathbf{v}^{(e)} = -\mu \frac{\cosh(q(z - H/2))}{\cosh(qH/2)} \cos(qx) \left(-\frac{\Delta\Phi}{L_y}\right) \mathbf{y}. \quad (4.16)$$

Une représentation graphique est donnée Fig. 4.7 où l'on peut observer que l'influence de la modulation a une portée proportionnelle à la longueur d'onde de la modulation  $1/q$ .



(a)  $q=1$ . Le champ de vitesse peut se développer sur toute l'épaisseur du canal.

(b)  $q=5$ . Lorsque la fréquence de modulation est plus élevée, la vitesse dans le canal tend vers 0 à une distance  $1/q$  de la paroi.

FIG. 4.7 – Intensité du champ vitesse dans deux canaux d'épaisseur  $H=1$ , dont la charge de surface est modulée suivant  $\sigma = \sigma_0 \cos qx$  avec  $qH = 1$  (a) et  $qH = 5$  (b).

**d) Courant d'écoulement** Il est dirigé suivant  $\mathbf{y}$  et localisé à la surface avec une intensité modulée suivant  $x$  :

$$\mathbf{j}_s^{(p)} = -\frac{\mu H}{2} \cos(qx) \left(-\frac{\Delta P}{L_y}\right) \mathbf{y}. \quad (4.17)$$

**e) Synthèse** Sommer les courants de densité suivant  $z$  n'est pas suffisant pour retrouver des effets symétriques :

$$J^{(p)} = -\mu H \cos(qx) \left(-\frac{\Delta P}{L}\right),$$

et

$$Q^{(e)} = -\mu \frac{2 \sinh(qH/2)}{q \cosh(qH/2)} \cos(qx) \left(-\frac{\Delta\Phi}{L}\right).$$

Pour obtenir les relations attendues il faut prendre la moyenne des courants le long des modulations. Cela permet d'obtenir la matrice suivante dont la symétrie est triviale :

$$\begin{bmatrix} \langle Q_y \rangle \\ \langle J_y \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} & 0 \\ 0 & \gamma_{el} H \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} -\nabla P_y \\ -\nabla \Phi_y \end{bmatrix}. \quad (4.18)$$

Nous pouvons observer que dans l'approximation de lubrification où  $qH \ll 1$  [55], la matrice de conductance *locale* est symétrique :

$$\begin{bmatrix} Q_y \\ J_y \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} & -\mu H \cos(qx) \\ -\mu H \cos(qx) & \gamma_{el} H \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} -\nabla P_y \\ -\nabla \Phi_y \end{bmatrix}. \quad (4.19)$$

Les relations de symétries d'Onsager reliant les champs et les flux globaux, il n'est pas surprenant de devoir moyennner ces derniers sur une distance supérieure à la longueur typique de variation du système ( $1/q$ ).

### **Gradients suivant $x$ , parallèles à la modulation.**

**b) Flux électroosmotique** La vitesse électroosmotique à la surface changeant de sens périodiquement des rouleaux de recirculations se développent à l'intérieur du canal (Fig. 4.4(a)). De tels rouleaux ont été observé expérimentalement dans une situation comparable par Stroock et al [70].

Le champ de vitesse peut s'exprimer en utilisant une fonction courant :

$$\psi_v^{(e)} = -\mu \frac{\frac{H}{2} \cos\left(\frac{qH}{2}\right) \sinh\left(q\left(z - \frac{H}{2}\right)\right) - \left(z - \frac{H}{2}\right) \sinh\left(\frac{qH}{2}\right) \cosh\left(q\left(z - \frac{H}{2}\right)\right)}{\frac{qH}{2} - \sinh\left(\frac{qH}{2}\right) \cosh\left(\frac{qH}{2}\right)} \cos(qx + \theta) \left(-\frac{\Delta\Phi}{L}\right) \quad (4.20)$$

avec  $\mathbf{v}^{(e)} \cdot \mathbf{x} = \frac{\partial \psi_v^{(e)}}{\partial z}$  et  $\mathbf{v}^{(e)} \cdot \mathbf{z} = -\frac{\partial \psi_v^{(e)}}{\partial x}$ . Les rouleaux de recirculations correspondent à des gradients locaux de pression.

**d) Courant d'écoulement** Comme mentionné précédemment, la conservation du courant de surface

$$\mathbf{j}_{surf}^{(p)} = -\mu H \cos(qx) \left(-\frac{\Delta P}{L_x}\right) \quad (4.21)$$

provoque l'injection de courant dans le volume dont la structure est représentée schématiquement Fig. 4.4(b). La structure du potentiel électrique local est donnée par l'équation suivante

$$\phi^{(p)} = -\mu H \frac{\cosh\left(q\left(\frac{H}{2} - z\right)\right)}{\sinh\left(\frac{qH}{2}\right)} \sin(qx + \theta) \left(-\frac{\Delta P}{L_x}\right). \quad (4.22)$$

Ce potentiel local correspond à des boucles de courant dont la structure peut être calculé à partir de l'équation (4.22) en utilisant la loi d'Ohm :

$$\mathbf{j}_b^{(p)} = -\gamma_{el} \nabla \phi^{(p)}. \quad (4.23)$$

**e) Synthèse** L'intégration suivant  $z$  et  $x$  permet d'obtenir comme ci-dessus la matrice trivialement symétrique Eq.4.18.

$$\begin{bmatrix} \langle Q_x \rangle \\ \langle J_x \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} & 0 \\ 0 & \gamma_{el} H \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \left(-\frac{\Delta P}{L}\right) \\ \left(-\frac{\Delta\phi}{L}\right) \end{bmatrix}. \quad (4.24)$$

La contribution moyenne des effets électrocinétiques est nulle dans cette géométrie mais la modulation des charges de surfaces génère des structures non triviales pour les flux hydrodynamiques et électriques.

### **4.3.3 Canal de forme modulée et de charge de surface homogène**

Ce système a été étudié auparavant d'un point de vue purement hydrodynamique par Stroock et al afin de caractériser un circuit microfluidique accélérant le mélange [102].



**Gradients suivant  $y$ , perpendiculaires aux modulations.**

**a) Champ électrique imposé** Le champ électrique étant uniforme, son effet direct est simplement

$$\mathbf{E}^{(e)} = \left(-\frac{\Delta\Phi}{L_y}\right)\mathbf{y}. \quad (4.25)$$

**b) Flux électroosmotique** La charge de surface étant uniforme, le flux électroosmotique est donné par  $\mathbf{v}^{(e)} = \mu\left(-\frac{\Delta\Phi}{L_y}\right)\mathbf{y}$  dans tout le canal [103] et

$$Q_y^{(e)} = -\mu H \left(-\frac{\Delta\Phi}{L_y}\right) \quad (4.26)$$

**c) Champ de vitesse imposé** Le champ de vitesse du à un gradient de pression est donné par :

$$\mathbf{v}^{(p)} = \frac{H^2}{2\eta} \left[ \frac{z(H-z)}{H^2} - \frac{1}{2}\alpha^2 K_\perp(qH) \frac{H-z}{H} + T_\perp(x, z) \right] \left(-\frac{\Delta P}{L_y}\right)\mathbf{y} \quad (4.27)$$

où  $T_\perp(x, z)$  correspond à des termes périodique en  $x$  de valeur moyenne nulle (les équations pour  $T_\perp(x, z)$  et  $K_\perp(qH)$  sont donnés en Annexe).

**d) Courant d'écoulement** Pour obtenir l'expression du courant d'écoulement il faut tenir compte du cisaillement local à proximité de la paroi inférieure. Nous obtenons alors pour cette paroi

$$\begin{aligned} \mathbf{j}_{s-}^{(p)} = & -\frac{\mu H}{2} \left[ 1 + \alpha \left( -2 + qH \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) \cos(qx) \right. \\ & \left. + \alpha^2 \left( \frac{1}{2} K_\perp(qH) - \frac{1}{4} (qH)^2 - \left( \frac{1}{2} (qH)^2 - qH \frac{\cosh(2qH)}{\sinh(2qH)} \right) \cos(2qx) \right) \right] \left(-\frac{\Delta P}{L_y}\right) \end{aligned}$$

et pour la paroi supérieure

$$\mathbf{j}_{s+}^{(p)} = -\frac{\mu H}{2} \left[ 1 - \alpha \frac{qH}{\sinh(qH)} \cos(qx) + \alpha^2 \left( -\frac{1}{2} K_\perp(qH) - \frac{qH}{\sinh(2qH)} \cos(2qx) \right) \right] \left(-\frac{\Delta P}{L_y}\right)$$

En sommant ces expressions le long d'une modulation on obtient

$$\langle \mathbf{J}_s^{(p)} \rangle = -\mu H \left(-\frac{\Delta P}{L_y}\right). \quad (4.28)$$

**e) Synthèse** Sous une forme matricielle ces relations se condensent dans la l'expression suivante :

$$\begin{bmatrix} \langle \mathbf{Q}_y \rangle \\ \langle \mathbf{J}_y \rangle \end{bmatrix} = M_y \cdot \begin{bmatrix} -\nabla P_y \\ -\nabla \Phi_y \end{bmatrix}, \quad (4.29)$$

où la matrice  $M_y$  a pour expression :

$$\begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} & -\mu H \\ -\mu H & \gamma_{el} H \end{bmatrix}. \quad (4.30)$$

**Gradients suivant  $x$ , parallèles à la modulation.**

**a) Champ électrique imposé** En utilisant l'équation de Laplace, on obtient au second ordre en  $\alpha$  pour le champ électrique la structure représentée sur la Figure 4.8 dont les équations sont

$$\begin{aligned} (-\nabla\phi_x^{(e)}) &= \left(1 + \alpha q H \frac{\cosh(q(H-z))}{\sinh(qH)} \cos(qx) + \alpha^2 (qH)^2 \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \frac{\cosh(2q(H-z))}{\sinh(2qH)} \cos(2qx)\right) (-\nabla\Phi_x) \\ (-\nabla\phi_z^{(e)}) &= \left(0 - \alpha q H \frac{\sinh(q(H-z))}{\sinh(qH)} \sin(qx) - \alpha^2 (qH)^2 \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \frac{\sinh(2q(H-z))}{\sinh(2qH)} \sin(2qx)\right) (-\nabla\Phi_x). \end{aligned}$$

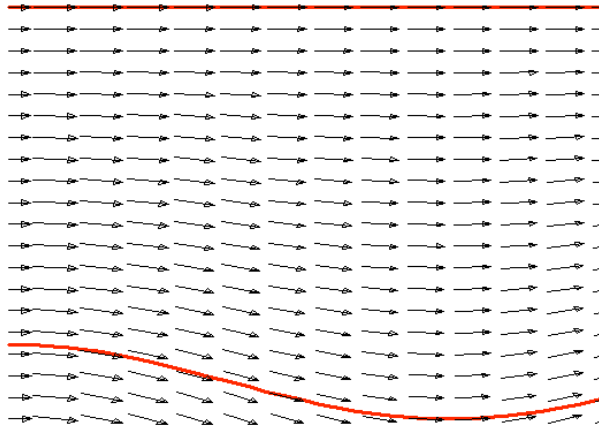


FIG. 4.8 – Représentation du champ électrique dans un canal dont la paroi inférieure est ondulée dans la direction du champ électrique. Les parois sont représentées par les courbes rouges.

Ce qui correspond à un courant électrique total donné par

$$J_x^{(e)} = H \left(1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)}\right) \left(-\frac{\Delta\phi}{L_x}\right). \quad (4.31)$$

**b) Flux électroosmotique** La charge de surface étant homogène, le champ de vitesse électroosmotique est donné comme précédemment par

$$\mathbf{v}^{(e)} = -\mu_0 (-\nabla\phi^{(e)}). \quad (4.32)$$

En intégrant sur  $z$  le flux est donné par

$$Q^{(e)} = -\mu_0 H \left(1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)}\right) \left(-\frac{\Delta\Phi}{L_x}\right) \quad (4.33)$$

**c) Champ de vitesse imposé** Du point de vue hydrodynamique le champ de vitesse est la superposition d'un profil parabolique à l'ordre  $\alpha = 0$  et de rouleaux de recirculation aux ordres supérieurs. Sa structure, représentée Fig 4.9, est donné par

$$\begin{aligned} \mathbf{v}_x^{(p)} &= \frac{H^2}{2\eta} \left( \frac{z(H-z)}{H^2} - \frac{1}{2} \alpha^2 K_{||}(qH) \frac{H-z}{H} - \alpha \frac{dq_q}{dz}(z) \cos(qx) + \frac{1}{2} \alpha^2 \frac{dh_q}{dz}(z) \cos(2qx) \right) \left(-\frac{\Delta P}{L_x}\right) \\ \mathbf{v}_z^{(p)} &= \frac{H^2}{2\eta} \left( -\alpha q_q(z) \sin(qx) + \alpha^2 h_q(z) \sin(2qx) \right) \left(-\frac{\Delta P}{L_x}\right) \end{aligned}$$

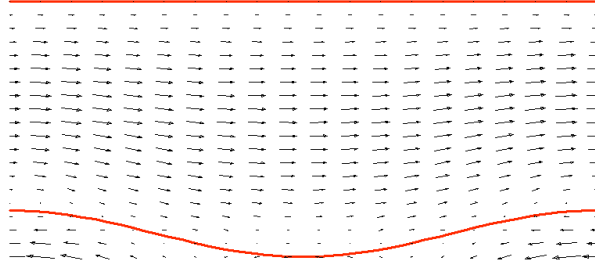


FIG. 4.9 – Représentation du champ de vitesse induit par un gradient de pression dans un canal dont la paroi inférieure est modulée dans la direction de l'écoulement. Les parois sont représentées par les courbes rouges.

où  $g_q(z)$  et  $h_q(z)$  sont donnés en Annexe.

Le débit est donné par

$$Q^{(p)} = \frac{H^3}{12\eta} \left( 1 + \frac{3}{2}\alpha^2(1 - K_{\parallel}(qH)) \right) \left( -\frac{\Delta P}{L} \right). \quad (4.34)$$

**d) Courant d'écoulement** Les courants de surface sont décrits par

$$\begin{aligned} \mathbf{j}_{surf}^{(p)}(H) &= \mu_0 \frac{H}{2} \left[ -1 - \alpha H \ddot{g}_q(H) \cos(qx) + \frac{1}{2}\alpha^2 \left( K_{\parallel}(qH) + H \ddot{h}_q(H) \cos(2qx) \right) \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right) \\ \mathbf{j}_{surf}^{(p)}(z_-) &= \mu_0 \frac{H}{2} \left[ -1 + \alpha (2 + H \ddot{g}_q(0)) \cos(qx) - \frac{1}{2}\alpha^2 \left( K_{\parallel}(qH) - H \ddot{g}_q(0) + \frac{3}{2}(qH)^2 \right. \right. \\ &\quad \left. \left. + \left( H^2 \ddot{g}_q(0) + \frac{3}{2}(qH)^2 - H \ddot{h}_q(0) \right) \cos(2qx) \right) \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right) \end{aligned}$$

dont la valeur moyenne est

$$J_s = -\mu_0 H \left[ 1 - \frac{1}{2}\alpha^2 (qH)^2 \frac{\sinh^2(qH)}{\sinh^2(qH) - (qH)^2} \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right). \quad (4.35)$$

Le courant de surface n'étant pas constant, il induit un courant volumique qui dérive du potentiel électrique suivant :

$$\begin{aligned} \phi_b^{(p)}(x, z) &= \mu_0 \frac{H}{2} \left[ \alpha \left( H \ddot{g}_q(H) \frac{\cosh(qz)}{\sinh(qH)} - (2 + H \ddot{g}_q(0)) \frac{\cosh(q(H-z))}{\sinh(qH)} \right) \sin(2qx) \right. \\ &\quad - \frac{\alpha^2}{2} \left( (2 + H \ddot{g}_q(0)) q^2 H \frac{\sinh(2q(H-z))}{\sinh(2qH)} \right. \\ &\quad \left. \left. + \left( H^2 \ddot{g}_q(0) + \frac{3}{2}(qH)^2 - H \ddot{h}_q(0) \right) \frac{\cosh(2q(H-z))}{\sinh(2qH)} \right) \sin(2qx) \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right). \end{aligned}$$

La contribution au courant moyen du terme volumique est donnée par

$$J_b = \mu_0 \frac{H}{2} \alpha^2 \left[ qH \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} - (qH)^2 \frac{\sinh^2(qh)}{\sinh^2(qH) - (qH)^2} \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right). \quad (4.36)$$

En sommant les termes de surfaces et les termes volumiques nous obtenons pour le courant d'écoulement total

$$J_x = -\mu_0 H \left[ 1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right), \quad (4.37)$$

tandis que les termes périodiques (Fig. 4.5(b)) des contributions surfaciques et volumiques s'annulent.

**e) Synthèse** La matrice  $M_x$  liant les flux au champs appliqués a pour expression :

$$M_x = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} \left( 1 + \frac{3}{2} \alpha^2 (1 - K_{\parallel}(qH)) \right) & -\mu H \left( 1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) \\ -\mu H \left( 1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) & \gamma_{el} H \left( 1 - \frac{1}{2} \alpha^2 q H \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) \end{bmatrix}. \quad (4.38)$$

#### 4.3.4 Conclusions pour un canal ondulé de charge homogène

Cet ensemble de résultats permet d'écrire la relation matricielle suivante :

$$\begin{bmatrix} \langle \mathbf{Q}_x \rangle \\ \langle \mathbf{J}_x \rangle \\ \langle \mathbf{Q}_y \rangle \\ \langle \mathbf{J}_y \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_x & 0 \\ 0 & M_y \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right) \\ \left( -\frac{\Delta \phi}{L_x} \right) \\ \left( -\frac{\Delta P}{L_y} \right) \\ \left( -\frac{\Delta \phi}{L_y} \right) \end{bmatrix}, \quad (4.39)$$

où les matrices  $M_y$  et  $M_x$  ont été données ci-dessus (Eq. 4.30 et Eq. 4.38).

Dans l'approximation de lubrification, où l'on considère  $qH \ll 1$ , on retrouve les coefficients calculés par précédemment par Ajdari [55] :

$$M_{\text{lubri}} = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} (1 - 3\alpha^2) & -\mu H (1 - \frac{1}{2}\alpha^2) & 0 & 0 \\ -\mu H (1 - \frac{1}{2}\alpha^2) & \gamma_{el} H (1 - \frac{1}{2}\alpha^2) & 0 & 0 \\ 0 & 0 & \frac{H^3}{12\eta} (1 + \frac{3}{2}\alpha^2) & -\mu H \\ 0 & 0 & -\mu H & \gamma_{el} H \end{bmatrix}. \quad (4.40)$$

Ces matrices sont symétriques, conformément aux résultats du chapitre précédent. De plus on peut remarquer que les termes non-diagonaux correspondant aux directions  $x$  et  $y$  ne sont pas égaux. On peut donc s'attendre à observer des effets électrocinétiques transverses dans de telles situations.

Néanmoins, la charge de surface étant homogène, le champ de vitesse électroosmotique est proportionnel au champ électrique qui est à rotationnel nul. Par conséquent il sera impossible d'observer des structures en rouleaux pour le flux électroosmotique. Mais la présence de parois latérales fermant le canal peut induire des flux de recirculations hydrodynamiques dont le rotationnel peut ne pas être nul. Il est ainsi possible d'observer de telles structures, favorables au mélange, dans des géométries adaptées [95, 102].

Tous ces effets dépendant de la géométrie sont à l'ordre deux en  $\alpha$ . Ce paramètre étant nécessairement petit devant l'unité pour assurer la validité de ces calculs en perturbation, il est intéressant de modifier le système pour obtenir des effets au premier ordre en  $\alpha$ . Pour cela nous allons coupler les modulations de formes aux modulations de charges de surfaces introduites au début du chapitre. Néanmoins il a été montré expérimentalement que de telles effets d'ordre 2 en  $\alpha$  ont été observé expérimentalement [104].

### 4.3.5 Canal de forme et de charge modulée

Les effets directs sont identiques à ceux de la situation précédente, nous ne les réécrivons donc pas.

La présence conjointe des deux types de modulations permet d'obtenir un effet de moyenne non-nulle dès le premier ordre en  $\alpha$  [105, 106, 55].

#### *Gradients suivant $y$ , perpendiculaires à la modulation.*

**b) Flux électroosmotique** Le champ de vitesse électroosmotique est donnée par

$$v^{(e)} = -\mu_0 \left[ \frac{\cosh(q(z - H/2))}{\cosh(qH/2)} \cos(qx + \theta) \right. \\ \left. + \frac{\alpha}{2} qH \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \left( \frac{H - z}{H} \cos(\theta) + \frac{\sinh(2q(z - H))}{\sinh(2qH)} \cos(2qx + \theta) \right) \right] \left( -\frac{\Delta\Phi^{(e)}}{L_y} \right) \quad (4.41)$$

Ce qui correspond à un flux électroosmotique

$$Q^{(e)} = -\mu_0 H \frac{\alpha}{2} \cos(\theta) \left( 1 - \frac{qH}{2} \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \right) \left( -\frac{\Delta\Phi^{(e)}}{L_y} \right). \quad (4.42)$$

**d) Courant d'écoulement** Le courant d'écoulement est décrit par

$$J_s^{(p)} = -\mu_0 H \left[ \cos(qx + \theta) - \frac{\alpha}{2} \left( 1 - \frac{qH}{2} \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \right) (\cos(\theta) + \cos(2qx + \theta)) \right] \left( -\frac{\Delta P^{(p)}}{L_y} \right) \quad (4.43)$$

dont le terme constant est

$$J_s^{(p)} = -\mu_0 H \frac{\alpha}{2} \cos(\theta) \left[ -1 + \frac{qH}{2} \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \right] (-\nabla P_y^{(p)}). \quad (4.44)$$

**e) Synthèse** En utilisant une notation matricielle identique, les relations entre les flux moyens et les champs appliqués sont données par la matrice  $M_y$  :

$$M_y = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} \left( 1 + \frac{3}{2} \alpha^2 (1 - K_{\perp}(qH)) \right) & -\mu H \cos \theta \alpha \left( 1 - \frac{qH}{2} \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \right) \\ -\mu H \cos \theta \alpha \left( 1 - \frac{qH}{2} \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \right) & \gamma_{el} H \end{bmatrix}. \quad (4.45)$$

#### *Gradients suivant $x$ , parallèles à la modulation.*

**b) Flux électroosmotique (Fig. 4.6(a))** Le champ de vitesse électroosmotique est

$$v_x^{(e)} = -\mu_0 \left[ \frac{\cosh(q(z - H/2))}{\cosh(qH/2)} \cos(qx + \theta) \right. \\ \left. + \frac{\alpha}{2} qH \frac{\sinh(qH/2)}{\cosh(qH/2)} \left( \frac{H - z}{H} \cos(\theta) + \frac{\sinh(2q(z - H))}{\sinh(2qH)} \cos(2qx + \theta) \right) \right] \left( -\frac{\Delta\Phi^{(e)}}{L_y} \right) \quad (4.46)$$

le flux étant décrit par

$$Q_x^{(e)} = -\mu_0 H \frac{\alpha}{2} \left( -1 + \frac{1}{2} \frac{qH(1 + \cosh(qH))}{\sinh(qH)} - qH \frac{\cosh(qH) - 1}{qH - \sinh(qH)} \right) \cos(\theta) \left( -\frac{\Delta\Phi^{(e)}}{L_y} \right). \quad (4.47)$$

**d) Courant d'écoulement (Fig. 4.6(b))** Les courants de surfaces sur les parois inférieur  $\mathbf{j}_{surf}^{(p)}(z_-)$  et supérieur  $\mathbf{j}_{surf}^{(p)}(H)$  sont donnés par

$$\begin{aligned}\mathbf{j}_{surf}^{(p)}(H) &= -\mu_0 \frac{H}{2} \left[ \cos(qx + \theta) + \alpha q H \frac{qH \cosh(qH) - \sinh(qH)}{\sinh^2(qH) - (qH)^2} (\cos \theta + \cos(2qx + \theta)) \right] \left( -\frac{\Delta P}{L} \right) \\ \mathbf{j}_{surf}^{(p)}(z_-) &= -\mu_0 \frac{H}{2} \left[ \cos(qx + \theta) + \frac{\alpha}{2} \left( qH \frac{\sinh(2qH) - 2qH}{\sinh^2(qH) - (qH)^2} - 2 \right) (\cos \theta + \cos(2qx + \theta)) \right] \left( -\frac{\Delta P}{L} \right)\end{aligned}$$

Ce qui correspond à une composante moyenne

$$J_{surf} = -\mu_0 H \frac{\alpha}{2} \cos \theta \left[ -1 - qH \frac{1 - \cosh(qH)}{\sinh(qH) - qH} \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right), \quad (4.48)$$

les termes périodiques induisant un courant dans le volume pour assurer les lois de conservations.

La contribution du courant volumique au courant électrique moyen total est donnée par

$$J_b = -\mu_0 H \frac{\alpha}{2} \cos \theta \left[ -\frac{1}{2} qH \frac{1 + \cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right] \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right),$$

les termes périodiques s'annulant avec les termes périodiques du courant de surface ce qui assure la conservation globale du courant le long du canal.

**e) Synthèse** En utilisant une notation matricielle identique, les relations entre les flux moyens et les champs appliqués sont données par la matrice  $M_x$  :

$$M_x = \begin{bmatrix} \frac{H^3}{12\eta} \left( 1 + \frac{3}{2} \alpha^2 (1 - K_{||}(qH)) \right) & -\mu H \frac{\alpha}{2} \cos \theta \left( -1 + \frac{qH}{2} \frac{1 + \cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) \\ -\mu H \frac{\alpha}{2} \left( -1 + \frac{qH}{2} \frac{1 + \cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) & \gamma_{el} H \left( 1 - \frac{1}{2} \alpha^2 qH \frac{\cosh(qH)}{\sinh(qH)} \right) \end{bmatrix}. \quad (4.49)$$

### Conclusion pour un canal ondulé de charge modulée

Cet ensemble de résultats permet d'écrire la relation matricielle suivante :

$$\begin{bmatrix} \langle \mathbf{Q}_x \rangle \\ \langle \mathbf{J}_x \rangle \\ \langle \mathbf{Q}_y \rangle \\ \langle \mathbf{J}_y \rangle \end{bmatrix} = \begin{bmatrix} M_x & 0 \\ 0 & M_y \end{bmatrix} \cdot \begin{bmatrix} \left( -\frac{\Delta P}{L_x} \right) \\ \left( -\frac{\Delta \phi}{L_x} \right) \\ \left( -\frac{\Delta P}{L_y} \right) \\ \left( -\frac{\Delta \phi}{L_y} \right) \end{bmatrix}, \quad (4.50)$$

où  $M_x$  et  $M_y$  sont données par les équations (4.49) et (4.45). Les termes électrocinétiques non-triviaux sont maintenant au premier ordre en  $\alpha$  ce qui permet d'obtenir des effets plus importants que dans le cas où les charges sont homogènes. De plus les modulations de charges de surfaces peuvent induire un champ de vitesse électroosmotique dont le rotationnel n'est pas nul. Cela est vérifié ici où les termes au premier ordre en  $\alpha$  correspondent à des rouleaux de recirculations.

## 4.4 Applications des résultats : trois propositions

En conclusion de cette partie un peu formelle, nous donnons ici trois exemples d'applications où les calculs précédents peuvent jouer un rôle.

#### 4.4.1 Utilisation du formalisme de couche mince dans les simulations numériques

Les simulations numériques sont fréquemment utilisées en microfluidique pour prédire ou analyser le comportement hydrodynamique et/ou électrique d'un microsystème. Des études numériques ont ainsi montré la pertinence de moduler la forme des tournants pour limiter la dispersion lors d'une séparation électrophorétique [107]. L'utilisation d'une paroi crénelée pour accélérer le mélange dans un microcanal a également été étudiée numériquement afin d'optimiser les paramètres géométriques durant la microfabrication [36]. La géométrie des écoulements et des courants générés par des modulations de charges ou de formes est également étudiée numériquement, entre autres par D. Li [96, 94, 98, 100].

Le travail présenté ici peut être utilisé sous deux formes dans le cadre d'études numériques. D'une part, les solutions analytiques calculées ci-dessus peuvent servir de test pour valider les résultats des simulations dans des situations où l'approche perturbative est valide, avant de les appliquer à des géométries plus complexes. D'autre part, les équations décrivant l'approximation de couche mince peuvent être utilisées pour mettre en place des calculs numériques pour l'électroosmose mais également pour le courant d'écoulement. Les simulations utilisant l'approximation de couches ne pourront décrire les géométries des courants électriques en plus des structures hydrodynamiques.

#### 4.4.2 Perturbation de la trajectoire d'un traceur

Considérons une étude du champ de vitesse hydrodynamique à proximité d'une paroi utilisant la technique de la PIV (Particle Imagery Velocimetry) [108], par exemple pour quantifier un éventuel phénomène de glissement [109]. Le plus souvent les particules fluorescentes utilisées sont chargées pour stabiliser la suspension mais en l'absence de champ électrique imposé, la mobilité électrophorétique ne joue aucun rôle. Néanmoins, le flux hydrodynamique peut générer un courant d'écoulement. Dans le cas où la surface présente des inhomogénéités, nous avons vu que ce courant n'est plus confiné à la surface. Un champ électrique se développe dans le volume sur une distance égale à la taille de la perturbation. Ce champ électrique perpendiculaire à la surface perturbe alors la trajectoire des particules chargées (Fig. 4.10).

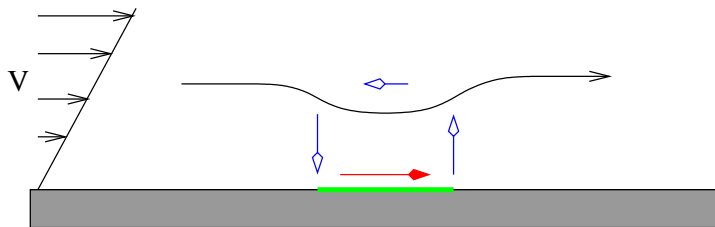


FIG. 4.10 – Perturbation de la trajectoire d'une particule chargée à proximité d'un défaut de surface (en vert). Le courant de surface (en rouge) recircule dans le volume (en bleu).

La vitesse de la particule diminue à proximité de la surface et sa trajectoire est déformée. Cela peut induire des artefacts lors des mesures de vitesse proche des parois non prévisibles a priori car dûs à des effets électrocinétiques dans un système que l'on croit purement hydrodynamique.

### 4.4.3 Anticipation du fonctionnement d'une pompe "transverse"

L'exemple d'un circuit utilisant les anisotropies calculées au cours de ce chapitre est présenté ci-dessous (Fig. 4.11). Il s'agit d'un canal dont la paroi inférieure est rainurée périodiquement. La direction des modulations est orienté avec un angle de  $\pi/2$  par rapport aux axes du canal. Des électrodes placées sur les parois latérales permettent d'imposer un champ électrique transverse. Ses caractéristiques principales sont les suivantes [35] :

- largeur 1 mm ;
- épaisseur :  $60 \mu\text{m}$  ;
- longueur d'onde des modulations :  $140 \mu\text{m}$  ;
- $\alpha = 0.16$  ;
- mobilité électroosmotique  $\mu = 6 \mu\text{m.s}^{-1}.(\text{V/cm})^{-1}$  ;
- différence de potentiel appliqué 10 V.

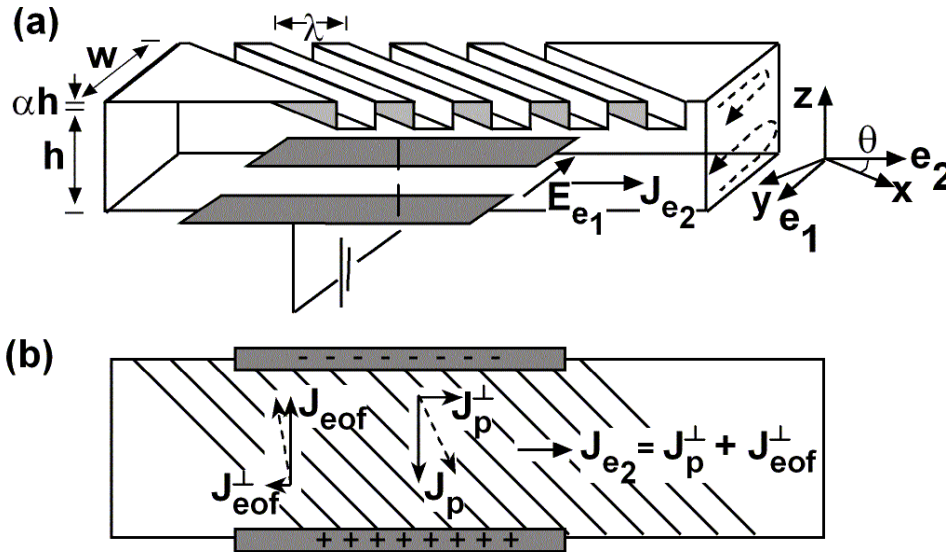


FIG. 4.11 – Vues d'un canal de forme modulée suivant une direction orientée à  $45^\circ$  vis-à-vis des axes principaux du canal. Des électrodes placées sur les parois latérales permettent d'imposer un champ électrique qui induit un flux électroosmotique et un flux hydrodynamique de recirculation. La présence des modulations crée des effets non-diagonaux symbolisés par les flèches en pointillées.

Si une différence de potentiel est imposée à l'aide des électrodes, un flux électroosmotique va s'établir dont la composante suivant l'axe principal du canal  $x$  ne sera pas nul. Nous pouvons donc nous attendre à observer un écoulement global de la droite vers la gauche (Fig. 4.11).

En utilisant les relations calculées précédemment, la vitesse moyenne  $v_x$  de cet écoulement transverse est :

$$v_x = 0.88 \mu\text{m.s}^{-1}. \quad (4.51)$$

Mais ce flux électroosmotique n'étant pas dirigée intégralement suivant  $x$ , la composante suivant  $y$  crée une différence de pression entre les deux parois latérales, induisant à son tour un écoulement hydrodynamique. Cette écoulement à également une composante suivant  $x$  mais dont le sens est opposé au précédent. La vitesse moyenne correspondante  $v'_x$  est donnée par la relation suivante :

$$v'_x = -120 \mu\text{m.s}^{-1}, \quad (4.52)$$



ce qui compatible avec la vitesse typique de  $100 \mu\text{m.s}^{-1}$  observée expérimentalement [35]. On observe donc que l'effet le plus important est celui provoqué par la recirculation du flux hydrodynamique et non pas l'effet électroosmotique transverse "direct".

Afin de prédire le sens des effets transverses, il est donc nécessaire de pouvoir les calculer de la manière la plus exacte possible, l'intuition du de connaître l'intensité de tous ces effets. De plus, le même système peut être utilisé comme capteur de débit intégré, les électrodes mesurant le courant ou le potentiel d'écoulement proportionnel au débit. La symétrie des effets électrocinétiques permet également de prévoir les flux électroosmotiques à l'aide de cette mesure de courant.

## 4.5 Conclusion

Les calculs explicites présentés dans ce chapitre ont permis de vérifier une nouvelle fois les relations de symétrie entre courant d'écoulement et flux électroosmotique. En plus de ce résultat quelque peu formel, nous avons obtenu les structures des écoulements hydrodynamique et électrique dans des géométries modèles. Une partie de ces résultats avaient été obtenues précédemment pour les flux électroosmotique [70] ou dans l'approximation de lubrification [55]. Mais le formalisme linéaire proposé ici, ainsi que les calculs des structures des flux hydrodynamiques, pourront servir de guide pour des calculs équivalents dans différentes géométries étudiées expérimentalement ou numériquement [36, 97, 110, 111, 112, 98, 95, 99].

De plus ces calculs en perturbations complètent avantageusement les calculs en lubrification [55] qui ont déjà permis d'initier le développement de nombreux systèmes microfluidiques exploitant l'anisotropie du couplage électrocinétique [35, 104].

## Fonctions utilisées

$$g_q(z) = \frac{\sinh(qH)z \sinh(q(H-z)) - qH(H-z) \sinh(qz)}{\sinh(qH)^2 - (qH)^2} \quad (4.53)$$

$$\ddot{g}_q(0) = 2q \frac{-\sinh(qH) \cosh(qH) + qH}{\sinh(qH)^2 - (qH)^2} \quad (4.54)$$

$$\ddot{g}_q(H) = 2q \frac{-\sinh(qH) + qH \cosh(qH)}{\sinh(qH)^2 - (qH)^2} \quad (4.55)$$

$$\ddot{\ddot{g}}_q(0) = q^2 \frac{3 \sinh(qH)^2 - (qH)^2}{\sinh(qH)^2 - (qH)^2} \quad (4.56)$$

$$\ddot{\ddot{g}}_q(H) = q^2 \frac{3qH \sinh(qH) - qH \cosh(qH) \sinh(qH)}{\sinh(qH)^2 - (qH)^2} \quad (4.57)$$

$$T_{\perp}(x, z) = -\alpha \frac{\sinh(q(h-z))}{\sinh(qH)} \cos(qx) - \frac{1}{2} \alpha^2 K_{\perp}(qh) \frac{\sinh(2q(h-z))}{\sinh(2qH)} \cos(2qx) \quad (4.58)$$

$$K_{\perp}(u) = -1 + u \frac{\cosh(u)}{\sinh(u)} \quad (4.59)$$

$$K_{\parallel}(u) = -1 + 2u \frac{\sinh(u) \cosh(u) - u}{\sinh^2(u) - u^2} \quad (4.60)$$



Troisième partie

Laboratoire sur puce pour la  
protéomique



# Chapitre 1

## Introduction

Nous avons brièvement présenté notre projet de “laboratoire sur puce” dans l’introduction générale. Dans ce premier chapitre, nous compléterons cette présentation en mettant en exergue les avantages et les contraintes liées à la manipulation des protéines à l’aide de circuits microfluidiques. Nous détaillerons ensuite plus précisément les composants de ce *lab on a chip* en PDMS que sont l’étage de séparation électrophorétique et le réacteur enzymatique.

Ce projet était toujours en développement lors de l’écriture de ce manuscrit, principalement pour les aspects biologiques. L’étude du système sera concentrée sur les aspects fluidiques qui ont été le cœur de ma contribution au projet.

### 1.1 Analyse de protéines et microfluidique

Après l’explosion de la génomique au cours des années 80 et 90 qui s’est conclue par le séquençage complet du génome humain, un domaine de recherche est maintenant en plein essor : la protéomique.

D’un point de vue fondamental, l’étude des protéines s’exprimant dans chaque cellule apporte un grand nombre d’informations sur leur activité et leur développement post-transcriptionnel qui ne peuvent être obtenues à partir du génome. En effet toutes les cellules contiennent la même information génétique mais l’expriment chacune d’une manière particulière, adaptée à leurs fonctions. L’analyse du protéome d’une cellule, ou d’une famille de cellules est donc un challenge important. Le matériel cellulaire est présent en très faible quantité, il est donc indispensable de développer des protocoles très sensibles, en manipulant des volumes très faibles.

Un aspect plus pratique de la protéomique est la recherche d’organismes génétiquement modifiés dans les produits alimentaires [113, 114]. Lorsqu’il n’est pas possible d’extraire l’ADN et de l’amplifier, il est alors nécessaire d’analyser des mélanges complexes de protéines. Ces analyses doivent être effectuées à l’échelle de l’industrie agroalimentaire, donc en très grand nombre et/ou très rapidement.

Ces deux aspects de la protéomique que sont une grande sensibilité et la rapidité d’analyse ont encouragé plusieurs groupes à intégrer dans le protocole d’analyses protéiques des étapes microfluidiques. Un balayage très complet de cette activité peut être trouvé dans la revue publiée par H. Girault dans *Electrophoresis* en 2003 [13].

### 1.1.1 Le protocole biologique

Lors de l'analyse d'un mélange de protéines, un des protocoles classiques comporte trois étapes principales [115]. Tout d'abord on effectue une séparation des protéines pour fractionner le mélange initial en plusieurs échantillons moins complexes. Cette étape, qui n'est pas nécessaire dans le cas de mélange simple, est réalisée le plus souvent par électrophorèse sur gel. Ensuite une étape de digestion enzymatique permet de décomposer les protéines en peptides qui seront à leur tour analysés lors d'une troisième étape, le plus souvent par spectrométrie de masse.

#### Étape 1 : séparation de protéines

La méthode de séparation macroscopique la plus standard est basée sur l'électrophorèse sur gel à 2 dimensions. La première dimension est une séparation par électrofocalisation, qui sépare les protéines en fonction de leur point isoélectrique,  $pI^1$ .

La seconde est une séparation par électrophorèse en gel de polyacrylamide en présence de sodium dodécyl sulfate (SDS-PAGE). Le SDS est un tensioactif anionique qui se fixe sur les protéines et masque leur charge propre, formant un complexe de charge négative. La séparation s'effectue alors en fonction de la masse des protéines, le gel de polyacrylamide servant de matrice de séparation.

La séparation à 2D est améliorée si elle est précédée d'une étape de dénaturation qui déplie les protéines en rompant les ponts disulfures. La séparation s'effectue alors uniquement en fonction de la taille de la protéine, la structure tridimensionnelle n'ayant que peu d'influence.

#### Étape 2 : la digestion enzymatique

La digestion enzymatique permet de cliver une protéine en un certain nombre de sites déterminés par sa séquence d'acides aminés. Les fragments de protéine résultants, les peptides, sont alors caractéristiques de la protéine. Une des enzymes couramment employée est la trypsine. Dans ce cas les sites de clivages sont situés après les acides aminés lysine et arginine. Cela correspond par exemple à 78 sites de clivages pour la protéine BSA (Bovine Sérum Albumine) et autant de peptides après la digestion.

L'intérêt de cette étape est lié à la possibilité de connaître la séquence d'acide aminés composant la protéine à partir du génome, et donc la nature des peptides résultant de la digestion. De plus les analyses de peptides par spectroscopie de masse sont extrêmement sensibles.

#### Étape 3 : identifications des peptides

Dans le cas d'un mélange de protéines, on obtient un grand nombre de peptides après la digestion. La méthode la plus efficace pour les identifier est la spectrométrie de masse.

À partir des masses des peptides issus de la digestion, un logiciel donne les probabilités que ces peptides proviennent de telle ou telle protéine, en indiquant également le pourcentage de recouvrement obtenu. Il s'agit de la proportion de la séquences d'acides aminés de la protéine que l'on peut reconstituer à l'aide des peptides issus de la digestion. En effet il est rare que le spectrogramme de masse contienne l'intégralité des peptides issus de la digestion.

---

<sup>1</sup>le  $pI$  d'une protéine est le  $pH$  auquel sa charge nette est nulle.

Bien entendu, plus le pourcentage de recouvrement est élevé, plus la probabilité d'identifier la protéine est importante.

### 1.1.2 Quelques réalisations microfluidiques

L'analyse de protéines dans des systèmes microfluidiques est un axe de recherche investi par de nombreux groupes [13]. La plupart des techniques macroscopiques ont été transférées dans un format microfluidique mais encore peu de systèmes incluent plusieurs fonctionnalités nécessaires à l'identification d'un mélange de protéines.

On peut mentionner des systèmes intégrant un module de digestion couplé à un spectromètre de masse pour permettre l'identification des protéines [21]. La digestion est réalisée par de la trypsine immobilisée sur une membrane. Une étape de séparation des peptides par électrophorèse capillaire de zone peut être insérée avant le spectromètre de masse pour augmenter la sensibilité de l'identification. Suivant la même approche, des systèmes ont été développés où la trypsine est fixée sur un gel [20] ou sur des billes [116].

Les réalisations précédentes utilisent des écoulements contrôlés par des pousses-seringues pour l'étape de digestion. Afin d'utiliser au mieux le système électrique nécessaire à l'étape de séparation électrophorétique, un protocole de digestion utilisant un flux électroosmotique a été mis au point, la trypsine étant immobilisée sur des billes [117].

On peut remarquer que la majorité des systèmes d'analyses débutent par l'étape de digestion. En effet les protéines présentent des domaines hydrophiles et hydrophobes. Ces derniers peuvent induire des phénomènes d'adsorption importants, préjudiciables à l'analyse. En revanche, après la digestion, si certains peptides sont hydrophobes, d'autres sont hydrophiles et restent en solution jusqu'à la fin de l'analyse. Une partie de l'information protéique est donc manquante et le pourcentage de recouvrement introduit précédemment ne sera pas de 100%. Néanmoins cela est rarement préjudiciable pour l'identification non-ambigüe des protéines lorsque le mélange initial est simple.

## 1.2 Présentation du projet protéomique

### 1.2.1 Objectifs et attentes

En collaboration avec l'équipe de spectrométrie de masse en biologie du Laboratoire de Neurobiologie et Diversité Cellulaire de l'ESPCI <sup>2</sup>, nous nous sommes intéressés à l'analyse d'un mélange complexe de protéines (>100).

L'analyse d'un mélange de protéines nécessite plusieurs étapes pour permettre une identification fiable, dont les plus importantes sont :

1. séparation par électrophorèse sur gel (4 heures),
2. digestion enzymatique (3 heures),
3. analyse par spectroscopie de masse.

Chacune de ces étapes nécessite elle-même plusieurs opérations. L'étape de séparation est indispensable pour des mélanges comportant un grand nombre de protéines différentes (> 100) car les spectromètres de masse ne peuvent alors associer de manière non-ambigüe les peptides issus de la digestion à chacune des protéines.

---

<sup>2</sup>[www.bio.espci.fr/enterspec.html](http://www.bio.espci.fr/enterspec.html)



Comme dans tous les projets de laboratoire sur puce, l'objectif est d'utiliser la microfluidique pour rendre plus performant le protocole macroscopique. Les performances recherchées sont ici la rapidité des analyses, chacune des étapes nécessitant plusieurs heures, ainsi que la diminution du volume des échantillons. La diminution du volume a pour objectif ultime l'analyse du protéome d'une cellule unique en limitant les dilutions. Le volume typique d'une cellule est de l'ordre d'une fraction de picolitre. Les micropipettes permettant de manipuler des volumes de quelques centaines de nanolitres, une dilution de  $10^6$  est inévitable. En utilisant des systèmes microfluidiques, il est possible de contrôler des volumes inférieurs au nanolitre avec une grande précision, ce qui permettra un gain d'au moins trois ordres de grandeur sur la dilution initiale. L'intégration de plusieurs étapes dans le même système permet également de diminuer les étapes de dilution et de concentration ainsi que les sources de contamination inévitables dans les systèmes ouverts.

### 1.2.2 Description du microsystème

Nous inspirant directement du procédé macroscopique, nous avons développé un système en PDMS à deux étages :

1. électrophorèse capillaire,
2. digestion enzymatique.

L'analyse finale des peptides est effectuée par spectroscopie de masse MALDI-TOF<sup>3</sup> au laboratoire de Biologie de l'ESPCI.

Un schéma du système microfluidique complet est représenté Fig. 1.1 où l'on distingue le module de séparation (en rouge) et le module de digestion enzymatique (en bleu). Les canaux d'actuations permettant de réaliser les vannes et la pompe sont en gris. L'épaisseur des canaux est de 30 microns, la largeur est de 100 microns. L'ensemble du circuit peut être inclus dans un rectangle de 7x5 cm. La taille globale du système est bien plus importante que la surface réellement active pour faciliter les connections fluidiques.

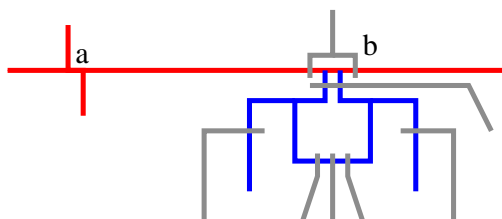


FIG. 1.1 – Représentation schématique du circuit microfluidique (rouge et bleu) et des canaux d'actuation (en gris).

Le module de séparation reprend la géométrie classique des microsystèmes d'électrophorèse. Il se compose d'un canal d'injection dont l'intersection avec le canal de séparation définit la taille de l'échantillon pour la séparation (Fig. 1.1.a). Nous avons utilisé un tampon légèrement basique (pH 8.5) pour assurer la présence d'un flux électroosmotique dans le microcanal pendant l'étape de séparation et un tensioactif, le SDS, pour limiter les interactions entre les protéines et les parois. Ce module sera présenté dans le prochain chapitre (p. 115).

<sup>3</sup>Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time Of Flight. Cette technique sera présentée p.131

Le module de digestion nécessite de mettre en contact une solution de trypsine, préalablement introduite dans le réacteur, et un échantillon de protéines prélevé dans le canal de séparation (Fig. 1.1.b). Nous avons donc été confrontés au problème du mélange à bas nombre de Reynolds, qui est un des défis de la microfluidique.

### Le mélange dans les circuits microfluidiques

Les systèmes microfluidiques chimiques et biologiques sont très souvent confrontés à la difficulté du mélange à bas nombre de Reynolds, les écoulements laminaires ne permettant que les mélanges par diffusion. Plusieurs techniques ont été développées pour mélanger deux constituants dans un canal microfluidique. Nous pouvons citer le mélangeur chaotique introduit à UCLA par C.M. Ho [118] dont l'étude a été poursuivie au laboratoire [119]. Il est également possible d'utiliser des canaux dont la forme est modulée, permettant le repliement des interfaces [102], ou plus simplement des canaux en *zig-zag* [120]. Dans le cas où les écoulements sont induits par électroosmose, une modulation des charges de surfaces peut induire un mélange [111, 94, 100].

Les systèmes ci-dessus permettent le mélange continu de deux produits adjacents dans un canal. Dans notre situation le mélange doit s'effectuer entre deux zones disjointes d'un canal de longueur finie. Nous avons donc utilisé le mélangeur circulaire développé par l'équipe de S. Quake basé sur la dispersion de Taylor [19].

#### 1.2.3 Le choix du PDMS

L'utilisation du PDMS a été motivée par la possibilité d'implémenter des pompes et des vannes in-situ au niveau du réacteur enzymatique, malheureusement son état de surface natif présente un certain nombre d'inconvénients :

- perméabilité au gaz,
- perméabilité à certains solvants organiques,
- hydrophobicité.

L'hydrophobicité a deux conséquences principales. Premièrement le remplissage des circuits microfluidiques par des solutions aqueuses est difficile [121]. Cet handicap peut être contourné en utilisant des sources de pression ou d'aspiration, tout en étant attentif à la formation éventuelle de bulles provenant du gaz contenu dans le PDMS. D'autre part, l'hydrophobicité est l'origine principale de l'adsorption des protéines à la surface du PDMS [122, 48]. De nombreux traitements de surface ont été développés [123] pour permettre l'utilisation du PDMS dans différentes situations. Nous donnerons ici un aperçu des procédés les plus couramment utilisés.

Pour rendre le PDMS hydrophile, une technique fréquemment utilisée est l'oxydation par plasma [124] ou par rayonnement U.V. [125]. Une couche nanométrique de silice est créée à la surface du PDMS, possédant des fonctions silanols et acides carboxyliques. La surface est alors chargée négativement ce qui permet d'obtenir un flux électroosmotique, mais favorise malheureusement l'interaction avec les protéines chargées positivement. De plus cette modification de surface n'est pas pérenne et l'hydrophobicité réapparaît au bout de quelques heures [126, 127].

L'adsorption de tensioactifs chargés ou de polyélectrolytes a également été utilisée par différents groupes pour contrôler les charges de surface du PDMS [71, 72, 70] ainsi que l'adsorption de polymères neutres pour supprimer le flux électroosmotique [16]. Parallèlement à

ces traitements de surfaces dynamiques, des modifications covalentes de la surface ont été développées.

Des réactions de silanisation ont été utilisées pour greffer du poly(éthylène glycol) [128,129] afin de limiter l'adsorption des protéines. Cette méthode de greffage, simple à mettre en œuvre, permet de limiter l'adsorption des protéines sans pour autant la supprimer. Il faut également souligner que les greffages par silanisation ne résistent pas à pH basique, les groupements silanes s'hydrolysant. Différentes techniques plus complexes de polymérisation in-situ ont également été développées par différents groupes : polyacrylamide et poly(éthylène glycol) catalysés par un rayonnement U.V. [130,131,132] ou parylène déposé en phase vapeur [133].

Après avoir tenté plusieurs traitements de surface (PEG, adsorption de protéines), nous avons décidé d'utiliser un nettoyage plasma et un conditionnement à la soude pour préparer les microsystèmes. L'utilisation de tensioactif dans la solution permettant de limiter suffisamment l'adsorption des protéines sur les parois.

## Annonce du plan

L'étude de ce laboratoire sur puce sera faite dans l'ordre chronologique d'analyse. La séparation par électrophorèse capillaire sera présentée chapitre 2. Après avoir introduit brièvement le principe de la séparation, nous présenterons les expériences préliminaires qui ont permis de valider le système du point de vue fluide. Un exemple de séparation de protéines sera ensuite présenté avant de discuter les différents paramètres influant sur la qualité de séparation.

Le chapitre 3 présente le module de digestion et le système de mélange basé sur la dispersion de Taylor-Aris que nous avons utilisé. Une méthode pour caractériser la cinétique du mélange sera introduite. Pour conclure nous exposerons les premiers résultats de spectrométrie de masse obtenus à partir de la digestion enzymatique d'une protéine modèle.

## Chapitre 2

# Le module de séparation

### 2.1 Principe de l'électrophorèse capillaire

#### 2.1.1 La mobilité électrophorétique

Une particule chargée immergée dans un électrolyte développe à sa proximité une double couche d'ions diffuse, similaire à celle introduite dans la partie traitant de l'électrocinétique. L'épaisseur de cette couche est donnée par la longueur de Debye dont la valeur typique est de quelques nanomètres.

Deux cas se présentent alors : soit la particule chargée est plus grande que la couche de Debye, ce qui est le cas des cellules et des grands ADN par exemple ; soit la particule chargée est plus petite, comme dans le cas des protéines ou des molécules simples. La vitesse d'une particule chargée soumise à un champ électrique  $\mathbf{E}$  est donnée par

$$\mathbf{v} = \mu_{ep}\mathbf{E}, \quad (2.1)$$

où la *mobilité électrophorétique*  $\mu_{ep}$  a une expression différente dans les deux situations.

Dans le premier cas, la mobilité électrophorétique a pour expression :

$$\mu_{ep} = \frac{\varepsilon\zeta}{\eta}, \quad (2.2)$$

où  $\varepsilon$  et  $\eta$  sont la permittivité et la viscosité du fluide,  $\zeta$  étant le potentiel de surface de la particule. Il s'agit simplement de la vitesse électroosmotique dans le repère de la particule (c.f. Part. II). On peut remarquer que la mobilité est indépendante de la taille de la particule.

Dans le second cas, on peut considérer que la particule de charge  $q$  est simplement soumise à une force de Coulomb

$$\mathbf{F} = q\mathbf{E}$$

qui s'équilibre à une force de trainée visqueuse

$$-6\pi\eta R_h \mathbf{v}$$

où  $R_h$  est le rayon hydrodynamique de la particule. La mobilité électrophorétique a alors pour expression :

$$\mu_{ep} = \frac{q}{6\pi\eta R_h}. \quad (2.3)$$

Dans la suite nous traiterons uniquement de petites molécules ou de protéines dont la taille est inférieure à la longueur de Debye.

### 2.1.2 Conditions pour une séparation dans un capillaire

Considérons un mélange de 2 protéines de mobilités électrophorétiques différentes,  $\mu_{ep1}$  et  $\mu_{ep2}$ , dont une petite quantité est introduite dans un capillaire (Fig. 2.1.a). Si un champ

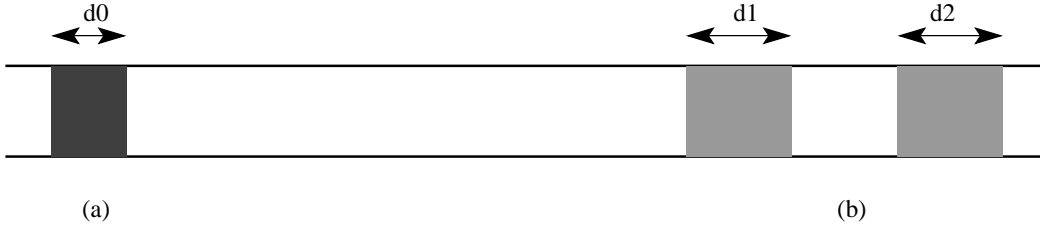


FIG. 2.1 – Principe de l'électrophorèse capillaire. (a) Situation initiale avec un bouchon (un *plug*) de longueur  $d_0$ . (b) Situation après l'application d'un champ électrique  $E$  pendant un temps  $t$ .

électrique est appliqué pendant un temps  $t$ , les protéines se seront déplacées d'une distance

$$\begin{aligned} l_1 &= \mu_{ep1}Et, \\ l_2 &= \mu_{ep2}Et, \end{aligned}$$

et leur centre de masse seront séparés d'une distance donnée par :

$$\Delta l = (\mu_{ep1} - \mu_{ep2})Et. \quad (2.4)$$

Pour réaliser une séparation il faut que les "spots" de protéines ne se recouvrent pas. En l'absence de diffusion, les spots ont la même taille que le plug initial  $\delta_0$ . Mais si le coefficient de diffusion des protéines n'est pas nul, la taille des spots peut être estimée à l'aide de la relation suivante :

$$\delta_{1,2} = \delta_0 + \sqrt{2D_{1,2}t}. \quad (2.5)$$

Avec  $\delta_0 \ll \delta_{1,2}$ , la condition nécessaire à une séparation est donc :

$$E\sqrt{t} > \frac{\sqrt{2D_{\max}}}{\Delta\mu_{ep}}, \quad (2.6)$$

où  $D_{\max}$  est le coefficient de diffusion le plus grand. Les constantes de diffusion et les mobilités électrophorétiques sont intrinsèques aux protéines et aux solvants utilisés dans le capillaire. Il existe un grand nombre de matrices développées pour moduler les mobilités électrophorétiques de l'ADN et augmenter la capacité de séparation des capillaires [17]. Le cas des protéines est plus complexe. Il existe des matrices basées sur la création de complexe antigène-anticorps [122] mais elles sont très spécifiques. Notre but étant de séparer des protéines quelconques, il ne nous est pas possible d'utiliser cette méthode. Les paramètres sur lesquels nous pouvons agir dans l'équation (2.6) sont donc le temps de séparation et le champ électrique. Ces deux paramètres ne sont pas indépendants car le temps nécessaire pour parcourir le capillaire est proportionnel à la longueur du capillaire et inversement proportionnel au champ électrique. La relation (2.6) peut donc s'écrire à l'aide de la mobilité électrophorétique moyenne  $\mu_{ep}$  et de la longueur du capillaire  $L$  :

$$EL > \frac{2D_{\max}\mu_{ep}}{(\Delta\mu_{ep})^2}. \quad (2.7)$$

Pour améliorer la séparation, il est donc nécessaire d'augmenter la longueur du capillaire et le champ électrique. La limitation principale est liée à l'échauffement par effet Joule du capillaire lorsque le champ électrique augmente. L'utilisation de capillaire de plus en plus fin présente l'avantage de favoriser les échanges thermiques et donc de réduire l'élévation de température. De plus, la taille et la reproductibilité du spot initial a une grande influence sur la séparation. Ces deux aspects montrent la pertinence d'utiliser des systèmes microfluidiques pour réaliser des séparations électrophorétiques.

Nous avons considéré dans tout ce qui précède un capillaire possédant une mobilité électroosmotique nulle. Les analytes doivent donc nécessairement avoir le même signe pour passer devant le détecteur. Malheureusement nous nous intéressons à des mélanges de protéines quelconques dont la charge peut être positive ou négative. Il est donc indispensable d'utiliser un matériau possédant une mobilité électroosmotique importante, pouvant dominer toutes les mobilités électrophorétiques. Nous verrons que le PDMS peut posséder cette caractéristique en utilisant un conditionnement adéquat. La présence d'un flux électroosmotique ne change pas les conditions pour réaliser une séparation, il faut uniquement en tenir compte dans le temps d'analyse, la vitesse des analytes n'étant plus uniquement due à leur mobilité électrophorétique.

### 2.1.3 Nombre de plateaux théoriques et résolution

Les performances des colonnes de séparations s'expriment classiquement à l'aide de deux paramètres. Le nombre de plateaux théoriques exprime la finesse des pics, la résolution traduisant la capacité de la colonne à distinguer les différents analytes. Pour obtenir une bonne séparation il faut optimiser ces deux paramètres simultanément.

#### Nombre de plateaux théoriques

Le nombre de plateaux théoriques  $N$  traduit donc la finesse des pics. Il est calculé à partir du temps d'apparition du pic, le temps de rétention  $t_r$ , et de sa largeur à mi-hauteur  $w$  :

$$N = 5,54 \left( \frac{t_r}{w} \right)^2. \quad (2.8)$$

Les nombres de plateaux théoriques pour des microsystèmes séparant des protéines sont de l'ordre de quelques dizaines de milliers [13]. Mais pour séparer des analytes il ne suffit pas que les pics soient fins, il faut également qu'ils aient des temps de rétention différents.

#### La résolution

L'efficacité de la séparation s'exprime à l'aide de la résolution  $R$  dont la forme est :

$$R = 2 \frac{t_{r2} - t_{r1}}{w_1 + w_2}. \quad (2.9)$$

Cette expression signifie que deux composés sont séparés si leur différence de temps de rétention est supérieure à la somme de leur largeur à mi-hauteur. Dans ce cas  $R$  est supérieur à 1. En pratique, pour une séparation totale dans le cas de pics gaussiens, il faudrait une résolution supérieure à 1.5.

## 2.2 Système expérimental

### 2.2.1 Fabrication

Comme l'ensemble du système, le module d'électrophorèse capillaire est fabriqué en PDMS au laboratoire grâce aux techniques de microfabrication *douces*. Il est composé d'un circuit d'injection et d'un canal de séparation comme représenté sur la figure 2.2



FIG. 2.2 – Photographie du microsysteme. Les canaux fluidiques sont remplis d'un colorant vert. L'épaisseur typique des canaux est de 20 microns pour une largeur de 100 microns.

La largeur des canaux est de 100 microns. Ils peuvent être indifféremment de forme arrondie ou rectangulaire, l'épaisseur standard étant de 20 microns. Les accès pour les fluides sont percés à l'aide d'un poinçon de 4 mm de diamètre. Le volume des réservoirs ainsi créés est de l'ordre de 50 microlitres. La couche de PDMS est ensuite collée irréversiblement à un support en verre Pyrex à l'aide d'un nettoyage au plasma de 30 s (Sec. 2.2.1, p.24).

### 2.2.2 Le contrôle des tensions

Les potentiels électriques sont imposés dans chaque réservoir à l'aide d'électrodes de platine connectées à un boîtier électrique. Ce dernier possède 2 générateurs indépendants de 10 kV contrôlés par l'intermédiaire de deux cartes d'interfaçage National Instruments pilotées à l'aide du logiciel LabView. Chacune des quatre sorties peut être adressée soit vers un générateur de tension, soit vers la masse, soit laissée "flottante".

Pour calculer les champs électriques dans les différents canaux, on utilise le circuit électrique équivalent (Fig. 2.3). Les canaux ayant tous la même section, seul la longueur des différentes branches est nécessaire.

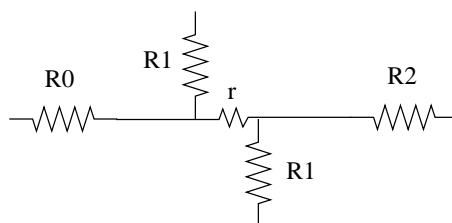


FIG. 2.3 – Circuit électrique équivalent au module de séparation. La résistance de chacune des branches est proportionnelle à sa longueur. Les dimensions des systèmes que nous avons utilisés sont telles que  $r \ll R_{(0,1,2)}$

### 2.2.3 Choix du traitement de surface

Pour limiter les interactions entre les protéines et le PDMS, nous avons choisi le protocole le plus simple : l'oxydation par nettoyage au plasma. La surface du PDMS est alors recouverte d'une couche de quelques nanomètres de silice qui possèdent des fonctions silanols assurant l'hydrophilie.

#### Conditionnement

Pour assurer une bonne reproductibilité des expériences, nous avons procédé systématiquement à un conditionnement à la soude  $100 \text{ mMol.L}^{-1}$  pendant 20 minutes au début de chaque série de mesures. Ce protocole est utilisé par de nombreux groupes travaillant avec des systèmes en verre ou en PDMS [134, 135, 127].

Ce conditionnement est effectué en remplissant tous les réservoirs avec de la soude puis en utilisant le générateur de haute tension pour imposer un flux électroosmotique en direction du canal de séparation (Fig. 2.4).

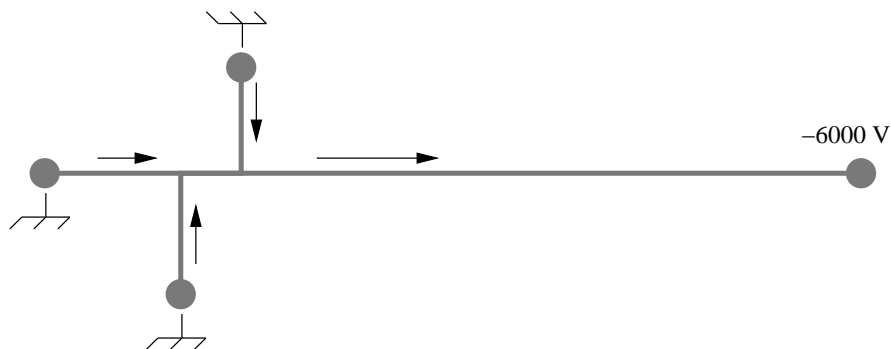


FIG. 2.4 – Potentiels utilisés lors du conditionnement du système.

La soude a deux actions complémentaires. Tout d'abord elle permet de nettoyer la surface du microsystème et de dissoudre les impuretés qui peuvent s'être déposées sur les parois. Ce nettoyage permet l'activation des fonctions silanols de la surface et donc la possibilité d'obtenir un flux électroosmotique à pH légèrement basique, ce qui correspond au pH requis pour le protocole biologique.



## 2.2.4 Choix du tampon

Le choix du tampon a été dicté par la nécessité d'être à un pH légèrement basique, et de limiter les interactions entre les protéines et le PDMS.

Le traitement de surface et le conditionnement à la soude présentés ci-dessus ne sont pas suffisants pour satisfaire cette dernière condition. L'utilisation de tensioactif pour séparer des protéines par électrophorèse capillaire a été utilisé auparavant dans des capillaires en silice dont la paroi interne était recouverte de PDMS [135]. Nous avons donc ajouté du sodium dodécyl sulfate (SDS) à 25 mMol.L<sup>-1</sup> à une solution de TrisHCl ou de bicarbonate d'ammonium à 25 mMol.L<sup>-1</sup>. Le pH de la solution est alors de 8.6.

## Digestion macroscopique en présence de SDS

Pour vérifier la possibilité de digérer des protéines en présence de tensioactif SDS, nous avons réalisé une digestion dans un tube Eppendorf. Le spectrogramme de masse des peptides issus de la digestion (Fig. 2.5) montre les pics caractéristiques de la lysozyme et de l'autodigestion de la trypsine. Contre toute attente, la présence de SDS ne gêne en rien la digestion enzymatique. L'ensemble des expériences a donc été réalisé avec ce tampon.

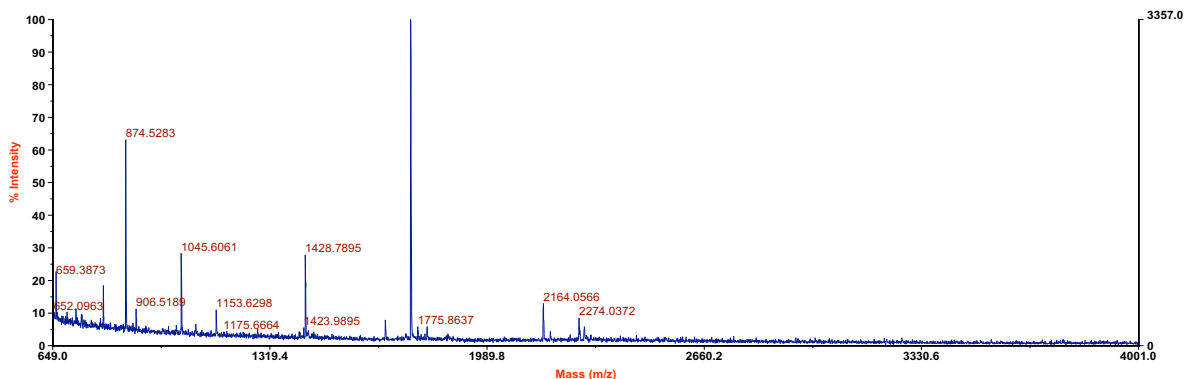


FIG. 2.5 – Spectrogramme de masse des peptides issus de la digestion de la lysozyme par la trypsine, en présence de SDS.

## 2.2.5 Marqueur fluorescent et protéines utilisés

### Fluorescéine

Avant d'utiliser le module de séparation avec des protéines, nous l'avons testé avec des solutions de fluorescéine de concentration de 5  $\mu\text{mol.L}^{-1}$  (Fig. 2.6). La mobilité électropho-

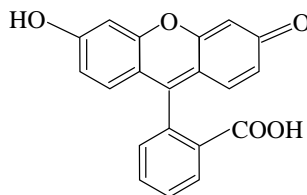


FIG. 2.6 – Formule chimique de la fluorescéine. La forme basique possède le meilleur rendement de fluorescence.

rétiq ue  $\mu_{\text{flu o}}$  et le coefficient de diffusion  $D_{\text{flu o}}$  de la fluorescéine sont, d'après [136] :

$$\mu_{\text{flu o}} = -3.3.10^{-4}\text{cm}^2.\text{V}^{-1}.\text{s}^{-1}, \quad (2.10)$$

$$D_{\text{flu o}} = 5.10^{-6}\text{cm}^2.\text{s}^{-1}. \quad (2.11)$$

La fluorescéine, comme son nom l'indique, étant très fluorescente, la visualisation par microscopie est aisée ce qui nous a permis de mettre en place la phase d'injection et de déterminer les caractéristiques électrocinétiques du module de séparation. Ces expériences préliminaires ont été réalisées en utilisant un tampon bicarbonate d'ammonium à 25 mMol.L<sup>-1</sup> (pH 8.6 ).

### Protéines

Nous avons utilisé principalement deux protéines :

- la BSA, bovine serum albumine (67 kDa), Sigma Aldrich,
- la lysozyme (14,4 kDa), Sigma-Aldrich.

La BSA est disponible commercialement avec un marquage par la fluorescéine-isothiocyanate (FITC). La lysozyme a été marqué au laboratoire par la FITC à l'aide d'un kit de marquage (Sigma-Aldrich).

#### 2.2.6 La phase d'injection

La phase d'injection permet de créer dans le canal de séparation le spot initial mentionné dans l'introduction. Plusieurs géométries existent permettant la formation d'un tel spot [101, 137, 138]. Toutes sont basées sur le même principe : une intersection entre le canal d'injection, qui amène l'échantillon, et le canal de séparation. Cette intersection peut être plus ou moins complexe dans le but d'assurer une bonne reproductibilité du volume injecté.

Nous avons choisi la géométrie la plus classique couramment dénommée "double T" (Fig. 2.7). Le volume d'injection est défini lors de la microfabrication par l'écartement entre les deux branches d'injection. Nous avons utilisé un écartement de 300 microns correspondant à un volume de 0.6 nL pour un canal de 20 microns d'épaisseur. Un exemple de la phase d'injection d'un plug de fluorescéine est donné sur la figure 2.7. La taille du spot est de 300 microns, sa vitesse de déplacement étant de l'ordre de 200  $\mu\text{m}.\text{s}^{-1}$ .

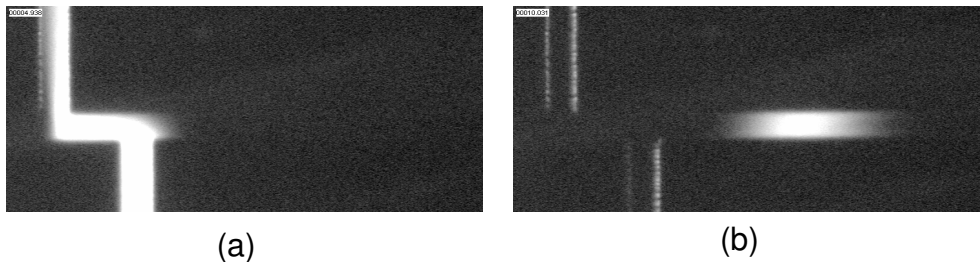


FIG. 2.7 – Exemple d'injection. (a) Remplissage du double T; (b) 4 secondes après le basculement des potentiels. La largeur des canaux est de 100 microns.

L'injection se déroule en deux étapes. Tout d'abord une différence de potentiel est appliquée pendant 40 s entre les réservoirs (1) et (2) pour remplir le canal d'injection des analytes (Fig. 2.8.a). Cette durée est nécessaire pour que tous les éléments, même les moins rapides,

se trouvent au niveau du double T. Pour limiter la diffusion des analytes dans le canal de séparation, on peut appliquer des potentiels à ses extrémités pour confiner le mélange au niveau du double T.

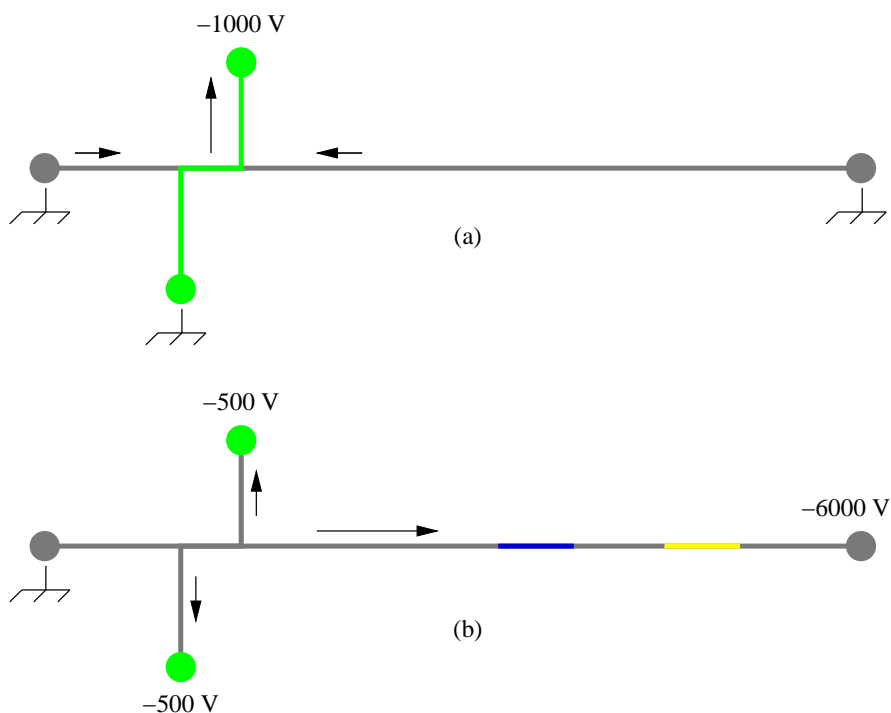


FIG. 2.8 – Protocole d’injection. La première étape (a) permet de définir le spot d’injection qui sera séparé pendant la seconde étape (b).

Les potentiels à chaque réservoir sont ensuite basculés pour réaliser la séparation (Fig. 2.8.b). Pour éviter des écoulements parasites provenant des canaux latéraux, des potentiels de “pinçements” peuvent être appliqués aux réservoirs d’injection. Ces potentiels sont déterminés à l’aide du circuit électrique équivalent (Fig.2.3) pour que le champ électrique entre la croix et les réservoirs soit nul ou légèrement négatif. Cela permet d’imposer un flux de faible amplitude depuis le double T en direction des réservoirs latéraux afin d’empêcher les “fuites” d’analytes en provenance des canaux d’injections. De telles fuites dégradent considérablement la qualité de la séparation en augmentant la taille du plug d’injection et modifiant le niveau de la ligne de base.

### 2.2.7 Le système de détection

Le laboratoire sur puce est placé sur un microscope inversé Leica (Fig. 2.9). Celui-ci peut être utilisé en transmission ou en réflexion en lumière visible, et en réflexion en éclairage par épifluorescence.

L’éclairage en lumière visible est utilisé pour vérifier la qualité de la microfabrication ainsi que le bon remplissage du circuit.

L’éclairage en épifluorescence, utilisé avec un objectif de faible grossissement (10x), permet d’observer le bon déroulement des différentes étapes (injection, séparation, digestion). Pour acquérir les électrophorogrammes nous avons associé un photomultiplicateur (Hamamatsu) et

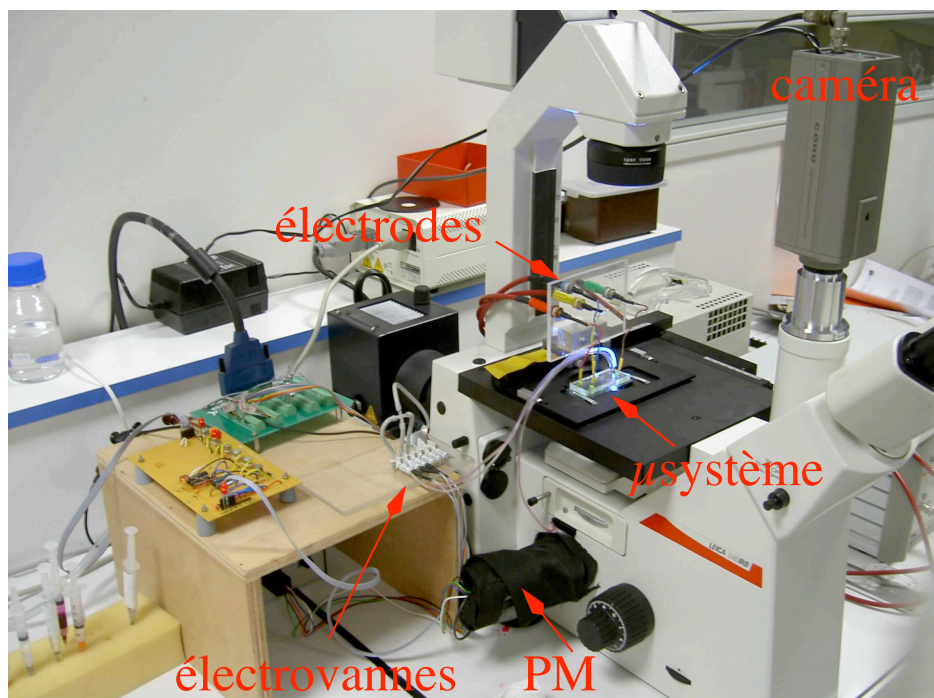


FIG. 2.9 – Photographie de l'ensemble du système expérimental. Un microsysteme, posé sur le microscope, est surmonté d'un support où sont fixées les électrodes. Sur le support en bois se trouvent les électrovannes et le circuit électronique de commande.

un objectif 63x, dont le champ d'observation est de 100x100 microns. Le signal est enregistré par l'intermédiaire d'une carte d'acquisition National Instrument.

Le contrôle des tensions et l'acquisition de l'électrophorégramme sont intégrés dans le même module labView dont une copie d'écran est présentée Fig. 2.10.

## 2.3 Résultats

### 2.3.1 Caractérisation du module de séparation

Pour valider le comportement fluide du module de séparation, nous avons effectué quelques mesures avec de la fluorescéine. Un électrophorégramme typique est présenté sur la figure suivante (Fig. 2.11). On observe la présence d'un pic de faible amplitude pour un temps de rétention plus grand. Il s'agit vraisemblablement d'une forme minoritaire de la fluorescéine présente dans la solution. Cette expérience préliminaire a donc permis de vérifier les capacités séparatives de notre système.

#### Linéarité de la vitesse électroosmotique

Pour vérifier la linéarité de la vitesse vis-à-vis du champ électrique, une série de mesures a été réalisée en faisant varier les potentiels appliqués à chaque réservoir. En utilisant le circuit électrique équivalent (Fig. 2.3), on peut calculer le champ électrique dans le canal de séparation.

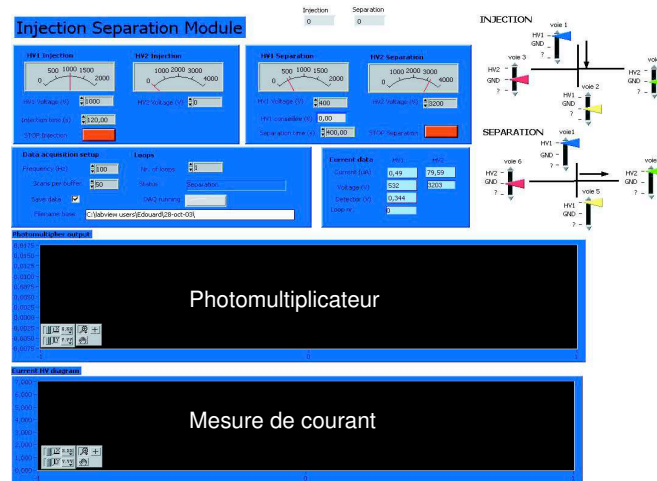


FIG. 2.10 – Copie d'écran du module d'interface LabView. Les éléments en haut à droite permettent d'adresser les électrodes. Le signal du photomultiplicateur ainsi que la mesure du courant débité par le générateur de tension sont enregistrés dans des fichiers.

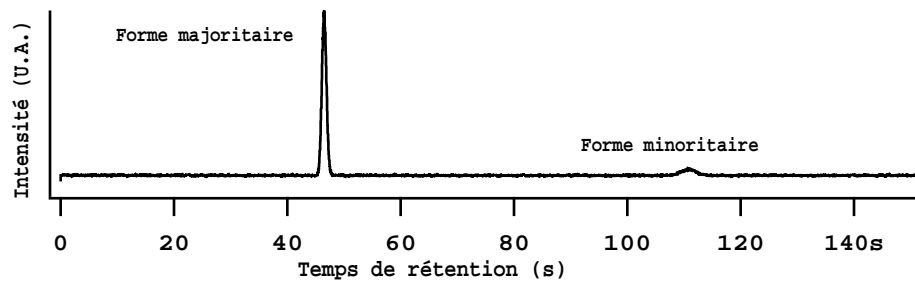


FIG. 2.11 – Électrophorégramme typique de la fluorescéine.

Si l'on trace les vitesses en fonction du champ électrique, on obtient la courbe représentée Fig. 2.12. On obtient comme attendu une relation linéaire entre la vitesse et le champ électrique.

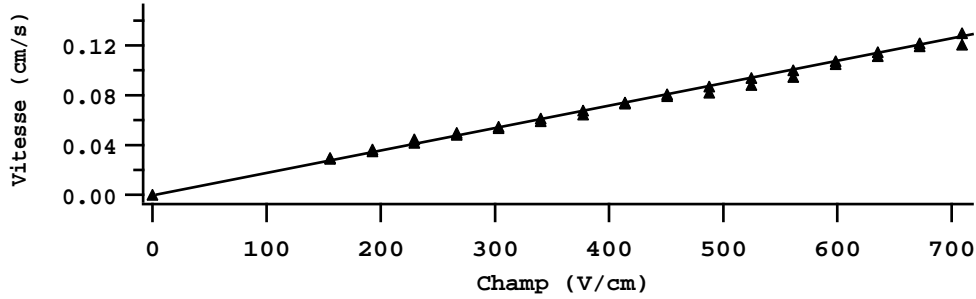


FIG. 2.12 – Vitesse du spot de fluorescéine en fonction du champ appliqué.

Les valeurs des mobilités que nous pouvons déduire de ces données sont représentées Fig. 2.13.

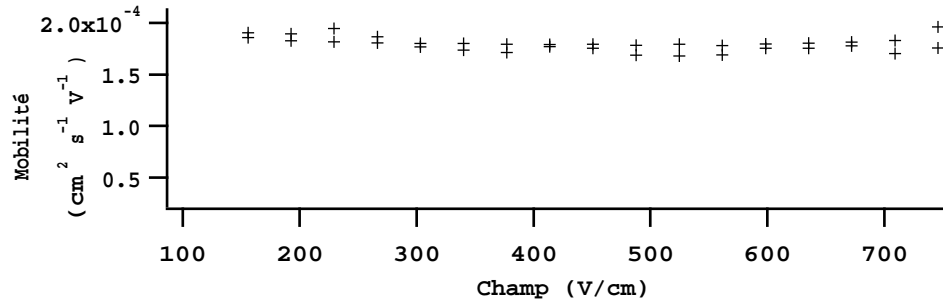


FIG. 2.13 – Mobilités effectives de la fluorescéine en fonction du champ électrique.

Ces mobilités sont la somme de la mobilité électrophorétique de la fluorescéine  $\mu_{ep}$  et de la mobilité électroosmotique  $\mu_{eo}$  du canal. À partir de la valeur de la mobilité électrophorétique de la fluorescéine [136], on peut déduire la mobilité électroosmotique du canal :

$$\mu_{eo} = \mu_{\text{mesuré}} - \mu_{\text{fluo}} \quad (2.12)$$

$$= 6,6 \cdot 10^{-4} \text{cm}^2 \cdot \text{V}^{-1} \cdot \text{s}^{-1}. \quad (2.13)$$

### Nombre de plateaux

À partir de la série de mesures précédentes, il est possible de calculer le nombre de plateaux théoriques en fonction du champ électrique (Fig. 2.14).

Le nombre de plateaux typique est 30 000, pour un canal de séparation de 6 cm. Ces résultats sont du même ordre de grandeur que ceux présentés dans la littérature pour des microsystèmes de séparations [13].

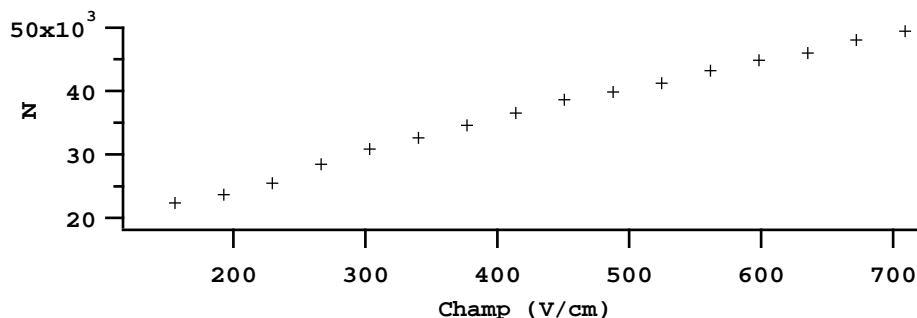


FIG. 2.14 – Nombre de plateaux théoriques en fonction du champ électrique pour la fluorescéine.

### 2.3.2 Séparation d'un mélange de protéines

La séparation du mélange de BSA-FITC, de lysozyme-FITC et de fluorescéine est de bonne qualité 2.15, bien que les trois constituants n'aient pu être totalement isolés. Il faut néanmoins

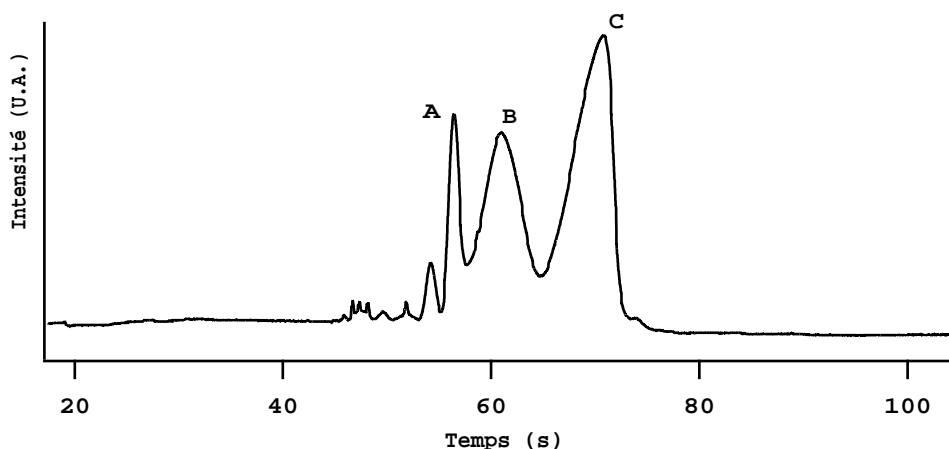


FIG. 2.15 – Séparation d'un mélange de BSA-FITC (C) de lysozyme-FITC (B) et de fluoresceine (A) dans un tampon Tris-HCl à 25 mMol/L et SDS à 25 mMol.L<sup>-1</sup>.

souligner que la séparation est effectuée en moins d'une minute ce qu'il faut comparer aux heures nécessaires à la séparation sur gel.

## 2.4 Paramètres influençant la séparation

### 2.4.1 Sources d'élargissement des pics

L'élargissement des pics est le phénomène le plus gênant lors de la séparation d'analytes. Si l'on écarte l'inévitable diffusion d'origine thermique, on peut citer, parmi les différentes sources d'élargissement, la dispersion de Taylor et l'adsorption sur les parois.

Des mesures préliminaires effectuées avec de la fluorescéine ont mis en évidence la présence possible de dispersion de Taylor. Celle-ci peut avoir deux origines.

Un déséquilibre de remplissage entre les différents réservoirs peut provoquer des flux de Poiseuille parasites [139]. Le profil de vitesse de l'écoulement n'est alors plus de type "bouchon",

et le "spot" injecté dans le canal de séparation se déforme. L'utilisation de canaux fins et longs, ainsi que le contrôle des volumes déposés dans chaque réservoir permet de supprimer cet effet.

La présence d'une mobilité électroosmotique différente entre les parois du canal peut également induire des gradients de vitesse. Ainsi lorsque le canal est refermé par un wafer en verre, la mobilité des parois évolue différemment ce qui peut engendrer de tels gradients et donc diminuer la résolution [134]. Le protocole incluant un conditionnement à la soude a permis de supprimer presque totalement cet effet.

Le phénomène d'adsorption est à l'origine de l'élargissement des pics de protéines. L'utilisation de SDS a fortement diminué ce phénomène sans pour autant le supprimer. La mise en œuvre de traitements de surfaces permanents sera sans doute indispensable si une résolution de séparation plus importante est nécessaire.

Il est intéressant de noter que la mobilité électroosmotique évolue légèrement avec le temps. Cette évolution étant faible à l'échelle des expériences qui dureraient généralement moins d'une heure, nous n'avons pas procédé à une étude exhaustive de cet effet, probablement due à l'adsorption d'ions de la solution [140].

### 2.4.2 Rôle du champ électrique

Comme attendu, l'augmentation du champ électrique accroît le nombre de plateaux du canal de séparation, ce qui améliore sa capacité séparative. Les mesures de vitesse en fonction du champ ont montré que le système restait dans le régime linéaire sur l'ensemble de la gamme disponible par le générateur de haute tension. Le champ maximal que nous avons utilisé était de 700 V/cm dans la branche de séparation, ce qui a permis d'obtenir un nombre de plateaux de 50 000 pour un temps de séparation de l'ordre de la minute.

### 2.4.3 Augmentation de la longueur du canal

Le module de séparation n'a pas pour but de séparer toutes les protéines présentes dans un échantillon mais uniquement de le fractionner pour réduire le nombre de protéines présentes pour chaque digestion. Néanmoins si une meilleure résolution devient nécessaire, un allongement du canal de séparation permettra d'obtenir la résolution recherchée. Dans ce cas, la présence de *tournants* sera inévitable. Ces tournants peuvent diminuer la résolution de la séparation en augmentant la dispersion hydrodynamique [120, 141]. Mais il a été montré numériquement que l'utilisation d'angles particuliers associés à des motifs de charges de surfaces pouvait supprimer cet effet [142]. Un rétrécissement du canal au niveau des tournants peut également diminuer la dispersion [107].

## 2.5 Sélection d'un spot de protéine et liaison avec le module de digestion

La liaison entre le module de séparation et le module de digestion est réalisée à l'aide d'un jeu de vannes in-situ. Le protocole suivi est décrit par la figure suivante (Fig. 2.16).

Les vannes transverses (1) et (2) sont ouvertes pendant la phase de séparation. Pour sélectionner les protéines de même mobilité du spot (B), les potentiels électriques sont mis à zéro lorsque le spot (B) passe entre les vannes (1) et (2) et ces dernières se ferment. La double vanne (3) s'ouvre alors pour connecter la portion du canal de séparation au module de



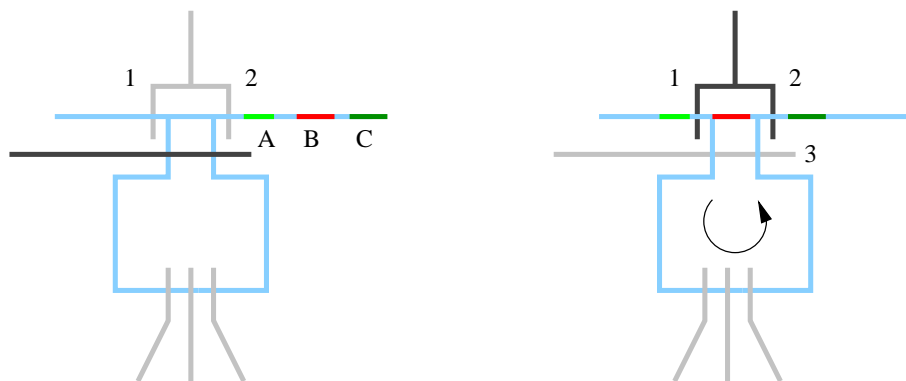


FIG. 2.16 – Étapes nécessaires à l'injection d'un spot de protéines dans le module de séparation.

digestion. Ce protocole permet de capturer un volume de 2 nL défini par l'écartement entre les vannes latérales.

Il est ainsi possible de prélever un type de protéine pour procéder à sa digestion enzymatique. Dans le cas d'une analyse séquentielle, il suffit de rincer le canal de séparation et le module de digestion avant de réitérer la protocole avec un temps de séparation différent. Le volume d'échantillon utilisé pour chaque analyse étant très petit devant le volume déposé dans le réservoir ( $2 \text{ nL} \ll 20 \mu\text{L}$ ), il est possible de faire un grand nombre d'analyses à la suite. Dans le cas où la protéine d'intérêt est rare, il suffit de procéder à  $N$  cycles de séparation/extraction dans les mêmes conditions, sans procéder à la phase de digestion. Le réacteur enzymatique contient alors  $N \times 2 \text{ nL}$  de protéine qui seront digérées en même temps, ce qui permet d'augmenter la sensibilité de l'analyse des peptides par spectrométrie de masse.

La figure 2.17 présente les trois étapes de l'extraction d'un spot de fluorescéine. Nous pouvons remarquer la déformation du spot de fluorescéine lorsque la pompe péristaltique est activée, due à des gradients de vitesse importants au sein du microcanal. Ces gradients de vitesse seront d'ailleurs le moteur du mélange au sein du module de digestion.

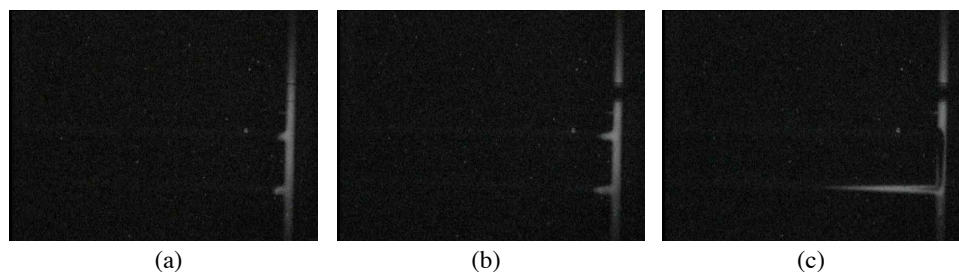


FIG. 2.17 – Visualisation de 3 étapes du piégeage d'un spot de fluorescéine. Le spot de fluorescéine est capturé par les vannes (1) et (2), avant d'être envoyé dans le module de digestion. On observe sur la troisième photographie (c) l'action des gradients de vitesse qui déforment considérablement le spot initial.

## Chapitre 3

# Le module de digestion enzymatique

### 3.1 Principe de fonctionnement : la “dispersion de Taylor”

Considérons un capillaire dans lequel a été injecté un “bouchon” fluorescent (Fig. 3.1  $t=0$ ). Un débit est brusquement imposé sous la forme d’un champ de vitesse parabolique, le bouchon va alors se déformer en suivant les lignes de courant (Fig. 3.1 advection).

Si la constante de diffusion du marqueur n’est pas nulle, ce dernier va diffuser dans toutes les directions. Lorsque les molécules auront eu le temps de parcourir toute l’épaisseur du capillaire par diffusion, on pourra considérer que le bouchon initial a diffusé latéralement suivant une loi de diffusion classique en  $t^{1/2}$ . Le temps  $t$  nécessaire pour atteindre ce régime est tel que  $t \gg a^2/D_{\text{molec}}$ . Le coefficient de diffusion effectif est alors donné par

$$D_{\text{Taylor}} = D_{\text{molec}} + \frac{V^2 a^2}{210 D_{\text{molec}}}, \quad (3.1)$$

où l’on considère un canal d’épaisseur  $a$ , une vitesse moyenne  $V$  et un coefficient de diffusion moléculaire  $D_{\text{molec}}$ .



FIG. 3.1 – Principe de la dispersion de Taylor.

### 3.2 Système expérimental

#### 3.2.1 Fabrication

Les canaux fluidiques du module de digestion sont fabriqués avec le même moule que le module de séparation, et possèdent donc les mêmes caractéristiques. Pour mémoire, les canaux sont arrondis, l’épaisseur maximale est de 25 microns, la largeur est de 100 microns.

L'utilisation de la technique de microfabrication à deux niveaux (Sec. 2.2.1, p.24) permet de créer des canaux d'actuation à la verticale des canaux fluidiques pour réaliser des vannes et une pompe péristaltique. Ces canaux d'actuation ont une épaisseur de 30 microns pour une largeur de 100 microns. La membrane séparant les deux niveaux a une épaisseur typique de 15 microns.

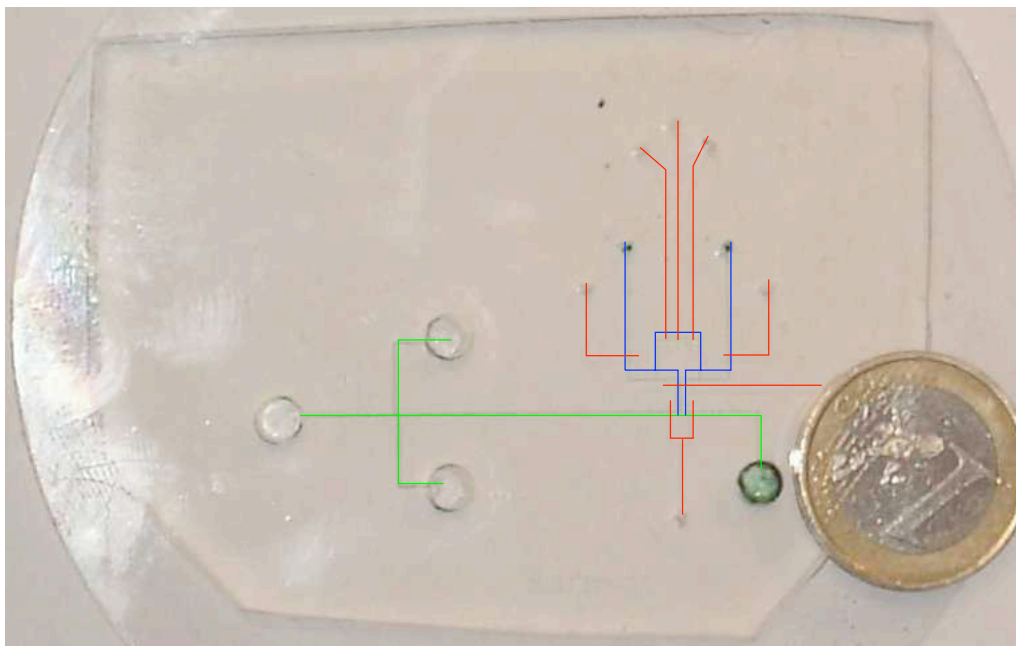


FIG. 3.2 – Photographie du microsysteme. Les canaux fluidiques du module de digestion sont surlignés bleu, le circuit d'actuation est surligné en rouge. L'épaisseur typique des canaux est de 25 microns pour une largeur de 100 microns.

### 3.2.2 Le système d'actuation

La pression dans les canaux d'actuation est imposée par l'intermédiaire de vannes électromagnétiques à deux voies de Lee Corporation. Ces vannes sont contrôlées par un circuit électronique piloté par une carte National Instrument et LabView.

Deux sources de pression sont utilisées, l'une pour les vannes dont la valeur typique est 1.5 bar, la deuxième pour la pompe péristaltique réglée sur 0.8 bar. L'utilisation de deux sources de pression distinctes permet d'assurer l'isolement hydrodynamique complet du module de digestion, y compris lorsque la pompe péristaltique est active, la pression de fermeture des vannes étant supérieure à la pression d'activation de la pompe.

### 3.2.3 Protocole de digestion

La solution de trypsine à 1 mg/mL utilisée est conservée dans une solution acide trifluoroacétique (TFA) pour bloquer l'activation de l'enzyme. En effet la trypsine étant elle-même une protéine, elle peut s'auto-digérer lorsqu'elle est dans une solution basique.

Lors de la préparation du microsysteme, le réacteur enzymatique est rempli avec la solution de trypsine diluée dix fois dans du bicarbonate d'ammonium. La solution obtenue est alors

basique ce qui permet l'activation de l'enzyme. Il est alors indispensable d'utiliser le système dans les dix minutes suivantes. Pour s'affranchir de cette contrainte une deuxième version du module de digestion est actuellement en développement qui permet la dilution in-situ de la solution de trypsine.

La solution de protéine est injectée dans le module de digestion par l'intermédiaire du canal de séparation en utilisant le protocole de capture présenté précédemment. La fréquence d'actuation utilisée est de 25 Hz, ce qui permet un mélange homogène après 60 secondes, suivi de 20 minutes d'incubation à 40°C, le système étant placé sur une plaque chauffante.

Le résultat de la digestion est ensuite collecté par l'intermédiaire d'un capillaire dont l'extrémité est positionnée manuellement au-dessus d'une cible MALDI. Une faible pression imposée à l'entrée du circuit permet de déposer de manière contrôlée une goutte de 0.5  $\mu\text{L}$ , un volume équivalent de matrice est ensuite déposé à l'aide d'une micropipette. Bien entendu le volume du réacteur est inférieur au volume du spot (90 nL < 500  $\mu\text{L}$ ), pour récupérer les peptides éventuellement adsorbés sur les parois, plusieurs microlitres sont utilisés pour rincer le microréacteur. Après évaporation du solvant, la cible est placée dans le spectromètre de masse. L'analyse est alors très rapide car il ne faut que quelques minutes pour obtenir le spectrogramme de masse.

### 3.2.4 Méthodes de caractérisation

#### Efficacité du mélange

Afin d'évaluer la qualité du mélange, un spot de fluorescéine est injecté dans le module de digestion en utilisant le système de piégeage introduit précédemment (p. 127). La pompe péristaltique est ensuite activée pour initier le mélange.

Le spot de fluorescéine, dont la longueur initiale est de 300 microns, tourne dans le réacteur enzymatique. Pour mesurer l'évolution de la longueur du spot on utilise le système d'acquisition des électrophorégrammes composé d'un objectif x63 et d'un photomultiplicateur.

Le mélange est réalisé lorsque la longueur du spot de fluorescéine est égale à la longueur du réacteur enzymatique, le signal de fluorescence est alors constant.

#### Spectrométrie de masse MALDI-TOF (Applied Biosystems Voyager STR)

Nous avons utilisé la technique MALDI-TOF pour caractériser les peptides issus de la digestion. Développé au début des années 80 par Koichi Tanaka, qui a obtenu le prix Nobel de chimie en 2002 pour ce travail, elle permet de vaporiser et d'ioniser des macromolécules biologiques sans les dégrader.

Pour cela il est nécessaire de faire co-cristalliser la solution de peptides au sein d'une matrice. Dans une enceinte sous vide, un pulse laser intense vaporise la matrice ce qui permet la désorption des peptides et leur ionisation. Les peptides sont alors accélérés par un champ électrique imposé entre la cible et une grille (Fig. 3.3). Un détecteur de particules situé à l'extrémité de l'enceinte permet de mesurer le "temps de vol" nécessaire aux peptides pour parcourir la distance séparant la cible du détecteur.

L'énergie d'un peptide est principalement sous forme d'énergie cinétique  $E = 1/2mV^2$  où  $m$  est la masse du peptide et  $V$  sa vitesse dans la chambre. Cette énergie, qui provient du champ électrique, est proportionnelle à la charge  $Z$  du peptide.

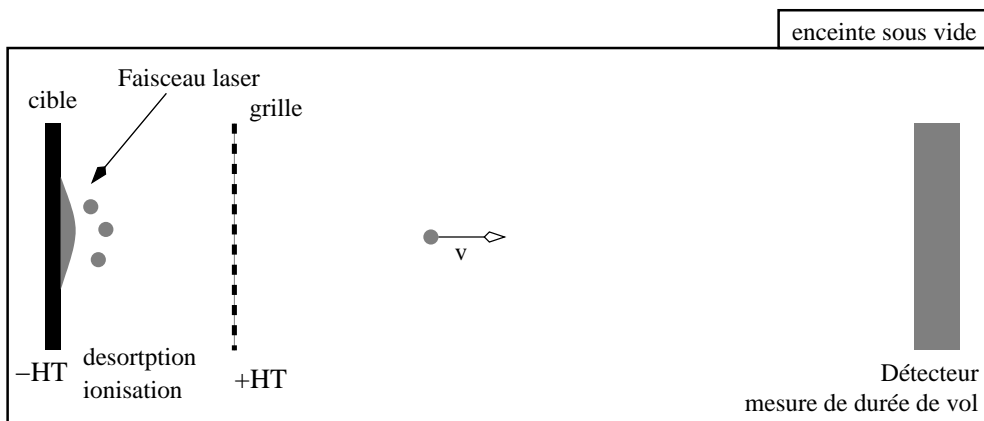


FIG. 3.3 – Schéma de principe d'un spectromètre de masse de type MALDI-TOF. Un pulse laser permet la désorption et l'ionisation des peptides qui sont accélérés par un champ électrique imposé entre la cible et la grille. Le temps de vol est déterminé à l'aide d'un détecteur de particules.

Le temps de vol d'un peptide est donc donné par :

$$t = L \sqrt{\frac{m}{2KE.Z}}, \quad (3.2)$$

où  $KE$  est l'énergie fournie au peptide par unité de charge et  $L$  la longueur de la chambre.

### 3.3 Résultats

#### 3.3.1 Étude de la dynamique du mélange

Pour caractériser le mélange, un plug de fluorescéine est amené par le canal de séparation. Le signal de fluorescence au niveau de l'intersection est alors enregistré au cours du temps par un photomultiplicateur (Fig. 3.4). La fréquence des oscillations permet de remonter à la

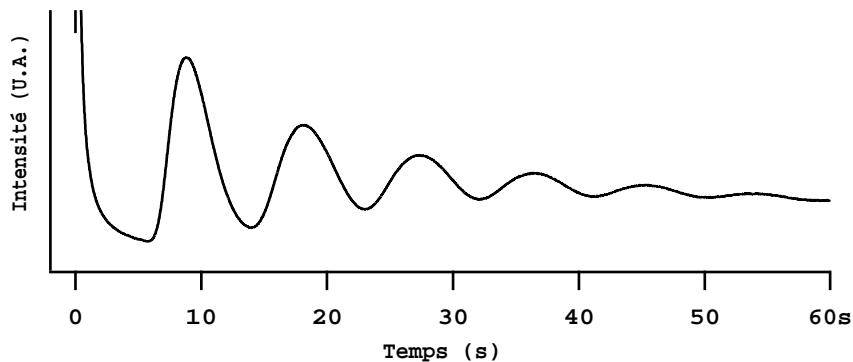


FIG. 3.4 – Signal de fluorescence pour une fréquence d'actuation de 30Hz.

vitesse moyenne dans le microcanal et donc au débit, l'élargissement des pics étant la signature de la diffusion.

On peut observer que les premiers pics ne sont pas symétriques, la diffusion suivant les directions transverses n'ayant pas eu le temps d'avoir lieu. Une estimation grossière de la constante de diffusion effective dans le microcanal peut être obtenue en évaluant le temps nécessaire à l'uniformisation du signal. Dans le cas du signal représenté ci-dessus (Fig. 3.4), le temps nécessaire au mélange est d'environ 60 secondes. À l'aide de l'équation suivante

$$l = \sqrt{2D_{\text{Effectif}}t}, \quad (3.3)$$

la constante de diffusion peut être calculée en utilisant la longueur totale du mélangeur  $l = 2,2$  cm :

$$D_{\text{Effectif}} \approx 0.02 \text{ cm}^2 \cdot \text{s}^{-1}. \quad (3.4)$$

Une approximation de ce coefficient peut également être obtenue par l'intermédiaire de l'équation (3.1), en estimant la vitesse moyenne dans le microcanal à l'aide de la fréquence du signal de fluorescence, qui traduit le mouvement périodique du spot de fluorescéine dans le réacteur (Fig. 3.4). Les dimensions latérales du canal étant de l'ordre de  $50 \mu\text{m}$  et la vitesse moyenne mesurée de  $0.24 \text{ cm/s}$ , le coefficient de diffusion effectif calculé est

$$D_{\text{Effectif}} \approx 0,006 \text{ cm}^2 \text{s}^{-1} \quad (3.5)$$

qui est comparable à l'estimation précédente. Dans les deux cas, l'estimation du coefficient de diffusion effectif est supérieure de 3 ordres de grandeur au coefficient de diffusion moléculaire de la fluorescéine. L'utilisation de ce mélangeur présente donc un avantage déterminant pour accélérer l'étape de digestion enzymatique.

### 3.3.2 Analyses de la digestion enzymatique

#### Spectre de digestion de la Lysozyme

Le spectrogramme des peptides issus de la digestion d'une solution de lysozyme dans le réacteur enzymatique est donné ci-dessous (Fig. 3.5).

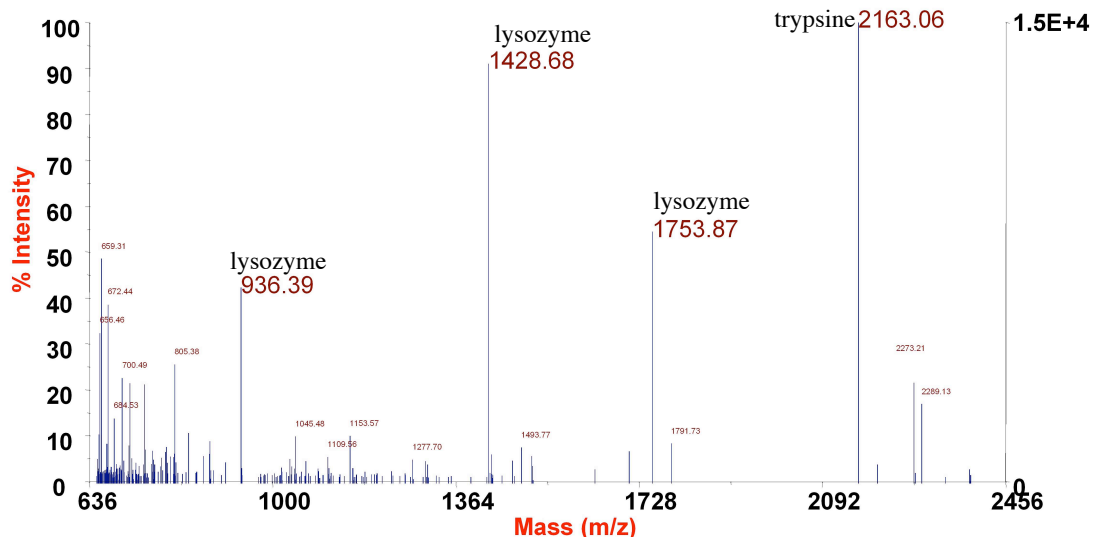


FIG. 3.5 – Résultat de la digestion enzymatique de la lysozyme.

Nous pouvons observer la présence de plusieurs pics caractéristiques de la lysozyme ainsi que ceux correspondant à l'auto-digestion de la trypsine. Le pourcentage de recouvrement est de 57% ce qui permet une identification fiable à 100% d'après le logiciel utilisé.

Le réacteur enzymatique de 80 nL permet donc de réaliser la digestion d'une protéine en une vingtaine de minutes et d'en récupérer les peptides, à partir d'un échantillon de 2 nL. Cette rapidité est à mettre aux crédits de la miniaturisation et de la technique de mélange, qui augmentent les probabilités de rencontre entre protéine et enzyme.

### Exemples de contamination

Nous avons été confronté à plusieurs types de contamination au cours de la mise au point du système. Ces contaminations étaient le plus souvent dues à des erreurs de manipulations. Ainsi la présence de kératine, une protéine de l'épiderme, a été détectée dans des microsystèmes stockés sans protection sur une paillasse. Paradoxalement, cela a permis de mettre en évidence l'efficacité du protocole de digestion et la grande sensibilité de l'analyse par spectrométrie de masse.

Une contamination plus subtile a également été mise en évidence dans les premiers circuits. En analysant par spectrométrie une solution d'eau désionisée qui a circulé dans le réacteur enzymatique pendant une vingtaine de minutes, nous avons obtenu le spectrogramme ci-dessous (Fig. 3.6).

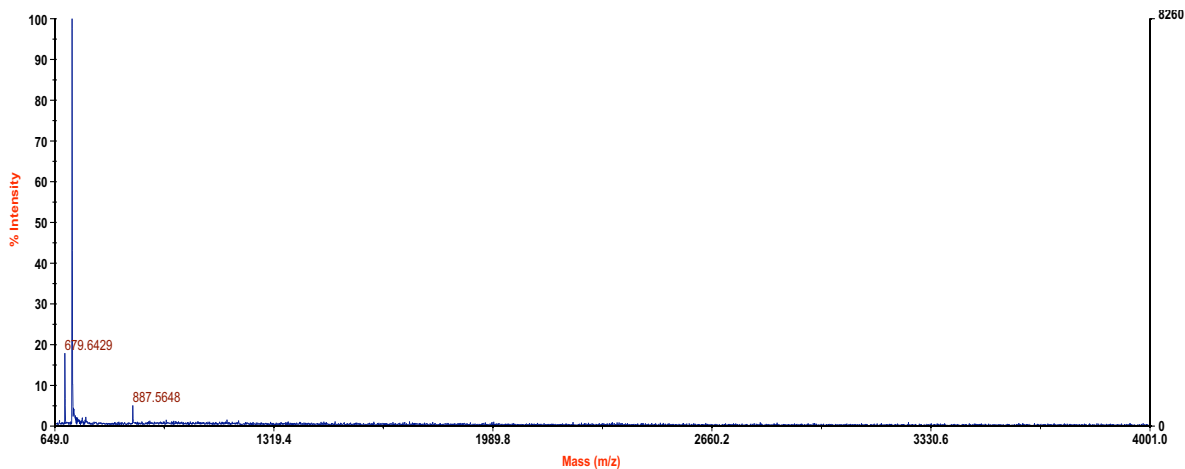


FIG. 3.6 – Spectrogramme de masse d'une solution ayant traversé le mélangeur. On observe la présence de pics parasites, vraisemblablement dus au réticulant du PDMS, qui écrasent l'ensemble du spectre.

Les résultats montrent la présence de deux pics caractéristiques qui écrasent tout le spectre. Cette contamination était davantage perceptible dans les cas où le système microfluidique a été collé en utilisant une différence de concentration du réticulant entre les deux couches de PDMS. Il est vraisemblable que l'excès de réticulant migre à travers le PDMS jusqu'à atteindre le circuit microfluidique. Dans la suite du projet, nous avons bien entendu réalisé tous les collages à l'aide d'un nettoyage au plasma. Il est également nécessaire de vérifier qu'aucune des solutions utilisées n'attaque les divers récipients et seringues où elles sont stockées. Dans le cas contraire on peut observer des pics parasites régulièrement espacés, typique d'une contamination par un polymère (Fig. 3.7).

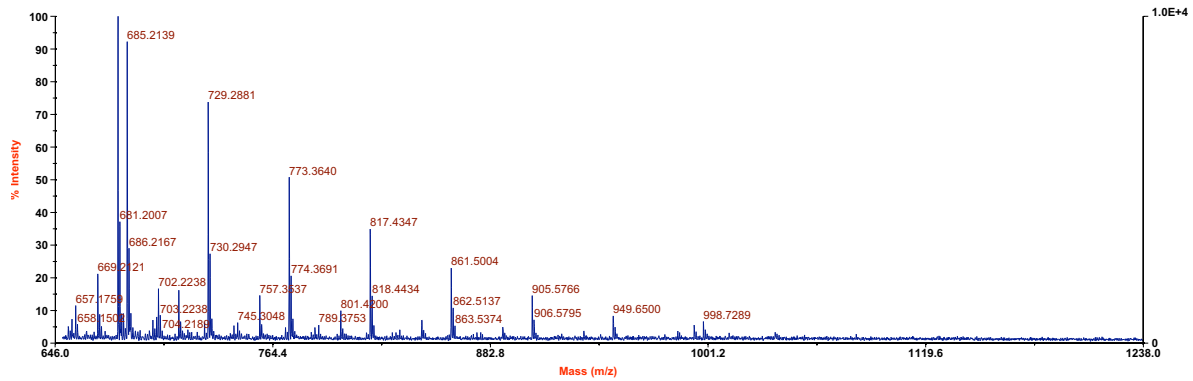


FIG. 3.7 – Spectrogramme typique d'une contamination par un polymère dissous.

### 3.4 Conclusion

Du point de vue fluïdique, le système a montré son efficacité et sa robustesse pour prélever 2 nL d'un échantillon dans le canal de séparation, le mélanger en quelques dizaines de secondes dans le réacteur puis de récupérer le résultat de la digestion.

Du point de vue biologique, le réacteur de enzymatique permet de réaliser des digestions rapidement, une vingtaine de minutes. La sensibilité du système d'analyse nécessite de prendre en compte plusieurs sources de contamination externes au microsystème.





## Chapitre 4

# Bilan et perspectives du projet protéomique

Nous avons montré au cours de ce projet la possibilité de réaliser plusieurs fonctions complémentaires au sein d'un même microsystème. L'originalité principale de ce travail réside dans l'utilisation conjointe de deux modes de contrôle des fluides, l'électroosmose et l'actuation pneumatique intégrée.

### 4.1 Le module de séparation

Le bon contrôle des écoulements au sein de l'étage de séparation a permis de séparer des mélanges de protéines et de fluorescéine de manière reproductible en quelques dizaines de secondes. Le gain de temps vis-à-vis d'une séparation électrophorétique sur gel est donc considérable. Bien entendu la qualité de séparation n'est pas encore comparable mais la simple augmentation de la longueur du canal de séparation permettra d'améliorer rapidement cet aspect. Il est important de noter que l'objectif de ce module n'est pas de séparer toutes les protéines du mélange mais de fractionner le mélange initial, pouvant contenir quelques centaines de protéines, en une dizaine d'échantillons contenant chacun quelques dizaines de protéines. Cette étape intermédiaire est indispensable pour identifier les peptides issus de la digestion aux protéines initiales d'une manière non ambiguë.

L'utilisation du PDMS, indispensable pour réaliser le système d'actuation, a nécessité d'étudier le problème de l'interaction entre les protéines et le PDMS. Plusieurs traitements de surface ont donc été testés pour limiter l'adsorption des protéines à la surface du PDMS. Les plus efficaces se sont révélés être l'utilisation des tensioactifs, principalement du SDS, et de l'acétonitrile. Bien que l'utilisation de tensioactif semblait préjudiciable à la digestion enzymatique, nous avons montré que la présence de SDS dans la solution n'était pas incompatible avec le protocole biologique.

### 4.2 Le module de digestion

L'efficacité du module de digestion a également été prouvée en utilisant des solutions concentrées en protéine (lysozyme). L'utilisation de ce système miniaturisé a permis un gain de temps important vis-à-vis d'une digestion "macroscopique", 20 minutes comparées à deux heures.

Pour atteindre une sensibilité plus importante, il sera nécessaire d'introduire dans le processus une étape de dénaturation. Cette étape correspond à la réduction des ponts di-sulfures qui maintiennent la structure tridimensionnelle des protéines. La rupture de ces ponts permet à l'enzyme de digestion un meilleur accès aux sites de clivages. Une dénaturation des protéines avant l'étape de séparation permettra également de discriminer les protéines en fonction uniquement de leur masse et non plus de leur forme tridimensionnelle.

Une autre voie d'amélioration du système peut être l'utilisation de trypsine non plus en solution mais fixée sur des billes. Les enzymes ne peuvent alors plus s'autodigérer ce qui permet d'augmenter le ratio enzyme/protéine sans prendre le risque d'obtenir un spectrogramme de masse dominé par la digestion de la trypsine.

### 4.3 Fonctionnement global du système

Le comportement des deux modules composant le système a été validé du point de vue fluide, ainsi que le système de transfert entre le canal de séparation et le réacteur enzymatique. Mais bien que des tests biologiques de séparation et de digestions aient été réalisés avec succès, la reproductibilité n'était pas encore suffisante lors de l'écriture de ce manuscrit pour pouvoir réaliser le protocole complet.

Ce projet n'est donc pas encore achevé du point de vue biologique mais nous avons prouvé la validité de cette approche ainsi que les avantages apportés par la microfluidique :

**intégration** : limitation des contaminations extérieures et possibilité de manipuler des petits volumes,

**gain de temps** : 30 minutes pour une analyse complète,

**petits volumes** : 2 nL d'échantillons consommé par analyse,

**automatisation** : analyse séquentielle et/ou concentration d'une espèce avant la digestion.

Les objectifs "microfluidiques" de notre projet protéomique ont donc été remplis. L'obstacle principal qu'il faudrait lever pour atteindre une plus grande efficacité biologique demeure l'adsorption des protéines et des peptides à la surface du PDMS. Des traitements de surfaces robustes seront alors nécessaires. Parmi les améliorations en cours de développement durant la rédaction de ce manuscrit, on peut mentionner l'intégration dans le microsystème de l'étape d'activation de l'enzyme ainsi que l'utilisation d'un canal de séparation plus long (10 cm).

# Bibliographie

- [1] N. Giordano and J-T. Cheng. Microfluid mechanics : progress and opportunities. *J. Phys. : Condens. Matter*, 13 :R271–R295, 2001.
- [2] Darwin R. Reyes, Dimitri Iossifidis, Pierre-Alain Auroux, and Andreas Manz. Micro total analysis systems. 1. introduction, theory, and technology. *Anal. Chem.*, 74 :2623, 2002.
- [3] W. A. Little. Microminature refrigeration. *Rev. Scien. Instr.*, 55(5) :661–680, 1984.
- [4] W. A. Little. Microminature refrigeration - small is better. *Physica B & C*, 110(1-3) :2001, 1982.
- [5] S. C. Terry, J. H. Jerman, and J. B. Angell. Gas-chromatographic air analyzer fabricated on silicon-wafer. In *IEEE Trans. Electron. Devices*, volume 26, pages 1880–1886, 1979.
- [6] Errol B. Arkilic, Kenneth S. Breuer, and Martin A. Schmidt. Mass flow and tangential momentum accomodation in silicon micromachined channels. *J. Fluid Mech.*, 437 :29–43, 2001.
- [7] Jean Maurer, Patrick Tabeling, Pierre Joseph, and Hervé Willaime. Second order slip laws for helium and nitrogen. *Phys. Fluids*, 15(9) :2613–2621, 2003.
- [8] Thomas T. Perkins, Douglas E. Smith, and Steven Chu. Single polymer dynamics in a elongational flow. *Science*, 276(5321) :2016–2021, 1997.
- [9] Andréas Manz, N. Graber, and H. M. Widmer. Miniaturized total chemical analysis systems : a novel concept for chemical sensing. *Sens. Actuators B*, 1 :244–248, 1990.
- [10] Pierre-Alain Auroux, Darwin R. Reyes, and Andreas Manz. Micro total analysis systems. 2. analytical standard operations and applications. *Anal. Chem.*, 2002.
- [11] Torsten Vilknér, Dirk Janasek, and Andreas Manz. Micro total analysis systems. recent developments. *Anal. Chem.*, 76(12) :3373–3386, 2004.
- [12] Elisabeth Verpoorte. Microfluidic chips for clinical and forensic analysis. *Electrophoresis*, 23 :677, 2002.
- [13] Niels Lion, Tatiana C. Rohner, Loïc Dayon, Isabelle L. Arnaud, Eugen Damoc, Nikolay Youhnovski, Zhi-Yong Wu, Christophe Roussel, Jacques Josserand, Henrik Jensen, Joël S. Rossier, Michael Przybylski, and Hubert H. Girault. Microfluidic systems in proteomics. *Electrophoresis*, 24(21) :3533–3562, 2003.
- [14] Samuel K. Sia and George M. Whitesides. Microfluidic devices fabricated in poly(dimethylsiloxane) for biological studies. *Electrophoresis*, 24(21) :3563, 2003.
- [15] Joël Rossier, Frédéric Reymond, and Philippe E. Michel. Polymer microfluidic chips for electrochemical and biochemical analyses. *Electrophoresis*, 23(6) :858–867, 2002.

- [16] N. Minc, C. Futterer, K. D. Dorfman, A. Bancaud, C. Gosse, C. Goubault, and J-L. Viovy. Quantitative microfluidic separation of dna in self-assembled magnetic matrixes. *Electrophoresis*, 76(13) :3770–3776, 2004.
- [17] P. S. Doyle, J. Bibette, A. Bancaud, and J.-L. Viovy. *Science*, 295 :2237, 2002.
- [18] Carl L. Hansen, Emmanuel Skordalakes, James M. Berger, and Stephen R. Quake. A robust and scalable microfluidic metering method that allows protein crystal growth by free interface diffusion. *PNAS*, 99(26) :16531, 2002.
- [19] A.Y. Fu, H.P. Chou, C. Spence, F.H. Arnold, and S.R. Quake. An integrated microfabricated cell sorter. *Anal. Chem.*, 2002.
- [20] Masaru Kato, Kumiko Sakai-Kato, HongMei Jin, Kazuyuki Kubota, Hiroshi Miyano, Toshimasa Toyo'oka, Maria T. Dulay, , and Richard N. Zare. Integration of on-line protein digestion, peptide separation, and protein identification using pepsin-coated photopolymerized sol-gel columns and capillary electrophoresis/mass spectrometry. *Anal. Chem.*, 76(7) :1896–1902, 2004.
- [21] Jun Gao, Jingdong Xu, Laurie E. Locascio, and Cheng S. Lee. Integrated microfluidic system enabling protein digestion, peptide separation, and protein identification. *Anal. Chem.*, 73 :2648, 2001.
- [22] Benjamin E. Slentz, Natalia A. Penner, Emilia Lugowska, and Fred Regnier. Nanoliter capillary electrochromatography columns based on collocated monolithic support structures molded in poly(dimethyl siloxane). *Electrophoresis*, 22(17) :3736, 2001.
- [23] E. T. Lagally, J. R. Sherer, R. G. Blazej, N. M. Toriello, B. A. Dieps, M. Ramchandani, G. F. Sensabaugh, L. W. Riley, and R. A. Mathies. Integrated portable genetic analysis microsystem for pathogen/infectious diseases detection. *Anal. Chem.*, 76(11) :3162–3170, 2004.
- [24] Robin Hui Liu, Jianing Yang, Ralf Lenigk, Justin Bonanno, and Piotr Grodzinski. Self-contained, fully integrated biochip for sample preparation, polymerase chain reaction amplification, and dna microarray detection. *Anal. Chem.*, 76(7) :1824–1831, 2004.
- [25] Wang-Chou Sung, Sheng-Yu Huang, Pao-Chi Liao, Gwo-Bin Lee, Chun-Wei Li, and Shu-Hui Chen. Poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic device with electrospray ionization-mass spectrometry interface for protein identification. *Electrophoresis*, 24(21) :3648–3654, 2003.
- [26] Daniel Figeys, Steven P. Gygi, Graham McKinnon, and Ruedi Aebersold. An integrated microfluidics-tandem mass spectrometry system for automated protein analysis. *Anal. Chem.*, 70 :3728, 1998.
- [27] Marc Madou. *Fundamentals of Microfabrication*. CRC Press, 1997.
- [28] A. Bhattacharyya, J.H. Masliyah, and J. Yang. Oscillating laminar electrokinetic flow in infinitely extended circular microchannels. *JCIS*, 261 :12, 2003.
- [29] J. Yang, A. Bhattacharyya, J.H. Masliyah, and D.Y. Kwok. Oscillating laminar electrokinetic flow in infinitely extended rectangular microchannels. *JCIS*, 261 :123, 2003.
- [30] Vincent Studer, Anne Pépin, Yong Chen, and Armand Ajdari. An integrated AC electrokinetic pump in a microfluidic loop for fast and tunable flow control. *to appear in The Analyst*, 2004.
- [31] C. L. Rice and R. Whitehead. Electrokinetic flow in a narrow cylindrical capillary. *Journal of Physical Chemistry*, 69(11) :4017, 1965.

- [32] D. Burgreen and F. R. Nakache. Electrokinetic flow in ultrafine capillary slits. *Journal of Physical Chemistry*, 68(5) :1084, 1964.
- [33] P. Mazur and J. Th. Overbeek. On electro-osmosis and streaming potentials in diaphragms. *Rec. Trav.*, 70 :83, 1951.
- [34] Edouard Brunet and Armand Ajdari. Generalized onsager relations for electrokinetic effects in anisotropic and heterogeneous geometries. *PRE*, 69(1) :016306, 2004.
- [35] Irina Gitlin, Abraham D. Stroock, George M. Whitesides, and Armand Ajdari. Pumping based on transverse electrokinetic effects. *Applied Physics Letters*, 83(7) :1486, 2003.
- [36] Timothy J. Johnson and Laurie E. Locascio. Characterization and optimization of slanted well design for microfluidic mixing under electroosmotic flow. *Lab on a Chip*, 2 :135, 2002.
- [37] Stephen D. Senturia. *Microsystem Design*. Kluwer Academic Publishers, 2001.
- [38] J. Lee, H. Moon, J. Fowler, T. Schoellhammer, and C.-J. Kim. Electrowetting and electrowetting-on-dielectric for microscale liquid handling. *Sens. Actuators A*, 95(2-3) :259–268, 2002.
- [39] Jason S. Kuo, Paolo Spicar-Mihalic, Indalesio Rodriguez, , and Daniel T. Chiu. Electrowetting-induced droplet movement in an immiscible medium. *Langmuir*, 19(2) :250–255, 2003.
- [40] J. C. Lötters and W. Olthuis, P. H. Veltink, and P. Bergveld. The mechanical properties of the rubber elastic polymer polydimethylsiloxane for sensor applications. *J. Micromech. Microeng.*, 7 :145–147, 1997.
- [41] D. C. Duffy, J. C McDonald, O. J. A. Schueller, and G. M. Whitesides. Rapid prototyping of microfluidic systems in poly(dimethylsiloxane). *Anal. Chem.*, 70(23) :4974, 1998.
- [42] Marc A. Unger, Hou-Pu Chou, Todd Thorsen, Axel Scherer, and Stephen R. Quake. Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography. *Science*, 288 :113, 2000.
- [43] V. Studer, A. Pepin, and Y. Chen. Nanoembossing of thermoplastic polymers for microfluidic applications. *Appl. Phys. Lett.*, 80(19) :3614–3616, 2002.
- [44] A. Bertsch, S. Jiguet, P. Bernhard, and P. Renaud. Microstereolithography : a review. *Mat. Res. Soc. Symp. Proc.*, 758 :3–15, 2003.
- [45] D. L. Pugmire, E. A. Waddel, R. Haasch, M. J. Tarlov, and Laurie E. Locascio. Surface characterization of laser-ablated polymers used for microfluidics. *Anal. Chem.*, 74(4) :871–878, 2002.
- [46] E. Delamarche, A. Bernard, H. Schmid, B. Michel, and H. Biebuyck. Patterned delivery of immunoglobulins to surfaces using microfluidic networks. *Science*, 276 :779, 1997.
- [47] Carlo S. Effenhauser, Gerard J. M. Bruin, Aran Paulus, and Markus Ehrat. Integrated capillary electrophoresis on flexible silicone microdevices : Analysis of dna restriction fragments and detection of single dna molecules on microchips. *AC*, 69(17) :3451, 1997.
- [48] J.M.K. Ng, I. Gitlin, A.D. Stroock, and G.M. Whitesides. Components for integrated poly(dimethylsiloxane) microfluidic systems. *Electrophoresis*, 23(20) :3461, 2002.
- [49] R. Julien and R. Botet. *Aggregation and Fractal Aggregates*. World Scientific, Singapore, 1987.

- [50] Jing Liu, E. M. Lawrence, A. Wu, M. L. Ivey, G. A. Flores, K. Javier, J. Bibette, and J. Richard. Field-induced structures in ferrofluid emulsions. *Phys. Rev. Lett.*, 74(14) :2828, 1995.
- [51] F. Le Berre, G. Chauveteau, and E. Pefferkorn. Shear induced aggregation/fragmentation of hydrated colloids. *J. Colloid Interface Sci.*, 199 :13–21, 1998.
- [52] Marco Vanni and Giancarlo Baldi. Coagulation efficiency of colloidal particles in shear flow. *Advances in Colloid and Interface Science*, 97 :151, 2002.
- [53] Edouard Brunet, Guillaume Degre, Fridolin Okkels, and Patrick Tabeling. Aggregation of paramagnetic particles in the presence of a hydrodynamic shear. *J. Colloid interface Sci.*, 282(1) :56–68, 2005.
- [54] Jean Baudry, Emmanuel Bertrand, Nicolas Lequeux, and Jerome Bibette. Bio-specific recognition and applications : from molecular to colloidal scales. *J. Phys : Condens. Matter*, 16(15) :R469–R480, 2004.
- [55] Armand Ajdari. Transverse electrokinetic and microfluidic effects in micropatterned channels : Lubrication analysis for slab geometries. *Physical Review E*, 65 :016301, 2002.
- [56] F. F. Reuss. Reuss. *Mém. Soc. Impériale Naturalistes de Moscou*, 2 :327, 1809.
- [57] G. Wiedmann. *Pogg. Ann.*, 87 :321, 1852.
- [58] G. Quincke. *Poggendorf's Ann.*, 113 :513, 1861.
- [59] H. von Helmholtz. *Wied. Ann.*, 7 :337, 1879.
- [60] U. Saxèn. *Wied. Ann.*, 47 :46, 1892.
- [61] H. Freundlich. *Kapillarchemie*. Akademischer Verlag, 1909.
- [62] G. Gouy. *J. Phys.*, 9(4) :457, 1910.
- [63] P. Debye and E. Hückel. *Physik. Z.*, 24(185) :305, 1923.
- [64] O. Stern. *Z. Elektrochem.*, 30 :508, 1924.
- [65] Lars Onsager. Reciprocal relations in irreversible processes. i. *Phys. Rev.*, 37 :405, 1931.
- [66] Lars Onsager. Reciprocal relations in irreversible processes. ii. *Phys. Rev.*, 38 :2265, 1931.
- [67] P. Leroy and A ; Revil. Atriplelayer model of the surface electrochemical properties of clay minerals. *JCIS*, 270 :371, 2004.
- [68] Mark R. Schure and Abraham M. Lenhoff. Consequences of walls adsorption in capillary electrophoresis : Theory and simulation. *Anal. Chem.*, 65 :3024, 1993.
- [69] Sandip Ghosal. Fluid mechanics of electroosmotic flow and its effect on band broadening in capillary electrophoresis. *Electrophoresis*, 25 :214, 2004.
- [70] Abraham D. Stroock, Marcus Weck, Daniel T. Chiu, Wilhelm T. S. Huck, Paul J. A. Kenis, Rustem F. Ismagilov, and George M. Whitesides. Patterning electro-osmotic flow with patterned surface charge. *PRL*, 84(15) :3314, 2000.
- [71] Yan Liu, Joseph C. Fanguy, Justin M. Bledsoe, and S. Henry. Dynamic coating using polyelectrolyte multilayers for chemical control of electroosmotic flow in capillary electrophoresis microchips. *Anal. Chem.*, 72(24) :5939, 2000.

- [72] Susan L. R. Barker, David Ross, Michael J. Tarlov, Michael Gaitan, and Laurie E. Locascio. Control of flow direction in microfluidic devices with polyelectrolyte multilayers. *Anal. Chem.*, 72 :5925, 2000.
- [73] R. J. Hunter. *Zeta potential in colloid science*. Academic Press, London, 1981.
- [74] J. Westall and H. Hohl. A comparison of electrostatic model for the oxide/solution interface. *ACIS*, 12 :265, 1980.
- [75] J. Lyklema. *Interfacial electrokinetics and electrophoresis*, volume 106, chapter 3, page 87. Marcel Dekker, Inc., New York, 2002.
- [76] Carsten Werner, Heinz Korber, Ralf Zimmermann, Stanislav Dukhin, and Hans-Jorg Jacobasch. Extended electrokinetic characterization of flat solid surfaces. *JCIS*, 208(1) :329, 1998.
- [77] Huan J. Keh and Yeu K. Wei. Diffusioosmosis and electroosmosis of electrolyte solutions in fibrous porous media. *JCIS*, 252(2) :354, 2002.
- [78] Marcel Minor, Ab J. van der Linde, and Johannes Lyklema. Streaming potentials and conductivities of latex plugs in indifferent electrolytes. *JCIS*, 203(1) :177, 1998.
- [79] Masanori Ueda Yuzuru Takamura, Yasuhiro Horiike, and Yoshinobu Baba. Molecular detection in a microfluidic device by streaming current measurements. *JAP J. Appl. Phys.*, 41 :1275, 2002.
- [80] David Erickson and Dongqing Li. Streaming potential and streaming current methods for characterizing heterogeneous solid surfaces. *JCIS*, 237 :283, 2001.
- [81] Norman L. Burns. Surface characterization through measurement of electroosmosis at flat plates. *JCIS*, 183 :249, 1996.
- [82] Robert A. Hayes. The electrokinetic behaviour of surfaces modified by particule adsorption. *Colloids and Surfaces A*, 146 :89, 199.
- [83] Gregor Ocirk, Mark Munroe, Thompson Tang, Richard Oleschuk, Ken Westra, and D. Jed Harrison. Electrokinetic control of fluid flow in native poly(dimethylsiloxane) capillary electrophoresis devices. *Electrophoresis*, 21 :107, 2000.
- [84] Louis Renaud, Pascal Kleimann, and Pierre Morin. Zeta potential determination by streaming current modelization and measurement in electrophoretic microfluidic systems. *Electrophoresis*, 25(1) :123, 2004.
- [85] P. Fievet, M. Sbai, A. Szymczyk, and A. Vidonne. Determining the  $\zeta$ -potential of plane membranes from tangential streaming potential measurements : effect of the membrane body conductance. *Journal of Membrane Science*, page to be published, 2003.
- [86] James W. Dufty and J .M. Rubi. Generalized onsager symmetry. *Physical Review A*, 36(1) :222, 1987.
- [87] Lars Onsager and S. Machlup. Fluctuations and irreversible processes. *Phys. Rev.*, 91 :1505, 1953.
- [88] S. Marino, M. Shapiro, and P. M. Adler. Coupled transports in heterogeneous media. *JCIS*, 243 :391, 2001.
- [89] S. Marino, M. Shapiro, and P. M. Adler. Electroosmotic phenomena in fractures. *JCIS*, 223 :292, 2000.
- [90] D. Coelho, M. Shapiro, J. F. Thovert, and P. M. Adler. Electroosmotic phenomena in porous media. *J. Colloid interface Sci.*, 181 :169, 1996.



- [91] R. J. Hunter. *Foundations of Colloid Science*. Oxford University Press, New York, 1991.
- [92] Max Teubner. The motion of charged colloidal particles in electric fields. *JCP*, 76(11) :5564, 1982.
- [93] Howard A. Stone. Propulsion of microorganisms by surface distortions. *PRL*, 77(19) :4102, 1996.
- [94] David Erickson and Dongqing Li. Influence of surface heterogeneity on electrokinetically driven microfluidic mixing. *Langmuir*, 18(5) :1883, 2002.
- [95] Timothy J. Johnson, David Ross, and Laurie E. Locascio. Rapid microfluidic mixing. *Anal. Chem.*, 74 :45, 2002.
- [96] Yandong Hu, Carsten Werner, and Dongqing Li. Electrokinetic transport through rough microchannels. *Anal. Chem.*, 75 :5747, 2003.
- [97] David Sinton and Dongqing Li. Electroosmotic velocity profiles in microchannels. *Colloids and Surfaces A*, 222 :273, 2003.
- [98] David Erickson and Dongqing Li. Microchannel flow with patchwise and periodic surface heterogeneity. *Langmuir*, 18 :8949, 2002.
- [99] Liqing Ren and Dongqing Li. Electroosmotic flow in heterogeneous microchannels. *JCIS*, 243 :255, 2001.
- [100] Elaine Biddiss, David Erickson, and Dongqing Li. Heterogeneous surface charge enhanced micromixing for electrokinetic flow. *Anal. Chem.*, 76(11) :3208–3213, 204.
- [101] Lung-Ming Fu, Ruey-Jen Yang, and Gwo-Bin Lee. Electrokinetic focusing injection methods on microfluidic devices. *Anal. Chem.*, 74 :1905, 2003.
- [102] Abraham D. Stroock, Stephan K. W. Dertinger, Armand Ajdari, Igor Mezic, Howard A. Stone, and George M. Whitesides. Chaotic mixer for microchannels. *Science*, 295 :647, 2002.
- [103] E. B. Cummings, S. K. Griffiths, R. H. Nilson, and P. H. Paul. Conditions for similitude between the fluid velocity and electric field in electroosmotic flow. *Anal. Chem.*, 72 :2526, 2000.
- [104] Abraham D. Stroock, Stephan K. Dertinger, George M. Whitesides, and Armand Ajdari. Patterning flows using grooved surfaces. *Anal. Chem.*, 74(20) :5306–5312, 2002.
- [105] Armand Ajdari. Electro-osmosis on inhomogeneously charged surfaces. *Phys. Rev. Lett.*, 75(4) :755–758, 1995.
- [106] Armand Ajdari. Generation of transverse fluid currents and forces by an electric field : Electro-osmosis on charge-modulated and undulated surfaces. *Phys. Rev. Lett.*, 53(5) :4996–5005, 1996.
- [107] Joshua I. Molho, Amy E. Herr, Bruce P. Mosier, Juan G. Santiago, Thomas W. Kenny, Reid A. Brennen, Garay B. Gordon, and Bijan Mohammadi. Optimization of turn geometries for microchip electrophoresis. *Anal. Chem.*, 73(16) :1350–1360, 2001.
- [108] C. D. Meinhart, S. T. Wereley, and J. G. Santiago. Piv measurements of a microchannel flow. *Experiments in Fluids*, 27 :414–419, 1999.
- [109] D. C. Tretheway and C. D. Meinhart. Apparent fluid slip at hydrophobic microchannel walls. *Phys. Fluids*, 14(3) :L9–L12, 2002.

- [110] Li. Electrokinetic transport through rough microchannels. *Anal. Chem.*, 75(21) :5747, 2003.
- [111] W.L.W. Hau, L.M. Lee, Y.K. Lee, and Y. Zohar. Electrokinetically-driven vortical motion for mixing of liquids in a microchannel. In M.Allen Northrup, Klavs F. Jensen, and D. Jed Harrison, editors, *Micro Total Analysis Systems 2003*, page 491, 2003.
- [112] Shizi Qian and Haim H. Bau. A chaotic electroosmotic stirrer. *Anal. Chem.*, 74 :3616, 2002.
- [113] Pierre J. Obeid, Theodore K. Christopoulos, and Penelope C. Ioannou. Rapid analysis of genetically modified organisms by in-house developed capillary electrophoresis chip and laser-induced fluorescence system. *Electrophoresis*, 25(6) :922–930, 2004.
- [114] Farid E. Ahmed. Detection of genetically modified organisms in foods. *Trends in Biotech.*, 20(5) :215–233, 2002.
- [115] Andrej Schevchenko, Matthias Wilm, Ole Vorm, and Matthias Mann. Mass spectrometric sequencing of proteins from silver-stained polyacrylamide gels. *Anal. Chem.*, 68(5) :850–858, 1996.
- [116] Can Wang, Richard Oleschuk, Fahima Ouchen, Jianjun Li, Pierre Thibault, and D. Jed Harrison. Integration of immobilized trypsin bead beds for protein digestion within a microfluidic chip incorporating capillary electrophoresis separations and an electrospray mass spectrometry interface. *Rapid Commun. Mass Spectrom.*, 14 :1377, 2000.
- [117] Lian Ji Jin, Jerome Ferrance, Joshua C. Sandersa, and James P. Landers. A microchip-based proteolytic digestion system driven by electroosmotic pumping. *Lab on a Chip*, 3(1) :111, 2003.
- [118] Y. K. Lee, J. Deval, P. Tabeling, and C. M. Ho. Chaotic mixing in electrokinetically and pressure driven micro flows. In *IEEE 14th International Conference on Micro Electro Mechanical System*, pages 483–486, Interlaken, Switzerland, 2001.
- [119] A. Dodge, M. C. Jullien, F. Okkels, and P. Tabeling. Mixing and filtering in a cross-channel intersection. In *MicroTAS*, Lake Tahoe, USA, 2003.
- [120] Girault. Mixing processes in a zigzag microchannel : Finite element simulations and optical study. *Anal. Chem.*, 74 :4279, 2002.
- [121] Jennifer Monahan, Andrew A. Gewirth, and Ralph G. Nuzzo. A method for filling complex polymeric microfluidic devices and arrays. *Anal. Chem.*, 73 :3193–3197, 2001.
- [122] Vincent Linder, Elisabeth Verpoorte, Nico F. de Rooij, Hans Sigrist, and Wolfgang Thormann. Application of surfaces biopassivated disposable poly(dimethylsiloxane)/glass chips to a heterogeneous competitive human serum immunoglobulin gimmunoassay with incorporated internal standard. *Electrophoresis*, 23 :740, 2002.
- [123] Honest Makamba, Jin Ho Kim, Kwansoep Lim, Nokyoung Park, and Jong Hoon Hahn. Surface modification of poly(dimethylsiloxane) microchannels. *Electrophoresis*, 24(21) :3607, 2003.
- [124] Manoj K. Chaudhury and George M. Whitesides. Direct measurement of interfacial interactions between semispherical lenses and flat sheets of poly( dimethylsiloxane) and their chemical derivatives. *Langmuir*, 7 :1013, 1991.
- [125] Kirill Efimenko, William E. Wallace, and Jan Genzer. Surface modification of sylgard-184 poly(dimethyl siloxane) networks by ultraviolet and ultraviolet/ozone treatment. *JCIS*, 254 :306, 2002.

- [126] Deqing Xiao, Hui Zhang, and Mary Wirth. Chemical modification of the surface of poly(dimethylsiloxane) by atom-transfer radical polymerization of acrylamide. *Langmuir*, 18(25) :9971 – 9976, 2002.
- [127] Xuequin Ren, Mark Bachman, Christopher Sims, G. P. Li, and Nancy Allbritton. Electroosmotic properties of microfluidic channels composed of poly(dimethylsiloxane). *Chromatography B*, 762(2) :117–125, 2001.
- [128] Alexander Papra, Andre Bernard, David Juncker, Niels B. Larsen, Bruno Michel, and Emmanuel Delamarche. Microfluidic networks made of poly(dimethylsiloxane), si, and au coated with polyethylene glycol for patterning proteins onto surfaces. *Langmuir*, 17 :4090, 2001.
- [129] Christian Donzel, Matthias Geissler, Andr y Bernard, Heiko Wolf, Bruno Michel, Jons Hilborn, and Emmanuel Delamarche. Hydrophilic poly(dimethylsiloxane) stamps for microcontact printing. *Advanced Materials*, 13(15) :1164, 2001.
- [130] Shuwen Hu, Xuequin Ren, Mark Bachman, Christopher E. Sims, G. P. Li, and Nancy Allbritton. Surface modification of poly(dimethylsiloxane) microfluidic devices by ultraviolet polymer grafting. *Anal. Chem.*, 74 :4117, 2002.
- [131] Shuwen Hu, Xueqin Ren, Mark Bachman, Christopher E. Sims, G. P. Li, and Nancy Allbritton. Cross-linked coatings for electrophoretic separations in poly(dimethylsiloxane) microchannels. *Electrophoresis*, 24(21) :3679, 2003.
- [132] Shuwen Hu, Xueqin Ren, Mark Bachman, Christopher E. Sims, G. P. Li, , and Nancy L. Allbritton. Surface-directed, graft polymerization within microfluidic channels. *Anal. Chem.*, 76(7) :1865–1870, 2004.
- [133] Young Shik Shin, Keunchang Cho, Sun Hee Lim, Seok Chung, Sung-Jin Park, Chanil Chung, Dong-Chul Han, and Jun Keun Chang. Pdms-based micro pcr chip with parylene coating. *J. Micromech. Microeng.*, 13(5) :768–774, 2003.
- [134] NA Lacher, NF de Rooij, E Verpoorte, and SM Lunte. Comparison of the performance characteristics of poly(dimethylsiloxane) and pyrex microchip electrophoresis devices for peptide separations. *Journal of Chromatography A*, 1004(1-2) :225, 2003.
- [135] M.Y. Badal, M. Wong, N. Chiem, H. Salimi-Moosavi, and D.J. Harrison. Protein separation and surfactant control of electroosmotic flow in poly(dimethylsiloxane)-coated capillaries and microchips. *Journal of Chromatography A*, 947(2) :277, 2002.
- [136] B.P. Mosier, J.I. Molho, and J.G. Santiago. Photobleached-fluorescence imaging of microflows. *Experiments in Fluids*, 33 :545, 2002.
- [137] Lung-Ming Fu, R.-J. Yang, G.-B. Lee, and H.-H. Liu. Electrokinetic injection techniques in microfluidic chips. *Anal. Chem.*, 74 :5084, 2002.
- [138] Chao-Xuan Zhang and Andreas Manz. Narrow sample channel injectors for capillary electrophoresis on microchips. *Anal. Chem.*, 73(11) :2656–2662, 2001.
- [139] H. John Crabtree, Eric C. S. Cheong, Daryle A. Tilroe, and Christopher J. Backhouse. Microchip injection and separation anomalies due to pressure effects. *Anal. Chem.*, 73(17) :4079–4086, 2001.
- [140] Andip Ghosal. Effect of analyte adsorption on the electroosmotic flow in microfluidic channels. *Journal of Analytical Chemistry*, 74 :771, 2002.

- [141] Bikram Baidya, Tamal Mukherjee, and James F. Hoburg. Dispersion modeling in microfluidic channels for system-level optimization. In *Nanotech 2002*, volume 1, pages 182–185, 2002.
- [142] Gregory J. Fiechner and Eric B. Cummings. Faceted design of channels for low-dispersion electrokinetic flows in microfluidic systems. *Anal. Chem.*, 75(18) :4747–4755, 2003.

## Résumé

Après deux chapitres introductifs, ce manuscrit est divisé en trois parties indépendantes. (I) Nous étudions l'influence du cisaillement sur l'agrégation de particules paramagnétiques soumises à un champ magnétique parallèle à l'écoulement. Nous montrons que les chaînes formées croissent linéairement suivant un modèle utilisant l'équation de Smoluchovsky. (II) Une étude théorique est menée afin d'étendre aux situations expérimentales rencontrées en microfluidique les relations décrivant les phénomènes électrocinétiques. Les symétries entre courant d'écoulement et électroosmose sont démontrées. L'approximation de couche de Debye fine est appliquée au courant d'écoulement puis utilisée pour décrire les structures des courants électriques et hydrodynamiques dans des géométries modèles. (III) Un système d'analyse de protéines est présenté, permettant l'identification d'un mélange de protéines. Il comporte un étage de séparation électrophorétique suivi d'une digestion enzymatique.

## Abstract

This manuscript is divided in two introductory chapters and three main parts : (I) The aggregation of paramagnetic particles in the presence of a hydrodynamic shear is studied experimentally. Chains formed growth linearly with time following a theoretical model based on Smoluchovsky equation. (II) Theoretical works extend electrokinetics relations in order to describe various situations proposed by microfluidics devices. Symetries between electroosmosis and streaming current is prooved. Thin Debye Layer approximation is extended to streaming current and applied to describe electrical and velocity field in typical geometries. (III) A "lab on a chip" is presented allowing identification of protein sample. The first level performs electrophoretic separation. The second digests selected proteins using an enzyme. Peptides obtained are then analyzed by mass spectrometry.