

Plate-forme microfluidique discrète et électromouillage

Yves Fouillet

CEA-Léti-MINATEC, Département des micro-technologies pour la biologie et la santé,
17 rue des Martyrs, 38054 Grenoble France
yves.fouillet@cea.fr

Résumé :

La commande de gouttes par électromouillage est comparée aux autres méthodes fluidiques discrètes pour l'élaboration des laboratoires sur puce (labopuce). L'intérêt de cette approche pour la miniaturisation et l'intégration de protocole dans un micro-composant est souligné. Fondée sur la base de cette technique, une plate-forme comprenant une puce et un instrument associé ont été développés. Les fonctions élémentaires de déplacement, de mélange, de stockage ou de distribution de gouttes sont mises en oeuvre et caractérisées d'un point de vue fonctionnel. Un modèle global simplifié est proposé pour le déplacement de gouttes. Pour accroître la compréhension des phénomènes observés, l'intérêt d'une modélisation complète de ceux-ci, fondée sur les équations locales de l'électrohydrodynamique (EHD), est discutée.

Abstract :

Electrowetting actuation of droplets is compared with other digital microfluidic methods for lab-on-a-chip development. The advantages of this approach to protocol miniaturisation and integration in a micro-component is highlighted. Based on this technique a platform comprising a chip and an associated instrument is developed. Basic operations such as droplet transport, storage, mixing and dispensing are implemented and efficiency is measured. A simplified global model is proposed for droplet motion. For a better understanding of observed phenomena the interest of a complete mode based on local electrohydrodynamic equations is discussed.

Mots-clefs :

Electromouillage, Electrohydrodynamique, labopuce

1 Microfluidique discrète

Un labopuce peut être décrit comme un micro-système d'analyse chimique ou biologique entièrement miniaturisé et intégré. Ce concept fut notamment introduit par (Manz et col. 1990) au début des années 90. Depuis, on observe une explosion d'études autour de cette thématique ; la mécanique s'y trouve pleinement impliquée notamment pour la mise en œuvre de méthodes de manipulation de liquides dans un microcomposant. Ces méthodes se sont progressivement constituées au fil du temps pour se confronter ou se compléter : les micropompes mécaniques dans les années 80, l'électrocinétique dans les années 90, et plus récemment la microfluidique en goutte en canal. Dans ce dernier cas, on parle de microfluidique discrète car chaque goutte constitue un volume réactionnel. Une autre variante pour discrétiser un volume de liquide est d'utiliser des canaux à parois déformables afin de confiner les réactions dans des chambres réactionnelles fermées. Cette méthode est particulièrement prometteuse quand chaque chambre peut être commandée indépendamment l'une de l'autre. Un exemple frappant est proposé par Thorsen et col. (2002), où une puce réalisée en matériau mou comporte des milliers de vannes pour contrôler de manière indépendante plus d'une centaine de chambres. La microfluidique en gouttes sur un support plan est l'approche que nous avons privilégiée pour gérer indépendamment des volumes réactionnels élémentaires de liquide. La possibilité de déplacer les gouttes en deux dimensions est évidemment un avantage considérable par rapport à toutes

les solutions en canal où les gouttes suivent une trajectoire linéaire, prédéfinie au moment de la conception des canaux. Parmi les méthodes de déplacement de goutte sur support plan, l'électromouillage sur isolant introduit par (Berge 1993) apparaît par ailleurs être une des rares - sinon la seule- méthode qui permet d'effectuer des transformations topologiques de gouttes correspondant à des opérations de division ou de distribution de gouttes.

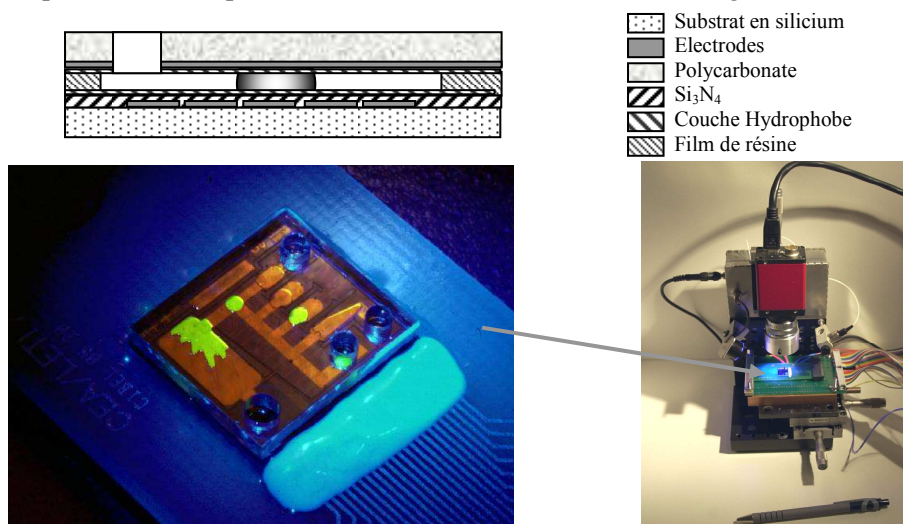


FIG. 1 - Photos de la plate-forme microfluidique

Considérons une goutte conductrice placée sur un matériau diélectrique hydrophobe et recouvrant une électrode. Une différence de potentiel est appliquée entre la goutte et l'électrode enterrée. En raison de la présence de l'isolant entre l'électrode et la goutte conductrice, est créé un système capacitif dont l'énergie est à prendre en compte dans le bilan mécanique de la goutte en mouillage partiel. Ainsi, l'application de la tension se traduit par une diminution de l'angle de mouillage apparent. En utilisant un pavage d'électrodes il est alors possible de localiser les zones où cet effet doit être appliqué. Une goutte à cheval sur deux électrodes dont l'une d'elle est actionnée tend à glisser vers cette dernière. Suivant la forme des électrodes, les gouttes peuvent être étirées, ou fortement déformées comme en témoigne la goutte en étoile sur la Figure 1. Des manipulations élémentaires sur les gouttes (couper, fusionner, distribuer...) peuvent être ainsi exécutées (Cho et col. 2003). L'actionnement étant localisé sous les gouttes, il devient possible d'agir indépendamment sur chaque volume fluide, possibilité dont sont dénués la plupart des systèmes hydrodynamiques en canal. L'interface entre la puce et le système de pilotage se résume à un problème de connectivité électrique bien plus standard qu'une connection pneumatique ou hydraulique. En mettant particulièrement en évidence ce potentiel d'intégration, nous avons développé une plate-forme microfluidique dont les principales caractéristiques sont ici présentées. Dans un deuxième temps, le phénomène d'électromouillage sera reconsidéré en abordant quelques aspects plus fondamentaux.

2 Réalisation et validation d'une plate-forme microfluidique

Des études antérieures ont confirmé l'actionnement par électromouillage de nombreux liquides physiologiques (Srinivasan et col. 2004). Par ailleurs, plusieurs protocoles chimiques (Dubois et col. 2006) ou biologiques (Wheeler et col. 2005) ont été validés. Notre objectif actuel concerne la stabilisation technologique en proposant une plate-forme suffisamment reproductible et conviviale pour véritablement engager des campagnes d'optimisation de protocoles. Les éléments de la plate-forme sont reportés en Figure 1. La fabrication de la puce est fondée sur les procédés collectifs des micro-technologies impliquant une succession d'étapes de dépôt-photolithographie-gravure. Les électrodes sont réalisées dans une couche d'or de 300

nm, puis recouvertes par une couche isolante en nitrure de silicium de 300 nm. Un film sec de résine de 100 μm est laminé puis gravé afin de compartimenter la puce en définissant des alvéoles de stockage ou en isolant des chemins d'électrodes. Les surfaces sont recouvertes d'une couche hydrophobe puis les puces sont collées et connectées électriquement sur un circuit imprimé de la dimension d'une lame de microscope. Un capot percé, métallisé et rendu hydrophobe est plaqué sur le film sec de résine. La cavité ainsi formé est entièrement remplie d'huile silicone. L'ensemble est alors aisément enfiché dans le dispositif (Figure 1b) Celui-ci intègre des éléments de contrôle de la température (capteur thermique et élément Peltier) ainsi qu'une caméra et deux lasers pour la mesure d'intensité de fluorescence des gouttes pour deux types de fluorophores (typiquement Pham et Vic). Les différents échantillons et réactifs sont déposés manuellement dans les puits par pipetage, puis, toutes les opérations de manipulation des gouttes, de contrôle thermique ainsi que la mesure optique des rendements de réaction sont synchronisés par un PC grâce à un logiciel développé en interne.

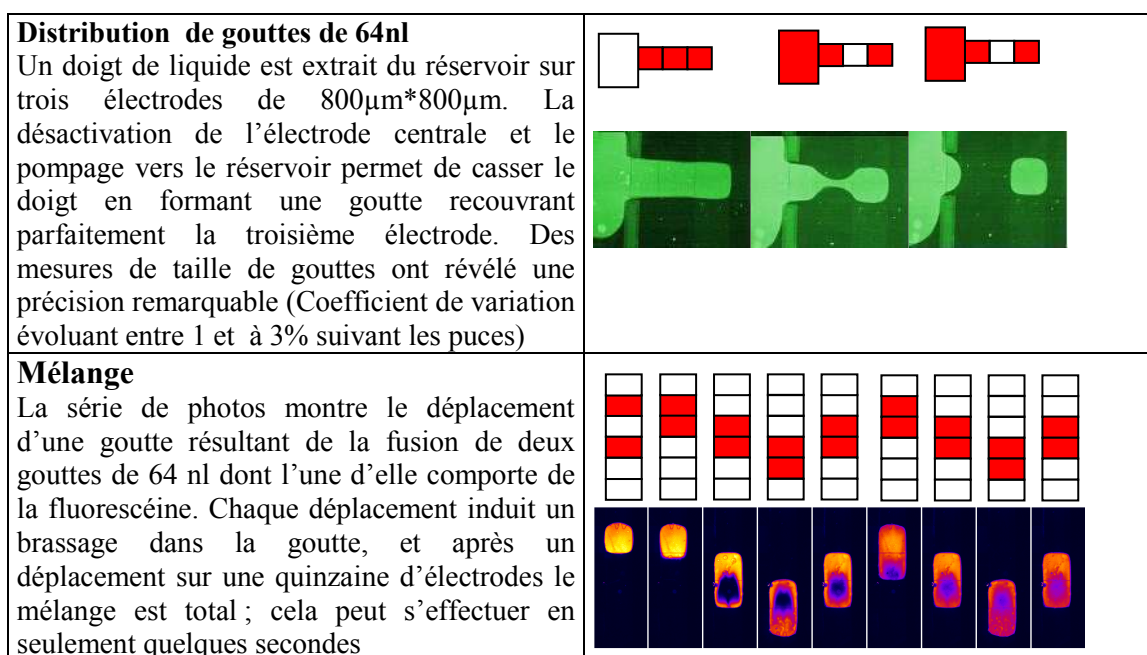


FIG. 2 - Deux exemples de fonctions fluidiques élémentaires. Un schéma accompagne les figures illustrant les séquences de commande des électrodes. Le mélange est visualisé en fausse couleur.

S'inscrivant dans la continuité des travaux de Cho et col. (2003), quelques principes et résultats de fonctions fluidiques élémentaires sont reportés dans le tableau I. Ces opérations sont vraisemblablement les éléments clés dans notre stratégie d'élaboration de labopuces. En effet, la distribution de gouttes, le mélange, la dilution, et le stockage, sont maintenant maîtrisés et intégrés dans une même puce. Les résultats de caractérisations sont prometteurs car compatibles avec les spécifications de nombreux protocoles (Fouillet et col. 2007). Le système est donc maintenant utilisé et validé notamment pour des applications biologiques. Par exemple, des amplifications par PCR (Polymerase Chain Reaction) ont été validées dans des gouttes de 64 nl comportant initialement seulement une cinquantaine de copies d'ADN provenant d'un génome humain (Fouillet et col. 2006). Ces résultats de caractérisation acquis, des efforts importants doivent être maintenant conduits sur des aspects plus fondamentaux. En particulier, si on sait mesurer précisément les temps de mélange, les écoulements observés dans les gouttes reportés dans la Figure 2 restent encore inexplicables. Notons qu'une approche numérique basée sur des hypothèses simplificatrices d'écoulements de Hele-Shaw a été récemment publiée (Walker &

Shapiro 2006), cependant cette approche ne semble pas être en mesure d'expliquer l'évolution du mélange observée sur nos composants.

3 Quelques aspects dynamiques de l'électromouillage.

L'évolution de l'angle de mouillage en fonction du potentiel appliqué a initialement été prévue par Berge à partir d'une méthode fondée sur la minimisation de l'énergie du système goutte/diélectrique/batterie. Depuis, plusieurs autres points de vue ont été proposés comme indiqué dans la revue de (Mugele & Baret 2005). Sous les hypothèses que **i)** les énergies interfaciales sont indépendantes de la tension appliquée, **ii)** le liquide est parfaitement conducteur et **iii)** la contribution des bords de la goutte à l'énergie électrostatique est négligeable, l'angle de contact θ_V de la goutte peut être relié à l'angle d'équilibre de Young θ_0 par l'équation suivante, dite de Berge ou de Lippman-Young :

$$\cos(\theta_V) - \cos(\theta_0) = \frac{cV^2}{2\gamma} \quad (1)$$

où γ, c, V représentent respectivement la tension superficielle entre la goutte et le milieu environnant, la capacitance de la couche diélectrique par unité de surface de la couche diélectrique située entre la goutte et l'électrode enterrée et la différence de potentiel appliquée. Il est intéressant de reconnaître au second membre le nombre sans dimension désigné par *nombre d'électromouillage* $\eta = cV^2/2\gamma$ qui compare les forces électrostatiques par unité de longueur de ligne triple à la tension de surface entre la goutte et le milieu ambiant.

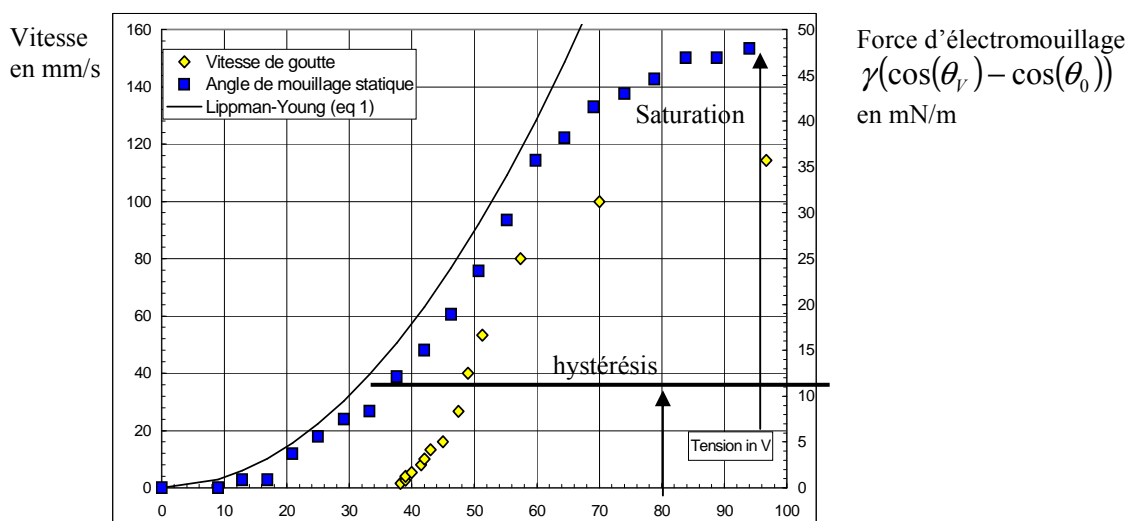


FIG. 3 - Comparaison entre l'électromouillage statique et dynamique pour une goutte d'eau.

Afin d'analyser les limitations en vitesse du déplacement des gouttes sur des lignes d'électrodes, nous avons développé un banc d'expérimentation qui permet de visualiser par stroboscopie des profils de gouttes pendant des déplacements stationnaires (Bavière & Fouillet 2006). Contrairement à la situation du paragraphe précédent les puces n'ont pas de couvercle et le milieu ambiant est de l'air. Les gouttes d'eau prennent une forme de calotte sphérique et elles sont polarisées électriquement par un microfil tendu au dessus de la puce et relié à la masse. Pour des très faibles tensions V la force électrique n'arrive pas à vaincre les forces capillaires associées à l'hystérésis de mouillage-démouillage. Il est nécessaire d'appliquer une tension V

supérieur à 30 volts sur les électrodes pour observer le déplacement de la goutte. D'après la Figure 2, la force d'électromouillage en jeu est de l'ordre de 10mN/m en accord avec une forces d'hystérésis de la forme : $\gamma \Delta \cos(\theta)$ ou $\Delta \cos(\theta)$ désigne la différence entre les angles statiques d'avancée (108°) et de reculée (100°), et γ la tension de surface eau-air (72mN/m).

Les variations d'angles statiques sont, jusqu'à 60 V, en bon accord avec les prévisions théoriques de la loi de Lippman-Young. Au-delà débute le phénomène de saturation statique qui limite la force d'électromouillage à environ 50 mN/m. Si ce phénomène n'a pas reçu d'explication définitive dans la littérature, il provient vraisemblablement des champs électriques intenses prenant naissance par effet de pointe aux abords de la ligne triple. Ceux-ci peuvent engendrer des fuites électriques dans l'air et/ou dans le diélectrique limitant ainsi le champ électrique vu par la goutte (Mugele & Baret 2005). D'une manière très analogue, l'évolution de la vitesse s'infléchit pour les valeurs élevées de tension de polarisation. La même constatation a pu être faite pour des gouttes de viscosités différentes. Ceci semble indiquer que la vitesse de déplacement d'une goutte par électromouillage est directement limitée par les phénomènes de saturation dynamique. Dans notre cas, les saturations statique et dynamique se déclenchent à des tensions très proches, contrairement à ce que suggèrent d'autres études effectuées dans des configurations expérimentales différentes (Wang & Jones 2005).

Dans le cas d'un déplacement permanent et en négligeant la traînée des gouttes dans l'air, le bilan de force se réduit d'une part aux forces de capillarité incluant l'électromouillage et les effets d'hystérésis, et d'autre part aux forces de frottement visqueux exercée par la paroi. Avec l'hypothèse d'un écoulement de lubrification, la force de frottement est proportionnelle à la vitesse de la goutte multiplié par sa viscosité μ et corrigée par un facteur $f_{(\theta)}$ fonction de la géométrie de la goutte (Brochard 1989). Le bilan s'écrit alors

$$Ca \approx f_{(\theta)}(\eta - \Delta \cos \theta) \quad (2)$$

où $Ca = \mu U / \gamma$ est le nombre capillaire qui compare les forces visqueuses aux forces capillaires. Le bilan de force résultant qui est calqué sur celui d'un solide indéformable est discutable, mais il a l'avantage de conduire à une adimensionalisation des forces en jeu.

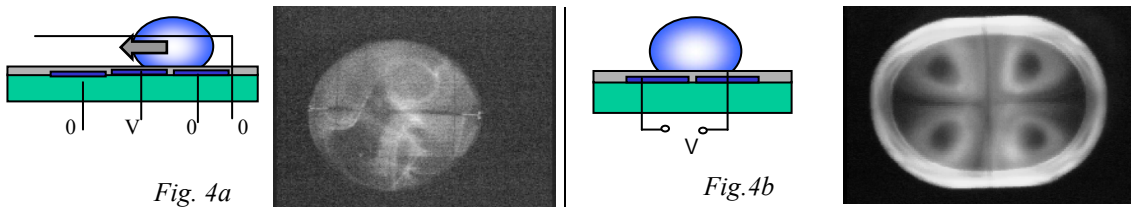


FIG.4a - Exemple d'écoulement caractérisé par des tourbillons chaotiques pendant le déplacement d'une goutte. FIG.4b - Visualisation de quatre tourbillons stationnaires dans une goutte immobile, à cheval sur deux électrodes (les photos sont vues de dessus).

Cette relation se vérifie expérimentalement plus ou moins bien notamment pour des gouttes visqueuses ($\mu=80\text{mPa.s}$). Pour des gouttes d'eau ($\mu=1\text{mPa.s}$) des effets secondaires comme des mouvements de convection se manifestent. La Figure 4a donne un exemple d'une goutte vue de dessus avec des traceurs fluorescents pendant son déplacement. Des tourbillons instationnaires témoignent d'intenses brassages internes dans la goutte, difficiles à traduire à travers l'expression de la force de frottement. Le bilan proposé par l'équation (2) est alors discutable. L'origine de ces écoulements internes n'est pas trivial. Il apparaît nécessaire d'examiner l'impact de la composante tangentielle du champ électrostatique aux interfaces qui pourrait agir sur les charges superficielles qui y sont fixées ; ces charges résultent précisément du saut interfacial de la composante normale du vecteur déplacement. Ainsi (Taylor 1966) a

montré que des cellules de convection pouvaient apparaître dans une goutte placée sous un champ électrostatique uniforme. En plaçant une goutte à cheval sur deux électrodes de potentiels différents, nous avons mis en évidence l'apparition de deux paires de tourbillons tournant en sens opposé (Figure 4b) qui rappellent fortement la configuration d'écoulement explorée par Taylor. Suivant ce point de vue, la surface de la goutte n'est pas une équipotentielle et le champ électrostatique tangent à la surface de la goutte induit une force de Coulomb sur les charges superficielles qui, se déplaçant, induisent de proche en proche grâce à la viscosité, des mouvements en masse dans la goutte. Apparaissent clairement les limites des approches globales des équations (1) ou (2) et l'utilisation des équations locales de l'EHD devient nécessaire dès lors que l'on souhaite modéliser le déplacement de gouttes et surtout modéliser les écoulements internes aux gouttes (Fouillet & Achard 2004).

7 Conclusion

La microfluidique discrète fondée sur l'électromouillage sur isolant est une méthode prometteuse notamment vis à vis du difficile problème d'intégration de protocoles complexes dans des labopuces. La plate-forme composée de puces insérées dans un automate compact que nous avons réalisée est suffisamment robuste pour être actuellement validé par nos collègues biologistes. Des efforts de développement technologique restent à conduire pour optimiser le bicouche diélectrique et hydrophobe qui constitue l'élément clef pour la mise en œuvre de l'électromouillage sur isolant. Bien que les fonctions fluidiques soient actuellement maîtrisées et caractérisées, des études fondamentales ont été initiées afin de mieux comprendre l'ensemble des résultats et de permettre une optimisation des dispositifs. Le travail est délicat puisque les phénomènes en jeu présentent souvent des aspects mécaniques et électriques couplés, particulièrement lorsqu'ils agissent au voisinage de la ligne triple qui demeure une zone clef, difficile à modéliser.

References

- Bavière R, Fouillet Y. 2006. *Dynamics of droplet transport induced by electrowetting actuation*. Presented at SHF-Microfluidics
- Berge B. 1993. Electrocapillarity and Wetting of Insulator Films by Water. *Comptes Rendus De L Academie Des Sciences Serie Ii* 317: 157-63
- Brochard F. 1989. Motions of Droplets on Solid-Surfaces Induced by Chemical or Thermal-Gradients. *Langmuir* 5: 432-8
- Cho SK, Moon HJ, Kim CJ. 2003. Creating, transporting, cutting, and merging liquid droplets by electrowetting-based actuation for digital microfluidic circuits. *Journal of Microelectromechanical Systems* 12: 70-80
- Dubois P, Marchand G, Fouillet Y, Berthier J, Douki T, et al. 2006. Ionic liquid droplet as e-microreactor. *Analytical Chemistry* 78: 4909-17
- Fouillet Y, Achard JL. 2004. Microfluidique discrète et biotechnologie. *C.R. Physique* 5
- Fouillet Y, Jary D, Brachet AG, Berthier J, Blervaque R, et al. 2006. *Ewod digital microfluidics for lab on a chip*. Presented at ASME ICNMM2006, Limerick, Ireland
- Fouillet Y, Jary D, Chabrol C, Claustre P, Peponnet C. 2007. Digital microfluidic design and optimization of classic and new fluidic functions for lab on a chip systems. *Microfluidics and Nanofluidics*
- Manz A, Graber N, Widmer HM. 1990. Miniaturized Total Chemical-Analysis Systems - a Novel Concept for Chemical Sensing. *Sensors and Actuators B-Chemical* 1: 244-8
- Mugele F, Baret JC. 2005. Electrowetting: From basics to applications. *Journal of Physics-Condensed Matter* 17: R705-R74
- Srinivasan V, Pamula VK, Fair RB. 2004. Droplet-based microfluidic lab-on-a-chip for glucose detection. *Analytica Chimica Acta* 507: 145-50
- Taylor G. 1966. Studies in Electrohydrodynamics .I. Circulation Produced in a Drop by an Electric Field. *Proceedings of the Royal Society of London Series a-Mathematical and Physical Sciences* 291: 159-&
- Walker SW, Shapiro B. 2006. Modeling the fluid dynamics of electrowetting on dielectric (EWOD). *Microelectromechanical Systems, Journal of* 15: 986-1000
- Wang KL, Jones TB. 2005. Electrowetting dynamics of microfluidic actuation. *Langmuir* 21: 4211-7
- Wheeler AR, Moon H, Bird CA, Loo RRO, Kim CJ, et al. 2005. Digital microfluidics with in-line sample purification for proteomics analyses with MALDI-MS. *Analytical Chemistry* 77: 534-40