

## THÈSE

Pour obtenir le grade de

## DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ DE GRENOBLE

Spécialité : **Physique pour les Sciences du Vivant**

Arrêté ministériel : 7 août 2006

Présentée par **Kocelela Aïzel**

Thèse dirigée par **Yves/Fouillet**

préparée au sein du **Département des microTechnologies pour la Biologie et la Santé (DTBS) au CEA Grenoble / Leti / Minatec**

dans l'**École Doctorale de Physique de Grenoble**

# Développements de systèmes micro-nanofluidiques appliqués à la filtration et la préconcentration

Thèse soutenue publiquement le « **9 Décembre 2013** »,  
devant le jury composé de :

**Mme Anne Marie Gue**

Directeur de recherche de 1ère classe au LAAS de Toulouse (Rapporteur)

**Mr Pascal Kleimann**

Maître de Conférences à l'Université Lyon 1 (Rapporteur)

**Mme Myriam Taverna**

Professeur chercheur CNRS à l'Institut Galien Paris Sud (Membre)

**Mr Laurent Malaquin**

Chargé de recherche 1ère classe CNRS à l'Institut Curie de Paris (Membre)

**Mr Laurent Davoust**

Professeur chercheur chez Grenoble INP (Président)

**Mr Yves Fouillet**

Ingénieur chercheur au CEA Leti de Grenoble (Directeur de Thèse)





# Remerciements

Dans cette partie, je tiens à remercier toutes les personnes qui ont participé de près ou de loin aux différents aspects pluridisciplinaires dont a fait l'objet ce travail de thèse.

Tout d'abord, je tiens à remercier mon directeur de thèse **Yves Fouillet** qui m'a bien entendu fait confiance et pour la qualité de son encadrement qui m'a été très utile pour mener à bien ce projet.

J'aimerais également remercier **Laurent Davoust** pour son implication notamment sur les aspects de modélisation physique.

Merci à **Frederic Bottausci** pour son expertise en micro PIV et aux parties de tennis...

Sur les aspects technologiques, je tiens à remercier **Catherine Pudda** et **Régis Blanc** pour m'avoir formé aux différentes techniques de fabrication en salle blanche. Je remercie aussi **Amélie Bellemin Comte** pour son aide précieuse.

Sur les aspects de chimie et biologie je tiens à remercier **Isabelle Texier Nogues, Julien Gravier, Jonathan Bruniaux, Fabrice Navarro et Myriam Cubizolles.**

Merci à toute l'équipe des thésards et post-doctorants du DTBS avec qui j'ai passé de très bons moments.

Enfin, je tiens à remercier ma famille et mes amis qui m'ont soutenu pendant ces trois ans.



# Table des matières

Table des matières .....	v
Liste des symboles et abréviations .....	vii
Introduction générale.....	1
1 Contexte théorique de l'étude .....	7
1.1 Introduction .....	7
1.2 Hydrodynamique .....	8
1.2.1 Canal rectangulaire .....	9
1.3 Electrostatique .....	13
1.3.1 La longueur de Debye.....	13
1.3.2 Evolution du potentiel de surface .....	16
1.4 Electrocinétique .....	19
1.4.1 Vitesse électroosmotique.....	20
1.4.2 Vitesse électrophorétique.....	20
1.5 Streaming potential ou potentiel d'écoulement .....	22
1.6 Conclusion .....	25
2 Exploitation de la nanofluidique .....	27
2.1 Introduction .....	27
2.2 Les systèmes de filtration industriels.....	27
2.2.1 La filtration frontale .....	29
2.2.2 La filtration tangentielle .....	30
2.3 Les nanosystèmes en laboratoire .....	32
2.3.1 Exploitation des effets stériques.....	33
2.3.2 Exploitation du recouvrement des doubles couches électriques.....	35
2.3.3 Phénomènes à l'interface d'un Micro et Nanocanal .....	39
2.4 Conclusion .....	52
3 Matériels et méthodes.....	55
3.1 Technologie .....	55
3.1.1 Dessin des masques des composants .....	55
3.1.2 Etapes et empilement technologiques .....	57
3.2 Banc expérimental .....	65
3.2.1 Connectiques.....	65
3.2.2 Montage expérimental.....	66
3.3 Méthodes de caractérisation .....	68
3.3.1 Méthode Micro-PIV : Micro-Particles Image Velocimetry .....	68
3.3.2 Mesure du « streaming potential ».....	70
3.3.3 Mesure des grandeurs électrochimiques.....	71
3.3.4 Mesure du facteur de concentration .....	72
3.4 Echantillons .....	72
3.4.1 Nanoparticules .....	72
3.4.2 Protocole de préparation de la culture bactérienne .....	75
3.5 Protocole fluidique .....	75
3.5.1 Stabilisation des écoulements : système de vases communicants .....	75

3.5.2	Remplissage du composant radial .....	76
4	Préconcentration, filtration de nanoparticules dans un dispositif micro-nanofluidique bypass .....	77
4.1	Introduction .....	77
4.2	Mode Symétrique hydrodynamique .....	79
4.2.1	Ecoulement tangentiel symétrique : mesure des écoulements par micro PIV .	79
4.2.2	Expériences préliminaires de préconcentration/filtration de nanoparticules : exclusion stérique et effet d'accumulation centrale .....	81
4.2.3	Modélisation du profil de concentration dans un système bypass .....	84
4.2.4	Cas du filtre bloquant : $K = 0$ .....	91
4.2.5	Cas du filtre passant : $K = 1$ .....	98
4.2.6	Cas du filtre partiellement passant : $0 < K < 1$ .....	98
4.2.7	Conclusion .....	105
4.3	Mode Symétrique électrodynamique .....	107
4.3.1	Identification du phénomène prédominant dans le processus de préconcentration cathodique .....	108
4.3.2	Préconcentration cathodique: quantification du facteur de concentration ...	112
4.4	Mode Asymétrique : Electro-hydrodynamique dans un dispositif classique bypass ; ElectroLess- ElectroPreconcentration (EL-EP) .....	113
4.4.1	Mise en évidence du phénomène et premières interprétations.....	114
4.4.2	Modèle simplifié.....	116
4.4.3	Couplage des modes Symétrique et Asymétrique hydrodynamiques.....	121
4.4.4	Un phénomène tributaire de la conductivité.....	123
4.5	Conclusion .....	123
5	Actionnement électrocinétique d'un dispositif radial pour la préconcentration de nanoparticules.....	127
5.1	Introduction .....	127
5.2	Expériences préliminaires.....	129
5.2.1	Composant .....	129
5.2.2	Observations .....	129
5.3	Quantification de l'électropréconcentration cathodique de nanoparticules .....	133
5.4	Conclusion .....	136
6	Bilan et applications .....	139
6.1	Position par rapport à l'état de l'art et bilan .....	139
6.1.1	Etat de l'art .....	139
6.1.2	Bilan de nos expériences .....	141
6.2	Perspectives et autres pistes.....	144
6.2.1	Introduction.....	144
6.2.2	Architectures bypass .....	145
6.2.3	Architectures radiales .....	148
6.2.4	Vers un système intégré portable .....	151
6.3	Conclusion .....	155
	Conclusion générale .....	157
	Références .....	159
	Annexe .....	165

# Liste des symboles et abréviations

$\rho$	Masse volumique (en $g.m^{-3}$ )
$u$	Vitesse (en $m.s^{-1}$ )
$p$	Pression (en $Pa$ )
$R_h$	Résistance hydraulique d'un microcanal (en $\Omega$ )
$r_h$	Résistance hydraulique d'un nanocanal (en $\Omega$ )
$D$	Coefficient de diffusion (en $m^2.s^{-1}$ )
$D_{SE}$	Coefficient de diffusion de Stokes-Einstein (en $m^2.s^{-1}$ )
$C$	Concentration en particules (en $particules.ml^{-1}$ ou $pl.ml^{-1}$ )
$N_A$	Nombre d'Avogadro $6,022 \cdot 10^{23}$ (en $mol^{-1}$ )
$R_B$	Constante des gaz parfait $8,314$ (en $J.mol^{-1}.K$ )
$\eta$	Viscosité de l'eau $0,001$ (en $Pa.s^{-1}$ )
Re	Nombre de Reynolds (sans dimensions)
$Q$	Débit (en $m^3.s^{-1}$ )
$Pe$	Nombre de Peclet (sans dimensions)
$Pe_m$	Nombre de Peclet modifié(sans dimensions)
$\rho_E$	Densité de charges électriques (en $C.m^{-2}$ )
$F$	Constante de Faraday (en $C.mol^{-1}$ )
$\psi$	Potentiel électrique de surface (en $V$ )
$\varepsilon$	Constante diélectrique $7,08 \cdot 10^{-10}$ (sans dimensions)
$I_c$	Concentration ionique, force ionique (en $M$ )

---

$\lambda_D$	Longueur de Debye (en $m$ )
$\zeta$	Potentiel zêta de la surface d'un canal (en $V$ )
$\zeta_p$	Potentiel zêta d'une particule (en $V$ )
$u_{eo}$	Vitesse électroosmotique (en $m.s^{-1}$ )
$u_{ep}$	Vitesse électrophorétique (en $m.s^{-1}$ )
$\sigma$	Conductivité de l'EDI $2 \cdot 10^{-5}$ (en $S.m^{-1}$ )
$C_m$	Concentration molaire en particules (en $M$ )
$d^*_{EDI}$	Distance interparticules dans l'EDI (en $m$ )
$d^*_{PBS}$	Distance interparticules dans le PBS (en $m$ )
PSI	Perméabilité Sélective Ionique
ICP	Ion Concentration Polarization
AF	Anodic Focusing
ACGF	Anodic Counter Gradient Focusing
CF	Cathodic Focusing
CCGF	Cathodic Counter Gradient Focusing
AD	Anodic Depletion ou Dépletion Anodique
CC	Cathodic Concentration ou Concentration Cathodique
RA	Répulsion Anodique
EOF	Flux électroosmotique
EP	Flux électrophorétique
LNPs	Lipidic NanoParticles ou Nanoparticules Lipidiques
RIE	Reactive Ion Etching
DRIE	Deep Reactive Ion Etching

FC	Facteur de Concentration
SC	Sample Channel
BC	Buffer Channel
EDI	Eau Déionisée
PBS	Phosphate Buffer Saline
$K$	Facteur de filtration
PIV	Particle Image Velocimetry
EL-EP	ElectroLess-ElectroPreconcentration
ROI	Region Of Interest



# **Introduction générale**

Lors de son intervention à la célèbre conférence de l'American Physical Society à Caltech en 1959, Richard Feynman dira que « les nanotechnologies sont un domaine dans lequel peu de choses ont été faites, et dans lequel beaucoup reste à faire ». Par cette déclaration, il faisait référence aux capacités qu'auront les hommes de contrôler la matière à l'échelle atomique. Une idée devenue réalité depuis l'existence du premier microscope à effet de champ, 20 ans plus tard, en 1981. Cependant, depuis la création de ce formidable outil de caractérisation, les nanotechnologies et nanosciences ont connu une diversification extrêmement large allant de la nanoélectronique jusqu'à la nanomédecine.

Par nanomédecine on entend les nanotechnologies pour les applications biomédicales. Elle est définie comme étant la conception, la synthèse ou l'utilisation de matériaux, de dispositifs ou de techniques à l'échelle nanométrique afin d'améliorer la compréhension, le diagnostic ou le traitement de maladies. De cette définition, il faut retenir que les phénomènes et les matériaux à l'échelle nanométrique ont des propriétés particulières. Au sein de cette même branche on peut encore différencier plusieurs sections. Dans un souci de simplification, nous choisirons volontairement de subdiviser la nanomédecine en deux sous catégories : la nanomédecine « curative » et « préventive ». On peut cependant se trouver parfois à la frontière entre ces deux domaines.

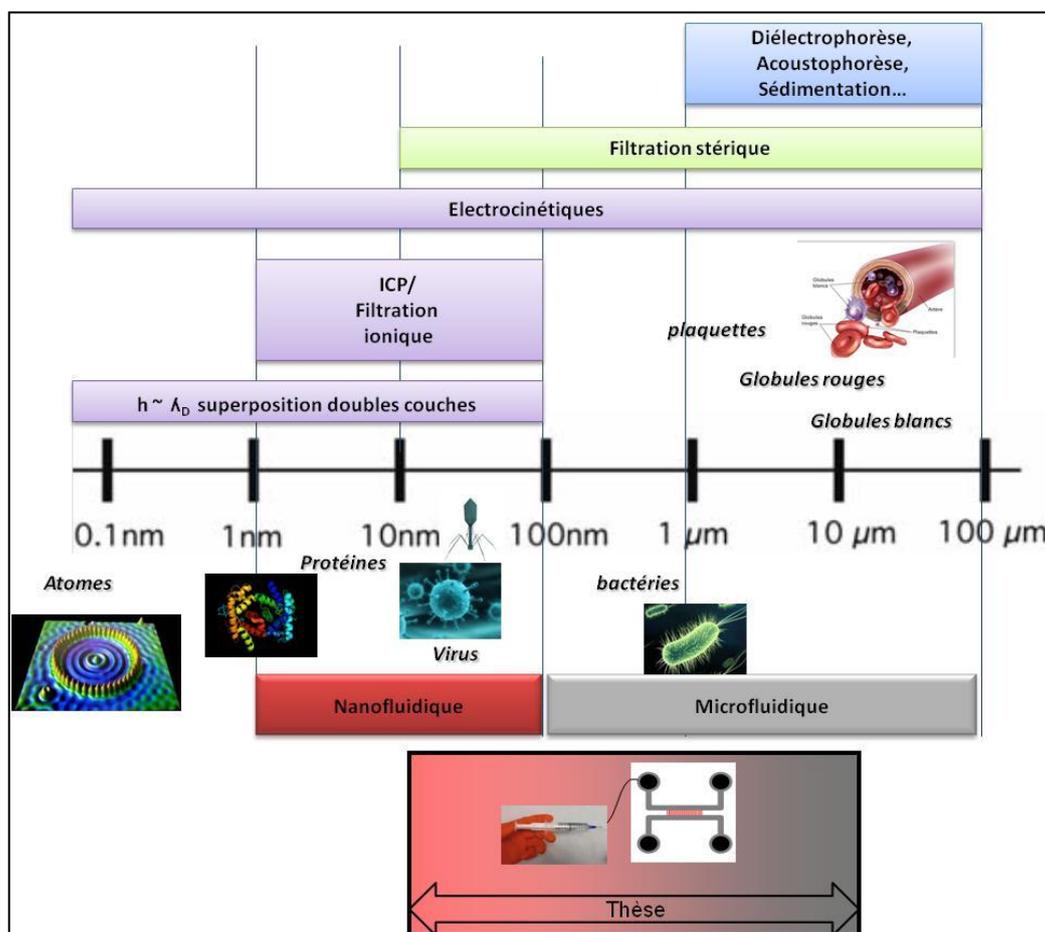
La nanomédecine « curative » comprend essentiellement toutes les recherches destinées à synthétiser des particules de dimensions nanométriques pouvant être administrées directement dans le corps humain pour détecter ou traiter le mal à sa source. Cette voie nécessite donc une approche que l'on qualifie parfois d'invasive et peut faire l'objet de controverses en raison des inquiétudes qu'elle génère. En revanche, la nanomédecine « préventive », quant à elle, agit de manière délocalisée via le développement de micro-nanosystèmes. Ces systèmes sont utiles pour manipuler et détecter des agents biologiques dans le cadre de la médecine « au chevet du patient ». Parmi ces systèmes à l'étude, on

trouve les dispositifs nanofluidiques traitant des volumes de quelques picolitres à quelques nanolitres.

La nanofluidique est une science jeune apparue dans les années 2000 et succède logiquement à la microfluidique. Avec l'avènement de la nanofluidique, certains sujets déjà traités par la microfluidique sont abordés sous un angle nouveau. Par exemple, le diagnostic précoce reste une des préoccupations principales des chercheurs dans le domaine. Plus particulièrement la détection de particules ou molécules rares fait l'objet d'une intense activité de recherche, notamment dans le cadre de la recherche contre le cancer.

En dehors des applications médicales, tout un champ d'applications liées au contrôle de l'environnement, de la santé alimentaire, sont également visées par des études microfluidiques. Par exemple l'assainissement et le contrôle en continu des eaux sont des sujets clés où des solutions nouvelles sont à envisager. De plus en plus de systèmes de types « laboratoires sur puces » ou LOC « Lab On a Chip » voient le jour à la fois pour le diagnostic médical ou pour les aspects environnementaux. Les principes explorés incluent par exemple les dispositifs de diélectrophorèse,<sup>1</sup> d'acoustophorèse,<sup>2</sup> des systèmes utilisant la sédimentation<sup>3</sup> ou encore les phénomènes visco-inertiels (effet Fåhræus-Lindqvist...)<sup>4,5</sup> Ces systèmes ont notamment pour but de filtrer le sang et en séparer les différents éléments. A titre d'exemple, au laboratoire, des projets envisagent le développement de systèmes passifs comme alternative à la technique couramment utilisée de centrifugation en tube. Bien que ces systèmes offrent de belles perspectives, ils sont toutefois peu adaptés à la manipulation d'objets de taille inférieure au micron tels que les virus ou les exosomes. Par exemple, les forces relatives à la diélectrophorèse ou l'acoustophorèse sont proportionnelles au volume de la particule. Ainsi, pour les particules nanométriques les forces sont donc  $10^9$  fois plus faibles que pour des particules de l'ordre du micron ! Il devient donc nécessaire de penser à d'autres stratégies. Il existe aussi des méthodes indirectes impliquant l'utilisation de billes fonctionnalisées comme « véhicules » sur lesquelles les nanoparticules pourront se greffer. Ces dernières seront donc plus simplement manipulables. Cependant, les protocoles requis ne sont pas toujours simples à mettre en œuvre et l'étape de greffage nécessite un certain savoir faire. La nanofluidique offre donc ici de sérieuses perspectives grâce à certains

phénomènes caractéristiques. Parmi eux, on compte notamment les effets de filtration stérique et ioniques. La filtration stérique implique la discrimination en taille des particules à l'entrée des nanocanaux. En revanche la filtration ionique implique la discrimination des particules en fonction de leurs charges. En effet, lorsque les dimensions sont suffisamment faibles, les ions s'organisent de façon particulière à la surface des nanocanaux de manière à induire un potentiel électrique non nul dans le volume du nanocanal (effet de recouvrement de doubles couches électriques). Ce phénomène se retrouve notamment dans la nature au niveau des canaux ioniques qui sont des protéines de la membrane cellulaire très utiles dans la communication inter-neurones par exemple.



**Figure introductive : Echelles de grandeurs et contexte de la thèse. Par convention nous indiquerons les nanocanaux en rouge et les microcanaux en gris.**

Tout protocole d'analyse nécessite deux étapes : une étape de préparation et de détection de l'échantillon. La première étape nécessite elle-même une étape de préconcentration permettant d'atteindre le seuil en concentration requis par l'instrument de détection. A titre d'exemple, certains outils intégrés à des systèmes nanofluidiques pour la détection de

virus,<sup>6-9</sup> nécessitent un échantillon d'une concentration minimale de  $10^8$  particules  $\text{ml}^{-1}$ . Cette concentration est généralement bien supérieure et non représentative des échantillons cliniques. Typiquement, si on considère un échantillon d'une concentration initiale de  $10^6$  particules  $\text{ml}^{-1}$ , un facteur de concentration égal à 100 sera nécessaire. L'enjeu est donc de développer des systèmes permettant d'atteindre des facteurs de concentration élevés de manière à détecter des espèces à des concentrations initiales de plus en plus faibles. Par exemple, dans le cas de certaines maladies infectieuses, il faut détecter seulement quelques centaines de virus par millilitre. C'est dans cet esprit que s'inscrit le travail de la thèse. Une approche micro-nanofluidique sera préférée à une approche purement nanofluidique puisqu'elle permet d'allier les avantages des deux techniques : des débits relativement élevés, une rapidité de remplissage des composants et la génération de phénomènes « nanos » utiles pour manipuler les objets de la gamme de taille qui nous intéresse.

Le but de la thèse sera de proposer un maximum de solutions micro-nanofluidiques pour la préconcentration de nanoparticules et de se différencier au maximum des systèmes existants. Nous nous intéresserons plus précisément à la préconcentration de particules comprises entre 50nm et  $1\mu\text{m}$ , sujet peu traité dans la littérature. Nous exploiterons différents phénomènes tels que l'exclusion stérique, l'électrophorèse, ou encore l'ICP qui est une conséquence directe de l'exclusion ionique. Ces phénomènes pourront être générés à l'aide de sources électriques mais aussi par voie hydrodynamique. L'actionnement hydrodynamique des composants occupera une place importante de ce manuscrit. En effet cette option devient très intéressante dès qu'il s'agit de considérer des systèmes passifs très simple à utiliser, ne nécessitant pas d'énergie électrique et donc potentiellement intégrables sur plateforme LOC. Différentes architectures et méthodes d'actionnements de systèmes seront utilisées. L'architecture classique de type bypass fera notamment l'objet d'une investigation poussée. Nous tenterons d'exploiter au maximum ce quadripôle à travers différents modes d'actionnement fondés sur l'utilisation avantageuse de certains phénomènes.

La Thèse s'organisera en six chapitres. Le premier chapitre sera consacré à l'établissement des différentes équations de base en micro et nanofluidique utiles à la compréhension des

phénomènes impliqués lors des expérimentations. Le second chapitre fera un état de l'art non exhaustif décrivant le contexte de l'étude et les diverses applications attachées à la nanofluidique. Un troisième chapitre sera consacré à la description du matériel et des protocoles expérimentaux. Les quatrième et cinquième chapitres se focaliseront sur les résultats techniques obtenus en termes de filtration et de préconcentration d'échantillons synthétiques ou biologiques. Enfin, la dernière partie de cette thèse sera une mise en perspective des champs d'applications potentiels, notamment pour les laboratoires sur puces.



# 1 Contexte théorique de l'étude

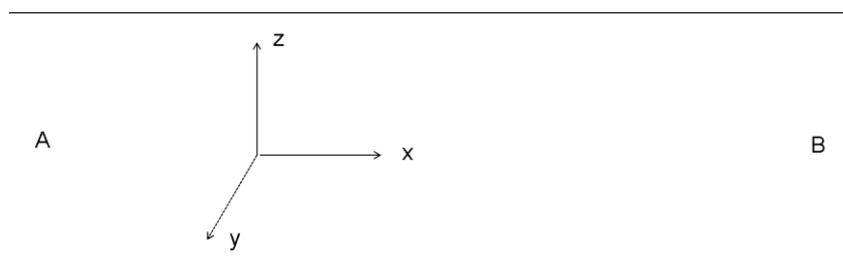
## 1.1 Introduction

Ce chapitre introduit les principales équations et notions nécessaires à la compréhension des différents phénomènes relatifs aux écoulements micro et nanofluidiques.

Dans une première partie nous expliciterons les écoulements sous l'application d'un champ de pression. Une deuxième partie traitera des phénomènes électrocinétiques. Nous rappellerons dans quelle mesure les équations sont modifiées lorsque la taille des canaux approche l'échelle nanométrique. On parlera alors de nanofluidique lorsqu'au moins une des dimensions du canal sera comparable (moins d'un ordre de grandeur) à l'épaisseur de la double couche électrique, une notion que l'on détaillera dans ce chapitre.

Dans ce chapitre les axes  $x$  (longueur),  $y$  (profondeur) et  $z$  (épaisseur) seront définis comme le montre la **Figure 1**.

.



**Figure 1 :** Schéma simple représentant l'orientation des trois directions de l'espace dans un canal orienté suivant la direction  $x$ . En A (entrée du canal) et B (sortie du canal) des pressions  $P_A$  et  $P_B$  ou des tensions  $V_A$  et  $V_B$  peuvent être appliquées.

## 1.2 Hydrodynamique

Les écoulements hydrodynamiques dans nos systèmes tiendront une place très importante. Nous commencerons donc par détailler les différentes équations qui y sont associées tout en prenant en compte les diverses approximations en micro et nanofluidique.

Les équations de Navier Stokes sont les équations aux dérivées partielles pour décrire l'écoulement des fluides newtoniens dans l'approximation des milieux continus. La formulation de ces équations est :

La conservation de la masse (pour un fluide incompressible) :

$$\vec{\nabla} \cdot (\vec{u}) = 0 \quad (1.1)$$

La conservation de la quantité de mouvement :

$$\rho \frac{\partial \vec{u}}{\partial t} + \rho \vec{u} \cdot \nabla \vec{u} = -\nabla \vec{p} + \eta \nabla^2 \vec{u} + \rho \vec{f} \quad (1.2)$$

Et l'équation de transport :

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \nabla \cdot (D \nabla C) - \nabla \cdot (\vec{u} C) \quad (1.3)$$

avec,  $\vec{u}(\vec{r}, t)$  la vitesse du fluide,  $\vec{p}(\vec{r}, t)$  la pression,  $\rho$  la masse volumique,  $\eta$  la viscosité dynamique,  $\vec{f}$  la résultante des forces massiques s'exerçant dans le fluide que l'on négligera ici,  $C$  la concentration en soluté et  $D$  le coefficient de diffusion.

L'adimensionnalisation de ces équations fait apparaître deux nombres sans dimension très utilisés en microfluidique, à savoir le nombre de Reynolds et le nombre de Peclet.

Le nombre de Reynolds  $Re$  qui compare dans l'équation (1.2) le poids du terme inertiel non linéaire (2<sup>ème</sup> terme de droite) à celui du terme visqueux (2<sup>ème</sup> terme de gauche) s'écrit :

$$Re = \frac{\rho U l}{\eta} \ll 1 \quad (1.4)$$

avec,  $U$  et  $l$  une vitesse et une dimension caractéristique du système.

En micro/nanofluidique ce nombre est très inférieur à 1, ce qui permet de s'affranchir des termes non linéaires. Les écoulements sont donc généralement laminaires, et en régime permanent, l'équation (1.2) se réduit finalement à l'équation de Stokes :

$$\nabla \bar{p} = \eta \nabla^2 \vec{u} \quad (1.5)$$

Le nombre de Peclet  $Pe$ , (ratio des deux termes de droite de l'équation (1.3)) permet de comparer la cinétique de l'écoulement à celui de la diffusion. A faible nombre de Peclet, c'est-à-dire si la vitesse d'écoulement ralentie drastiquement, le phénomène de diffusion devient alors prédominant sur l'évolution locale de la concentration.

$$Pe = \frac{Ul}{D} \quad (1.6)$$

Dans le cas d'un milieu particulaire le coefficient  $D$  est fonction de la taille des particules et de la viscosité du fluide. Pour des particules browniennes le coefficient de diffusion  $D_{SE}$  est donné généralement par l'équation de Stokes-Einstein (équation (1.7)) :

$$D_{SE} = \frac{R_B T}{N_A} \times \frac{1}{6\pi\eta R} \quad (1.7)$$

avec,  $R_B$  la constante des gaz parfaits,  $N_A$  le nombre d'Avogadro,  $R$  le rayon de la particule et  $\eta$  la viscosité du fluide.

### 1.2.1 Canal rectangulaire

La résolution de l'équation (1.5) dans un canal à géométrie donnée permet de déterminer le champ de vitesse en fonction du gradient de pression appliqué. On en déduit une relation de proportionnalité entre débit et pression en fonction de la géométrie des canaux et de la viscosité. Ce ratio est appelé résistance hydraulique ou perte de charge. Pour rappel nous détaillons ci-dessous le calcul de perte de charge dans un cas simple.

**a. Hypothèse où  $w \gg h$** 

On considère deux plans parallèles de largeur infinie  $w$  dans le plan  $(x, y)$  et distant d'une hauteur  $h$ . En négligeant les variations de la vitesse  $\bar{u}$  selon  $x$  et  $y$  et les gradients de pression selon  $y$  et  $z$ , l'équation de Stokes devient:

$$\frac{\partial p}{\partial x} = \eta \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} \quad (1.8)$$

$p$  étant une fonction de  $x$  et  $u$  est une fonction de  $z$ , nous avons :

$$\frac{\partial p}{\partial x} = \eta \frac{\partial^2 u}{\partial z^2} = cste \quad (1.9)$$

On considère les conditions de non glissement aux parois, soit :

$$u(z=h) = u(z=0) = 0 \quad (1.10)$$

La vitesse varie le long de l'épaisseur de la couche de fluide suivant une loi parabolique avec son maximum en  $h/2$ . On trouve donc l'expression suivante pour la vitesse moyenne dans un tel système :

$$\bar{u} = -\frac{h^2}{12\eta} \frac{dp}{dx} \quad (1.11)$$

On en déduit la relation de perte de charges :

$$R_h = \frac{\Delta P}{Q} = \frac{12\eta L}{wh^3} \quad (1.12)$$

avec,  $Q$  le débit,  $\Delta P$  la différence de pression entre l'entrée et la sortie du canal,  $L$ ,  $w$  et  $h$  la longueur, la largeur et la hauteur du canal.

### b. Cas généralisé (canal rectangulaire quelconque)

Pour un canal rectangulaire quelconque la résolution analytique du problème est plus complexe puisqu'il faut résoudre un Laplacien suivant deux dimensions. La solution exacte est complexe et se présente sous la forme suivante: <sup>10</sup>

$$R = \frac{\eta L w}{8h} \frac{1}{\sum_{n=1}^{\infty} \frac{1}{\beta_n h} \left( 1 - \frac{2}{\beta_n h} \operatorname{th} \beta_n \frac{w}{2} \right)}, \beta_n = \frac{(2n-1)\pi}{w}$$

Cependant une approximation de la série ci-dessus est souvent proposée : <sup>10</sup>

$$R_h = \frac{12\eta L}{1 - 0.63\left(\frac{h}{w}\right)} \frac{1}{wh^3} \quad (1.13)$$

L'expression de la résistance hydraulique peut être généralisée de la manière suivante en introduisant le facteur de forme  $\alpha$  :

$$R_h = \alpha \eta L \frac{1}{wh^3} \quad (1.14)$$

avec,  $\alpha = \frac{12}{1 - 0.63\left(\frac{h}{w}\right)}$ .

La **Figure 2** montre l'évolution du facteur de forme pour différentes valeurs du rapport  $w/h$ . Pour un rapport  $w/h \gg 1$ , ce qui sera le cas avec nos nanocanaux, on retrouve bien un facteur  $\alpha = 12$ . Dans notre cas, les canaux présenteront des ratios supérieurs à 5 donc les **équations (1.12) et (1.13)** seront équivalentes.

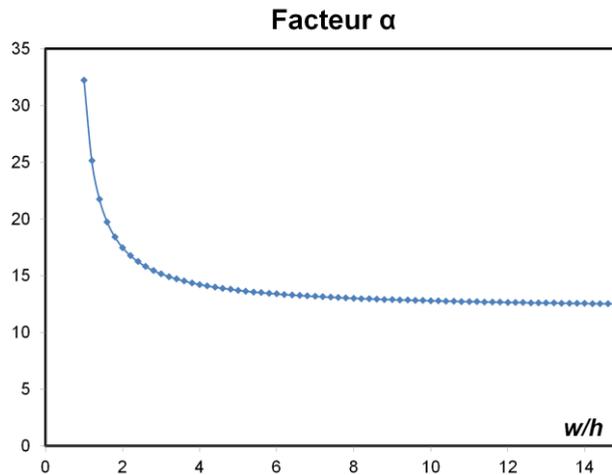


Figure 2 : Evolution du facteur de forme  $\alpha = \frac{12}{1 - 0.63(\frac{h}{w})}$  en fonction du rapport entre la largeur  $w$  et la hauteur  $h$  du canal considéré. Lorsque la largeur est très grande devant la hauteur on retrouve la valeur limite du facteur  $\alpha = 12$ .

Ce qu'il faut retenir c'est que la perte de charge dans un canal rectangulaire microfluidique est proportionnelle à  $\frac{L}{wh^3}$ . Aussi, la dépendance en  $\frac{1}{h^3}$  montre que la résistance varie radicalement en fonction de la hauteur. On s'attend à des pertes de charges très élevées et donc des débits très faibles dans nos composants. Typiquement pour des nanocanaux de 100nm d'épaisseur les débits mis en jeu seront inférieurs au  $\text{nl.min}^{-1}$  contre quelques centaines de  $\mu\text{l.min}^{-1}$  dans un microcanal de 10 $\mu\text{m}$  de profondeur en restant dans des gammes de pression de l'ordre du bar.

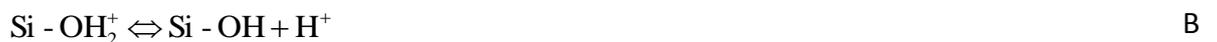
Enfin, nous avons formulé l'hypothèse que la vitesse du fluide aux parois était nulle. Cela peut devenir discutable pour des nanocanaux, il peut exister un effet de glissement au niveau des parois, qui induit une perte de charge plus faible que celle prédit par l'équation (1.14). Des études existent pour exploiter cet effet de glissement notamment pour des applications comme la conversion d'énergie à l'aide de nanotubes de carbone.<sup>11</sup> Cependant, l'écart sur la perte de charge devient sensible quand les canaux sont de très faibles dimensions (de l'ordre du nanomètre) ou dans des cas bien particuliers (canaux à surfaces supers hydrophobes) la dimension la plus faible de nos nanocanaux étant de 50nm et les surfaces plutôt mouillantes nous considérons que l'équation (1.14) reste valide.

## 1.3 Electrostatique

### 1.3.1 La longueur de Debye

A l'équilibre, lorsqu'une surface solide est mise en contact avec un fluide, celle-ci se voit attribuer une densité de charge de surface nette. Afin de préserver l'électroneutralité dans le liquide, les ions de la solution possédant une charge opposée à celle de la surface solide (les contre-ions) seront attirés vers elle pour l'écranter. Du fait du potentiel de surface du matériau il existe un gradient de contre-ions. On considère la longueur de Debye  $\lambda_D$  comme étant la longueur caractéristique sur laquelle la charge de surface solide est partiellement écrantée.

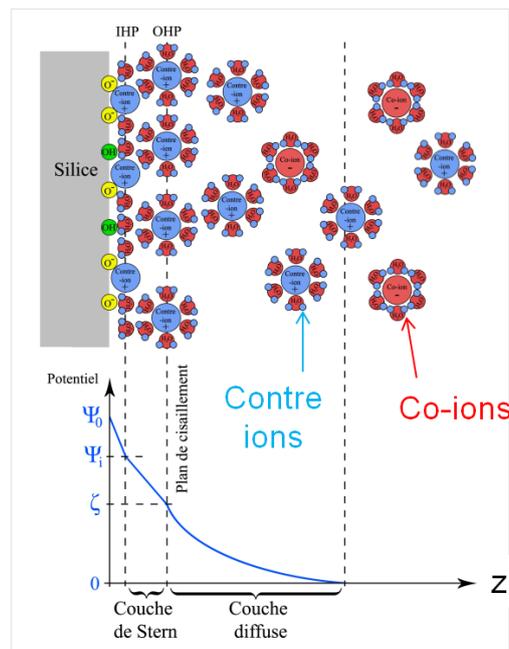
L'origine de cette charge de surface est essentiellement attribuée à des processus de réactions acido-basiques de la dernière couche atomique du matériau constituant la surface et peut être de signe positif ou négatif. Par exemple, une surface de référence comme la silice est caractérisée par des groupements silanols (Si-OH) en surface. En solution, ces groupements peuvent être sous formes acide ou basique et peuvent se décrire à partir de deux demi-réactions impliquant des transferts de protons :



Dans une solution à pH élevé, la réaction A est favorisée. Les groupements silanols sont sous la forme  $\text{Si} - \text{O}^-$  et la charge de surface est globalement de signe négatif. En revanche, dans une solution à pH faible, la réaction B est favorisée. Les groupements silanols sont sous la forme  $\text{Si} - \text{OH}_2^+$  et la charge de surface est globalement de signe positif. Il existe un pH pour lequel la charge de surface s'annule, ce point est nommé point isoélectrique ou encore PZC pour Point of Zero Charge.

Cette couche au voisinage de la paroi est appelée «double couche électrique» ou «double couche de Debye» au sein de laquelle on identifie deux zones bien distinctes (**Figure 3**) :

- La couche ionique de stern composée de contre-ions hydratés fixes à la surface
- La couche diffuse composée de contre et co-ions mobiles.



**Figure 3:** Illustration de la double couche électrique à la paroi d'une interface de  $\text{SiO}_2$  d'après le modèle de Stern et schématisation de l'évolution du potentiel électrique au voisinage de la surface le long de l'axe  $z$ .<sup>12</sup>

On peut déterminer analytiquement cette distance caractéristique en couplant les équations de Poisson et Boltzmann appliquées aux ions dans la couche diffuse :

- L'équation de Boltzmann est une loi de distribution statistique qui décrit la distribution des ions dans un liquide en fonction du potentiel électrique en tout point et à l'équilibre thermodynamique :

$$\rho_E = \sum_i c_i z_i F \exp\left(\frac{-z_i F \psi}{R_B T}\right) \quad (1.15)$$

avec,  $\rho_E$  la densité de charges électriques,  $c_i$  la concentration ionique d'un type d'ion,  $z_i$  la valence ionique d'un type d'ion,  $F$  la constante de faraday,  $R_B$  la constante de gaz parfait,  $\psi$  le potentiel électrique et  $T$  la température.

- L'équation de Poisson permet de décrire l'évolution du potentiel électrostatique au voisinage de la surface avec la densité de charge :

$$\nabla^2 \psi = \frac{-\rho_E}{\varepsilon} \quad (1.16)$$

avec,  $\varepsilon$  la permittivité diélectrique.

- En couplant les deux équations précédentes on obtient l'équation de Poisson-Boltzmann :

$$\nabla^2 \psi = -\frac{F}{\varepsilon} \sum_i c_i z_i \exp\left(\frac{-z_i F \psi}{R_B T}\right) \quad (1.17)$$

La longueur de Debye se déduit de l'adimensionnalisation de l'équation (1.17) en normalisant la concentration ionique  $c_i$  par la force ionique de la solution  $I_c$  et le potentiel

électrique de surface  $\psi$  par l'agitation thermique  $\frac{R_B T}{F}$ . On a donc :

$$\psi^* = \psi \frac{F}{R_B T} \quad (1.18)$$

et (1.19)

$$c_i^* = \frac{c_i}{I_c}$$

On trouve ainsi la formule suivante pour l'épaisseur de double couche  $\lambda_D$  :

$$\lambda_D = \sqrt{\frac{R_B T \varepsilon}{2 F^2 I_c}} \quad (1.20)$$

L'équation (1.20) montre que la longueur de Debye dépend directement de la force ionique  $I_c$  de la solution utilisée. En effet, comme le montre la Figure 4, plus la force ionique sera faible plus l'épaisseur  $\lambda_D$  sera importante.

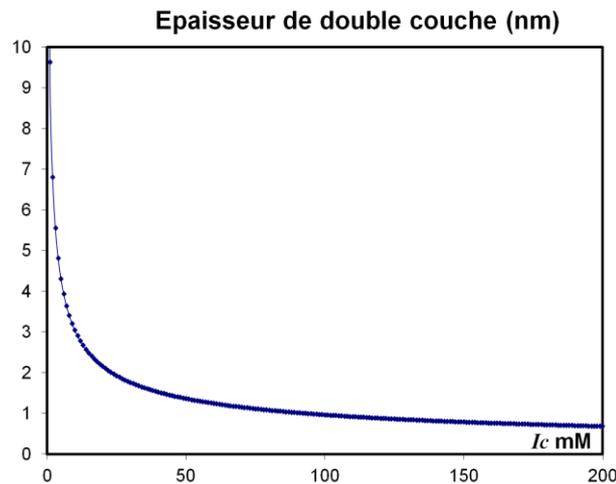


Figure 4 : Allure de l'évolution de l'épaisseur de double couche électrique en fonction de la force ionique de la solution.

Par exemple, à 20°C, on trouve pour l'eau distillé (à pH~7)  $\lambda_D=300\text{nm}$ , alors que pour du PBS à 100mM (concentration ionique proche du sang)  $\lambda_D=0,95\text{nm}$ .

Cette longueur jouera un rôle important dans de nombreux phénomènes électrocinétiques tels que l'électroosmose, l'électrophorèse ou encore le potentiel d'écoulement. D'autres phénomènes caractéristiques des nano échelles tel que le phénomène d'exclusion ionique seront aussi impactés.

### 1.3.2 Evolution du potentiel de surface

La longueur de Debye représente la grandeur caractéristique représentant l'écrantage de la charge de surface du canal. Il est donc important de déterminer dans quelle mesure le potentiel électrique est affecté par la double couche électrique.

On considère une paroi de longueur infinie perpendiculaire à l'axe  $z$  en contact avec une électrolyte dite symétrique ( $c_i=c_1=c_2$ , pour les populations d'ions de types 1 et 2) et des

ions de valences identiques  $z_i = z_1 = z_2$ . On obtient donc à partir de l'équation de Boltzmann adimensionalisée l'équation simplifiée suivante:

$$\frac{\partial^2 \psi^*(z)}{\partial z^{*2}} = \frac{1}{z_i} \sinh(z_i \psi^*(z)) \quad (1.21)$$

Dans le cas de l'approximation de Debye Hückel c'est-à-dire quand  $\psi^* \ll 1$  (hypothèse valable dans le cas d'un liquide très concentré en ion tel que le plasma sanguin par exemple) on trouve l'expression suivante pour le potentiel de surface le long de l'axe  $z$ :

$$\psi\left(\frac{z}{\lambda_D}\right) = \zeta \exp\left(\frac{-z}{\lambda_D}\right) \quad (1.22)$$

avec,  $\zeta$  le potentiel zêta définit comme le potentiel au plan de cisaillement (**Figure 3**).

On notera que ce potentiel est souvent assimilé au potentiel à la surface et que dans l'approximation de Debye Hückel  $\zeta \leq 25$  mV.

L'équation (1.22) prévoit un écrantage total de la surface sur environ quatre fois la longueur de Debye (**Figure 5**). Cette solution est valable lorsque  $h \gg \lambda_D$ , en microfluidique, par exemple, et à force ionique élevée (**Figure 6a**).

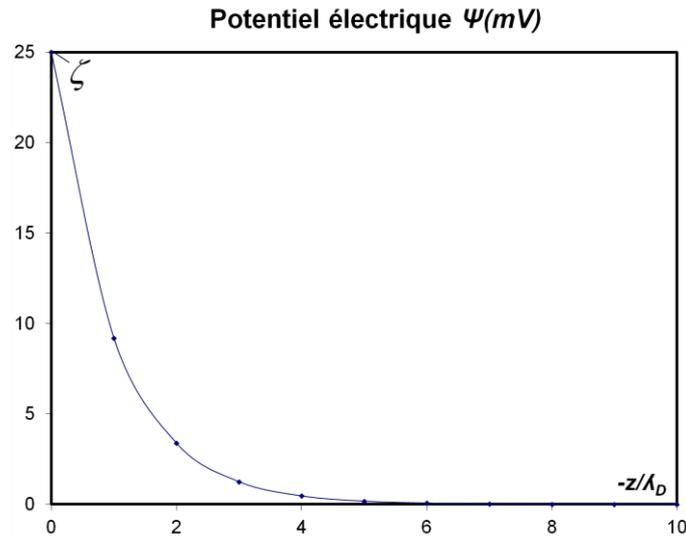


Figure 5 : Evolution du potentiel électrique au voisinage de la paroi d'un canal en fonction de  $z/\lambda_D$  pour un potentiel zêta égal à 25mV. Au bout de quatre longueurs de Debye le potentiel électrique est complètement écranté.

Lorsque l'épaisseur de la double couche de Debye n'est plus négligeable comparée à la distance  $h$  (**Figure 6b**), la solution résolvant l'évolution du potentiel électrique doit prendre en compte la proximité des deux parois opposées. Le cosinus hyperbolique satisfait les conditions aux limites  $\psi\left(\frac{h}{\lambda_D}\right) = \psi(0) = \zeta$  et  $\frac{\partial \psi(h/2)}{\partial z} = 0$  de deux plaques parallèles distant d'une hauteur  $h$  :

$$\psi\left(\frac{z}{\lambda_D}\right) = \zeta \frac{\cosh\left(\frac{z}{\lambda_D}\right)}{\cosh\left(\frac{h}{2\lambda_D}\right)} \quad (1.23)$$

Cette solution sera adaptée dans le cas nanofluidique où les doubles couches aux parois peuvent parfois se superposer. Dès lors, le potentiel du nanocanal dans le volume n'est plus égal à zéro car le phénomène d'écrantage est délocalisé en dehors du nanocanal (**Figure 6b**). On parlera dans ce cas d'exclusion ionique car le passage des ions au travers du nanocanal

dépendra de leurs charges. Pour une surface de silice en contact avec de l'eau à  $\text{pH} \sim 7$ , par exemple, la charge de surface des nanocanaux sera négative, les cations pourront majoritairement traverser celui-ci. Cet effet sera à la base de phénomènes caractéristiques à la jonction entre un micro et un nanocanal tel que le phénomène d'ion Concentration Polarization (ICP) qui sera décrit au **chapitre 2**).

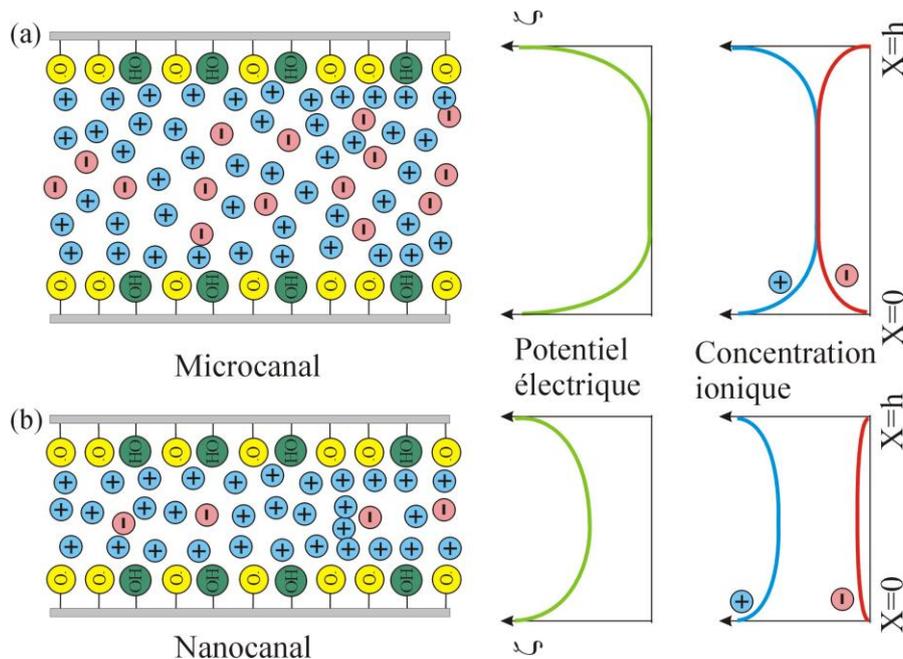


Figure 6: Représentation schématique de la répartition des potentiels électriques ainsi que des charges ioniques, (a) au sein d'un microcanal et (b) d'un nanocanal. On parlera d'exclusion ionique dans le cas (b) car la barrière électrostatique dans le nanocanal s'opposera au passage des anions.<sup>12</sup>

## 1.4 Electrocinétique

L'électrocinétique regroupe différents phénomènes qu'il convient de détailler dans cette partie.

Lorsqu'un liquide est polarisé, les ions de l'électrolyte, ainsi que toute particule chargée dans le fluide porteur, sont mis en mouvement par le champ électrique. Si le champ électrique est tangentiel à la couche diffuse de la double couche électrique, les contre-ions subissent les forces de coulomb et entraînent avec eux, par effet de friction, l'ensemble du fluide dans le sens du champ électrique (dans le cas de contre ions positifs) ou dans le sens opposé (dans le cas de contre ions négatifs). On parle alors d'écoulement électroosmotique.

Les analytes dilués dans le liquide, qui possèdent aussi une charge de surface, subiront également les forces de coulomb ce qui induira un déplacement de ces particules s'opposant, ou non, à l'écoulement électroosmotique selon la polarité de leur charge. On parlera cette fois-ci d'électrophorèse.

Dès qu'un champ électrique externe est appliqué l'électroosmose et l'électrophorèse prennent place. Il existe donc forcément une compétition entre ces deux forces qui seront déterminantes pour comprendre le déplacement des particules contenues dans le liquide.

### 1.4.1 Vitesse électroosmotique

Dans la mesure où la hauteur du canal est bien supérieure à l'épaisseur de double couche, on peut considérer un champ électrique homogène proche des parois du canal. Ainsi, on trouve la solution suivante pour la vitesse électroosmotique  $u_{eo}$  :

$$u_{eo} = \frac{\zeta \varepsilon}{\eta} \frac{V_A - V_B}{L} \quad (1.24)$$

avec,  $V_A$  et  $V_B$  les potentiels électriques imposés aux entrées A et B d'un canal de longueur  $L$  et  $\frac{V_A - V_B}{L}$  le champ électrique.

En revanche si l'épaisseur de double couche devient comparable à la hauteur du canal, le potentiel électrique au voisinage de la surface peut perturber le champ électrique externe, il doit donc être pris en compte :

$$u_{eo} = \frac{\varepsilon}{\eta} (\zeta - \psi(z)) \frac{V_A - V_B}{L} \quad (1.25)$$

### 1.4.2 Vitesse électrophorétique

Comme dans le cas d'une surface plane, lorsqu'une particule est immergée dans un fluide, elle se voit généralement attribuer une charge de surface qui sera écrantée par les ions de la

solution donnant ainsi naissance à une double couche électrique. Il existe alors aussi une longueur caractéristique de Debye  $\lambda_D$  attribuée à la particule. Le potentiel électrique de surface responsable de son déplacement électrophorétique sera donc appelé le potentiel zêta  $\zeta_p$  de la particule. Il est défini comme le potentiel pris au niveau du plan de cisaillement de la double couche électrique de la particule. Les équations relatives au déplacement électrophorétique proviendront donc du même raisonnement suivi pour le flux électroosmotique.

On considère généralement que les particules ont une géométrie sphérique de rayon  $R$ . La vitesse électrophorétique peut être exprimée de la manière suivante :

$$u_{ep} = \frac{q}{6\pi R \eta} \frac{V_A - V_B}{L} \quad (1.26)$$

L'équation ci-dessus met en évidence la dépendance de la vitesse électrophorétique en fonction de la taille de la particule. Plus le rayon de la particule sera important, plus le déplacement de cette dernière sera ralenti.

Toutefois, il est plus facile d'accéder expérimentalement au potentiel zêta de la particule  $\zeta_p$ .

La formule suivante est donc plus adéquate quand  $R \gg \lambda_D$  :

$$u_{ep} = \frac{\zeta_p \varepsilon}{\eta} \frac{V_A - V_B}{L} \quad (1.27)$$

En revanche si l'épaisseur de la double couche est comparable ou supérieure au rayon de la particule alors un facteur correctif doit être introduit :

$$u_{ep} = f \frac{\zeta_p \varepsilon}{\eta} \frac{V_A - V_B}{L} \quad (1.28)$$

avec,  $f$  le facteur de correction qui varie selon la valeur du potentiel zêta.

- A petit zêta (<25mV), la convection des ions dans la double couche électrique est négligée par rapport à la diffusion et l'approximation  $f_0$  de la fonction de Henry peut être utilisée:

$$f_0 = \frac{2}{3} \left[ 1 + \frac{\frac{1}{2}}{\left(1 + \frac{2.5}{R^*}\right)^3} \right] \quad (1.29)$$

avec,  $R^* = \frac{R}{\lambda_D}$  et  $R$  le rayon de la particule.

Dans la limite d'une petite particule ( $R^* \rightarrow 0$ ) la vitesse électrophorétique résultante est proportionnelle à  $f_0 = \frac{2}{3}$ .

- A grand zêta (>25mV), la convection des ions dans la double couche électrique de la particule ne peut plus être négligée et la fonction de Henry ne décrit plus correctement l'électrophorèse de la particule. En effet, la convection a pour effet la déformation de la double couche électrique et un ralentissement de la migration électrophorétique. La solution dans ce cas particulier doit être trouvée numériquement.

## 1.5 Streaming potential ou potentiel d'écoulement

D'une part, les écoulements hydrodynamiques ne dépendent que des pertes de charges donc des dimensions et de la géométrie du canal considéré. D'autre part, nous avons défini les écoulements électrocinétiques comme dépendant principalement des effets de charges de surface des canaux. En réalité, la physique derrière l'écoulement d'un fluide est beaucoup plus riche car un couplage étroit entre ces deux familles existe.

En effet, les écoulements électrocinétiques peuvent induire des gradients de pression (hydrostatiques par exemple). Des courants de retour de poiseuille peuvent donc se superposer aux profils d'écoulement initialement plats des écoulements électrocinétiques.

De plus, l'écoulement hydrodynamique d'un fluide chargé induit un déplacement de charge similaire au flux électroosmotique en électrodynamique.

Afin de présenter clairement ce couplage on trouve parfois la formulation matricielle suivante dans certain ouvrage de microfluidique : <sup>13</sup>

$$\begin{pmatrix} Q/A \\ I/A \end{pmatrix} = \begin{bmatrix} r_h^2/8\eta & -\varepsilon/\eta \\ -\varepsilon/\eta & \sigma + \sigma_s \end{bmatrix} \begin{bmatrix} -\frac{dp}{dx} \\ E \end{bmatrix} \quad (1.30)$$

avec,  $r_h$  le rayon hydraulique du canal = section mouillée/périmètre,  $\sigma_s = \frac{\varepsilon^2 \varphi_0^2}{\lambda_D \eta r_h}$  la conductivité de surface dans la limite de Debye Hückel (fine double couche de Debye) et  $\varphi_0$  le potentiel de la surface solide,  $\sigma$  la conductivité au centre du canal et  $r_h/8\eta$  le terme de perte de charge dans un canal circulaire.

A l'issue de ce couplage peut apparaître un phénomène connu sous le nom de potentiel d'écoulement ou de streaming potential en anglais (**Figure 7**) : un courant à la surface d'un canal (le courant d'écoulement) peut être généré par un gradient de pression en raison de la densité de charges nettes contenue dans la double couche électrique. Si le système est connecté à des réservoirs isolés électriquement, les contres-ions mobiles des doubles couches électriques sont accumulés en aval du microcanal dans le sens de l'écoulement. Se crée ainsi une différence de potentiel entre l'amont et l'aval du canal.

Pour mesurer expérimentalement un potentiel d'écoulement, la résistance de l'appareil de mesure doit posséder une résistance interne très grande par rapport à la résistance du canal ce qui peut parfois compliquer les mesures.

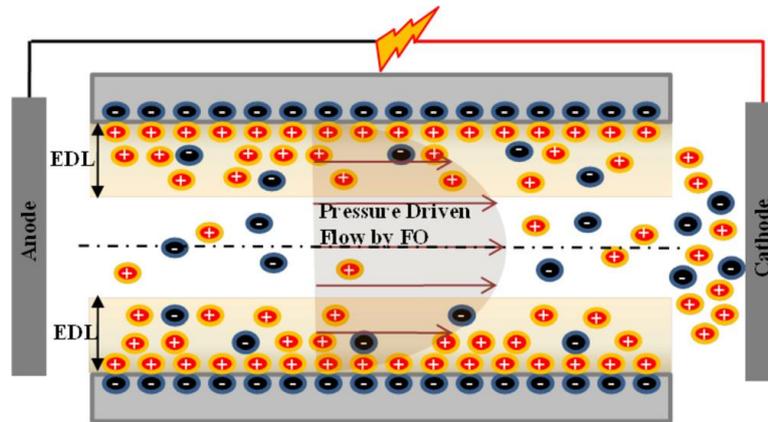


Figure 7 : Illustration du potentiel d'écoulement dans un microcanal. Lorsqu'un écoulement hydrodynamique est induit au travers d'un canal microfluidique, un courant est généré dans la double couche électrique produisant ainsi un gradient de potentiel électrique dans le sens opposé au gradient de pression. Cherng Hon *et al.*<sup>14</sup>

Si l'on applique un gradient de pression à un système dont les réservoirs sont isolés électriquement alors aucun courant ne circule et  $I = 0$ . Dans la limite de Debye Hückel, l'équation suivante provient de la multiplication des termes matriciels:

$$\Delta V = \frac{\xi \varepsilon \Delta P}{\eta \left( \sigma + \frac{\varepsilon^2 \varphi_0}{\lambda_D \eta r_h} \right)} \quad (1.31)$$

Dans la plupart des cas on utilisera la formule simplifiée suivante en ne prenant en compte que la conductivité au centre du microcanal, ainsi:

$$\Delta V = \frac{\xi \varepsilon \Delta P}{\eta \sigma} \quad (1.32)$$

Si l'épaisseur de double couche approche la dimension du microcanal (cas nanofluidique) la conductivité à prendre en compte sera celle mesurée expérimentalement dans le canal.

Il faut noter que toutes les équations relatives à l'électrostatique et l'électrodynamique dans un nanocanal sont souvent modérées par de nombreuses approximations telle que la limite de Debye Hückel en particulier. Puisque, dans nos expériences, le potentiel zêta (des

particules et des canaux fluidiques) sera généralement bien supérieur à 25mV ces équations seront donc à considérer avec précaution.

## 1.6 Conclusion

Les conséquences de la transition vers la nanofluidique ne sont pas équivalentes pour les écoulements hydrodynamiques et électrocinétiques. Dans le cas des écoulements hydrodynamiques, pour des canaux de 50 à 100nm, ce sont les pertes de charges qui vont considérablement augmenter mais la physique sous jacente ne change pas. En revanche, en électrocinétique, la réduction des dimensions à l'échelle nanométrique induit des changements considérables (superposition des doubles couches) difficiles à modéliser. Ceci n'est pas l'objectif de notre étude. Dès modèles plus abouti sont déjà bien référencés.<sup>15-18</sup> Il s'agira davantage de se familiariser avec les différents phénomènes importants afin de mieux les exploiter.



## **2 Exploitation de la nanofluidique**

### **2.1 Introduction**

Ce chapitre dresse une liste non exhaustive de systèmes développés en industrie ou en laboratoire et exploités pour différentes applications.

La filtration et la préconcentration de particules occuperont une partie importante de cette étude bibliographique.

### **2.2 Les systèmes de filtration industriels**

La filtration stérique est un procédé de séparation permettant de dissocier les constituants d'un mélange possédant une phase liquide et une phase solide au travers d'un milieu poreux. L'utilisation d'un filtre permet de retenir les particules plus grosses que les pores du filtre (le concentrat) et de laisser traverser les particules de taille inférieure (le filtrat). Une étape de concentration est donc intrinsèque au procédé de filtration. Au cours de ce manuscrit, nous emploierons parfois le terme « filtration » par abus de langage pour désigner une étape ou des systèmes destinés à la concentration de particules par blocage stérique.

Selon la taille des espèces contenues dans le soluté on identifie plusieurs catégories de filtrations qui sont illustrées en **Figure 8**:

- L'osmose inverse utilise une membrane aux pores suffisamment fins pour séparer les ions des molécules. Elle est utilisée par exemple pour dessaler l'eau de mer.
- La nanofiltration concerne les objets dont la taille est comprise entre 1 et 10nm (ions, molécules de faible poids moléculaire...)
- L'ultrafiltration concerne les objets compris entre 10 et 100nm (virus, protéines...)
- La microfiltration concerne les objets de tailles supérieures à  $\sim 1\mu\text{m}$  (bactéries, cellules, colloïdes ...)

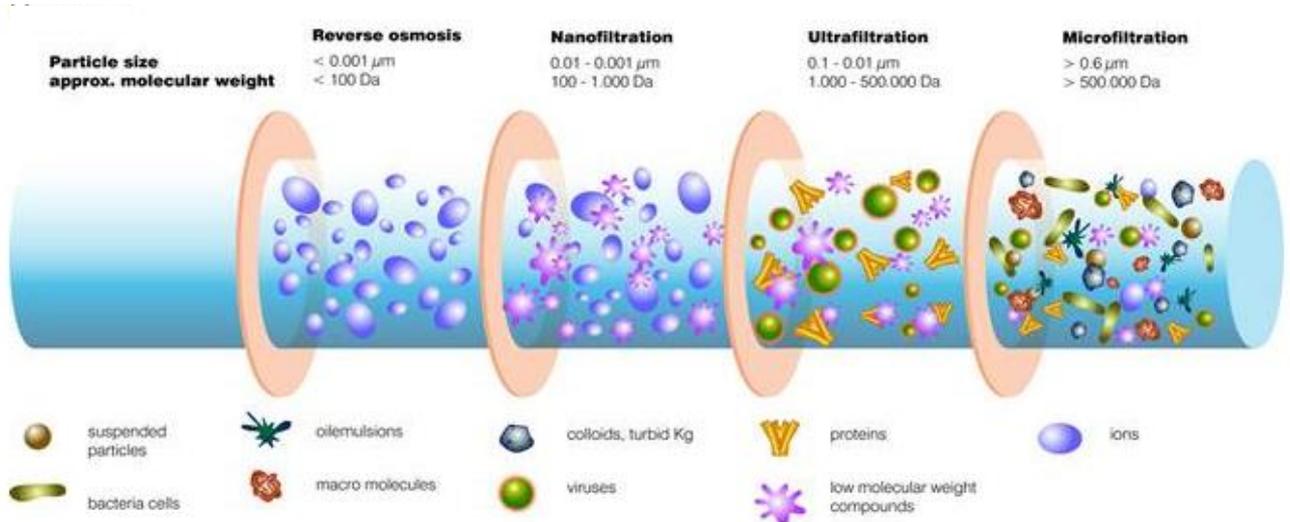


Figure 8 : Schéma représentant les différents types de filtration selon la nature et la taille des particules considérées.<sup>19</sup>

Plusieurs systèmes industriels exploitant ce phénomène sont présents sur plusieurs marchés. Les secteurs concernés sont: l'agroalimentaire (produits laitiers, œnologie...), l'automobile (systèmes de dégraissages...), le traitement de l'eau (dessalement de l'eau mer, traitement environnemental...), la chimie industrielle (systèmes de catalyses), la biopharmaceutique (fractionnement du sang, filtration de molécules, dialyse sanguine...).

Parmi ces systèmes on peut distinguer deux catégories. Une première catégorie comprend tous les systèmes fondés sur la «filtration frontale» ou «dead-end filtration» en anglais (**Figure 9a**). La deuxième catégorie comprend tous les systèmes fondés sur «la filtration tangentielle» ou «cross-flow filtration» en anglais (**Figure 9b**).

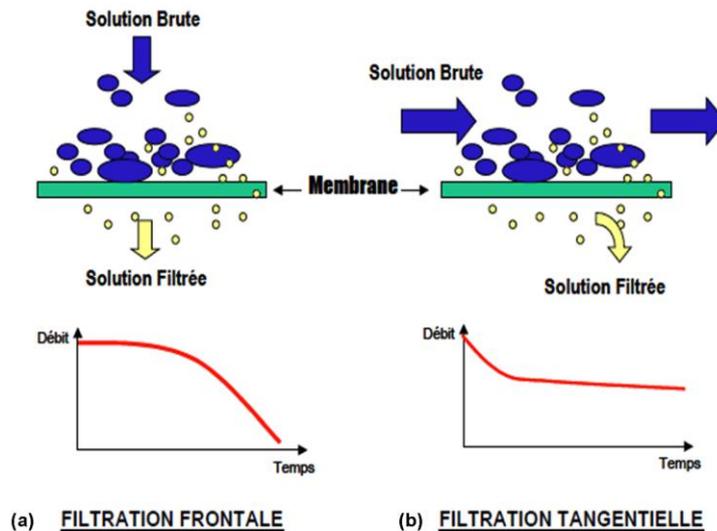


Figure 9 : Schémas représentant (a) la technique de filtration frontale ou « dead-end filtration » et (b) la technique de filtration tangentielle ou « cross-flow filtration ». Dans le cas de la filtration frontale le débit chute considérablement avec le temps témoignant du colmatage de la membrane poreuse. Au contraire le flux tangentiel prévient de ce genre de problèmes et permet un débit de filtration constant à travers la membrane.

### 2.2.1 La filtration frontale

La filtration frontale consiste à faire circuler le fluide de façon perpendiculaire à la membrane via une entrée unique centrée par rapport à la surface du filtre. Les particules contenues dans le fluide sont donc retenues ou filtrées, selon leurs tailles, au niveau de la membrane. Cette technique est particulièrement adaptée pour les fluides peu chargés. La **Figure 10** donne deux exemples de systèmes existants sur le marché utilisés pour deux applications très différentes. Dans le domaine de la microfiltration pour la préparation d'échantillons en laboratoire on trouve par exemple les filtres à seringue dont le seuil de coupure (SC) est de  $0,2\mu\text{m}$  pour purifier les échantillons biologiques.<sup>20</sup> Ce type de filtre est généralement jetable, les temps d'utilisation sont très courts et seul le filtrat est exploitable. Il existe aussi des systèmes dont le seuil de coupure est beaucoup plus faible, tels que les systèmes de purification et de dessalement d'eau de mer,<sup>21</sup> puisqu'il s'agit de filtrer des espèces ioniques et des particules de tailles inférieures au micron (virus, bactéries).

La technique frontale a cependant une limite majeure. En effet, lorsque le fluide est trop chargé, des phénomènes d'encrassement/colmatage rendent inopérante l'opération de filtration et entraînent une chute considérable du débit de fonctionnement (**Figure 9a**).

<p><b>Seawater Desalinated System (Chine)<sup>21</sup></b></p> <p>Volume entrée <math>&gt;1\text{m}^3</math></p> <p>Surface filtre <math>\sim 4,5\text{ m}^2</math></p> <p>SC : 10nm</p>	
<p><b>Filtre seringue (Milipore)<sup>20</sup></b></p> <p>Volume entrée = 1 à 15 mL</p> <p>Surface filtre <math>\sim 10\text{ cm}^2</math></p> <p>SC : 0,2 à 0,5<math>\mu\text{m}</math></p>	

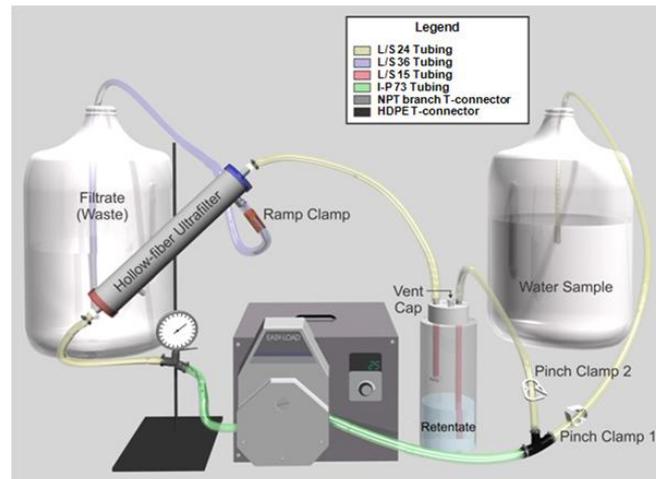
**Figure 10 : Caractéristiques de systèmes de filtration frontale utilisés dans l'industrie et dans les laboratoires.**<sup>21,20</sup>

### 2.2.2 La filtration tangentielle

La filtration tangentielle permet de lutter efficacement contre ces phénomènes de dépôt grâce à un écoulement parallèle du fluide par rapport à la membrane. Il est ainsi possible de fonctionner à débit constant (**Figure 9b**). Cette technique peut être qualifiée de « procédé doux » respectant le produit contrairement à d'autres procédés comme la distillation, l'évaporation, la cristallisation ou l'extraction qui peuvent dénaturer les molécules d'intérêt. De plus, contrairement à la filtration frontale, les deux fluides (le concentrat et le filtrat) sont directement valorisables puisque cette technique est également utilisée pour enrichir des échantillons.

On peut trouver la filtration tangentielle dans de nombreuses applications telles que l'agroalimentaire, le domaine bio-pharmaceutique et l'environnement. Dans cette dernière catégorie, l'analyse de l'eau occupe une place importante. L'état de l'art consiste à prélever un échantillon dans des bidons pouvant contenir plusieurs litres puis, ensuite, les envoyer dans des laboratoires d'analyse dédiés. Un exemple de protocole de concentration de

bactéries (*Cryptosporidium* – *Giardia*, **Figure 11**)<sup>22</sup> a été validé par une équipe américaine (US Environmental Protection Agency). Le protocole manuel est complexe et comporte de nombreuses étapes dans des systèmes séparés: filtration à flux tangentiel, centrifugation, capture sur billes magnétiques greffées par des anticorps. L'étape de filtration tangentielle permet de concentrer les bactéries environ 50 fois à partir d'un gros volume d'échantillon (10L → 200mL).



**Figure 11 : Dessin 3D représentant le système de filtration à flux tangentiel pour la concentration de bactéries. Des facteurs de l'ordre de 50x la concentration initiale sont ainsi obtenus.**<sup>22</sup>

Il existe également des cartouches destinées à une utilisation en laboratoire (**Figure 12**) et pouvant traiter des volumes plus faibles de quelques dizaines de millilitres à quelques litres.<sup>23</sup> En termes d'ordre de grandeur, ces dispositifs permettent d'enrichir de quelque dizaines de fois l'échantillon initial en environ une heure. Typiquement, avec une surface de membrane de 10cm<sup>2</sup> il est possible de filtrer à un débit de 0,5L.h<sup>-1</sup>.

Le seuil de coupure dépend de la membrane utilisée : de 5 à 100 KDa pour les protéines, 0,2 μm pour les levures. Des seuils de coupure beaucoup plus bas (molécules chimiques) existent puisque l'utilisation pour la concentration de traces métalliques présent dans l'eau de mer est aussi mentionnée.

<p><b>Ultraset PALL CORP.</b></p> <p>V. entrée = 200 mL à 5 L</p> <p>Surface filtre = 800 cm<sup>2</sup></p> <p>SC : 2µm</p>		<p><b>Minimate</b></p> <p>V. entrée = 5 mL à 1L</p> <p>Surface filtre = 50 cm<sup>2</sup></p> <p>SC : 1µm</p>	
<p><b>Pellicon (Milipore)</b></p> <p>V. entrée = 5 mL à 1L</p> <p>Surface filtre = 50 cm<sup>2</sup></p> <p>SC : 0,1 à 0,65 µm</p>		<p><b>Vivaflow 50 et 200 (SARTORIUS)</b></p> <p>V. entrée = 0,1 à 5L</p> <p>Surface filtre = 50 et 200 cm<sup>2</sup></p> <p>SC : 0,2µm</p>	

Figure 12 : Caractéristiques de cassettes commerciales de filtration à flux tangentiel utilisées dans les laboratoires.<sup>23</sup>

## 2.3 Les nanosystèmes en laboratoire

Les systèmes industriels présentés ci-dessus montrent les performances actuelles dans le domaine du traitement d'échantillons volumineux par voie de filtration stérique. La filtration d'échantillons, contenant des espèces de quelques nanomètres à quelques microns, à l'aide de membranes poreuses est ainsi démontrée. La nanofluidique occupe donc d'hors et déjà une place importante dans le monde industriel.

Toutefois, aujourd'hui, des efforts croissants sont fournis pour développer des systèmes micro-nanofluidiques intégrables en laboratoire sur puce. Plusieurs pistes existent, toutefois, nous verrons que les efforts se portent principalement sur l'utilisation de phénomènes caractéristiques (exclusion stérique, ionique...) pour la préparation d'échantillons biologiques.

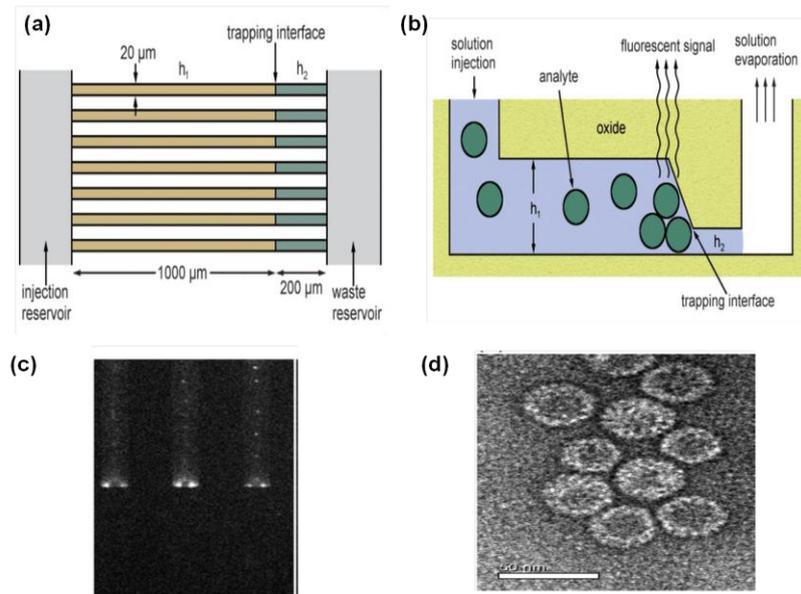
## 2.3.1 Exploitation des effets stériques

### a. Exclusion stérique

Hamblin *et al.*<sup>24,25</sup> utilisent le phénomène d'exclusion stérique dans le but de filtrer des nanoparticules synthétiques et biologiques, tels que les virus de l'Hépatite B (30nm) et de l'Herpes (120nm), à l'aide d'un dispositif en silice de type « bypass ». Ce dispositif est composé de 2 microcanaux parallèles reliés par une centaine de nanocanaux en « marches d'escalier » possédant deux hauteurs différentes discriminant deux populations de particules (**Figure 13 a et b**). Les virus et les nanoparticules sont donc piégés dans les nanocanaux selon leurs tailles et détectés par fluorescence (**Figure 13 c**). Ce système propose une approche complètement passive de filtration de type frontale avec un actionnement exploitant les forces de capillarité pour conduire le liquide dans les différents niveaux fluidiques.

On trouve finalement peu d'études qui traitent de la concentration efficace de nanoparticules par effet purement stérique. Il s'agit plutôt de membrane de filtration intégrées dans des cartes pour récupérer, sans étape de concentration, des objets nanométriques (tels que des exosomes par exemple).<sup>26</sup>

En ce qui concerne les systèmes de types LOC fondés sur la filtration tangentielle pour l'enrichissement de particules, il existe principalement des systèmes microfluidiques permettant la manipulation de microparticules.<sup>27-34</sup>



**Figure 13:** Mode de fonctionnement du dispositif passif de nanofiltration frontale développé par Hamblin *et al.*<sup>24</sup> ( $h_1=145\text{nm}$ ,  $h_2=25\text{nm}$ ). (a) Vue de dessus (b) vue en coupe du dispositif. (c) Cliché par microscopie de fluorescence des virus concentrés au niveau de la restriction. (d) Cliché par microscopie électronique à balayage des virus capturés.

## b. Effet de confinement

Une propriété des nanocanaux est de créer une zone de haut confinement. Par conséquent, lorsqu'une macromolécule (par exemple de l'ADN ou une protéine), naturellement enroulée sur elle-même, est conduite au travers d'un nanocanal, celle-ci subit une diminution de l'énergie d'entropie la forçant ainsi à se dérouler pour traverser cette zone (**Figure 14**). Cet effet a été mis en évidence par plusieurs groupes.<sup>35-44</sup> L'exploitation de ce phénomène s'oriente principalement vers des applications de détection de molécules uniques et de séquençage d'ADN.<sup>45-48</sup>

Par exemple, Storm *et al.*<sup>45</sup> ont étudié le passage d'un brin d'ADN au travers d'un nanopore de silice de 10 nm de diamètre sous l'effet d'un champ électrique (**Figure 15 a**). Cet effet est appelé « translocation » d'ADN. A cause du confinement induit par le nanopore, une seule molécule à la fois pourra s'allonger pour traverser le nanopore. L'obstruction temporaire du pore entraîne une chute locale de la conductance permettant ainsi de mesurer la longueur du brin d'ADN considéré (**Figure 15 b et c**).

La perspective de séquencer un brin d'ADN en lisant une par une les signatures électriques de chaque paire de bases est très intéressante mais demande encore aujourd'hui beaucoup de développements.

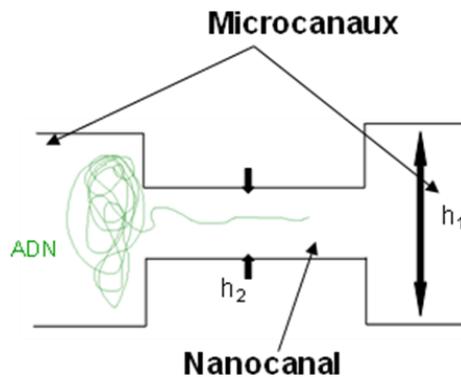


Figure 14: Schéma décrivant le phénomène de confinement entropique.

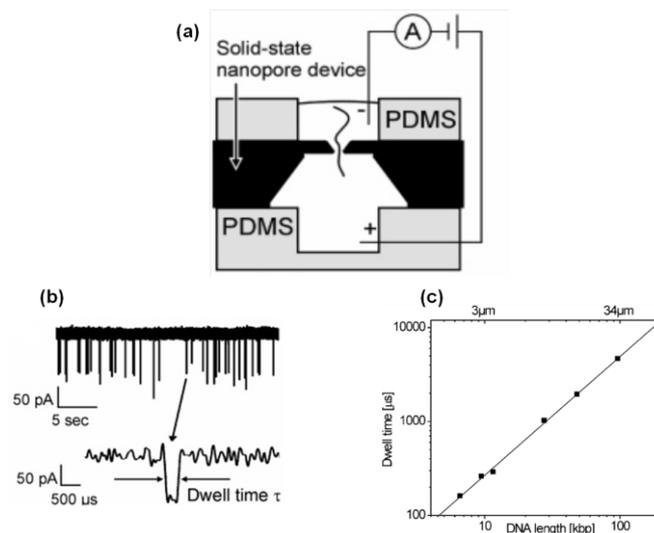


Figure 15: Détection d'une molécule d'ADN au travers d'un nanopore de silice de 10nm de diamètre.(a) Mode de fonctionnement du dispositif. (b) Détection de l'obstruction du nanopore par le passage de la molécule d'ADN. (c) Graphique représentant la mesure de la longueur du brin d'ADN en fonction du temps de translocation. Storm *et al.* <sup>45</sup>

### 2.3.2 Exploitation du recouvrement des doubles couches électriques

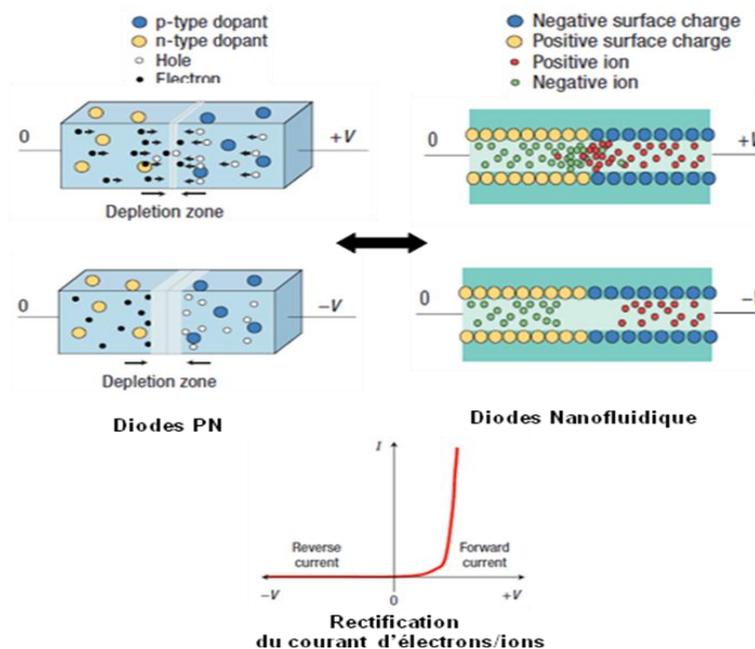
Nous avons vu plus haut que, si au moins une des dimensions d'un canal est comparable aux dimensions de la double couche de Debye, alors ce canal devient sélectif à un certain type

d'ion (anion ou cation) selon la charge de surface du matériau (**Figure 5 b**). Ce phénomène d'exclusion ionique est à la base de certains systèmes développés en laboratoire.

### a. Diode et transistors nanofluidiques

Parmi ces systèmes, on compte les diodes et transistors fluidiques directement inspirés de leurs homologues en microélectronique.

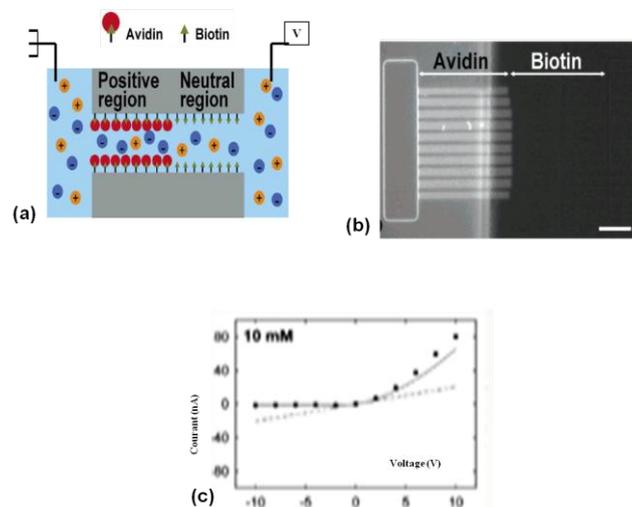
En microélectronique, les diodes à jonction PN consistent en un semi-conducteur dont une partie est dopée par des atomes fournissant des électrons en excès (partie dopée N), et une autre partie dopée par des atomes fournissant des trous en excès (partie dopée P) (**Figure 16**). Selon le sens du champ électrique induit dans cette hétérojonction, le courant d'électrons sera passant ou bloqué. Les diodes nanofluidiques se composent, elles, d'un nanocanal possédant une charge de surface hétérogène.<sup>49–63</sup>



**Figure 16: Analogie Diodes sémicongducteurs /Diodes nanofluidiques. Gijs *et al.*<sup>50</sup>**

La partie du canal possédant une charge de surface positive favorisera le transport anionique tandis que l'autre partie favorisera le transport cationique. Ainsi, sous l'influence d'un champ électrique, la diode sera bloquante ou passante. On observera donc une courbe caractéristique courant-tension propre au comportement d'une diode. Pour des tensions

négatives le courant sera quasi nul et pour des tensions positives le courant sera positif. Cette rectification du courant ionique a été démontrée par Karnik *et al.*<sup>63</sup> au sein d'une diode nanofluidique en polysilicium composée d'un nanocanal hétérogène de 30 nm d'épaisseur. Une moitié de la surface possède un revêtement d'avidine positivement chargée tandis que l'autre moitié est recouverte de biotine neutre (**Figure 17 a et b**). En présence d'un tampon (10mM), et sous l'influence d'un champ électrique, on observe un courant ionique positif pour les valeurs de tensions positives et nul pour les valeurs négatives (**Figure 17 c**). Ici le revêtement de la surface se fait par diffusion des espèces chimiques pour s'affranchir d'une technologie trop complexe.



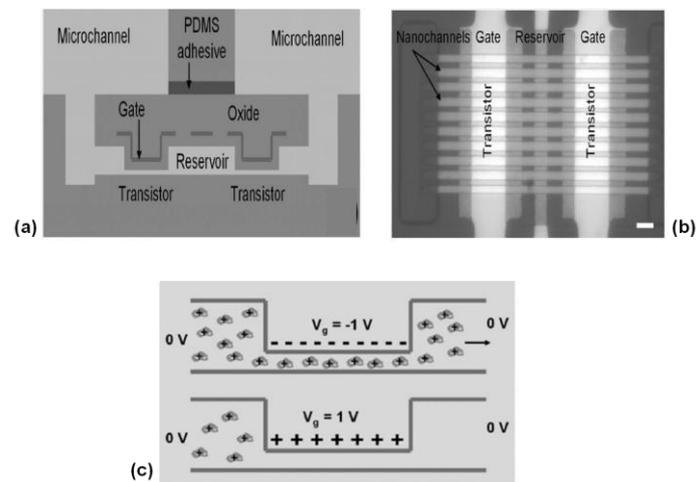
**Figure 17:** (a) Illustration de la Diode nanofluidique. Le nanocanal ( $h \sim 30\text{nm}$ ) possède un revêtement de surface hétérogène. (b) Observation par fluorescence du revêtement d'Avidine diffusée sur une moitié des nanocanaux. (c) Rectification du courant ionique caractéristique d'une diode Avidine/Biotine. Karnik *et al.*<sup>63</sup>

Le principe d'un transistor, en microélectronique, est de contrôler un courant de charge entre deux réservoirs (la source et le drain) par un potentiel de grille.

Il est possible de réaliser un tel dispositif à l'aide d'un nanocanal au niveau duquel une électrode est placée pour appliquer un potentiel de grille visant à contrôler le flux d'ions traversant le nanocanal.<sup>64,65</sup> Selon la polarité du potentiel de grille, le flux anionique ou cationique sera autorisé.

Karnik *et al.*<sup>64</sup> ont démontré le contrôle du transport de molécules d'Avidine positives avec un transistor nanofluidique hybride PDMS/polySi réalisé par technique de couches sacrificielles. Le transistor fluidique est constitué de deux nanocanaux de hauteur  $h \sim 30\text{nm}$

séparés par un réservoir de hauteur  $h \sim 330\text{nm}$ . Un revêtement est déposé pour neutraliser la charge de surface et assurer un contrôle direct du flux de protéines grâce au potentiel de grille (**Figure 18 a et b**). Ainsi il est démontré que selon le signe du potentiel de grille, les molécules d'Avidine (positivement chargées) seront autorisées ou non à entrer dans le nanocanal (**Figure 18 c**).



**Figure 18:** (a) Illustration en coupe du transistor nanofluidique. (b) Vue de dessus (Barre d'échelle  $10\mu\text{m}$ ). (c) Schéma décrivant le mode de fonctionnement du dispositif. Lorsqu'un potentiel négatif ( $-1\text{V}$ ) est appliqué au niveau de la grille, la diffusion de l'Avidine chargée positivement est autorisée. A potentiel positif ( $+1\text{V}$ ) le passage est bloqué. Karnik *et al.*<sup>64</sup>

Les diodes et transistors nanofluidiques font partie d'un domaine de recherche novateur et ambitieux. Néanmoins, des applications claires semblent difficiles à identifier. De même, le contrôle du potentiel de surface demande un savoir faire important et, certains points restent difficiles à maîtriser. Dans le cas des transistors fluidiques, nous pouvons notamment citer comme exemple les courants de fuite générés au travers de la couche d'oxyde à cause du potentiel de grille.<sup>12</sup> De ce fait, ces systèmes ne seront pas traités dans cette étude.

## b. Dispositifs nanofluidique pour la conversion d'énergie

Certaines équipes s'intéressent également au développement de systèmes nanofluidiques exploitant les effets de recouvrement de doubles couches pour la conversion directe d'énergie hydrodynamique en énergie électrique. Plus particulièrement, ces systèmes

exploitent le phénomène de potentiel d'écoulement ou « streaming potential » dans le but de transformer un écoulement hydrodynamique en puissance électrique.<sup>14,66–68,11,69,70</sup> Théoriquement, des rendements maximum de 12% sont prédits pour un nanocanal de 500 nm d'épaisseur.<sup>71</sup> Il a été montré que cette efficacité pourrait être améliorée aux alentours de 30% en optimisant les effets de glissement aux parois et en utilisant une technologie appropriée.<sup>11,67</sup> Expérimentalement, Van der Hayden *et al.*<sup>68</sup> ont atteint un rendement de seulement 3% en générant un potentiel d'écoulement de l'ordre de quelques volts dans un nanocanal de 75nm (**Figure 19**). Ces résultats sont donc insuffisants pour envisager une conversion d'énergie efficace avec les systèmes actuels. Néanmoins l'idée de créer une tension avec un simple écoulement hydrodynamique nous a semblé pertinente. Cette notion nous sera très utile pour la compréhension de certaines observations et sera parfois également exploitable dans certains de nos systèmes.

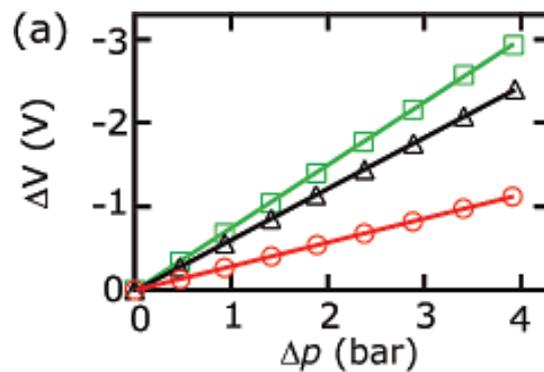


Figure 19: Graphique représentant les courbes expérimentales du potentiel d'écoulement ( $\Delta V$ ) en fonction de la pression générée ( $\Delta P$ ) dans un nanocanal pour des solutions de conductivités décroissantes (la courbe rouge correspond à une solution de KCL à  $10^{-3}$  M, la courbe noire à  $10^{-4}$  M et la courbe verte à  $10^{-5}$  M). Plus la conductivité est faible plus la tension générée est élevée. Hayden *et al.*<sup>68</sup>

### 2.3.3 Phénomènes à l'interface d'un Micro et Nanocanal

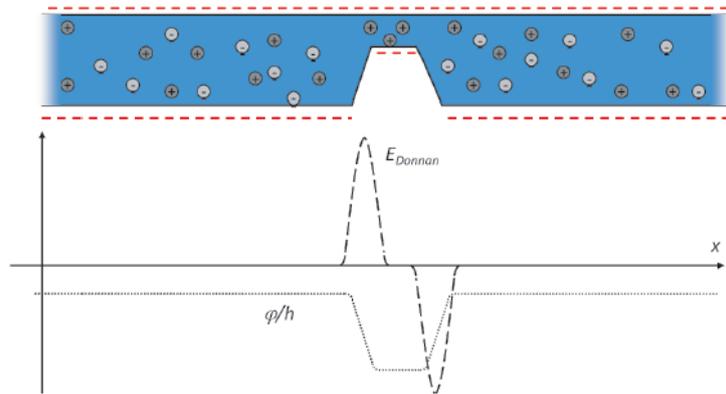
#### a. Ion Concentration Polarization ou ICP

##### Description du phénomène

Jusqu'ici nous avons principalement décrit ce qui se passait dans un nanocanal. Nous savons, par exemple, que dans des conditions de très faible conductivité ou lorsque le nanocanal

présente une dimension comparable à celle des doubles couches de Debye, celles-ci se superposent, attribuant ainsi au nanocanal un caractère sélectif ionique. Cet effet est également connu sous le nom d'effet Donnan (**Figure 20**).

Cependant des phénomènes très particuliers peuvent apparaître à l'interface d'un micro et d'un nanocanal sous l'effet d'un champ électrique externe.



**Figure 20 :** Evolution du champ électrique de Donnan au niveau d'une micro-nanojonction. Le potentiel normalisé  $\psi / h$  ( $h$ , la hauteur du canal et  $\psi$  le potentiel de surface) appelé potentiel de Donnan, constitue la barrière électrostatique à l'entrée du nanocanal.<sup>72</sup>

Un phénomène électrocinétique caractéristique, appelé « Ion Concentration Polarization » peut ainsi apparaître.

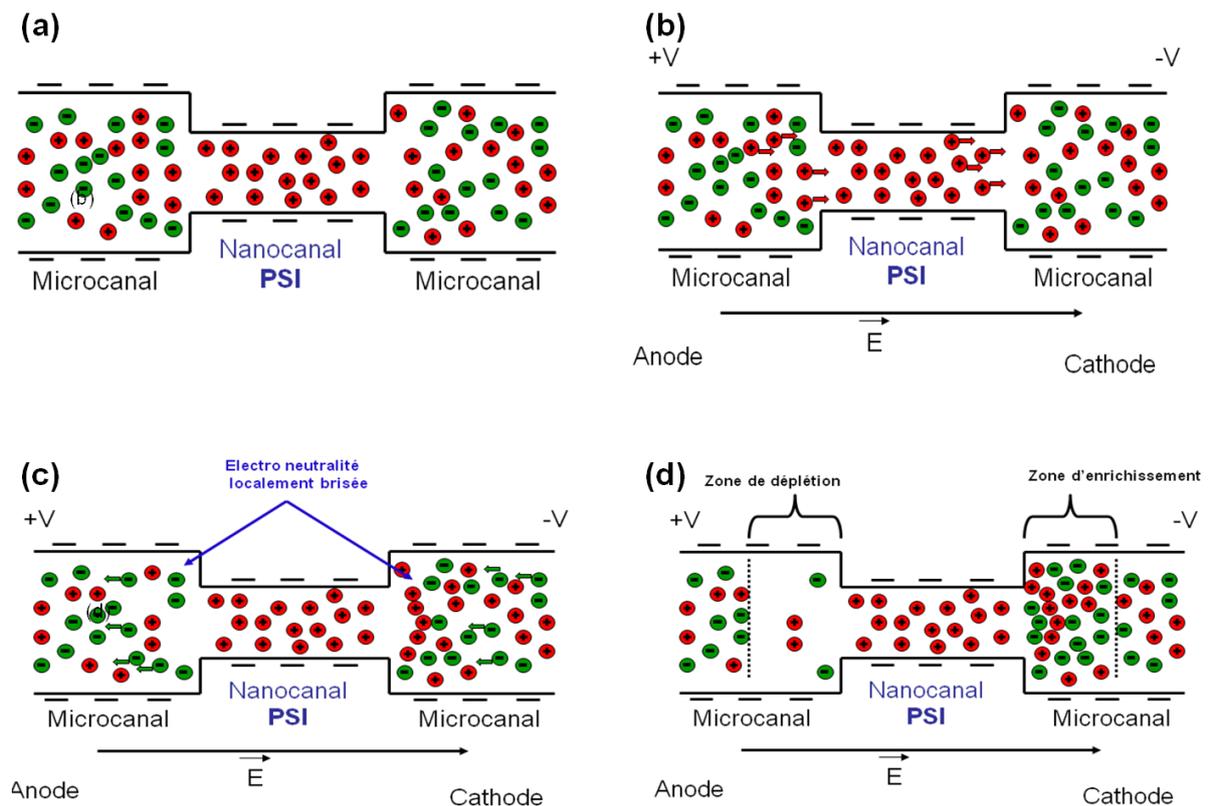
Pour faciliter la description qualitative du phénomène, et pour se placer dans les conditions des expériences présentées dans ce manuscrit, nous prendrons le cas d'un nanocanal possédant une surface de silice chargée négativement.

Considérons à l'instant  $T_0$  un nanocanal réalisant la jonction entre deux microcanaux à l'équilibre thermo-hydrodynamique et n'étant soumis à aucune force extérieure. La charge de surface est négative en présence d'une solution aqueuse à pH proche de 7 (**Figure 21 a**).

À l'instant  $T_1$ , on impose un gradient de potentiels électriques au travers du nanocanal. Ce dernier étant perméable aux cations, ils seront pompés activement de l'anode vers la cathode et, ce, au détriment des ions négatifs (**Figure 21 b**). Au bout d'un temps  $T_2$ , l'entrée du nanocanal (du côté de l'anode) sera appauvrie en charges positives tandis que la sortie (du côté de la cathode) en sera enrichie (le temps d'établissement  $t_2$  du phénomène sera

d'autant plus court que le ratio  $\frac{\lambda_d}{h}$  sera grand). L'électro neutralité sera donc brisée

localement. Afin de la rétablir, les anions provenant du volume devront quitter la zone appauvrie en charge positive et repeupler la zone enrichie (**Figure 21 c**). Au temps  $T_3$ , apparaît une zone de très faible concentration ionique du côté de l'anode et une zone de forte concentration ionique du côté de la cathode. Ces deux zones électriquement neutres, sont nommées respectivement « la zone de déplétion anodique » (AD pour Anodic Déplétion en anglais) et « la zone de concentration cathodique » (CC pour Cathodic Concentration en anglais) (**Figure 21 d**).

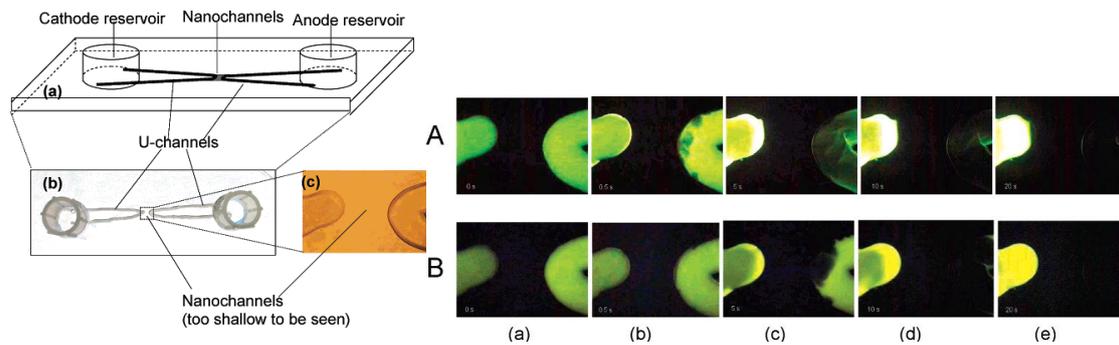


**Figure 21:** Schéma résumant les différentes phases du Phénomène d'ICP. (a) A  $t_0$  le champ électrique  $E=0$  et (b)-(c)-(d) de  $T_1$  à  $T_3$   $E=E_1$ . PSI désigne la Perméabilité Selective Ionique du nanocanal.

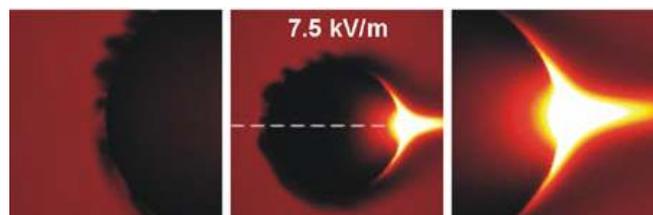
Si l'on s'était placé dans le cas de canaux à surfaces positives, le phénomène aurait été inversé. La zone de déplétion apparaîtrait au niveau de la cathode et la zone de concentration au niveau de l'anode.

L'ICP est un phénomène qui peut être étendu à toute espèce chargée (molécules, colloïdes...). Pu *et al.*<sup>73</sup> ont publié la première fois l'enrichissement et la déplétion, au sein d'un dispositif micro-nanofluidique, de molécules fluorescentes chargées positivement et

négativement (la fluorescéine étant négativement chargée et la rhodamine 6G positivement chargée) (**Figure 22**). Les auteurs montrent que la fluorescéine ainsi que la rhodamine 6G, sont concentrées à la cathode et appauvries à l'anode indépendamment de leurs charges respectives. Ce phénomène a aussi été identifié avec des billes de verre nanoporeuses (**Figure 23**).<sup>74,75</sup>



**Figure 22: Phénomène d'ICP démontré sur (A) la fluorescéine (chargée négativement) et (B) la rhodamine 6G (chargée positivement) sous une tension de 1000V générée au niveau des réservoirs. 20s après que le champ électrique ait été généré, les deux espèces fluorescentes sont concentrées au niveau de la cathode et appauvries au niveau de l'anode (image (e)). Pu et al.<sup>73</sup>**



**Figure 23: Visualisation du phénomène d'ICP autour d'une bille de verre nanoporeuse (pores de 20nm de diamètres) à l'aide d'une molécule fluorescente chargée négativement (BODIPY-disulfonate). Ehlert et al.<sup>74</sup>**

Kim et al.<sup>76</sup> présentent trois régimes courant/tension décrivant le phénomène d'ICP. Un dispositif micro-nanofluidique bypass en silicium est utilisé pour mener les expériences (**Figure 24 a**). A faible potentiel électrique, le régime est qualifié d'ohmic et aucun effet de déplétion ni de concentration n'est observé. En augmentant la tension, le courant traversant les nanocanaux passe ensuite par un régime saturé, dit « limité » ou « limiting », caractérisé par une zone de déplétion stable dans l'espace. Au dessus d'une dizaine de volt un régime non linéaire, dit « sur-limité » ou « over-limiting », est atteint et est caractérisé par une expansion continue de la zone de déplétion vers les réservoirs à mesure que la conductivité du canal diminue (**Figure 24 b**). Dans ce dernier régime, des instabilités

caractérisées par des recirculations (vortex) peuvent apparaître (**Figure 24 c**).<sup>77,78</sup> Dans cette étude, les nanocanaux ont une épaisseur de 40nm et sont immergés dans un tampon à 10mM générant une épaisseur de double couche de Debye de seulement 3nm. Ainsi, le rapport entre l'épaisseur de double couche et l'épaisseur du canal est insuffisant pour générer le recouvrement des doubles couches. En effet, l'ICP ne doit pas être perçu comme un phénomène statique mais plutôt comme un phénomène dynamique capable de « s'auto-générer ». En effet, bien qu'à l'instant initial  $t_0$  les doubles couches électriques ne se recouvrent pas, le courant ionique peut induire un faible déséquilibre de conductivité entre l'entrée et la sortie du nanocanal. Ainsi, la faible décroissance de conductivité du côté de l'anode augmente progressivement l'épaisseur des doubles couches électriques dans le nanocanal. Ceci favorise l'exclusion ionique et, par effet d'avalanche, un phénomène d'ICP de plus en plus intense prend ainsi place dans le système.

Modéliser l'ICP est relativement compliqué car il faut prendre en compte une conductivité transitoire susceptible de modifier les lignes de champs électriques dans le système. De plus, les phénomènes d'électrophorèse et d'électroosmose ne peuvent être négligés. Dans deux publications,<sup>15,16</sup> Zangle et Mani *et al.* proposent une étude analytique<sup>15</sup> du phénomène dans les deux régimes caractéristiques (limiting et over-limiting) vérifiée par la suite par une étude expérimentale.<sup>16</sup> Il y est également démontré que le phénomène d'ICP peut être généré avec des nanocanaux possédant une hauteur relativement élevée de 100nm.

L'origine du régime de courant sur-limité (OLC pour « Over-Limiting-Current ») est cependant toujours sujet à débat. Lorsque la concentration en ion tend vers zéro du côté anodique, le système atteint un courant limite au dessus duquel aucune augmentation supplémentaire du courant ionique ne devrait apparaître. Or, le régime OLC, associé aux recirculations apparaissant dans la plupart des systèmes possédant une membrane nanoporeuse, est la manifestation expérimentale d'un courant. Andersen et Bruus *et al.*<sup>79</sup> proposent un mécanisme chimique pour expliquer l'OLC. Ce phénomène appelé « Current Membrane Discharge » résulterait de la déprotonation de la membrane et de la dissociation des molécules d'eau. D'un autre côté, Rubinstein *et al.*<sup>80,81</sup> argumentent que la dissociation de l'eau ne peut expliquer à elle seule l'OLC dans son ensemble. Ils suggèrent plutôt (théoriquement) que les vortex (ou flux électroosmotiques de seconde génération) détruisent l'effet d'ICP et favorisent ainsi la génération d'un courant exponentiel au travers de la membrane.

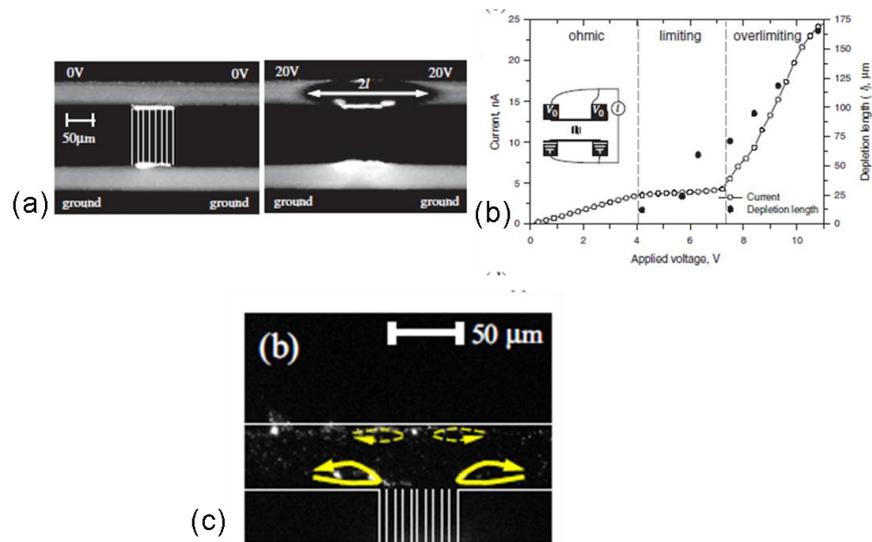


Figure 24: (a) Etablissement du phénomène d'ICP dans un système bypass en silicium visualisé à l'aide d'un échantillon de fluorescéines. (b) Les trois régimes caractéristiques, Ohmic, Courant limité (limiting current) et Courant sur limité (OLC). (c) Instabilités (vortex ou électro-osmose de seconde génération) générées dans la zone de déplétion dans le régime sur limité. <sup>76</sup>

## Un phénomène puissant pour la préconcentration d'analytes

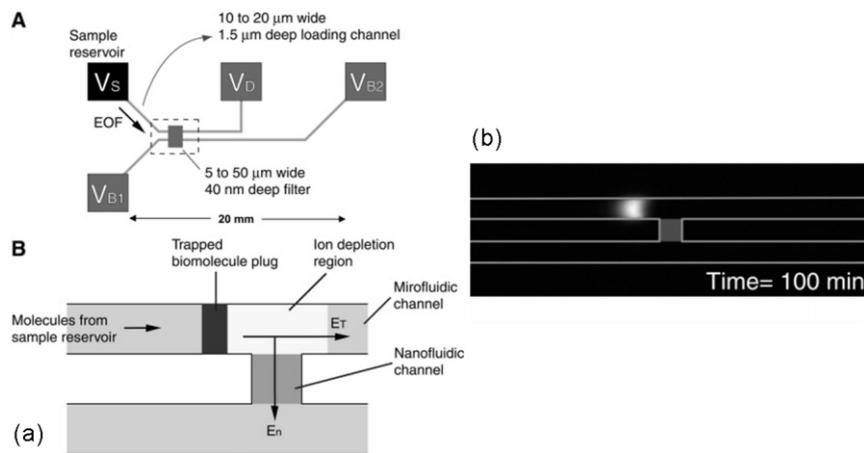
Nous rappelons qu'un des objectifs principaux en microfluidique est de préconcentrer des particules à des facteurs de concentration relativement élevés. Pour ce faire, le phénomène utilisé doit être maintenu sur des temps suffisamment longs. Nous verrons plus tard que l'ICP peut être très puissant pour ce type d'applications mais nécessite un protocole de stabilisation robuste.

La préparation d'échantillons est un aspect essentiel dans la détection et l'analyse de particules ou de molécules. Dans cette optique, les techniques d'immunoassay ou de spectrométrie de masse sont largement utilisées. Cependant, afin de pouvoir utiliser ces méthodes, les molécules où les particules doivent être présentes à une concentration initiale relativement élevée. Ainsi, la présence d'espèces rares reste encore difficile à détecter à l'aide de ces techniques.

La préconcentration de particules via l'utilisation du phénomène d'ICP généré au sein de dispositifs micro-nanofluidiques est une problématique qui intéresse de plus en plus la

communauté scientifique. Depuis près d'une dizaine d'année, les travaux de l'équipe du Pr. Jongyoon Han au MIT font référence dans le domaine du développement de tels dispositifs principalement orientés vers la détection de biomolécules.<sup>82-96</sup> Dans ces travaux, il est fait mention d'une étape de préconcentration reposant sur l'exploitation de la zone de déplétion comme barrière électrostatique s'opposant au passage de toute espèce chargée (**Figure 25 a**). Le protocole d'actionnement suit généralement le schéma suivant ; (i) la zone de déplétion est générée du côté de l'anode ; (ii) un contre flux généralement de nature électroosmotique s'oppose à l'expansion de la zone de déplétion et induit l'accumulation des espèces biologiques chargées contre les parois de la zone de déplétion. La nanojonction peut être constituée soit d'un ou plusieurs nanocanaux rigides (en silicium, par exemple), soit d'une membrane nanoporeuse en polymère de type Nafion dont les pores possèdent une charge de surface importante. Etant donné que toute particule immergée dans un fluide se verra attribuer un potentiel zêta, il est théoriquement possible de concentrer n'importe quel type de particules à l'aide de cette technique.

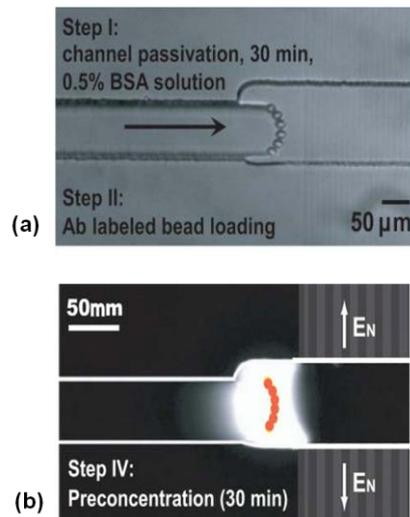
Pour la première fois, des facteurs de concentration supérieur au million ont été publiés par l'équipe du MIT (**Figure 25 b**).<sup>89</sup> Un dispositif en silicium intégrant un nanocanal de 50nm de hauteur est utilisé dans cette étude. L'opération de concentration dure 1h et l'échantillon est constitué de protéines fluorescentes. Les auteurs mentionnent l'importance du ratio entre le champ électrique générant la zone de déplétion ( $E_n$ ) et celui induisant le contre flux électroosmotique ( $E_T$ ). Le but est à la fois de préconcentrer efficacement tout en contrebalançant l'expansion de la zone de déplétion qui pourrait compromettre l'étape de préconcentration.



**Figure 25: Préconcentrateur micro-nanofluidique permettant l'enrichissement d'un échantillon de protéines fluorescentes jusqu'à  $10^7$  fois la concentration initiale. (a) Mode d'actionnement du dispositif. (b) Microscopie par fluorescence de l'étape de préconcentration. Wang *et al.*<sup>89</sup>**

Jusqu'ici l'étape de détection reposait sur la visualisation directe par microscopie de fluorescence de l'échantillon préconcentré. Toutefois, il existe de nombreux tests en biologie reposant sur la reconnaissance spécifique moléculaires tels que les tests immunologiques<sup>95</sup> et les tests de type ELISA.<sup>9,11-13,19</sup> Cependant, ces techniques restent fortement dépendantes du ratio entre la concentration de la molécule cible et la constante de dissociation  $K_d$  de l'anticorps considéré (allant de  $10^{-8}$  à  $10^{-12}$  M). Cette constante définit la concentration minimale de la molécule d'intérêt en dessous de laquelle l'anticorps spécifique se sépare de la molécule. Ainsi, dans le cas de la détection de molécules rares, tels que les biomarqueurs de certain cancers par exemple, un anticorps ayant un faible  $K_d$  est nécessaire. De tels anticorps sont toutefois rares et justifient l'étape de préconcentration pour utiliser une gamme plus large d'anticorps possédant des  $K_d$  plus grands.

Dans cette optique, Wang *et al.*<sup>95</sup> ont développé un préconcentrateur reposant sur la zone de déplétion anodique pour favoriser l'accrochage spécifique de biomolécules sur un lit de billes fonctionnalisées par des anticorps spécifiques (**Figure 26**). Les biomolécules sont effectivement préconcentrées au niveau des billes fonctionnalisées et une diminution d'un facteur 500 de la limite de détection des molécules cibles est ainsi obtenue.<sup>89</sup>



**Figure 26: (a) Cliché du dispositif d'optimisation de l'accroche spécifique en vue de dessus. Etape 1 : insertion des billes fonctionnalisées au niveau de la future zone de préconcentration. (b) Etape 2 : préconcentration des biomolécules dans la zone d'accroche spécifique par accumulation au niveau de la barrière électrostatique anodique. Wang et al.<sup>95</sup>**

Bien que la plupart des travaux se soient focalisés sur la manipulation de biomolécules (protéines, ADN<sup>97</sup>), son efficacité a aussi été démontrée sur des particules plus grosses telles que des cellules ou des bactéries mais à des facteurs de concentration beaucoup plus faibles (entre 50 et 100).<sup>83</sup>

Finalement, ce module de préconcentration a démontré son efficacité. Il peut être couplé à de nombreux autres systèmes nécessitant une étape d'enrichissement d'échantillons. On peut citer les microréacteurs tels que les systèmes de flow focusing (**Figure 27**)<sup>84</sup> ou encore les systèmes de détections massiques tels que les micro-résonateurs (**Figure 28**).<sup>85</sup> En dehors des applications biomédicales les équipes du MIT ont aussi démontré que leur système pouvait être utilisé pour les applications liées à l'environnement tel que le dessalement de l'eau de mer (**Figure 29**), par exemple.<sup>98</sup>

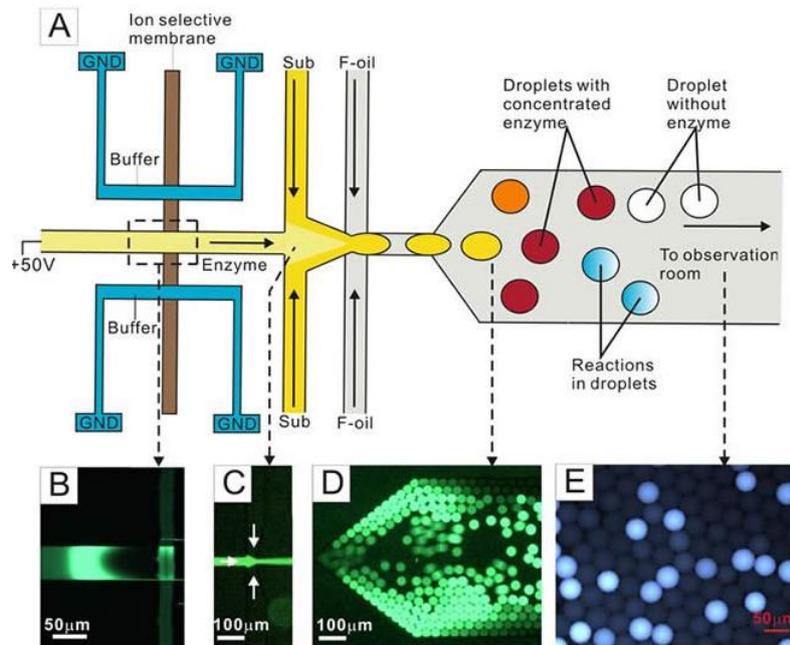


Figure 27: Système pour la détection de réactions enzymatiques par couplage d'un module générant l'ICP et un module de flow-focusing. Les gouttes font offices de microréacteurs enzymatiques pour l'analyse d'une enzyme rare (matrix metalloproteinases ou MMP) impliquée dans différentes pathologies, notamment dans le développement de cancers et de métastases. Une réduction jusqu'à un facteur 10 du temps requis pour compléter une réaction enzymatique a été obtenue. De plus, chaque microgoutte peut ainsi être analysée individuellement. Jusqu'à 10 conditions de réactions différentes peuvent être testées ce qui serait très difficile à réaliser avec les méthodes d'analyses actuelles. Chia-Hung Chen *et al.*<sup>84</sup>

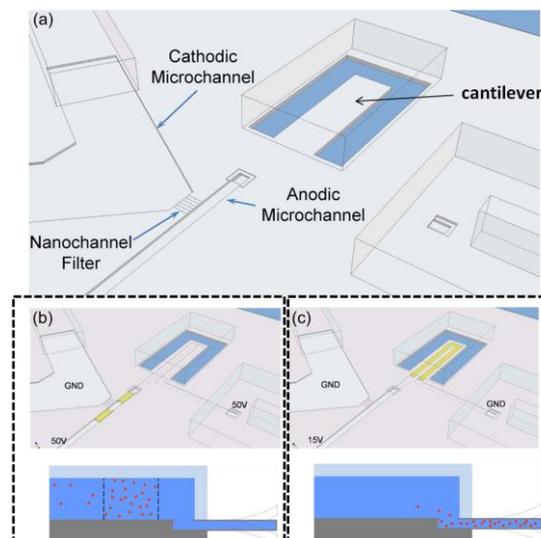
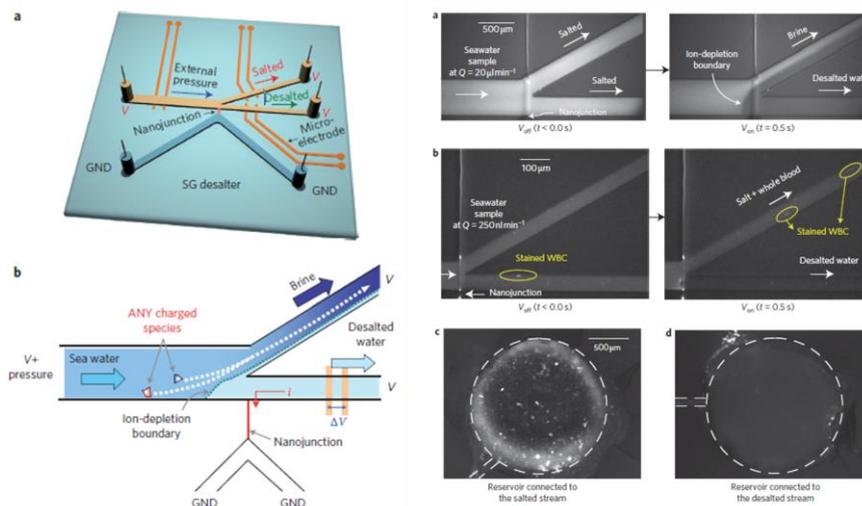


Figure 28 : (a) Système pour la détection de protéines fondé sur l'intégration d'un préconcentrateur par ICP en amont d'un détecteur massique (cantilever). (b) La zone de déplétion ionique est générée afin d'accumuler l'échantillon, (c) puis le champ électrique est activé de manière à acheminer l'échantillon en direction du détecteur massique où sera réalisée la détection. Manalis *et al.*<sup>85</sup>



**Figure 29: Module micro-nanofluidique proposé par S.J Kim *et al.*<sup>98</sup> pour le dessalement de l'eau de mer et de sang totale par ICP. En dehors des applications biomédicales la déplétion ionique est capable d'épurer l'eau en déviant 99% des sels au niveau de la bifurcation en Y. Les auteurs affirment pouvoir convertir de l'eau à 500mM en eau à 10mM. Bien que ne pouvant rivaliser avec les techniques actuelles de dessalement d'eau de mer tels que les techniques d'osmose inverse, par exemple, l'ICP s'affranchi de tout risque de bouchage car le fluide chargé est dévié loin de la nanojonction permettant ainsi des temps d'opération plus longs.**

### **b. Quatre régimes distincts d'électropréconcentration : une compétition entre électroosmose, électrophorèse et ICP**

Dans les travaux que nous venons de décrire, l'effet de préconcentration est attribué au phénomène d'ICP dont le principe est schématiquement introduit en **Figure 21**.

Cependant, une autre approche plus générale pour expliquer la préconcentration de particules anioniques est proposée par Plecis *et al.*<sup>99</sup> Elle inclut l'existence de 4 régimes donnant lieu à 4 points de focalisation (front stable) où les molécules (de tailles inférieures à la hauteur du nanocanal) sont concentrées. Le raisonnement de cette approche est fondé sur la compétition entre le flux électroosmotique et l'électrophorèse au niveau de la micro-nanojonction tout en tenant compte des variations locales de la conductivité induites par le phénomène d'ICP. Deux régimes de préconcentration anodique apparaissent lorsque le flux électroosmotique domine alors que deux régimes de concentration cathodique apparaissent lorsque les forces électrophorétiques prédominent.

Il nous a paru important à ce stade du manuscrit de s'attarder sur ces quatre régimes auxquels nous ferons parfois référence dans la suite pour expliquer certaines de nos observations.

Le schéma de la **Figure 30** représente de manière très schématique les 4 régimes en question :

- Dans le premier régime dit « **Anodic Focusing** » ou **AF**, la composante électroosmotique domine largement sur le flux électrophorétique. Les particules s'accumulent à l'entrée du nanocanal par répulsions électrostatiques. Dans ce régime, la dominance du flux électroosmotique est telle que l'effet d'ICP, et donc la modification locale de la salinité associée, n'influe pas dans le processus de préconcentration. Un régime de saturation est obtenu aux temps long lorsque le transport d'une portion des molécules accumulées à l'entrée du nanocanal équivaut au flux de particules convectées par électroosmose au travers du nanocanal ;
- Dans le deuxième régime dit « **Anodic Counter Gradient Focusing** » ou **ACGF**, la composante électroosmotique est supérieure à la composante électrophorétique mais pas suffisamment pour l'emporter complètement. Proche de l'entrée du nanocanal, du côté de l'anode, le phénomène d'ICP tend à faire chuter localement la conductivité (zone AD) et accroître le champ électrique. Le déplacement électrophorétique des particules anioniques en sera donc favorisé. Il existe un point stable dans le microcanal, loin du nanocanal, où le flux électroosmotique sera compensé par le flux électrophorétique des particules. Elles seront donc concentrées en ce point ;
- Dans un troisième régime dit « **Cathodic Counter Gradient Focusing** » ou **CCGF** la composante électrophorétique est supérieure à la composante électroosmotique mais pas suffisamment pour l'emporter complètement sur l'électroosmose. Proche de l'entrée du nanocanal, du côté de la cathode, le phénomène d'ICP tend à faire grimper localement la conductivité (zone CC) et chuter le champ électrique. Cela aura pour effet de réduire la composante électrophorétique produisant, de manière

similaire au régime ACGF, un point stable de préconcentration loin de la nanofente. Cependant, contrairement au régime ACGF, Plecis *et al.* prédisent un régime de saturation, non plus attribué à la convection des molécules au travers de la nanofente, mais à la diminution du champ électrique au cours du temps dans cette zone enrichie en ions ;

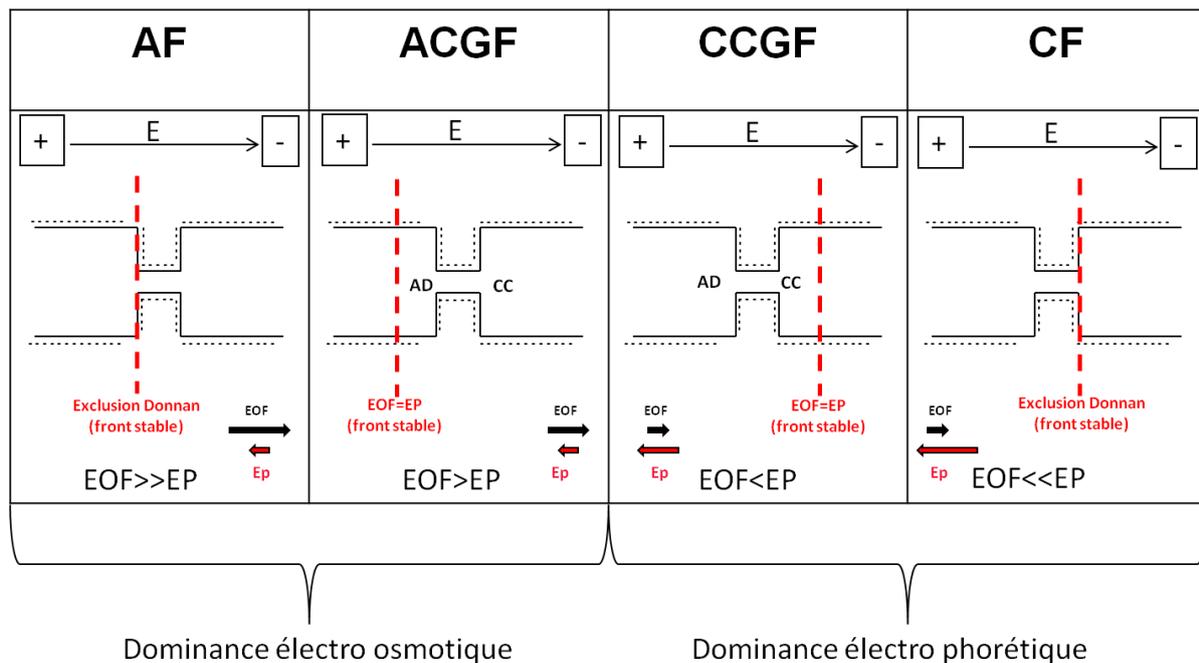
- Le dernier régime dit « **Cathodic Focusing** » ou **CF** s'explique qualitativement de la même manière que le régime AF.

Ce modèle basé sur la compétition entre électroosmose, électrophorèse et ICP est appuyé par des résultats expérimentaux.<sup>100,101</sup> Les auteurs démontrent aussi que cette compétition est étroitement liée à la mobilité électrophorétique des particules à concentrer et à la salinité de la solution utilisée. A faible conductivité (<10 $\mu$ M) les régimes CF et CCGF seraient prédominants car la mobilité électrophorétique des particules est d'autant plus importante que la salinité est faible. En revanche, à force ionique modérée (>10mM) les régimes anodiques seraient prédominant car l'électroosmose est favorisée dans ces conditions. Les régimes anodiques sont d'autant plus efficaces lorsque l'on considère des particules peu mobiles alors que les régimes cathodiques sont optimisés pour des particules à fortes mobilités électrophorétiques.

Parmi ces 4 régimes, le régime ACGF offre les meilleures performances en terme de facteurs de concentration car il ne présente pas de régime de saturation. De plus il est adapté aux tampons biocompatible (>10mM). On peut ainsi supposer que c'est ce régime qui est utilisé dans la plupart des préconcentrateurs nanofluidiques pour la détection de biomolécules (peu mobiles) principalement développés au MIT.

Bien que ce modèle serve de base pour expliquer certaines observations faites lors de nos expériences que nous présenterons plus loin, il présente toutefois quelques limites. En effet, comme mentionné plus haut, il est nécessaire de considérer des espèces négativement chargées pour l'appliquer. Les fronts stables de concentration dans les régimes CGF ne sont plus valables pour des espèces positives puisqu'il n'existe plus de zones où les flux électroosmotiques et électrophorétiques s'opposent. Bien que dans leur étude, les auteurs

placent les travaux de Pu *et al.*<sup>73</sup> dans le régime CF, il est difficile d'expliquer qualitativement le comportement similaire de la rhodamine et de la fluorescéine. En effet, en suivant le modèle que nous venons de décrire les molécules de rhodamine devraient être enrichies du côté de l'anode et appauvries du côté de la cathode en raison de leur charges positives. Le phénomène aurait donc du être inversé par rapport à la fluorescéine chargée négativement.



**Figure 30 :** Schéma représentant les 4 régimes d'électropréconcentration proposés par Plecis *et al.*<sup>99</sup> AD pour « Anodic Depletion » et CC pour « Cathodic Concentration ».

## 2.4 Conclusion

Deux principales méthodes exploitables pour la préconcentration d'un échantillon de particules sont ressorties de cette étude bibliographique : Les méthodes de filtration/concentration stériques et les méthodes d'électropréconcentration.

Parmi les méthodes de filtrations stériques, la filtration tangentielle est la plus couramment utilisée notamment dans l'industrie. Cependant, très peu de systèmes miniaturisés existent. En raison des gros volumes morts inhérents à la méthode, les facteurs de concentration restent inférieurs à 50 ce qui peut parfois être insuffisant. Cette méthode semble toutefois

adéquate pour préconcentrer les particules qui nous intéressent, c'est-à-dire dont la gamme de tailles varie entre 50nm et 1 $\mu$ m.

L'idéal serait de disposer d'une technique de filtration stérique compatible avec une intégration en microsysteme et minimisant les volumes morts tout en permettant d'atteindre des facteurs de concentration élevés. En d'autres termes, il serait souhaitable d'accumuler une grande quantité de nanoparticules dans une zone confinée au même titre que les méthodes d'électropréconcentration.

Les micro-nanosystèmes d'électropréconcentration actuels ont déjà démontrés des performances tout à fait remarquables. Cependant les efforts se sont essentiellement portés sur la préconcentration de molécules et non pas de nanoparticules. On s'aperçoit d'ailleurs que lorsqu'il s'agit de concentrer de plus grosses particules les facteurs de concentration sont nettement moins élevés.<sup>83</sup> Des tensions électriques conséquentes de l'ordre de la centaine de volts sont nécessaires. Par ailleurs, le couplage des différents phénomènes impliqués est complexe et est sujet à débat. Dans notre cas, le fait de se focaliser sur les effets de préconcentration de nanoparticules dont les mobilités électrophorétiques sont élevées nous poussera à considérer la compétition entre électroosmose et électrophorèse.

La stabilité de l'opération de préconcentration est également un point essentiel à traiter en même temps que les effets non linéaires qui peuvent apparaître. Afin de maintenir l'étape de préconcentration sur des temps suffisamment longs, les systèmes actuels nécessitent des étapes d'ajustement de contreflux. Nous verrons comment il est possible de simplifier l'opération de préconcentration en réduisant au maximum l'instrumentation et les étapes de stabilisations.

De manière générale nous viserons à quantifier précisément la préconcentration de nanoparticules. Différentes techniques de préconcentration stériques et électrocinétiques seront abordés. Notre démarche sera donc plutôt applicative mais l'identification et la compréhension des principaux phénomènes impliqués resteront essentielles.



## **3 Matériels et méthodes**

Cette section décrit les instruments et méthodes utilisés pour mener à bien les expériences. Les choix réalisés en termes de technologies, de méthodes et de matériels y seront notamment discutés lorsque cela sera jugé pertinent.

### **3.1 Technologie**

Au départ, plusieurs technologies et matériaux nous ont semblé adéquats pour réaliser nos composants micro-nanofluidiques. En effet, les parties microfluidiques pourraient aussi bien être réalisées en matériaux polymères (Polycarbonate ou PolyDiméthylSiloxane (PDMS), par exemple) qu'en silicium. De même, les canaux nanofluidiques pourraient être réalisés de plusieurs manières (silicium poreux, membranes Nafion etc...). Notre choix s'est finalement porté sur une technologie Silicium standard en raison de sa robustesse et des nombreux avantages pertinents dans le cadre de notre étude : (i) un contrôle fin des dimensions des nanocanaux avec une précision proche de la dizaine de nanomètres ; (ii) des effets d'adsorptions limités ; (iii) des caractéristiques physico-chimiques, tels que les potentiels électriques de surface, relativement bien référencées. Enfin, il a semblé naturel de nous orienter vers cette technologie compte tenu des moyens importants offerts par le CEA. Cela nous a permis de réaliser rapidement nos composants et de commencer les expériences dans les plus brefs délais.

#### **3.1.1 Dessin des masques des composants**

La première étape fut de concevoir et dessiner les géométries des composants micro-nanofluidiques. Il s'agit de dessins à deux dimensions réalisés à l'aide d'un logiciel de type CAO, AUTOCAD. Ce logiciel permet d'obtenir une résolution d'une dizaine de micromètres nettement suffisante compte tenu des dimensions 2D de nos composants. Trois niveaux de masques Chrome/Quartz ont été dessinés pour mener à bien les étapes de

photolithographie. Ces trois niveaux correspondent aux différents niveaux de gravures du silicium : les trous d'accès fluidiques, les canaux microfluidiques et nanofluidiques.

Deux lots de fabrication ont été réalisés lors de cette thèse. Le premier lot, sur wafer silicium de 100mm, a été réalisé dans les salles blanches de la Plateforme Technologique Amont du CEA (PTA). Les composants issus de ces premiers lots ont permis de réaliser assez rapidement les expériences préliminaires et de sélectionner les composants principaux de l'étude. Un deuxième lot, sur wafer silicium de 200mm, a cette fois-ci été réalisé par les équipes de techniciens en salles blanches du BHT. Ce lot avait pour principal objectif de fournir un nombre de composants suffisamment important pour toute la durée de la thèse et fournir de nouveaux motifs pour les futures investigations. La **Figure 31** représente les trois niveaux de masques 200mm dessinés sur AUTOCAD.

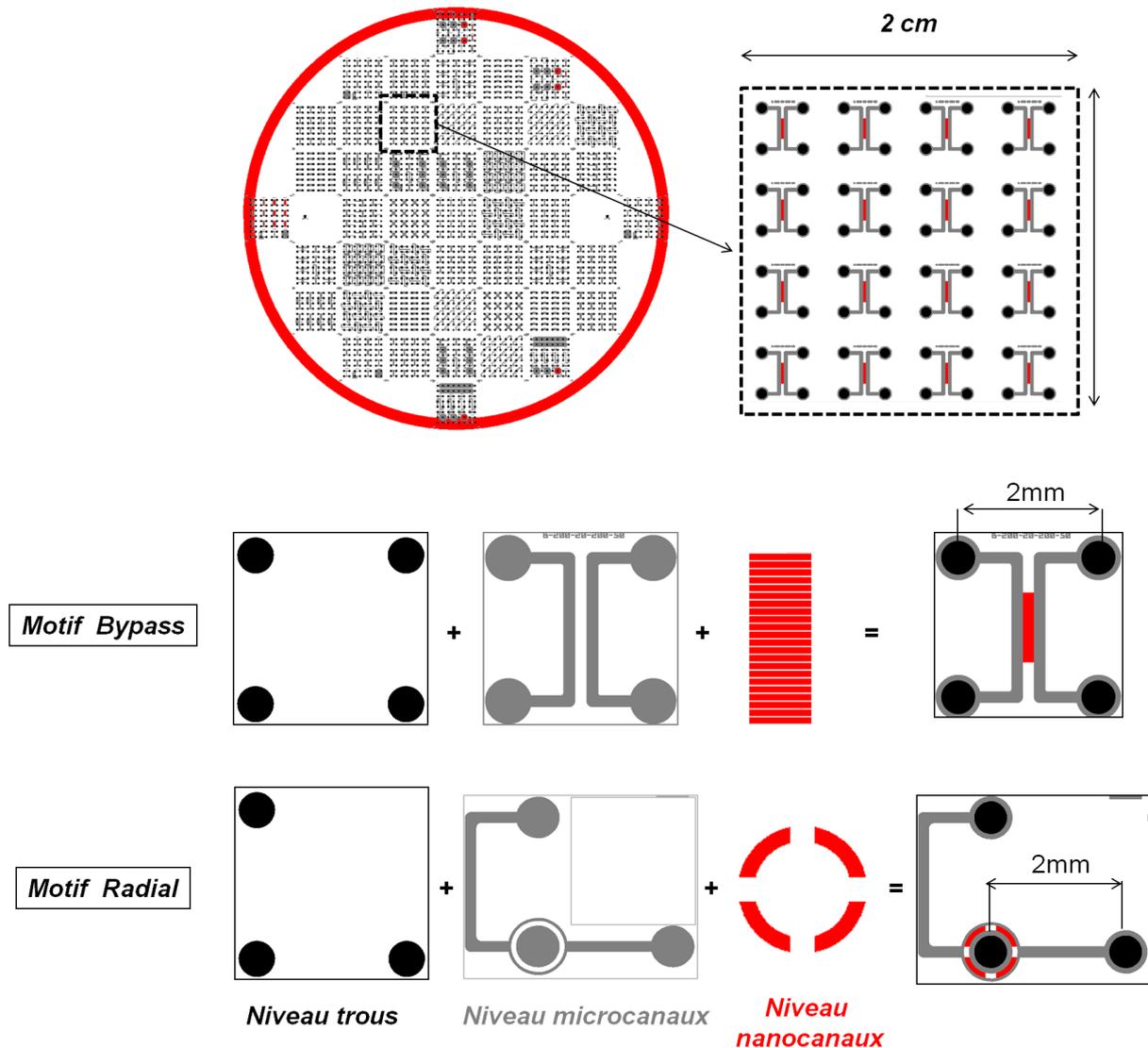


Figure 31 : Superposition des trois niveaux de masques 200mm dessinés sur le logiciel AUTOCAD. Ce sont la reproduction exacte des masques physique Chrome/Quartz utilisés lors des étapes de photolithographie. Sur un wafer de 200mm sont gravées 47 puces en silicium, de 2cm<sup>2</sup> chacune, comprenant chacune en moyenne 16 composants de motifs identiques ou différents. Les deux principaux composants (bypass et radial) sont décomposés selon leur trois niveaux de gravure.

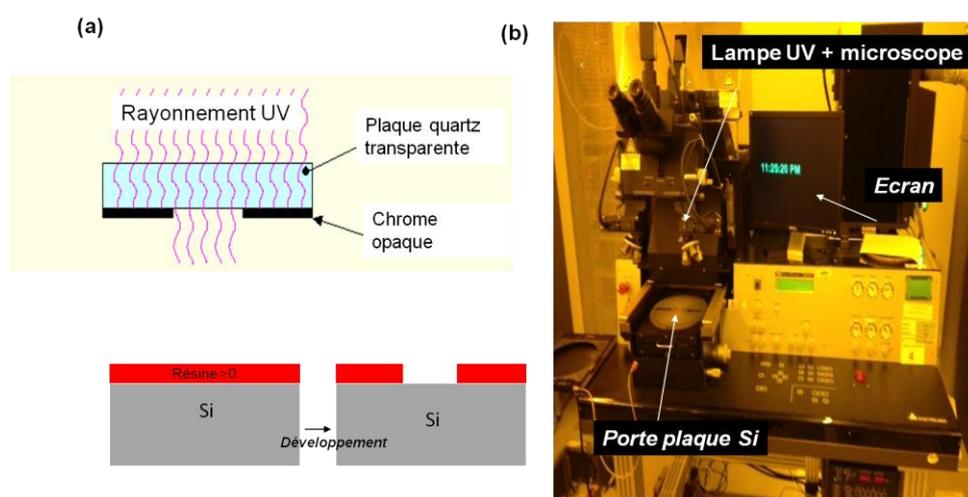
### 3.1.2 Etapes et empilement technologiques

Les dispositifs micro-nanofluidiques ont été fabriqués à l'aide des procédés de technologie MEMS standards pour silicium. Ici, seul le wafer en silicium est gravé et définira les canaux fluidiques. Un wafer de verre servira de capot permettant les visualisations optiques lors des différentes expérimentations.

Avant de décrire en détails les différentes étapes technologiques il est important de définir les quatre principales techniques utilisées lors de la fabrication:

- La lithographie optique pour définir les dimensions avant gravure (**Figure 32**);
- La gravure sèche par bombardement ionique RIE (Reactive Ion Etching) pour réaliser les nanocanaux (**Figure 33**);
- La gravure sèche par bombardement ionique profonde DRIE (Deep Reactive Ion Etching) pour réaliser les parties microfluidiques et les trous d'accès fluidiques;
- Le scellement Verre/Silice pour fermer et étanchéifier les composants (**Figure 34 et Figure 35**).

La lithographie optique consiste à transférer les motifs définis sur les masques Chrome/Quartz en insolant ceux-ci à l'aide d'un rayonnement ultraviolet. Ce rayonnement atteint la plaque de silicium préalablement revêtue d'une résine photosensible pouvant être positive ou négative. Si la résine est positive la partie insolée sera celle définissant les dimensions des canaux. A l'inverse, si la résine est négative les parties insolées seront les parties restantes après développement de la résine avec un solvant. Nous utiliserons en particulier la résine positive JSR420 1.5 $\mu$ m. La **Figure 32** décrit le principe de fonctionnement de cette technique ainsi que l'équipement utilisé.



**Figure 32 : Photolithographie. (a) Schéma représentant le principe de la photolithographie. (b) Photographie de l'équipement de photolithographie. L'équipement est installé dans une salle où les rayonnements UV sont filtrés afin d'éviter toute insolation parasite de la résine, d'où la lumière jaunâtre.**

La gravure sèche RIE est en réalité une technique de gravure plasma dans laquelle interviennent à la fois des effets de bombardements ioniques et des réactions chimiques. Le réacteur injecte des gaz destinés à graver la couche de surface. Une génératrice radiofréquence va permettre de générer dans le réacteur les espèces réactives. Sans polarisation particulière des électrodes, l'attaque est en général isotropique, c'est-à-dire identique suivant toutes les directions. Cependant, lorsque le matériau (silicium) est polarisé, le bombardement ionique conduit à une gravure à flancs « droits ». Ce procédé est appelé gravure anisotropique. Le réacteur est en général équipé d'un système de contrôle de gravure ou, plus exactement, de fin de gravure. Il s'agit d'un interféromètre à laser dont la période du signal change lors d'un changement de matériau (passage de la silice au silicium par exemple). La **Figure 33** décrit le principe de fonctionnement de cette technique ainsi que l'équipement utilisé. Elle sera utilisée pour graver les fines couches d'oxyde de silice ou les nanocanaux en silicium.

La gravure sèche DRIE repose sur le même principe mais nécessite des étapes successives de passivations. Ce procédé de passivation nommé « procédé Bosch » consiste à déposer une couche de passivation polymère entre chaque étape de bombardements ioniques. Il assure des murs parfaitement verticaux sur de grandes profondeurs.

Nous verrons plus loin que, l'ordre dans lequel sont réalisées les étapes de gravure des différents niveaux, sera primordial pour un bon contrôle des dimensions et le bon fonctionnement des composants finis. Cette partie a demandé un travail de réflexion particulièrement important avec les équipes de techniciens.

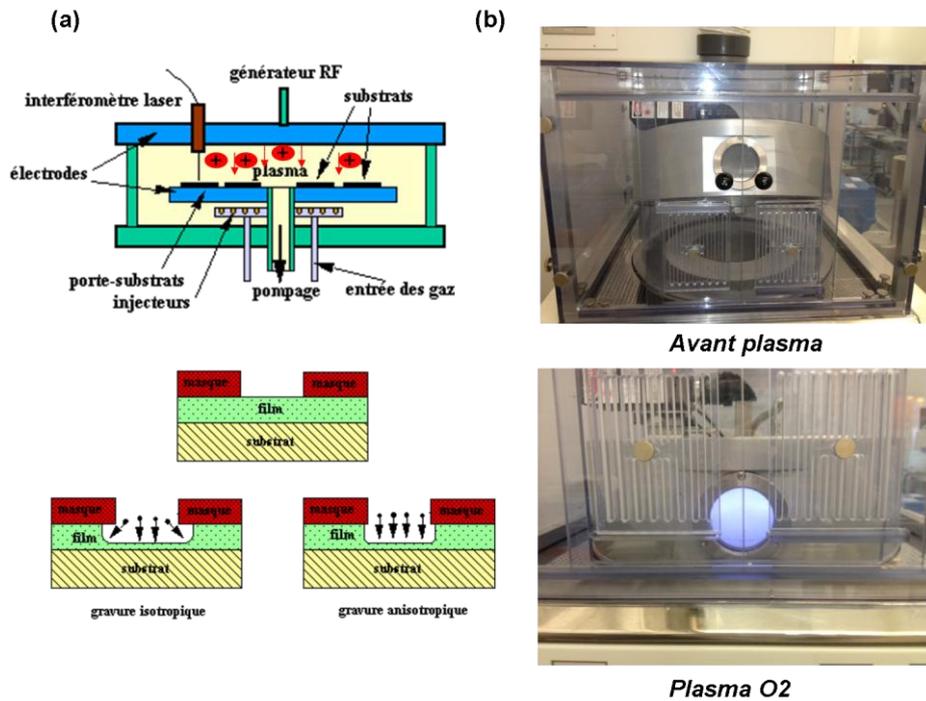
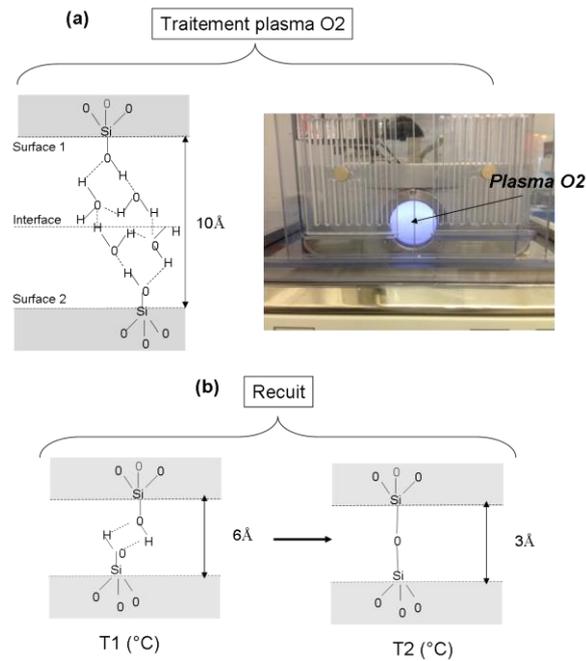


Figure 33 : Gravure Sèche RIE. (a) Schéma représentant le principe de l'étape de gravure.<sup>102</sup> (b) Photographie de l'équipement de gravure (Machine de gravure Nextral). Une étape de plasma O<sub>2</sub> peut être nécessaire pour un nettoyage post-gravure pour éviter toute pollution pouvant être néfaste aux futures étapes de scellement.

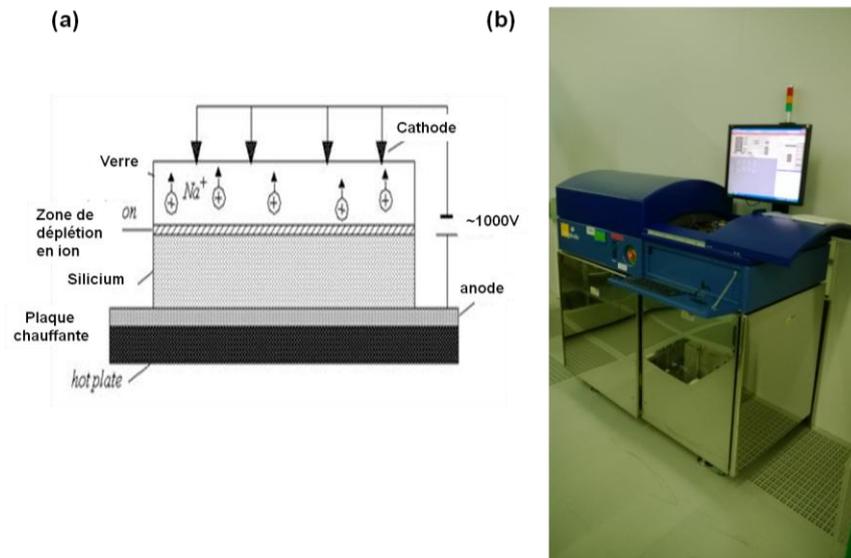
Enfin le scellement direct Verre/Silice (oxydé sur silicium) peut se faire de différentes manières. Dans cette catégorie on compte les scellements moléculaire et anodique. Les **Figure 34 et Figure 35** décrivent le principe de fonctionnement de ces deux techniques ainsi que les équipements utilisés.

Le scellement moléculaire consiste à hydrophiliser les surfaces des deux substrats (verre et silice oxydé sur silicium) en les exposant chacun à un plasma d'oxygène. Avant traitement thermique, les groupements Si-OH interagissent par liaisons faibles Van der Waals. Pour renforcer les liaisons un recuit est donc nécessaire et génère des liaisons covalentes Si-O-Si très robustes.



**Figure 34 : Scellement direct moléculaire. (a) La première étape consiste à exposer les deux surfaces (Verre et silice) à un plasma O<sub>2</sub> et à les presser mécaniquement (manuellement par exemple). A l'issue de cette première étape, les liaisons sont faibles de type Van der Waals. (b) Une étape de recuit est donc nécessaire pour renforcer le scellement en générant des liaisons covalentes fortes de type Si-O-Si (ponts siloxanes).**

Le scellement anodique, quant à lui, consiste à sceller les deux substrats à une température voisine de 420°C (à cette température les coefficients de dilatation du borofloat et du silicium sont proches), sous vide (ou non) en appliquant une pression mécanique et une tension continue de plusieurs centaines de volts.



**Figure 35 : Scellement direct anodique. (a) Schéma représentant le principe de fonctionnement.**<sup>102</sup> Les plaques de silicium oxydé et de verre sont mises en contact et polarisées de manière à faire migrer les ions  $\text{Na}^+$  générant ainsi des liaisons fortes. Cette étape nécessite également un traitement thermique. **(b) Photographie de l'équipement de scellement anodique.**

Dans le cadre de cette étude les scellements moléculaire et anodique seront utilisés. Le scellement moléculaire sera toutefois préféré au scellement anodique pour s'affranchir des éventuels effets de charges incontrôlés.

Les principales étapes de fabrication des composants micro-nanofluidiques sont les étapes de gravures et d'oxydations thermiques illustrées en **Figure 36 b**. Les trois niveaux de gravure définis précédemment (trous, microcanaux, nanocanaux) sont réalisés dans un ordre bien précis :

- a) Gravure RIE des nanocanaux (50 ou 100nm de profondeur) définis au préalable par photolithographie (étape b1);
- b) Gravure RIE du masque dur en  $\text{SiO}_2$  réalisé par dépôt PECVD ( $1\mu\text{m}$  d'épaisseur) et définissant les dimensions des chambres microfluidiques (étapes b2 et b3);
- c) Gravure partielle des trous d'accès fluidiques par DRIE définis au préalable par photolithographie (étapes b4);

- d) Gravure simultanée des microcanaux ( $10 \pm 5\mu\text{m}$  de profondeur) et des trous traversant par DRIE (étapes b5).

Enfin, les étapes d'oxydation thermique du silicium suivantes sont réalisées:

- a) Première oxydation (500nm d'épaisseur) thermique suivi d'une désoxydation et d'une méthode de rinçage conventionnelle RCA1 et RCA2.<sup>103</sup> Cette étape est nécessaire pour nettoyer efficacement la surface des canaux de toutes les impuretés inhérentes au procédé de passivation Bosch (étapes b6);
- b) Dernière oxydation thermique (500nm d'épaisseur) avant scellement (étapes b7 et b8).

Finalement trois points essentiels ressortent de ces principales étapes:

- L'étape de gravure des nanocanaux arrive en premier pour faciliter l'étape de lithographie;
- Les microcanaux et les trous sont finalement gravés ensemble sans utiliser de résine. Le masque dur protège plus efficacement les nanocanaux d'une éventuelle sur-gravure;
- La dernière étape d'oxydation est essentielle pour l'isolation électrique des composants finaux.

Une mesure par profilométrie de la hauteur des nanocanaux (dimension critique des composants) a été réalisée. Une uniformité de  $100 \pm 20\text{nm}$  et  $50\text{nm} \pm 10\text{nm}$  est ainsi mesurée. Bien que la précision de gravure soit excellente, l'erreur représente tout de même 20% de la profondeur des nanocanaux. Ce n'est donc pas négligeable compte tenu de la taille des nanoparticules (50nm de diamètres) manipulées au cours des expériences. Cela peut en effet avoir une incidence sur le caractère bloquant ou passant des nanofiltres.

Les **Figure 36** et **Figure 37** représentent les dimensions caractéristiques des deux composants de références utilisés pour nos expérimentations. On notera que les piliers de

scellement au niveau de la nanofente du système radial assurent un scellement efficace du capot en verre (repère 1).

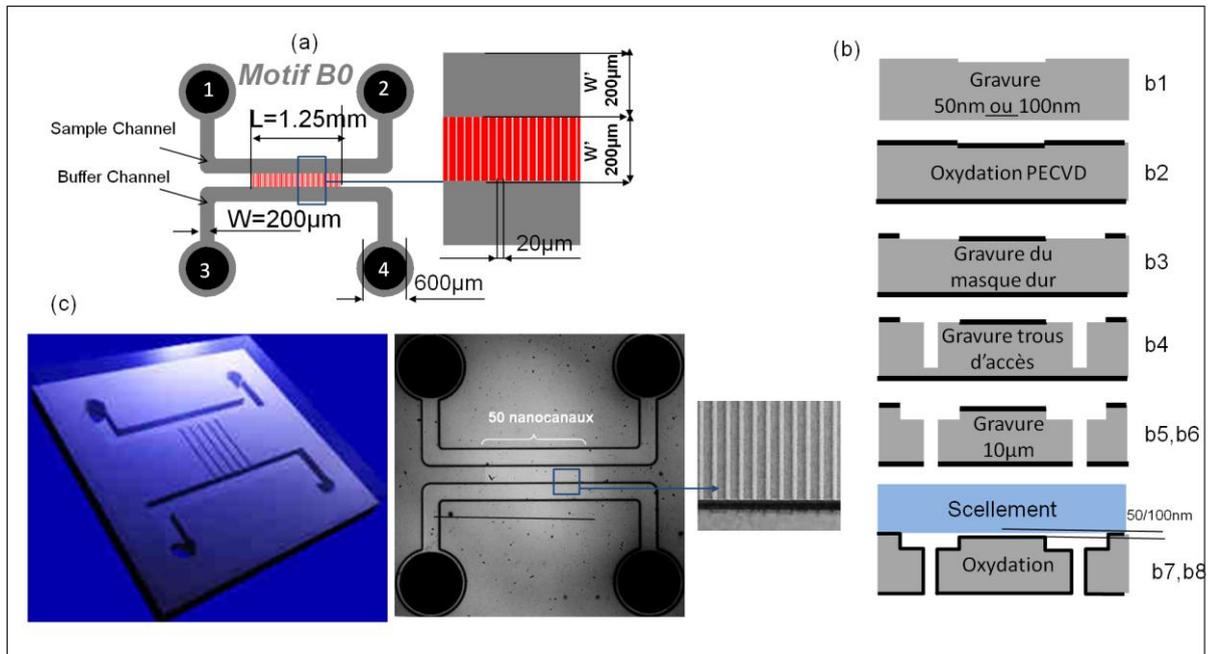


Figure 36 : (a) Schéma du dispositif Bypass nominal (motif B0) et ses dimensions caractéristiques 2D. (b) Schéma représentant les principales étapes de microfabrication sur silicium. (c) Microscopie en lumière blanche et représentation 3D du composant.

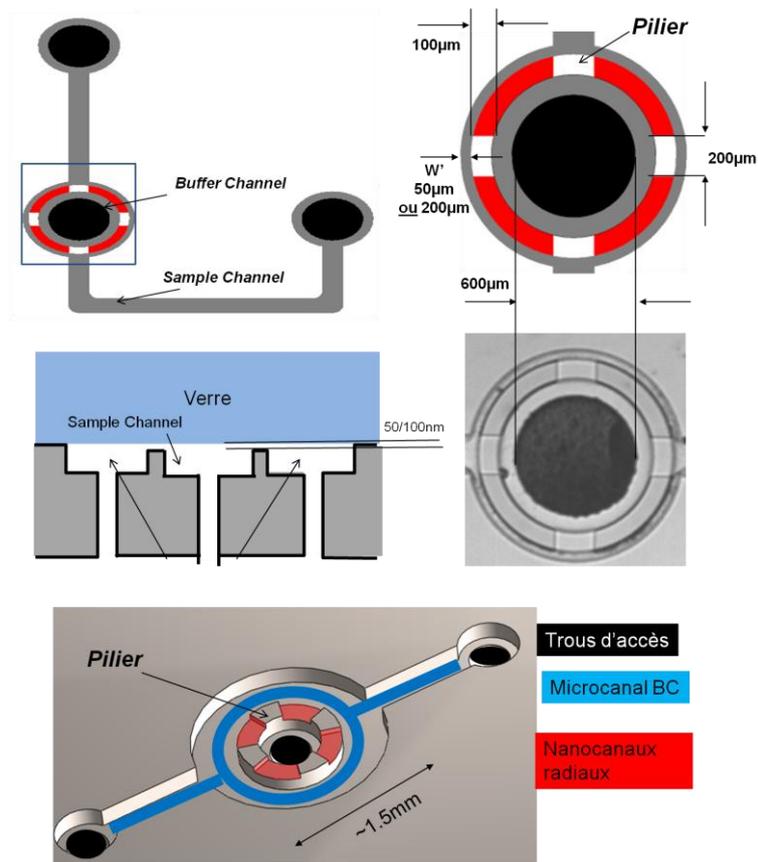
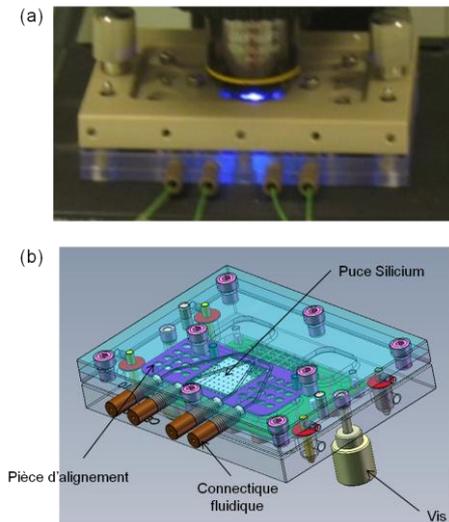


Figure 37: (a) Vue de dessus du composant micro-nanofluidique radial et détail des dimensions caractéristique 2D de la micro-nanojonction. (b) Vue en coupe et (c) représentation 3D du composant.

## 3.2 Banc expérimental

### 3.2.1 Connectiques

Un banc fluidique en polycarbonate est utilisé pour assurer l'étanchéité lors des expériences. Une pièce usinée en aluminium permet d'aligner chacune des 4 entrées/sorties des composants face aux trous usinés dans le polycarbonate. Ainsi les liquides contenus dans chaque réservoir peuvent être directement acheminés dans les canaux du composant micro-nanofluidique. Les fluides sont acheminés via des tubes Tignons directement connectés au banc fluidique (**Figure 38**).



**Figure 38 : Banc fluide en polycarbonate. (a) Photographie de l'utilisation du banc lors d'une expérience de microscopie par fluorescence. (b) Représentation 3D du banc fluide.**

Nous avons pu bénéficier de ce banc expérimental tout au début du projet de thèse. Nous avons également réalisé certaines expériences avec une puce silicium scellée sur un banc en PDMS ou sur une carte plastique plus simple du point de vue de la connectique, mais l'essentiel des expériences ont été réalisées sur le banc décrit précédemment.

### 3.2.2 Montage expérimental

#### a. Electrocinétique

Les tensions sont générées dans les réservoirs à l'aide d'un générateur de tension (Stanford Research System, Inc., Model PS 350/ 5000V-25W) et d'électrodes en platines immergées dans le fluide. Les électrodes sont intégrées aux réservoirs grâce au système Electrowell (Fluigent).

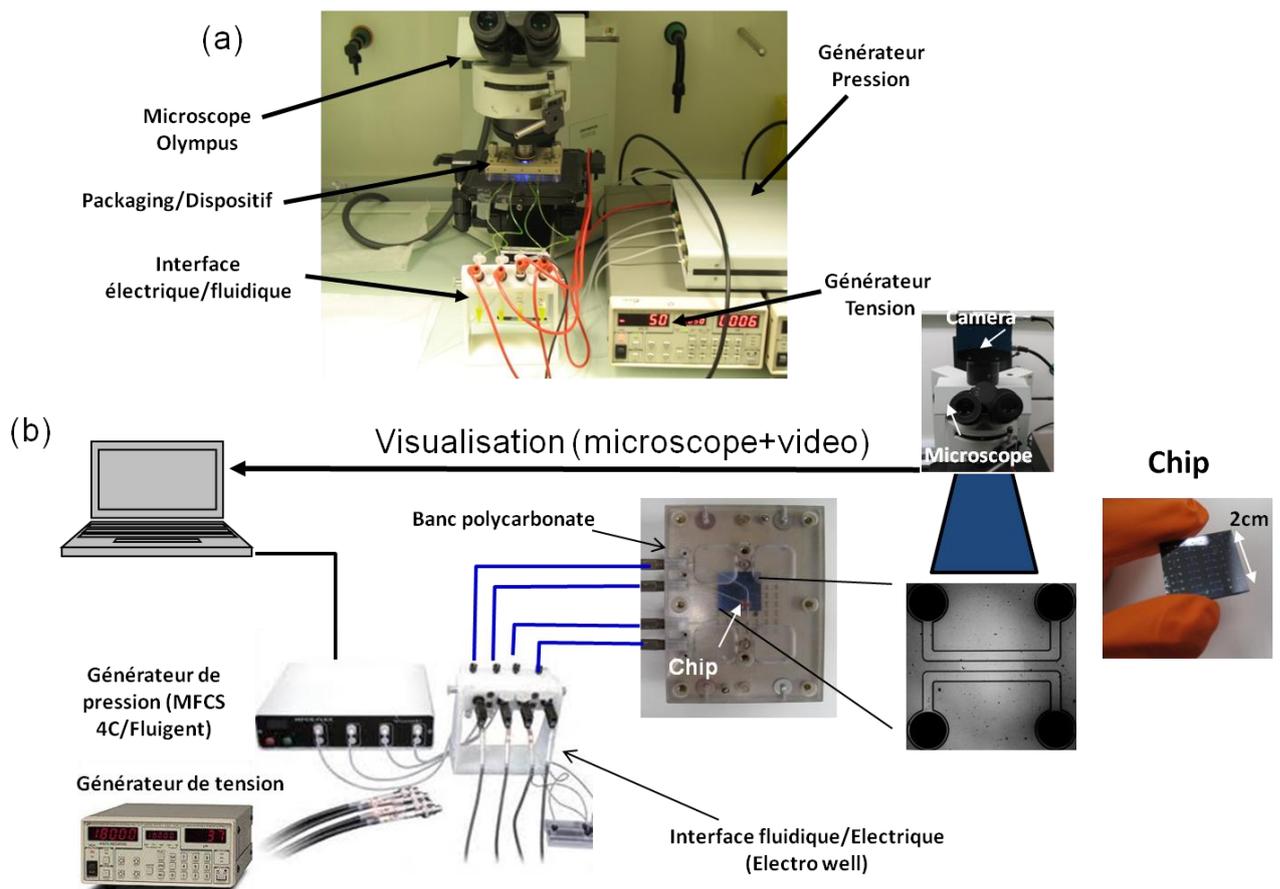
#### b. Fluidique

Un contrôleur en pression MFCS 4C (Fluigent) est également utilisé pour contrôler indépendamment les pressions à chaque entrée fluide des composants.

### c. Imagerie

- Les expériences ont été imagées à l'aide d'un microscope épifluorescent Olympus BX60M équipé d'une lampe à mercure de 100W ;
- Un jeu de filtres a été utilisé pour détecter les émissions dans le vert et le rouge des micro et nanoparticules ;
- Les échantillons biologiques ont été observés à l'aide d'un filtre à fond noir;
- Une caméra CCD rapide (Mikrotron, MotionBlitz EoSens cub 7) a été utilisée pour réaliser les séquences d'images, notamment pour les analyses par méthode Micro PIV.

La **Figure 39** représente le montage expérimental et les différents accessoires principaux.



**Figure 39 :** (a) Photographie du montage expérimental. (b) Schéma du montage expérimental avec les accessoires principaux.

## 3.3 Méthodes de caractérisation

### 3.3.1 Méthode Micro-PIV : Micro-Particles Image Velocimetry

Afin de suivre les écoulements dans nos systèmes il est nécessaire d'utiliser une méthode précise pour évaluer les débits. Compte tenu des dimensions des canaux, les débit-mètres massiques actuels ne sont pas assez précis. Une technique alternative doit donc être utilisée.

La méthode de Micro-PIV est une méthode optique permettant d'obtenir le champ de vitesse de l'écoulement dans un plan.<sup>104</sup> L'écoulement estensemencé de particules fluorescentes micro ou nanométriques de densité proche de celle du fluide pour suivre sa dynamique sans le perturber. L'écoulement est observé à travers un microscope et une caméra prend un grand nombre d'images successives. Un logiciel de traitement analyse les images et détecte le déplacement de groupe de particules. Connaissant ainsi le déplacement et le temps entre deux images, un vecteur vitesse est associé à chaque groupe. En micro PIV, le plan dans lequel est mesuré le champ de vitesse est défini par le plan focal de l'objectif et non une nappe laser comme en PIV standard. L'écoulement estensemencé avec un faible nombre de particules (pour ne pas saturer les images) mais un grand nombre d'images est nécessaire pour avoir une bonne densité de vecteurs vitesse. Ensuite le logiciel fait des corrélations sur l'ensemble des images pour calculer les déplacements.

La **Figure 40** montre les différents stades de la méthode Micro-PIV dans le cadre de nos expériences. La première étape consiste en l'acquisition d'images successives. Les billes en polystyrène de 1 $\mu$ m fluorescentes ont été préférées à des microbilles plus grosses pour limiter le phénomène de sédimentation. Une fois les images enregistrées elles sont traitées à l'aide d'un logiciel développé par S.Wereley dont l'interface est représentée en **Figure 41**. Chaque image acquise à un instant  $t$  est quadrillée en  $N$  cellules de  $n$  pixels chacune. Puis, un calcul de corrélation est réalisé entre chaque cellule de toutes les images afin de traquer le déplacement des particules. Connaissant la position  $(x, y)$  et l'intervalle de temps  $t$  entre chaque image, le logiciel en déduit un vecteur vitesse 2D au niveau de chaque cellule. On obtient ainsi une cartographie complète du champ de vitesse dans le microcanal dans le plan

$(x, z)$ . Les courbes du profil de vitesse le long du microcanal sont ainsi obtenues en calculant sous matlab la vitesse moyenne au niveau de chaque maille.

Pour toutes les expériences, un quadrillage de  $8 \times 8$  pixels et un temps d'acquisition entre chaque image de  $0,1s$  ont été choisis pour un calcul de vitesse optimisé. En tout, 500 images sont acquises en 50s. Un recouvrement de 50% entre cellules d'une même image a été choisi afin d'augmenter la densité des vecteurs vitesses.

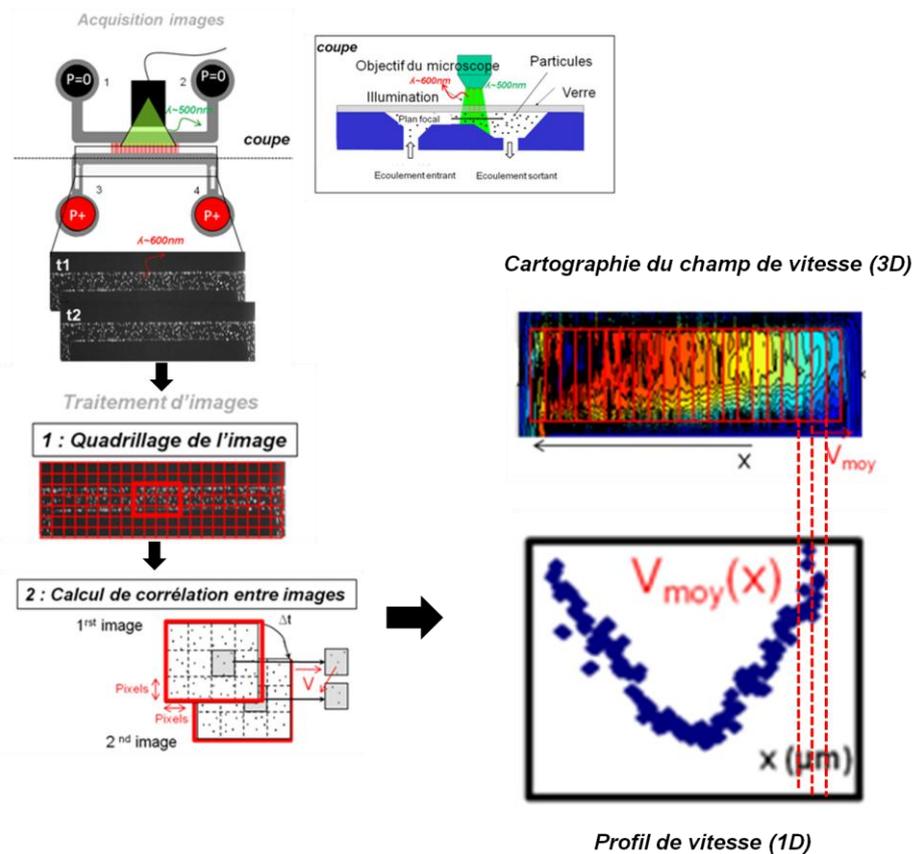


Figure 40 : Les étapes pour la mesure de l'écoulement par Micro-PIV. 1-Acquisition d'images - Schéma représentant l'acquisition d'images et la vue en coupe de l'étape d'acquisition. 2-Traitement d'images - Chaque image est quadrillée en  $N$  cellules de  $n$  pixels. Chaque image est ensuite corrélée à l'image de l'instant  $t$  suivant. Connaissant la position en  $(x, y)$  de chaque particule et l'intervalle de temps entre chaque image, une cartographie du champ de vitesse dans tout le microcanal est calculé. En calculant sous Matlab la vitesse moyenne en chaque maille, on en déduit le profil de vitesse selon  $x$ .

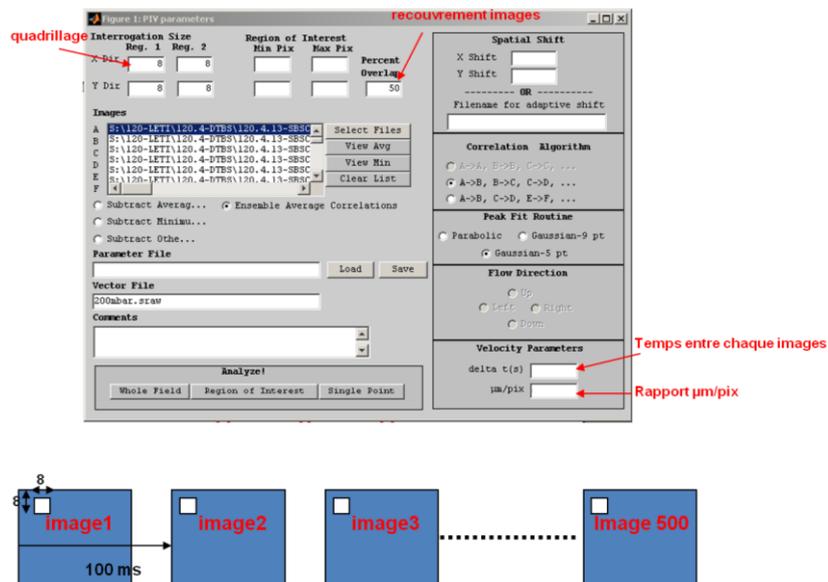


Figure 41 : Interface du logiciel PIV. Pour toutes les expériences un quadrillage de 8x8 pixels et un temps d'acquisition entre chaque image de 0,1s ont été choisis pour un calcul de vitesse optimisé. En tout 500 images sont acquises en 50s. Un recouvrement de 50% entre cellules d'une même image a été choisi afin d'augmenter la densité de vecteurs vitesse.

### 3.3.2 Mesure du « streaming potential »

La **Figure 42** représente les résultats de l'expérience décrite au **chapitre 4.4** qui consiste à mesurer le potentiel d'écoulement en fonction de la pression imposé dans un microcanal. Le schéma simplifié de l'expérience y est aussi représenté. En effet, une mesure directe du potentiel d'écoulement avec notre matériel étant difficile, des résistances de 100 G $\Omega$  ont dû être montées en parallèle afin de réaliser un circuit équivalent permettant de remonter à la valeur réel du potentiel d'écoulement. Des tensions électriques allant jusqu'à 40V sont mesurées. Bien que la mise en œuvre de l'expérience soit sujette à beaucoup d'incertitudes, dues notamment au bruit électrique généré par le banc expérimental, elle démontre que des tensions proches de la dizaine de volts peuvent être générées lorsqu'un liquide très peu conducteur est injecté dans le microcanal (EDI).

L'optimisation de la mesure du potentiel d'écoulement est très délicate et ne constitue pas l'objectif de la thèse. D'autres projets se sont focalisés sur la mesure de ce type de phénomènes et ont déjà fait l'objet d'un travail considérable.<sup>12</sup> Le but ici est plutôt de montrer une tendance et d'obtenir un ordre de grandeur qui sera confirmé par d'autres expériences.

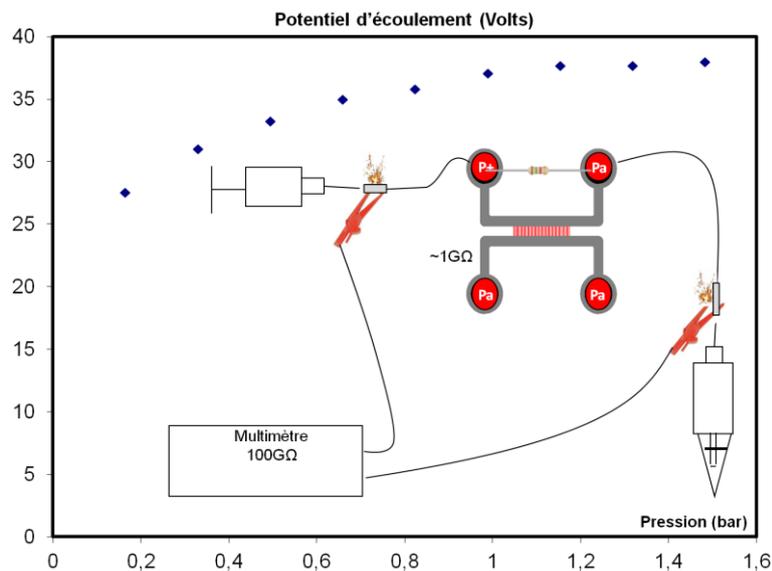


Figure 42 : Evolution du potentiel d'écoulement en fonction de la pression et schéma simplifié représentant l'expérience de mesure du potentiel d'écoulement dans le microcanal du motif B0 lors des expériences d'EL-EP du chapitre 4.4.

### 3.3.3 Mesure des grandeurs électrochimiques

- L'eau déionisée (EDI) est obtenue à partir du système milli-Q®. Sa force ionique et sa résistivité sont respectivement de  $10^{-6}$  M et  $18,2 \text{ M}\Omega\cdot\text{cm}$  à  $25^\circ\text{C}$ . A l'air ambiant la conductivité de l'eau peut être dû à l'absorption du dioxyde de carbone de l'air dissous dans l'eau et aux diverses contaminations inhérentes aux manipulations. La conductivité réelle est estimée à  $\sim 22 \mu\text{S}\cdot\text{m}^{-1}$ . Le pH de l'eau dans ces conditions a été mesuré à  $\sim 6,5$ , à l'aide d'un pH mètre. Le potentiel zêta de la silice en contact avec l'eau dans ces conditions a été mesuré à  $\sim -60\text{mV}$ . Les solutions de PBS à  $100 \mu\text{M}$ ,  $1 \text{ mM}$  et  $10 \text{ mM}$  sont obtenues par dilution d'une solution mère à  $100\text{mM}$  ;
- Le potentiel zêta de la surface des canaux et la conductivité des solutions ont été estimés à l'aide du système SurPASS d'Anton Paar®;
- La taille, le potentiel zêta et la mobilité des particules ont été mesurés à l'aide du zêta sizer Nano series de chez Malvern Instruments.

### 3.3.4 Mesure du facteur de concentration

Afin d'estimer les facteurs de concentration, une mesure du niveau de fluorescence est réalisée à chaque instant  $t$  en prenant en compte les éventuelles phénomènes de bleaching. L'intensité de fluorescence est plus ou moins intense en fonction de l'efficacité de préconcentration du système. Ainsi, pour éviter tout effet de saturation de la caméra, des temps d'expositions différents doivent être choisis. Ces temps d'exposition varient entre 2000 et 5000  $\mu\text{s}$ . Une fois les images acquises par microscopie de fluorescence, nous les traitons ensuite à l'aide du logiciel imagej qui nous permet de mesurer localement l'intensité moyenne de fluorescence dans une région d'intérêt (ROI) identique pour chaque image. Le FC est ensuite estimé en calculant le rapport entre cette intensité moyenne et l'intensité moyenne de la solution mère de nanoparticules qui est à une concentration de  $10^{14}$   $\text{pl.ml}^{-1}$ .

## 3.4 Echantillons

### 3.4.1 Nanoparticules

#### a. Nanoparticules Lipidiques : LNPs (Lipidic Nanoparticles)

La formulation de nanoparticules lipidiques<sup>105,106</sup> (LNPs) fluorescentes de plusieurs tailles (entre 30 et 100nm de diamètres) a occupé une importante partie de la thèse. Dans cette étude, seules les LNPs de 100nm seront utilisées car le protocole est mieux maîtrisé pour ce type de particules.

Le cœur des particules est constitué d'huile et de cire tandis que la coque est constituée d'un mélange de surfactants lipophiles et de surfactants hydrophiles. La composition de ces particules en font de bon modèles de virus ou d'exosomes de part leurs tailles et leurs propriétés mécaniques (nanoparticules déformables ou « soft nanoparticles » en anglais). Le potentiel zêta des LNPs peut également être contrôlé (soit négatif, soit positif) avec l'ajout à la surface de lipides cationiques ou neutres (de charge électrique négative dans l'eau). Le cœur peut être dopé d'un fluorophore (le plus souvent par du DIO émettant dans le vert à 508nm et excité dans le bleu à 468nm).

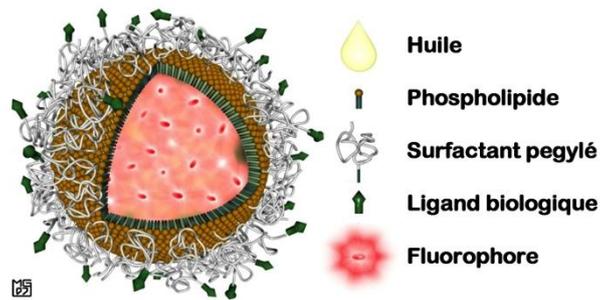


Figure 43 : Schéma d'une LNP. Pour le cœur des LNP, la cire retenue est la Suppocire NC de Gattefossé et de l'huile de soja est ajoutée pour avoir un cœur amorphe. La coque de surfactants est constituée d'un mélange de surfactants lipophiles et de surfactants hydrophiles. De la lécithine de soja est utilisée comme surfactant lipophile alors que des surfactants PEG sont utilisés comme surfactants hydrophiles.

Les particules lipidiques de taille moyenne estimée à 100 nm ont une polydispersité de 0,20, une mobilité de  $\sim 4,5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$  (cationiques) ou  $\sim 2,6 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$  (anioniques) et un potentiel zêta de +60mV (cationiques) ou -30mV (anioniques) dans l'EDI. La concentration mère en nanoparticules des solutions est estimée à environ  $10^{14}$  particules. $\text{ml}^{-1}$ .

Le protocole de synthèse de LNP est schématisé en **Figure 44**. Il consiste à préparer séparément la phase aqueuse constituant la couronne et la phase huileuse constituant le cœur de la particule. Les deux phases sont homogénéisées par ultrasonification. On récupère ensuite la solution de LNP (nanoémulsion) après dialyse du mélange.

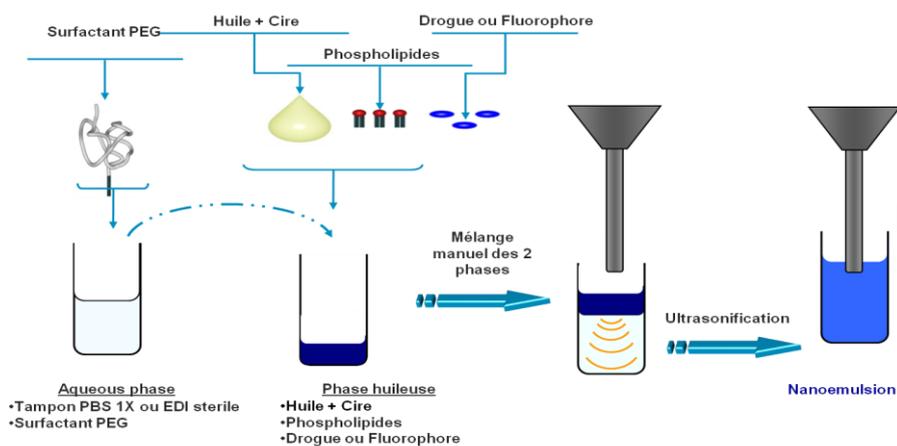


Figure 44 : Schéma du protocole de fabrication d'un lot de LNP. <sup>105</sup>

Ce travail a été réalisé en collaboration avec le laboratoire LCMI, plus particulièrement avec l'équipe d'Isabelle Texier Nogues, et avec Jonathan Bruniaux en thèse au laboratoire LBAM sur le sujet de la transfection cellulaire médié par LNPs.

## b. Nanoparticules en polystyrène

Deux types de nanoparticules fluorescentes en polystyrène sont utilisés. Des nanobilles de polystyrènes commerciales (Intertek) de 50nm de diamètre (l'échantillon à préconcentrer) et de 1 $\mu$ m de diamètre. Pour contrôler et mesurer les écoulements durant les expériences, les microbilles en polystyrène de diamètre 1 $\mu$ m furent systématiquement ajoutées aux échantillons et émettent dans le rouge (Intertek, maximum d'excitation: 542nm, maximum d'émission: 612nm) pour ne pas fausser les mesures de facteurs de concentration. Les longueurs d'ondes d'émission et d'excitation des nanobilles sont de 508 nm (vert) et 468 nm (bleu). Les particules ont une taille moyenne de 57.8 nm pour une polydispersité de 0,074, une mobilité de  $-5.5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$  et un potentiel zêta de -70mV dans l'EDI. La concentration en nanoparticules des solutions mères est d'environ  $10^{14} \text{ particules} \cdot \text{ml}^{-1}$ .

La **Figure 45** récapitule sous forme de tableau les grandeurs physiques importantes caractéristiques des particules utilisées dans les expériences.

Type	Zêta	taille	Mobilité ep	émission	solvant
Nanobilles INTERTEK	-70mV	57,8 $\pm$ 4,2nm	$-5,5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$	vert	EDI pH 6.5
LNPs cationiques	+60 mV	100 $\pm$ 20nm	$4,5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$	vert	EDI pH 6.5
LNPs anioniques	-30mV	100 $\pm$ 20nm	$2,6 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$	vert	EDI pH 6.5
Microbilles INTERTEK	-72mV	1 $\mu$ m	$-5,6 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$	rouge	EDI pH 6.5

**Figure 45 : Grandeurs caractéristiques des différentes particules utilisées dans l'EDI à pH 6,5**

### 3.4.2 Protocole de préparation de la culture bactérienne

Les cellules bactériennes de type *Escherichia coli* ATCC® 96-37TM, (de taille environ égale à  $1\mu\text{m}$ ) ont été cultivées dans un batch de culture de 25mL LB Broth Liquid medium (L2542 Sigma Aldrich) à  $37^\circ\text{C}$  pendant approximativement 17h. Les bactéries ont ensuite été rincées avec de l'eau DI par centrifugation (3500 rpm pendant 3min, répété 3 fois après renouvellement du supernatant). La concentration en bactéries a été estimée à  $10^6 \text{pl}.\mu\text{l}^{-1}$  par mesure de densité optique. Les bactéries furent ensuite diluées dans l'EDI. La concentration finale est de  $10^5 \text{particules}.\mu\text{l}^{-1}$ .

## 3.5 Protocole fluïdique

### 3.5.1 Stabilisation des écoulements : système de vases communiquants

Afin de visualiser et exploiter tous les phénomènes décrits dans cette étude il est primordial de s'affranchir de tout écoulement parasite dans le microcanal. A nos échelles, la moindre petite différence de pression hydrostatique entre les réservoirs connectés aux microcanaux peut engendrer un écoulement parasite. Afin de s'affranchir de ce problème nous avons conçu un banc fluïdique expérimental permettant de modifier indépendamment la position en  $z$  de chaque réservoir. Une vanne trois voies est aussi ajoutée pour s'affranchir des variations de pression inhérentes au contrôleur de pression. Ainsi, il est possible de contrôler précisément les jeux de pression entre chaque entrée du microcanal pour équilibrer les flux ce qui sera essentiel pour le mode symétrique décrit plus loin.

Avant chaque expérience, les pressions aux entrées du microcanal contenant l'échantillon sont donc stabilisées de manière à réduire au maximum ces écoulements parasites comme le montre la **Figure 46**.

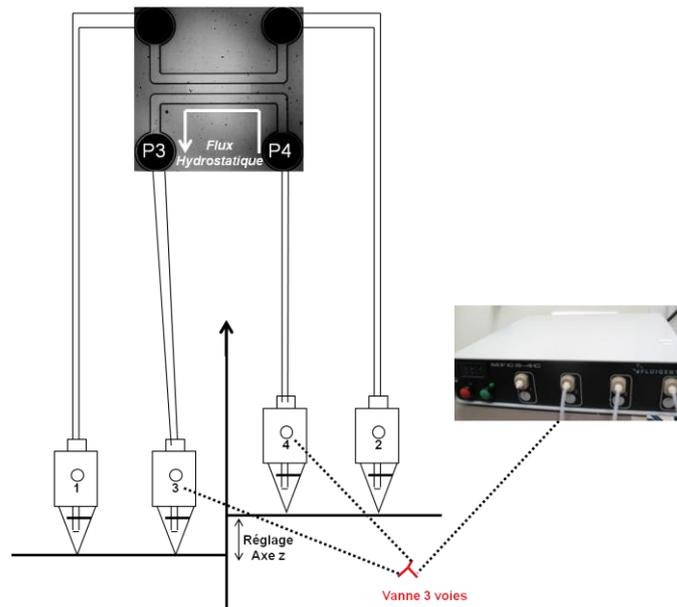


Figure 46 : Représentation schématique de l'étape de stabilisation des écoulements par système de vases communicant.

### 3.5.2 Remplissage du composant radial

Afin de limiter l'apparition de bulles d'air lors du remplissage du système radial, un protocole précis doit être suivi:

- a) L'eau est d'abord injecté via l'entrée centrale du dispositif ;
- b) L'échantillon est ensuite injecté par une des entrées périphériques pour remplir la chambre microfluidique.

# 4 Préconcentration, filtration de nanoparticules dans un dispositif micro-nanofluidique bypass

## 4.1 Introduction

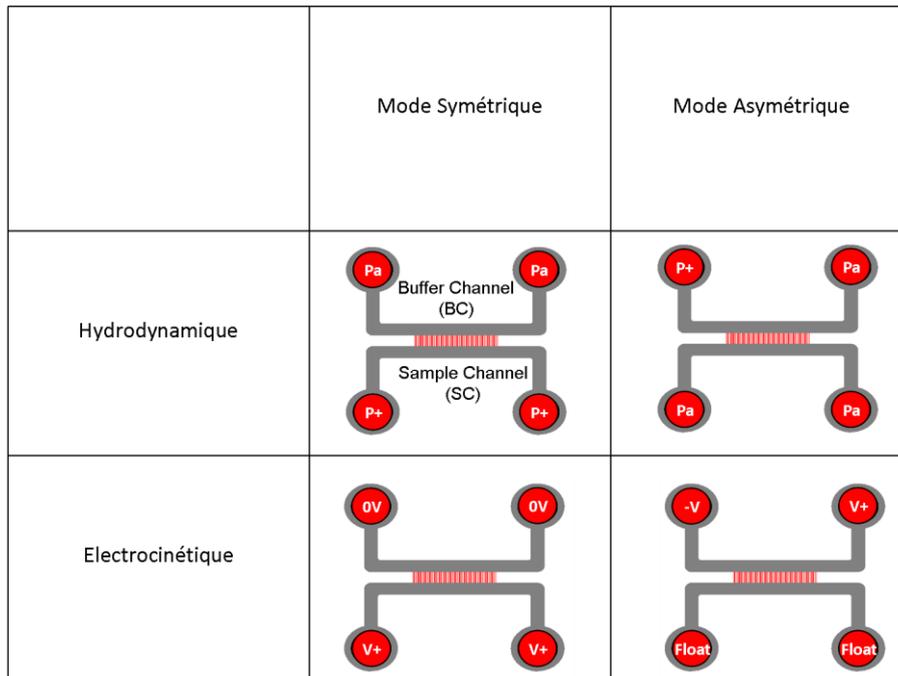
L'organisation du présent chapitre reflète les trois principaux modes d'actionnement des architectures de type bypass imaginés pour la préconcentration de nanoparticules :

- Une première partie du chapitre traitera du **mode Symétrique hydrodynamique (section 4.2)**. Il consiste à appliquer des pressions identiques au niveau des deux entrées du microcanal contenant l'échantillon (Sample Channel ou SC). Le canal contenant la solution tampon (Buffer Channel ou BC) est maintenu à pression atmosphérique;
- La deuxième partie traitera du **mode Symétrique Electro-dynamique (section 4.3)**. Il consiste à appliquer des tensions électriques symétriques au niveau de chaque microcanal;
- La dernière partie traitera du **mode Asymétrique Hydrodynamique (section 4.4)**. Ce mode consiste à appliquer un gradient de pressions le long du microcanal BC alors que le microcanal SC est maintenu à pression atmosphérique. Le **mode Asymétrique Electro-dynamique** viendra en complément du mode hydrodynamique afin d'appuyer certains résultats expérimentaux.

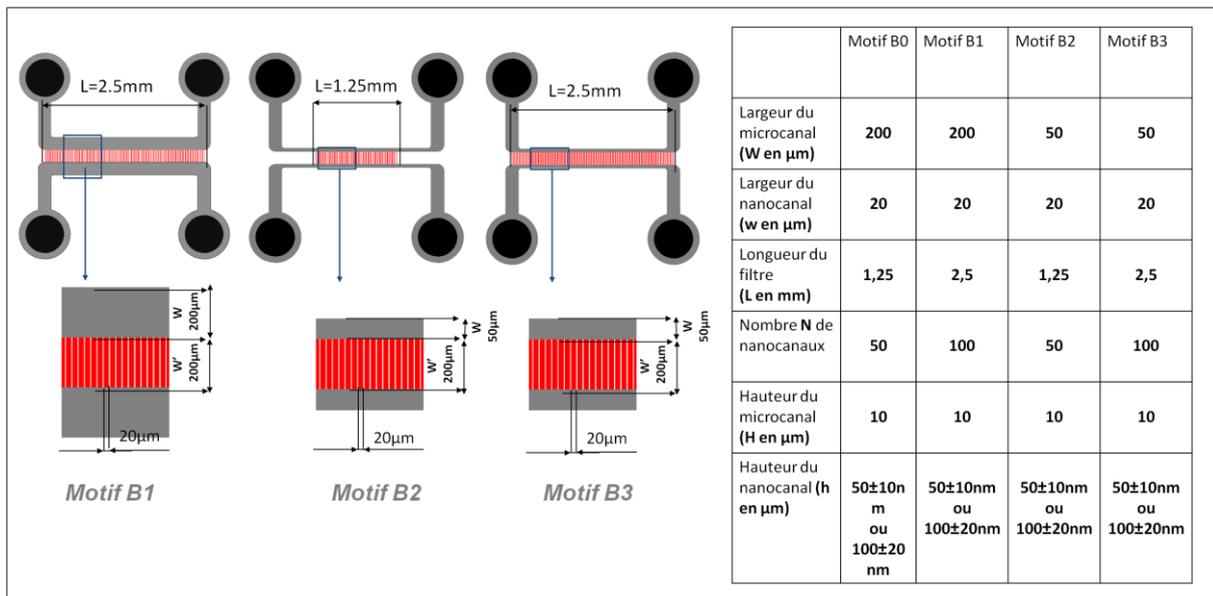
La **Figure 47** schématise ces différents modes.

En complément du motif de référence B0, trois autres motifs sont utilisés pour les expériences. Les motifs B1, B2 et B3 possédant des largeurs de microcanal, et un nombre de

nanocanaux différents, sont représentés avec leurs dimensions caractéristiques en **Figure 48**.



**Figure 47** : Schématisation des différents modes d'actionnement (Symétriques et Asymétriques) du dispositif bypass. La source d'actionnement étant soit hydrodynamique, soit électrodynamique.



**Figure 48** : Représentation des trois autres motifs bypass principaux utilisés dans les différentes expériences de préconcentration. Leurs dimensions caractéristiques 3D sont résumées dans le tableau.

## 4.2 Mode Symétrique hydrodynamique

### 4.2.1 Écoulement tangentiel symétrique : mesure des écoulements par micro PIV

L'étape de calibration fluidique du dispositif bypass est la première étape nécessaire à l'évaluation des ordres de grandeur des débits mis en jeu dans le système. Elle permet de valider les équations relatives à l'hydrodynamique introduites au **chapitre 1** et de valider le banc expérimental dans sa globalité (vérification des éventuelles fuites etc...).

Nous avons choisi d'utiliser la méthode d'imagerie par Micro PIV (Particule Image Velocimetry) pour évaluer les débits générés dans la rangée de nanocanaux. Le principe de cette méthode est détaillé au **chapitre 3**.

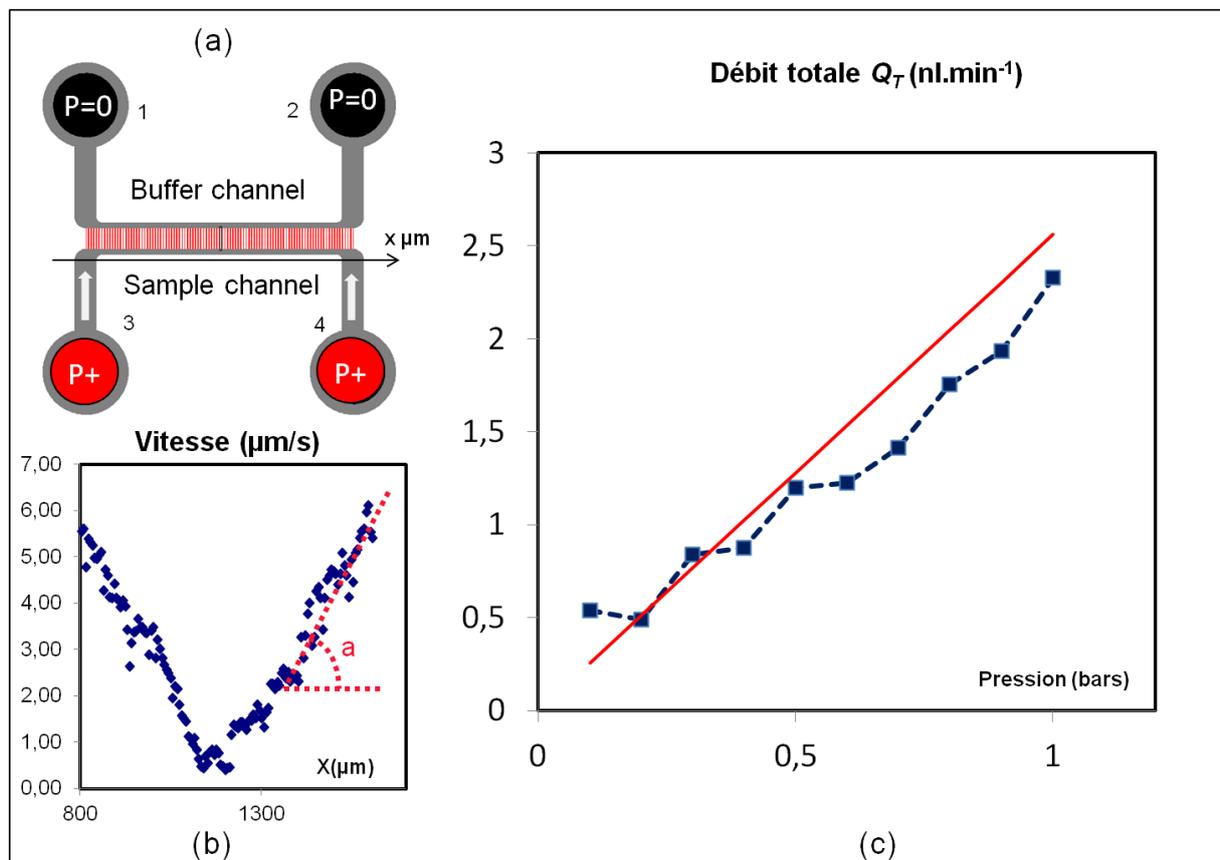
L'écoulement est suivi à l'aide de microparticules en polystyrène fluorescentes diluées dans le fluide (EDI). Afin d'éviter les risques de sédimentation des particules, des particules de 1µm de diamètres ont été utilisées. En effet, il est préférable qu'une concentration homogène en microparticules soit maintenue pendant toute la durée de la mesure pour optimiser le calcul de corrélation. Le motif bypass choisi pour réaliser la mesure de calibration est le motif B3 dont les deux microcanaux parallèles ont une largeur  $W=50\mu\text{m}$ . Une petite section de microcanal génère des vitesses plus importantes plus facilement détectables par Micro PIV, notamment aux faibles pressions (<500mbar). 100 nanocanaux rectangulaires parallèles font la connexion entre les deux microcanaux. La hauteur des nanocanaux a été mesurée à environ 80nm par profilométrie. Comme le montre la **Figure 49 b**, la mesure du champ de vitesse des microparticules décrit un écoulement tangentiel symétrique linéaire en forme de « V ». Une vitesse quasi nulle est mesurée au centre du microcanal. Cette observation tend à montrer que tous les nanocanaux drainent la même portion de fluide conduisant ainsi à une décroissance linéaire du débit en direction du centre. Connaissant la section du microcanal dans lequel les billes se déplacent et la longueur du filtre, on peut remonter directement au débit total traversant la rangée de nanocanaux avec l'approximation suivante:

$$Q_t = a \times S \times L$$

**(4.1)**

avec  $a$  la pente du profil de vitesse,  $S = W \times H$  la section du microcanal et  $L$  la longueur du filtre.

La **Figure 49 c** représente l'évolution de ce débit en fonction des pressions imposées au niveau du canal SC. A 1bar, des débits de l'ordre de quelques  $\text{nl}\cdot\text{min}^{-1}$  sont mesurés. La courbe expérimentale (en bleu) est plus ou moins linéaire et suit la tendance de la courbe théorique (en rouge) tracée à partir de l'équation (1.11).



**Figure 49:** (a) Représentation schématique de l'actionnement du dispositif bypass ayant une hauteur  $h \sim 80\text{nm}$ . Les entrées 3 et 4 sont pressurisées à une pression  $P+$  entre 100mbar et 1bar alors que les entrées 1 et 2 restent à pression atmosphérique. (b) Profil de vitesse des microbilles fluorescentes et donc du fluide dans le microcanal inférieur (Sample Channel). (c) Evolution du débit totale théorique (rouge) et expérimental (bleu) en fonction de la pression appliquée aux entrées 3 et 4.

Dans les expériences qui suivent, nous ajoutons systématiquement à l'échantillon de nanoparticules un volume de microbilles pour visualiser les écoulements. L'étape de calibration par Micro PIV valide notre banc expérimental et sera tout à fait approprié pour

évaluer les débits dans chaque nanocanal et les éventuels phénomènes d'encrassement des filtres.

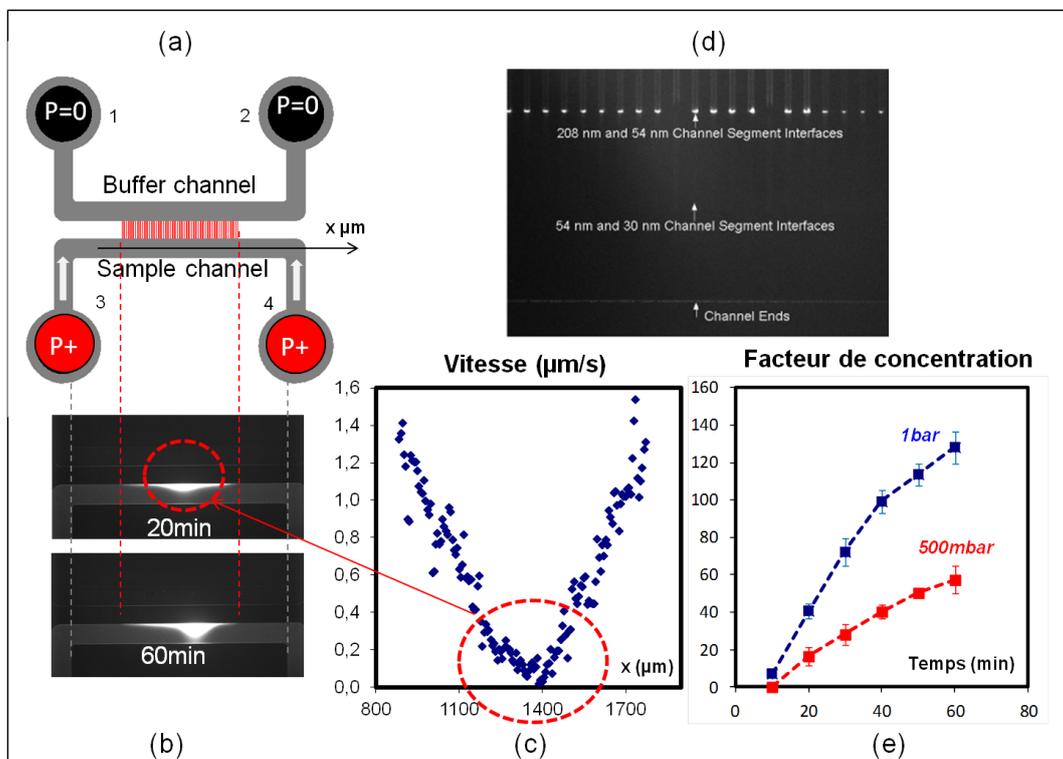
Cette technique nous aura aussi donné les premiers éléments nécessaires à la construction d'un modèle numérique 1D qui fera l'objet d'une prochaine section.

#### **4.2.2 Expériences préliminaires de préconcentration/filtration de nanoparticules : exclusion stérique et effet d'accumulation centrale**

Dans cette partie nous nous intéresserons à l'enrichissement hydrodynamique de nanobilles en polystyrènes fluorescentes. Les expériences sont réalisées à l'aide du dispositif bypass B0 de référence. Les nanobilles possèdent un diamètre de 50nm et sont diluées dans de l'eau distillée. Des microbilles de polystyrènes fluorescentes de 1 $\mu$ m sont ajoutées à l'échantillon pour visualiser l'écoulement durant l'opération de filtration. La longueur d'onde d'émission est différente de celle des nanobilles pour ne pas perturber la mesure du facteur de concentration. La rangée de nanocanaux agit ici comme un filtre bloquant car le diamètre des nanobilles est très proche de la hauteur du nanocanal ( $h \sim 50\text{nm}$ ). Sous l'effet de la pression les nanoparticules seront donc piégées à l'entrée des nanocanaux par effet d'exclusion stérique.

La **Figure 50 b** montre que le mode d'actionnement Symétrique provoque l'accumulation des nanoparticules au niveau de la portion centrale du microcanal et, ce, de manière stable pendant toute la durée de l'expérience (1heure). L'effet d'accumulation centrale peut s'expliquer directement par la forme symétrique de l'écoulement qui tend à accumuler les particules en un volume restreint de quelques centaines de picolitres favorisant de bons facteurs de concentrations. En d'autres termes, les composantes en  $x$  décroissantes des vitesses de l'écoulement symétrique (vitesses tangentielles) tendent à convecter les nanoparticules en direction du centre du microcanal où elles seront accumulées puisque la vitesse se rapproche de zéro. Ceci constitue la principale originalité par rapport aux systèmes de nanofiltration frontales actuels où seule la composante en  $y$  de la vitesse est exploitée (**Figure 50 d**).<sup>107</sup> L'étape suivante sera donc d'évaluer ces facteurs de concentration.

La courbe de la **Figure 50 e** montre l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps pour différentes pressions imposées aux entrées 3 et 4 du système. Le facteur de concentration est évalué en mesurant l'intensité maximale de fluorescence au centre du microcanal dans un ROI de  $10\mu\text{m}^2$ . Pour une pression de 1bar, l'échantillon peut être enrichi de 130 fois par rapport à sa concentration initiale ( $10^{12}$  particules. $\text{ml}^{-1}$ ) tandis qu'à 500mbar un facteur de concentration de seulement 60 est atteint. De plus, l'évolution du facteur de concentration semble suivre une relation de proportionnalité avec la pression et, donc, être principalement gouverné par les caractéristiques hydrodynamiques du circuit fluide. Chaque expérience, répétée un minimum de trois fois, révèle des résultats robustes avec une erreur inférieure à 10%.



**Figure 50:** (a) Représentation schématique de l'actionnement du motif B0 composé de nanocanaux de 50nm de haut. Les entrées 3 et 4 sont pressurisées à une pression P+ de 1bar ou de 600mbar alors que les entrées 1 et 2 restent à pression atmosphérique.(b) Microscopie par fluorescence du dispositif après 1h de préconcentration. Une légère déviation du parfait centre du microcanal est cependant observée dû à une légère dissymétrie dans les conditions de pressions au niveau de chaque entrée fluide 3 et 4. (c) Profil de vitesse des microbilles et du fluide. Les nanoparticules sont accumulées là où la vitesse du fluide est nulle.(d) Par comparaison aux travaux de Hamblin *et al.*<sup>107</sup> qui ont développé un système de nanofiltration frontale dans lequel les nanoparticules sont concentrées de manière homogène à l'entrée de chaque nanocanal. (e) Evolution du facteur de concentration en fonction du temps et de la pression.

On peut calculer simplement l'évolution de la concentration en nanoparticules moyennée sur tout le volume du microcanal en fonction du débit total  $Qt$  :

$$C_{f_{moy}}^f = C_0 \left( 1 + \left( \frac{Qt \times T}{V_0} \right) \right) \quad (4.2)$$

avec,  $C_0$  la concentration initiale,  $C_{f_{moy}}^f$  la concentration finale moyenne dans le microcanal de volume  $V_0$ ,  $T$  le temps,  $Qt$  le débit total à travers le filtre et  $FC$  le facteur de concentration.

D'après l'équation (4.2) on obtiendrait des facteurs de seulement trois alors que l'expérience nous montre des facteurs supérieurs à cent, d'où l'intérêt d'un effet d'accumulation centrale.

Pour évaluer les effets de bouchage, une mesure par Micro PIV du débit total est réalisée pendant toute la durée de l'opération de préconcentration sous une pression de 1bar. Le débit reste constant autour de  $0,1 \text{nl} \cdot \text{min}^{-1}$  avec ou sans les nanobilles (courbes bleu et rouge). Ce résultat signifie que, dans la limite de notre étude, aucun effet de bouchage n'intervient (**Figure 51**) grâce à l'écoulement tangentiel qui tend à libérer les nanocanaux en périphérie qui peuvent ainsi drainer le fluide sur de longues périodes.

Les composants ont d'ailleurs pu être utilisés un grand nombre de fois dès lors que les micro et nanocanaux restaient mouillés en permanence.

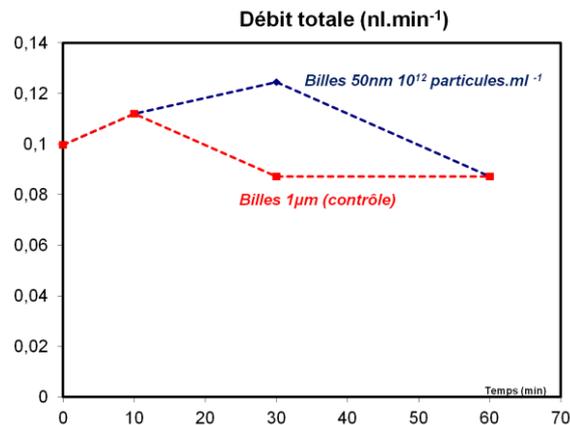


Figure 51: Evolution du débit total pendant une durée d'1h quand le système est actionné dans le mode Symétrique hydrodynamique sous une pression de 1bar. Le débit est mesuré en utilisant la méthode de Micro PIV. La courbe bleue représente les expériences réalisées avec l'échantillon de nanobilles de 50nm à une concentration initiale de  $10^{12}$  particules.ml<sup>-1</sup>. La courbe rouge représente l'expérience contrôle menée uniquement avec des microbilles de 1µm.

### 4.2.3 Modélisation du profil de concentration dans un système bypass

En se basant sur ces premiers résultats nous tenterons de construire un modèle numérique visant à prédire, dans un premier temps, l'écoulement puis, dans un deuxième temps, le transport des particules au sein d'un système de type bypass dans le mode d'actionnement Symétrique hydrodynamique. Ce modèle nous permettra d'extraire les paramètres clés pour optimiser les facteurs de concentration. Dans cette partie, la comparaison entre expérience et théorie sera également discutée.

#### a. Modélisation de l'écoulement : Modèle fluidique généralisé

La configuration bypass peut être représentée par les schémas électriques équivalents en Figure 52 a et b.

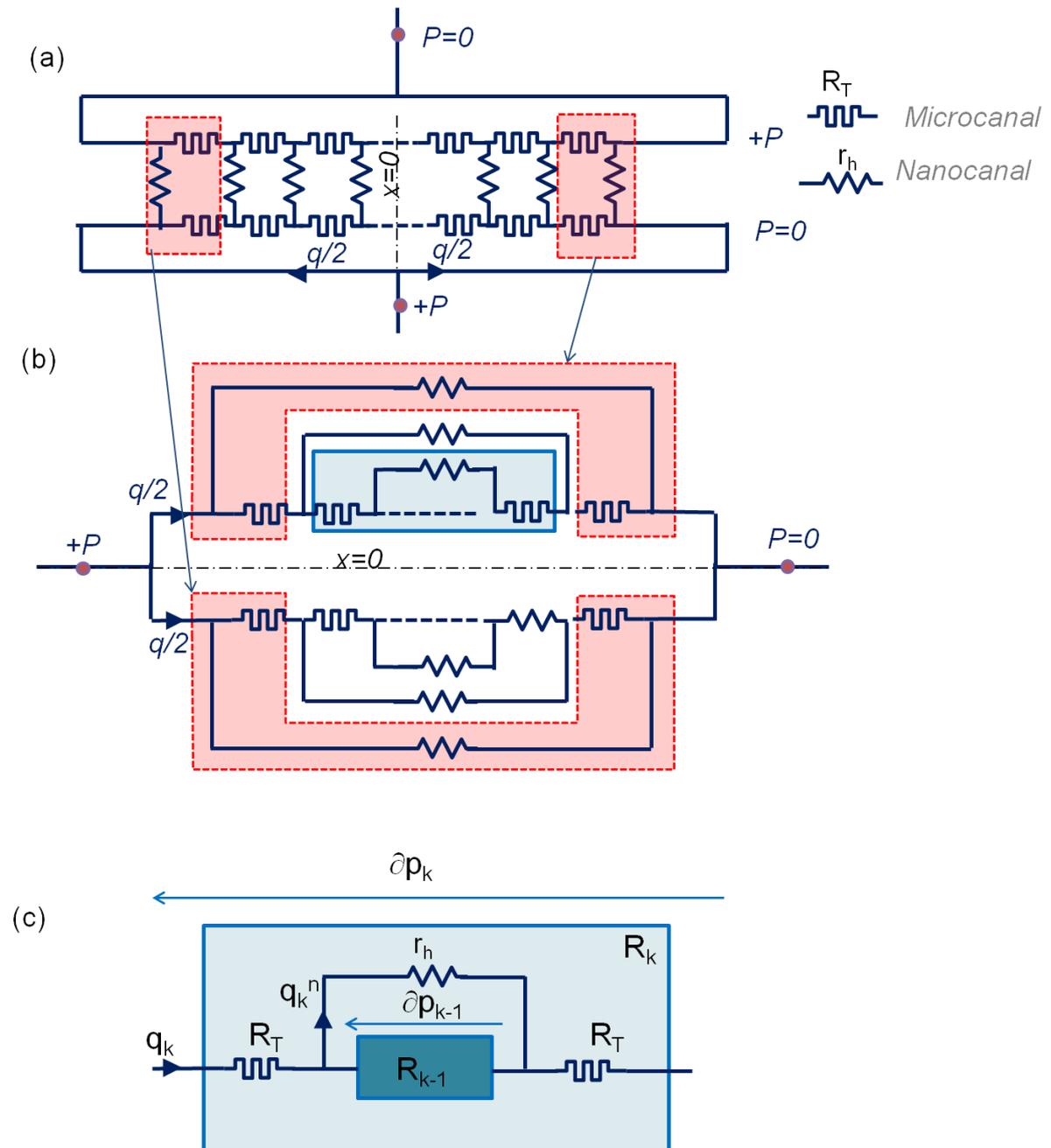


Figure 52 : Représentation du circuit électrique équivalent. (a) Schéma électrique équivalent du bypass. (b) Schéma électrique équivalent du bypass représenté de manière à faciliter la visualisation du schéma de récurrence. (c) Schéma de récurrence sur les résistances hydrauliques. Le sens des gradients de pressions et des débits sont indiqués selon la convention récepteur d'un circuit électrique.

A partir de ce schéma électrique on peut identifier un schéma de récurrence représenté en **Figure 52 c** faisant intervenir (i) les résistances hydrauliques  $R_T$  des « tronçons » microfluidiques joignant (ii) chaque nanocanal de résistance  $r_h$ , (iii) le débit  $q_k$  dans le

microcanal, (iv) le débit  $q_k^n$  dans chaque nanocanal et, enfin, (v) la différence de pression entre l'entrée et la sortie de chaque nanocanal  $\partial p_k$ .

$R_T$  et  $r_h$  s'écrivent (cf **équation (1.13)**) :

$$R_T = \frac{12\eta l}{1 - 0.63\left(\frac{H}{W}\right)} \frac{1}{WH^3} \quad (4.3)$$

$$r_h = \frac{12\eta l'}{1 - 0.63\left(\frac{h}{w}\right)} \frac{1}{wh^3} \quad (4.4)$$

, avec  $\eta$  étant la viscosité de l'eau.  $W$  la largeur du microcanal,  $H$  la hauteur du microcanal,  $w$  la largeur du nanocanal,  $h$  la hauteur du nanocanal et  $l$  la longueur entre chaque nanocanal (25 $\mu$ m) et  $l'$  la longueur d'un nanocanal (200 $\mu$ m).

L'ensemble du circuit fluidique est symétrique, le problème peut donc être résolu sur une seule moitié du système bypass.

On construira les calculs de récurrence en partant du nanocanal central jusqu'au nanocanal en position  $N/2$ . On identifie d'abord la récurrence sur les résistances hydrauliques équivalentes  $R_k$ . Pour  $k=1$  La résistance équivalente  $R_1$  correspond à un circuit de deux résistances  $R_T$  en séries avec une résistance  $r_h$ . On a donc :

$$R_k = 2R_T + \frac{r_h R_{k-1}}{r_h + R_{k-1}} \text{ pour } k > 1 \quad (4.5)$$

avec,  $R_1 = 2R_T + r_h$  pour  $k=1$ .

On en déduit ensuite la récurrence sur la différence de pression le long de chaque nanocanal  $\partial p_k$ ,

$$\partial p_k = R_k \left( \frac{1}{r_h} + \frac{1}{R_{k-1}} \right) \partial p_{k-1} \quad (4.6)$$

$$\text{avec, } \partial p_{k-1} = q_k^n r_h = (q_k - q_k^n) R_{k-1} \text{ et } \partial p_k = q_k R_k.$$

la récurrence sur le débit dans le microcanal  $q_k$ ,

$$q_k = \frac{\partial p_k}{R_k} \quad (4.7)$$

et enfin la récurrence sur le débit dans chaque nanocanal  $q_k^n$ ,

$$q_k^n = \frac{q_k R_{k-1}}{r_h + R_{k-1}} \quad (4.8)$$

Nous avons désormais tous les éléments pour modéliser l'écoulement dans le microcanal lorsque le système est actionné dans le mode Symétrique hydrodynamique. Entre chaque nanocanal on réalise une interpolation linéaire pour passer d'une suite récurrente à un modèle continu. Ce modèle sera nécessaire à la construction du modèle diffuso-convectif.

La **Figure 53** représente le profil de vitesse du fluide dans le microcanal du motif B0, construit par le modèle fluidique. On retrouve bien la forme symétrique de l'écoulement de manière cohérente avec l'expérience. Le modèle prédit un débit total de  $0,3 \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1}$ . La déviation par rapport aux résultats expérimentaux ( $0,1 \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1}$ ) nous pousse à penser que ce modèle est surtout qualitatif et permet de reproduire la forme de l'écoulement.

On notera que les valeurs de  $q(x)$  (débit dans chaque nanocanal) et  $P(x)$  restent pratiquement constantes autour de  $6,2 \cdot 10^{-3} \text{ nl} \cdot \text{min}^{-1}$  et  $10^5 \text{ Pa}$ , respectivement, lorsque  $r_h \gg R_T$ . A nos échelles, nous pouvons donc considérer que chaque nanocanal draine la même portion de fluide induisant ainsi une décroissance linéaire du débit  $Q(x)$  (débit dans le microcanal) en direction du centre. Ce modèle est toutefois aussi généralisable si  $r_h$  devient comparable à  $R_T$  (ou pour un très long microcanal). Dans ce cas, le profil du débit ne serait plus linéaire. La chute de pression le long du filtre ne serait plus négligeable et le débit dans chaque nanocanal deviendrait différent.

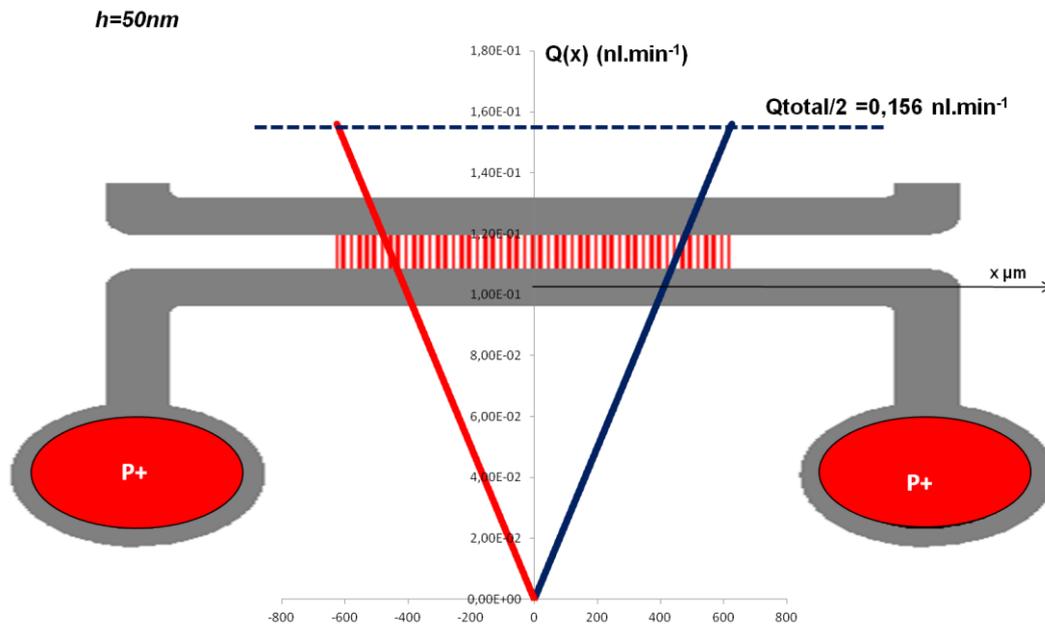


Figure 53: Evolution numérique du débit  $Q(x)$  lorsqu'une pression  $P+=1\text{bar}$  est appliquée. La hauteur des nanocanaux est prise à  $50\text{nm}$ . Le débit total traversant la rangée de nanocanaux dans le motif B0 est égal à  $0,3\text{ nl.min}^{-1}$ .

### b. Transport chimique : Modèle diffusio-convectif généralisé

Le transport des nanoparticules dans le système peut être représenté par un modèle diffusio-convectif faisant intervenir le coefficient de diffusion des particules ainsi que les différents débits  $Q(x)$  et  $q(x)$  précédemment calculés.

Le problème est réduit à une seule dimension suivant l'axe  $x$ . En réalisant le bilan local de masse sur le soluté (nanoparticules de  $50\text{nm}$  de diamètres) dans un volume de contrôle ( $v$ ), (**Figure 54**), on obtient l'équation adimensionnée suivante pour l'évolution temporelle et spatiale de la concentration en particules :

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} S dx = -n_{\alpha}(x)S + n_{\alpha}(x+dx)S - Kq(x)C(x,t) \quad (4.9)$$

avec,  $\vec{n}_{\alpha} = \vec{u}C$ ,  $\vec{u}$  la vitesse du fluide,  $S$  la section du microcanal,  $K$  le coefficient de filtration et  $C(x,t)$  la concentration en particules.

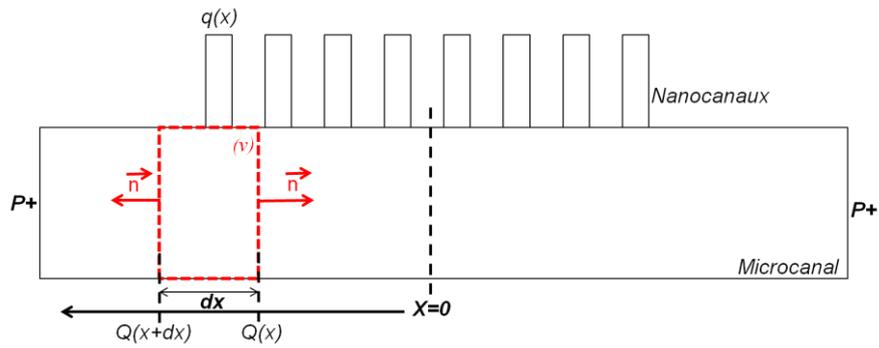


Figure 54: Schéma du bilan local de masse sur le soluté (nanoparticules) dans un volume de contrôle ( $v$ ) dans le microcanal.

L'originalité ici, par rapport à un modèle de transport classique dans un milieu homogène est le terme de droite qui exprime la perte du soluté convecté dans les nanocanaux.  $K$  est donc le facteur modérateur définissant la limite entre un filtre passant ( $K = 1$ ) et bloquant ( $K = 0$ ).

En exprimant les termes de convection en fonction des débits et en considérant la conservation des débits sur notre volume élémentaire ( $v$ ), on obtient :

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} S dx = -Q(x)C(x, t) + Q(x + dx)C(x + dx, t) - K(Q(x + dx) - Q(x))C(x, t) \quad (4.10)$$

On en déduit l'équation différentielle suivante :

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = \frac{1}{S} \frac{\partial}{\partial x} (Q(x)C(x, t)) - \frac{K}{S} \frac{dQ(x)}{dx} C(x, t) \quad (4.11)$$

En prenant en compte la diffusion des particules l'équation (4.11) devient :

$$\frac{\partial C(x, t)}{\partial t} = D_{SE} \frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2} + \frac{1}{S} \frac{\partial}{\partial x} (Q(x)C(x, t)) - \frac{K}{S} \frac{dQ(x)}{dx} C(x, t) \quad (4.12)$$

avec,  $D_{SE} \frac{\partial^2 C(x, t)}{\partial x^2}$  le terme diffusif et  $D_{SE}$  le coefficient de diffusion de stokes-Einstein.

Einstein.

L'équation (4.12) est adimensionnalisée de la manière suivante :

- $C = C^* C_0$  avec  $C_0$  la concentration initiale
- $x = x^* L_0$  avec  $L_0$  la distance entre chaque nanocanal.
- $V = V^* V_0$  avec  $V_0$  la vitesse maximale à l'entrée du filtre (aux entrées 3 et 4 d'un motif donné)
- $t = t^* T_0$  avec  $T_0 = \frac{L_0}{V_0}$
- $S = S^* L_0^2$  avec  $S^* = \frac{WH}{L_0^2}$
- $Q = VS = Q^* V_0 L_0^2$
- $q = q^* V_0 L_0^2$

On s'affranchit de la notation étoilée et on obtient donc l'équation de transport chimique qu'il faut résoudre :

$$\frac{\partial C(x,t)}{\partial t} = \frac{D}{L_0 V_0} \frac{\partial^2 C(x,t)}{\partial x^2} + \frac{L_0^2}{WH} \left( \frac{\partial}{\partial x} (Q(x)C(x,t)) - K \frac{dQ(x)}{dx} C(x,t) \right) \quad (4.13)$$

On identifie le nombre de Peclet  $Pe = \frac{L_0 V_0}{D}$  qui représente la compétition entre convection et diffusion. Le terme de convection, quant à lui, est modéré par un facteur de forme  $f = \frac{L_0^2}{WH}$  dépendant des dimensions du microcanal. Le coefficient  $K$  fait intervenir le rapport entre le diamètre  $d$  des particules et la hauteur du nanocanal. A noter que le diamètre  $d$  intervient aussi dans le coefficient de diffusion.

Pour résoudre l'équation (4.13), nous résolvons d'abord le champ de vitesse par récurrence pour, ensuite, en déduire un modèle « continu » par interpolation linéaire. Enfin, nous utilisons un schéma centré pour le Laplacien et un schéma d'Euler au premier ordre pour

résoudre l'évolution en temps de l'équation différentielle. Nous vérifierons avec ce modèle les résultats expérimentaux préliminaires de préconcentration et nous en déduirons de surcroît les limites du modèle.

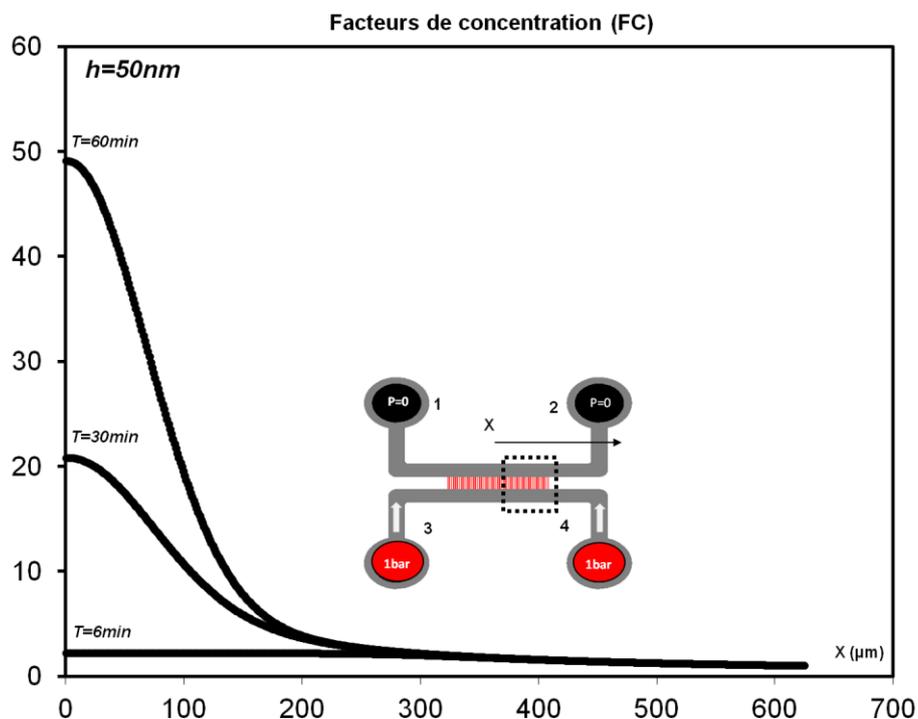
L'objectif final sera d'identifier les paramètres pertinents à optimiser pour obtenir le motif de système bypass le plus efficace possible en termes de facteurs de concentration. Les résultats théoriques seront aussi appuyés par des résultats expérimentaux.

#### 4.2.4 Cas du filtre bloquant : $K = 0$

Les expériences préliminaires décrites plus haut démontrent la capacité de préconcentration d'un système bypass dans l'état bloquant. La hauteur  $h$  des nanocanaux est, en effet, égale au diamètre  $d$  des nanobilles (50nm).

Une première étape est donc de résoudre le modèle dans les conditions de l'expérience préliminaire.

La **Figure 55** prédit l'évolution du facteur de concentration le long de la direction  $x$ . L'effet d'accumulation centrale est clairement mis en évidence.



**Figure 55: Modélisation du profil de la concentration normalisée  $C/C_0$  (Facteur de concentration FC) dans la direction  $x$  dans le système bypass de référence B0 pour  $h=50\text{nm}$  et pour une pression de 1bar.**

Nous traçons également l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps en position  $x=0$ , c'est à dire au centre du microcanal (**Figure 56**). Les résultats rendent bien compte du phénomène d'accumulation centrale en bonne adéquation avec les résultats expérimentaux. Cependant un facteur 3 existe entre expérience et théorie. En premier lieu, cela peut être expliqué par le fait que le modèle 1D ne suffit pas à prédire un phénomène 3D. En effet, la largeur du microcanal n'est pas prise en compte dans le transport chimique. Des simulations sur COMSOL ont été tentées mais les temps de calculs se sont avérés trop longs. De plus, plusieurs incertitudes peuvent exister sur la valeur du coefficient de diffusion calculé à partir de la formule de stokes-Einstein : (i) cette formule est valable dans le cas d'une particule unique ; (ii) elle ne prend pas en compte les interactions entre particules qui sont d'autant plus importantes à fort encombrement stérique et qui peuvent faire varier la viscosité locale ; (iii) l'influence du potentiel zêta et des doubles couches ( $\lambda_D \sim 300\text{nm}$  dans l'EDI) des particules n'est pas prise en compte. Le coefficient de diffusion devrait également dépendre de la concentration locale en particules et donc d'une viscosité dépendante du temps et de l'espace.

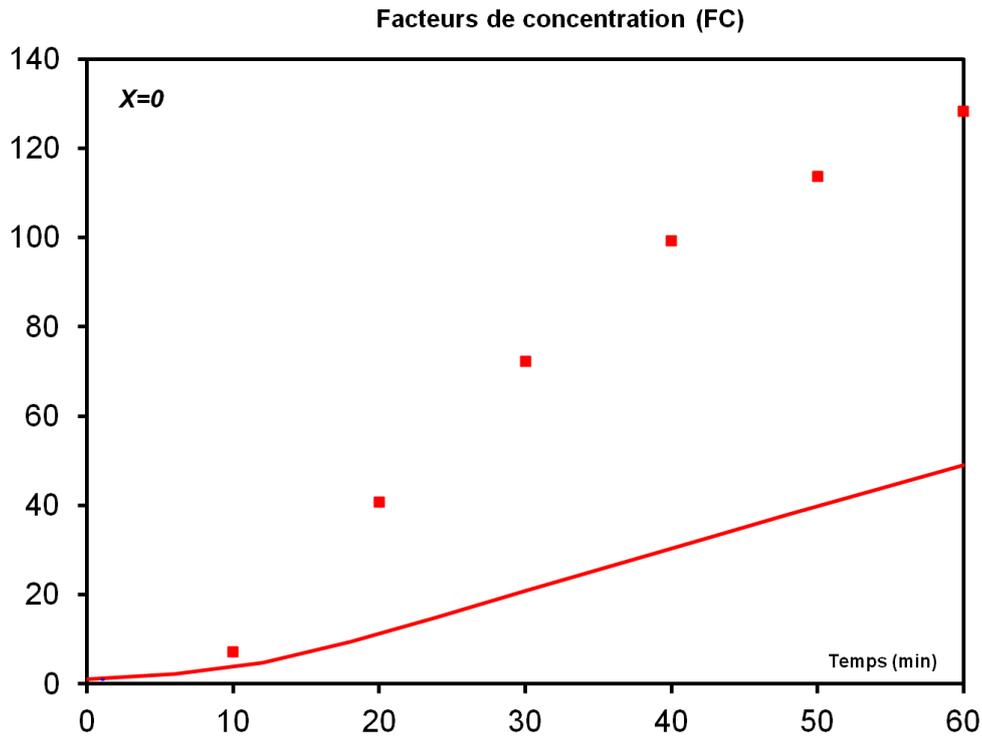


Figure 56 : Evolution du facteur de concentration FC en  $x = 0$  en fonction du temps lorsqu'une pression de 1bar est appliquée. Les courbes lisses représentent l'évolution théorique du FC tandis que les points rouges représentent les résultats expérimentaux.

Malgré toutes ces incertitudes, le modèle rend bien compte des résultats expérimentaux avec des ordres de grandeurs cohérents. Il permettra donc, dans un premier temps, d'identifier les paramètres clefs nécessaires à l'optimisation du système.

### a. Importance du nombre de Peclet

Pour favoriser l'effet d'accumulation central il est intuitif de vouloir favoriser la convection au détriment de la diffusion. Le nombre de Peclet est donc le facteur déterminant. Une manière simple de faire varier ce nombre est de modifier la pression en entrée pour faire varier la vitesse d'écoulement du fluide. La **Figure 57** illustre la variation du FC en fonction de la pression et du nombre de Peclet. Les résultats montrent clairement que plus le Peclet est grand, plus les facteurs de concentration augmentent.

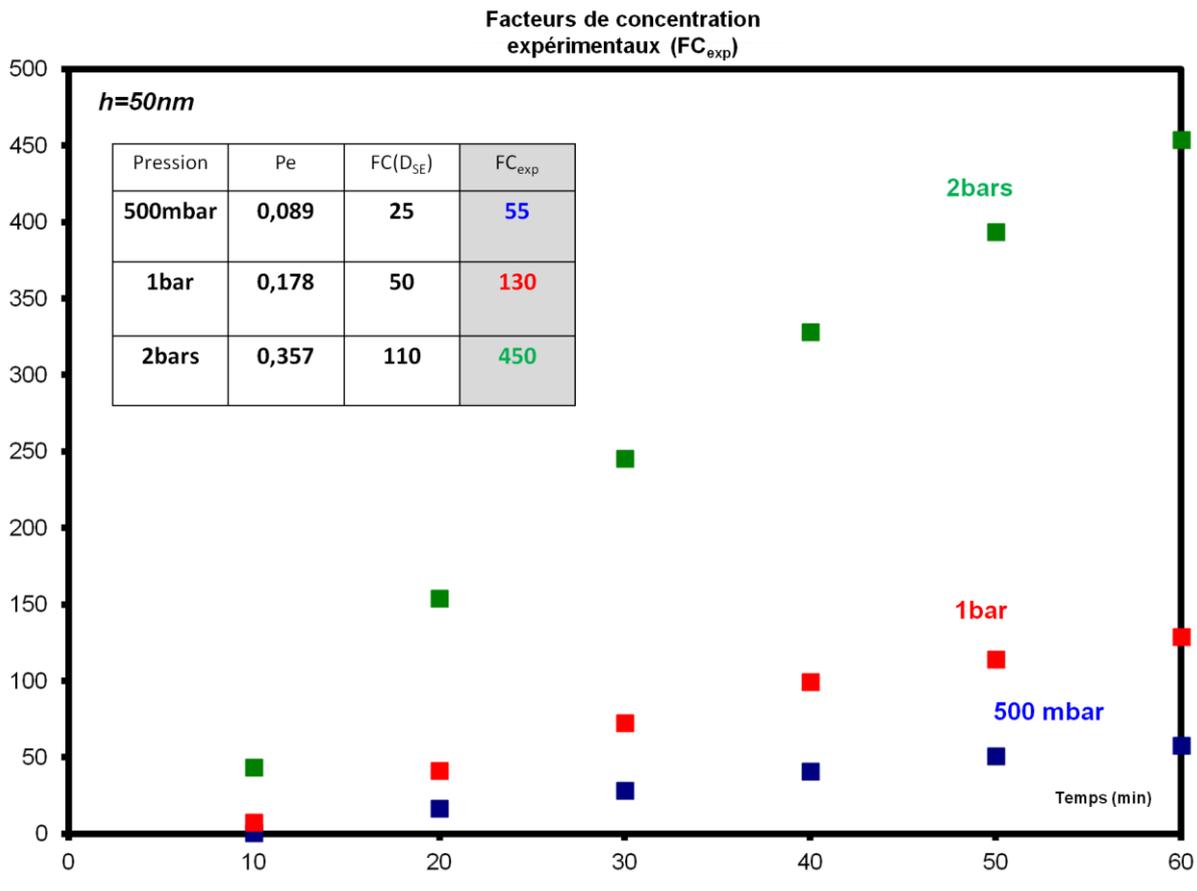


Figure 57 : Les courbes représentent l'évolution du FC expérimentale en fonction du temps et de la pression. Le tableau met en regard les valeurs du nombre de Peclet et les FC maximum théoriques et expérimentaux en  $x = 0$ .

### b. Etude paramétrique : Motif optimum

Faire varier avantageusement la géométrie du système peut être une autre façon de favoriser la convection par rapport à la diffusion et donc optimiser les FC.

Les dimensions géométriques sont directement représentées par le facteur de forme  $f$  mais sont aussi liées au nombre de Peclet via la vitesse du fluide dans le microcanal. Ainsi, il nous a semblé pertinent de représenter l'étude paramétrique à l'aide d'un nombre prenant en compte ces deux facteurs. On introduit donc le nombre de Peclet modifié  $Pem = Pe \times f$ .

Il nous permettra de représenter directement le rapport entre convection et diffusion

lorsque les paramètres géométriques changent. Plus ce nombre sera grand plus la convection sera favorisée.

La **Figure 58** montre l'évolution, en fonction du temps, du facteur de concentration dans le microcanal (simulé ici avec le coefficient de diffusion donné par la formule de Stokes-Einstein). Chaque configuration est associée à une variation d'un seul paramètre géométrique par rapport à la configuration de référence. La configuration 1 (motif B1) comprend un nombre de nanocanaux 2 fois plus important tandis que la configuration 2 (motif B2) comprend une section de microcanal 4 fois plus faible soit des  $Pem$  respectivement de 2 à 4 fois plus importants que la configuration de référence.

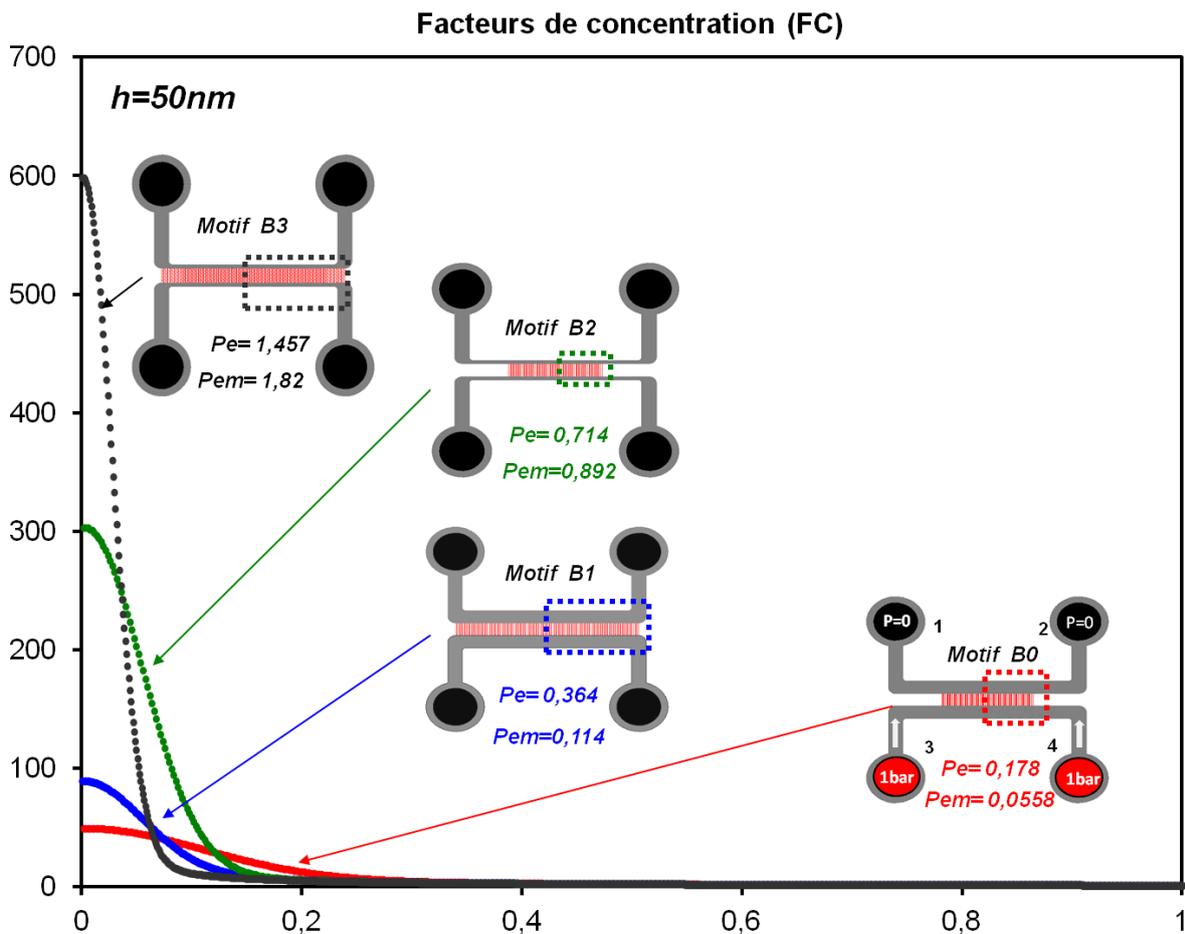


Figure 58: Etude paramétrique du facteur de concentration à  $h = 50\text{nm}$  et  $P=1\text{bar}$ . Le facteur de concentration est modélisé pour différentes configurations de  $Pem$  croissants par rapport à la configuration de référence. A grand  $Pem$  le pic de concentration est décalé vers le centre de l'axe des abscisses témoignant de la prédominance de la convection par rapport à la diffusion. Pour comparer les différents motifs, les profils ont été tracés en fonction de  $\frac{x}{x_{\max}}$ .

La Figure 59 compare les résultats théoriques (traits pleins) aux résultats expérimentaux (points) pour les différentes configurations. Les résultats théoriques et expérimentaux confirment que les facteurs de concentration sont optimisés pour les configurations associées aux grands  $Pem$ .

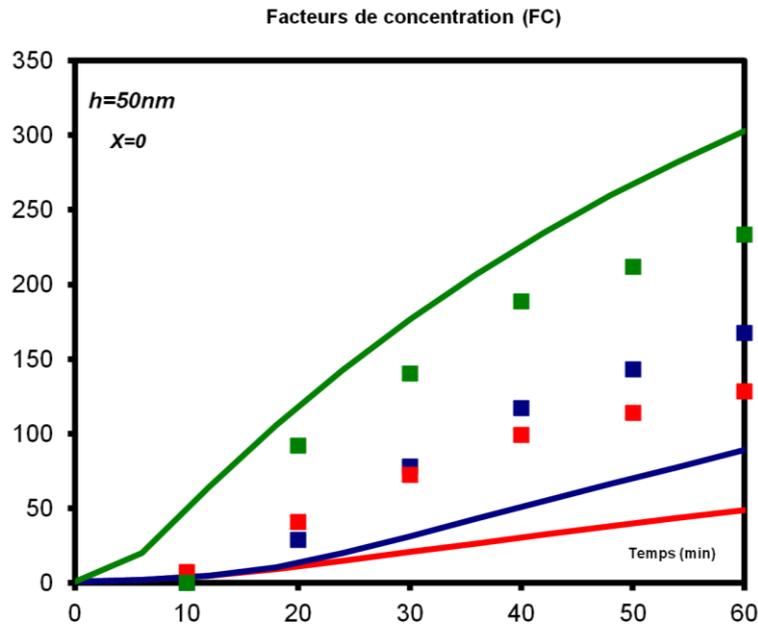


Figure 59 : Evolution du facteur de concentration FC en  $x = 0$  en fonction du temps lorsqu'une pression de 1bar est appliquée. Le code couleurs est le même qu'indiqué en Figure 58. Les facteurs de concentration théoriques en fonction du temps (courbes lisses) sont comparés avec les résultats expérimentaux (courbes en pointillés).

Nous pouvons donc conclure que la configuration optimale, dans le cas d'un filtre bloquant, devra posséder le plus grand nombre de nanocanaux possible ainsi qu'une section de microcanal la plus faible possible. La courbe grise en **Figure 58** prédit un facteur de concentration de 600 au bout d'une heure d'opération avec une configuration optimisée. Les expériences ont montré que des facteurs de concentration jusqu'à 1200 pouvaient être obtenus.

Le modèle présenté pose les premières briques vers un modèle plus généralisé. En effet, bien qu'expériences et théories confirment les mêmes tendances, une déviation non négligeable est observée. Il a été montré que cette déviation pouvait être expliquée par une mauvaise estimation du coefficient de diffusion. Cependant, des erreurs inhérentes à la manipulation expérimentale (stabilisation des écoulements dans le système, par exemple) parfois difficiles à évaluer peuvent également être à l'origine des déviations observées entre expérience et théorie puisque dans ce cas les expériences n'ont pu être répétées plusieurs fois manque de temps.

#### 4.2.5 Cas du filtre passant : $K = 1$

A ce stade, le modèle nous permet d'affirmer que la compétition entre convection et diffusion est primordiale dans la compréhension des FC. La convection doit être favorisée le plus possible. Si le débit total augmente, la convection sera prédominante. Augmenter la hauteur des nanocanaux peut aussi être une option pour optimiser la convection et donc les facteurs de concentration. Cependant, si la hauteur des nanocanaux est trop importante, la convection des nanoparticules au travers des nanocanaux ne pourra plus être négligée.

Toutefois, le cas du filtre totalement passant, c'est-à-dire quand  $K = 1$ , nous intéresse peu. Dans la suite de cette étude, nous nous focaliserons sur des nanoparticules dont la taille reste inférieure mais du même ordre de grandeur que la hauteur des nanocanaux c'est-à-dire quand  $0 < K < 1$ .

#### 4.2.6 Cas du filtre partiellement passant : $0 < K < 1$

Un coefficient  $K$  étant difficile à déterminer en se basant uniquement sur le rapport  $\frac{d}{h}$  et étant donné les limites du modèle lorsqu'il s'agit de choisir le bon coefficient de diffusion, nous préférons traiter ce point expérimentalement.

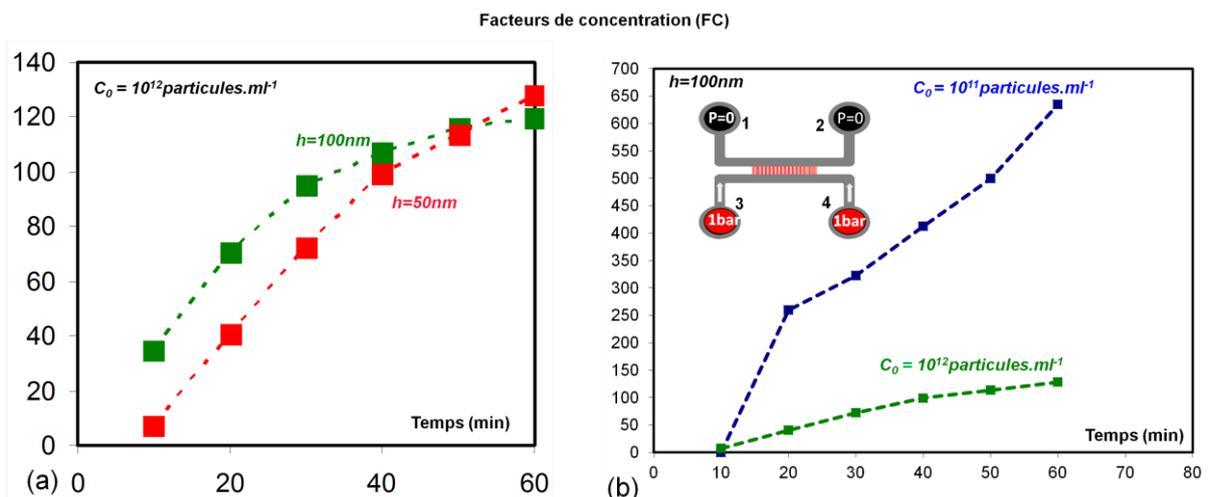
Lorsque le diamètre des nanobilles représente une fraction non négligeable de la hauteur des nanocanaux, des paramètres tels que la concentration initiale de l'échantillon ou la salinité de la solution tampon sont autant d'éléments pouvant influencer sur les capacités de filtration du nanofiltre.

### a. Influence de la concentration initiale

Le but de cette partie est d'évaluer l'influence de la concentration initiale en nanoparticules sur le facteur de concentration.

Dans un premier temps nous comparerons les résultats de préconcentration obtenus à l'aide d'un filtre semi-passant et d'un filtre bloquant à concentrations initiales équivalentes (**Figure 60 a**). Puis, dans un deuxième temps, nous comparerons les résultats obtenus pour différentes concentrations initiales dans le cas d'un filtre semi-passant afin d'évaluer l'influence de l'encombrement stérique dans le processus de préconcentration (**Figure 60 b**).

Les résultats, décrits en **Figure 60 a**, montrent qu'à concentration initiale  $C_0 = 10^{12}$  particules. $\text{ml}^{-1}$ , les facteurs de concentration sont similaires pour un filtre bloquant (courbe rouge) et semi-passant (courbe verte). Dans le cas d'un filtre semi-passant ( $h = 100\text{nm}$ ) les débits mis en jeu (quelques  $\text{nl}\cdot\text{min}^{-1}$ ) sont supérieurs à ceux du cas bloquant (quelques dixièmes de  $\text{nl}\cdot\text{min}^{-1}$  à  $h = 50\text{nm}$ ). Ainsi, la convection dans le microcanal compense la perte de matière au travers du filtre et permet d'atteindre des facteurs de concentration relativement élevés.



**Figure 60:** Evolution du facteur de concentration expérimental en fonction du temps (a) pour différentes profondeurs de nanocanal ( $h = 50$  ou  $100\text{nm}$ ) et (b) pour différentes concentrations initiales  $C_0$  ( $C_0 = 10^{12}\text{pl}\cdot\text{ml}^{-1}$  ou  $C_0 = 10^{11}\text{pl}\cdot\text{ml}^{-1}$ ).

Nous venons donc de démontrer que l'effet d'accumulation centrale était également possible à l'aide d'un filtre semi-passant malgré la perte de matière au travers du filtre.

L'expérience suivante a pour but d'évaluer l'influence de la concentration initiale sur le facteur de concentration. Pour cela, nous réalisons l'expérience avec un échantillon dix fois moins concentré. La **Figure 60 b** montre que des facteurs de concentration proche de 650 peuvent être atteints ce qui est presque 10 fois supérieur aux résultats précédent. Ce résultat est inattendu puisque à plus faible concentration, donc à faible encombrement stérique, on s'attend à ce que le passage des particules au travers du filtre soit facilité. Une première hypothèse peut toutefois être émise pour expliquer ce résultat. A  $C_0=10^{11}$  particules.ml<sup>-1</sup>, l'encombrement stérique à l'entrée des nanocanaux est toujours assez important pour limiter la convection au travers du filtre. Ceci expliquerait pourquoi les facteurs de concentration ne sont pas inférieurs au cas de référence ( $h=100$ nm et  $C_0=10^{12}$  pl.ml<sup>-1</sup>). Cependant, cela n'explique pas pourquoi un facteur 10 est obtenu entre ces deux cas. Pour expliquer ce résultat il faut considérer l'encombrement stérique dans le microcanal. On peut attribuer au microcanal une certaine « capacité » à contenir une certaine quantité de nanoparticules par unité de volume. Au dessus de ce nombre il ne sera plus possible de convecter plus de nanoparticules dans ce volume en raison de l'encombrement stérique. Il paraît donc logique que ce nombre soit atteint d'autant plus vite que la concentration initiale est élevée. A concentration initiale 10 fois plus faible on peut donc prédire que le temps nécessaire pour atteindre la concentration critique dans le volume en question soit 10 fois plus long. Cela expliquerait ainsi le facteur 10 entre les facteurs de concentration et l'effet de saturation que l'on voit apparaître sur la courbe verte de la **Figure 60 b**.

### **b. Importance du tampon**

Etant donné les dimensions des nanocanaux de silice, les épaisseurs de doubles couches électriques (dépendante de la salinité du tampon) peuvent influencer sur le processus de

préconcentration des nanoparticules. Les épaisseurs de doubles couches peuvent intervenir à différents niveaux :

- Dans le cas de doubles couches électriques épaisses dans un liquide peu conducteur, les nanoparticules (chargées négativement) peuvent être retenues à l'entrée du filtre (chargées négativement) par répulsions coulombiennes;
- L'écoulement hydrodynamique peut induire un courant net de charges dans les doubles couches électriques des nanocanaux conduisant ainsi à l'établissement d'un potentiel d'écoulement ou « streaming potential ».

Afin de mettre en évidence l'influence de l'épaisseur de double couche sur l'efficacité de concentration, nous diluons les nanobilles dans un tampon à plus forte conductivité ionique que l'eau distillée. A force ionique élevée on s'attend à ce que l'épaisseur des doubles couches diminue et, donc, que le passage des nanoparticules soit favorisé. Une solution de PBS concentrée à 1mM sera utilisée comme solution tampon pour tester cette hypothèse. Dans ces conditions, en se basant sur l'équation (1.20), on évalue l'épaisseur des doubles couches à 10nm pour une surface de silice, contre 300nm dans l'eau distillée.

La courbe expérimentale de la **Figure 61 b** montre un résultat inattendu : le facteur de concentration des nanoparticules diluées dans le PBS est considérablement amélioré en comparaison des résultats obtenus avec l'eau distillé (un facteur de concentration d'environ 2400 est obtenu avec le PBS contre 130 avec l'EDI). La même expérience a été réalisée dans le cas du filtre bloquant ( $h=50\text{nm}$ ). Des facteurs de concentration plus importants que dans le cas de l'EDI sont également obtenus (**Figure 61 c**). Un phénomène important prend donc place au niveau du microcanal.

Une hypothèse est que ce phénomène fait intervenir la variation de charge de surface (potentiel zêta) des nanoparticules d'une conductivité à une autre. L'écrantage de la charge de surface des particules (faible épaisseur de double couche électrique donc faible diamètre apparent) dans le PBS favorise la proximité entre particules car les forces de répulsion coulombiennes diminuent (le zêta est de -50 mV dans le PBS 1mM contre -70 mV dans l'eau distillé). Donc la distance  $d^*^{108}$  entre nanobilles est réduite. Ainsi, il est possible de concentrer plus de particules dans un même volume.

Il est possible d'estimer cette distance à l'aide d'un raisonnement simple. En effet, si l'on considère un volume liquide  $V$  contenant  $n$  particules, le volume moyen d'une particule est égal au ratio de ces deux nombres ( $V/n$ ). On déduit donc les expressions suivantes pour la distance interparticules :

$$d^* = 2 \left( \frac{3V}{4\pi n} \right)^{\frac{1}{3}} = 2 \left( \frac{3}{4\pi C_f} \right)^{\frac{1}{3}} \quad (4.14)$$

, où  $C_f$  est la concentration finale de l'échantillon concentré. Dans le PBS la concentration finale est d'environ  $2,4 \cdot 10^{15} \text{pl.ml}^{-1}$  tandis que dans l'EDI la concentration finale est d'environ  $1,3 \cdot 10^{14} \text{pl.ml}^{-1}$ .

D'après l'équation (4.14), la distance entre particules dans le PBS est de  $d^*_{PBS} \sim 93 \text{nm}$  tandis que pour l'EDI  $d^*_{EDI} \sim 525 \text{nm}$  soit presque 2 longueurs de Debye dans l'EDI. Ces résultats semblent confirmer l'hypothèse d'une distance entre particules dépendant des répulsions coulombiennes entre particules. Il est d'ailleurs intéressant de remarquer qu'un effet de saturation des facteurs de concentration est visible dans le cas de l'EDI et non du PBS ce qui conforte également cette hypothèse.

De plus, nous remarquons sur les clichés **Figure 61 d et e** que dans le cas du PBS la « tâche » de fluorescence est beaucoup moins élargie que dans le cas de l'EDI. Cette information va dans le sens de l'hypothèse d'une distance interparticules plus faible dans le PBS.

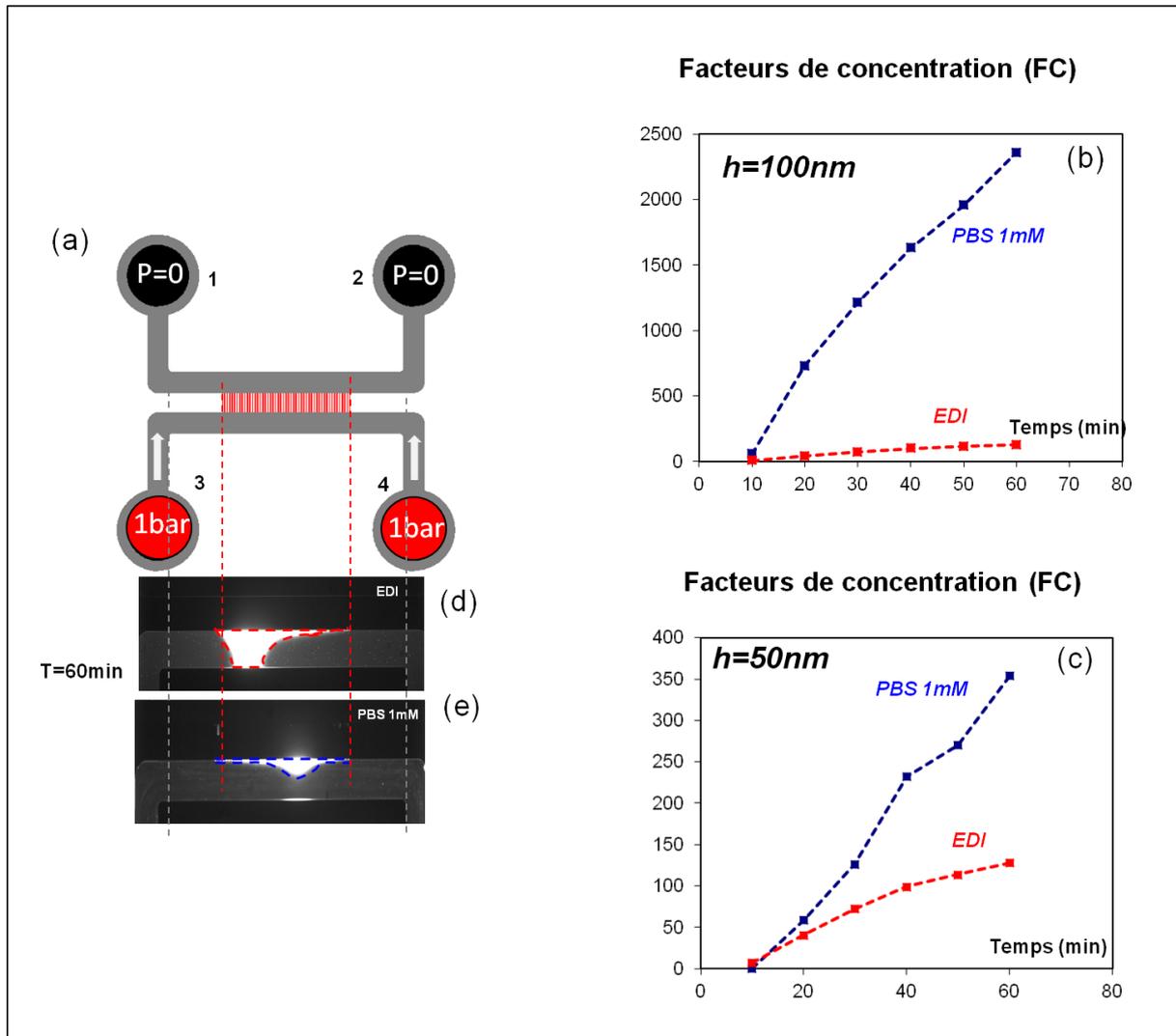


Figure 61: (a) Représentation schématique de l'actionnement du dispositif bypass B0. Les entrées 3 et 4 sont pressurisées à une pression  $P+$  de 1bar alors que les entrées 1 et 2 restent à pression atmosphérique. (b)-(c) Evolution du facteur de concentration en fonction du temps et de la salinité de la solution pour des nanocanaux de hauteur  $h=50$  ou  $100\text{nm}$ . La courbe bleu représente les résultats obtenus avec du PBS 1mM et la courbe rouge les résultats obtenus avec l'EDI. (d)-(e) Profils de l'échantillon concentré par microscopie de fluorescence dans le cas de l'EDI (pointillés rouges) et du PBS 1mM (pointillés bleus) quand  $h \sim 100\text{nm}$ . La tâche de fluorescence plus large dans le cas de l'EDI indique que la distance interparticules est plus importante que dans le cas du PBS ( $d_{EDI} \sim 525\text{nm} \gg d_{PBS} \sim 93\text{nm}$ ).

Un autre point à vérifier est l'existence ou non d'un potentiel d'écoulement aux bornes des nanocanaux.

Ce phénomène génère deux écoulements opposés. Le champ électrique créé par l'écoulement hydrodynamique induit une force électrophorétique sur les nanoparticules négativement chargées dans le sens de l'écoulement hydrodynamique donc en direction du

filtre. Cela tend à favoriser l'effet de préconcentration. D'un autre côté, ce même champ électrique génère un flux électroosmotique s'opposant à la direction de l'écoulement hydrodynamique (**Figure 62**). L'équation (1.31) prédit que le potentiel d'écoulement sera d'autant plus important que la conductivité sera faible. On peut donc penser que les écoulements électrocinétiques seront favorisés dans l'eau distillée.

Afin de vérifier l'existence d'un potentiel d'écoulement, une première méthode serait de mesurer directement, à l'aide d'un potentiostat, la différence de potentiel générée par l'écoulement hydrodynamique aux bornes des 50 nanocanaux. Une telle mesure est cependant relativement compliquée à réaliser. En effet, la résistance d'entrée de l'appareil de mesure doit être très supérieure à celle du circuit fluidique (constitué des 50 nanocanaux en parallèles) soit supérieure à  $\sim 10^{11} \Omega$ . Les appareils que nous avons à notre disposition ne possédant pas une telle résistance d'entrée, nous avons été contraints d'abandonner cette approche.

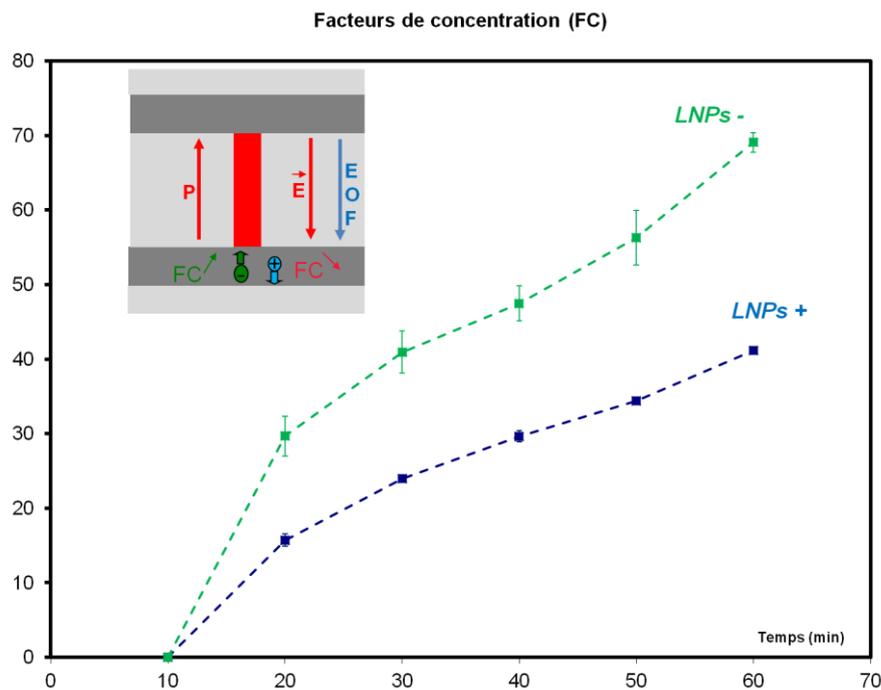
Une autre approche est de comparer le facteur de concentration de deux populations de particules possédant une charge de surface de signes opposés. La présence du potentiel d'écoulement devrait attirer les particules de charges négatives vers le filtre et repousser les particules de charge positives.

Une telle expérience est possible en utilisant les nanoparticules lipidiques (ou Lipidots©) fonctionnalisées à l'aide de lipides cationiques ( $d = 100 \pm 20 \text{ nm}$ ). Les résultats montrent que les LNPs cationiques possédant une charge de surface de **+60 mV** sont moins enrichies que les LNPs négativement chargées (**-30mV**). Ces premiers résultats semblent mettre en évidence la présence d'un potentiel d'écoulement. Une force électrophorétique semble bien être à l'œuvre dans le système et donc favoriser l'effet de préconcentration des particules négatives.

Afin de quantifier maintenant la contribution du flux électroosmotique dans le système on réalise une mesure du débit total dans le cas d'un fluide « isolant » (EDI) et conducteur (PBS 1mM) par Micro PIV. Les fluides « isolants » favorisent les grandes épaisseurs de double couche (donc les grands potentiels zêtas de la surface des canaux) donc devraient favoriser le flux électroosmotique (*cf.* équation (1.24)). En revanche, dans les fluides fortement concentrés en ions, le flux électroosmotique devrait être réduit. Le débit moyen devrait donc être réduit dans l'EDI puisque le courant électroosmotique s'oppose à l'écoulement

hydrodynamique. Cependant les résultats ont montrés que l'écoulement restait inchangé dans les deux cas. La contribution du flux électroosmotique semble donc être négligeable.

En résumé, l'expérience confirme la présence d'un potentiel d'écoulement qui se manifeste par une convection accrue des particules négatives au détriment des particules positive.



**Figure 62: Mise en évidence d'un potentiel d'écoulement.** La pression génère un champ électrique E à travers la rangée de nanocanaux. La mesure du facteur de concentration pour des particules lipidiques cationiques est représentée par la courbe rouge et des particules anioniques par la courbe bleu. L'augmentation du facteur de concentration (FC) est favorisée pour les particules négatives qui sont attirées vers la nanojonction grâce à l'électrophorèse et à l'écoulement hydrodynamique. En revanche, dans le cas des particules positives, les forces électrophorétiques et l'écoulement hydrodynamique s'opposent, réduisant ainsi les FC.

## 4.2.7 Conclusion

Le mode Symétrique hydrodynamique remplit finalement l'objectif initial d'exploiter un mode de filtration tangentiel pour localiser le concentrat en un volume restreint afin d'atteindre des facteurs de concentration élevés. En faisant varier plusieurs paramètres expérimentaux ainsi que des paramètres clés de la géométrie bypass nous avons atteint des

facteurs de concentration supérieurs à 1000. Le tableau en **Figure 63** résume les facteurs de concentration expérimentaux en fonction de tous les paramètres étudiés dans cette section.

	$C_0 = 10^{12} \text{ pl.ml}^{-1}$								$C_0 = 10^{11} \text{ pl.ml}^{-1}$
	h=50				h=100				h=100
	N=50		N=100		N=50		N=100		N=50
	EDI	PBS 1mM	EDI	PBS 1mM	EDI	PBS 1mM	EDI	PBS 1mM	EDI
<b>W=50<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>230</b>		<b>1200</b>						
<b>W=200<math>\mu\text{m}</math></b>	<b>130</b>	<b>350</b>	<b>170</b>		<b>150</b>	<b>2400</b>			<b>650</b>

**Figure 63:** Tableau résumant les résultats expérimentaux de préconcentration en fonction des différents paramètres pertinent : la hauteur  $h$  des nanocanaux, le nombre  $N$  de nanocanaux, la concentration initiale  $C_0$ , la salinité du tampon en mM.

Les facteurs de concentrations sont améliorés quand :

- Le nombre de nanocanaux  $N$  est grand ;
- La section du microcanal est petite ;
- La conductivité du tampon est élevée ;

Si le premier point était relativement intuitif, les deux autres conclusions ont nécessité plus de recul. Les deux premiers points ont pu être traités par le modèle numérique. En revanche le troisième point a du faire l'objet d'une investigation expérimentale. Il est étroitement lié à la concentration locale en nanoparticules et donc au coefficient de diffusion dont l'incertitude constitue une des limites du modèle. Un autre point à soulever est que l'effet de préconcentration n'est pas limité au filtre bloquant mais qu'il peut aussi exister avec des filtres semi-passants. Ces résultats pourront servir, à l'avenir, de bases à un modèle plus généralisé.

### 4.3 Mode Symétrique électrodynamique

Au **chapitre 2** nous avons explicité les différents régimes de préconcentration électrocinétiques qui existent au niveau d'une micro-nanojonction lorsque celle-ci est polarisée. Les phénomènes électroosmotiques, électrophorétiques et le phénomène d'ICP sont les trois principaux effets pouvant intervenir dans le processus de préconcentration des particules. Lorsqu'une micro-nanojonction est polarisée à des tensions relativement élevées (de l'ordre de quelques dizaines de volts) on observe une zone d'appauvrissement et d'enrichissement en particules de part et d'autre du ou des nanocanaux. Les équipes développant des systèmes nanofluidiques pour la préconcentration de particules attribuent régulièrement le pouvoir d'enrichissement aux zones de déplétion et de concentrations ioniques inhérentes au phénomène d'ICP. Cependant, nous verrons, expérimentalement, que les rapports de forces entre électroosmose et électrophorèse contribuent largement au processus de préconcentration et d'appauvrissement. La cohabitation de ces phénomènes peut rendre parfois difficile l'interprétation des résultats. Nous nous efforcerons d'apporter un maximum de réponses aux différentes questions posées par l'expérience.

La plupart des travaux, notamment ceux réalisés par l'équipe de J.Han au MIT, se focalisent principalement sur l'effet d'enrichissement de molécules qui apparaît du côté de l'anode. Des solutions tampons à concentration ionique modérée (~10mM) tel que du Phosphate Buffer Saline (PBS) sont généralement utilisées dans ce type d'expériences. D'après Plecis *et al.*,<sup>99</sup> cela favoriserait la contribution électroosmotique au détriment de la composante électrophorétique (régime ACGF).

En revanche, très peu d'équipes exploitent l'effet de concentration apparaissant du côté cathodique. Les facteurs de concentration restent moins importants que dans le cas des systèmes exploitant la zone anodique mais ne nécessite pas de contreflux pour stabiliser l'opération de concentration.

Les modes de préconcentration cathodiques (défini comme CF ou CCGF) apparaissent lorsque le déplacement électrophorétique des particules l'emporte sur le déplacement électroosmotique du fluide. Dans ce régime de préconcentration, l'utilisation de solutions très peu conductrices est donc préférable car la charge de surface des particules nécessaire

pour induire un déplacement électrophorétique n'est pas ou peu écartée par les ions de la solution.

Les dispositifs bypass utilisés dans cette section possèdent des nanocanaux d'épaisseur supérieur (100nm) au diamètre des nanoparticules (50nm). Les effets de préconcentration seront donc aussi fondés sur les effets d'exclusion ionique puisque dans les conditions de nos expériences un recouvrement des doubles couches est à prévoir ( $\lambda_D \sim 300\text{nm}$ ).

### 4.3.1 Identification du phénomène prédominant dans le processus de préconcentration cathodique

Dans un premier temps nous mettons en évidence l'électropréconcentration et l'électrorépulsion de nanobilles fluorescentes en polystyrène négativement chargées (50nm de diamètre) et placées dans l'EDI. Des microbilles fluorescentes (1 $\mu\text{m}$  de diamètre) en polystyrène fluorescentes (négativement chargées elles aussi) sont ajoutées à l'échantillon afin de visualiser les écoulements. Le potentiel zêta de la surface de silice dans l'eau (à pH proche 7) est estimé à  $-60\text{mV}^3$  et l'épaisseur des doubles couches à  $\sim 300\text{ nm}$ . Pour des raisons de visualisation, la configuration du dispositif utilisée dans cette partie présentera des microcanaux de largeurs égales à  $200\mu\text{m}$ .

La **Figure 64 a** illustre l'actionnement du composant dans le mode Symétrique électrodynamique, lorsqu'une tension symétrique de 50V est appliquée au niveau du microcanal BC. On observe une répulsion anodique (RA) et une concentration cathodique (CC) des nanobilles. La répulsion anodique est repérée par l'étalement d'une zone sombre dans le microcanal anodique tandis que la concentration cathodique est repérée par l'augmentation de l'intensité de fluorescence le long du filtre du côté cathodique. L'abréviation RA est utilisée en opposition de l'abréviation AD pour différencier l'appauvrissement en particules de l'appauvrissement en ions.

Dans le cas de particules négativement chargées, deux explications sont possibles :

1. Les conditions d'électroneutralité doivent être respectées de part et d'autre du nanocanal conformément à la définition du phénomène d'ICP. Ainsi on retrouve bien

une zone d'enrichissement du côté de la cathode et une zone d'appauvrissement du côté de l'anode ;

2. Le déplacement des particules est régi par la compétition entre les flux électroosmotique et électrophorétique au niveau de la micro-nanojonction. Un régime gouverné par le déplacement électrophorétique des nanobilles dans l'EDI peut également expliquer l'apparition d'une zone d'appauvrissement du côté de l'anode et de concentration du côté de la cathode.

L'eau déionisée ne mobilise que très peu d'ions, il semble donc difficile d'engendrer le phénomène d'ICP dont l'interprétation est principalement fondée sur le transport ionique à travers la micro- nanojonction. Bien que ce phénomène puisse toutefois intervenir, il est cependant plus probable qu'au premier ordre, la simple compétition entre les flux électroosmotique et électrophorétique soit impliquée dans le processus de préconcentration.

Afin de valider cette hypothèse nous remplissons les microcanaux BC et SC respectivement d'une solution de LNPs cationiques et anioniques ( $d = 100\text{nm} \pm 20\text{nm}$ ). Dans le cas d'un régime dominé par le phénomène d'ICP, la polarité de la particule à concentrer ne devrait pas intervenir. En revanche, dans le cas d'un régime dominé par l'électrophorèse les particules positives et négatives devraient être simultanément concentrées. C'est précisément ce que nous montre la **Figure 64 b** confirmant que l'électrophorèse est le phénomène prédominant dans la formation des gradients de concentrations en nanoparticules.

La **Figure 64 c** représente les résultats obtenus avec un échantillon de fluoréscéines placé dans l'EDI. Nous retrouvons bien l'effet de répulsion brutal déjà bien référencé dans la littérature.<sup>73</sup> Un front de concentration apparaît au niveau des parois de la zone de répulsion. Cet effet semble être la manifestation de la compétition entre électrophorèse (EP) et électroosmose (EOF). Ce front est instable dans le temps puisque la zone sombre fini par atteindre les réservoirs en quelques secondes seulement. Nous noterons que cet effet n'est pas observé avec l'échantillon de nanobilles. Cette expérience est reportée ici à titre indicatif

puisque'elle ne rentre pas dans le cadre de l'étude qui se focalise principalement sur les effets de préconcentration de nanoparticules de tailles supérieures à 10nm.

A ce stade nous pouvons conclure que l'effet d'enrichissement des nanoparticules à l'entrée des nanocanaux est dû au déplacement électrophorétique des nanobilles vers l'entrée des nanocanaux. Celles-ci sont accumulées à l'entrée des nanocanaux puisque les répulsions électrostatiques s'opposent à leur passage.

Remarques :

- lors des expériences, grâce aux microbilles fluorescentes ajoutées à l'échantillon, nous observons que l'expansion de la zone de répulsion anodique est accompagnée de recirculations dans le microcanal. Les vortex pourraient tenir leurs origines du flux électroosmotique car, dans notre système ce flux est opposé au flux électrophorétique. Cependant, elles pourraient également être attribuées au régime d'ICP instable décrit au **chapitre 2**. Dans notre cas, à faible conductivité où peu d'ions sont mobilisés, il est possible que nous atteignons directement ce régime;
- L'encadré en pointillés rouges en **Figure 64 b** met en évidence le passage facilité des particules cationiques au travers des nanocanaux puisque leurs charges positives ne subissent pas la barrière électrostatique. Il faut noter que l'échantillon de LNPs est polydispersé donc certaines des LNPs ont un diamètre inférieur à la hauteur des nanocanaux.

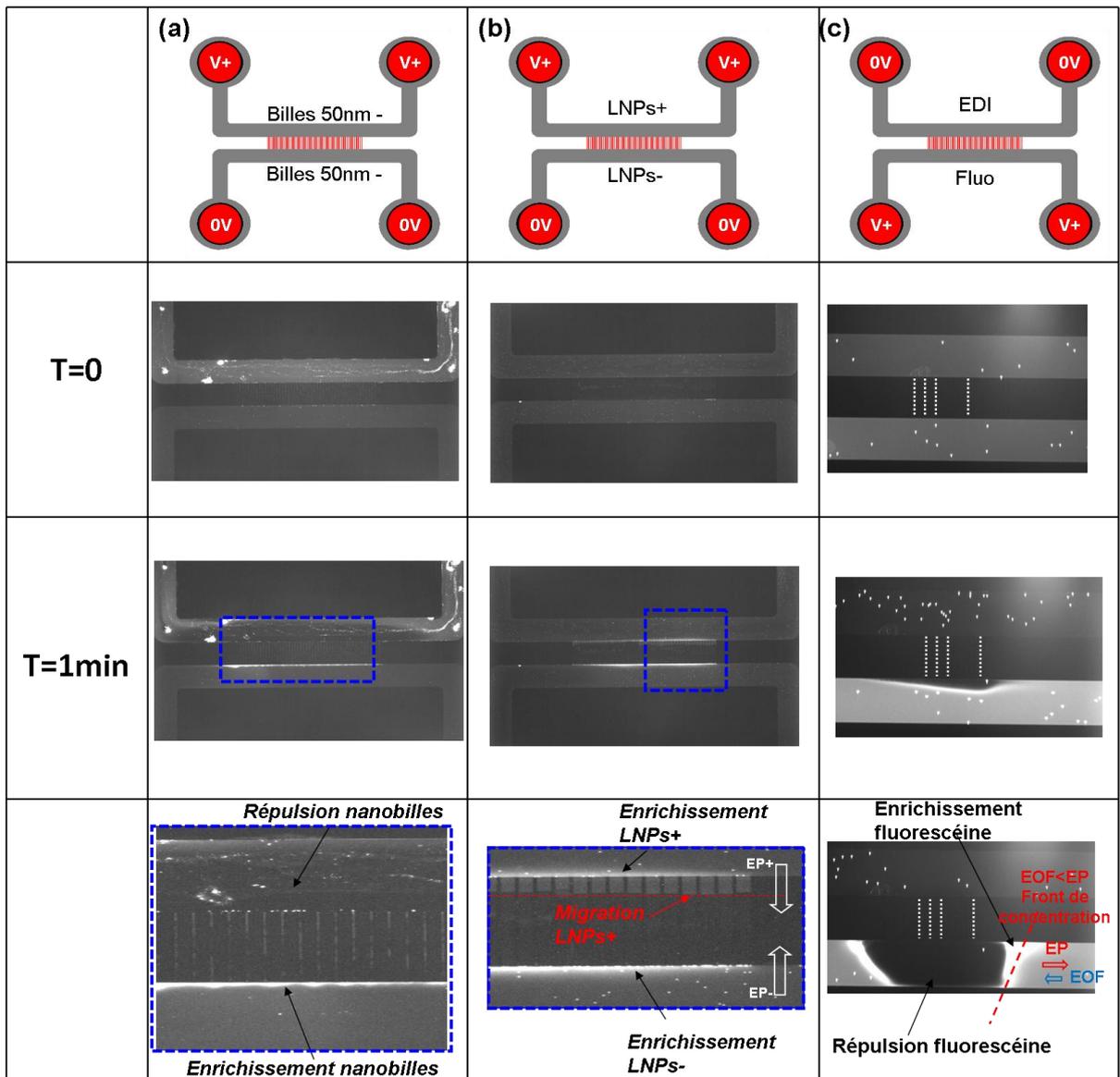


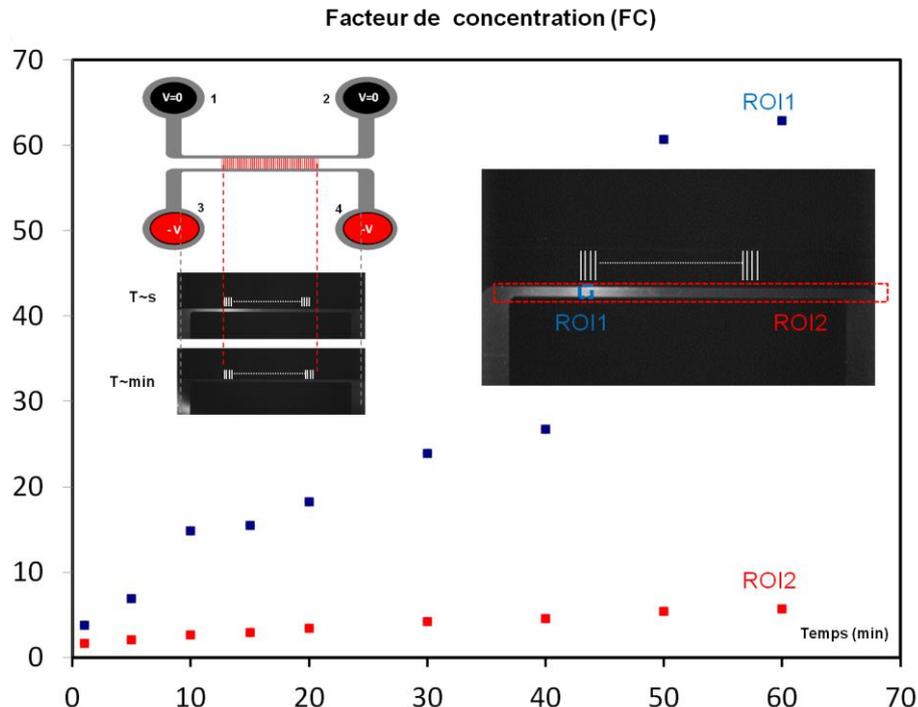
Figure 64 : Actionnement Symétrique électrodynamique du motif B0 possédant des nanocanaux de profondeur  $h = 100\text{nm}$ . Une tension  $V = 50\text{V}$  est générée au niveau des entrées du microcanal BC. Sont représentées aux instants  $T=0$  et  $1\text{min}$  les images du composant par microscopie de fluorescence. Celui-ci est soit rempli (a) d'une solution de nanobilles en polystyrène négative de  $50\text{nm}$  de diamètre, (b) de solutions de LNPs (cationiques ou négatives) ou (c) d'un échantillon de fluorescéines. L'encadré en pointillés rouges met en évidence le passage des particules cationiques (portion de l'échantillon polydisperse dont la taille est inférieur à  $h$ ) grâce à leur charge positives qui ne subissent pas la barrière électrostatique établie dans les nanocanaux. Les caillots de fluorescence observés en (a) sont dû aux phénomènes d'adsorption des nanoparticules aux parois des canaux de silice. Les flux électroosmotiques et électrophorétiques sont indiqués par les abréviations EOF et EP.

### 4.3.2 Préconcentration cathodique: quantification du facteur de concentration

Le but de cette section est de quantifier la préconcentration cathodique des nanobilles. La configuration B2 est utilisée pour réaliser les expériences.

La **Figure 65** montre l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps. Des facteurs de concentration jusqu'à 50 ont pu être obtenus localement sur une région d'intérêt (ROI 1) de  $10\mu\text{m}^2$  (des FC seulement égale à 6 sont obtenus si l'on intègre l'intensité de fluorescence sur tout le volume du microcanal, ROI 2).

Ces résultats sont apparus toutefois peu reproductibles. Dans les premiers instants de l'opération de concentration, une augmentation de l'intensité de fluorescence apparaît à l'entrée des nanocanaux. En revanche, après quelques minutes, il peut apparaître des instabilités déplaçant les nanoparticules vers les réservoirs du microcanal réduisant considérablement l'efficacité de préconcentration.



**Figure 65 :** Evolution du facteur de concentration en fonction du temps mesuré en intégrant l'intensité de fluorescence sur un ROI de  $10\mu\text{m}^2$  (ROI1) ou en intégrant sur toute la section du microcanal (ROI2).

Une hypothèse consiste à dire que des dissymétries de potentiels électriques inhérentes aux inhomogénéités de gravure des nanocanaux, ou plus globalement à l'ensemble du circuit électrique soient à l'origine de ces instabilités. Nous verrons au **chapitre 5** comment une configuration avantageuse permet de s'affranchir de ce problème.

#### **4.4 Mode Asymétrique : Electro-hydrodynamique dans un dispositif classique bypass ; ElectroLess-ElectroPreconcentration (EL-EP)**

Les dispositifs micro-nanofluidiques d'électropréconcentration de la littérature présentent les plus hauts facteurs de concentration; ils restent toutefois tributaires d'une source de tension électrique (entre 10 et 100V) ainsi que d'un jeu d'électrodes interne ou externe au système. Il peut donc être important d'orienter les efforts de recherche en direction de systèmes nanofluidiques dit « passif » offrant les avantages suivants : (i) aucune source de tensions nécessaire ; (ii) une simplification considérable des procédés de microfabrication ; (iii) pas de relarguage métalliques nocifs pour les échantillons biologiques ; (iv) pas de risques d'électrolyse dans la zone d'analyse de l'échantillon.

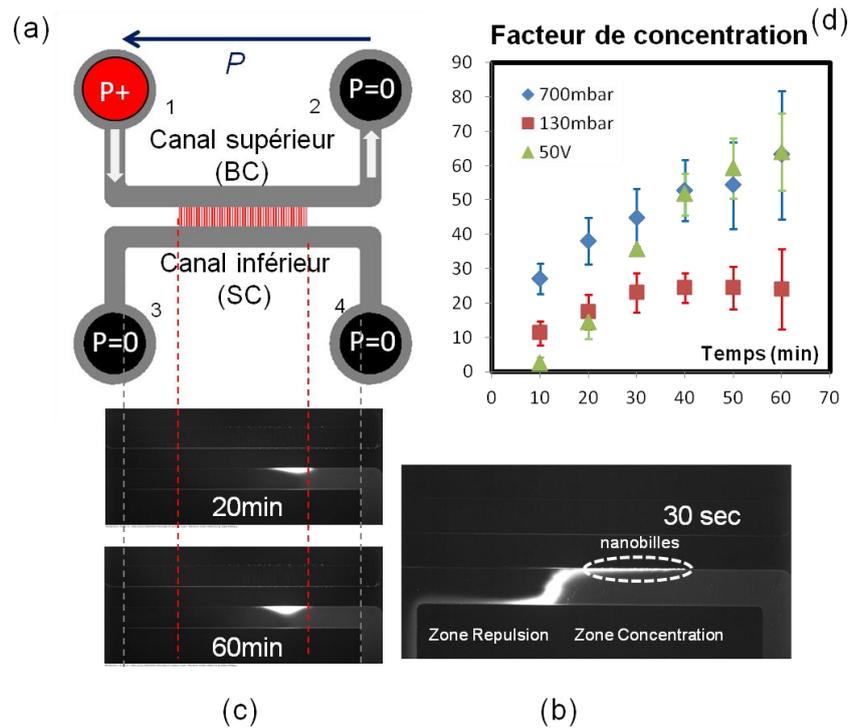
Nous avons vu aux **chapitres 1 et 4.2** qu'il était possible de générer une tension électrique dans un microcanal grâce à une source de pression. Ce phénomène est appelé potentiel d'écoulement. Certains groupes utilisent ce phénomène dans des canaux de quelques dizaines de nanomètres afin d'explorer les possibilités de stockage d'énergie. D'autres, s'intéressent aussi aux effets de préconcentration qui peuvent apparaître lorsqu'un écoulement hydrodynamique est induit à travers un nanocanal. Wang et al,<sup>17</sup> dans leur analyse numérique, mentionnent la possibilité d'induire le phénomène d'ICP en générant une différence de pression au travers d'un nanocanal tandis que Plecis et al<sup>101</sup> démontrent expérimentalement un faible effet d'enrichissement de fluorescéine à l'entrée d'un nanocanal par effet Donnan. Cependant, jusqu'ici, à notre connaissance, aucun groupe n'a démontré expérimentalement l'électropréconcentration passive et efficace de particules.

L'objet de cette partie sera l'actionnement hydrodynamique d'un système bypass classique (possédant des nanocanaux de 50nm de hauteur) pour l'électropréconcentration de nanobilles de 50nm. Le mode d'actionnement « Asymétrique » appelé « ElectroLess-ElectroPreconcentration » ou « EL-EP » est entièrement contrôlé par une source de pression. La compétition des différents phénomènes sous jacents au processus de préconcentration sera également discutés.

#### 4.4.1 Mise en évidence du phénomène et premières interprétations

Le mode Asymétrique, comme le montre la **Figure 66 a**, consiste à générer un flux hydrodynamique le long du microcanal supérieur. Un gradient de pression est imposé entre les réservoirs 1 ( $P_1=P_+$ ) et 2 ( $P_2=0$ ) alors que les réservoirs 3 et 4, connectés au microcanal inférieur, sont maintenus à pression atmosphérique ( $P_3=P_4=0$ ). Les nanobilles fluorescentes de 50nm sont progressivement repoussées du côté gauche du filtre (zone sombre) tandis qu'elles sont concentrées du côté droit. Tant que le flux sera maintenu dans le canal supérieur, ce phénomène pourra être observé (voir **Figure 66 b et c**). Si le flux dans le microcanal supérieur est généré dans le sens opposé ( $P_2=P_+$  et  $P_1=0$ ), un effet symétrique est observé ; les nanobilles sont concentrées le long du côté gauche et repoussées du côté droit du canal inférieur. Le même phénomène a été observé pour des nanocanaux de 100nm de haut, mais avec une intensité plus faible.

La courbe représenté en **Figure 66 d** montre l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps pour différentes pressions appliquées au niveau du réservoir 1 ( $P_1=130\text{mbar}$  ou  $700\text{mbar}$ ). Les valeurs sont extraites en suivant la même procédure décrite en **section 4.2**. Les résultats montrent clairement que le facteur de concentration dépend directement du gradient de pression le long du canal supérieur. Un facteur de concentration jusqu'à 70 fois la concentration initial ( $10^{12}\text{pl.ml}^{-1}$ ) est obtenu à  $700\text{mbar}$  au bout 1h d'expérience. Les barres d'erreurs montrent une déviation d'environ 20% par rapport aux valeurs moyennes.



**Figure 66 : Description du mode Asymétrique et les résultats. (a) Représentation schématique du système actionné dans le mode Asymétrique. (b) Quelques secondes après que le flux soit généré au niveau du canal supérieur, les nanobilles sont respectivement repoussées et concentrées du côté gauche et droit du système. (c) Imagerie par fluorescence après 20 et 60 min d'opération de concentration. (d) Le graphique montre l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps. Les courbes rouge et bleu illustrent le facteur de concentration quand des pressions respectives de 130mbar et 700mbar sont appliquées au niveau du réservoir 1. La courbe verte correspond à l'expérience contrôle dans laquelle on applique une tension électrique de 50V intentionnellement pour mettre en évidence l'existence d'un potentiel d'écoulement. Les valeurs du facteur de concentration sont déduites de l'intégration de l'intensité de fluorescence sur un ROI de  $10\mu\text{m}^2$  au niveau de la zone de concentration la plus intense.**

Pour mettre en évidence l'existence d'un potentiel d'écoulement nous réalisons deux expériences complémentaires. En effet, l'écoulement hydrodynamique a lui seul ne peut expliquer le phénomène que l'on observe compte tenu des débits trop faibles qui traversent les nanocanaux ( $< \text{nl} \cdot \text{min}^{-1}$ ). De plus aucune pression générée aux entrées 3 et 4 ne peut être à l'origine de l'effet d'enrichissement observé.

La première expérience consiste à mesurer le potentiel électrique à l'aide d'un voltmètre connecté aux entrées 1 et 2, comme schématisé en **Figure 42**. Nous mesurons effectivement une évolution du potentiel électrique le long du microcanal BC en fonction de la pression. Un champ électrique existe donc dans le système. Une différence de potentiel significative

d'environ 50V peut ainsi être générée pour des pressions de 1bar. Ce champ électrique a donc une influence sur l'effet de concentration des nanoparticules.

Une deuxième expérience contrôle confirme ce résultat : une différence de potentiel de 50V est appliquée dans le canal supérieur en utilisant des électrodes de platine reliées à un générateur de tensions (mode Asymétrique Electrodynamique, **Figure 47**). Tous les réservoirs sont maintenus à pression atmosphérique. Le but est d'imposer une configuration électrique équivalente à l'expérience précédente. On observe effectivement un comportement asymétrique : les zones de répulsion et de concentration sont localisées respectivement à gauche et à droite du microcanal inférieur. De plus, les facteurs de concentration obtenus avec ce schéma d'actionnement électrique (courbe verte **Figure 66 d**) sont comparables à ceux obtenus avec le mode Asymétrique hydrodynamique. Ce résultat est consistant avec l'hypothèse d'un phénomène d'électropréconcentration fondé sur l'utilisation d'un potentiel d'écoulement.

En considérant un potentiel zêta relativement large et un faible courant de retour dans le cas d'un liquide isolant (EDI), il est possible de générer un potentiel d'écoulement suffisamment important pour induire un phénomène d'électropréconcentration. Le potentiel d'écoulement dépend directement de la différence de pressions générée au travers du microcanal. On peut estimer ce potentiel à environ 100 volts en utilisant l'**équation (1.31)**. Cette estimation est effectivement du même ordre de grandeur que la valeur expérimentale (~50V).

#### 4.4.2 Modèle simplifié

Selon le schéma électrique équivalent du système illustré en **Figure 66 a**, les microcanaux peuvent être représentés par des résistances électriques en séries  $R_e$  ( $\sim 10^8 \Omega$ ) alors que les nanocanaux sont représentés par des résistances  $r_e$  ( $\sim 10^{13} \Omega$ ) connectées en parallèles. Dans le cas hydrodynamique, toutes les ouvertures fluidiques sont laissées au potentiel flottant. Quand le flux est généré dans le microcanal supérieur, cela induit un gradient de potentiels électriques orienté dans le sens opposé au gradient de pressions situé dans le microcanal supérieur. Ce gradient induit à son tour une configuration antiparallèle du champ

électrique situé dans la rangée de nanocanaux et peut donc donner naissance au caractère asymétrique observé.

Le caractère asymétrique du phénomène, caractérisé par la cohabitation de la zone de répulsion et de concentration, peut être expliqué plus finement par une compétition entre électroosmose et électrophorèse où l'électrophorèse dominerait. Néanmoins, en raison de la différence de pression qui existe entre le canal supérieur et inférieur, le flux hydrodynamique au travers des nanocanaux doit également être pris en compte. Même si ce flux ne semble pas être incompatible avec l'électropréconcentration, il tend, néanmoins, à rediluer l'échantillon concentré. En effet, il est opposé au déplacement électrophorétique des nanobilles négativement chargées. La différence de pression moyenne entre le canal supérieur et inférieur est d'environ  $\sim 350$  mbar. Le flux hydrodynamique est estimé à environ  $1 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ .

Le circuit électrique 1D de la **Figure 66 a** montre comment le champ électrique évolue dans la rangée de nanocanaux. Un modèle 3D est cependant requis pour mieux comprendre la configuration du champ électrique dans le microcanal, en particulier à proximité de la jonction micro-nano où les nanobilles sont concentrées ou repoussées. Un modèle 3D a été réalisé par méthode d'élément fini (MEF) à l'aide du logiciel COMSOL. La **Figure 66 b** montre l'évolution du potentiel électrique. Une échelle de 0 à 1V a été utilisée pour suivre les petites variations de potentiels électriques dans le canal SC. Le champ électrique calculé dans le microcanal inférieur est de l'ordre de  $200 \text{V}\cdot\text{m}^{-1}$  (**Figure 66 c**). On estime donc une vitesse électrophorétique d'environ  $11 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  grâce à l'**équation (1.27)** (étant donné la mobilité des nanobilles proche de  $-5,5 \cdot 10^{-8} \text{m}^2\cdot\text{s}^{-1}\cdot\text{V}^{-1}$ ). La différence de valeur absolue entre les vitesses hydrodynamique ( $1 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) et électrophorétique ( $11 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ ) est suffisante pour expliquer la prédominance de la composante électrophorétique dans le système. L'électrophorèse est donc responsable du déplacement des nanobilles négativement chargées vers le côté droit de la micro-nanojonction où elles seront accumulées par effet stérique (le rapport entre la taille d'une nanobille et la hauteur d'un nanocanal étant proche de 1). Du côté gauche du filtre, les particules seront repoussées. Une première estimation de la vitesse de répulsion des particules, réalisée par simple imagerie par fluorescence, est d'environ  $10 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$ . Ce résultat est cohérent avec les  $11 \mu\text{m}\cdot\text{s}^{-1}$  prédits par le modèle

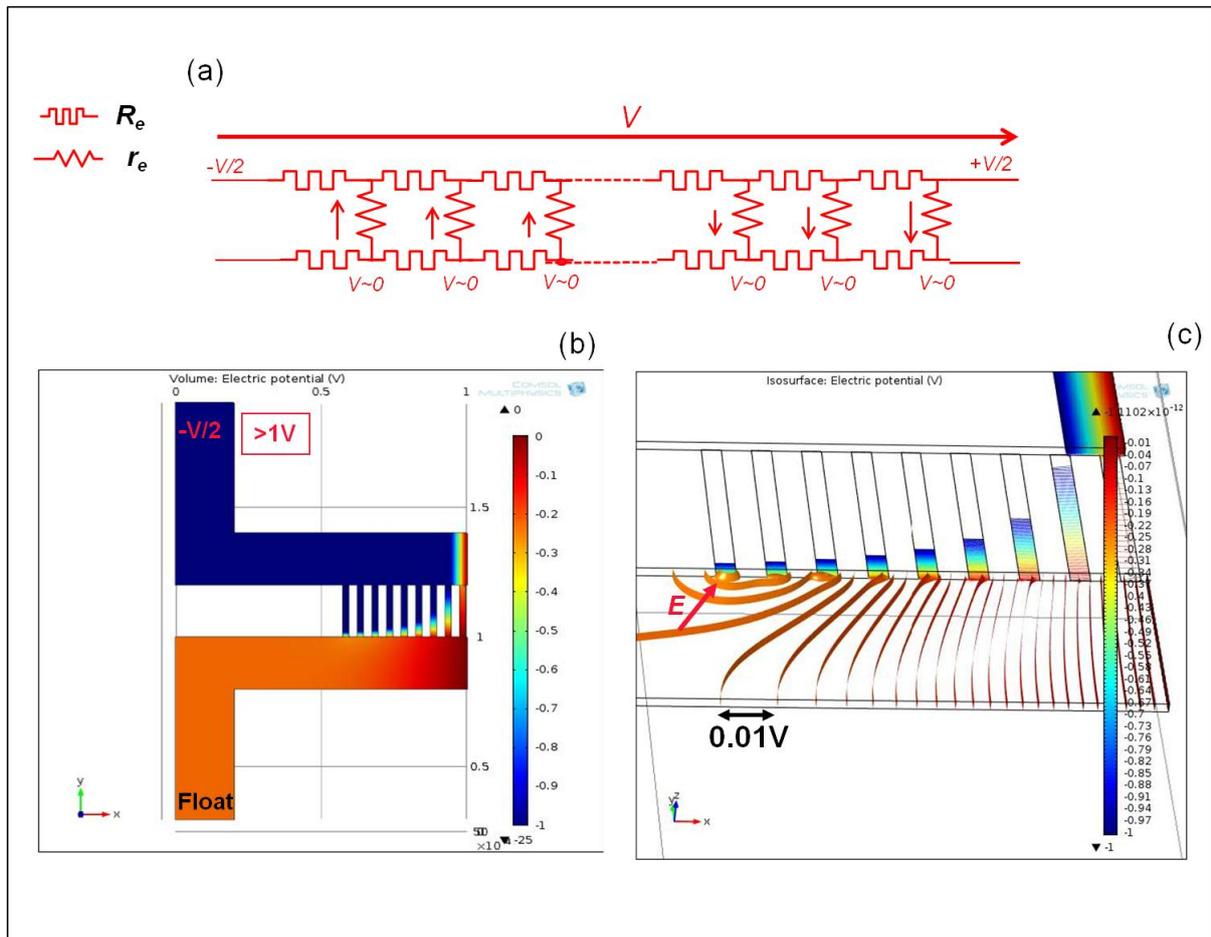
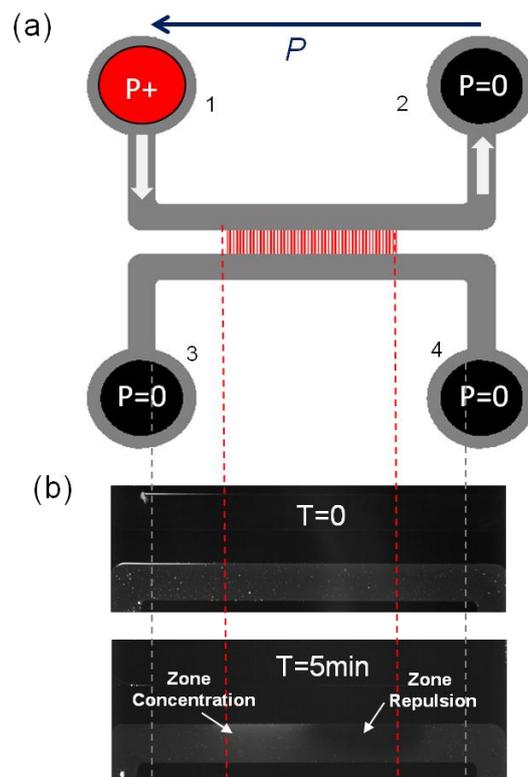


Figure 67 : (a) Circuit électrique équivalent du mode Asymétrique. Les résistances du microcanal et des nanocanaux du motif B0 sont respectivement connectées en séries et en parallèles. (b) Simulation numérique du potentiel électrique en utilisant la méthode par élément fini de COMSOL (electric-currents module). Seule la partie gauche du système est représentée pour simplifier les calculs. Les conditions aux limites sont établies à 25V (float) a l'entrée 1(3). Seuls les potentiels électriques entre 0 et 1V sont représentés. (c) Isosurfaces du potentiel électrique proche de la micro-nanojonction. Un champ électrique de  $\sim 200\text{V}\cdot\text{m}^{-1}$  est estimé dans cette zone.

Deux expériences complémentaires ont été réalisées pour renforcer l'hypothèse d'un régime dominé par le déplacement électrophorétique des particules.

Une première expérience consiste à travailler avec un échantillon à plus forte salinité (10 mM) pour éliminer tout potentiel d'écoulement susceptible de créer un déplacement électrophorétique. Ainsi, seule la composante hydrodynamique sera visible. Les résultats montrent que l'implication du flux hydrodynamique sur les effets de répulsion et de concentration est négligeable car ces effets sont très faibles à forte concentration ionique.

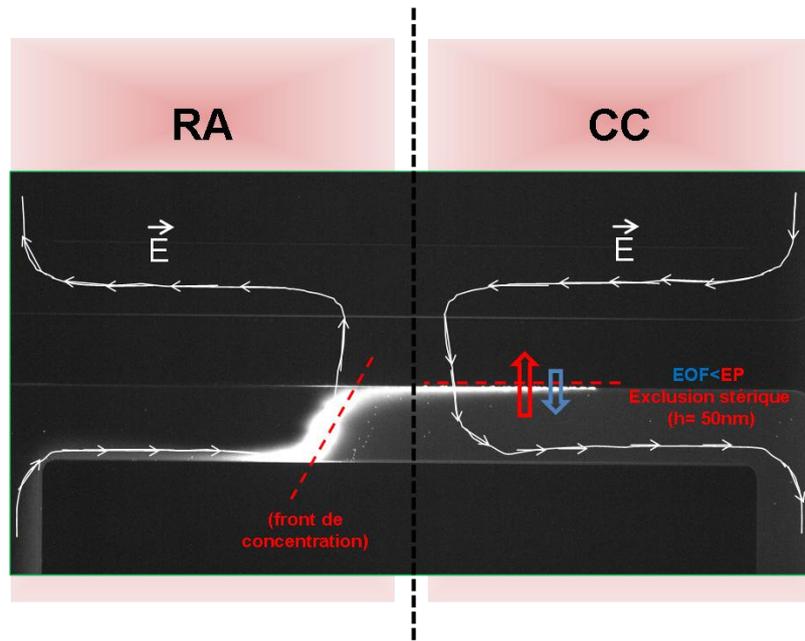
Une seconde expérience, illustrée en **Figure 68** consiste à utiliser un échantillon de nanoparticules cationiques (Lipidots®). Lorsque l'écoulement dans le canal supérieur est généré de la gauche vers la droite, l'effet de concentration apparaît du côté gauche de la micro-nanojonction tandis qu'elles sont repoussées du côté droit. A l'inverse des particules anioniques, les particules cationiques suivent donc le sens du champ électrique ce qui conforte ainsi l'hypothèse d'un déplacement électrophorétique.



**Figure 68 : Mode Asymétrique sur des LNPs cationiques (lipidots®).** (a) Diagramme schématique du système opéré dans le mode Asymétrique. (b) Imagerie par fluorescence capturée après 5min d'opération. Le comportement antagoniste de ces particules comparé aux nanobilles chargées négativement est démontré. Les LNPs+ sont concentrées à gauche et repoussées du côté droit de la micro-nanojonction. On notera que l'effet d'enrichissement des LNPs est moins intense que celui des nanobilles car leur mobilité électrophorétique est plus faible ( $\sim 4,5 \cdot 10^{-8} \text{ m}^2 \cdot \text{s}^{-1} \cdot \text{V}^{-1}$ ).

Au premier ordre, on peut donc considérer que le système est actionné dans un régime dominé par électrophorèse. La **Figure 69** représente le système dans les premiers instants de l'actionnement et situe les flux impliqués. Un régime de répulsion anodique et de concentration cathodique cohabitent dans le microcanal. Nous noterons la présence d'un front de concentration auparavant mis en évidence dans le mode d'actionnement

Symétrique. Ce résultat est inattendu puisque cet effet n'avait été observé qu'avec un échantillon de fluorescéine.



**Figure 69 :** Représentation schématique des lignes de champs électriques et des différents écoulements électrocinétiques mis en jeu dans le mode Asymétrique. Les effets de répulsion et d'enrichissement sont dus au déplacement électrophorétique des particules.

Hormis les effets de répulsion et de concentration qui peuvent être relativement bien expliqués par le phénomène d'électrophorèse, on observe également de fort flux électrocinétiques non linéaire (recirculations) qui naissent au niveau de la zone de répulsion. Nous avons mentionné dans la section précédente que ces motifs d'écoulement pouvaient être associés au flux électroosmotique opposé au flux électrophorétique. Mais, là encore, il ne faut pas exclure l'existence d'un régime instable de l'ICP.<sup>78</sup> Les expériences ont montrées que ces effets électrocinétiques secondaires augmentaient avec la différence de pression générée entre les réservoirs 1 et 2, et qu'ils pouvaient compromettre l'effet d'enrichissement lorsque des pressions supérieures à 1 bar étaient appliquées.

### 4.4.3 Couplage des modes Symétrique et Asymétrique hydrodynamiques

Coupler les modes Symétrique et Asymétrique hydrodynamiques s'est avéré être un moyen efficace pour contrebalancer les effets non linéaires et améliorer considérablement la stabilité de l'étape de préconcentration. La **Figure 70** récapitule les performances obtenues grâce aux trois modes d'actionnement hydrodynamiques. Dans les mêmes conditions expérimentales, le mode couplé offre les meilleurs facteurs de concentration. Les résultats sont également plus reproductibles que le mode Asymétrique grâce à la contribution de l'actionnement symétrique.

La **Figure 70 c** représente le profil d'intensité de fluorescence de l'échantillon enrichi selon les trois méthodes de préconcentration. Avec chaque méthode, l'échantillon est confiné dans un petit volume de seulement quelques centaines de picolitres, lequel est bien inférieur au volume du microcanal. Dans les modes Symétrique et Couplé, l'échantillon est localisé au centre du microcanal SC tandis que le mode Asymétrique délocalise l'échantillon vers le réservoir.

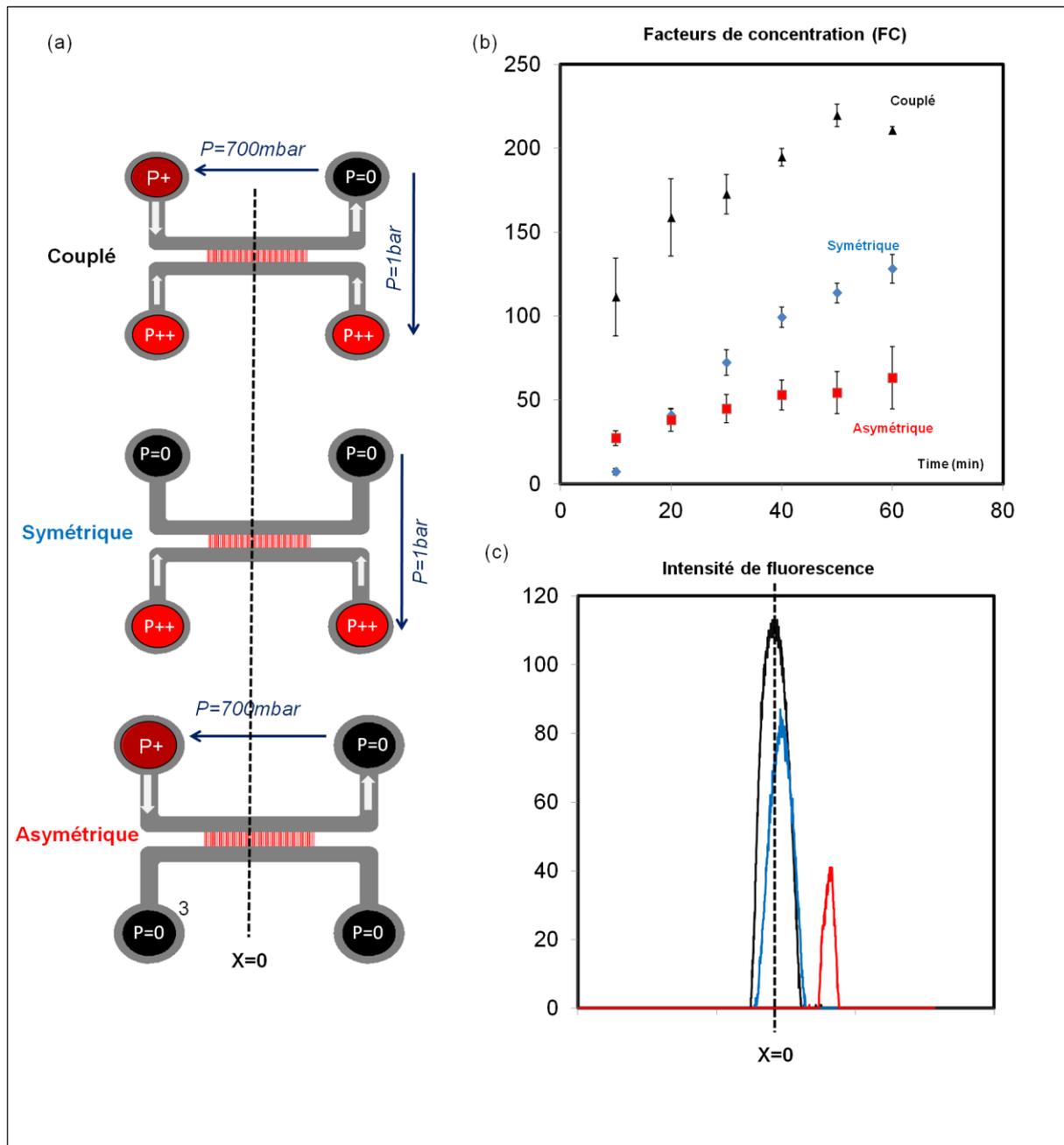


Figure 70 : Récapitulatif des résultats obtenus avec les modes Symétrique, Asymétrique et Couplé hydrodynamiques. (a) Diagramme schématique du système dans les trois modes d'actionnement. Dans le mode Couplé le réservoir 1 est pressurisé à 700mbar alors que le réservoir 2 reste à pression atmosphérique. Les réservoirs 3 et 4 sont pressurisés à 1bar (b) Evolution du facteur de concentration en fonction du temps pour les trois modes. (c) Profil d'intensité de fluorescence de l'échantillon dans le microcanal selon les trois différents modes.

#### 4.4.4 Un phénomène tributaire de la conductivité

Le problème d'une étape de préconcentration reposant sur le déplacement électrophorétique des particules est la chute considérable de la mobilité électrophorétique avec des tampons à forces ioniques importantes. D'autres expériences ont effectivement montrées une perte d'efficacité de l'EL-EP à concentration ionique supérieur à 100 $\mu$ M. Pour traiter des échantillons à concentrations ioniques modérées ( $\sim$ 10mM) et donc compatibles avec des échantillons biologiques, le système devrait être opéré dans un régime dominé par électroosmose.<sup>99</sup> On retrouve notamment ce régime dans les systèmes de préconcentration développés au MIT.<sup>89</sup> L'utilisation de membranes nanoporeuses possédant une importante charge de surface, tels que les membranes Nafions et les hydrogels pourrait être un moyen de promouvoir l'électroosmose dans le système et donc de traiter des échantillons plus réels. De plus, le faible diamètre des pores ( $\sim$ 10nm) dans de telles membranes pourrait réduire les flux hydrodynamiques parasites existant à cause de l'actionnement en pression du système. Il doit être néanmoins répéter que le canal supérieur devra toujours être rempli d'une solution très peu conductrice pour permettre l'apparition d'un potentiel d'écoulement suffisamment grand pour générer les flux électrocinétiques nécessaires.

### 4.5 Conclusion

Le chapitre avait pour principal objectif de proposer un maximum de techniques exploitant l'architecture bypass pour préconcentrer un échantillon de nanoparticules. Nous avons démontré que ce quadripôle offrait la possibilité de travailler avec une large gamme de modes d'actionnement. Les points essentiels à retenir concernant ces modes d'actionnement sont résumés dans l'encadré situé à la fin de ce chapitre et certains d'entre eux ont fait l'objet d'une première publication dans la revue *Lab on a Chip* (**Lab on a Chip**, **13** (**22**), **4476-4485**).

Nous avons mis en place un certain nombre d'outils pour étudier les effets de filtration et de préconcentration. Le choix technologique (technologie silicium) s'est avéré judicieux, notamment pour appuyer l'analyse paramétrique du modèle de filtration tangentielle symétrique puisqu'un excellent contrôle des dimensions des composants est possible. De

plus, aucun effet d'encrassement des filtres n'a pu être observé. Cela a permis la réutilisation des composants de nombreuses fois.

Les nanoparticules lipidiques dont la charge de surface est contrôlée et la méthode de caractérisation par Micro PIV ont représenté de bons moyens pour la compréhension et la visualisation de certains phénomènes parfois difficiles à détecter avec les instruments de mesures à notre disposition.

Les différentes techniques de filtration et de préconcentration que nous avons développées peuvent être classées en deux groupes. Les techniques actionnées par voie hydrodynamique et par voie électrocinétique. Cependant, une distinction aussi brutale ne représente pas bien la réalité. Nous avons vu que les phénomènes hydrodynamique et électrocinétiques étaient très fortement couplés. La technique de préconcentration par mode Asymétrique hydrodynamique incarne parfaitement ce couplage.

Dans tous les cas, au premier ordre, la zone de concentration résulte de la compétition entre deux phénomènes antagonistes transportant les particules dans deux directions opposées. Dans le cas de la filtration tangentielle symétrique (mode d'actionnement Symétrique hydrodynamique) il s'agit de la compétition entre la convection et la diffusion. Dans le cas des modes reposants sur le déplacement des particules dans un champ électrique, la compétition se situe au niveau des flux électroosmotique et électrophorétique.

Finalement, les modes d'actionnement Symétrique et Asymétrique hydrodynamiques sont apparus comme deux techniques de préconcentration prometteuses. Les facteurs de concentration sont relativement élevés et l'actionnement hydrodynamique ouvre la voie à des systèmes passifs plus simples à intégrer sur plateforme LOC.

Le mode d'actionnement Symétrique réhabilite en quelque sorte la technique de nanofiltration tangentielle peu exploitée dans la littérature. L'écoulement symétrique permet le confinement de l'échantillon dans un volume restreint pour atteindre des facteurs de concentration très élevés et supérieurs à mille. Les phénomènes sous jacents à cette technique se sont avérés plus compliqués que prévu. Le modèle numérique 1D a permis d'identifier les paramètres clés à l'optimisation des composants. Il reste toutefois limité en raison des incertitudes relatives à la valeur du coefficient de diffusion à prendre en compte.

En effet, les expériences ont montré que ce dernier était probablement fortement dépendant de la concentration de l'échantillon et de la salinité du tampon. L'originalité du mode d'actionnement Asymétrique repose sur l'exploitation avantageuse du potentiel d'écoulement pour générer un champ électrique sans générateur externe de tensions ni électrodes intégrées au système. L'actionnement est plus simple que le mode Symétrique car aucun contrôle fin des pressions d'entrées n'est nécessaire. Il reste néanmoins moins performant en termes de facteurs de concentration. De plus ce mode perd considérablement en efficacité avec des tampons conducteurs alors que le mode Symétrique est optimisé dans ces conditions. Nous verrons toutefois au **chapitre 6** que sa simplicité d'actionnement peut être avantageusement exploitée.

- **Mode Symétrique hydrodynamique :**
  - Un écoulement tangentiel symétrique induit l'accumulation d'un échantillon de nanobilles au centre du microcanal ;
  - Echantillon confiné dans un volume de quelques centaines de picolitres ;
  - Modèle théorique diffuso-convectif : identification des paramètres géométriques clefs, modèle 1D pour un problème 3D et incertitude sur le coefficient de diffusion ;
  - Optimiser avec des tampons à forces ioniques modérées (10mM) : compatible avec les échantillons biologiques ;
  - Fonctionne avec des filtres partiellement passants
  - Robuste et stable ;
  - FC max : **2000x**.
  
- **Mode Symétrique électrodynamique :**
  - Préconcentration de nanobilles du côté de la cathode à l'entrée des nanocanaux par effet d'exclusion ionique ;
  - Effet d'enrichissement faible ;
  - Peu stable ;
  - Dominé par l'électrophorèse ;
  - FC max : **60x**.
  
- **Mode Asymétrique hydrodynamique:**
  - Préconcentration de nanobilles grâce à un champ électrique généré par un champ de pression : exploitation du potentiel d'écoulement ;
  - Echantillon confiné dans un volume de quelques centaines de picolitres ;
  - Mode d'actionnement très simple ;
  - Stable lorsque couplé avec le mode Symétrique hydrodynamique ;
  - Dominé par l'électrophorèse ;
  - Efficace dans un tampon peu conducteur ;
  - FC max : **200x** lorsque couplé avec le mode Symétrique hydrodynamique.

# **5 Actionnement électrocinétique d'un dispositif radial pour la préconcentration de nanoparticules**

## **5.1 Introduction**

Nous venons de consacrer un important chapitre destiné à l'étude de la configuration bypass. Nous avons démontré qu'un large éventail de modes d'actionnement était possible. Notre étude vient en complément de travaux déjà bien référencés dans la littérature.<sup>109-113,96</sup> Toutefois, une des ambitions de ce travail de thèse est également d'explorer d'autres configurations micro-nanofluidiques.

Ce chapitre constituera une première approche concernant l'utilisation d'un micro-nanosystème à architecture radiale destiné à la préconcentration d'un échantillon de nanoparticules.

La configuration radiale est représentée schématiquement en **Figure 71 a**. Elle se compose de : (i) trois entrées/sorties par où sont acheminés les fluides ; (ii) de deux chambres circulaires microfluidiques reliées entre elles par (iii) une nanofente circulaire de 100nm d'épaisseur.

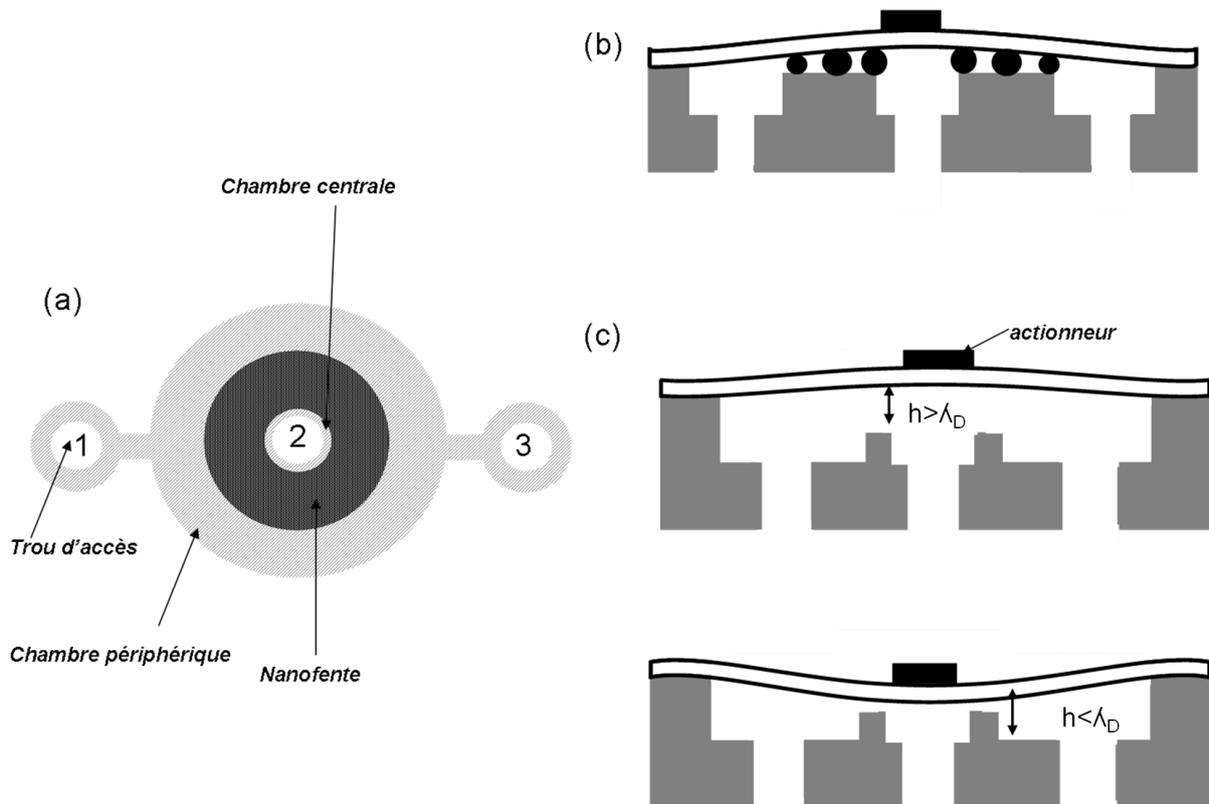


Figure 71 : (a) Représentation schématique de la configuration radiale. (b) – (c) Schémas en coupe des modes d'actionnement reconfigurables. (b) Gradient de hauteurs pour la séparation en taille de particules. (c) Contrôle temporel de la hauteur pour modifier l'effet d'exclusion ionique.

Cette architecture se différencie très clairement de l'architecture axiale bypass et peut présenter plusieurs avantages ayant fait l'objet d'un brevet :

- Ses 3 entrées/sorties peuvent réduire la complexité du système ;
- La forme circulaire du nanocanal optimise la surface d'échange à la jonction micro-nanofluidique dans un volume restreint. Cet avantage en fait un très bon candidat en tant que module intégrable sur plateforme LOC puisque l'encombrement du système est optimisé ;
- D'autres avantages potentiels ont été identifiés telle que la possibilité de faire varier spatialement (**Figure 71 b**) et temporellement (**Figure 71 c**) la hauteur  $h$  de la nanofente (avec un actionneur par exemple). Un gradient de hauteur serait utile pour séparer des particules de tailles différentes en une seule étape tandis qu'un contrôle temporel de la hauteur serait intéressant pour modifier à volonté l'effet

d'exclusion ionique en modifiant le rapport  $\frac{\lambda_D}{h}$ . Ces points n'ont pas pu être traités expérimentalement pour des raisons technologiques. Il était en effet difficile de garantir une hauteur de nanocanal après l'étape de scellement. Cette étape pouvait parfois déboucher sur un scellement incontrôlé rendant inutilisable les composants. Pour palier à ce problème des butées en silicium (piliers de scellement, **Figure 37**) ont été ajoutés au composant pour garantir une hauteur de nanocanal fixe ;

- Dans le chapitre précédent, nous avons vu que la configuration bypass n'était pas optimisée pour la préconcentration de nanoparticules dans le mode d'actionnement Symétrique électrodynamique. Les instabilités relevées au niveau de la zone de concentration cathodique ont tendance à compromettre l'opération de préconcentration. Une configuration axi-symétrique pourrait améliorer cette étape.

La suite du chapitre aura pour objectif de valider expérimentalement ce dernier point.

## 5.2 Expériences préliminaires

### 5.2.1 Composant

Les caractéristiques géométriques du composant utilisé lors des expérimentations sont détaillées en **Figure 37**. Les nanocanaux ont une épaisseur fixée à 100nm. La chambre fluïdique en périphérie des nanocanaux a une largeur de 200µm pour faciliter la visualisation optique des phénomènes.

### 5.2.2 Observations

L'objectif des expériences préliminaires est la validation de l'actionnement électrocinétique du composant radial. Cela nous permettra d'identifier, dans un premier temps, les phénomènes impliqués.

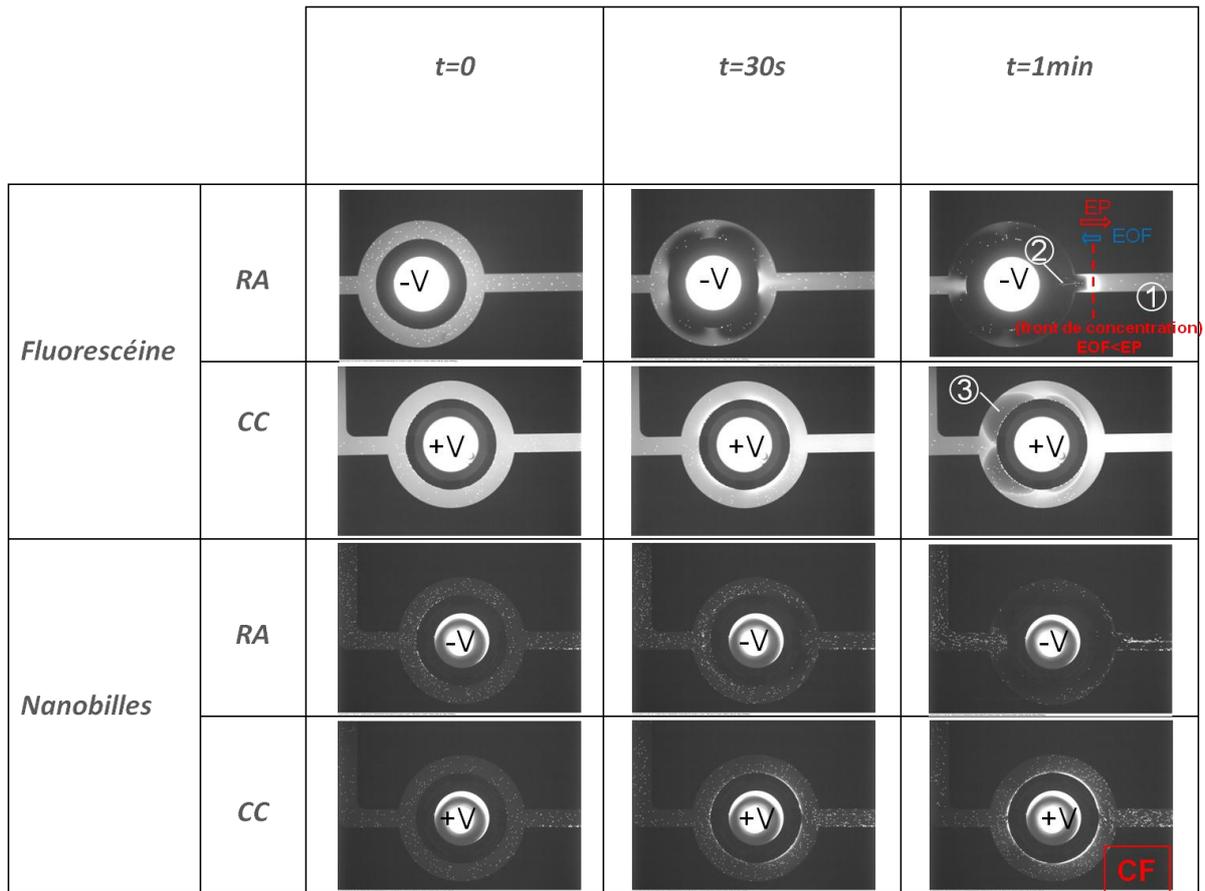
La première étape consiste à mettre en évidence la concentration cathodique et la répulsion anodique de particules chargées négativement. Des particules de natures et de tailles différentes ont été utilisées afin de réaliser une première étude comparative. Les

échantillons sont placés dans l'EDI puis injectés dans le système selon le protocole décrit au **chapitre 3**. Il faut préciser que les observations sont toujours réalisées au niveau de la chambre microfluidique en périphérie. La chambre centrale est inexploitable en visualisation optique du fait de la présence du trou traversant central dont la luminosité sature le détecteur de la caméra. De plus, des bulles d'air peuvent parfois apparaître dans cette zone. L'échantillon d'intérêt se situera donc toujours dans la zone en périphérie.

La **Figure 72** résume les observations faites par microscopie de fluorescence au niveau de la micro-nanojonction circulaire. Chaque image correspond à l'état de la micro-nanojonction à un instant T donné après qu'une tension électrique de 50V ait été appliquée au centre de celle-ci. Nous comparons les résultats obtenus avec un échantillon de fluorescéines et un échantillon de nanobilles en polystyrène fluorescentes de 50nm de diamètre.

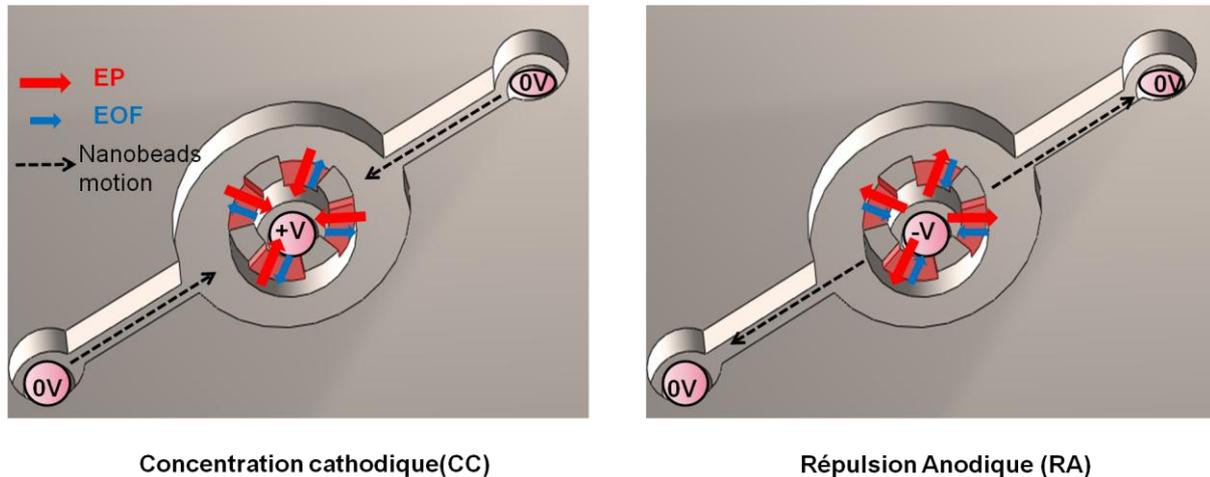
Du côté de l'anode (trou central connecté à -50V), l'intensité de fluorescence chute brutalement. Cette zone sombre est caractéristique de l'effet de répulsion anodique (RA). On remarque que l'effet est beaucoup plus marqué dans le cas de la fluorescéine que dans le cas des nanobilles. Les molécules de fluorescéine sont très rapidement repoussées (quelques secondes) en direction des réservoirs externes. On observe également un point dans le microcanal où la fluorescence est très intense. Ce point correspond au front de concentration (repère 1 sur la **Figure 72**) de la fluorescéine déjà mentionné au **chapitre 4.3**. Les points lumineux correspondent aux microbilles de polystyrènes de 1 $\mu$ m ajoutées pour visualiser l'écoulement. Elles nous permettent également de repérer des zones de forte recirculation dans la zone de répulsion (repère 2 sur la **Figure 72**) qui indiquent l'existence de phénomènes non linéaires au voisinage de la nanofente.

Du côté de la cathode (trou centrale connecté à +50V), l'intensité de fluorescence croît progressivement pour chaque particule. Elle caractérise la naissance d'une zone d'enrichissement de l'échantillon. La zone enrichie est très homogène autour de la nanojonction dans le cas des nanobilles. En revanche cet effet d'enrichissement est beaucoup moins stable pour la fluorescéine. La fluorescéine semble effectivement subir une répulsion sur les temps « longs » (repère 3 sur la **Figure 72**).



**Figure 72** : Résultat d'électrorépulsion anodique et d'électropréconcentration cathodique d'un échantillon de nanobilles de polystyrène (50nm de diamètre) fluorescentes et de fluorescéines, au sein du système radial à différents instants  $T$ . Une tension électrique  $V= \pm 50$  V est appliquée au niveau du réservoir central. La chambre circulaire périphérique possède une largeur de  $200\mu m$  afin de faciliter la visualisation optique. Les écoulements peuvent être visualisés grâce à des microbilles fluorescentes de  $1\mu m$  de diamètre. RA pour Répulsion Anodique et CC pour Concentration Cathodique.

Les expériences du précédent chapitre nous permettent d'affirmer que, dans nos conditions expérimentales, les phénomènes observés s'expliquent au premier ordre par la compétition entre les écoulements électrophorétiques et électroosmotiques que nous avons schématisé en **Figure 73**.



**Figure 73 :** Représentation 3D du système radial dans les régimes de Concentration Cathodique (CC) et de Répulsion Anodique (RA). (a) En régime CC l'entrée centrale est connectée à l'anode tandis que les deux entrées périphériques sont connectées à la masse. (b) En régime RA l'entrée centrale est connectée à la cathode tandis que les deux entrées périphériques sont connectées à la masse. Les flux électrophorétique (EP) et électroosmotique (EOF) sont représentés par les flèches rouges et bleus, respectivement. Les flèches en pointillées représentent le déplacement des particules résultant de la compétition entre ces deux flux.

Certaines des observations décrites avant peuvent donc être expliquées de la manière suivante :

- L'effet d'enrichissement des deux échantillons du côté de la cathode est dû au flux électrophorétique. Il tend à convecter les particules vers l'entrée des nanocanaux où elles seront accumulées par effet d'exclusion ionique ;
- L'instabilité référencée par le repère 3 de la **Figure 73** pourrait s'expliquer par une supériorité du flux électroosmotique sur le flux électrophorétique des petites molécules.

Ici, le but est de préconcentrer efficacement un échantillon de nanoparticules (supérieur à 10nm). Les précédents résultats montrent que l'effet de concentration cathodique semble beaucoup plus adapté et plus stable avec un échantillon de nanobille qu'avec un échantillon de petites molécules. En comparaison de la configuration bypass, ceci est donc très encourageant.

La suite du travail consistera à évaluer précisément les facteurs de concentration.

### 5.3 Quantification de l'électropréconcentration cathodique de nanoparticules

Cette partie est dédiée à la quantification de l'effet de préconcentration cathodique d'un échantillon de nanobilles en polystyrène de 50nm de diamètre à  $C_0 = 10^{12}$  particules.ml<sup>-1</sup>. Le composant utilisé est composé d'une chambre microfluidique périphérique de largeur égale à 50µm pour optimiser les facteurs de concentration. La mesure du facteur de concentration se fait en intégrant l'intensité de fluorescence sur tout le volume de la chambre circulaire périphérique. Le ROI est comparable au ROI 2 utilisé lors des expériences du mode symétrique électrocinétique.

La **Figure 74 b** représente l'évolution de l'intensité de fluorescence dans la micro-nanojonction circulaire à différents instants. Le processus de préconcentration est stable pendant plus d'une heure. Le maximum d'intensité est localisé dans la chambre circulaire et réparti de manière homogène.

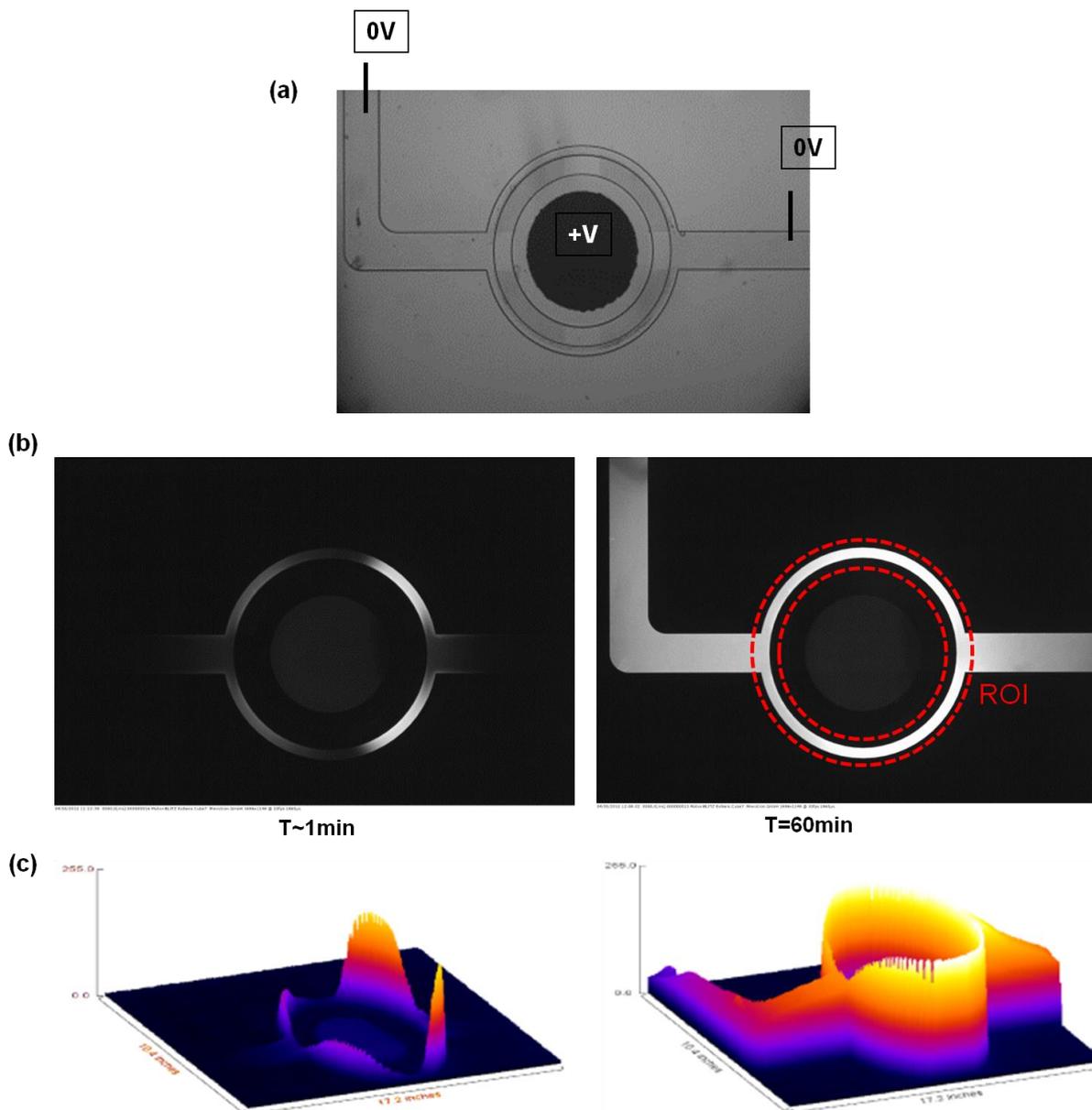


Figure 74: Electropréconcentration cathodique de nanobilles de polystyrènes de 50nm diamètre dans le système micro-nanofluidique radial. (a) Description du mode d'actionnement électrocinétique du dispositif dans le régime CC. (b) Imagerie par fluorescence aux instants  $T=1\text{min}$  et  $T=60\text{min}$ . En pointillé la zone de mesure ROI. La surface de la ROI est sensiblement la même que celle utilisée dans le cas des mesures du facteur de concentration dans le système bypass actionné dans le mode Symétrique électrocinétique. (c) Représentations 3D, obtenues grâce au logiciel image J, de l'intensité de fluorescence dans le système.

La **Figure 75** représente l'évolution temporelle du facteur de concentration de l'échantillon de nanobille pour des tensions électriques allant de 50V à 500V. Le facteur de concentration augmente sensiblement avec la tension. Le facteur de concentration maximal est de 850 au bout d'une heure d'opération. Après cinquante minutes d'expérience, un régime de saturation semble apparaître pour chaque courbe. La saturation semble toutefois être

atteinte plus rapidement à 500V. Nous rappelons que les nanobilles possèdent un diamètre inférieur à la hauteur des nanocanaux. Bien que l'effet d'exclusion ionique s'oppose au passage de la majorité des nanobilles, une portion de l'échantillon peut toutefois passer cette barrière électrostatique et être à l'origine de la saturation.<sup>99</sup>

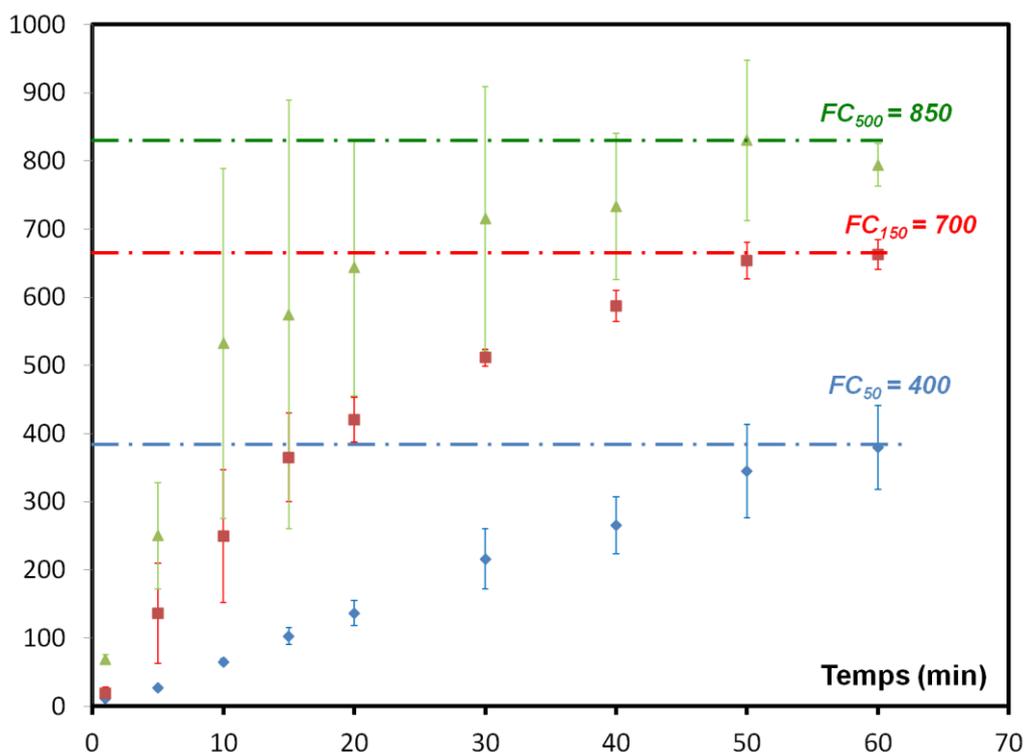
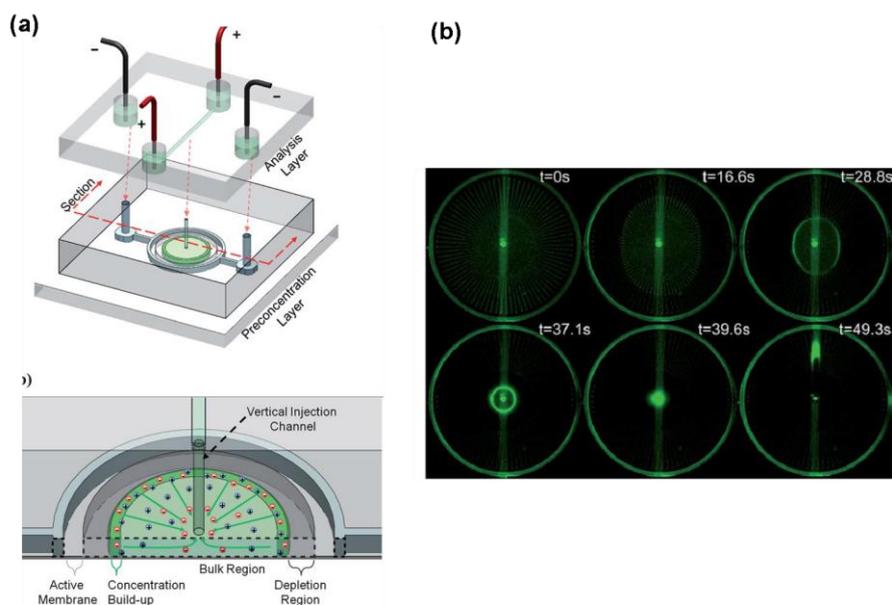


Figure 75 : Graphique représentant l'évolution du facteur de concentration en fonction du temps pour trois voltages différents V1= 50V (bleu), V2=150V (rouge) et V3=500V (vert). La saturation est mise en évidence par les droites en pointillés.

A notre connaissance, seul le système proposé par Scarff *et al.*<sup>114</sup> publié en parallèle de nos travaux (Figure 76) exploite la configuration radiale. La stratégie utilisée est toutefois très différente de la notre. Les auteurs exploitent la zone de répulsion anodique pour focaliser l'échantillon dans la zone centrale de leur système à des facteurs de concentration proches de la centaine. Cette opération n'est maintenue que pendant quelques secondes. Toutefois les auteurs utilisent un modèle numérique mettant en avant l'intérêt d'une configuration axi-symétrique dont il serait judicieux de s'inspirer pour construire un modèle adapté à notre configuration.



**Figure 76 : (a) Représentation schématique du système de Scarff *et al.*<sup>114</sup> pour la préconcentration radiale de BSA. (b) Résultats de préconcentration de cette molécule fluorescente au niveau de la chambre centrale. L'échantillon préconcentré est finalement conduit dans le canal vertical par répulsion anodique où il perd en intensité au bout de 50s environ.**

## 5.4 Conclusion

La configuration radiale représente une alternative intéressante à la configuration axiale des dispositifs bypass. Elle permet de stabiliser l'étape de concentration cathodique sur des temps longs. L'échantillon est fortement confiné permettant ainsi d'obtenir des facteurs de concentration très élevés.

Les performances offertes par notre système poussent à reconsidérer la méthode de préconcentration cathodique souvent négligée dans la littérature. Le système radial semble offrir un avantage de stabilité en raison de la distribution axi-symétrique du potentiel électrique. La stabilité de l'opération de concentration peut être critique pour certaines applications. Par exemple, dans le cas des tests de type Elisa, maintenir l'échantillon sur la zone d'accroche peut être un atout pour favoriser les interactions avec les sites spécifiques. De plus la nanofente circulaire optimise l'emcombrement de la zone d'intérêt qui pourrait être intégrée de manière avantageuse dans d'autres modules. Ce point sera traité au **chapitre 6**. Les points essentiels à retenir du présent chapitre sont résumés dans l'encadré ci-dessous.

- **Le système présente un nombre réduit d'entrées fluidiques en comparaison du système bypass. Cela pourrait éventuellement faciliter une intégration au sein d'un laboratoire sur puce ;**
- **Le système exploite la zone de concentration cathodique pour la préconcentration de nanoparticules ;**
- **Des facteurs de concentration de 850 sont obtenus au bout d'1h d'opération ;**
- **La configuration radiale offre une meilleure stabilité que la configuration bypass**
- **L'échantillon préconcentré est localisé dans une zone restreinte du système ;**
- **Une approche théorique devra être envisagée pour expliquer l'intérêt d'un système axi-symétrique dans la stabilisation de l'opération de préconcentration.**



## **6 Bilan et applications**

Cette partie présente un bilan des différentes méthodes de préconcentration mises au point pendant cette thèse tout en les positionnant par rapport à l'état de l'art. Une mise en perspective de ces travaux est également discutée, notamment en proposant de nouveaux motifs de systèmes micro-nanofluidiques imaginés dans l'optique de répondre à différentes problématiques.

### **6.1 Position par rapport à l'état de l'art et bilan**

#### **6.1.1 Etat de l'art**

La **Figure 77** dresse une liste des principaux systèmes micro-nanofluidiques que nous avons recensé, dédiés à la séparation et la préconcentration de particules. Chaque système est classé selon sa fonction, le type de particules manipulés, le(s) phénomène(s) exploité(s), ses performances et la technologie choisie.

Il ressort clairement de ce tableau que les systèmes les plus efficaces et les plus étudiés, sont des systèmes actionnés électrocinétiquement. Ils exploitent les phénomènes d'électropréconcentration et d'exclusion ionique (le phénomène d'ICP y est également souvent mentionné). Ces systèmes sont cependant surtout utilisés pour préconcentrer des échantillons de grosses molécules. Les systèmes permettant la manipulation d'échantillons de nanoparticules (>10nm) sont principalement dédiés à la séparation en taille et non à la préconcentration.

La comparaison entre les différents systèmes de l'état de l'art n'est pas toujours triviale. Les méthodes de mesures (ROI, temps d'acquisition d'images) et de caractérisations ne sont pas toujours bien référencées. De plus, les matériaux et les conditions expérimentales (tampons, structures de membrane...) ne sont pas toujours comparables.

Puisque nos travaux portent sur la manipulation de nanoparticules dont la taille (entre 50nm et 100nm) diffère grandement de celles des molécules manipulées par les systèmes existants (molécules<10nm), une comparaison avec notre étude est également très difficile à ce niveau.

Auteurs	Particules manipulés	Fonction du système	Phénomènes physiques impliqués	Performances	Technologie
M.N.Hamblin <i>et al</i> <sup>24,25</sup>	billes (polystyrènes) 30 et 120 nm/Hépatite B (30nm), Herpes (125 nm)	Séparation Concentration	Capillarité (Exclusion stérique)	Séparation selon la taille FC NR	Silicium couche sacrificiel
Stavis <i>et al</i> <sup>115,116</sup>	billes (polystyrènes) 100-210nm	Séparation	Electrocinétique (Exclusion stérique)	Séparation selon la taille FC NR	Silicium
Napoli, Pennathur <i>et al</i> <sup>117</sup>	billes chargées (polystyrène) 50nm-100nm	Séparation	Electrocinétique (Electroosmose)	Séparation selon la charge FC NR	Silicium
Wu <i>et al</i> <sup>118</sup>	protéines	Préconcentration	Electrocinétique (Exclusion ionique)	FC 10 <sup>6</sup> /2 min	PDMS/ membrane polymère
Wang <i>et al</i> <sup>89</sup>	protéines et peptides	Préconcentration	Electropréconcentration anodique (ICP)	FC 10 <sup>6</sup> / 1h	Silicium
Wang <i>et al</i> <sup>95</sup>	molécules	Préconcentration/ immunosenseur	Electropréconcentration anodique (ICP)	Limite détection +500.	Silicium
Lee <i>et al</i> <sup>90</sup>	protéines	Préconcentration	Electropréconcentration anodique (ICP)	FC 10 <sup>4</sup> / 5 min	PDMS/ membrane Nafion
Pu <i>et al</i> <sup>73</sup>	fluorescéine, rhodamine	Préconcentration	Electropréconcentration cathodique (ICP)	FC 100 /500 Temps NR	Silicium
Kwak <i>et al</i> <sup>83</sup>	bactéries, protéines, globules rouges	Préconcentration	Electropréconcentration anodique (ICP)	FC 100 (biomolécules)/ 10 (bactéries)	PDMS/Nafion
Scarff <i>et al</i> <sup>114</sup>	protéines	Préconcentration	Electropréconcentration anodique (ICP)	FC 100 /40s	PDMS/Nafion

**Figure 77 : Tableau récapitulant les principaux travaux de l'état de l'art traitant de la nanofiltration et de l'électropréconcentration ainsi que leurs performances respectives. En vert sont représentés les travaux dédiés à la séparation ou la concentration de micro et nanoparticules, tandis qu'en bleu sont représentés les travaux dédiés à la préconcentration de molécules. NR pour Non Référencé.**

## 6.1.2 Bilan de nos expériences

### a. Rappel de la démarche

La démarche de la thèse fut de proposer plusieurs méthodes de préconcentration à l'aide de composants micro-nanofluidiques à architectures variées. Le silicium est le matériau de base ayant servi à fabriquer les composants avec une bonne reproductibilité. Ce choix a été judicieux compte tenu des avantages qu'apporte ce matériau tels qu'une robustesse et un contrôle excellent des dimensions des composants. Les expériences ont été réalisées à l'aide d'échantillons de nanobilles dont la taille est proche de celle de nanoparticules biologiques tels que les virus ou les exosomes (entre une dizaine et une centaine de nanomètres). Les LNPs que nous avons utilisées sont particulièrement bien adaptées pour mimer ce type de nanoparticules biologiques.

Un effort important a été fourni dans le but d'élaborer des techniques robustes de caractérisation des facteurs de concentration et des écoulements. Grâce à ces techniques de caractérisations nous avons parfois pu apporter une analyse relativement fine de certains phénomènes complexes. La mesure des facteurs de concentration représente le cœur des expériences. C'est pour cela que nous avons attaché une importance toute particulière à développer une méthode de mesure rigoureuse. Les expériences de références ont été répétées un minimum de trois fois dans les mêmes conditions d'imagerie (ROI et temps d'acquisitions). De plus, la reproductibilité des expériences a nécessité un effort conséquent d'optimisation pour stabiliser les écoulements, compte tenu des faibles débits à contrôler ( $< \text{nl.min}^{-1}$ ). La maîtrise des écoulements hydrodynamiques parasites est effectivement un des aspects essentiels. Il est d'ailleurs rarement traité dans les publications.

Le tableau de la **Figure 78** résume les différentes méthodes hydrodynamiques ou électrocinétiques de préconcentration ainsi que les performances des systèmes (bypass et radial) que nous avons développé. Ceux-ci sont classés selon les mêmes catégories que la **Figure 77**. L'architecture axial bypass est un quadripôle classique mais très versatile donc permet une large gamme d'actionnements différents. La configuration radiale est plus originale mais n'est actionnée que dans un seul mode électrocinétique. Toutefois des performances supérieures en termes de FC et de stabilité ont été obtenues. Il faut aussi

noter l'important couplage qui existe entre les phénomènes exploités par chacune des techniques de préconcentration et de filtration.

Nous pouvons identifier finalement trois catégories regroupant ces techniques :

- Les techniques fondées uniquement sur le déplacement hydrodynamique des particules dans un fluide (la technique de filtration tangentielle symétrique) ;
- Les différentes techniques d'électropréconcentration fondées sur le déplacement électrophorétique des particules ;
- Les techniques d'électro-hydropréconcentration fondées sur le couplage avantageux de l'électrocinétique et de l'hydrodynamique. Le déplacement des particules étant également dominé par l'électrophorèse.

Méthode	Système	Particules manipulés	Phénomènes physiques impliqués	Fonction du système	Performances	Remarques
Actionnement Symétrique Hydrodynamique (chapitre 4.2)	Bypass	nanobilles 50nm (polystyrène), LNPs	Filtration tangentielle symétrique (Exclusion stérique)	Préconcentration	FC 2000 /1h	Accumulation centrale
Actionnement Symétrique Electro-dynamique (chapitre 4.3)	Bypass	nanobilles 50nm (polystyrène), LNPs	Electropréconcentration cathodique (Electrophorèse) (Exclusion ionique)	Préconcentration	FC 70/1h	Instable
Actionnement Asymétrique (EL-EP) (chapitre 4.4)	Bypass	nanobilles 50nm (polystyrène), LNPs, bactéries	Electro-hydropréconcentration cathodique (Electrophorèse) (Exclusion stérique, ionique) (Streaming potential)	Préconcentration	FC 70(nano) /1h FC 50(bactéries)/ 40s	Simple, manuel
Actionnement Couplé (chapitre 4.4)	Bypass	nanobilles 50nm (polystyrène), LNPs	Electro-hydropréconcentration cathodique (Electrophorèse) (Exclusion stérique) (Streaming potential)	Préconcentration	FC 200(nano)/1h FC 80 (LNPs)/1h	Stable
Préconcentration radiale (chapitre 5)	Radial	nanobilles 50nm (polystyrène)	Electropréconcentration cathodique (Electrophorèse) (Exclusion ionique)	Préconcentration	FC 850/1h	Stable

**Figure 78 : Tableau résumant les différentes techniques développées au cours nos travaux de recherche ainsi que leur performances.**

## **b. Filtration tangentielle symétrique**

La filtration stérique est potentiellement concernée par des risques de colmatage des nanocanaux. Ainsi, les systèmes de filtration tangentielle apparaissent comme une solution idéale pour s'affranchir de ce problème. Cependant, de gros volumes morts limitent les facteurs de concentration pour les techniques actuelles telles que les colonnes de chromatographie ou les cartouches de filtration.

Nous avons proposé ici une technique tentant d'allier efficacité de préconcentration et limitation du phénomène de colmatage. La filtration tangentielle symétrique naît de la pressurisation symétrique d'un système bypass en une seule étape. Cette technique permet d'atteindre des facteurs de concentration supérieurs à mille grâce à un effet de confinement de l'échantillon dans un volume restreint de quelques centaines de picolitres. Cette technique est robuste, reproductible et bien adaptée aux tampons à conductivités modérées biocompatibles. Ce dernier point encourage à poursuivre de futurs essais avec des échantillons plus réels tels que des échantillons sanguins, par exemple.

Les phénomènes sous-jacents à cette technique ont été relativement bien identifiés grâce à une approche expérimentale couplée à une approche théorique. Le modèle proposé a permis l'identification des grandeurs géométriques clefs à l'optimisation des systèmes bypass. Cependant de nombreuses approximations, notamment des incertitudes sur les effets de diffusion, limitent ce modèle. L'approche expérimentale est donc venue en complément et a permis d'identifier d'autres paramètres physiques qui pourront servir de bases à un futur modèle plus généralisé. Parmi ces phénomènes, des phénomènes électriques existent en complément des phénomènes purement stériques et pourraient aussi être exploités dans une étape de séparation en taille ou en charge d'un échantillon de nanoparticules polydisperses.

### c. Electropréconcentration

Les techniques d'électropréconcentration nécessitent généralement l'utilisation d'un générateur externe de hautes tensions électriques, mais peuvent aussi exister grâce au couplage avantageux de l'hydrodynamique et de l'électrocinétique (technique d'EL-EP).

Quelque soit l'architecture du composant, le phénomène dominant dans le processus de préconcentration est l'électrophorèse. Ainsi, des facteurs de concentration très élevés ont pu être obtenus notamment grâce à la configuration radiale.

Le mode d'actionnement Asymétrique a un grand potentiel. Grâce à un champ électrique généré par une unique source de pression, il est possible d'atteindre des facteurs de concentration compris entre 70 et 200 (selon que ce mode soit couplé ou non au mode Symétrique hydrodynamique). De plus, il a déjà été mentionné que ce mode simplifiait considérablement le protocole d'actionnement et les étapes technologiques.

Dans l'état actuel, nos techniques d'électropréconcentration sont toutefois plus limitées par rapport à la technique de filtration tangentielle symétrique puisque le phénomène d'électrophorèse n'est efficace que pour des liquides de faibles conductivités.

## 6.2 Perspectives et autres pistes

### 6.2.1 Introduction

Nos performances en termes de FC sont comparables et parfois même surpassent celles des techniques de préconcentration actuelles reconnues tels que l'isotachophorèse,<sup>119</sup> la chromatographie,<sup>120,121</sup> les membranes de préconcentration<sup>122,123</sup>, la FAS<sup>124,125</sup> (Field amplified Stacking) ou encore d'autres techniques<sup>126-130</sup> où les facteurs de concentration sont généralement de l'ordre de 1000. Cependant, ces techniques sont souvent difficilement intégrables en microsystèmes. Des instrumentations lourdes et certains réactifs sont parfois nécessaires. Aussi, le fait d'avoir démontré la possibilité de préconcentrer efficacement en micro-nanosystèmes des nanoparticules nous permet d'envisager des applications dans des domaines tels que la virologie. Dans ce domaine, une concentration finale équivalente à 100

fois la concentration initiale en charge virale est requise pour atteindre la limite de détection des outils de détection actuels. Ces valeurs rentrent largement dans nos gammes de FC. De plus, à notre connaissance très peu de systèmes dédiés à la détection de virus intègrent une étape de préconcentration permettant d'atteindre de tels facteurs de concentrations.<sup>131</sup>

Sur la base de ces premiers résultats nos systèmes pourront être considérés comme de futurs modules à intégrer sur des plateformes miniatures plus complexes. Ces plateformes pourraient intégrer, par exemple, l'ensemble des étapes d'un protocole de préconcentration et de détection directe ou indirecte. La section qui suit a pour objectif de lister quelques pistes possibles de composants micro-nanofluidiques en exploitant les résultats résumés précédemment.

## 6.2.2 Architectures bypass

### a. Une piste pour optimiser la filtration tangentielle

Afin d'optimiser les résultats de filtration tangentielle symétrique, nous avons démontré, à l'aide d'un modèle numérique, que les FC seraient améliorés en privilégiant les grands Peclets. En d'autres termes, la convection doit être dominante dans le système par rapport à la diffusion. Un paramètre essentiel est le nombre de nanocanaux constituant le filtre. Plus celui-ci sera grand, plus les facteurs de concentration seront élevés. Tout en conservant l'encombrement du motif B3, nous avons conçu un nouveau motif en serpentin (schématisé en **Figure 79**) visant à exploiter ce point. Ce motif compte 10 fois plus de nanocanaux que le motif B3 et un microcanal 10 fois plus long. Les facteurs de concentration à prévoir avec ce type de composant seraient donc d'environ 6000. Cependant, les premières expériences n'ont pas été concluantes, du fait de la complexité de la très longue structure en serpentins (piégeage de bulles, rendement technologique sur les canaux...).

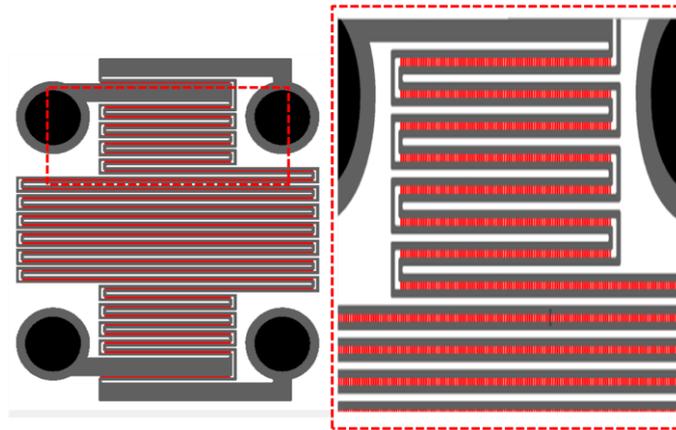


Figure 79 : Système bypass en serpentin pour optimiser le nombre de nanocanaux. Pus de 1000 nanocanaux font ainsi la connexion avec les microcanaux.

### b. Un outil pour la recherche en biologie

Dans le cadre de la recherche fondamentale et appliquée en biologie, le système bypass pourrait être directement utilisé comme module de transfection cellulaire notamment dans le contexte du criblage à haut débit *in vitro*. Le criblage cellulaire peut, à la fois, apporter un intérêt dans la compréhension fondamentale du fonctionnement cellulaire (identification de gènes, de mécanismes intracellulaires etc...) mais également dans l'identification de molécules pharmaceutiques pouvant agir comme anticancéreux, antiviraux, anti-inflammatoires ou encore dans certaines pathologies cardiovasculaires.

La transfection consiste à forcer l'entrée de nanovecteurs transportant le matériel d'intérêt (molécules...) au sein de la cellule où il sera relargué. Différents types de vecteurs peuvent être utilisés. Il peut s'agir de vecteurs viraux comme de particules synthétiques. A titre d'exemple, les nanoparticules lipidiques cationiques (LNPs+) développées au sein de notre laboratoire ont comme fonction la vectorisation d'ARNsi interférent qui permet l'extinction ciblée de gènes. Aujourd'hui, cette technique est réalisée en boîtes de pétries contenant un tapis cellulaire à transfecter avec les nanoparticules qui sont injectées à la pipette directement dans le milieu de culture. Toutefois, très peu d'équipes ont travaillé sur l'intégration d'une étape de transfection en microsystèmes.<sup>132,133</sup> Ainsi le contact vecteur-cellule est entièrement limité par la diffusion dans l'important volume de la boîte de pétrie. Un module permettant de préconcentrer la population de cellules et de nanovecteurs en un même

point confiné, aurait toutes les chances de favoriser cette interaction vecteur-cellule et ainsi optimiserait probablement l'étape de transfection en des temps plus courts.

Au cours d'expériences exploratoires (réalisées par Colline Fraissaix, stagiaire au laboratoire), nous avons démontré que notre système bypass (dans le mode d'actionnement Symétrique hydrodynamique) permettait de colocaliser dans un petit volume deux populations de particules de nature et de tailles différentes (**Figure 80 a**). La première population est constituée de microparticule de 1 $\mu$  de diamètre (en rouge) et représente une population de petites cellules à transfecter tandis que la population de nanobilles de 50nm représente les nanovecteurs (en vert). Nous avons ensuite réalisé la même expérience avec des bactéries e-coli (**Figure 80 b et c**).

Il serait intéressant de poursuivre cette expérience avec de plus grosses cellules (HELA, neurones...) et des LNPs porteurs d'ARNsi pour comparer les résultats de transfection avec ceux couramment obtenus en boîtes de pétries. Dans cette optique, nous avons initialement réalisé un lot de composants dont la profondeur des microcanaux avoisinaient 100 $\mu$ m pour pouvoir manipuler des cellules de taille supérieur à 10 $\mu$ m. Les expériences n'ont cependant pas été concluantes car le fait de multiplier par dix la profondeur des microcanaux à conduit à une chute considérable de l'efficacité de préconcentration. Nous pouvons donc noter, au passage, l'intérêt du modèle numérique qui nous aurait permis d'anticiper ce problème.

Des expériences de concentration ont aussi été conduites avec un échantillon de nanobilles dilué dans du plasma sanguin total (**Figure 80 d**). Cependant des effets de bouchage ont été observés après quelques dizaines de minutes.

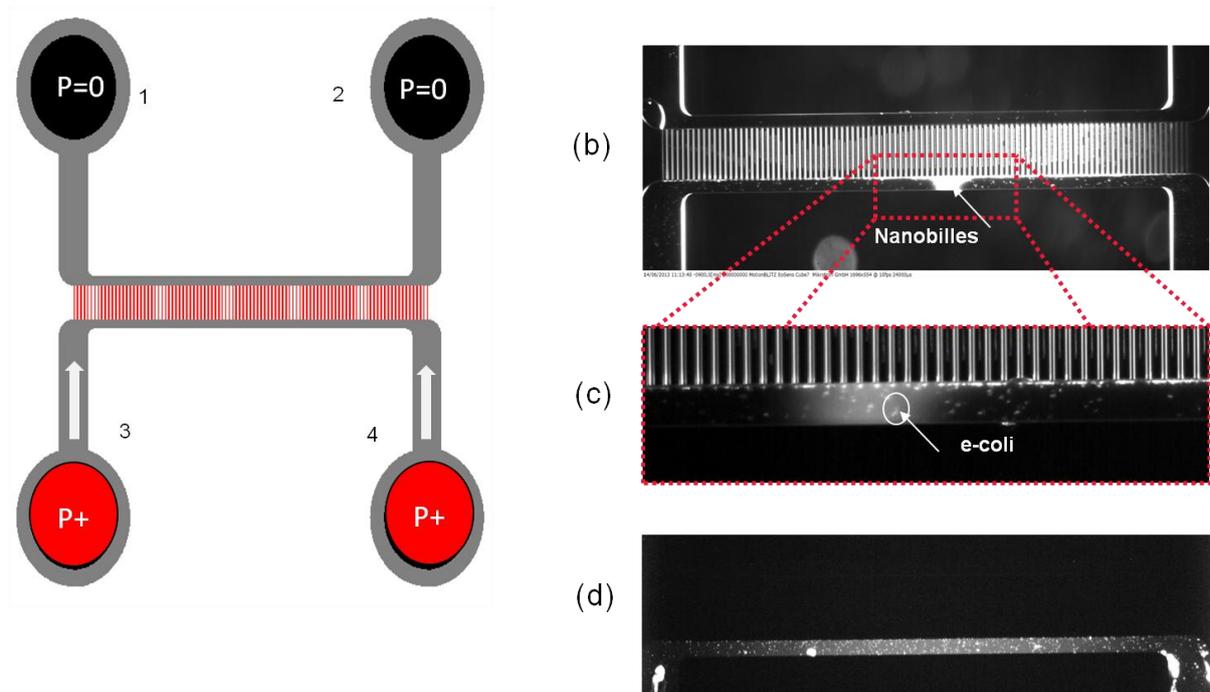


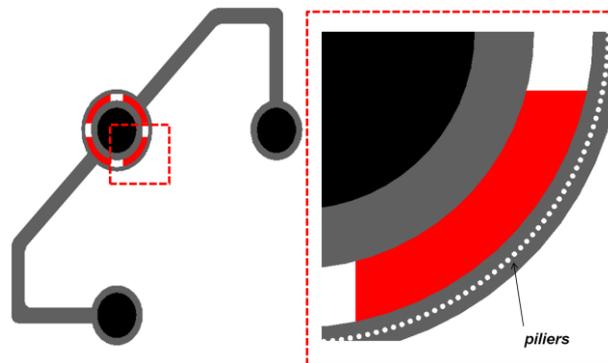
Figure 80 : Actionnement Symétrique hydrodynamique d'un système bypass pour la colocalisation de deux populations de particules de tailles différentes. L'objectif est de l'utiliser à terme, comme un module d'optimisation d'une étape de transfection cellulaire. (a) Préconcentration visualisée par microscopie de fluorescence. Les nanobilles en polystyrène de 50nm émettent dans le vert et les microbilles de 1 $\mu$ m dans le rouge. (b) Colocalisation, visualisée en fond noir, de nanobilles de polystyrène de 50nm et de bactéries e-coli. (c) Même image à temps d'exposition plus faible pour visualiser les bactéries dans la zone de concentration. (d) Effet d'enrichissement de nanobilles de 50nm dilué dans du plasma sanguin total.

## 6.2.3 Architectures radiales

### a. Vers un Microtest Elisa

Etant donné les hauts facteurs de concentration obtenus avec le système radial, la fonction de ce dernier pourrait être étendue à la détection de particules par accroches spécifiques. Dans cette optique nous avons réalisé un composant radial dont la chambre microfluidique circulaire est équipée de micropiliers situés tout autour de la micro-nanojonction. Ce

système pourrait faire office de microtest Elisa pour la détection locale spécifique de particules biologiques, dans le même esprit que les travaux publiés par le MIT.<sup>95</sup>



**Figure 81 :** Micro-nanosystème radial équipé de micropiliers organisés en cercle tout autour de la micro-nanojonction et utile pour des applications immunoassays.

### b. Exploitation de la zone radiale confinée

La zone radiale, où se situe la plus grande efficacité de préconcentration cathodique, représente finalement une toute petite surface de seulement  $1,5\text{mm}^2$  qui pourrait être facilement intégrée dans n'importe quel canal ou cavité microfluidique. Plusieurs zones peuvent être disposées en séries voir en matrice pour réaliser plusieurs étapes de préconcentration en parallèles dans des temps relativement courts. Sur la **Figure 82** le composant en (a) consiste en deux zones radiales en série et le composant en (d) possède 6 zones radiales en séries. Seul le composant (a) a fait l'objet d'expériences préliminaires. Ces expériences visent à générer simultanément une zone RA et CC grâce aux deux zones radiales. Dans un premier temps, nous observons que les nanobilles de polystyrène négatives (50nm) sont accumulées au centre du système. Cet effet est stable pour des tensions inférieures à 100V et des facteurs de concentration jusqu'à 250 ont pu être atteints. L'effet de concentration pourrait s'expliquer au premier ordre par la compétition des flux électroosmotique et électrophorétique. En revanche, nous observons également que les microbilles ajoutées au fluide et les nanobilles ont un point de focalisation différent qui conduit à leur séparation. Un effet d'isotachophorèse pourrait prendre place dans le système, ce qui sous-entendrait un gradient de conductivités donc la manifestation du

phénomène d'ICP. Cependant, trop peu d'investigations ont été faites pour fournir une explication complète de cette dernière observation.

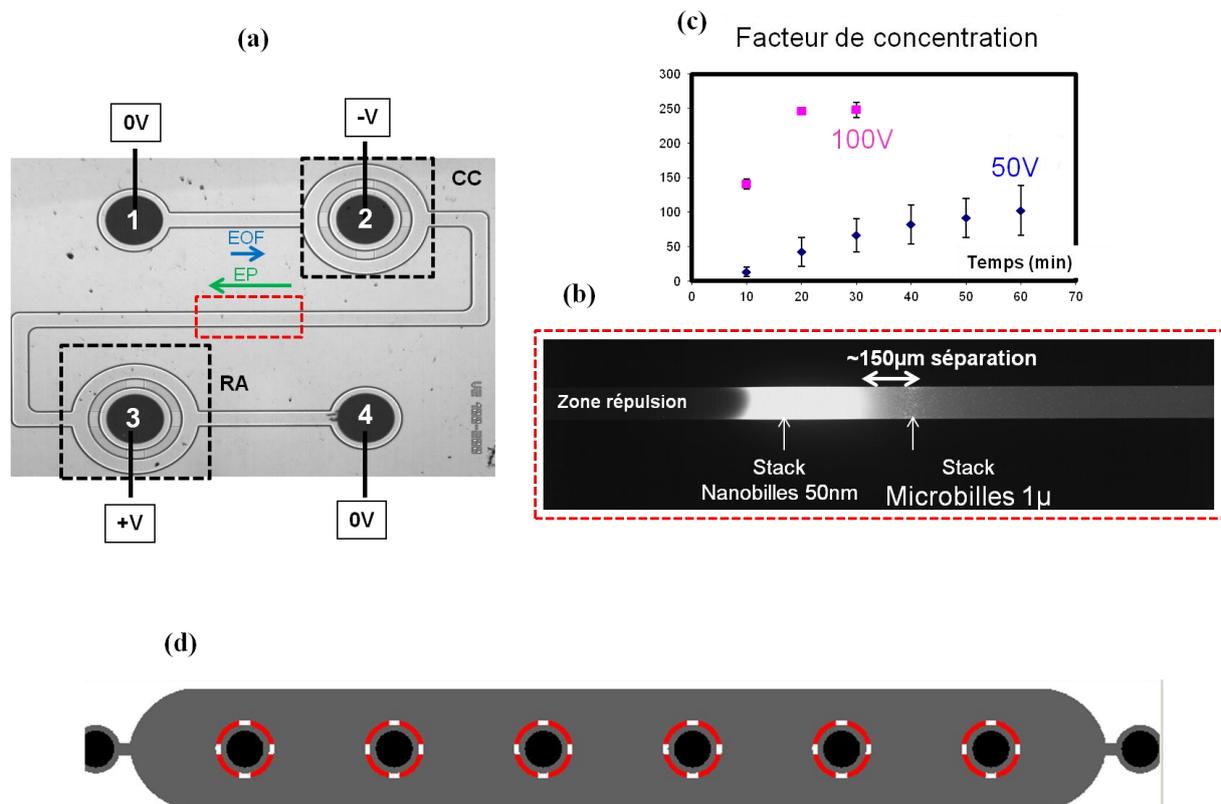


Figure 82 : Composants micro-nanofluidiques composés de zones radiales en séries. (a) Microscopie du composant à double zone radiale. Les deux zones sont connectées à deux potentiels électriques de signes opposés ( $V=50V$  ou  $100V$ ). (b) Effet de concentration et de séparation simultanées de microbilles et de nanobilles au centre du composant(a). (c) Mesure du facteur de concentration obtenu pour des nanobilles de  $50nm$  lorsque  $V=50V$  ou  $100V$ . (d) Schéma du composant composé de  $N$  zones radiales en séries.

Les systèmes radiaux peuvent toutefois poser des problèmes de temps de remplissage compte tenu des pertes de charges relatives aux nanofentes circulaires. Des bulles d'airs peuvent aussi parfois apparaître.

Nous avons donc développé un autre module, schématisé en **Figure 83 a**, constitué de nanofentes circulaires à la base de piliers en silicium non scellés par le capot en verre (**Figure 83 b**). Cette configuration s'affranchit d'un remplissage compliqué et chaque rangée de piliers peut constituer un module de préconcentration très simple à intégrer. Des expériences très préliminaires ont été réalisées et ont démontré qu'il était en effet possible de générer localement des zones miniatures de répulsion et de concentration de molécules

de fluorescéines. Cette architecture s'inspire initialement des travaux de Ehlert *et al.*<sup>74</sup> qui mettent en évidence le phénomène d'ICP à l'aide de microbilles nanoporeuses polarisées.

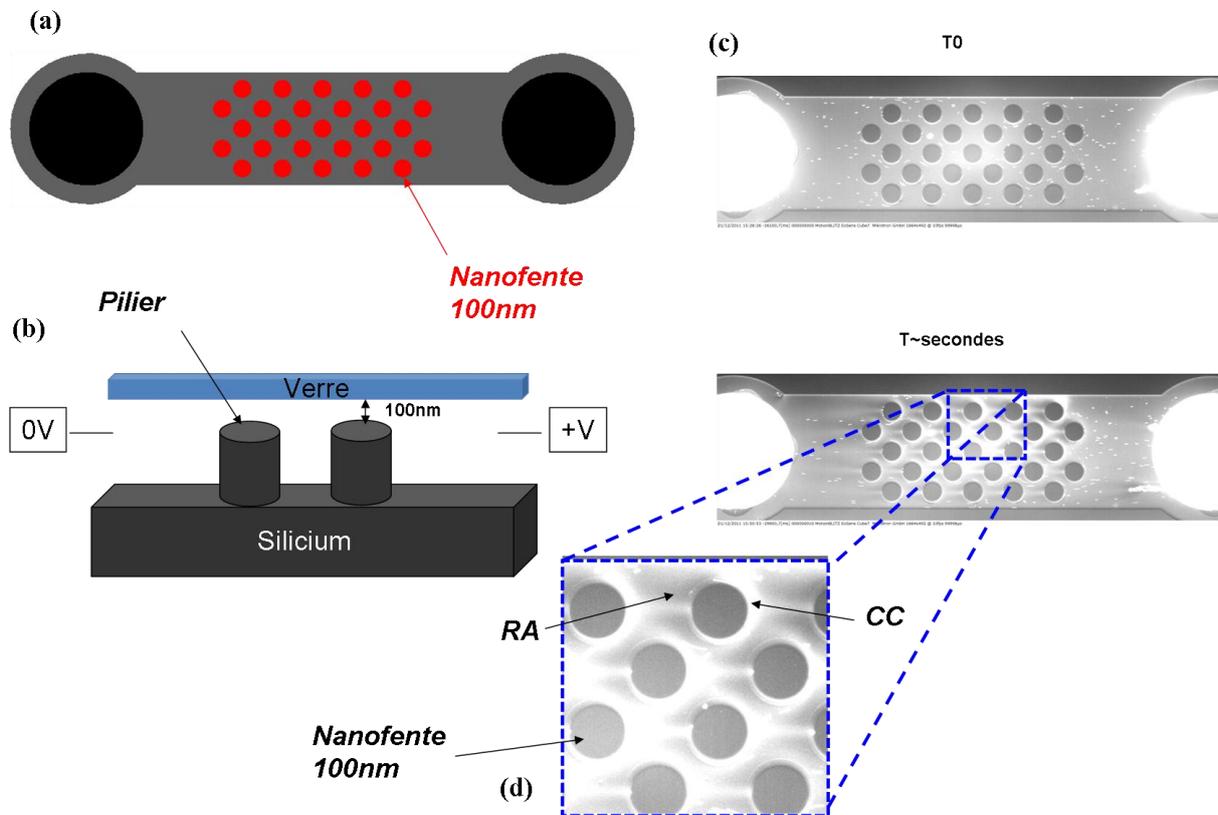


Figure 83 : Microsystème à pilier non scellés pour la préconcentration localisée. (a) Schéma du composant. (b) Vue en coupe du composant. Des tensions  $V$  supérieures à 100V sont générées. (c) Microscopie par fluorescence de l'effet de répulsion et de concentration de fluorescéines. (d) Zoom sur une région où plusieurs zones RA et CC sont générées au niveau de chaque pilier.

## 6.2.4 Vers un système intégré portable

Les actionneurs utilisés jusqu'ici (générateurs de pressions, pousses seringues, générateurs de tensions) ont toujours nécessités une source d'énergie électrique. Nous démontrons qu'il est également possible d'actionner manuellement le mode Asymétrique sans aucune source d'énergie si ce n'est celle nécessaire à la contraction des muscles du bras.

Un échantillon de bactéries E-coli placées dans de l'EDI est utilisé comme échantillon biologique modèle. La **Figure 84** décrit le protocole d'actionnement manuel du système. L'opérateur presse simplement une seringue rempli d'eau distillé, laquelle est connectée

---

directement à une entrée du microcanal supérieur. Dans de telles conditions, en considérant les dimensions du microcanal, on estime que des pressions proches de 5bar sont ainsi générées sans grand effort, permettant un enrichissement très rapide. Les bactéries sont concentrées à un facteur supérieur à 50 en seulement ~40s (**Figure 84c**). Ce résultat peut être comparé au système développé par Kwak *et al.*<sup>83</sup> du MIT pour la préconcentration de cellules et de bactéries. Les auteurs proposent un système micro-nanofluidique qui présente une bifurcation en Y au point où une zone de déplétion ionique est créée par phénomène d'ICP. L'échantillon de bactérie est acheminé au niveau de cette bifurcation et est dévié par répulsion électrostatique vers le réservoir de collecte (concentrated outlet) tandis que l'eau pure dessalée est récolté dans le réservoir « poubelle » (filtered outlet, **Figure 84 d**). La concentration finale en bactéries est estimée à dix fois la concentration initiale en 120 secondes. Le système nécessite une instrumentation conséquente pour générer des tensions supérieures à 100 volts.

Bien que nous ne soyons pas exactement dans les mêmes conditions, notre système est beaucoup plus simple à actionner. De plus, nous obtenons des facteurs de concentrations plus importants sur des temps plus courts.

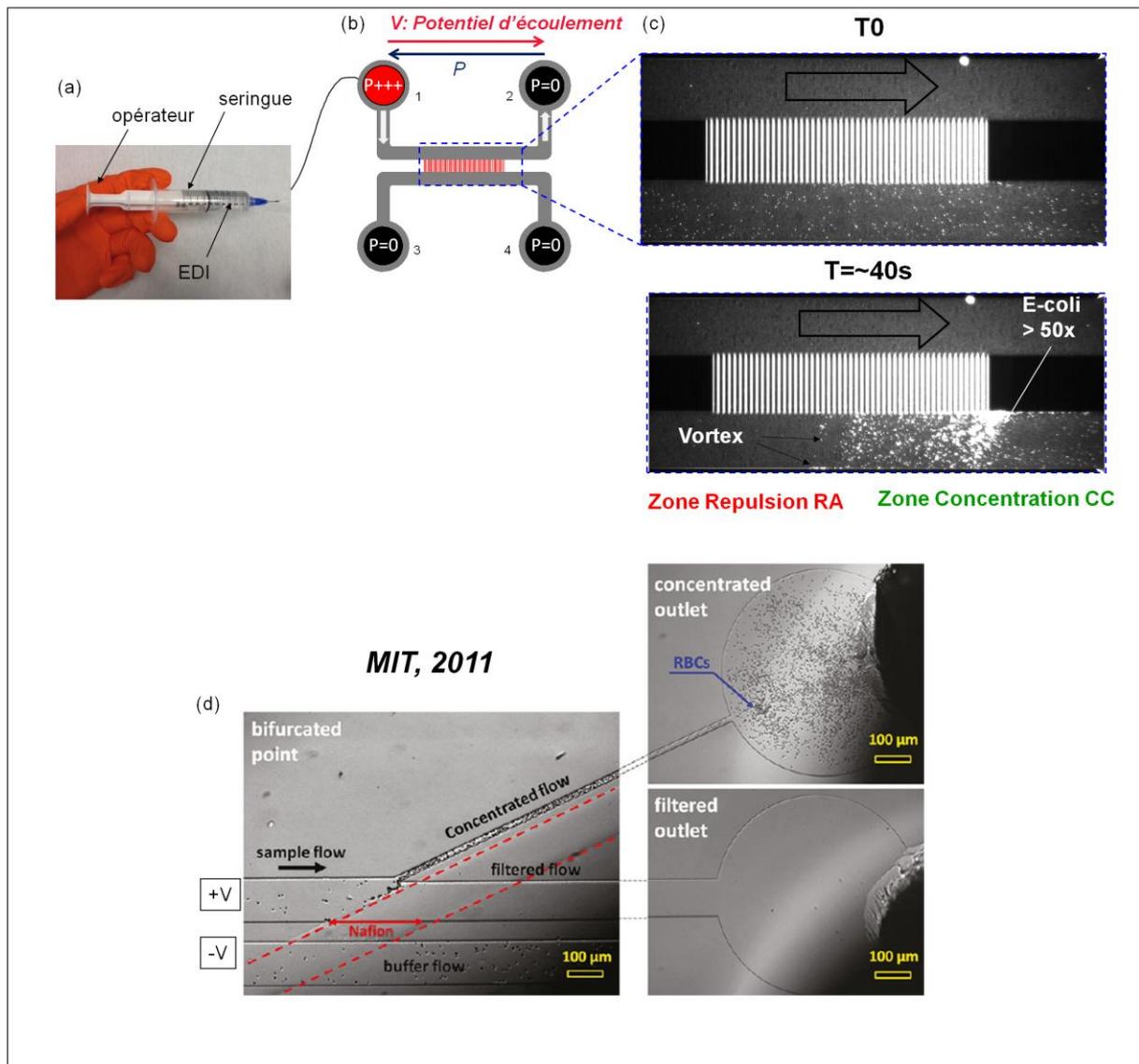
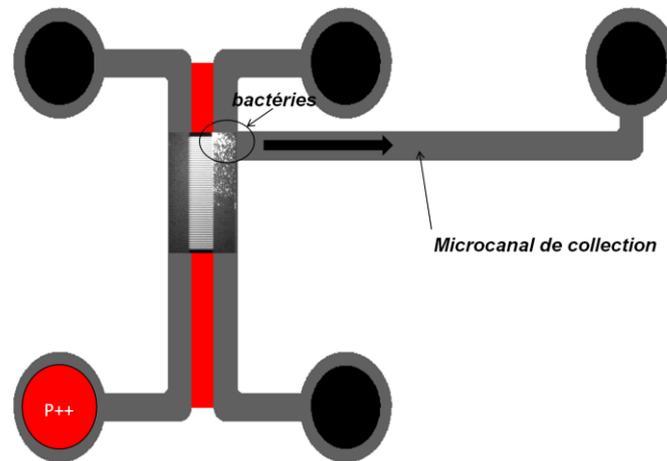


Figure 84 : Mode Asymétrique EL-EP actionné manuellement pour la préconcentration de bactéries E.coli. (a) Protocole d'actionnement manuel du système. (b) Diagramme schématique du système. Le réservoir 1 est pressurisé à des pressions proches de 5bars alors que le réservoir 2 reste à pression atmosphérique. Les réservoirs 3 et 4 sont également à pression atmosphérique. (c) Microscopie en fond noir du système pour visualiser la préconcentration des bactéries. Les clichés à T=0 et 40s sont représentés. La concentration en bactéries est enrichie au-delà de 50 fois. (d) Système développé par Kwak *et al.*<sup>83</sup> au MIT pour l'enrichissement d'un échantillon de cellules et de bactéries. Les bactéries sont déviées au niveau de la zone de répulsion anodique, au niveau d'une bifurcation en Y et récupérées au réservoir de sortie à une concentration 10 fois plus grande.

Par la suite, notre module manuel pourrait être complété d'un microcanal de collection visant à acheminer l'échantillon vers un outil de détection (Figure 85).



**Figure 85 : Motif bypass équipé d'un troisième microcanal pour la collection de bactéries préconcentrées manuellement.**

Par ailleurs, nous pouvons anticiper que différents actionneurs seront nécessaires pour aiguiller les flux pour les différentes étapes de protocoles intégrés. Nous pourrions nous appuyer sur le système FlowPad développé dans notre laboratoire (**Figure 86 b**). Le design de la carte de la **Figure 86 a** polymère est compatible avec ce système. Ce premier prototype de carte plastique intègre une puce silicium avec 16 composants bypass identiques dont chaque entrée fluidique est adressée par les canaux en matière polymère (PMMA). Chacun de ces composants pourra être actionné aussi simplement que le montre la **Figure 84 a**. Dès expériences préliminaires ont validé le protocole de remplissage et d'actionnement électrocinétique des composants packagés dans la carte.

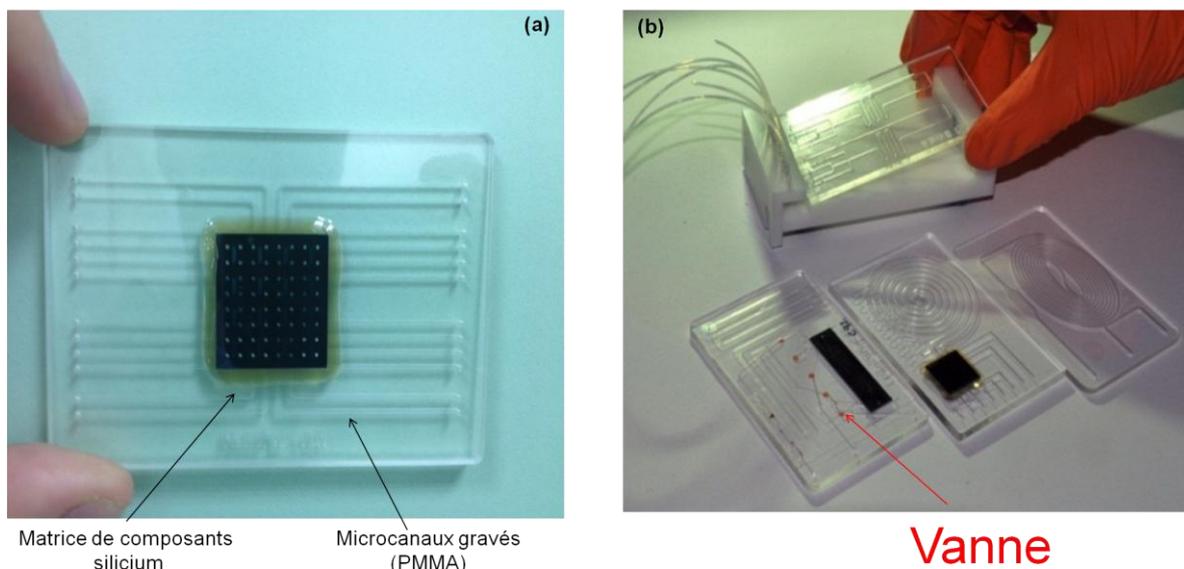


Figure 86 : (a) Carte plastique PMMA intégrant une matrice de 16 nanofiltres. (b) Plateforme FlowPad.

## 6.3 Conclusion

Toutes techniques confondues, nous avons démontré qu'il était possible d'atteindre, avec nos composants, des facteurs de concentration compris entre quelques dizaines et quelques milliers. Les rôles du design des composants, de leurs modes d'actionnement ainsi que des conditions expérimentales, ont également été expliqués. Tous ces résultats tendent à montrer que les techniques de nanofiltration et de préconcentration présentaient un réel intérêt pour la préparation d'échantillons. Quelques pistes ont d'ailleurs été proposées dans ce chapitre pour essayer d'intégrer nos composants dans un contexte applicatif.

Nous avons conscience que ces pistes nécessiteraient d'être encore approfondies. Notamment, l'optimisation et la validation expérimentale de nos systèmes dans des conditions réelles, c'est-à-dire avec des échantillons biologiques représentatifs des applications cliniques, devra être la prochaine priorité. A plus long terme, il faudra aussi viser des systèmes bas coûts, en privilégiant, par exemple, les technologies polymères, pour répondre à l'objectif d'intégration sur des plateformes LOC commercialisables.



## **Conclusion générale**

La transition de la microfluidique vers la nanofluidique a constitué une nouvelle approche au laboratoire. Cette thèse aura donc nécessité plusieurs axes de travail relatifs à des domaines assez pluridisciplinaires. D'un point de vue expérimental, les efforts ont concernés la conception et la réalisation de composants d'architectures variées ainsi que la mise en place d'un banc expérimental et d'outils de caractérisations. Cette démarche fut très formatrice car des solutions parfois originales ont du être proposées pour palier à certaines difficultés liées notamment à l'échelle micro-nanométrique des phénomènes concernés. Une attention particulière a aussi été portée sur la méthodologie de quantification de façon à faciliter la comparaison des résultats entre les différentes expériences.

Deux familles d'architectures ont été retenues et ont fait l'objet des principales investigations : la configuration bypass et la configuration radiale. L'architecture bypass est un quadripôle qui autorise un éventail d'actionnement alors que l'architecture radiale semble plus adaptée aux problématiques d'intégration microfluidique.

Parmi toute les pistes évoquées dans ce manuscrit nous en retiendrons trois en particulier que nous pensons être les plus prometteuses. Tout d'abord, la filtration tangentielle symétrique et le mode Asymétrique hydrodynamique sont les deux techniques associées au système bypass qui présentent les meilleurs résultats. La première, plus robuste, offre les plus hauts facteurs de concentration. Elle est actuellement la technique la plus compatible avec les échantillons biologiques, et la physique impliquée est apparue plus riche que prévu. La deuxième est une technique d'électropréconcentration mais dont le principe d'actionnement en pression est très original. Elle ouvre la voie vers des systèmes manuels potentiellement d'une grande simplicité. Enfin, la technique d'électropréconcentration radiale est également très performante en termes de facteurs de concentration mais l'avantage réside principalement dans la stabilité du processus de préconcentration et la simplicité d'intégration de la zone radiale.

A court termes, l'intégration des composants micro-nanofluidiques sur des plateformes en format de type « carte » serait une des pistes principales à poursuivre.



# Références

1. Y. Huang, S. Joo, M. Duhon, M. Heller, B. Wallace, and X. Xu, *Anal. Chem.*, 2002, **74**, 3362–3371.
2. A. Lenshof, A. Ahmad-Tajudin, K. Järvaas, A.-M. Swärd-Nilsson, L. Åberg, G. Marko-Varga, J. Malm, H. Lilja, and T. Laurell, *Anal. Chem.*, 2009, **81**, 6030–6037.
3. X.-B. Zhang, Z.-Q. Wu, K. Wang, J. Zhu, J.-J. Xu, X.-H. Xia, and H.-Y. Chen, *Anal. Chem.*, 2012, **84**, 3780–3786.
4. E. Sollier, M. Cubizolles, Y. Fouillet, and J.-L. Achard, *Biomed. Microdevices*, 2010, **12**, 485–497.
5. E. Sollier, H. Rostaing, P. Pouteau, Y. Fouillet, and J.-L. Achard, *Sensors Actuators B Chem.*, 2009, **141**, 617–624.
6. J. L. Fraikin, T. Teesalu, C. M. McKenney, E. Ruoslahti, and A. N. Cleland, *Nat. Nanotechnol.*, 2011, **6**, 308–313.
7. A. Mitra, B. Deutsch, F. Ignatovich, C. Dykes, and L. Novotny, *ACS Nano*, 2010, **4**, 1305–1312.
8. F. V. Ignatovich and L. Novotny, *Phys. Rev. Lett.*, 2006, **96**, 13901.
9. A. Mitra, F. Ignatovich, and L. Novotny, *Biosens. Bioelectron.*, 2011.
10. P. Tabeling, "Introduction à la microfluidique", *Belin*, 2003.
11. Y. Ren and D. Stein, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 195707.
12. G. Laffite, « Etude et développement de dispositifs micro-et nanofluidiques à interface polarisable de type silicium/diélectrique/ électrolyte », *Thèse*, 2010.
13. B. Kirby, "Micro-and Nanoscale Fluid Mechanics", *Cambridge University Press*, 2013.
14. K. Cherng Hon, C. Zhao, C. Yang, and S. Chay Low, *Appl. Phys. Lett.*, 2012, **101**, 143902–143902.
15. A. Mani, T. A. Zangle, and J. G. Santiago, *Langmuir*, 2009, **25**, 3898–3908.
16. T. A. Zangle, A. Mani, and J. G. Santiago, *Langmuir*, 2009, **25**, 3909–3916.
17. Y. Wang, K. Pant, Z. Chen, G. Wang, W. F. Diffey, P. Ashley, and S. Sundaram, *Microfluid. Nanofluidics*, 2009, **7**, 683–696.
18. T. A. Zangle, A. Mani, and J. G. Santiago, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 1014–1035.
19. <http://www.aquasource-membrane.com/-ultrafiltration-filtration-.html>
20. <http://www.laboandco.com/verriere-consommable/filtre/filtre-seringue.html>
21. <http://sell.pakuya.com/product-info/29035/UF-membrane-filter-for-pretreatment-of-Seawater-Desalinated-System.html>
22. <http://www.pall.com/main/laboratory/literature-library-details.page?id=34212>
23. <http://www.jove.com/video/4177/a-modified-epa-method-1623-that-uses-tangential-flow-hollow-fiber>
24. M. N. Hamblin, J. Xuan, D. Maynes, H. D. Tolley, D. M. Belnap, A. T. Woolley, M. L. Lee, and A. R. Hawkins, *Lab. Chip*, 2010, **10**, 173.
25. J. Xuan, M. N. Hamblin, J. M. Stout, H. D. Tolley, R. D. Maynes, A. T. Woolley, A. R. Hawkins, and M. L. Lee, *J. Chromatogr. A*, 2011, **1218**, 9102–9110.
26. H. Shao, J. Chung, L. Balaj, A. Charest, D.D. Bigner, B.S. Carter, F.H. Hochberg, X. O. Breakefield, R. Weissleder et H. Lee, *Nature Medicine*, **18**, 1835-1840.
27. D. Inglis, *Lab Chip*, 2013, **13**, 1724–1731

28. Y. Ukita, T. Asano, K. Fujiwara, K. Matsui, M. Takeo, S. Negoro, T. Kanie, M. Katayama, and Y. Utsumi, *Sensors Actuators Phys.*, 2008, **145**, 449–455.
29. T. Kulrattanakarak, R. G. M. van der Sman, C. Schroën, and R. M. Boom, *Adv. Colloid Interface Sci.*, 2008, **142**, 53–66.
30. N. Pamme, *Lab. Chip*, 2007, **7**, 1644–1659.
31. S. Ripperger and J. Altmann, *Sep. Purif. Technol.*, 2002, **26**, 19–31.
32. Y. Ukita, T. Asano, K. Fujiwara, K. Matsui, M. Takeo, S. Negoro, and Y. Utsumi, *Microsyst. Technol.*, 2008, **14**, 1573–1579.
33. M. Yamada and M. Seki, *Lab. Chip*, 2005, **5**, 1233–1239.
34. X. Guan, H. Zhang, Y. Bi, L. Zhang, and D. Hao, *Biomed. Microdevices*, 2010, **12**, 683–691.
35. R. Riehn, R. H. Austin, and J. C. Sturm, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 1973–1976.
36. J. Fu, R. B. Schoch, A. L. Stevens, S. R. Tannenbaum, and J. Han, *Nat. Nanotechnol.*, 2007, **2**, 121–128.
37. C. S. Hoffman and F. Winston, *Gene*, 1987, **57**, 267–272.
38. F. Persson, P. Utko, W. Reisner, N. B. Larsen, and A. Kristensen, *Nano Lett.*, 2009, **9**, 1382–1385.
39. W. Reisner, N. B. Larsen, H. Flyvbjerg, J. O. Tegenfeldt, and A. Kristensen, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 2009, **106**, 79.
40. J. Li, M. Gershow, D. Stein, E. Brandin, and J. A. Golovchenko, *Nat. Mater.*, 2003, **2**, 611–615.
41. S. Pennathur, F. Baldessari, J. G. Santiago, M. G. Kattah, J. B. Steinman, and P. J. Utz, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 8316–8322.
42. H. Cao, J. O. Tegenfeldt, R. H. Austin, and S. Y. Chou, *Appl. Phys. Lett.*, 2002, **81**, 3058.
43. S. M. Stavis, E. A. Strychalski, and M. Gaitan, *Nanotechnology*, 2009, **20**, 165302.
44. R. Riehn, M. Lu, Y. M. Wang, S. F. Lim, E. C. Cox, and R. H. Austin, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2005, **102**, 10012.
45. A. J. Storm, C. Storm, J. Chen, H. Zandbergen, J.-F. Joanny, and C. Dekker, *Nano Lett.*, 2005, **5**, 1193–1197.
46. R. H. Austin, J. O. Tegenfeldt, H. Cao, S. Y. Chou, and E. C. Cox, *Nanotechnol. IEEE Trans.*, 2002, **1**, 12–18.
47. J. O. Tegenfeldt, C. Prinz, H. Cao, S. Chou, W. W. Reisner, R. Riehn, Y. M. Wang, E. C. Cox, J. C. Sturm, P. Silberzan, and others, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 2004, **101**, 10979.
48. A. Storm, J. Chen, H. Zandbergen, and C. Dekker, *Phys. Rev. E*, 2005, **71**.
49. G. Nguyen, I. Vlassiouk, and Z. S. Siwy, *Nanotechnology*, 2010, **21**, 265301.
50. M. A. M. Gijs, *Nat. Nanotechnol.*, 2007, **2**, 268–270.
51. R. Karnik, K. Castelino, C. Duan, and A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 1735–1740.
52. L.-J. Cheng and L. J. Guo, *Microfluid. Nanofluidics*, 2010, **9**, 1033–1039.
53. L. Cao and Y. Wang, *Radiat. Meas.*, 2009, **44**, 1093–1099.
54. H. Daiguji, T. Adachi, and N. Tatsumi, *Phys. Rev. E*, 2008, **78**.
55. S. A. Miller, K. C. Kelly, and A. T. Timperman, *Lab. Chip*, 2008, **8**, 1729.
56. L. J. Cheng and L. J. Guo, *ACS Nano*, 2009, **3**, 575–584.
57. I. Vlassiouk and Z. S. Siwy, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 552–556.
58. H. Daiguji, Y. Oka, and K. Shirono, *Nano Lett.*, 2005, **5**, 2274–2280.
59. L. Wang, W. Guo, Y. B. Xie, X. W. Wang, J. M. Xue, and Y. G. Wang, *Radiat. Meas.*, 2009, **44**, 1119–1122.
60. L.-J. Cheng and L. J. Guo, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 923.

61. M. X. Macrae, S. Blake, M. Mayer, and J. Yang, *J. Am. Chem. Soc.*, 2010, **132**, 1766–1767.
62. P. Ramírez, P. Y. Apel, J. Cervera, and S. Mafé, *Nanotechnology*, 2008, **19**, 315707.
63. R. Karnik, C. Duan, K. Castelino, H. Daiguji, and A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 547–551.
64. R. Karnik, R. Fan, M. Yue, D. Li, P. Yang, and A. Majumdar, *Nano Lett.*, 2005, **5**, 943–948.
65. R. Karnik, K. Castelino, and A. Majumdar, *Appl. Phys. Lett.*, 2006, **88**, 123114.
66. K. D. Huang and R. J. Yang, *Nanotechnology*, 2007, **18**, 115701.
67. A. Author, *Lab. Chip*, 2007, **7**, 1234–1237.
68. F. H. van der Heyden, D. J. Bonthuis, D. Stein, C. Meyer, and C. Dekker, *Nano Lett.*, 2007, **7**, 1022–1025.
69. W. Olthuis, B. Schippers, J. Eijkel, A. Van Den Berg, *Sensors and Actuators B*, 2005, **11–112**, 385–389
70. X. Xuan, *Anal. Chem.*, 2007, **79**, 7928–7932
71. F. H. Van der Heyden, D. J. Bonthuis, D. Stein, C. Meyer, and C. Dekker, *Nano Lett.*, 2006, **6**, 2232–2237.
72. C. Nanteuil, « Etude du transport ionique à travers un nanocanal fluide : vers l'électropréconcentration sélective », *Thèse*, 2010.
73. Q. Pu, J. Yun, H. Temkin, and S. Liu, *Nano Lett.*, 2004, **4**, 1099–1103.
74. S. Ehlert, D. Hlushkou, and U. Tallarek, *Microfluid. Nanofluidics*, 2008, **4**, 471–487.
75. F. C. Leinweber and U. Tallarek, *Langmuir*, 2004, **20**, 11637–11648.
76. S. Kim, Y.-C. Wang, J. Lee, H. Jang, and J. Han, *Phys. Rev. Lett.*, 2007, **99**.
77. D. Kim, A. Raj, L. Zhu, R. I. Masel, and M. A. Shannon, *Lab. Chip*, 2008, **8**, 625.
78. N. A. Mishchuk and P. V. Takhistov, *Colloids Surfaces Physicochem. Eng. Asp.*, 1995, **95**, 119–131.
79. M. B. Andersen, M. van Soestbergen, A. Mani, H. Bruus, P. M. Biesheuvel, and M. Z. Bazant, *Phys. Rev. Lett.*, 2012, **109**, 108301.
80. I. Rubinstein and B. Zaltzman, *Phys. Rev. E*, 2000, **62**, 2238.
81. S. M. Rubinstein, G. Manukyan, A. Staicu, I. Rubinstein, B. Zaltzman, R. G. H. Lammertink, F. Mugele, and M. Wessling, *Phys. Rev. Lett.*, 2008, **101**, 236101.
82. L. F. Cheow and J. Han, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 7086–7093.
83. R. Kwak, S. J. Kim, and J. Han, *Anal. Chem.*, 2011, **83**, 7348–7355.
84. C.-H. Chen, A. Sarkar, Y.-A. Song, M. A. Miller, S. J. Kim, L. G. Griffith, D. A. Lauffenburger, and J. Han, *J. Am. Chem. Soc.*, 2011, **133**, 10368–10371.
85. P. Dextras, K. R. Payer, T. P. Burg, W. Shen, Y.-C. Wang, J. Han, and S. R. Manalis, *Microelectromechanical Syst. J.*, 2011, **20**, 221–230.
86. J. H. Lee, Y. A. Song, S. R. Tannenbaum, and J. Han, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 3198–3204.
87. L. F. Cheow, S. H. Ko, S. J. Kim, K. H. Kang, and J. Han, *Anal. Chem.*, 2010, **82**, 3383–3388.
88. J. H. Lee, B. D. Cosgrove, D. A. Lauffenburger, and J. Han, *J. Am. Chem. Soc.*, 2009, **131**, 10340–10341.
89. Y.-C. Wang, A. L. Stevens, and J. Han, *Anal. Chem.*, 2005, **77**, 4293–4299.
90. J. H. Lee, Y.-A. Song, and J. Han, *Lab. Chip*, 2008, **8**, 596.
91. Y.-A. Song and J. Han, *Lab. Chip*, 2008, **8**, 596–601.
92. J. Han, Y.-A. Song, J. hoon Lee, S. J. Kim, R. Schoch, Y.-C. Wang, P. Mao, J. Fu, H. Bow, and H. Jang, *RLE Prog. Rep.*, 2004.
93. S. J. Kim, Y. A. Song, and J. Han, *Chem. Soc. Rev.*, 2010, **39**, 912–922.
94. A. Sarkar and J. Han, *Lab. Chip*, 2011, **11**, 2569–2576.

95. Y.-C. Wang and J. Han, *Lab. Chip*, 2008, **8**, 392.
96. S. J. Kim and J. Han, *Anal. Chem.*, 2008, **80**, 3507–3511.
97. D. Stein, Z. Deurvorst, F. H. van der Heyden, W. J. Koopmans, A. Gabel, and C. Dekker, *Nano Lett.*, 2010, **10**, 765–772.
98. S.J. Kim, S.H. Ko, K. H. Kang and J. Han, *NNANO*, 2010, **5**, 297-301.
99. A. Plecis, C. Nanteuil, A-M. Haghiri-Gosnet, and Y. Chen, *Anal.Chem*, 2008, **80**,9542–9550.
100. R. B. Schoch, L. Caprioli, A. Bertsch, and P. Renaud, *Measurements of protein preconcentration obtained on-chip by using an electric field across a nanochannel*, *Nanotech*, 2005.
101. A. Plecis, R. B. Schoch, and P. Renaud, *Micro Total Anal. Syst. Transducers Res. Found. Boston MA USA*, 2005, 1038–1041.
102. <http://www.microelectronique.univ-rennes1.fr/fr/chap9c.htm>
103. H. Moriceau, Y. Le Tiec, F. Fournel, L. Ecarnot, S. Kerdilès, D. Delprat and C.Maleville, Direct Wafer Bonding Surface Conditioning, in *Handbook of Cleaning for Semiconductor Manufacturing*, ed. K. Reinhardt and R. Reidy, *Scrivener Publishing LLC*, ch. **14**, pp. 501–542.
104. J. G. Santiago, S. T. Wereley, C. D. Meinhart, D. J. Beebe, and R. J. Adrian, *Exp. Fluids*, 1998, **25**, 316–319.
105. T. Delmas, A.-C. Couffin, P. A. Bayle, F. de Crécy, E. Neumann, F. Vinet, M. Bardet, J. Bibette, and I. Texier, *J. Colloid Interface Sci.*, 2011, **360**, 471–481.
106. T. Delmas, H. Piraux, A.-C. Couffin, I. Texier, F. Vinet, P. Poulin, M. E. Cates, and J. Bibette, *Langmuir*, 2011, **27**, 1683–1692.
107. J. Xuan, M. N. Hamblin, J. M. Stout, H. D. Tolley, R. D. Maynes, A. T. Woolley, A. R. Hawkins, and M. L. Lee, *J. Chromatogr. A*, 2011, **1218**, 9102–9110.
108. H. P. Erickson, *Biol. Proced. Online*, 2009, **11**, 32–51.
109. V. G. Kutchoukov, F. Laugere, W. van Der Vlist, L. Pakula, Y. Garini, and A. Bossche, *Sensors Actuators Phys.*, 2004, **114**, 521–527.
110. G. B. Salieb-Beugelaar, J. Teapal, J. Nieuwkastele, D. Wijnperle, J. O. Tegenfeldt, F. Lisdat, A. Van Den Berg, and J. C. T. Eijkel, *Nano Lett.*, 2008, **8**, 1785–1790.
111. T. P. Burg, M. Godin, S. M. Knudsen, W. Shen, G. Carlson, J. S. Foster, K. Babcock, and S. R. Manalis, *Nature*, 2007, **446**, 1066–1069.
112. G. A. Cooksey, C. G. Sip, and A. Folch, *Lab Chip*, 2008, **9**, 417–426.
113. F. Persson, J. Fritzsche, K. U. Mir, M. Modesti, F. Westerlund, and J. O. Tegenfeldt, *Nano Lett.*, 2012, **12**, 2260.
114. B. Scarff, C. Escobedo, and D. Sinton, *Lab. Chip*, 2011, **11**, 1102–1109.
115. S. M. Stavis, J. Geist, and M. Gaitan, *Lab. Chip*, 2010, **10**, 2618.
116. S. M. Stavis, E. A. Strychalski, and M. Gaitan, *Nanotechnology*, 2009, **20**, 165302.
117. M. Napoli, P. Atzberger, and S. Pennathur, *Microfluid. Nanofluidics*, 2011, **10**, 69–80.
118. D. Wu and A. J. Steckl, *Lab Chip*, 2009, **9**, 1890–1896.
119. P. Gebauer and P. Bo\vcek, *Electrophoresis*, 2002, **23**, 3858–3864.
120. R. D. Oleschuk, L. L. Shultz-Lockyear, Y. Ning, and D. J. Harrison, *Anal. Chem.*, 2000, **72**, 585–590.
121. C. Yu, M. H. Davey, F. Svec, and J. M. J. Fréchet, *Anal. Chem.*, 2001, **73**, 5088–5096.
122. S. Song, A. K. Singh, and B. J. Kirby, *Anal. Chem.*, 2004, **76**, 4589–4592.
123. J. Khandurina, S. C. Jacobson, L. C. Waters, R. S. Foote, and J. M. Ramsey, *Anal. Chem.*, 1999, **71**, 1815–1819.
124. D. S. Burgi and R. L. Chien, *Anal. Chem.*, 1991, **63**, 2042–2047.
125. R. L. Chien and D. S. Burgi, *Anal. Chem.*, 1992, **64**, 1046–1050.
126. M. Hamdan and P. G. Righetti, *Mass Spectrom. Rev.*, 2003, **22**, 272–284.

- 
127. J. P. Quirino, *Science*, 1998, **282**, 465–468.
  128. J. Astorga-Wells and H. Swerdlow, *Anal. Chem.*, 2003, **75**, 5207–5212.
  129. D. R. Reyes, D. Iossifidis, P.-A. Auroux, and A. Manz, *Anal. Chem.*, 2002, **74**, 2623–2636.
  130. P.-A. Auroux, D. Iossifidis, D. R. Reyes, and A. Manz, *Anal. Chem.*, 2002, **74**, 2637–2652.
  131. A. Mitra, F. Ignatovich, and L. Novotny, *J. Appl. Phys.*, 2012, **112**, 014304–014304.
  132. G. Sahay, W. Querbes, C. Alabi, A. Eltoukhy, S. Sarkar, C. Zurenko, E. Karagiannis, K. Love, D. Chen, and R. Zoncu, *Nat. Biotechnol.*, 2013, **31**, 653–658.
  133. D. Chen, K. T. Love, Y. Chen, A. A. Eltoukhy, C. Kastrup, G. Sahay, A. Jeon, Y. Dong, K. A. Whitehead, and D. G. Anderson, *J. Am. Chem. Soc.*, 2012, **134**, 6948–6951.



# Annexe

## Communications

<b>Conférences</b>	<p><u>K. Aïzel</u>, Yves Fouillet, Catherine Pudda, Claude Chabrol (2013) <i>Concentration of nanoparticles using radial nanofluidic devices. TechConnect World</i>, Washington, US (<b>présentation orale</b> acceptée + <b>proceeding</b>)</p> <p><u>K. Aïzel</u>, Yves Fouillet, Catherine Pudda, Claude Chabrol (2012) <i>Investigation of Ion Concentration polarization on nanoparticles. µflu</i>, Heidelberg, Germany (<b>présentation orale</b> + <b>proceeding</b>).</p> <p><u>K. Aïzel</u>, Yves Fouillet, Catherine Pudda, Claude Chabrol (2012) <i>Investigation of Ion Concentration polarization in original micro-nanofluidic devices. Euroensors</i>, Krakow, Poland (<b>présentation orale</b> + <b>proceeding</b>).</p>
<b>Brevet</b>	<p><u>K. Aïzel</u>, Y. Fouillet (2011). <i>Nano and microfluidic device for separating and concentrating particles present in a fluid.</i> Patent US 20130175171 A1/ EP 2609993 A1/ CN103185679A.</p>
<b>Publications</b>	<p><u>K. Aïzel</u>, V. Agache, C.Pudda, F. Bottausci, C. Fraisseix, J. Bruniaux, Fabrice Navarro and Yves Fouillet (2013) <i>Enrichment of nanoparticles and bacteria using electroless and manual actuation modes of a bypass nanofluidic device. Lab on a Chip</i>, <b>13 (22),4476-4485.</b></p>
<b>En cours de rédaction</b>	<p><u>K. Aïzel</u>, et Y. Fouillet (2013) <i>Concentration of nanoparticles using radial nanofluidic devices.</i></p> <p><u>K. Aïzel</u>, Y. Fouillet et L. Davoust (2013) <i>Optimization of a symmetric cross flow nanofiltration in a Bypass nanofluidic device.</i></p>



## **Résumé**

Les recherches menées au cours de cette thèse constituent une première étape de développement de méthodes expérimentales de concentration de nanoparticules à l'aide de composants micro-nanofluidiques. L'objectif principal est donc d'explorer différentes architectures de systèmes micro-nanofluidiques en silicium où l'étape de concentration est effectuée par effet d'exclusion stérique et/ou ionique sous l'application d'un champ de pression et/ou électrique. Une attention toute particulière a été portée sur les méthodes de caractérisation, comprenant notamment les méthodes de particule Tracking Micro-PIV et de microscopie par fluorescence pour mesurer la répartition en nanoparticules et quantifier les facteurs de concentration.

L'étude s'organise en deux axes principaux. Un premier axe concerne la concentration de nanoparticules dans des architectures de type classique « Bypass », régulièrement retrouvées dans la littérature. Les effets de filtration stérique hydrodynamique, de préconcentration électrocinétique ainsi que le couplage des deux y seront étudiés. Le deuxième axe d'étude est quant à lui dédié à la conception et l'utilisation de configuration micro-nanofluidique plus originales.

## **Abstract**

The research conducted during this thesis consists in a first step for the development of experimental methods applied to the concentration of nanoparticles using silicon micro-nanofluidic devices. The main aim is to explore different system architectures where the preconcentration step is achieved using steric and/or ion exclusion under the influence of a pressure and/or electric field. A special attention is directed toward the characterization methods including Micro-Particle Image Velocimetry (micro-PIV) and fluorescent microscopy in order to measure the nanoparticles distribution and to quantify the concentration folds.

The study is organized according to two main parts. The first part of the research deals with the preconcentration of nanoparticles within classical « Bypass-like » architectures, often found in the literature. Hydrodynamic steric filtration, electrokinetic preconcentration and the coupling of both will be studied. The second part is dedicated to the conception and utilization of original micro-nanofluidic configurations.