



Étude et développement d'une plateforme microfluidique pour l'imagerie électrochimique

Mémoire

Adnane Kara

Maîtrise en génie électrique
Maître ès sciences (M.Sc.)

Québec, Canada

© Adnane Kara, 2015

Résumé

Ce mémoire traite la conception, la microfabrication et la caractérisation d'une matrice de microélectrodes dans une architecture microfluidique pour l'analyse par imagerie électrochimique des substances biochimique.

Un nouveau procédé de microfabrication des moules des canaux microfluidiques a été développé en utilisant un procédé de photolithographie d'une résine photosensible sèche et solide. Le microcanal est fabriqué à partir de 2 substrats collés par plasma avec une matrice de 200 microélectrodes (ME). Les dimensions de chaque électrode sont de $340\ \mu\text{m} \times 340\ \mu\text{m}$ fabriqués sur un circuit imprimé (PCB : printed circuit board). La surface des électrodes a été modifiée par électrodéposition du nickel et de l'au pour améliorer les courbes cyclo voltamétriques.

Une caractérisation électro-analytique du micro-dispositif est réalisée par voltamétrie cyclique en écoulement laminaire. Le nouveau dispositif proposé nous a permis d'obtenir des images électrochimiques en pixélisant le microcanal avec la MME. Cette pixellisation du microcanal est une cartographie de l'intensité du courant et donc de la concentration des molécules dans le microcanal. Des simulations numériques 2D de la vitesse, pression ainsi que de la diffusion chimique ont été réalisées en utilisant un logiciel de modélisation par éléments finis (COMSOL). Des images microscopiques ont été aussi analysées afin de localiser la distribution des molécules à l'intérieur du canal microfluidique.

Mots Clés : Microélectrodes, microfluidique, laboratoire sur puce, analyse électrochimique, circuit imprimé, oxydoréduction.

Abstract

In this project we present a complete microfluidic platform with integrated 200 electrodes for *in situ* screening and imaging of biochemical samples through a lab-on-chip system.

We incorporated electrochemical sensor arrays (20x10) connected to a PCB into a 200 μm tall microfluidic channel. The micro-channel contains three inlets, two of which were used to introduce phosphate buffer saline (PBS), which confined a central stream of ferrocyanide solution. A custom multiplexer and potentiostat were used to sequentially perform cyclic voltammetry on each electrode.

The behaviour of the system was linear in term of variation of current versus concentration. A pseudo real-time interface collected currents from each electrode. It was then analyzed to detect different species and their concentrations at different locations on-chip. An electrochemical image was generated presenting the concentration distribution inside the microfluidic device. A numerical calculation with COMSOL was achieved to solve Navier-Stocks equation to confirm experimental results, finally microscopic image analyzed to show the position of the confined flow.

Key words : Microelectrodes, microfluidics, lab-on-a-chip, electrochemical analysis, printed circuit board, redox reaction.

Table des matières

Résumé	iii
Abstract	v
Table des matières	vii
Liste des tableaux	x
Liste des figures	xii
Liste des abréviations	xvi
Remerciements	xviii
Introduction générale	1
1. Théorie	3
1.1. Définition de l'électrochimie	3
1.2. Réaction électrochimique	4
1.3. Cellules électrochimiques	5
1.4. Architecture de la cellule et placement des électrodes.....	7
1.5. Transport de la matière.....	8
1.5.1. Le transport par diffusion	9
1.5.2. Le transport par convection.....	9
1.5.3. Le transport par migration (électrostatique)	11
1.6. La voltamétrie cyclique.....	12
1.6.1. La voltamétrie cyclique avec les systèmes réversibles.....	13
1.6.2. Voltamétrie cyclique pour les systèmes irréversibles.....	15
1.7. La microfluidique.....	16
1.7.1. Nombre de Reynolds.....	17
1.7.2. Diffusion et mélange	17
1.8. Travaux antérieurs.....	19
1.8.1. Travaux du groupe Andrew G. Ewing (2012) [28]	19
1.8.2. Travaux du groupe Michael D. Ward(1999) [29]	22
1.8.3. Travaux du groupe Osamu NIWA(2000) [30]	24
1.8.4. Travaux du groupe J.Greener et A.Miled (2015):.....	27
2. Matériels et méthodes.....	30
2.1. Matières chimiques	30

2.2.	Fabrication du moule du canal microfluidique.....	32
2.3.	Mesures électrochimiques (potentiostat et multiplexeur).....	33
2.4.	Contrôle et traitement des images électrochimique	34
2.5.	Caractérisation par microscopie électronique à balayage MEB-EDX	35
3.	Résultats expérimentaux et discussion.....	36
3.1.	Automated Electrode Array for In-Channel Electrochemical Detection.....	36
3.1.1.	Résumé.....	36
3.1.2.	Abstract.....	36
3.1.3.	Introduction	37
3.1.4.	Proposed System.....	37
3.1.5.	Materials and Equipment.....	39
3.1.6.	Experimental Results	39
3.1.7.	Conclusion.....	45
3.1.8.	Acknowledgment.....	45
3.2.	Imagerie électrochimique dans une matrice d'électrodes planaires	46
3.2.1.	Modélisation numérique	46
a)	Étude de la variation de la vitesse selon l'axe x.....	49
b)	Étude de la variation de la vitesse selon l'axe y.....	49
3.2.2.	Fabrication des électrodes planaires	52
3.2.3.	Caractérisation du dépôt	53
3.2.4.	Assemblage du canal microfluidique.....	54
3.2.5.	Imagerie électrochimique	55
a)	Comparaison d'un CV par rapport à une électrode d'Au-Ni et d'Ag/AgCl.....	57
b)	Étude de la stabilité du potentiel d'oxydation du ferrocyanure.....	58
c)	Effet de la vitesse de balayage sur le courant d'oxydation du ferrocyanure	59
d)	Effet de la vitesse d'écoulement du ferrocyanure sur le courant d'oxydation	60
e)	Effet du nombre d'électrodes auxiliaires :	60
f)	Courbe de calibration	61
g)	Imagerie individuelle.....	63
h)	Imagerie électrochimique du ferrocyanure dans tout le canal.....	67
i)	Imagerie électrochimique de diffusion de 2 molécules	70
3.2.6.	Test du système fabriqué avec des neurotransmetteurs.....	71
a)	Analyse de la dopamine	71

b) Autres molécules (sérotonine et acide urique)	73
3.3. Fabrication d'une matrice (5x4) d'électrodes sur plastique	74
4. Conclusion générale	77
Contributions.....	79
Références Bibliographiques	81

Liste des tableaux

Tableau 1 : Résumés des travaux effectués en imagerie électrochimique	19
Tableau 2: Caractéristiques des produits électrochimiques et support électrolytiques	30
Tableau 3: composition des bains chimiques pour la déposition des métaux	31
Tableau 4: measured anodic and cathodic potentials on the micro fluidic device for the 6 electrodes and the electrolysis cell.	40
Tableau 5: E_a , E_c , ΔE_p , I_a , I_c and I_a/I_c values versus the scan rate	41
Tableau 6: flow rate of redox solution and ultra-pure water	44
Tableau 7: Les conditions initiales de la modélisation.....	47
Tableau 8: Calcul du nombre de Reynold pour les différentes vitesses.....	50
Tableau 9: les conditions d'électrodéposition du Ni et de Au.....	53
Tableau 10: les valeurs de potentiel de ferrocyanure pour les 10 électrodes	58
Tableau 11: concentration du FeCy pour les différentes valeurs de R.....	64
Tableau 12 : Pente de diminution la concentration de FeCy pour les trois électrodes.....	67
Tableau 13: conditions hydrodynamiques pour l'obtention de 6 images électrochimiques à l'intérieur du canal microfluidique.....	68
Tableau 14 : présente les potentiels et les courants anodique et cathodique de la dopamine à partir des 6 électrodes.....	72

Liste des figures

Figure 1: La réaction de transfert d'électrons par oxydoréduction	4
Figure 2: Une cellule galvanique $Zn(s) Zn^{2+}(aq) Cu^{2+}(aq) Cu(s)$	6
Figure 3: La double couche à la surface d'une électrode [20]	8
Figure 4: Un disque rotatif pour réaliser un transport convectif	10
Figure 5: Un agitateur magnétique pour réaliser un transport convectif.....	10
Figure 6: La forme triangulaire du potentiel appliquée sur les électrodes en fonction du temps[23].	12
Figure 7: La courbe caractéristique présentant un CV réversible [26].....	15
Figure 8: la courbe caractéristique présentant un CV irréversible[26].....	16
Figure 9 : Schéma La diffusion de la solution 1 dans la solution 2 au bas du canal microfluidique. 18	
Figure 10 : Schéma et photo de MEB de : (a) capillaire de silice (b) dépôt de carbone sur les électrodes (c) remplissage des trous par de l'époxy et polissage des résidus. (d) La matrice d'électrodes en contact avec une cellule. [28]	20
Figure 11 : CV de 0.1 mM de FcCH ₂ OH avec une vitesse de balayage de 20 mV/s. [28]	20
Figure 12 : Le tube contenant 8 microélectrodes de carbone en contact avec une cellule de PC12.[28]	21
Figure 13 : Libération de la dopamine à chaque 10 seconds par les PC12. [28].....	21
Figure 14 : Comportement des électrodes en fonction du temps. [28].....	22
Figure 15 : (a) Matrice des 64 électrodes. (b) Un circuit qui connecte la matrice des électrodes, le potentiostat et le multiplexeur. [29]	23
Figure 16 : À droite les images électrochimiques pour les courants anodiques et cathodiques, à gauche les cycles voltammograms. [29].....	24
Figure 17. (a) Une photo des électrodes sur un substrat de verre et (b) la matrice des électrodes [30]	25
Figure 18 : Système électrochimique avec une matrice des électrodes sur un substrat de verre et un cylindre pour introduire la solution contenant les électrodes de référence et auxiliaire. [30]... 25	
Figure 19 : (a) CV d'une électrode de carbone dans 1 mM de ferrocène avec une vitesse de balayage de 100 mV/s est (b) une courbe chronopotentiométrique à 600 mV pendant 300s. [30]	26
Figure 20 : Courbe de calibration du L-glutamate entre 1 μ M et 1 mM. Les valeurs obtenues après une stabilisation du potentiel à -50 mV/Ag pendant 270 s. [30].....	26
Figure 21 : Le système d'injection par effet capillaire. [30].....	26
Figure 22 : Une image bidimensionnelle de la distribution de la concentration du glutamate. [30]. 27	
Figure 23 : Un canal microfluidique assemblé sur le circuit imprimé connecté avec un multiplexeur et des pompes à seringues	28
Figure 24 : (a) Image électrochimique (b) image microscopique et (c) simulation numérique obtenue dans la matrice microfluidique.	28
Figure 25: formule chimique du polydimethylsiloxane (PDMS).....	31
Figure 26 : Les dimensions critiques du canal microfluidique.	32
Figure 27: Les étapes de fabrication du moule.....	32
Figure 28 : Les limites de microfabrication de canaux microfluidique.....	33
Figure 29 : Potentiostat Versastat 4-500, Princeton	33
Figure 30 : Multiplexeur à 80 canaux de contrôles	34

Figure 31: Les éléments fonctionnels de l'imagerie électrochimiques	35
Figure 32 : Fabrication process of the microfluidic device.....	38
Figure 33 : Proposed system inter-connection between MFD, potentiostat and control module.....	39
Figure 34: CV curves obtained with 6mM of ferrocynide from the microfluidic channel (solid lines) and from a standard electrolytic cell (dashed line). Data was acquired at a scan rate of 100 mV/s using 0.5 M KNO ₃ , 0.5 M KOH as supporting electrolyte.....	40
Figure 35 : CV curves with 8 mM potassium ferrocyanide in 0.5 N KNO ₃ and 0.5 N KOH at scan rates (a) 50 mV/s, (b) 100 mV/s, (c) 200 mV/s, (d) 300 mV/s and (e) 400 mV/s.....	41
Figure 36: Anodic and cathodic current peak height as the fuction of square root of the scan rates from for 8 mM potassium ferocyanide solution in 0.5 M KNO ₃ and 0.5 M KOH.....	42
Figure 37: CV curves showing the variation of intial concentration of K ₃ Fe(CN) ₆ /K ₄ Fe(CN) ₆ 2, 4 and 8mM in 0.5 M KNO ₃ and 0.5 M KOH at scan rates of 100 mV s ⁻¹ (V vs. Au electrde)..	43
Figure 38: The anodic and cathodic peak height as the function of concentration of potassium ferocyanide (2,4 and 8 mM) in 0.5 M KNO ₃ and 0.5 M KOH.....	43
Figure 39: Cathodic current as the fuction of time during on/off flowing of the redox solution of 4 mM ferocyanide at scan rate of 100 mV/s	44
Figure 40: Normalized cathodic Current (%) versus the ratio rate for: Electrode 1 (blue), Electrode 2 (purple), Electrode 3 (green) Electrode 4 (red), Electrode 5 (gray). Scan rate used is 100 mV/s, and 4 mM redox solution of ferrocyanide.....	45
Figure 41 : La géométrie du canal microfluidique à trois entrées.....	46
Figure 42 : (a) La distribution de la pression. (b) La distribution de la vitesse dans le cas d'un débit fort.....	48
Figure 43 : (a) La distribution de la pression. (b) La distribution de la vitesse dans le cas d'un débit lent.....	48
Figure 44 : Une présentation de la vitesse du fluide selon l'axe x.....	49
Figure 45 : Vitesse d'écoulement de la solution pour les 10 électrodes selon l'axe y.....	49
Figure 46 : Distribution de la concentration dans le canal microfluidique pour les débits d'écoulement (a) 1.11e-11 m/s et (b) 1.11e-10 m/s.....	51
Figure 47 : Présentation unidimensionnelle de la distribution de la concentration au milieu du canal selon l'axe y pour les 2 vitesses d'écoulement (noir) 1.11e-11 m/s et (rouge) 1.11e-10 m/s.....	51
Figure 48: Image optique de l'électrode du PCB avant et après oxydation.....	52
Figure 49 : Schéma simplifié des électrodes fabriquées sur le circuit imprimé (a) avant et (b) après le dépôt du Ni et Au.....	52
Figure 50: Images du MEB du dépôt de Ni-Au avec les grandissements 7500, 20k et 50k.....	53
Figure 51 : Spectre EDX de la couche Ni-Au.....	54
Figure 52 : Formation du canal microfluidique et assemblages au circuit imprimé.....	54
Figure 53 : Schéma du canal microfluidique sur un circuit imprimé. (a) Entré 2 des réactives (b) sorties 1 de la solution (c) le connecteur (d) le canal microfluidique (e) électrode (f) PCB, (x) le diamètre du trou d'introduction de la solution x=0.2 mm.....	55
Figure 54: Cycle voltammograms obtenu avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. Rouge (10 mM FeCy+PBS+ 0.5 N KOH), bleu (PBS+ 0.5 N KOH), noir (10 mM FeCy).....	56

Figure 55: Figure présente le cycle voltammogram (CV en verre) obtenu par soustraction entre le CV de FeCy (CV en noire) et l'équation de la tangente du CV de FeCy. La concentration utilisée est 10 mM FeCy et 100 mV/s comme vitesse de balayage.....	56
Figure 56: Interface du Matlab qui permet de traiter les CV et extraire les potentiels d'oxydation .	57
Figure 57: CV enregistré par rapport à l'électrode de l'Au-Ni (CV en trait continu noir) et le CV enregistré par rapport à Ag/AgCl (cv pointillé)	57
Figure 58 : 10 Cycles voltamétrique obtenus à partir de 10 électrodes de la matrice en utilisant une solution de Ferrocyanure de 10 mM, avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.	58
Figure 59: La courbe de variation du courant anodique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.....	59
Figure 60: Effet de la vitesse d'écoulement du FeCy sur le courant anodique. Concentration du FeCy utilisé et de 10 mM avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.....	60
Figure 61: Effet de la surface de l'électrode auxiliaire sur le courant de bruit	61
Figure 62 : CVs I-E en fonction de la concentration de ferrocyanure. (a) 2 mM (b) 4 mM, (c) 6 mM, (d) 8 mM, et 10 mM de ferrocyanure.....	61
Figure 63 : Courbe présentant la variation du courant anodique en fonction de 4 solutions de FeCy : 2, 4, 6, 8 et 10 mM. La vitesse de balayage utilisé est 100 mV/s.....	62
Figure 64: histogramme de distribution de la pente courant concentration pour les 200 électrodes.	62
Figure 65 : Schéma de l'entrée de réactifs pour l'imagerie individuelle.	63
Figure 66 : La concentration de FeCy en fonction du rapport volumique R pour les trois électrodes : noir, rouge et vert.	64
Figure 67: Simulation par COMSOL pour les valeurs du rapport d'écoulement volumique R : 0.52, 0.56, 0.6, 0.65, 0.68 et 0.73 pour trois électrodes: noire, rouge et vert.	65
Figure 68 : Circuits d'entrée des réactifs pour l'imagerie élémentaire selon l'axe y ainsi que la position des électrodes noir, rouge et vert.....	66
Figure 69: Le rapport volumique R en fonction de la concentration du FeCy mesurée par voltamétrie cyclique pour les électrodes noir, rouge et verte selon l'axe y.....	66
Figure 70 : (a) Image électrochimique brute. (b) Lissage de l'image électrochimique a.....	68
Figure 71: la colonne 1 présente les images électrochimiques, la colonne 2 présente les images optiques et la colonne 3 présente les images de la simulation COMSOL.....	69
Figure 72: Circuit d'entrées des réactifs électrochimiques. L'entrée 1 par le FeCy et l'entrée 2 par l'hexaammineruthenium.....	70
Figure 73: Image électrochimique de FeCy et l'hexaammineruthenium dans le canal microfluidique. Z1 et la zone de diffusion.....	70
Figure 74: CV du Ru(NH ₃) ₆ et Fe(CN) ₆ dans la zone 1 de diffusion.....	71
Figure 75 : Cycles voltammogram de 6 électrodes de 10 mM de dopamine dans PBS, la vitesse de balayage utilisée est de 100 mV/s.	72
Figure 76 : (a) Cycles voltammogram de 10 mM de la dopamine avec les vitesses de balayage : 50, 100, 200 et 300 mV/s. (b) Le tracé du courant mesuré par voltamétrie cyclique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.	73
Figure 77 : Cycle voltammograms de (a) 15 mM d'urique acide (b) 12 mM de la sérotonine. Avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.....	74
Figure 78 : (a) Un trou dans un plastique polycarbonate. (b) Le remplissage du trou par un époxy d'argent	74

Figure 79 : (a) Électrode après dépôt d'argent. (b) Électrode après dépôt d'or.	75
Figure 80 : (a) Spectre EDX de l'électrode. (b) photo du MEB avec un agrandissement de 300x. (c) photo du MEB avec un grandissement de 10000x. Après dépôt d'Au.....	75
Figure 81 : (a) Schéma qui présente les pistes métalliques d'ITO sur une lame de verre. (b) Photo du système fabriqué. (c) Un schéma transversal de la structure fabriquée.....	76

Liste des abréviations

Au	L'Or
Cu	Cuivre
CV	Voltamétrie cyclique
F	la constante de Faraday (96 484,6 <i>C.mol⁻¹</i>)
FeCy	Ferricyanure
FR4	Verre renforcé par l'époxy (glass reinforced epoxy)
ITO	Oxyde de titanium et d'indium
KOH	Hydroxyde de potassium
MEB	Microscope électronique à balayage
MEMS	Microelectromechanical systems
MME	Matrice de Micro Électrodes
Ni	Nickel
OHP	Le plan extérieur Helmholtz
Ox	Oxydant
PBS	Phosphate buffer
PCB	Circuit imprimé (Printed circuit board)
PDMS	Polydemethylsiloxane
PHI	Le plan intérieur Helmholtz
R	Réducteur
R	La constante des gaz parfait $8.314 \text{ J.K}^{-1}.\text{mol}^{-1}$

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier mes directeurs de recherche Prof. Amine Miled et Prof. Jesse Greener pour m'avoir accueilli dans leurs laboratoires et m'avoir permis de travailler dans un milieu de travail très enrichissant. Par leurs aides et leurs conseils, ils m'ont permis d'acquérir de solides expériences et des compétences nécessaires pour compléter ce travail. Les deux professeurs sont très disponibles et dynamiques, ce qui rend le travail de plus en plus agréable. Leurs expertises et connaissances dans plusieurs domaines de la chimie, électronique, microfabrication, simulation numérique m'ont été d'une grande aide tout au long de ce projet.

J'aimerais remercier les membres des groupes de recherche Miled (Laboratoire de recherche en bio-ingénierie LABioTRON) et Greener pour m'avoir accompagné tout au long de ce parcours. Leur aide, leur appui, leur travail et leur bonne humeur m'ont permis de grandir et de passer de merveilleuses journées au laboratoire. J'aimerais spécialement remercier Anna, Muhamed Safdar, Pouyan Zarabadi, Jessy Mathault, Mazeyar Gashti, Pousti Mohammad, Eya Mejri, Arnaud Reitz et François Paquet pour leur aide et leurs conseils. Je tiens à remercier l'équipe technique du département génie électrique, Martin Gagnon, Marco Beland et Stéphane Gagnon.

Finalement, j'aimerais remercier ma famille et mes amis pour leur soutien quotidien immense. Je remercie mon père pour son appui et pour son sens critique. Ses opinions seront toujours pour moi les plus importantes et les plus judicieuses. Je remercie ma mère pour son incroyable générosité et pour son encouragement quotidien. Je lui dois énormément pour la réalisation de ce projet.

Introduction générale

Mise en contexte

Le projet présenté dans ce mémoire s'inscrit dans une optique de convergence entre deux champs de recherche distincts : la chimie et le génie électrique. Ainsi, l'utilisation de la voltamétrie cyclique comme moyen de la détermination des concentrations des molécules chimiques est une de meilleures approches, cette technique d'analyse utilise l'électricité pour déterminer la concentration chimique de la molécule chimique considérée. La détection électrochimique dans les dispositifs microfluidiques est un axe de recherche très prometteur [1-4]. L'électrode de travail est le siège des réactions électrochimiques il permet d'oxyder ou réduire les substances électro actifs par conséquent on peut déduire la nature et la quantité de ces molécules caractérisées par une valeur de potentiel et de courant. Cependant, il y a de nombreux défis techniques à résoudre dans ce type de détection électrochimique tels que la stabilité des électrodes de travail vis-à-vis de l'agressivité des produits chimiques [2] et la résistance à la corrosion lorsque les électrodes sont exposées à des tensions élevées.

Les performances des biocapteurs électrochimiques en microfluidique dépendent considérablement de la performance et les caractéristiques du matériau de l'électrode de travail. En général, l'or [3], nickel [4], cuivre [5] et différent type de matériaux carbonés tels que les fibres de carbone nanotubes [6] sont couramment utilisé en tant que matériaux d'électrode en raison de propriétés électrochimiques favorables [1] [5] [8-12]. La voltamétrie cyclique est un outil de bio détection fiable comme dans le cas des capteurs de gaz nocifs [10] [11]. Ceci s'applique aussi pour les fluides liquides comme la mesure de la concentration du glucose dans le sang pour les patients souffrant de diabète [12].

Problématique et but

Différentes techniques ont été proposée dans des laboratoires sur puce afin d'étudier la diffusion des molécules dans des solvants pour déterminer leur concentration dans un mélange. Parmi ces techniques on distingue la fluorescence induite par laser [13], la spectrométrie de masse [14], la détection par spectrométrie d'absorbance [15], la détection Raman [16]. Ces techniques permettent d'utiliser des solutions chimiques dans des architectures microfluidiques miniaturisées. Cependant, le montage expérimental est

volumineux et ne peut pas être portatif. La détection électrochimique est une technique qui offre un grand potentiel d'intégration dans un laboratoire sur puce portatif. Le projet abordé dans ce mémoire consiste en la conception d'une matrice de 200 micro électrodes incorporées dans l'architecture microfluidique pour analyser l'évolution de la concentration des molécules depuis leur introduction dans l'architecture microfluidique jusqu'à leur sortie du microcanal. Ce système permet de déterminer la concentration des molécules introduite au voisinage de chaque électrode par voltamétrie cyclique (CV). Ainsi nous avons mis en place un système d'imagerie électrochimique (IE) bidimensionnelle pour visualiser le gradient de concentration.

Ce projet a nécessité une collaboration entre le groupe de recherche du Prof. Miled au département de génie électrique pour la conception et la fabrication du multiplexeur utilisé pour le contrôle de chaque électrode individuellement, et le groupe de recherche du Prof. Greener du département de chimie pour la fabrication de l'architecture microfluidique et l'obtention des images électrochimique par voltamétrie cyclique.

Corps du mémoire

Ce mémoire contient 3 chapitres en plus de l'introduction et la conclusion générale.

Dans le premier chapitre, on présente une revue de littérature de l'électrochimie et la microfluidique ainsi que l'originalité de ce travail par rapport aux travaux antérieurs. Le deuxième chapitre introduit la liste des produits chimiques et les équipements utilisés pour la fabrication et la caractérisation des dépôts électrochimiques, on y trouve également une description détaillée du protocole expérimental et la méthode de microfabrication des moules microfluidiques et des microélectrodes. Le troisième chapitre est une étude détaillée de la simulation numérique par éléments finis en utilisant COMSOL ainsi qu'une présentation et analyse des images électrochimiques de ferricyanure dans le canal microfluidique seul et avec l'hexaaminoiretherium. Ce chapitre expose aussi les résultats d'autres molécules électrochimiquement actives et complexes comme la dopamine, la sérotonine, et l'acide urique en utilisant la même architecture microfluidique. Une conclusion générale à la fin du mémoire qui résume les contributions majeures dans ce travail de recherche.

Chapitre 1

1. Théorie

La théorie nécessaire à la bonne compréhension de l'approche considérée dans ce mémoire est présentée dans ce chapitre. On introduit dans cette section aussi, la théorie de base de l'électrochimie et la voltamétrie cyclique ainsi que les notions élémentaires de la mécanique des fluides.

1.1. Définition de l'électrochimie

Le terme électrochimie dérive de l'électricité et de la chimie. L'électrochimie est la science qui décrit les interactions entre la chimie et l'électricité. Plus précisément, c'est la science qui analyse et décrit les transformations de la matière à l'échelle atomique par des transitions de charges électroniques qui peuvent être contrôlées au moyen de systèmes électroniques. De telles transformations sont appelées réactions d'oxydoréduction.

Les premières expériences en électrochimie datent de la fin du 18^e siècle, lorsque l'italien Luigi Galvani établit la première relation entre les réactions chimiques et l'électricité. Les expériences réalisées abordaient l'effet de l'électricité sur le mouvement musculaire des animaux. Alessandro Volta a rejeté l'idée de Galvani et au cours de ses investigations, il a élaboré la première cellule électrochimique, d'où découlent les piles voltaïques.

En 1800, William Nicholson et Johann Wilhelm Ritter ont réussi à décomposer l'eau en hydrogène et oxygène par électrolyse.

En 1888 Walther Hermann Nernst a développé la célèbre théorie de la force électromotrice de la cellule voltaïque utilisée jusqu'à aujourd'hui pour le calcul des potentiels électrochimiques. Cette théorie décrit la relation entre les activités chimiques de l'oxydant et du réducteur qui échangent (n) électrons il s'écrit sous la forme suivante (équation 1) :

$$E = E^0 + \frac{RT}{nF} \ln \frac{a_{Ox}^k}{a_{Red}^l} \quad (1)$$

À température ambiante (25 °C = 298,15 K), on a la relation suivante (équation 2):

$$\frac{RT}{F} \log_{10} = 0,059V \quad (2)$$

L'équation de Nernst se réécrit comme suit (équation 3):

$$E = E^0 + \frac{0,059}{n} \text{Log} \frac{a_{Ox}^k}{a_{Red}^l} \quad (3)$$

où R est la constante des gaz parfaits, T la température absolue en degré Kelvin (K), a_{ox} et a_{Red} est l'activité chimique de l'oxydant et du réducteur et F est la constante de Faraday.

En 1889, Walther Hermann Nernst a réussi à démontrer que les caractéristiques du courant généré peuvent être utilisées pour calculer la variation de l'enthalpie libre (l'énergie de Gibbs) dans la réaction chimique produisant le courant. En effet, une réaction électrochimique implique un transfert de charges à travers un électron dans les conducteurs métalliques et des ions dans les conducteurs liquides [17-18]. Une réaction d'oxydoréduction implique le transfert d'au moins un électron d'une molécule à l'autre et provoque le changement d'état de la molécule d'oxydation. Cette réaction peut se faire par l'application d'une tension externe ou par la libération de l'énergie chimique naturelle. Le procédé de la réaction d'oxydoréduction est régi par la loi de Faraday qui stipule que la quantité de molécules produites est directement proportionnelle au courant traversant la cellule. Les deux processus d'une réaction d'oxydoréduction sont l'oxydation, où la molécule perd des électrons, et la réduction, où la molécule acquiert des électrons (figure 1).

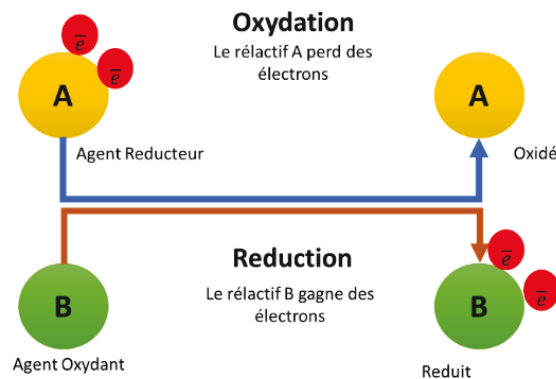


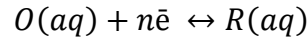
Figure 1: La réaction de transfert d'électrons par oxydoréduction

1.2. Réaction électrochimique

Les réactions électrochimiques sont homogènes lorsque les deux composés qui perdent et acquièrent des électrons sont dans la même phase. Dans la majorité des cas, il s'agit de la phase liquide. Les réactions sont hétérogènes lorsque les molécules réactives sont dans des phases différentes. Le transfert de charge le plus fréquent est celui entre le solide et le liquide.

Dans ce cas, la réaction d'oxydoréduction se produit à l'interface solide/liquide. C'est notamment, le cas d'une électrode immergée dans une solution conductrice.

Dans une solution aqueuse, les réactions de transfert d'électrons sont considérées hétérogènes:



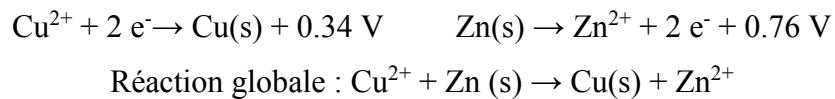
où O symbolise les molécules oxydées, R représente les molécules réduites, n est le nombre d'électrons transférés. Les concentrations de O et R à la surface de l'électrode peuvent être données par l'équation 4 de Nernst:

$$\frac{[O]_{surface}}{[R]_{surface}} = e^{\frac{nF}{RT}(E-E^0)} \quad (4)$$

où, E^0 est le potentiel standard de l'électrode lorsque toutes les molécules ont une concentration égale à l'unité, R est la constante des gaz parfaits, T est la température absolue en Kelvin, n est le nombre d'électrons échangé par mole d'électrolyte, F est la constante de Faraday.

1.3. Cellules électrochimiques

Une cellule électrochimique qui produit un courant électrique à partir de l'énergie libérée par une réaction d'oxydoréduction spontanée est une cellule galvanique (Figure 2). Lorsque la réaction ne se fait pas spontanément, mais nécessite une application de potentiel, la cellule électrochimique est appelée cellule électrolytique. Dans la cellule électrochimique présentée dans la figure 2 les produits chimiques actifs sont (Cu^{2+} et Zn^{2+}) et l'électrolyte qui transporte le courant se compose en ions non réactifs (SO_4^{2-} et Na^+). Les réactions électrochimiques qui se produisent sont alors:



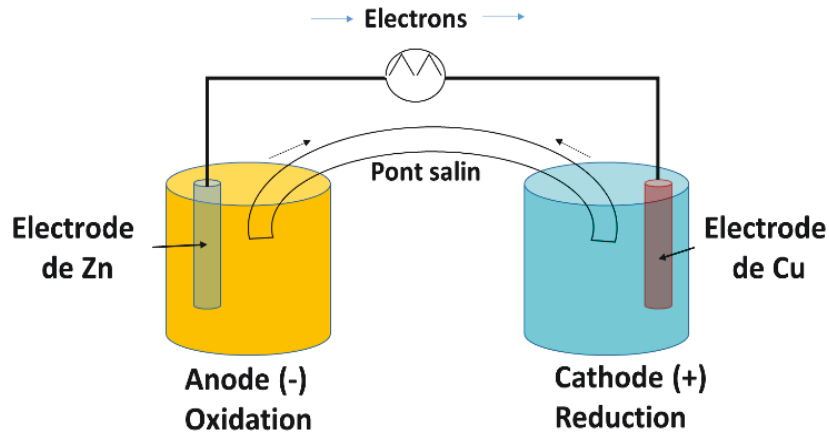


Figure 2: Une cellule galvanique $Zn(s) | Zn^{2+}(aq) || Cu^{2+}(aq) | Cu(s)$

Les cellules électrochimiques peuvent être formées par deux ou trois systèmes d'électrodes. Le système de deux électrodes est l'approche la plus simple pour étudier des caractéristiques entre le courant et la tension. Ce système est aussi utilisé dans les expériences où l'impédance peut être élevée comme dans le cas des cellules électrolytiques, galvaniques à grande échelle ou dans des expériences impliquant des solutions non aqueuses à faible conductivité.

Une cellule à trois électrodes est dans la plupart des cas préférables en recherche, car il permet d'utiliser une électrode de référence intégrée pourtant à l'échelle industrielle la géométrie à deux électrodes et la plus utilisée (électrodéposition, pile..). Le courant passe entre l'électrode de travail et la contre-électrode (auxiliaire), cette dernière est généralement choisie de sorte qu'elle ne produise pas de substances par électrolyse, qui peut provoquer des interférences sur l'électrode de travail [19].

Une nette séparation des charges peut être développée entre l'électrode et la solution, ce qui crée une différence de potentiel entre l'électrode et la surface. Le potentiel entre l'électrode et la surface est donné par l'équation 5. (la surface peut être un électrolyte solide ou liquide)

$$\Delta\phi_{m/s} = \phi_m - \phi_s \quad (5)$$

où, ϕ_m est le potentiel électrique à l'électrode, $\Delta\phi_{m/s}$ est le potentiel électrique de la solution.

Pour mesurer la différence de potentiel, l'introduction d'une deuxième électrode de référence est nécessaire, l'équation 6 peut s'écrire comme suit:

$$E = (\phi_m^{test} - \phi_{solution}) - (\phi_m^{reference} - \phi_{solution}) = (\phi_m^{test} - \phi_m^{ref}) \quad (6)$$

Un potentiel est appliqué à l'électrode de travail E pour provoquer un flux de courant dans la cellule électrochimique. La différence entre le potentiel E et le potentiel appliqué à l'électrode formelle E_0 est appelée la surtension (équation 7).

$$\eta = E - E_0 \quad (7)$$

où η est défini comme surtension, le courant i est défini par l'équation 8:

$$i = \oint nFj dA \quad (8)$$

où n est le nombre d'électrons transférés par mole de réactifs, F est la constante de Faraday, A est la surface de l'électrode et j est le flux des molécules électro actives atteignant la surface de l'électrode.

L'utilité de la définition d'une électrode de référence réside dans la possibilité de l'analyse qualitative des substances inconnues. En effet, chaque molécule électrochimique présente un potentiel spécifique d'oxydation ou de réduction par rapport à l'électrode de référence choisie.

Le courant mesuré défini à l'équation 5 est proportionnel à la surface de l'électrode utilisée. Ceci permet de déterminer la taille de l'électrode convenable pour l'analyse électrochimique.

1.4. Architecture de la cellule et placement des électrodes

L'un des principaux défis en électrochimie est de trouver la configuration et la géométrie optimales des électrodes à utiliser.

Plusieurs défis sont ainsi à relever. À titre d'exemple l'application d'un potentiel sur l'électrode de travail nécessite une électrode de référence stable avec un potentiel connu. L'électrode d'Ag/AgCl est la plus utilisée dans les cellules électrochimiques conventionnelles. Cependant l'intégration de ce type d'électrodes dans les architectures microfluidiques est difficile d'où l'utilisation des électrodes noble comme pseudo référence. Durant l'application du potentiel sur l'électrode de travail, un délai est nécessaire avant que l'électrode atteigne la tension appliquée; ceci est dû à la double couche qui limite le transfert de charge.

Ces problèmes peuvent être contournés d'au moins 2 façons :

- La résistance totale peut être réduite en augmentant la conductivité du milieu par une augmentation de la concentration de l'électrolyte qui transporte les molécules ou par

changement de la polarité du solvant, ou par une diminution de la viscosité, dans notre projet on a utilisé différentes molécules pour avoir une bonne conductivité ionique de la solution telle que le PBS et KOH.

- L'électrode de référence peut être placée le plus proche possible de l'électrode de travail. Dans le cadre de notre projet, on a utilisé une électrode d'or comme électrode pseudo-référence mobile de façon à ce qu'elle soit le plus proche des électrodes de travail.

1.5. Transport de la matière

L'application d'un potentiel sur les électrodes augmente les interactions entre l'électrode et le liquide à cause de la charge tenue à la surface de l'électrode.

La formation de la double couche électrique à la surface de l'électrode est le résultat de fortes interactions entre les molécules dans la solution. De nombreux travaux de recherche ont été effectués pour modéliser cette double couche telle que montrée à la figure 3 [17] [20].

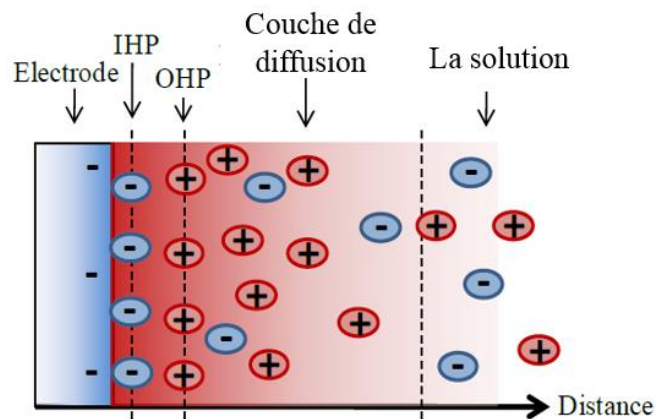


Figure 3: La double couche à la surface d'une électrode [20]

Les charges sont immobilisées sur la surface par complexation, adsorption ou par dissociation. Pour revenir à une interface neutre, les contre-ions se dirigent vers la surface grâce aux forces électrostatiques. Les contre-ions ne sont pas tous dans le même plan, cependant, ils sont maintenus dans un équilibre dynamique par attraction électrostatique et ils ont tendance à se diffuser dans la solution. La concentration d'ions dans la couche de diffusion diminue en s'éloignant de la surface, cette organisation est la base de la double couche électrique.

La double couche a une structure bien définie:

- Le plan intérieur Helmholtz (PHI) est la coupe du plan passant par le centre des molécules adsorbées.
- Le plan extérieur Helmholtz (OHP) est la coupe du plan passant par les contre-ions le plus proche de la surface de l'électrode.

Lorsque la réaction est limitée par le transport de masse, la vitesse de la réaction est contrôlée par le flux total (J) tel que montré à l'équation 9.

$$J(x, t) = - \frac{i}{zFA} \quad (9)$$

où $J(x, t)$ est le flux de molécules à la surface de la solution ($mol.cm^{-2}.s^{-1}$), i est le courant (A), z est le nombre d'électrons impliqués dans la réaction, F la constante de faraday et A la surface de l'électrode (cm^2).

Il existe trois formes de transport de masse qui peuvent influencer la cinétique d'une réaction électrochimique hétérogène : la diffusion, la convection et la migration.

1.5.1. Le transport par diffusion

La diffusion se produit dans toutes les solutions où il existe un gradient de concentration, les forces entropiques agissent pour égaliser la distribution de concentration [21]. La diffusion est la principale force motrice dans le procédé d'électrolyse vu que la réaction se produit uniquement à la surface de l'électrode et provoque ainsi une augmentation de la concentration à l'interface.

1.5.2. Le transport par convection

La convection est un processus par lequel un ensemble de molécules est transféré d'une partie d'un fluide à un autre par le mouvement du fluide lui-même. Ceci peut être réalisé par l'intermédiaire de pompe ou micro vibration [22]. Il existe deux formes de convection, la convection naturelle et la convection forcée. La convection naturelle est générée par un gradient de température ou de densité et elle agit de manière aléatoire.

Les phénomènes de convection forcée peuvent être obtenus par l'introduction artificielle des forces de convection, en utilisant un disque rotatif (figure 4), un agitateur magnétique (figure 5) ou par un flux laminaire dans une architecture microfluidique. Cette forme de convection élimine efficacement l'aspect aléatoire. Dans le cas d'un écoulement laminaire,

l'équation de transport unidimensionnelle de masse par convection est décrite par l'équation 10:

$$\frac{\partial C_0}{\partial t} = -vx \left(\frac{\partial C_0}{\partial x} \right) \quad (10)$$

vx est la vitesse de la solution et C_0 la concentration initiale.

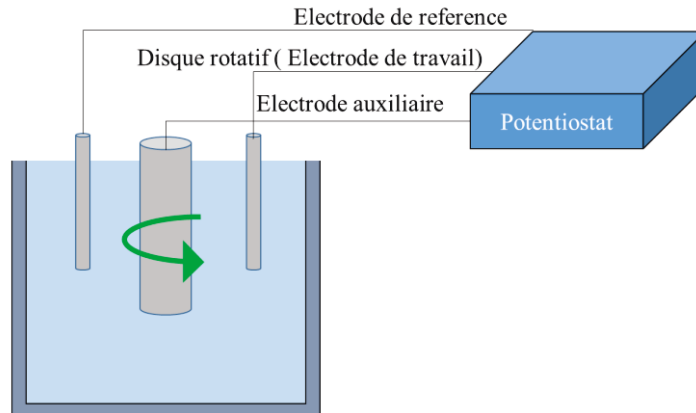


Figure 4: Un disque rotatif pour réaliser un transport convectif

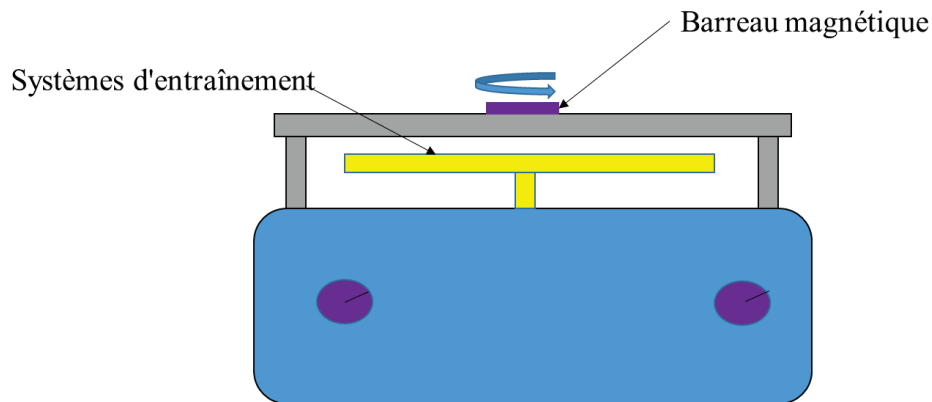


Figure 5: Un agitateur magnétique pour réaliser un transport convectif

Quand une cellule électrochimique est soumise à un régime de convection forcée, il faut tenir compte de la cinétique de diffusion et de convection.

Dans le cas du système proposé dans ce travail de recherche, on est en présence de 2 modes de transports: (1) par convection vue l'utilisation d'un canal microfluidique connecté à des pompes, et (2) par diffusion vue l'apparition d'un gradient de concentration à l'interface des électrodes. Ceci est confirmé par l'étude de la cinétique de diffusion du ferrocyanure à la surface des électrodes présentée au 3^e chapitre.

1.5.3. Le transport par migration (électrostatique)

La migration est essentiellement un effet électrostatique. Quand un potentiel est appliqué aux électrodes, l'interface se charge et toutes les molécules chargées près de cette interface peuvent être soit attirées ou repoussées par des forces électrostatiques. Toutefois, en raison des effets de solvation d'ions et les interactions de la couche de diffusion dans la solution, la migration est très difficile à calculer.

En tenant compte de ces trois processus, le taux de transport de masse est décrit par l'équation de Nernst-Planck à l'équation 11.

$$J(x, t) = \underbrace{-D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x}}_{\text{Diffusion}} - \underbrace{\frac{zFDC}{RT} \frac{\partial \theta(x,t)}{\partial x}}_{\text{Migration}} - \underbrace{C(x, t)V(x, t)}_{\text{Convection}} \quad (11)$$

où D est le coefficient de diffusion en $(m^2.s^{-1})$, T est la température en Kelvin, R est la constante des gaz parfaits, C est la concentration du réactif $(mol.L^{-1})$, V est la vitesse de la solution, $\frac{\partial \theta(x,t)}{\partial x}$ est le gradient de potentiel dans une solution et $\frac{\partial C(x,t)}{\partial x}$ est le gradient de concentration.

Telles que décrites à l'équation 8, les relations deviennent très complexes quand les trois processus ; la migration, la convection et la diffusion ; se produisent simultanément. Pour simplifier notre approche, un électrolyte fort est ajouté aux mélanges. De plus, la solution demeure sans aucune agitation ou sous un faible débit de sorte que la migration et les processus de convection peuvent être considérés comme négligeables en comparaison à la diffusion. La cinétique de la réaction est alors limitée par le processus de diffusion, en fonction des gradients de concentration, et l'équation 8 peut être simplifiée pour donner la première loi de Fick présentée à l'équation 12:

$$J(x, t) = -D \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \quad (12)$$

Le courant résultant d'une oxydation peut s'exprimer comme une fonction du gradient de la concentration en combinant les équations 1 et 3 telles que montrées à l'équation 13.

$$i = zFAD \frac{\partial C(x,t)}{\partial x} \quad (13)$$

1.6. La voltamétrie cyclique

La voltamétrie cyclique fait partie des techniques de balayage de potentiel utilisées pour étudier le comportement redox de composés, la cinétique de transfert d'électrons et les propriétés de transport des réactions d'électrolyse.

Le courant est mesuré comme une fonction linéaire du potentiel appliqué. Ceci permet une distinction qualitative des molécules électrochimiques, car chaque molécule s'oxyde et se réduit dans des potentiels bien définis. La mesure de courants permet de déduire la concentration des molécules électrochimiques dans les solutions.

Le courant résultant de l'application du potentiel est dû à l'apparition de réactions redox. Le courant qui en résulte est appelé courant faradique. La présentation graphique d'un cycle de voltamétrie consiste à tracer le courant en fonction du potentiel appliqué. La vitesse de balayage est définie comme la différence de potentiel appliquée par unité de temps en volt par seconde (V/s).

Dans le cas d'une réaction réversible, la molécule est successivement oxydée et réduite (ou vice versa). Un balayage de la tension est effectué en utilisant une forme triangulaire comme montrée à la figure 6.

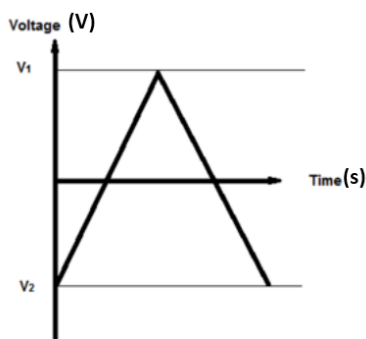


Figure 6: La forme triangulaire du potentiel appliquée sur les électrodes en fonction du temps [23].

Dans ce cas, la tension varie entre deux valeurs à un taux fixe, à partir de V_2 , lorsque la tension atteint V_1 le balayage est inversé pour retourner à la valeur V_2 . La vitesse de balayage tension de balayage (v) est calculé à partir de la pente de $V = f(t)$. La voltamétrie cyclique (dc) la plus utilisé pour étudier les réactions électrochimiques à l'interface des électrodes [10] [16]. L'utilisation d'une forme d'onde triangulaire à des électrodes fixes permet à la fois le contrôle des phénomènes d'oxydation et de réduction.

La voltamétrie cyclique est considéré comme une des meilleures méthodes électrochimiques pour étudier les mécanismes de transfert de charge. Une estimation directe de la réversibilité des électrodes est possible, parce que les potentiels auxquels l'oxydation et la réduction se produisent sont visibles [25]. Les avantages de cette méthode sont :

- La disponibilité de l'instrumentation avec des coûts raisonnables.
- La facilité de l'interprétation des résultats empiriques.
- L'exploitation des courants d'oxydation et de réductions obtenues des cycles de voltamétrie pour la détermination quantitative des molécules électrochimiques mis en jeux.
- La possibilité de faire une analyse qualitative des molécules électrochimiques.

Cependant, cette méthode a deux contraintes majeures qui sont:

- La détermination du mécanisme de transfert de charge de 2 molécules qui présente des potentiels d'oxydoréduction proche est difficile.
- Dans le cas d'une électrode qui présente une activité électrochimique faible ou une petite surface en contact avec la solution, la concentration de molécules électrochimiques doit être élevée pour avoir une réponse électrochimique. Cette contrainte ne reflète pas la faible sensibilité de la méthode d'analyse électrochimique, mais plutôt les propriétés de la structure de l'électrode. Il est nécessaire, de fonctionnaliser la surface de l'électrode et utiliser des surfaces nano structurées pour détecter des concentrations faibles.

Les expériences de CV sont réalisées en utilisant de grandes électrodes à l'échelle millimétrique. Dans ce cas précis, la diffusion à l'électrode est la principale réaction chimique ayant lieu. Le courant faradique observé dépend de la cinétique et du transport par diffusion de la molécule électro-active. Il est, ainsi, nécessaire de résoudre les équations décrites par la deuxième loi de diffusion de Fick (équation 14) :

$$\frac{\partial [O]}{\partial t} = D_0 \frac{\partial^2 [O]}{\partial x^2} \quad (14)$$

1.6.1. La voltamétrie cyclique avec les systèmes réversibles

Le système est décrit comme « réversible » lorsque la cinétique d'électrode est beaucoup plus rapide que la vitesse de diffusion des molécules.

La couche de diffusion à la surface d'une macro électrode est linéaire, le cycle du voltammogram montré dans la figure 7 et enregistré pendant une réaction réversible à la surface d'une macro électrodes. Un système réversible peut être caractérisé par :

- Le rapport des courants des pics à l'anode (I_{pa}) et à la cathode (I_{pc}) est égal à un 1 (équation 15) :

$$\left| \frac{I_{pa}}{I_{pc}} \right| = 1 \quad (15)$$

Les courants des CV sont proportionnels à la racine carrée de la vitesse de balayage $v^{1/2}$, tel qu'il est exprimé par l'équation 16 de Randles-Sevcik:

$$I_{pa} = 2,69 \times 10^5 z^{\frac{3}{2}} C A D^{\frac{1}{2}} v^{\frac{1}{2}} \quad (16)$$

où z est le nombre d'électrons échangés dans la réaction, F est de la constante de Faraday, C est la concentration apparente (mol/dm^3), A est la surface d'électrode (m^2), v est la vitesse de balayage (V/s), D est le coefficient de diffusion (m^2/s), R est la constante des gaz parfaits ($J/mol K$), T est la température en kelvin et I_p est le courant.

- Les potentiels de pics des molécules oxydées et réduites sont liés comme suit (équation 17):

$$E_p = (E_{pc} + E_{pa})/2 \quad (17)$$

Le potentiel de pic E_p est donné par l'équation 18:

$$E_p = E^0 - 1.109 \frac{RT}{nF} \quad (18)$$

Comme le cycle est large, le potentiel de pic peut être difficilement analysable. Par conséquent, il est parfois plus facile de déterminer le potentiel de demi-vague $E_{p/2}$ qui correspond au courant de demi-vague $I_{p/2}$. Par conséquent on obtient (équation 19):

$$\left| E_p - E_{p/2} \right| = 2.20 \frac{RT}{nF} \quad (19)$$

Les positions de pics sont indépendantes de la vitesse de balayage v et le courant de pic est proportionnel à $v^{1/2}$.

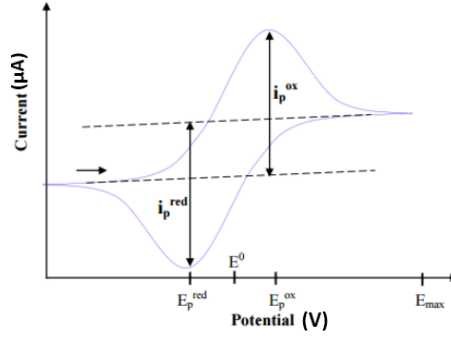


Figure 7: La courbe caractéristique présentant un CV réversible [26].

Dans notre projet, le ferricyanure se comporte comme un système réversible. Il présente un pic d'oxydation et un autre de réduction. De plus, le courant présente une linéarité avec la racine carrée de la vitesse de balayage.

1.6.2. Voltamétrie cyclique pour les systèmes irréversibles

Le système est décrit comme irréversible lorsque la cinétique de l'électrode est plus lente que la vitesse de diffusion.

L'équation 20 de Nernst pour un système irréversible s'écrit sous la forme suivante :

$$\frac{i}{FA} = D_0 \left[\frac{\partial C_0(x,t)}{\partial x} \right]_{x=0} = k_f(t) C_0(0, t) \quad (20)$$

où, k_f est la constante de la vitesse de la réduction, C_0 la concentration initiale, D_0 la constante de diffusion, i le courant, F la constant de faraday, et A la surface de l'électrode.

Dans les systèmes irréversibles présentés à la figure 8, le potentiel de pic apparaît à des potentiels plus élevés, au-delà d' E_0 . Par conséquent, une grande tension est requise pour aboutir à la réduction.

Le courant de pic pour les systèmes irréversibles est donné par l'équation 21:

$$i_p = (2.99 \times 10^5) \alpha^{1/2} A C_0 D_0^{1/2} v^{1/2} \quad (21)$$

où, A est la surface en cm^2 , D_0 est le coefficient de diffusion en $cm^2.s^{-1}$, C_0 est la concentration en $mol.cm^{-3}$, v est la vitesse de balayage en $V.s^{-1}$ et I_p est le courant de pic en (A).

Pour les systèmes irréversibles, le potentiel de crête est donné par l'équation 22 :

$$E_p = E^0 - \frac{RT}{\alpha F} \left[0.078 + \ln \left(\frac{D_0^{1/2}}{k_0} \right) + \ln \left(\frac{\alpha F v}{RT} \right)^{1/2} \right] \quad (22)$$

Par conséquent, pour un système totalement irréversible, E_p dépend de la vitesse de balayage.

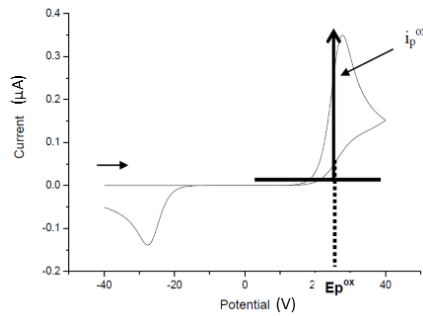


Figure 8: la courbe caractéristique présentant un CV irréversible [26].

1.7. La microfluidique

Le mouvement des fluides est fondamentalement décrit par les lois de conservation, spécifiquement la conservation de la masse, la conservation de la quantité de mouvement (deuxième loi de Newton) et la conservation de l'énergie (première loi de la thermodynamique), qui sont toutes basées sur la mécanique classique.

Les écoulements fluidiques laminaires dans le cadre de ce projet sont analysés en se basant sur l'hypothèse de continuité. Ceci signifie que, même si le liquide se compose de molécules individuelles, il peut être considéré comme un seul corps lors de l'analyse. Ainsi, la densité, la pression, la température et la vitesse varient de façon continue dans le corps du fluide d'un point à un autre. L'équation de Navier-Stokes décrit le mouvement des fluides. Ainsi, l'équation 23 est une équation différentielle du deuxième ordre [27].

L'équation s'écrit sous la forme suivante:

$$\rho[\partial_t v + (v \cdot \nabla)v] = \sum_j f_j \quad (23)$$

Avec :

v : La vitesse du fluide

$\sum_j f_j$: Forces extérieures

ρ : La densité du fluide.

Cette équation est utilisée dans le chapitre 3 pour réaliser la modélisation des paramètres de vitesse et de pression par élément fini en résolvant l'équation de Navier Stockes.

1.7.1. Nombre de Reynolds

Une grande partie de la complexité mathématique des phénomènes de dynamique des fluides peut être attribuée aux non-linéarités du terme $\rho(v \cdot \nabla)v$. Ce terme est également en grande partie responsable de l'absence de solutions analytiques générales de l'équation de Navier Stokes. Cependant, ce terme non linéaire peut être négligé dans les cas de vitesse d'écoulement faible (ce qui peut être très utile pour les systèmes microfluidique). Dans ce régime particulier, des solutions analytiques sont possibles.

Dans un régime laminaire, le système microfluidique étudié dépend du rapport entre la masse transportée par convection et la masse transportée par diffusion visqueuse. Cet équilibre est exprimé par le nombre de Reynolds (Re) dans l'équation 24.

$$Re = \frac{v\rho d}{\mu} \quad (24)$$

où d est dimension de la géométrie (m); μ est la viscosité ($Pa \cdot s$) et v est la vitesse moyenne (m/s).

La viscosité du liquide est élevée pour des petites valeurs de Re . Dans ces conditions, les écoulements turbulents ne sont plus importants, et on est en présence d'un écoulement laminaire[27].

1.7.2. Diffusion et mélange

La diffusion est le processus par lequel un groupe concentré de particules se déplace dans un volume en fonction du temps de façon à ce que la concentration moyenne est constante dans le volume traversé (figure 9). La diffusion peut être modélisée dans une dimension par l'équation 25 :

$$x^2 = 2Dt \quad (25)$$

où x est la distance de diffusion parcourue en (m) dans un temps t en (s), D est le coefficient de diffusion en (m^2/s).

La vitesse moyenne v_m (m/s) de déplacement du liquide peut être exprimé par le débit volumique Q (m^3/s), la surface de la coupe transversale du canal microfluidique A (m^2), la position y (m) et le temps t (s) par l'équation 26 :

$$\frac{Q}{A} = \frac{y_n}{t_n} = v_{moy} \quad (26)$$

La surface de la coupe transversale A (m^2) peut être exprimée en fonction de la largeur du canal w (m) et la hauteur h (m) par l'équation 27 :

$$A = w \times h \quad (27)$$

À partir des trois équations 25, 26 et 27 on peut déduire la distance de la couche de diffusion en fonction de la position y (équation 28):

$$x = \sqrt{2D \frac{A}{Q} y} \quad (28)$$

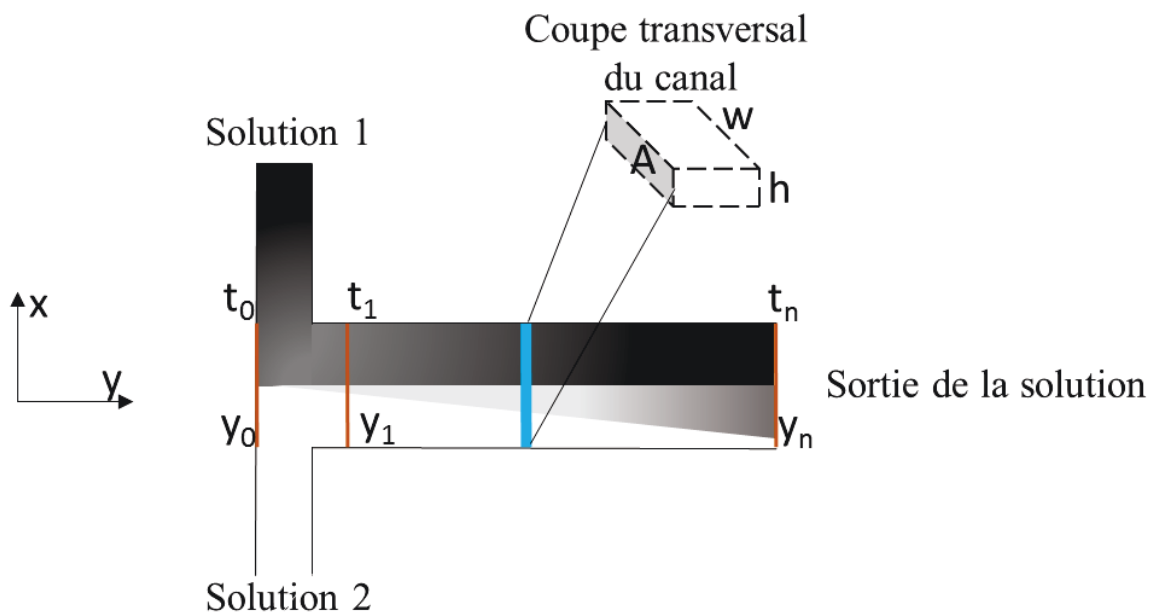


Figure 9 : La diffusion de la solution 1 dans la solution 2 au bas du canal microfluidique.

Le nombre de Péclet (équation 29) permet de distinguer les effets d'advections et les effets de diffusions entre deux liquides :

$$Pe = \frac{vd}{D} \quad (29)$$

où D est le coefficient de diffusion moléculaire (m^2/s), v est la vitesse de déplacement du fluide (m/s), d est la longueur caractéristique (m).

Lorsque ce nombre est relativement grand ceci signifie que ce sont les effets convectifs qui sont les plus dominants. Le phénomène de diffusion est largement utilisé en microfluidique.

En utilisant des canaux sous forme de (Y) ou sous forme de (T), ces deux géométries permettent une diffusion latérale au bas du canal.

1.8. Travaux antérieurs

Jusqu'à présent, trois principaux groupes de recherche se sont intéressés à des études détaillées de l'imagerie électrochimique en utilisant différents types de géométrie d'électrodes. Les résultats de leurs travaux en phase liquide sont rapportés dans le tableau 1.

Tableau 1 : Résumés des travaux effectués en imagerie électrochimique

Groupe	Nombre et dimension de la ME	Molécules étudiées	Encapsulation des électrodes	Mesures électrochimiques	Objectif de l'étude
groupe Andrew G. Ewing 2012	8 10-50 μm	ferrocène la dopamine	position directe sur les cellules	+voltamétrie cyclique + chrono potentiométrie	les images de libération de dopamine ont été obtenues en fonction du temps. Un total de 10 images est obtenu pendant 10 s.
groupe Michael D.Wardn 1999	64 (8x8) 1x1 mm^2	Ru (NH ₃) ₆ Cl ₂	Cylindre en plastique	+voltamétrie cyclique	modification des électrodes par des groupes de thiol afin de réaliser des images électrochimiques
groupe O.Niwa 2000	64 (8x8) 30x30 μm^2	H ₂ O ₂ L-Glutamate	cylindre en caoutchouc	chrono potentiométrie	présentation d'une image de la distribution de concentration à deux dimensions de L-glutamate. La solution est injectée par une aiguille.

ME : matrice d'électrodes

1.8.1. Travaux du groupe Andrew G. Ewing (2012) [28]

Ces travaux décrivent la fabrication de réseaux de microélectrodes de carbone, avec un maximum de 15 électrodes de dimension entre 10 à 50 μm [28]. Les contacts électriques des microélectrodes ont été réalisés en étirant plusieurs capillaires de quartz pour former des réseaux de capillaires creux avant le dépôt de carbone par pyrolyse. Les électrodes sont utilisées pour le contrôle électrochimique de l'exocytose de cellules PC12 simples.

- **Fabrication des électrodes**

Les électrodes sont formées par l'assemblage de 8 à 15 capillaires de silice fondue telle que montrée à la figure 10-a, de longueur 8 cm. Le carbone a été déposé par pyrolyse (figure 10-b). Les capillaires de silice sont introduits dans un tube conique. Le gap entre les capillaires est rempli par un époxy (Figure 10-c) et enfin la figure 10-d présente le résultat final après polissage. L'autre extrémité des capillaires est connectée individuellement à des fils en cuivre.

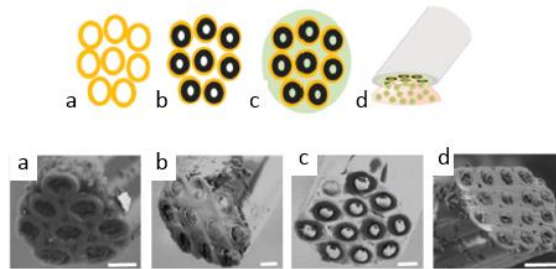


Figure 10 : Schéma et photo de MEB de : (a) capillaire de silice (b) dépôt de carbone sur les électrodes (c) remplissage des trous par de l'époxy et polissage des résidus. (d) La matrice d'électrodes en contact avec une cellule. [28]

- **Validation du système fabriqué**

Les électrodes ont été testées dans une solution de 1 *mM* d'hydroxyle méthyl de ferrocène (FcCH_2OH) dans 0,2 *M* KCl . La figure 20 présente les CV obtenus pour un système de 8 électrodes avec une vitesse de balayage de 20 *mV/s*.

Les électrodes peuvent mesurer des valeurs de courant entre 123 et 300 *pA* (figure 11).

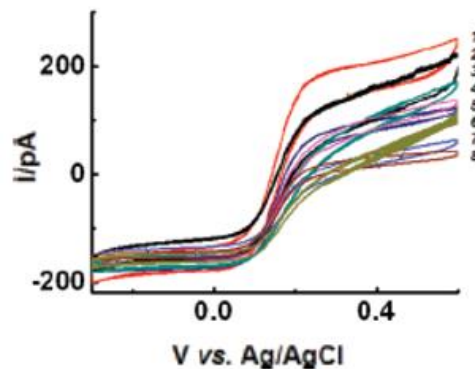


Figure 11 : CV de 0.1 *mM* de FcCH_2OH avec une vitesse de balayage de 20 *mV/s*. [28]

- **Imagerie électrochimique**

Tel que montré à la figure 12, un tube qui contient 8 microélectrodes à base de carbone a été utilisé pour mesurer la libération de la dopamine par une seule cellule de PC12 (phéochromocytome) sous excitation d'une solution de potassium (K^+) concentrée de 100 *mM*.

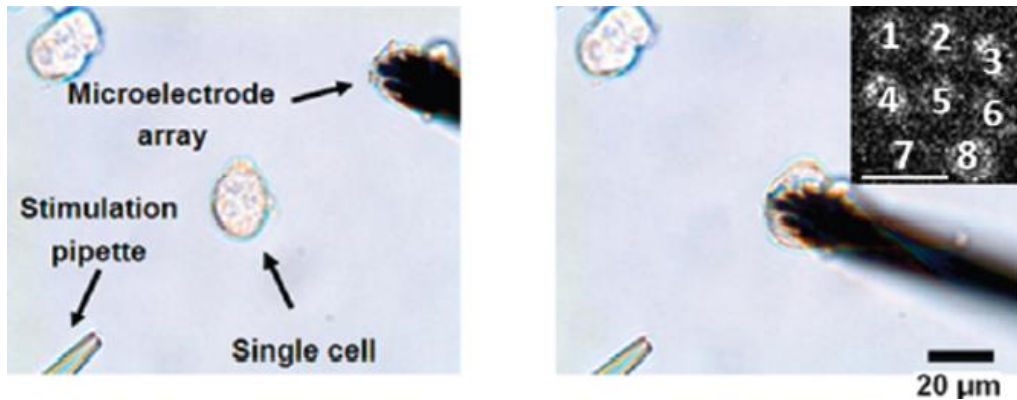


Figure 12 : Le tube contenant 8 microélectrodes de carbone en contact avec une cellule de PC12.[28]

Des mesures ampérométriques ont été réalisées après excitation de la PC12 et des images ont été prises après chaque 10 secondes. La figure13 présente la succession des images après 100 *s*.

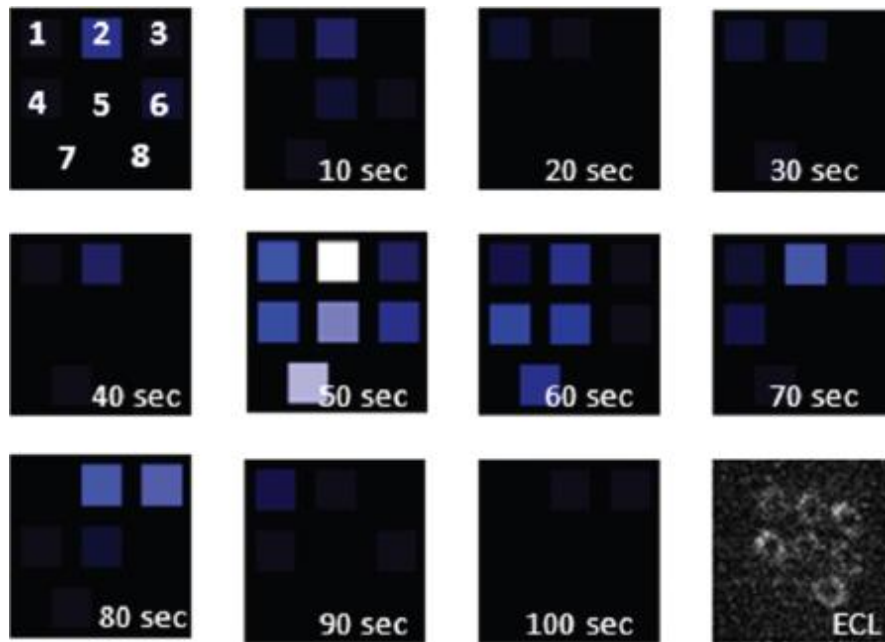


Figure 13 : Libération de la dopamine à chaque 10 seconds par les PC12. [28]

La figure 14 présente les dix images de la figure 13 groupées, l'axe des ordonnées présentes les électrodes de 1 à 8 et l'axe des abscisses c'est le temps.

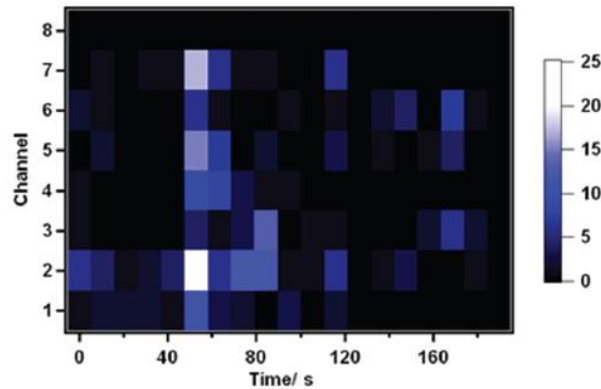


Figure 14 : Comportement des électrodes en fonction du temps. [28]

1.8.2. Travaux du groupe Michael D. Ward(1999) [29]

Dans ces travaux, les chercheurs ont utilisé une matrice de 64 électrodes pour représenter la distribution des substances électrochimiques en fonction de leurs réponses à des modifications de la surface des électrodes en Au [29].

- **Fabrication des électrodes**

Les électrodes sont fabriquées sur un substrat en verre de 100 mm de diamètre (figure 15-a). Le matériau utilisé pour les électrodes est de l'Or déposé par évaporation avec une épaisseur de 2000 Å.

La passivation des connexions est effectuée par un dépôt d'un diélectrique par évaporation, les électrodes ont une dimension rectangulaire de 1 mm x 1 mm.

Un multiplexeur a été développé pour contrôler séquentiellement les 64 électrodes (figure 15-b).

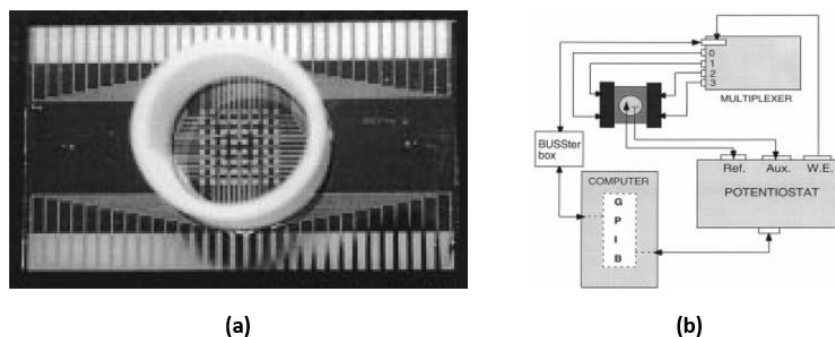


Figure 15 : (a) Matrice des 64 électrodes. (b) Un circuit qui connecte la matrice des électrodes, le potentiostat et le multiplexeur. [29]

- **Validation du système fabriqué**

Le temps nécessaire pour obtenir une image électrochimique avec les 64 électrodes est entre 2 h et 3 h dû à la vitesse de balayage du potentiel. Les courants collectés pour chaque électrode représentent les valeurs maximales des courants de pics et non les courants obtenus par le tracé de la tangente de la courbe des CV. Les courants anodiques et cathodiques ont respectivement une valeur moyenne de $1.4 \mu A$ et $1.94 \mu A$ avec un écart type respectivement de $0.1 \mu A$ et $0.09 \mu A$ ceci correspond à une calibration de toute la matrice en utilisant $1 mM$ de $Ru(NH_3)_6Cl_2$ dans $0.5 M KNO_3$ (système électro chimiquement réversible).

Les électrodes de la matrice ont été modifiées afin d'augmenter la résistance des électrodes de l'Or au transfert d'électron ce qui engendre des réponses de courant différentes.

La modification des électrodes a été effectuée par hexadécane thiol et hexanéthiol. Des études précédentes ont démontré que la fonction alcane thiol diminue la capacité de transfert de charge ce qui donne un courant d'oxydation ou de réduction moins importante. La figure 16 montre les 2 images obtenues par les courants anodiques et cathodiques collectés.

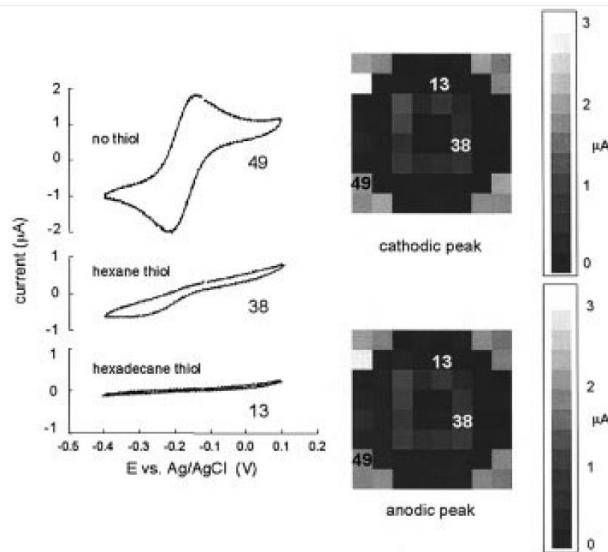


Figure 16 : À droite les images électrochimiques pour les courants anodiques et cathodiques, à gauche les cycles voltammograms. [29]

1.8.3. Travaux du groupe Osamu NIWA(2000) [30]

En 2000, K. Hayashi et al ont développé un procédé électrochimique de formation d'image en temps réel qui utilise des microélectrodes modifiées par des enzymes [30]. Le procédé permet l'étude des fonctions des matières biologiques et des cellules. Pour tester son efficacité, ils ont présenté l'image de la concentration à deux dimensions pour le peroxyde d'hydrogène et de L-glutamate. La matrice d'électrodes est constituée d'un réseau de 8 x 8 électrodes en carbone. Chaque électrode est reliée à un potentiostat de 64 canaux pouvant appliquer un potentiel à toutes les électrodes en même temps.

- **Fabrication des électrodes**

Les électrodes ont été fabriquées sur un substrat de verre, de diamètre 7.62 cm (figure 17-a). Le film de carbone a été ajouté par dépôt chimique en phase vapeur, combiné à la photolithographie et la gravure sèche avec un plasma d'oxygène. Chaque électrode est de 30 μm x 30 μm , et la distance entre deux électrodes est de 180 μm (centre à centre) tel que montré à la figure 17-b.

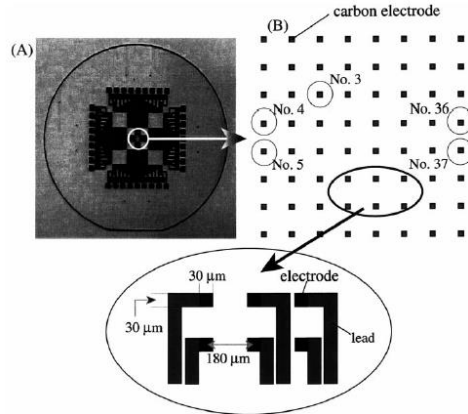


Figure 17. (a) Une photo des électrodes sur un substrat de verre et (b) la matrice des électrodes [30]

Un cylindre en caoutchouc avec un trou de 6 mm de diamètre a été positionné au centre de la plaquette pour contenir la matrice des électrodes, l'électrode de référence (un fil en argent) et l'électrode auxiliaire (un fil de platine) telle que montrée à la figure 18.

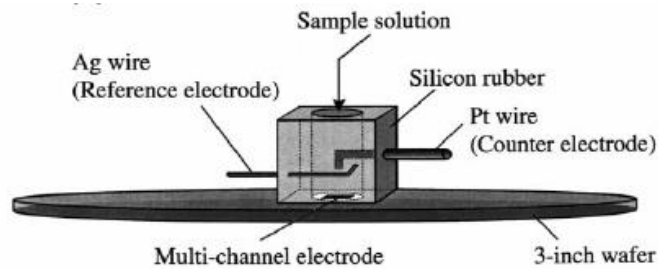


Figure 18 : Système électrochimique avec une matrice des électrodes sur un substrat de verre et un cylindre pour introduire la solution contenant les électrodes de référence et auxiliaire. [30]

- **Validation du système fabriqué**

Une solution de 1 mM aq-ferrocène a été utilisée pour valider la fonctionnalité du système fabriqué. La figure 19-a présente un CV à partir d'une électrode avec une vitesse de balayage de 100 mV/s. Le CV représente le courant limite de diffusion caractéristique des microélectrodes. Après détermination du potentiel d'oxydation pour chaque électrode, des mesures chronopotentiométriques ont été réalisées pour chaque électrode en maintenant le potentiel fixe à une valeur de 600 mV, la figure 19-b représente les courbes obtenues. Le courant demeure stable après 600 ms, la différence du courant de stabilité est dû au mécanisme de diffusion des molécules.

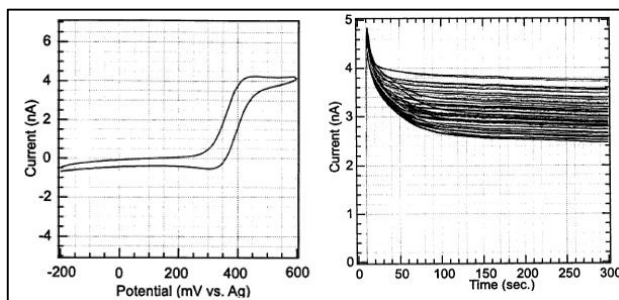


Figure 19 : (a) CV d'une électrode de carbone dans 1 *mM* de ferrocène avec une vitesse de balayage de 100 *mV/s* est (b) une courbe chronopotentiometrique à 600 *mV* pendant 300s. [30]

- **Imagerie électrochimique**

Une courbe de calibration a été effectuée entre 1 μM et 1 *mM* du glutamate (figure 20). L'électrode de carbone a été fonctionnalisée par un enzyme BSA-GluOx, pour la détection du glutamate. Le potentiel des électrodes a été fixé à -50 mV par rapport à l'électrode pseudo référence d'Ag.

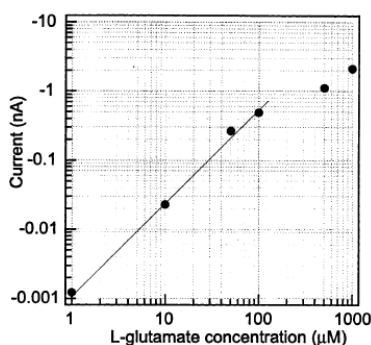


Figure 20 : Courbe de calibration du L-glutamate entre 1 μM et 1 *mM*. Les valeurs obtenues après une stabilisation du potentiel à -50 *mV/Ag* pendant 270 s. [30]

L'injection du glutamate (100 μM) est effectuée par des aiguilles pointues par effet capillaire. La vitesse d'injection était de 16 $\mu\text{l}/\text{min}$ (figure 21).

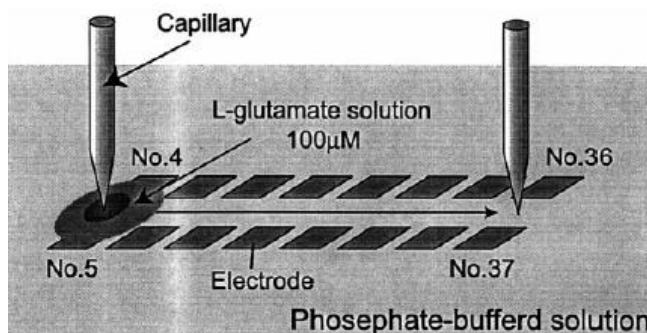


Figure 21 : Le système d'injection par effet capillaire. [30]

La figure 22 représente les images de la distribution de la concentration du glutamate en fonction des injections.

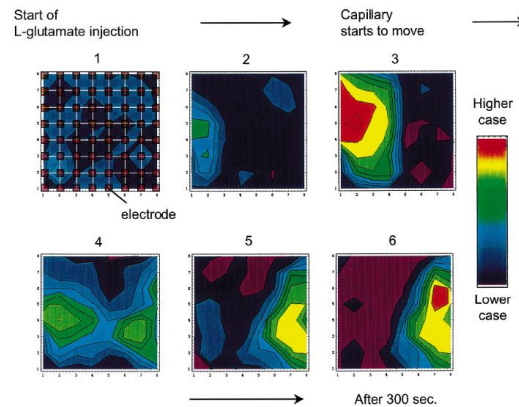


Figure 22 : Une image bidimensionnelle de la distribution de la concentration du glutamate. [30]

Le maximum de concentration du glutamate correspond à la position d'injection du glutamate, et la concentration diminue graduellement autour de la zone d'injection.

1.8.4. Travaux du groupe J.Greener et A.Miled (2015):

Ce projet est une poursuite des travaux réalisés auparavant dans notre groupe de recherche qui consiste à faire l'imagerie des biofilms dans des architectures microfluidiques par microscopie optique et l'analyse de l'activité électrochimique des neurotransmetteurs [31][32]. Ce travail consiste à introduire de l'imagerie électrochimique comme technique de caractérisation complémentaire à l'imagerie optique.

L'imagerie optique permet d'obtenir des informations sur la densité optique des molécules étudiées tandis que l'imagerie électrochimique permet un suivi temporel et précis de la variation de la concentration des molécules étudiée. Le système développé dans le cadre de ce projet consiste en une matrice de 200 électrodes sur un PCB. Les électrodes ont une dimension de $340 \mu m \times 340 \mu m$. Un canal microfluidique avec 3 entrées de réactifs a été collé sur la matrice des électrodes. Un multiplexeur a été développé pour le contrôle séquentiel des électrodes (figure 23). Les images électrochimiques sont représentées en fonction de la position des molécules et en fonction de la concentration. Ces images électrochimiques obtenues ont été validées par 2 autres techniques :

- La simulation par éléments finis avec COMSOL qui permet de visualiser la distribution des concentrations des molécules introduites dans le canal microfluidique en tenant compte des coefficients de diffusion des molécules et des conditions hydrodynamiques.
- Traitement des images optiques qui permet de distinguer la position des molécules électrochimiques à l'intérieur du canal afin d'identifier les électrodes fonctionnelles.

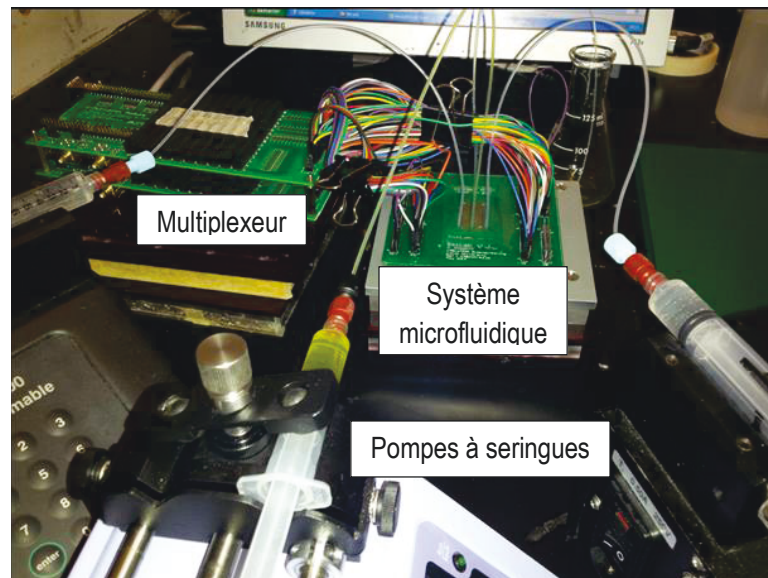


Figure 23 : Un canal microfluidique assemblé sur le circuit imprimé connecté avec un multiplexeur et des pompes à seringues

La figure 24-a présente un exemple des images électrochimiques obtenues avec 10 mM de ferrocyanure dans un canal microfluidique ainsi qu'une image microscopique (figure 24-b) et la simulation numérique (figure 24-c).

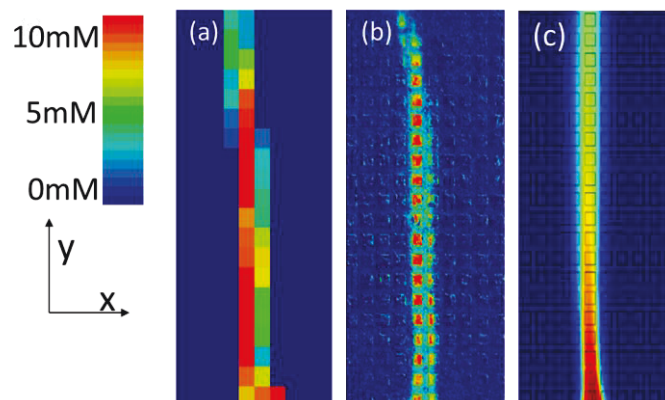


Figure 24 : (a) Image électrochimique (b) image microscopique et (c) simulation numérique obtenue dans la matrice microfluidique.

L'originalité de nos travaux de recherches consiste en :

- L'utilisation d'une large matrice d'électrodes 20 x10 (200 microélectrodes)
- L'utilisation d'un canal microfluidique pour un contrôle hydrodynamique autour des électrodes.
- Réalisation des images en fonction de la position des électrodes et la concentration de la molécule. Ceci permet d'obtenir des phases stationnaires pour mieux étudier les phénomènes de diffusion liquide.
- L'utilisation de la simulation numérique pour étudier le phénomène de diffusion pour la prédiction de la concentration des molécules autour des électrodes.

Chapitre 2

2. Matériels et méthodes

2.1. Matières chimiques

- Toutes les molécules chimiques utilisées dans ce projet sont fournies par sigma Aldrich, les dilutions se font en utilisant de l'eau ultra pure qui présente une résistivité de 18 $M\Omega$. Pour l'imagerie électrochimique la molécule de base qu'on a utilisée et le potassium hexacyanoferrate III, cette molécule est connue par son processus de transfert de charge rapide sur les surfaces des électrodes et c'est une molécule typique pour réaliser des CV à caractère rapide et réversible, d'autres molécules électrochimiques qui font partie de la famille des neurotransmetteurs ont été testées dans les électrodes fabriquées, le tableau 2 ci-dessous présente le nom, la formule chimique, la masse molaire, et l'électrolyte utilisés pour la préparation des solutions ainsi que les caractéristiques des supports électrolytiques utilisés.

Tableau 2: Caractéristiques des produits électrochimiques et support électrolytiques

Molécules électrochimiques	formule chimique	concentration (mM)	masse molaire (g/mol)	support électrolytique
Hexacyanoferrate(III)	$C_6FeK_3N_6$	2, 4, 6, 8 et 10	329.24	PBS+KOH 0.5 N
Hexaammineruthenium(III)	$Ru(NH_3)_6Cl_2$	5	273.15	PBS
Sérotonine	$C_{10}H_{12}N_2O$	12	176.21	PBS
Dopamine	$C_8H_{12}NO_2$	10	153.18	PBS
Acide urique	$C_5H_4N_4O_3$	15	168.11	PBS
Solutions d'électrolyte	formule chimique	Concentration (M)	Masse molaire (g/mol)	
PBS (Chlorure de sodium et chlorure de potassium)	NaCl	0.138	58.44	
	KCl	0.0027	74.55	
Hydroxyde de potassium	KOH	0.5	56,10	

- Les électrodes fabriquées sont déposées à partir de sels métalliques. Il y a quatre formulations utilisées pour fabriquer les électrodes dans ce projet. Le tableau 3 ci-dessous

présente la composition de chaque bain chimique, la formule chimique, la concentration, et la masse molaire.

Tableau 3: composition des bains chimiques pour la déposition des métaux

	La formule	Concentration (mol/l)	Masse molaire (g/mol)
Bain d'Ag (dépôt chimique)	AgNO ₃	0.3	169.87
	NH ₄ OH	0.66	35.04
	KOH	0.3	56.10
Bain de l'Au (dépôt chimique)	HAuCl ₄	1	339.78
	CH ₂ O	50 % en volume	30.03
Bain de Ni (dépôt électrochimique)	Ni (SO ₃ NH ₂) ₂ 4H ₂ O	1.23	322.92
	NiCl ₂ 6H ₂ O	0.08	129.60
	H ₃ BO ₃	0.48	61.83
Bain de l'Au (dépôt électrochimique)	HAuCl ₄	0.06	339.78
	Na ₂ SO ₃	0.42	126.04
	Na ₂ HPO ₄	0.03	141.96

- Les canaux microfluidiques sont formés par le PDMS (Polydimethylsiloxane), qui est un polymère dont la formule chimique est représentée sur la figure 25, le PDMS est sous la forme d'un liquide visqueux et transparent. Le fournisseur de ce polymère (PDMS) est « Dow microchemical sylgrad ». C'est une résine constituée de 2 parties, la résine de base nommée partie A et le durcisseur nommé parti B.

Le mélange entre la partie A et B se fait avec le rapport 10:1 respectivement.

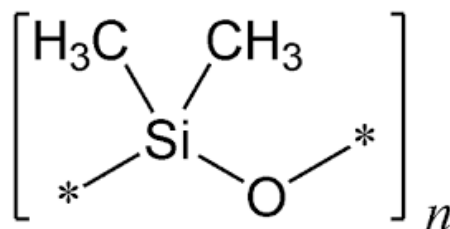


Figure 25: formule chimique du polydimethylsiloxane (PDMS).

2.2.Fabrication du moule du canal microfluidique

Le canal microfluidique est un canal qui permet de transporter les solutions à une échelle micrométrique. La géométrie d'un système microfluidique dans un régime à débit concentré est généralement déterminée par 4 paramètres : la longueur du canal central ($L=38 \text{ mm}$), la profondeur du canal ($l=12 \text{ mm}$), la hauteur du canal ($h=100 \mu\text{m}$) et l'angle d'intersection ($\alpha=56^\circ$) entre le canal central et le canal latéral dont l'une des dimensions doit absolument être inférieure à 1 mm. La figure 26 montre ces derniers paramètres dans le système microfluidique à trois entrées proposées.

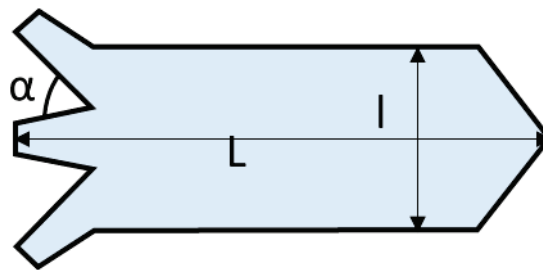


Figure 26 : Les dimensions critiques du canal microfluidique.

La fabrication de l'architecture microfluidique est réalisée avec une nouvelle technique avec un moule fabriqué dans notre laboratoire.

Pour cette fabrication on dépose 4 couches d'une résine photosensible sèche sur une lame de verre, l'irradiation du masque est effectuée par la lumière UV à travers un masque avec une haute résolution, le développement de la résine photosensible irradiée est effectué en utilisant 10 % de carbonates de sodium (figure 27).

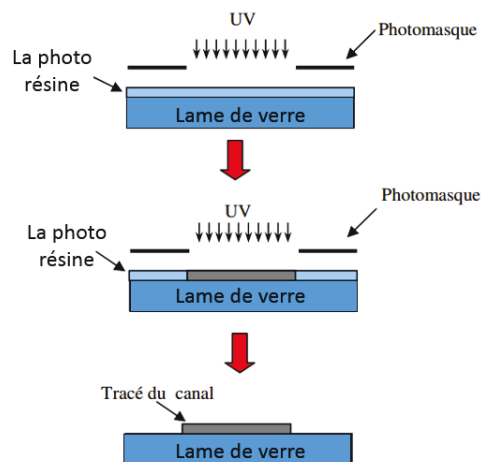


Figure 27: Les étapes de fabrication du moule

Une série d'expériences a été réalisée pour déterminer les dimensions optimales pour le design des canaux microfluidique. En utilisant cette technique, on a pu avoir des canaux de largeur $170\ \mu\text{m}$ (figure 28) avec une bonne définition.

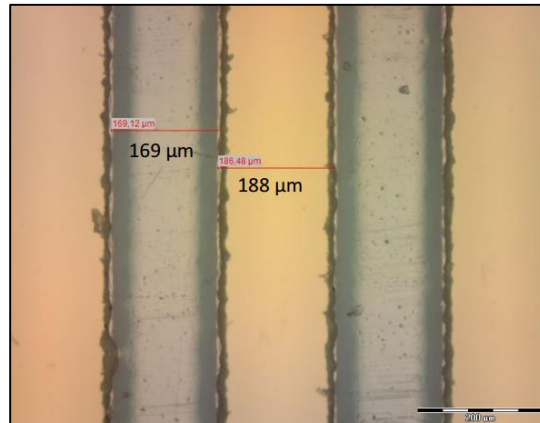


Figure 28 : Les limites de microfabrication de canaux microfluidique

2.3. Mesures électrochimiques (potentiostat et multiplexeur)

Les mesures électrochimiques ont été effectuées en utilisant un potentiostat (Versastat 4-500, Princeton, USA) il est contrôlé par logiciel (versa studio V 2.40.4, de Princeton, USA) figure 29.



Figure 29 : Potentiostat Versastat 4-500, Princeton

Ce potentiostat est utilisé pour réaliser les dépôts électrochimiques du Ni et de l'Au par chronoampérométrie en appliquons des potentiels de réductions cathodiques fixes, il est aussi utilisé pour réaliser la voltamétrie cyclique en appliquons un potentiel entre l'électrode de référence et l'électrode de travail et en mesurant le courant entre l'électrode de travail et l'électrode auxiliaire.

Vu l'utilisation d'une matrice d'électrodes dans notre projet, on a développé et fabriqué dans notre groupe de recherche deux modules de commande (multiplexeur). Les deux modules sont connectés au potentiostat via une connexion série RS232. Le premier multiplexeur permet de contrôler 8 électrodes, il est utilisé dans le test du premier prototype et le deuxième multiplexeur contrôle 80 électrodes (figure 30) ce contrôle est achevé en effectuons des mesures électrochimiques successives.



Figure 30 : Multiplexeur à 80 canaux de contrôles

2.4. Contrôle et traitement des images électrochimique

La figure 31 montre les éléments du système d'imagerie électrochimique, constitué par (a) le dispositif microfluidique et la matrice de microélectrodes(MME) intégrée (b) le système électronique et (c) un logiciel informatique. Un multiplexeur (MUX) est connecté à la MME via les connecteurs du PCB. Le processus d'acquisition de données est pris en charge par une interface qui contrôle aussi le potentiostat. Cette interface logicielle permet d'envoyer des commandes à partir des sorties du potentiostat TTL vers le multiplexeur. Celui-ci traduit le signal par un balayage successif des électrodes de travail un programme dans Matlab traite automatiquement les CV obtenus des 200 électrodes et affiche une image électrochimique 2D.

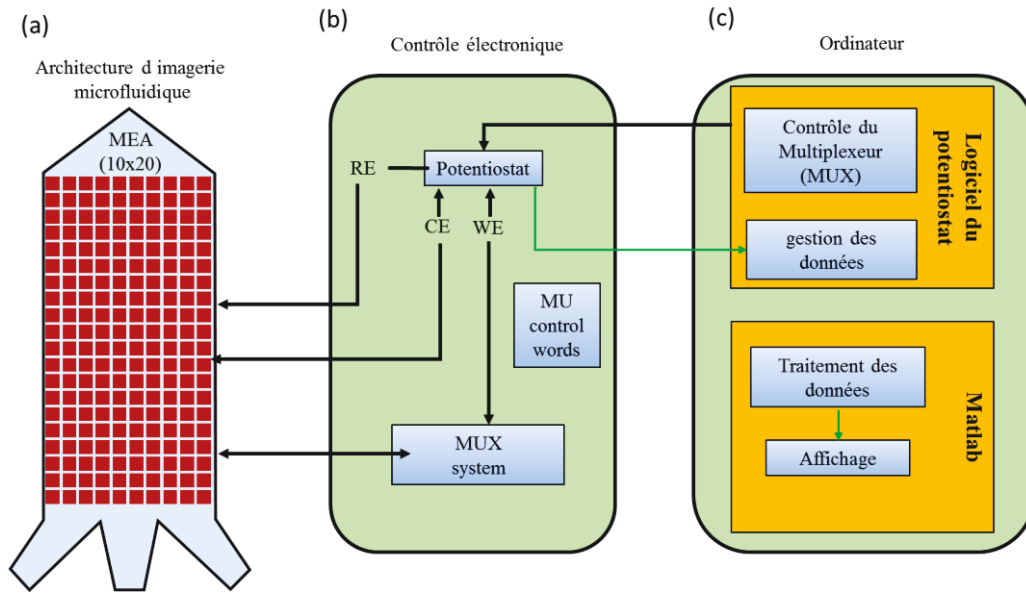


Figure 31: Les éléments fonctionnels de l'imagerie électrochimiques

2.5. Caractérisation par microscopie électronique à balayage MEB-EDX

La microscopie électronique à balayage (MEB) couplée à la microanalyse (EDS) est une technique de caractérisation des métaux. Le principe de cette analyse repose sur la focalisation d'un faisceau d'électrons primaire sur l'échantillon. Ce dernier produit des interactions rayon-matière et permet d'avoir plusieurs types d'électrons diffusés, absorbés et réfléchis.

Les électrons absorbés sont utilisés pour obtenir des images de la morphologie superficielle, tandis que les électrons Auger sont utilisés pour déterminer la composition de l'échantillon. On dispose d'un équipement MEB-EDX (Quanta-3D-FEG) qui permet d'avoir des résolutions de l'ordre de 1.2 nm et des grossissements jusqu'à 500.000 fois.

Chapitre 3

3. Résultats expérimentaux et discussion

3.1. Automated Electrode Array for In-Channel Electrochemical Detection

Adnane Kara^{1,2}, Amine Miled², Jesse Greener¹[32]

3.1.1. Résumé

Ce travail présente un dispositif microfluidique à faible coût avec des capacités de détection électrochimique dans un canal microfluidique. L'unité de détection est composée des électrodes de travail et une électrode pseudo-référence en Au et une contre-électrode en ITO réalisée sur un substrat de verre. Une solution de ferrocyanure / ferricyanure a été injectée à travers le canal microfluidique pour tester les capacités de détection en utilisant la voltamétrie cyclique (CV). Cette solution a été injectée avec une solution électro chimiquement inactive (l'eau ultra pure) dans le même canal. La position de l'interface entre la solution redox et la solution de l'eau ultra pure peut être modifiée par le rapport entre les débits volumétriques. La voltamétrie cyclique a permis la détection des molécules électro actives diffusées avec un courant de réduction de 150 *nA*.

3.1.2. Abstract

This work presents a low-cost microfluidic device with sensitive, in-channel electrochemical detection capabilities in microfluidic device. This is accomplished using in-channel gold microelectrodes. The detection unit is composed of (i) the working electrodes (WE) with (ii) a common pseudo-reference electrode (RE) in gold and (iii) a counter electrode (CE) made with indium tin oxide (ITO) on a glass substrate. A redox solution ferrocyanide/ferricyanide was flowed through the microfluidic channel in order to test sensing capabilities using cyclic voltammetry (CV). This solution was confined by an electrochemically inactive solution (ultra-pure water) in the same channel. The position of the interface between the redox solution and the confinement solution could be changed via the ratio between their volumetric flow rates. Cyclic voltammetry allowed the detection of electro active species with reduction current of 150 *nA*.

Keywords— Electrochemical imaging, microfluidic, gold electrodes, Cyclic voltammetry.

3.1.3. Introduction

Electrochemistry is a science that combines chemistry and electricity and describing chemical phenomena coupled with power exchanges. Electrochemistry applications can be for electro synthesis, environmental analysis and detection, corrosion, surface treatment, bio electrochemistry, storage and conversion of energy. It has been widely used in the field of microfluidic. Among first approaches to integrate electrochemistry in a microfluidic device glass-based substrate were used with standard lithographic and micromachining techniques [33-35]. Then, capillary electrophoresis chips made in glass substrate with integrated electrodes have been extensively used [36].

Microfluidic technology offered huge potentials for chemical processing and discovery because of the laminar flow properties and the manipulation of small liquid volumes[37]. The resulting highly controlled hydrodynamic environment, enabled the suppression of convective mixing which led to important advances in the field of multiphase flow of emulsions and co-flowing streams.

In this paper, we proposed, a fast and sensitive electrochemical technique of cyclic voltammetry (CV) used for the spatial visualization of the distribution of chemical species inside the micro channel. It is a new microfluidic device (MFD) with embedded reference (RE), working (WE) and counter (CE) electrodes to provide an automated electro--chemistry measurements using CV for a real time analysis of liquid flow.

In section II, describes the microfluidic fabrication steps and the automated control module for the acquisition of voltammetry cycles sequentially from the working electrodes. In section III used material are introduced and in section IV the results of scan rate, initial concentration of $K_3Fe(CN)_6$, and lateral imaging are presented.

3.1.4. Proposed System

Fig.30 shows the fabrication steps of the microfluidic device (MFD). The pattern from a silicon master mould with photoresist features (Fig.32 a) was transferred to polydimethylsiloxane (PDMS) by casting over the mould (Fig. 32 b) and curing at 70°C for 4 hours. After separation from the mould (Fig. 32c), two fluidic inputs were fabricated. A first input was used for the ferrocyanide/ferricyanide solution and a second one for the ultra-pure water. An outlet was located at the end of the micro channel. The PDMS channel was

bonded to a glass substrate using O₂ plasma process; the glass substrate had been previously patterned to include an ITO CE using wet etching through a mask (Fig.32 d). The MFD includes a 400 μm -Depth micro channel with 2 mm width and 38 mm length. Six gold microelectrodes were embedded in the micro channel, which were used as WE. A seventh one was used as RE as shown in (Fig 32 e).

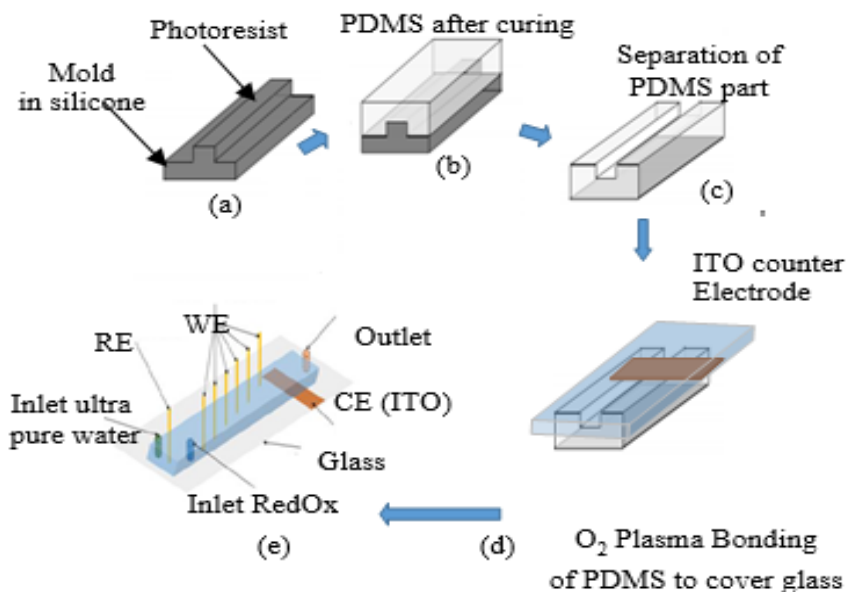


Figure 32 : Fabrication process of the microfluidic device.

The electrochemical measurements were performed using a potentiostat (Versastat 4-500, Princeton Scientific Research, USA) and controlled by software (Versa studio V 2.40.4, Princeton Scientific Research, USA). A voltage ramp applied on one selected WE initiated the CV redox-reactions in the solution phase leading to a detected current. Peak anodic and cathodic currents that are generated during the cycles are proportional to the concentration of the electro active analytes and the surface area of the electrodes.

The designed control module, shown in Fig. 33, is made by a multiplexer module connected to the potentiostat through a serial RS232 connection. The multiplexer is synchronized with acquisition module in order to enable each electrode individually. The control module can monitor up to 8 electrodes and it can be extended to a larger number by daisy chaining several modules together.

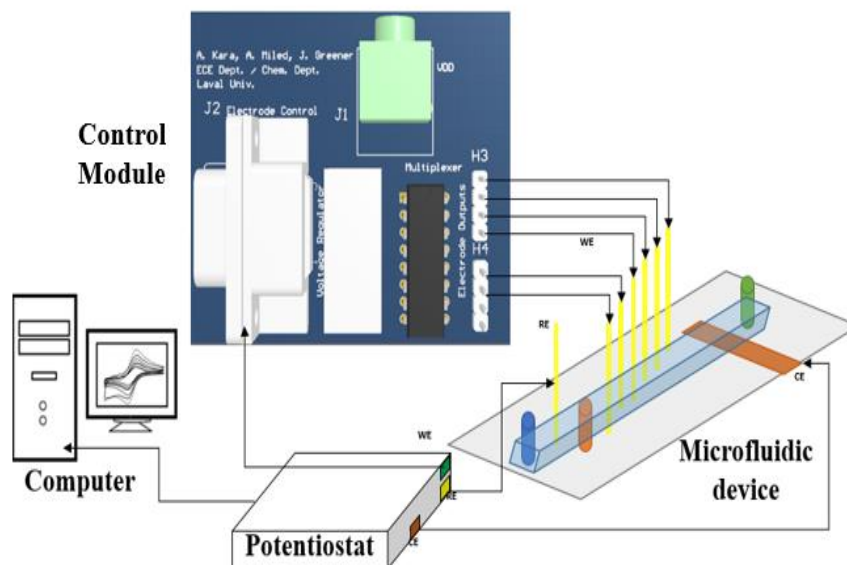


Figure 33 : Proposed system inter-connection between MFD, potentiostat and control module.

3.1.5. Materials and Equipment

Potassium hexacyanoferrate (III), $K_3Fe(CN)_6$ (~99.0), KOH and KNO_3 (Sigma-Aldrich, MO, USA) were used without any further purification. The $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$, KOH 0.5 M and KNO_3 0.5 M solutions was prepared by dissolving the appropriate amounts aqueous solutions. It was prepared immediately before the electrochemical experiments with ultra-pure water (18 $M\Omega/cm$). Other materials including PDMS (Sylgard 184, Dow Corning, MI, USA), silicon master moulds (FlowJEM, ON, Canada) gold header pins, potassium hexacyanoferrate (III), $K_3Fe(CN)_6$ (1001572966 Sigma-Aldrich Co. LLC), potassium hydroxide KOH (10016663715), potassium nitrate KNO_3 (1001639701) both from Sigma-Aldrich, MO, USA, ITO (Diamond coating, UK). Fluidic pumping was achieved using syringe pumps (NE-300, New Era Pumps System, NY, USA).

3.1.6. Experimental Results

Fig. 34 shows CV cycles obtained in the proposed MFD with six electrodes using the multiplexing circuit. A solution of 6 mM of $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ was used to obtain the CV cycles.

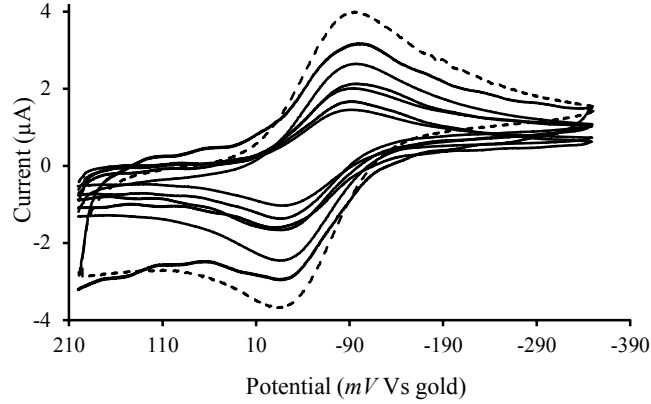


Figure 34: CV curves obtained with 6mM of ferrocyanide from the microfluidic channel (solid lines) and from a standard electrolytic cell (dashed line). Data was acquired at a scan rate of 100 mV/s using 0.5 M KNO_3 , 0.5 M KOH as supporting electrolyte.

Results are compared with the curve obtained by using a system of electrolysis. Table 4 shows the values of obtained redox potentials.

Obtained cyclic voltammogram curves showed average values of anodic and cathodic potentials of 15.4 \pm 3 mV and -94.8 \pm 3 mV , (Table 4) respectively. Fig. 32 shows the CV curves difference on the measured current that is mainly related to the surface area of each electrode, which is in contact with the ferrocyanide/ferricyanide solution.

Tableau 4: measured anodic and cathodic potentials on the micro fluidic device for the 6 electrodes and the electrolysis cell.

Electrode number	Elec. Cell*	MFD					
		1	2	3	4	5	6
Anodic potential (mV)	-17.4	-14.8	-17.6	-17	-13.6	-11.9	-15.4
Cathodic potential (mV)	-95.6	-96.7	-92.3	-93.6	-96.9	-91.5	-97.2

*Electrolysis Cell

Fig. 35 shows cyclic voltammogram curves with an 8 mM potassium ferrocyanide solution at scan rates of 50 mV/s , 100 mV/s , 200 mV/s , 300 mV/s and 400 mV/s . Both potential peaks anodic and cathodic were shifted with increasing scan rates, resulting in a larger voltage separation as shown in (1) between the current peaks for higher scan rates, suggesting a quasi-reversible behavior.

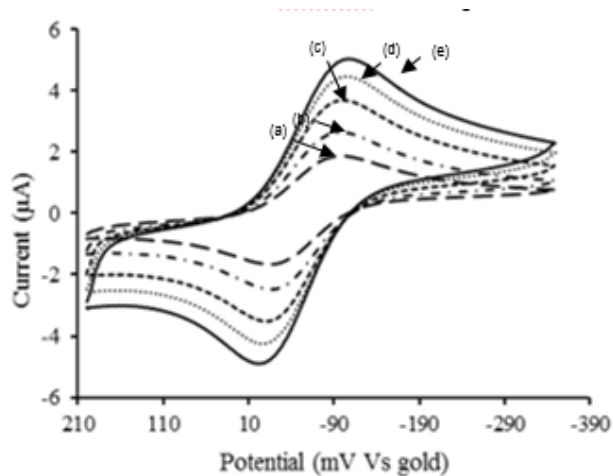


Figure 35 : CV curves with 8 *mM* potassium ferrocyanide in 0.5 *N* KNO₃ and 0.5 *N* KOH at scan rates (a) 50 *mV/s*, (b) 100 *mV/s*, (c) 200 *mV/s*, (d) 300 *mV/s* and (e) 400 *mV/s*.

As shown in Table 5, in all cases voltage separation is greater than the theoretical voltage separation, which is 58 *mV*, for a reversible one electron- transfer ($n=1$) [38]. Voltage separation differences ΔE_p (Equation 30) may be related to the fact that the anodic and cathodic reaction of $K_3Fe(CN)_6/K_4Fe(CN)_6$ at the gold electrode is not completely reversible due to electrode surface roughness and possible surface modification for all the scan rates.

$$\Delta E_p = E_a - E_c \quad (30)$$

where E_c is the cathodic potential, E_a is the anodic potential, and ΔE_p is the voltage separation between the anodic and cathodic current peaks.

Tableau 5: E_a , E_c , ΔE_p , I_a , I_c and I_a/I_c values versus the scan rate

Scan rate (<i>mV/s</i>)	E_a (<i>mV</i>)	E_c (<i>mV</i>)	ΔE_p (<i>mV</i>)	I_a (μA)	I_c (μA)	I_a/I_c
50	-95.3	-16.5	-78.8	-1.67	1.87	0.89
100	-97.5	-15.4	-82.0	-2.45	2.63	0.93
200	-101.5	-9	-92.4	-3.51	3.64	1.01
300	-103.3	-7	-96.3	-4.26	4.49	0.94
400	-107.3	-2.1	-105.1	-4.91	5.02	0.97

E_a : Anodic Potential, E_c : Cathodic Potential, I_a : Anodic current, I_c : Cathodic Current.

The peak current ratio (I_a/I_c) is close to 1 as shown in Table 5, which means that no side reaction is taking place. The kinetics of electron transfer is sufficiently rapid to maintain the surface concentration of redox-active species at the values required by Nernst equation. The amplitude of peak of CV curves also increased linearly with the square root of the scan rate as shown in Fig. 36. The linearity of the plot and presence of well-defined peaks is closely related to the fact that the electrochemical process is controlled by the diffusion of electro active species according to (18) given by Randles-Sevcik equation 31 [39].

$$i_p = 2.69 \times 10^5 n^{3/2} A C D^{1/2} v^{1/2} \quad (31)$$

Where i_p is the maximum current, n is number of electrons transferred in the redox event, i.e. 1 in the present case; A is electrode area (cm^2), F is The Faraday constant ($C mol^{-1}$); D is diffusion coefficient ($cm^2 s^{-1}$), C is concentration ($mol cm^{-3}$) and v is scan rate (Vs^{-1}). The same linear behaviour was observed for all in-channel electrodes.

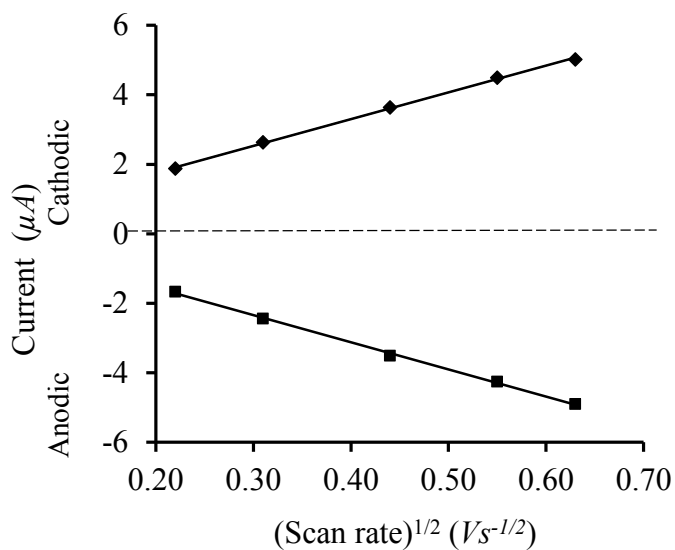


Figure 36: Anodic and cathodic current peak height as the function of square root of the scan rates from for 8 mM potassium ferrocyanide solution in 0.5 M KNO₃ and 0.5 M KOH.

To analyse the effect of initial concentration, CV curves were recorded at 3 K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ concentrations which are 2, 4 and 8 mM as shown in Fig. 37. Both the anodic and cathodic peak currents increased linearly with increasing concentration of K₃Fe(CN)₆/K₄Fe(CN)₆ as shown in Fig. 38.

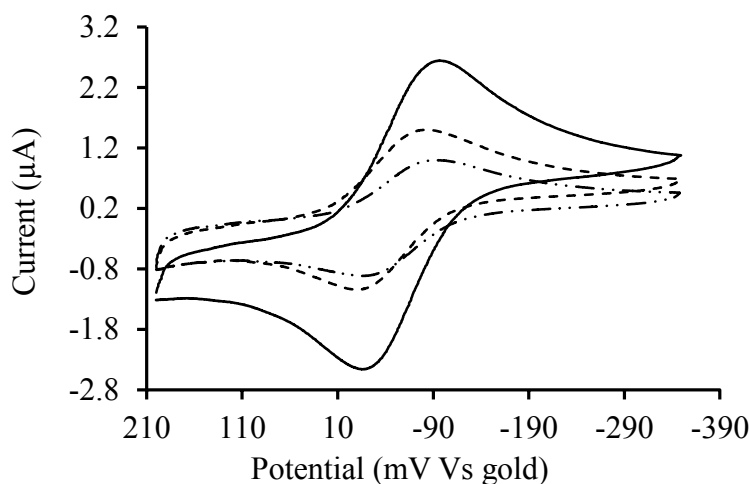


Figure 37: CV curves showing the variation of initial concentration of $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6/\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ 2, 4 and 8mM in 0.5 M KNO_3 and 0.5 M KOH at scan rates of 100 mV s^{-1} (V vs. Au electrode).

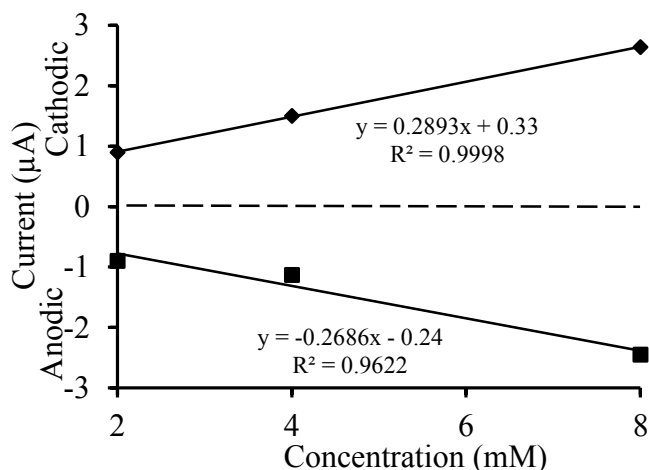


Figure 38: The anodic and cathodic peak height as the function of concentration of potassium ferrocyanide (2,4 and 8 mM) in 0.5 M KNO_3 and 0.5 M KOH .

An increase in current of cyclic voltammogram curves was observed when we replaced the flow of ultra-pure water solution with the $\text{Fe}(\text{CN})_6^{3-}/\text{Fe}(\text{CN})_6^{4-}$ redox solution. A decrease in current was observed when the solutions were switched back to pure water. Fig. 39 shows 1 cycle of current rise/fall. For solution switching, the flow rate used is 1 ml/h for redox and ultra-pure water. The rise and fall times Δt_r and Δt_f are set to 20 s and 35 s, respectively. A second curve was acquired for the same on/off experiment but at a higher scan rate 300 mV/s compared to 100 mV/s shown at Fig. 39 with no evident differences in Δt_r and Δt_f . Previous observation lead to the fact that the behavior of the system was not limited by the electronic sensing method, but by the flow characteristics.

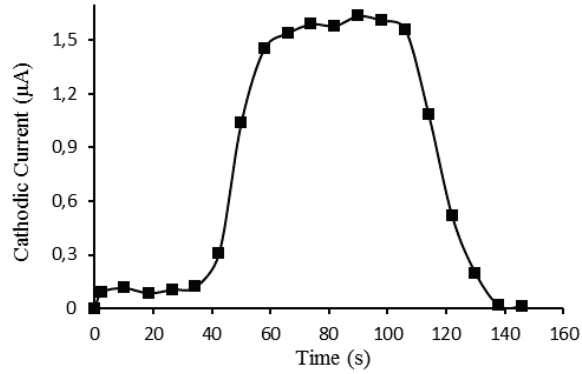


Figure 39: Cathodic current as the function of time during on/off flowing of the redox solution of 4 *mM* ferrocyanide at scan rate of 100 *mV/s*

Δt_r are set to 20 *s* and 35 *s*, respectively. A second curve was acquired for the same on/off experiment but at a higher scan rate 300 *mV/s* compared to 100 *mV/s* shown at Fig. 37 with no evident differences in Δt_r and Δt_f . Previous observation lead to the fact that the behavior of the system was not limited by the electronic sensing method, but by the flow characteristics.

Volumetric flow rates were adjusted to move the interface between redox solution/ultra-pure water as shown in Table 6. The flow of the ultra-pure water was maintained at $Q_w=0.3$ *ml/hr*, while the flow rate of ferrocyanide (Q_{Fe}) was tuned. The flow rate ratio (R) is defined in equation (32).

$$R=Q_{Fe}/(Q_{Fe}+Q_w) \quad (32)$$

Tableau 6: flow rate of redox solution and ultra-pure water

Red/Ox Flow rate (<i>ml/h</i>), Q_{Fe}	0.10	0.15	0.20	0.30	0.30
Ultra-pure water Flow rate (<i>ml/h</i>), Q_w	0.30	0.30	0.30	0.30	0.00
Ratio (R), $Q_{Fe}/(Q_{Fe}+Q_w)$	0.25	0.33	0.40	0.50	1.00

We monitored the cathodic peak current at 5 different electrodes (Fig.38) while the 6th electrode was kept as a back-up, as we changed the ratio R . In-channel positions of electrode 1, 2, 3, 4 and 5 were (125 μm , 4000 μm), (360 μm , 6500 μm), (990 μm , 9000 μm), (1550 μm , 11 500 μm) and (1980 μm , 14 000 μm), respectively. This allowed the individual measurements of the CV peak current, and therefore the analyte concentration, at different locations across the channel cross-section. Preliminary results demonstrated the proof of concept of the proposed MFD, though the different electrode position in the *y*-direction, co-

linear to the measurement channel, resulted in a complicated relationship between CV current and the flow rates, because the diffusion times were different for each electrode. Fig. 40 shows the normalized cathodic current detected by CV versus the ratio of the flow rate of each WE. Normalized value was obtained by dividing the measured current for different flow ratios R by the current for R=1 with pure analyte.

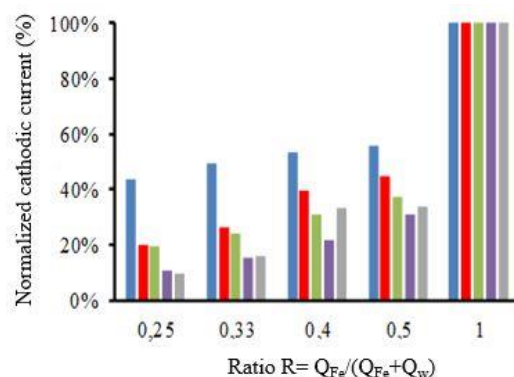


Figure 40: Normalized cathodic Current (%) versus the ratio rate for: Electrode 1 (blue), Electrode 2 (purple), Electrode 3 (green) Electrode 4 (red), Electrode 5 (gray). Scan rate used is 100 mV/s, and 4 mM redox solution of ferrocyanide.

3.1.7. Conclusion

Future work includes electrode spacing along the x-axis while keeping the y position constant to ensure that diffusion time is the same for all measurements. In addition, switching the confinement solution to one, which differs only from the redox analyte solution by the concentration of ferrocyanide, but contains the same support molecules, will reduce co-diffusion of analyte molecules, thereby preserving the boundary between the confinement and template streams for longer distances down the channel. Finally, smaller micro fabricated electrodes, with higher placement density in the channel and sufficient computer-controlled multiplexer will be developed for higher resolution electrochemical imaging.

3.1.8. Acknowledgment

The authors acknowledge the financial support from National Sciences and Engineering Research Council of Canada and “Fonds de recherche du Québec–Nature et technologies”, also Muhammad Safdar for his scientific support to this project.

3.2. Imagerie électrochimique dans une matrice d'électrodes planaires

Dans ce projet de recherche nous avons réalisé une matrice d'électrodes planaires 20x10, Pour atteindre nos objectifs nous avons d'abord procédé avec des simulations par élément fini en utilisant COMSOL par la suite un traitement d'images en utilisant un logiciel de traitement d'images « Image J ». Enfin, une analyse des données et extractions des paramètres critiques de la voltamétrie cyclique pour obtenir des images électrochimiques.

3.2.1. Modélisation numérique

L'étude du transport de masse au voisinage des électrodes nécessite un développement théorique important basé sur la résolution des équations de transport suivant les géométries considérées par éléments finis [40]. Cette méthode d'analyse numérique permet de résoudre des équations aux dérivées partielles (comme l'équation de Navier-Stokes et la loi de Fick), ce qui permet une représentation analytique des phénomènes dynamiques et des gradients de concentration. Elle repose sur l'utilisation des conditions aux limites permettant l'obtention d'une approximation de la solution de l'équation étudiée. Cette étude peut être réalisée à l'état stationnaire ou bien en régime dynamique afin de mesurer, par exemple, une vitesse d'écoulement, une concentration locale ou encore pour suivre des cinétiques de réactions. L'enjeu essentiel est d'optimiser la résolution spatiale et temporelle de la réponse des électrodes tout en tenant compte des limitations de l'électrochimie comme la surface des électrodes réelles et la largeur de la couche de diffusion. Le système qui comprend un microcanal et une ou plusieurs électrodes peut être décrit suivant un modèle à trois dimensions. Cependant, pour des configurations géométriques particulières du canal et/ou des électrodes, des approximations sont généralement effectuées afin de simplifier le système en un modèle à deux dimensions. La géométrie du dispositif est représentée à la figure 41 avec trois entrées. Le design a été réalisé avec Autocad.

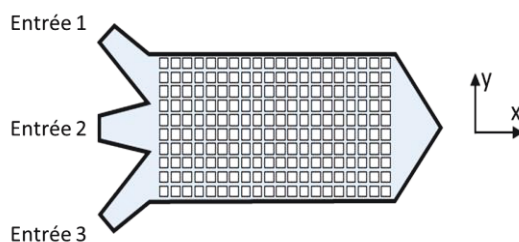


Figure 41 : La géométrie du canal microfluidique à trois entrées

La conception vise à maintenir un champ d'écoulement laminaire lorsque les 3 solutions sont introduites. Pour ce type de modélisation, il faut résoudre 2 équations :

- Navier Stockes :

La résolution de l'équation 33 et 34 de Navier stockes pour un écoulement laminaire est effectuée en sélectionnant le mode « Creeping flow (spf) » dans COMSOL.

$$\nabla \cdot (-pI + \mu(\nabla u + (\nabla u)^T)) = 0 \quad (33)$$

$$\nabla \cdot u = 0 \quad (34)$$

où la vitesse d'écoulement u est en (m/s) et p la pression en Pa . La résolution de cette équation en tout point du canal permet de déterminer la vitesse et la pression.

- Équation de Loi de Fick :

La résolution de la loi de Fick (équation 35) permet de définir le mode de transport de la matière à l'intérieur du canal en tenant compte du coefficient de diffusion. Ceci s'effectue en sélectionnant le mode « Transport of diluted solution (tds) » dans COMSOL.

$$-\nabla \cdot (-D\nabla c + cu) = 0 \quad (35)$$

où c la concentration de la molécule étudiée en (mol/m^3) , u la vitesse en (m/s) , D le coefficient de diffusion de la molécules (m^2/s) .

La résolution des deux équations dans les conditions déterminées permet de déterminer le profil de la concentration à l'intérieur du canal microfluidique. Ainsi, le tableau 7 résume les paramètres initiaux utilisés dans la modélisation.

Tableau 7: Les conditions initiales de la modélisation

	Le débit d'écoulement (m^3/s)		Concentration (mM)
	débit rapide	débit lent	
Entrée 1 (PBS)	1.11 e^{-10}	1.11 e^{-11}	0
Entrée 2 (FeCy)			8
Entrée 3(PBS)			0
Coefficient de diffusion (m^2/s)	7.6 e^{-10}		

Les figures 42-a et 42-b présentent la distribution de la pression et de la vitesse dans le cas d'un transport à fort débit $1.11 \text{ e}^{-10} \text{ (m}^3/\text{s)}$.

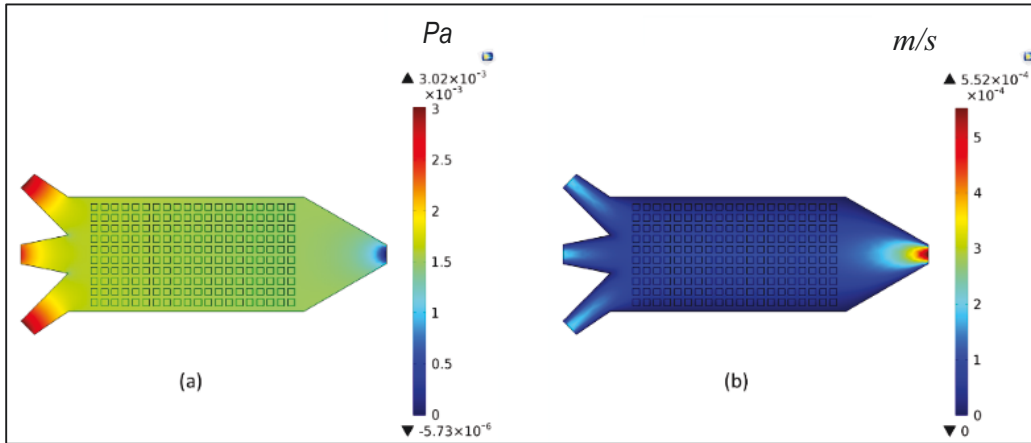


Figure 42 : (a) La distribution de la pression. (b) La distribution de la vitesse dans le cas d'un débit fort

La figure 43 présente le résultat de la simulation et la résolution de l'équation de Navier-Stokes. Les figures 43-a et 43-b présentent la distribution de la pression et la vitesse dans le cas d'un débit lent.

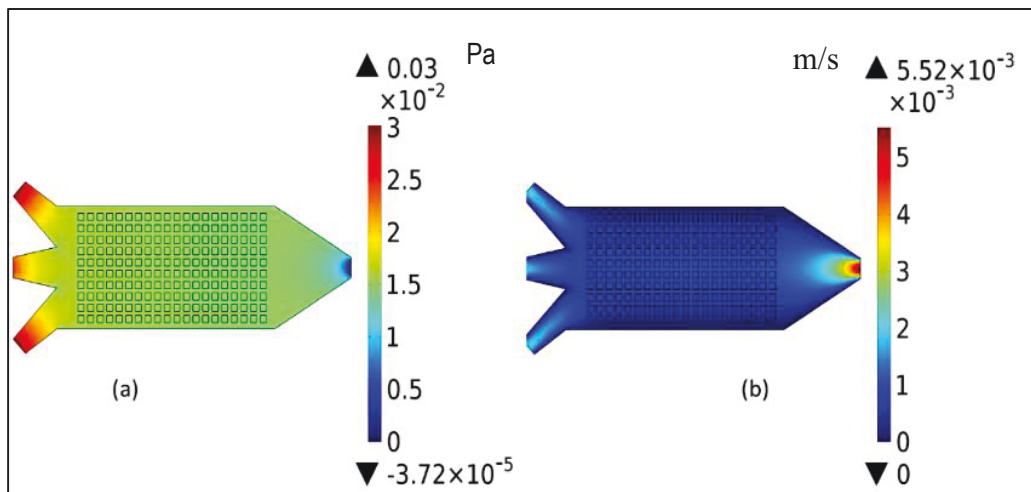


Figure 43 : (a) La distribution de la pression. (b) La distribution de la vitesse dans le cas d'un débit lent

Une étude unidimensionnelle de la distribution de la vitesse a été effectuée selon l'axe x et y.

a) Étude de la variation de la vitesse selon l'axe x

On constate que la vitesse selon x (figure 44) est invariable et elle demeure stable (entre 5 et 25 mm) pour les débits lent ou fort.

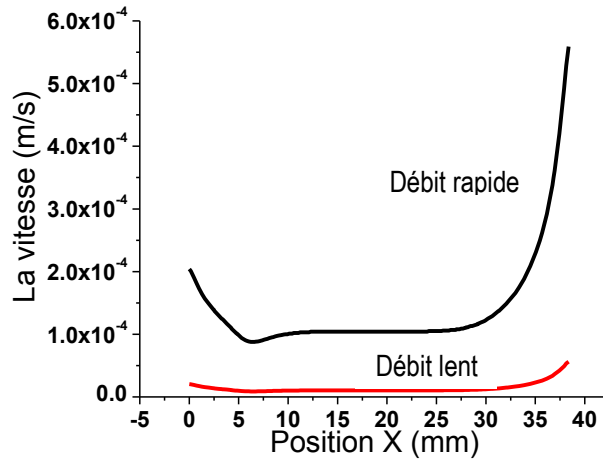


Figure 44 : Une présentation de la vitesse du fluide selon l'axe x.

b) Étude de la variation de la vitesse selon l'axe y

La simulation a été faite pour 4 vitesses d'écoulement: $1.11e^{-11}(m/s)$, $1.11e^{-10}(m/s)$, $1.66e^{-9}(m/s)$ et $5.27e^{-9}(m/s)$ (figure 45).

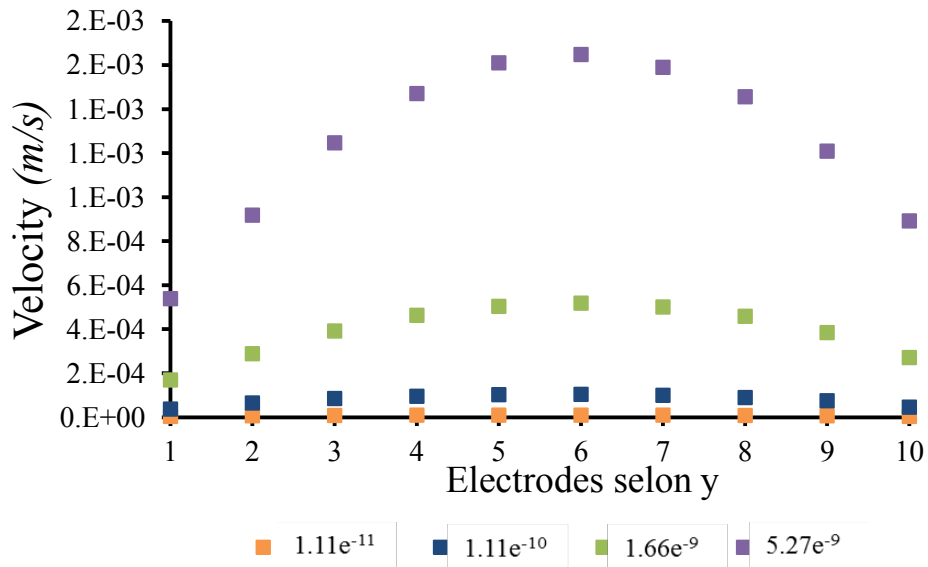


Figure 45 : Vitesse d'écoulement de la solution pour les 10 électrodes selon l'axe y.

On remarque que pour les 4 valeurs d'écoulements la vitesse maximale est concentrée au centre du canal.

NB : Les valeurs de vitesse obtenue permettent de déterminer la zone de vitesse convenable pour réaliser des images électrochimiques.

Après détermination de la vitesse d'écoulement, on calcule le nombre de Reynolds Re (tableau 8). La viscosité de la solution est $\mu = 1e^{-3} Pa.s$, la distance parcourue est 0.0236 m est une densité du liquide de $d = 1000 kg/m^3$

Tableau 8: Calcul du nombre de Reynold pour les différentes vitesses

Débit d'écoulement (m^3/s)	La vitesse moyenne (m/s)	Le nombre de Reynolds
$1.11e^{-11}$	$8.0e^{-6}$	0.18
$1.11e^{-10}$	$7.9e^{-5}$	1.86
$1.66e^{-9}$	$3.9e^{-4}$	9.2
$5.27e^{-9}$	$1.2e^{-3}$	28.3

Les valeurs de Reynolds obtenues sont inférieures à 100 ce qui implique un transport laminaire dans le canal microfluidique pour les quatre débits.

Durant la fabrication du canal microfluidique pour l'imagerie électrochimique les électrodes ont été placées à plus que 5 mm de l'entrée des réactifs afin d'assurer un transport laminaire des molécules au voisinage des électrodes.

La deuxième partie de la simulation numérique consiste à résoudre l'équation de la loi de Fick décrite précédemment qui lie la concentration des molécules à la vitesse d'écoulement des solutions en tenant compte du coefficient de diffusion. Cette résolution permet de déterminer la distribution de la concentration dans le canal microfluidique sous l'effet des conditions hydrodynamiques choisies. La figure 46 présente les résultats de simulations pour les vitesses d'écoulement : $1.11e^{-10} m^3/s$ et $1.11e^{-11} m^3/s$.

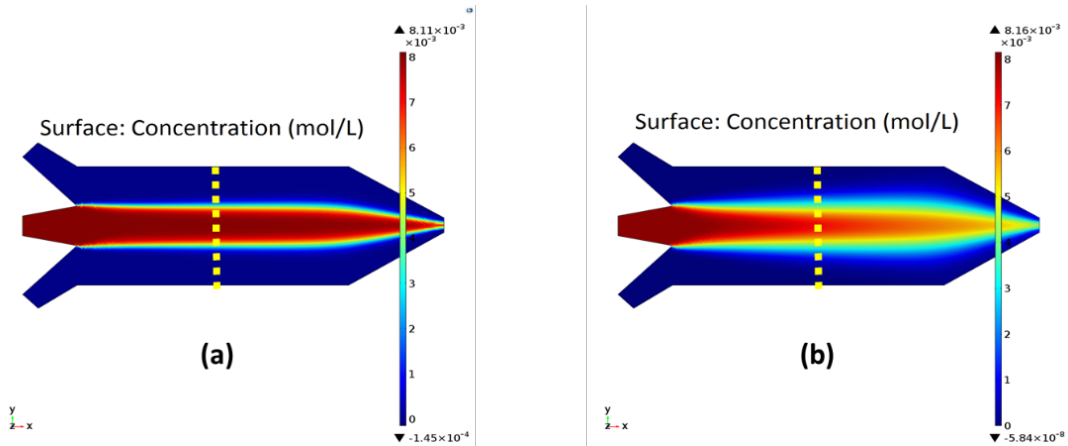


Figure 46 : Distribution de la concentration dans le canal microfluidique pour les débits d'écoulement (a) 1.11×10^{-11} m/s et (b) 1.11×10^{-10} m/s.

Une présentation unidimensionnelle (figure 46), selon l'axe y (trait jaune dans la figure 46) montre que le transport rapide avec la vitesse d'écoulement 1.11×10^{-10} m³/s résulte en une concentration maximale initiale de 8 mM. Par contre dans le cas du transport lent avec une vitesse d'écoulement de 1.11×10^{-11} m³/s, la concentration maximale atteinte est de 7 mM. On a observé 1 mM de différence à cause de la diffusion dans les parois du microcanal.

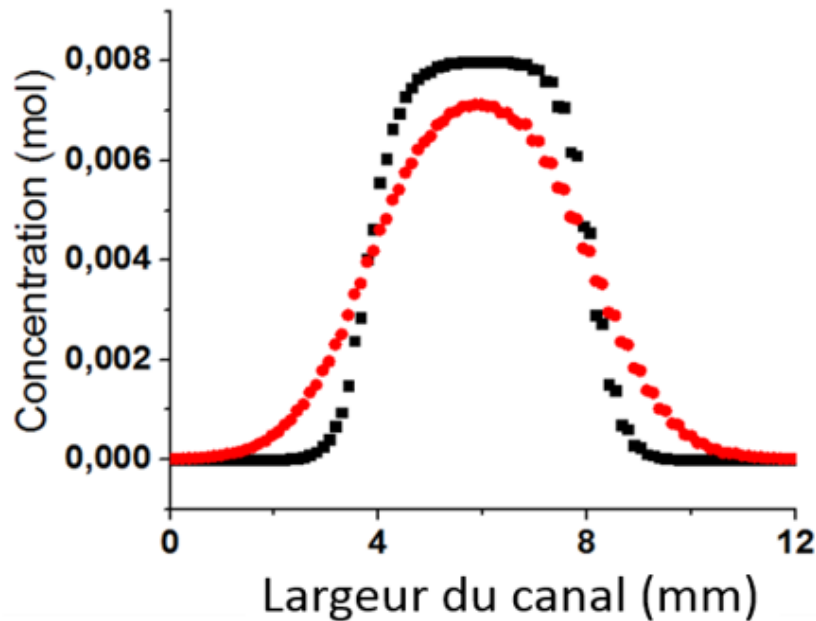


Figure 47 : Présentation unidimensionnelle de la distribution de la concentration au milieu du canal selon l'axe y pour les 2 vitesses d'écoulement (noir) 1.11×10^{-11} m/s et (rouge) 1.11×10^{-10} m/s.

3.2.2. Fabrication des électrodes planaires

Les électrodes utilisées sur le circuit imprimé ont une fine couche d'Or. Cette couche s'oxyde facilement au contact d'une solution chimique. Les images dans la figure 47 présente la surface d'une électrode avant et après oxydation de la couche superficielle des électrodes.

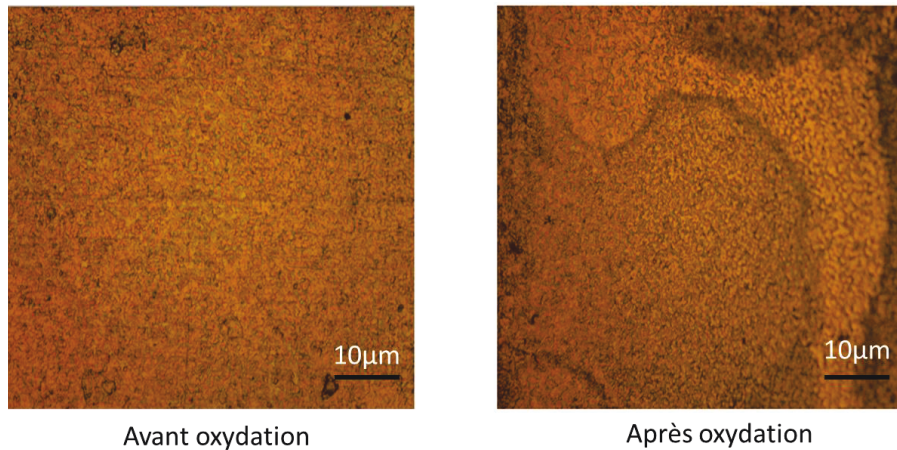


Figure 48: Image optique de l'électrode du PCB avant et après oxydation

Suite à cette instabilité on a déposé une couche de Ni et d'Or sur le substrat du cuivre, afin d'obtenir une couche chimiquement inerte. Le nombre d'électrodes fabriquées est de 200 électrodes distribuées entre 10 lignes et 20 colonnes. Les dimensions des électrodes sont de $340 \times 340 \mu m$. La première couche qu'on a déposée sur les électrodes est le Ni ($5 \mu m$) et une deuxième couche nanométrique d'Or. Les deux couches métalliques ont été élaborées par électrodéposition, la figure 49 présente la distribution des couches métalliques élaborées sur le PCB.

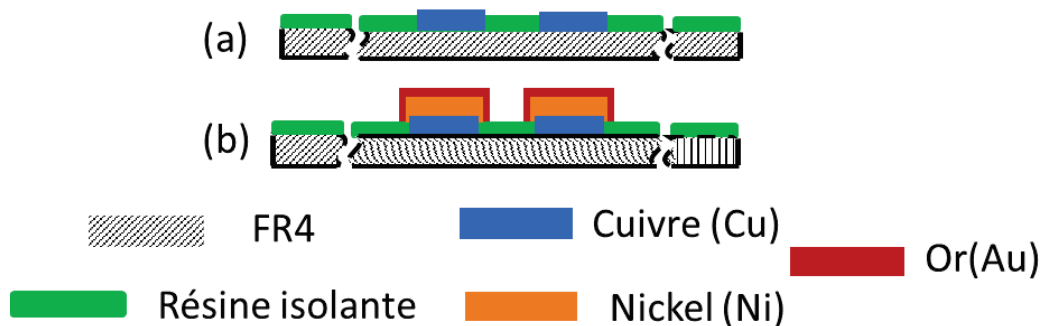


Figure 49 : Schéma simplifié des électrodes fabriquées sur le circuit imprimé (a) avant et (b) après le dépôt du Ni et Au.

Le dépôt a été réalisé par l'application d'un potentiel négatif fixe qui permet la réduction des ions du Ni et les ions d'Au. Le tableau 5 ci-dessous résume les conditions opératoires de déposition du Ni et de l'Au [41].

Tableau 9: les conditions d'électrodéposition du Ni et de Au

	Bain du Ni	Bain de Au
Température (°C)	20 (avec agitation)	20 (avec agitation)
pH	3,6	6
Courant (A/cm^2)	0.005	0.005
Potentiel de déposition ($mV/Ag/AgCl$)	-400	-300
Temps (<i>min</i>)	25	60

3.2.3. Caractérisation du dépôt

Le dépôt de Ni et d'Au est caractérisé par microscopie électronique à balayage. La figure 50 présente 3 images de MEB obtenu d'une surface Ni-Au déposée par électrodéposition avec 3 agrandissements (7500, 20k et 50k).

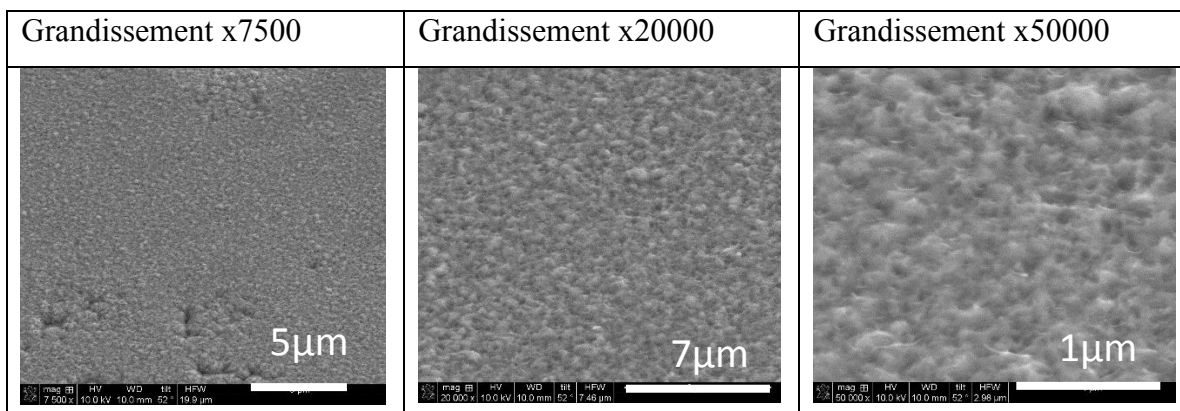


Figure 50: Images du MEB du dépôt de Ni-Au avec les grandissements 7500, 20k et 50k.

L'analyse par MEB de la surface de la couche métallique Ni-Au déposée sur les électrodes avec les différents agrandissements 7.5 k, 20 k et 50 k montrent que la structure du dépôt est continue et uniforme. Ceci démontre que la technique du dépôt utilisée permet une couverture totale de la surface de l'électrode.

La figure 51 montre un spectre EDX des éléments métalliques qui constituent la surface de l'électrode.

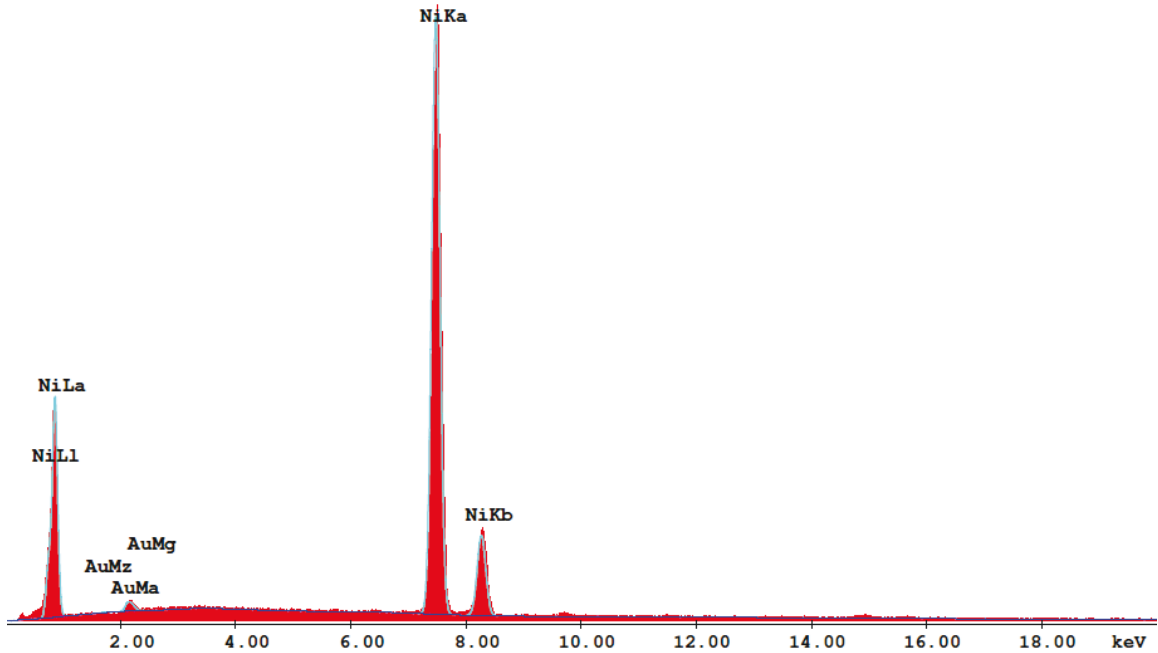


Figure 51 : Spectre EDX de la couche Ni-Au

Le spectre ci-dessus, montre principalement 3 pics spécifiques au Ni. Le plus intense vers 7.6 KeV et un pic de 1 Au vers 2.2 keV, le pourcentage de distribution atomique des deux éléments est Ni=96.7% et Au=3.3%.

3.2.4. Assemblage du canal microfluidique

Après la fabrication des électrodes, le canal microfluidique à 3 entrées est assemblé avec la matrice d'électrodes (figure 52). Pour assurer une adhésion du canal de PDMS sur le circuit imprimé, une couche fine de PDMS est déposée sur le circuit imprimé en utilisant la méthode de « spin coating ,3000 rpm pendant 2 min ». On a ainsi mis en place un canal à section rectangulaire de hauteur $h=100\mu m$.

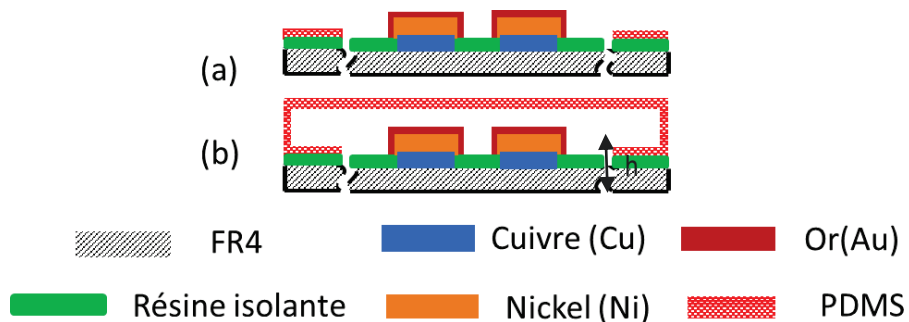


Figure 52 : Formation du canal microfluidique et assemblages au circuit imprimé

Le passage du fluide se fait en connectant les entrées du canal à des pompes microfluidique à haute précision, la figure 53 présente la position de l'entrée 2 du canal (a) de diamètre $x=0.2$ mm, la sortie (b), les connecteurs (c), le canal microfluidique en PDMS (d), l'électrode (e), et le PCB (f).

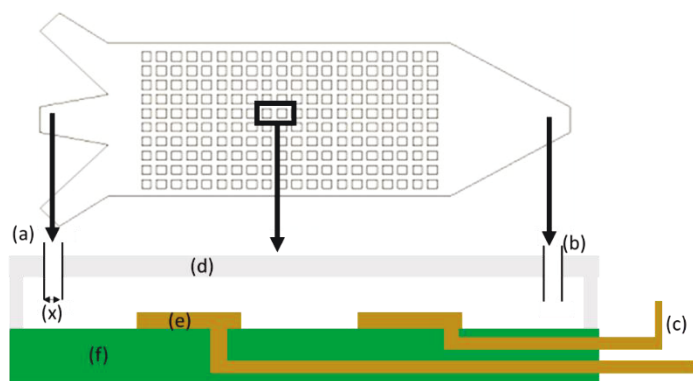


Figure 53 : Schéma du canal microfluidique sur un circuit imprimé. (a) Entrée 2 des réactives (b) sorties 1 de la solution (c) le connecteur (d) le canal microfluidique (e) électrode (f) PCB, (x) le diamètre du trou d'introduction de la solution $x=0.2$ mm.

3.2.5. Imagerie électrochimique

Pour réaliser des images électrochimiques et quantifier le niveau de diffusion des molécules par voltamétrie cyclique, il faut trouver la relation entre le courant d'oxydation et la concentration du ferrocyanure (la calibration) pour les 200 électrodes fabriquées. Ceci permettra par conséquent la construction d'une image électrochimique avec deux dimensions spatiales (x et y) et la concentration de la molécule au voisinage de l'électrode comme troisième dimension. Pour toutes les images électrochimiques et les études effectuées, l'électrode de référence utilisée est une pseudo-électrode de la matrice.

Le processus de détermination du courant d'oxydation du ferrocyanure se fait en 2 étapes :

- La soustraction du courant provenant du support électrolytique. Ceci est obtenu par une soustraction mathématique entre le courant généré par 10 mM FeCy, PBS et 0.5 N KOH (voir CV rouge dans la figure 54), et le courant généré par le support électrolytique PBS et 0.5 N KOH (voir CV bleu dans la figure 54), on obtient alors un CV qui présente le courant provenant de 10 mM FeCy seulement. (CV noir dans la figure 54).

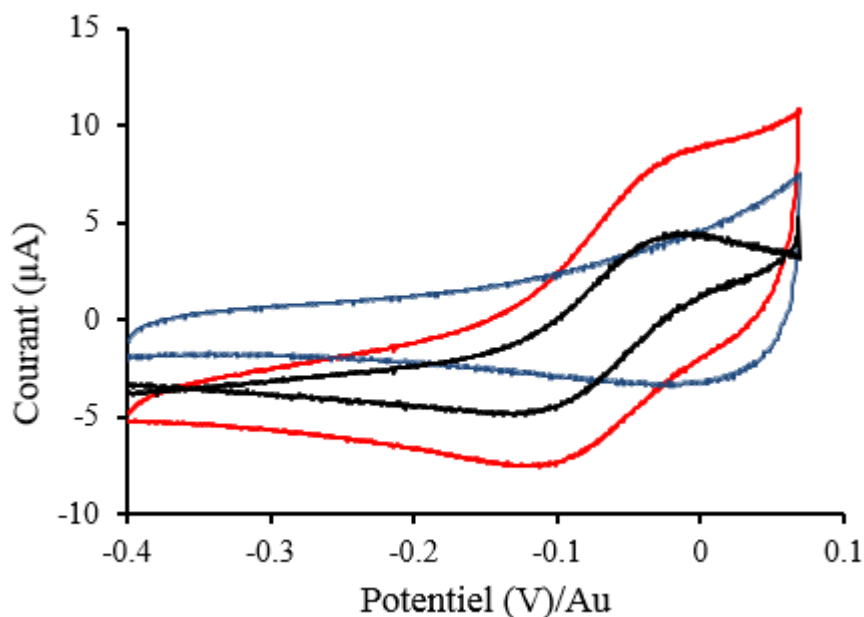


Figure 54: Cycle voltammograms obtenu avec une vitesse de balayage de 100 mV/s . Rouge ($10 \text{ mM FeCy} + \text{PBS} + 0.5 \text{ N KOH}$), bleu ($\text{PBS} + 0.5 \text{ N KOH}$), noir (10 mM FeCy)

- La deuxième étape consiste à tracer la tangente de la courbe du CV obtenue après soustraction mathématique dans le sens de l'oxydation du FeCy (CV en noir dans la figure 55). Puis, il faut déterminer l'équation de cette droite et faire une soustraction entre la courbe CV et l'équation de la droite. Ceci permet d'obtenir une courbe CV finale schématisée en verre dans la figure 55 juxtaposée avec l'axe des abscisses. Le courant de pic d'oxydation est directement trouvé dans la courbe CV en verre. Pour cet exemple le courant est de $3.32 \mu\text{A}$.

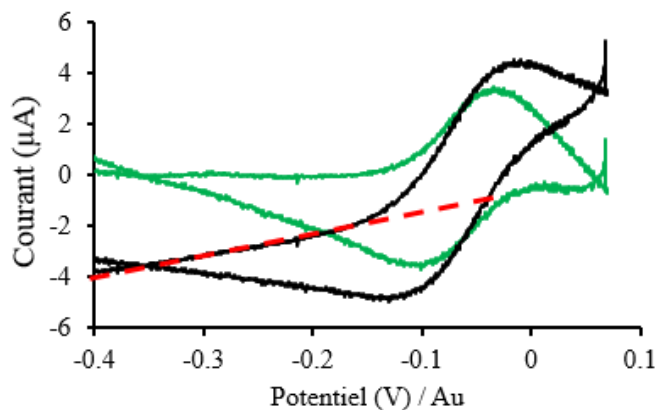


Figure 55: Figure présente le cycle voltammogram (CV en verre) obtenu par soustraction entre le CV de FeCy (CV en noire) et l'équation de la tangente du CV de FeCy. La concentration utilisée est 10 mM FeCy et 100 mV/s comme vitesse de balayage.

Afin de traiter tous les CV générés par les 200 électrodes avec la méthode décrite précédemment, une interface dans Matlab (figure 56) a été développée pour extraire le courant d'oxydation. Cette interface peut analyser plus que 200 électrodes à la fois en quelque dizaine de seconds.

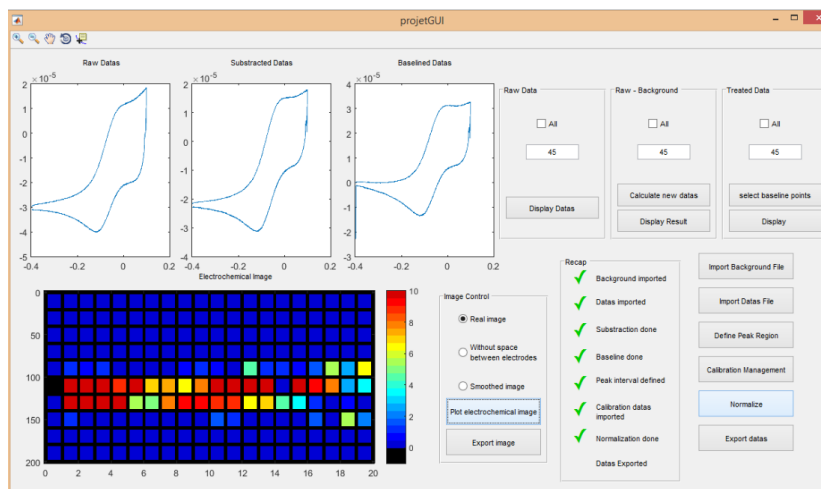


Figure 56: Interface du Matlab qui permet de traiter les CV et extraire les potentiels d'oxydation

a) Comparaison d'un CV par rapport à une électrode d'Au-Ni et d'Ag/AgCl

Nous avons validé la fonctionnalité de base du système d'imagerie microfluidique. La figure 57 compare les courbes de CV du système microfluidique en utilisant une électrode d'Au-Ni comme pseudo référence et une autre courbe CV en utilisant l'électrode Ag/AgCl comme référence. Pour la même concentration de ferrocyanure (10 mM), les courbes obtenues sont similaires, à l'exception d'une différence de $-330\text{ mV} \pm 5\text{ mV}$ dans le système microfluidique en raison des différences dans les électrodes de références.

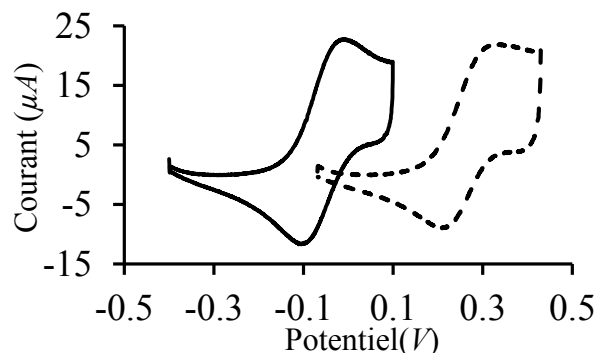


Figure 57: CV enregistré par rapport à l'électrode de l'Au-Ni (CV en trait continu noir) et le CV enregistré par rapport à Ag/AgCl (cv pointillé)

Cette différence est constante pour toutes les électrodes, ce qui permet une corrélation précise à l'électrode d'Ag/AgCl.

b) Étude de la stabilité du potentiel d'oxydation du ferrocyanure

La figure 58 présente dix CV obtenus à partir de la matrice des électrodes fabriquées pour une solution de 10 mM de ferrocyanure avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.

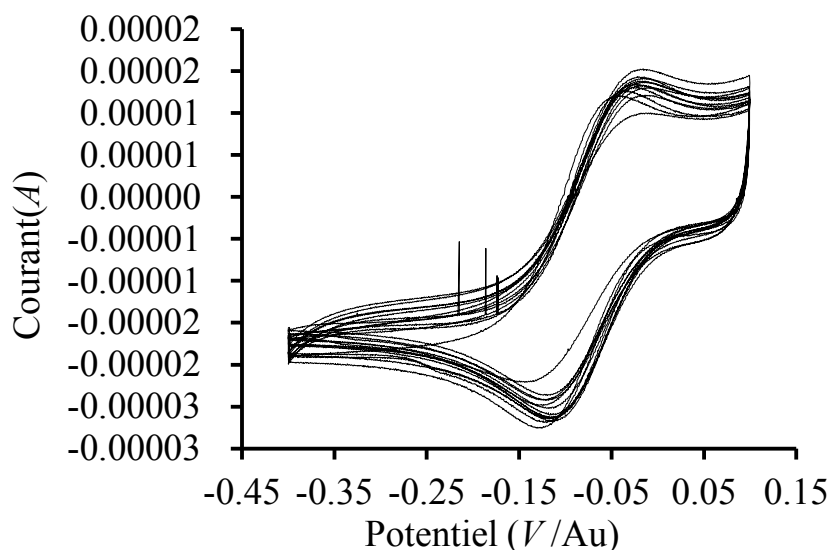


Figure 58 : 10 Cycles voltamétrique obtenus à partir de 10 électrodes de la matrice en utilisant une solution de Ferrocyanure de 10 mM, avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.

Le tableau 10 ci-dessous résume les valeurs de potentiel de ferrocyanure obtenu:

Tableau 10: les valeurs de potentiel de ferrocyanure pour les 10 électrodes

	Potentiel d'oxydation en mV/Au
Électrode 1	-21,17
Électrode 2	-21,37
Électrode 3	-20,35
Électrode 4	-22,45
Électrode 5	-22,75
Électrode 6	-21,18
Électrode 7	-22,67
Électrode 8	-22,59
Électrode 9	-22,74
Électrode 10	-22,35
Moyenne	-21,96
Écart type	0,86

Selon le tableau précédent, on constate que les électrodes présentent une valeur moyenne de potentiel d'oxydation de -21.96 mV avec un écart type de 0.86 , ceci montre la robustesse et la stabilité du système vis-à-vis le potentiel d'oxydation du ferrocyanure. De plus, ceci permet de réaliser des analyses cohérentes et comparatives entre les électrodes.

c) Effet de la vitesse de balayage sur le courant d'oxydation du ferrocyanure

Une série de courbes CV a été réalisée pour une solution de 6 mM de FeCy avec les vitesses de balayages suivantes : 100 mV/s , 200 mV/s , 300 mV/s , 400 mV/s et 500 mV/s . La figure 59 présente le tracé du courant anodique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.

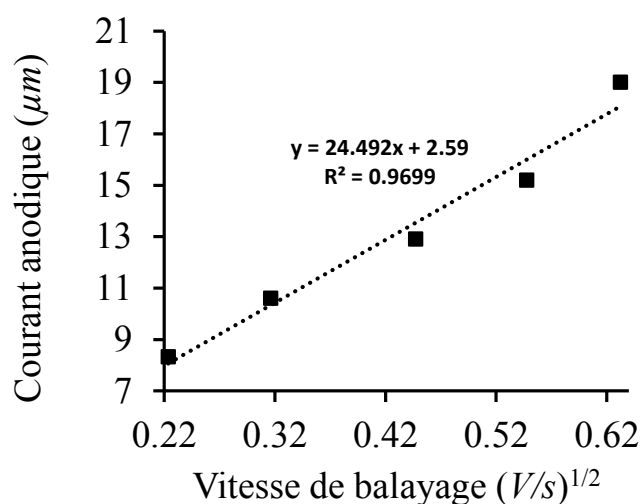


Figure 59: La courbe de variation du courant anodique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.

La courbe de variation des courants anodiques en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage est une droite. Ceci permet de conclure que le transfert d'électrons à la surface des électrodes est rapide et réversible.

Cette étude nous a montré que les électrodes peuvent supporter des vitesses de balayage supérieures à 400 mV/s . Ceci est important pour optimiser le temps d'acquisition des images électrochimiques.

d) Effet de la vitesse d'écoulement du ferrocyanure sur le courant d'oxydation

La courbe montrée à la figure 60 présente l'effet de la vitesse d'écoulement du FeCy sur le courant anodique en utilisant une solution de 10 mM, les CV enregistrés avec une vitesse de balayage de 100 mV/s, et la vitesse d'écoulement est choisi dans l'intervalle de 0 à 2.1 mm/s.

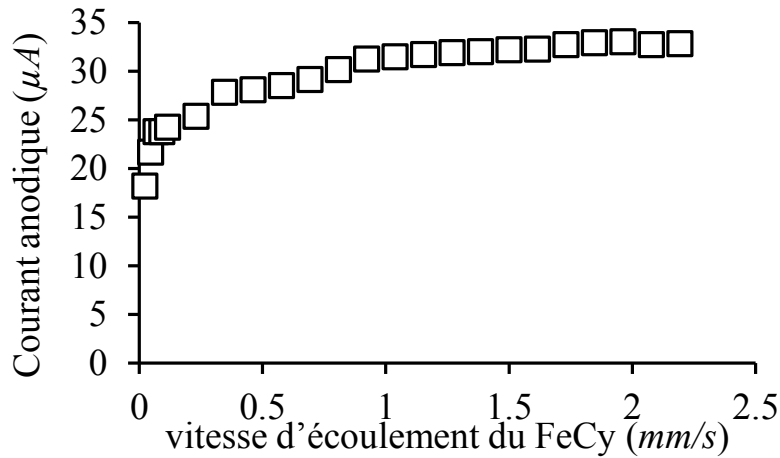


Figure 60: Effet de la vitesse d'écoulement du FeCy sur le courant anodique. Concentration du FeCy utilisé et de 10 mM avec une vitesse de balayage de 100 mV/s.

On constate une augmentation rapide du courant entre 0 mm/s et 1 mm/s. Pour des valeurs de vitesse supérieure à 1 mm/s, une nette stabilité du courant est observée. Le courant devient indépendant de la vitesse d'écoulement du FeCy.

Cette étude nous a permis de déterminer la zone des vitesses d'écoulement à utiliser pour avoir une indépendance du courant anodique mesurée vis-à-vis de la vitesse d'écoulement.

Toutes les images électrochimiques effectuées par la suite sont réalisées avec une vitesse d'écoulement plus grande que 1 mm/s.

e) Effet du nombre d'électrodes auxiliaires :

La figure 61 montre la relation entre le courant de bruit et la surface de l'électrode auxiliaire. Pour cette expérience on a utilisé deux concentrations de FeCy 0,8 mM et 10 mM, la surface des électrodes est calculée en utilisant 1, 3, 5, 10 et 20 électrodes. Nous avons constaté que l'augmentation du nombre de contre-électrodes conduit à des améliorations du rapport signal / bruit, mais on n'a pas optimisé ce paramètre.

Toutes les expériences électrochimiques utilisent 4 électrodes auxiliaires adjacentes.

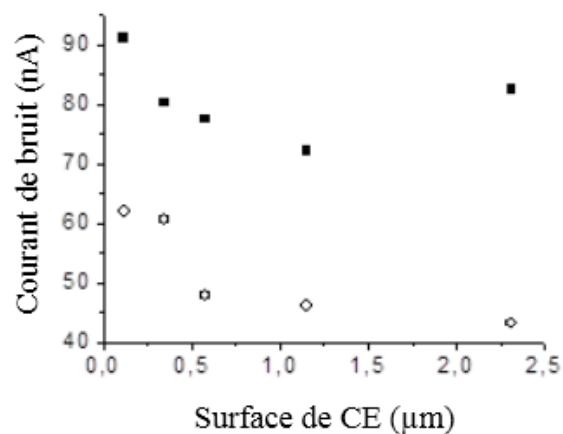


Figure 61: Effet de la surface de l'électrode auxiliaire sur le courant de bruit

f) Courbe de calibration

La courbe de calibration est une droite qui lie la concentration en (mM) au courant mesuré en (μA), suivant l'équation de Randles-Sevcik. Les concentrations choisies sont 2, 4, 6, 8, et 10 mM de ferrocyanure, la vitesse de balayage est de 100 mV/s , l'électrolyte utilisé est constitué de (PBS et 0.5 N de KOH). La figure 62 présente les courbes CV obtenues.

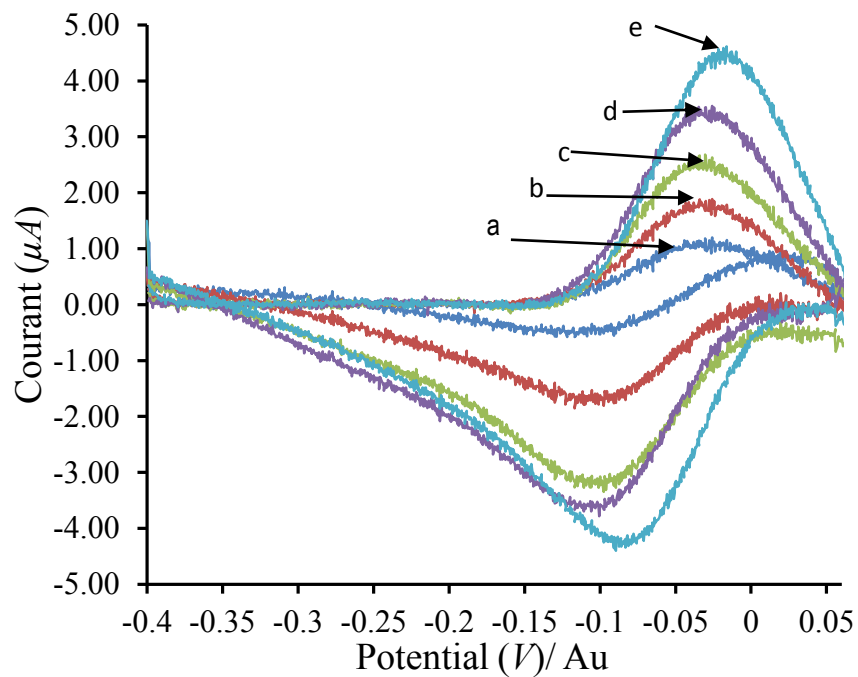


Figure 62 : CVs I-E en fonction de la concentration de ferrocyanure. (a) 2 mM (b) 4 mM , (c) 6 mM , (d) 8 mM , et 10 mM de ferrocyanure.

On constate une augmentation du courant en fonction de la concentration de FeCy, la présentation graphique (figure 63) du courant anodique en fonction de la concentration de FeCy donne une droite avec un coefficient de régression $R^2=0.99$.

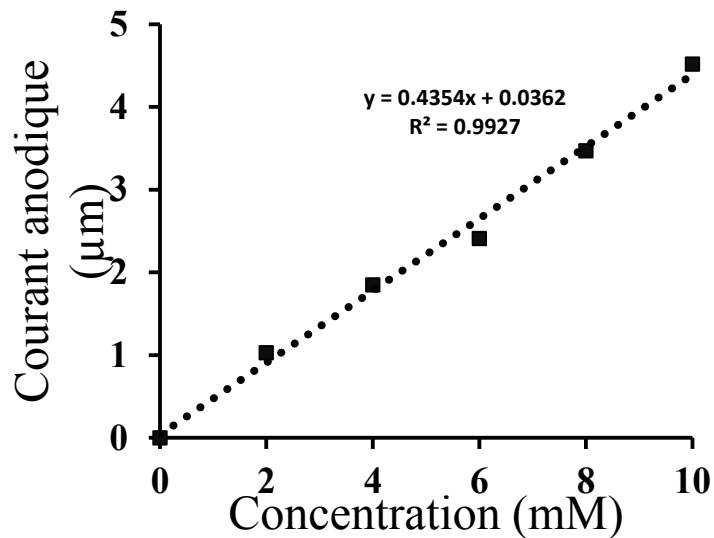


Figure 63 : Courbe présentant la variation du courant anodique en fonction de 4 solutions de FeCy : 2, 4, 6, 8 et 10 mM. La vitesse de balayage utilisé est 100 mV/s

Par conséquent on peut déduire la concentration d'une molécule autour de chaque électrode. Grâce à l'interface d'analyse automatisée dans Matlab, on a calculé la pente de calibration en ($\mu A/mM$) pour les 200 électrodes, la figure 64 présente l'histogramme de la distribution de cette pente.

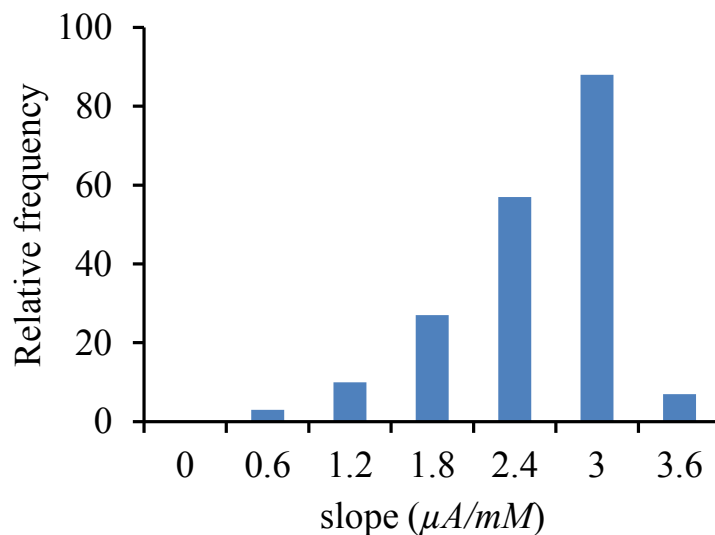


Figure 64: histogramme de distribution de la pente courant concentration pour les 200 électrodes

On constate que la valeur de la pente est comprise entre 0.6 et 3.6 ($\mu A/mM$). Cette différence dans les pentes de calibrations est due à la différence entre la surface spécifique des électrodes élaborées par voie électrochimiques.

g) Imagerie individuelle

- **Imagerie individuelle selon l'axe x**

Dans cette expérience l'entrée 2 est désactivée (figure 65), l'entrée 1 est utilisée pour introduire 10 mM de ferrocyanure dilué dans PBS + 0.5MKOH et l'entrée 3 est utilisée pour introduire la solution de PBS + 0.5N KOH. On a choisi 3 électrodes alignées selon l'axe x, l'électrode noire et rouge proche de l'entrée des réactifs et l'électrode verte en bas du canal.

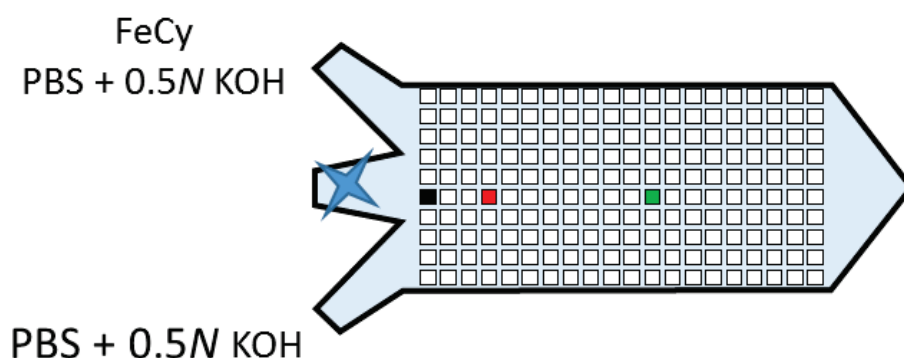


Figure 65 : Schéma de l'entrée de réactifs pour l'imagerie individuelle.

À $t=0$ le débit du PBS+0.5NKOH est de $Q_{PBS} = 3.9 \text{ ml/hr}$ et le débit du ferrocyanure $Q_{FeCy} = 4.1 \text{ ml/hr}$, le débit total est de 8 ml/hr . On définit le paramètre R , le débit volumique par l'équation 36 :

$$R = Q_{Fe} / (Q_{FeCy} + Q_{pbs}) \quad (36)$$

Le tableau 11 ci-dessous résume les rapports des débits volumiques et les valeurs de concentrations de ferrocyanure obtenues par voltamétrie cyclique pour les trois électrodes : noir, rouge et verte.

Tableau 11: concentration du FeCy pour les différentes valeurs de R

$R = Q_{FeCy} / (Q_{FeCy} + Q_{pbs})$	Concentration du ferrocyanure en (mM)		
	vert	rouge	noir
0.74	9.98	9.97	9.99
0.73	9.69	10.12	9.47
0.71	9.81	9.94	9.07
0.70	9.65	9.67	7.58
0.69	9.77	9.15	7.94
0.68	9.27	8.24	6.01
0.66	7.84	6.22	5.09
0.65	7.25	5.39	4.09
0.64	6.11	4.30	2.74
0.63	4.66	2.39	1.18
0.61	3.60	2.31	0.87
0.60	2.44	0.66	0.07
0.59	0.05	0.22	0.00
0.58	0.65	0.05	0.02
0.56	0.32	0.09	0.15
0.55	0.29	0.06	0.16
0.54	0.24	0.04	0.05
0.53	0.10	0.30	0.11
0.51	0.12	0.15	0.10
0.50	0.23	0.27	0.21

La figure 66 présente la variation de la concentration pour chaque électrode en fonction du rapport de débit volumique R :

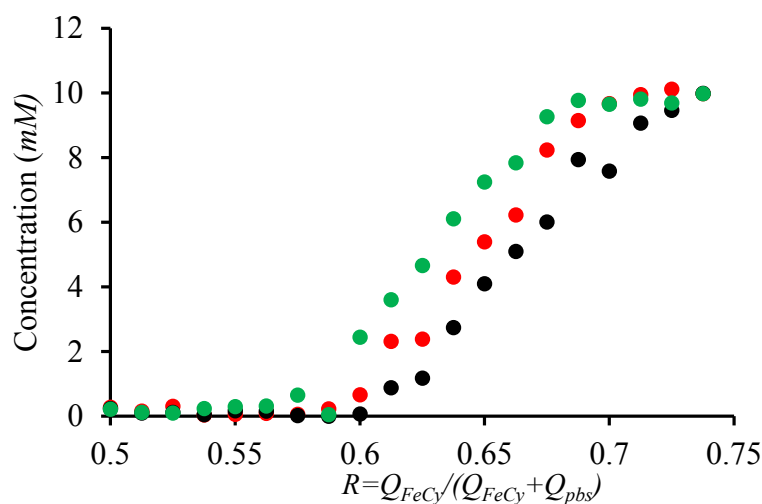


Figure 66 : La concentration de FeCy en fonction du rapport volumique R pour les trois électrodes : noir, rouge et vert.

L'électrode verte qui se trouve dans le côté inférieur du canal est la première électrode qui commence à détecter les molécules de FeCy pour une valeur du rapport de débit volumique $R=0.6$ puis les électrodes rouge et noir s'en suivent. Ceci est dû au profil de déplacement de l'interface FeCy/PBS selon la position de l'électrode. Pour mieux comprendre cette différence de détection de FeCy et le profil de l'interface FeCy/PBS, on a réalisé une série de simulation par COMSOL pour six valeurs du rapport volumique R : 0.52, 0.56, 0.6, 0.65, 0.68 et 0.73, la figure 67 montre les images de simulations obtenues pour les trois électrodes par rapport à chaque rapport volumique R :

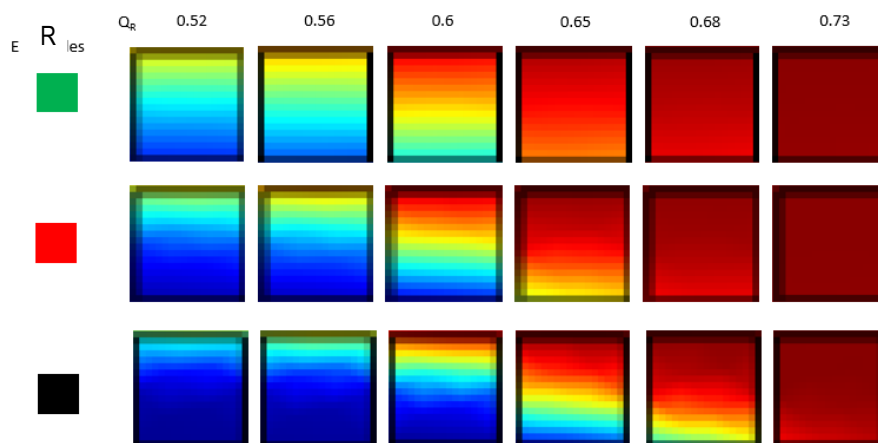


Figure 67: Simulation par COMSOL pour les valeurs du rapport d'écoulement volumique R : 0.52, 0.56, 0.6, 0.65, 0.68 et 0.73 pour trois électrodes: noire, rouge et vert.

Les résultats de simulations sont cohérents avec les résultats d'imagerie électrochimiques. En effet, on remarque que pour le rapport volumique $R=0.6$ l'électrode noire reçoit une petite quantité de FeCy, ce qui correspond à une concentration de 0.06 mM de FeCy. Cependant l'électrode verte placée au bas du canal est partiellement immergée dans la solution de FeCy ce qui correspond de point de vue électrochimique à une concentration de 2.44 mM .

Cette expérience démontre l'avantage du système d'imagerie électrochimique proposé qui permet de quantifier la concentration du ferrocyanure diffusé même pour des électrodes qui sont partiellement immergées par la solution de ferrocyanure.

- **Imagerie électrochimique selon l'axe y :**

Afin de réaliser des images de tests avec les trois électrodes placées sur l'axe y , une solution de concentration de 10 mM de FeCy est introduite dans le canal microfluidique avec un débit

de 6 ml/hr. Ensuite, on introduit une solution de PBS+0.5KOH dans la deuxième entrée du dessous avec un débit de 2 ml/hr. L'entrée centrale est fermée (figure 68).

Initialement les 3 électrodes sont en contact du FeCy, en augmentant le débit de PBS + 0.5N KOH l'interface FeCy/PBS+0.5 N KOH commence à se déplacer vers le haut (figure 68), ce qui induit une diminution progressive de la concentration de FeCy à la surface des trois électrodes à partir de l'électrode verte.

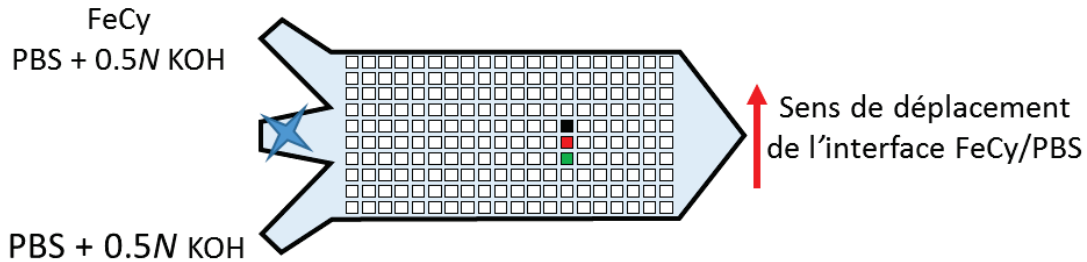


Figure 68 : Circuits d'entrée des réactifs pour l'imagerie élémentaire selon l'axe y ainsi que la position des électrodes noir, rouge et vert.

La figure 69 présente la variation de la concentration de FeCy en fonction du rapport volumique R défini dans l'équation 36.

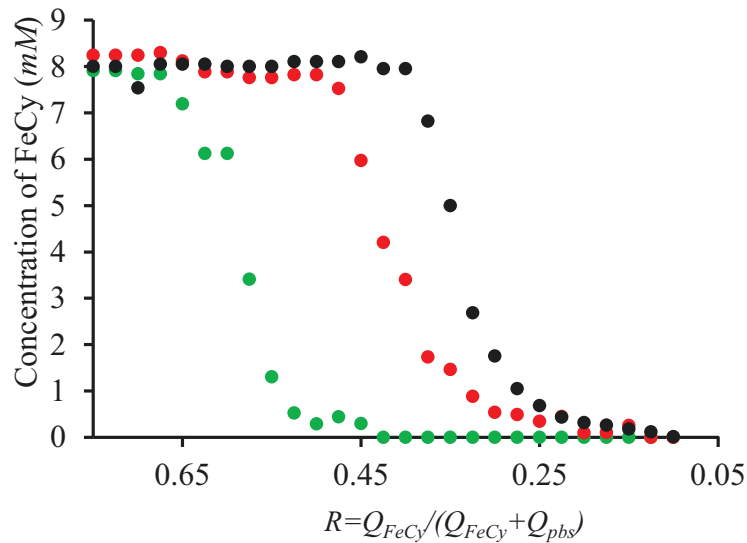


Figure 69: Le rapport volumique R en fonction de la concentration du FeCy mesurée par voltamétrie cyclique pour les électrodes noir, rouge et verte selon l'axe y.

On constate une décroissance progressive de la concentration de FeCy de 10 mM jusqu'à 0 mM pour les trois électrodes. Le tableau 12 ci-dessous résume les principaux résultats. Les pentes de variation de la concentration de FeCy sont calculées dans le tableau 12.

Tableau 12 : Pente de diminution la concentration de FeCy pour les trois électrodes

Électrodes	noir	rouge	vert	moyen	écart type
Pente de diminution la concentration de FeCy en (<i>mM.hr/ml</i>)	0.1	0.08	0.09	0.09	0.01

Les valeurs des pentes sont proches avec un écart type de 0.01, ceci montre que les électrodes fabriquées ont un comportement similaire vis-à-vis de la solution de FeCy. Les 2 expériences d'imagerie électrochimiques élémentaires selon l'axe x et y du canal montrent que :

- Les électrodes fabriquées par électro-déposition sont capables de faire des analyses électrochimiques précises pour déduire la concentration des molécules au voisinage des électrodes.
- La capacité d'analyser des concentrations faibles de FeCy diffusée sur la surface des électrodes.
- Le système fabriqué des électrodes et du canal microfluidique peuvent être utilisée pour réaliser des images électrochimiques à partir des 200 électrodes de la matrice

h) Imagerie électrochimique du ferrocyanure dans tout le canal

Cette étude a pour but d'acquérir une série d'images électrochimique en déplaçant cette fois-ci la solution de ferrocyanure du haut du canal vers le bas. Les images électrochimiques sont obtenues par intégration des images individuelles de chaque électrode de la matrice. Une solution de 10 mM de ferrocyanure est introduite à partir de l'entrée 2, les entrées 1 et 3 du sont utilisées pour introduire du PBS+0.5 N KOH. Le tableau 14 ci-dessous résume les conditions hydrodynamiques appliquées pour déplacer la solution du ferrocyanure dans différentes positions du microcanal.

Tableau 13: conditions hydrodynamiques pour l'obtention de 6 images électrochimiques à l'intérieur du canal microfluidique

	Débit du PBS (ml/hr) entré 1	Débit du FeCy (ml/hr) entré 2	Débit du PBS (ml/hr) entré 3
Image 1	1	2,5	17
Image 2	2,3	2,5	15,7
Image 3	4,3	2,5	13,7
Image 4	7,3	2,5	10,7
Image 5	13,7	2,5	4,3
Image 6	15,7	2,5	2,3

En utilisant le multiplexeur et le potentiostat commercial une série de 200 courbes CV est obtenue de la matrice d'électrodes. La vitesse de balayage utilisée est de 100 mV/s, en utilisant l'interface de Matlab la pente de calibration courant versus concentration est déterminée. Par la suite la concentration obtenue de chaque électrode est enregistrée pour former des images électrochimiques brutes. Nous avons transformé les images électrochimiques brutes (figure 70-a) pixel par pixel en appliquant un algorithme de lissage ceci permet de déterminer la concentration dans l'espace vide entre les électrodes. Ceci a été accompli en construisant d'abord une matrice 3x3 de sous pixels égaux pour chaque électrode puis nous avons implémenté un algorithme de lissage moyen sur tous les sous-pixels. (Figure 70-b)

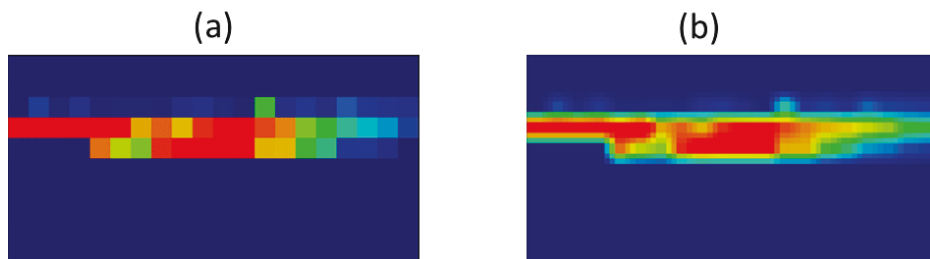


Figure 70 : (a) Image électrochimique brute. (b) Lissage de l'image électrochimique a.

La première colonne de la figure 71 montre les 6 images électrochimiques obtenues après lissage. Des images optiques sont obtenues dans les 6 conditions. Les images optiques sont traitées par ImageJ afin de visualiser le FeCy dans le canal microfluidique et aussi pour obtenir la même configuration de couleur que COMSOL, ceci est effectué en faisant la

soustraction d'une image avec et sans ferrocyanure, le filtre (despeckle) est utilisé une seule fois pour obtenir une image claire, suivie par un filtre de couleur (physics). La troisième colonne de la figure 71 présente les images de la simulation par éléments finis COMSOL.

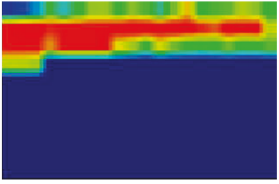
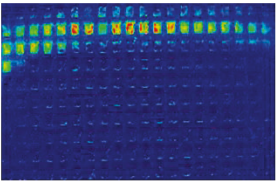
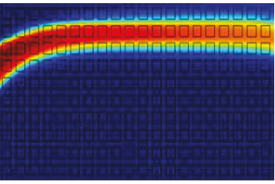
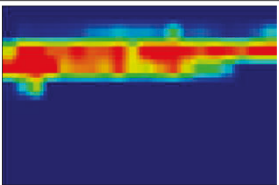
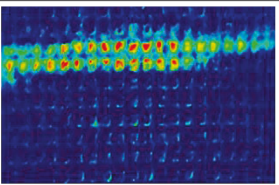
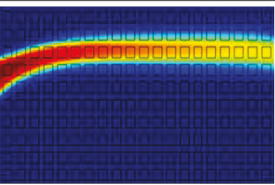
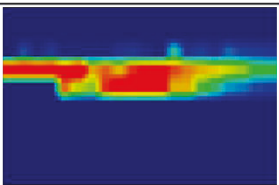
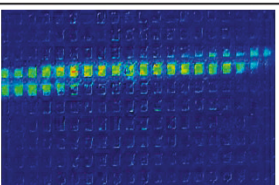
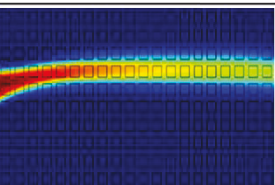
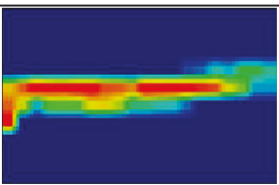
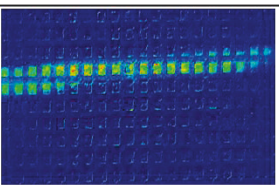
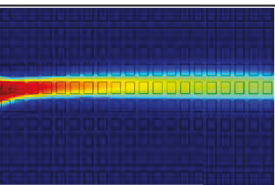
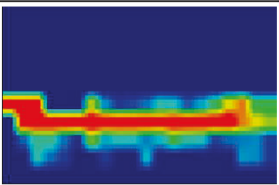
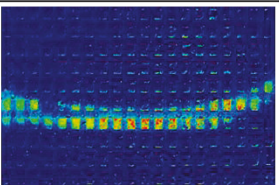
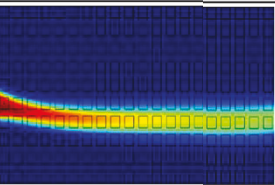
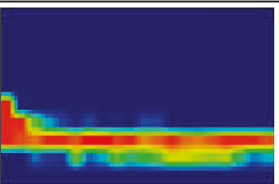
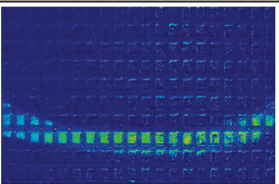
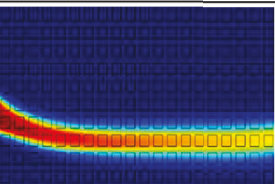
	Simulation COMSOL	Image optique	Image électrochimique
Image 1			
Image 2			
Image 3			
Image 4			
Image 5			
Image 6			

Figure 71: la colonne 1 présente les images électrochimiques, la colonne 2 présente les images optiques et la colonne 3 présente les images de la simulation COMSOL

On observe une nette corrélation entre les images électrochimiques, les images optiques et les images obtenues par COMSOL.

i) Imagerie électrochimique de diffusion de 2 molécules

Dans cette expérience on utilise deux molécules différentes, on a introduit dans l'entrée 1 du canal microfluidique 10 mM de FeCy et dans l'entrée 2 une solution de 5 mM de l'hexaammineruthenium avec les débits 1 et 0.5 ml/hr respectivement, ce faible débit est choisi pour favoriser le mélange et la diffusion au bas du canal microfluidique des deux molécules (figure 72).

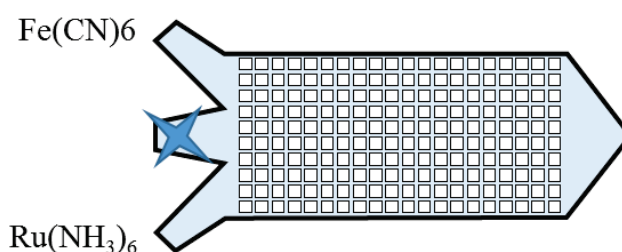


Figure 72: Circuit d'entrées des réactifs électrochimiques. L'entrée 1 par le FeCy et l'entrée 2 par l'hexaammineruthenium.

Dans cette expérience le potentiel d'oxydation des deux molécules est utilisé pour réaliser l'image électrochimique, la figure 73 représente l'image électrochimique obtenue après lissage.

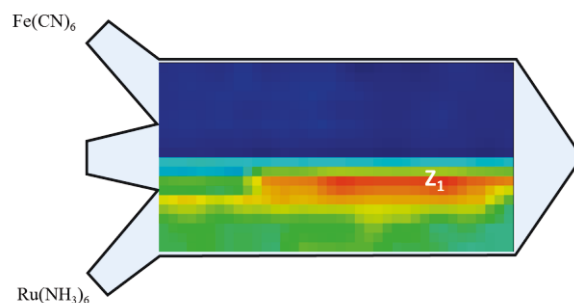


Figure 73: Image électrochimique de FeCy et l'hexaammineruthenium dans le canal microfluidique. Z_1 et la zone de diffusion.

On constate une zone de diffusion (Z_1) qui présente la zone de présence des 2 molécules électrochimiques.

L'analyse du CV (figure 74) de la zone 1 a montré la présence des pics d'oxydoréduction caractéristique des 2 molécules.

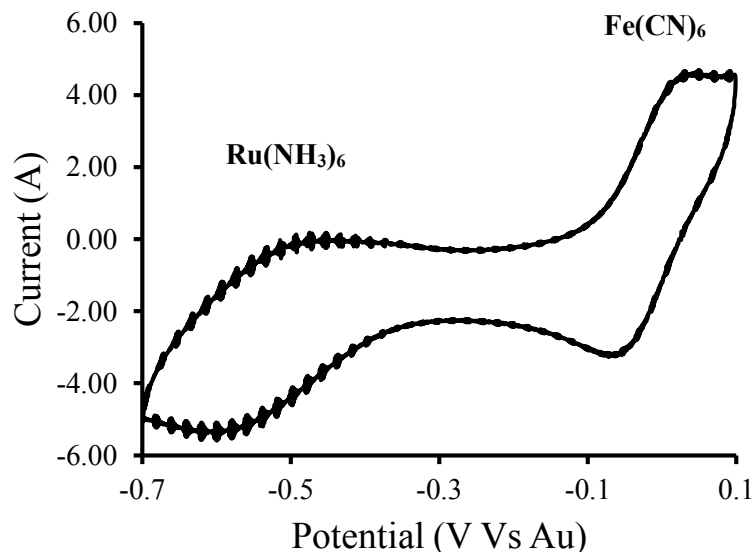


Figure 74: CV du Ru(NH₃)₆ et Fe(CN)₆ dans la zone 1 de diffusion.

3.2.6. Test du système fabriqué avec des neurotransmetteurs

Le cerveau est le centre de contrôle de toutes les activités du corps. Il gère à chaque instant plusieurs informations venues de chaque partie du corps à travers les réseaux neuronaux. Les catécholamines et les indolamines font partie de la famille des neurotransmetteurs et jouent des rôles importants dans la transmission de l'information dans le cerveau. Des déséquilibres dans leurs concentrations peuvent provoquer de graves maladies neurodégénératives, comme les maladies de Parkinson ou d'Alzheimer, ou même des maladies d'ordre psychiatriques, tels la dépression, la schizophrénie ou les troubles anxieux. Dans ce contexte des méthodes d'analyse très précises et sensibles sont nécessaires afin de détecter des faibles différences de concentration des neurotransmetteurs dans les différents tissus et fluides biologiques.

On a testé nos électrodes et notre système fabriqué avec la dopamine, la sérotonine et l'acide urique.

a) Analyse de la dopamine

Une solution de 10 mM de dopamine a été introduite dans le canal microfluidique l'électrolyte utilisé pour transporter la dopamine est le PBS (phosphate buffer salin). La

figure 75 présente des courbes CV de 6 électrodes obtenues dans la matrice d'électrodes fabriquée avec une vitesse de balayage de 100 mV/s .

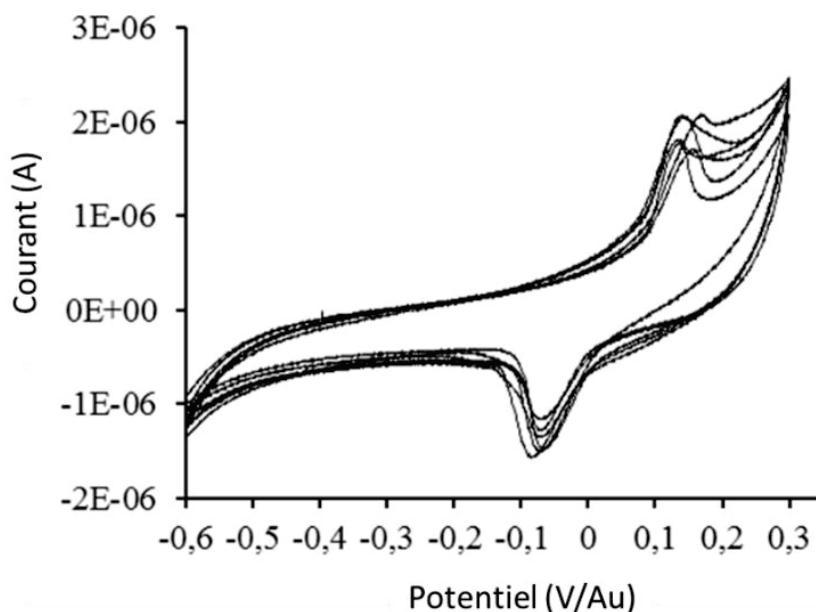


Figure 75 : Cycles voltammogram de 6 électrodes de 10 mM de dopamine dans PBS, la vitesse de balayage utilisée est de 100 mV/s .

Le tableau 14 présente les valeurs de potentiel d'oxydoréduction de la dopamine, les courants et les valeurs de E_a-E_c pour les 6 électrodes.

Tableau 14 : présente les potentiels et les courants anodique et cathodique de la dopamine à partir des 6 électrodes

	E_a (V)	E_c (V)	$E_a - E_c$ (V)	I_a (μA)	I_c (μA)
Électrode 1	-0,07	0,16	0,23	-1,50	2,09
Électrode 2	-0,07	0,16	0,23	-1,16	1,70
Électrode 3	-0,07	0,14	0,21	-1,47	2,05
Électrode 4	-0,07	0,14	0,21	-1,26	1,78
Électrode 5	-0,08	0,15	0,23	-1,90	2,30
Électrode 6	-0,07	0,13	0,20	-1,35	1,80
Moyenne	-0,07	0,15	0,22	-1,44	1,95
écart type	0,003	0,011	0,012	0,259	0,231

Les valeurs de potentiels d'oxydoréduction de la dopamine sont très proches, ce qui confirme une bonne stabilité de la pseudo-référence utilisée dans la matrice d'électrode. La valeur de (E_a-E_c) entre, les 2 pics d'oxydoréduction sont égaux à 220 mV . C'est une valeur élevée qui caractérise les systèmes électrochimiques avec un transfert lent de charge comme la dopamine.

L'effet de la variation de la vitesse de balayage sur le courant est étudiée avec une solution de 10 mM de dopamine. Les vitesses de balayages utilisés étaient de $50, 100, 200$ et 300 mV/s . La figure 76 présente les courbes CV obtenus ainsi que la courbe de variation du courant des pics d'oxydation en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.

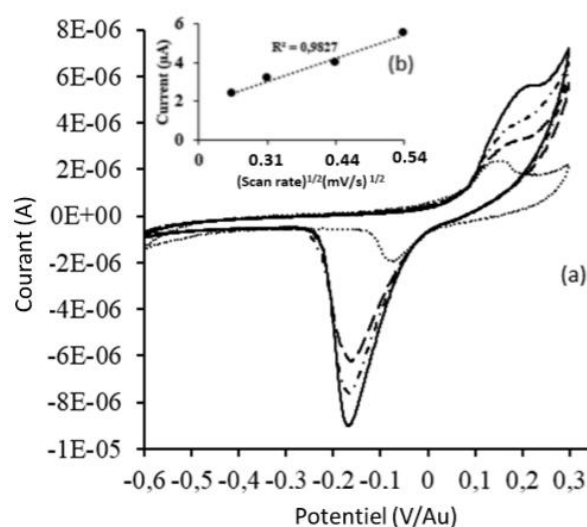


Figure 76 : (a) Cycles voltammogram de 10 mM de la dopamine avec les vitesses de balayage : $50, 100, 200$ et 300 mV/s . (b) Le tracé du courant mesuré par voltamétrie cyclique en fonction de la racine carrée de la vitesse de balayage.

Une bonne linéarité du courant en fonction du scan rate ($R^2=0,98$) montre que le transfert de charge est contrôlé par diffusion des molécules à la surface des électrodes [18].

b) Autres molécules (sérotonine et acide urique)

D'autres molécules ont été testées aussi par le système fabriqué (15 mM de l'acide urique et 12 mM de la sérotonine). La figure 77 présente les 2 CVobtenus, les 2 solutions sont diluées dans le PBS et la vitesse de balayage est de 100 mV/s .

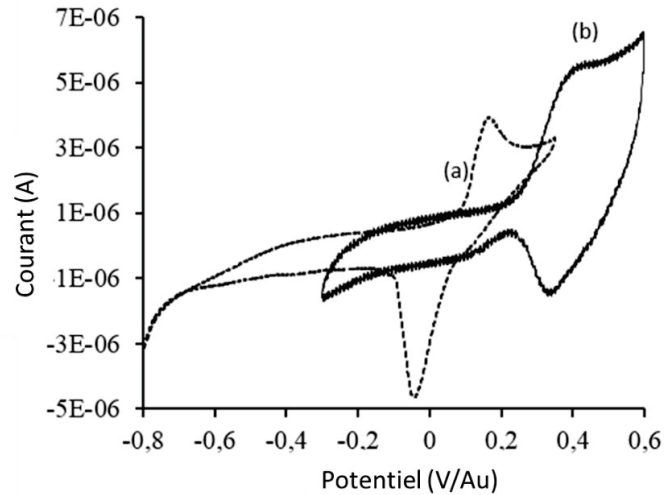


Figure 77 : Cycle voltammograms de (a) 15 *mM* d'urique acide (b) 12 *mM* de la sérotonine. Avec une vitesse de balayage de 100 *mV/s*.

Les 2 molécules présentent des positions de pics différentes et éloignées ce qui suggère la faisabilité d'une analyse sélective d'un mélange contenant ces 2 molécules.

3.3.Fabrication d'une matrice (5x4) d'électrodes sur plastique

On a proposé un nouveau procédé de microfabrication d'électrodes pour réaliser des électrodes dans des substrats transparents en plastique.

Les étapes de fabrication sont :

- Réalisations de trous de diamètre 310 +/- 5 μm dans un polycarbonate (plastique) (figure 78-a).
- Remplissage des trous par un époxy d'argent (Figure 78-b).

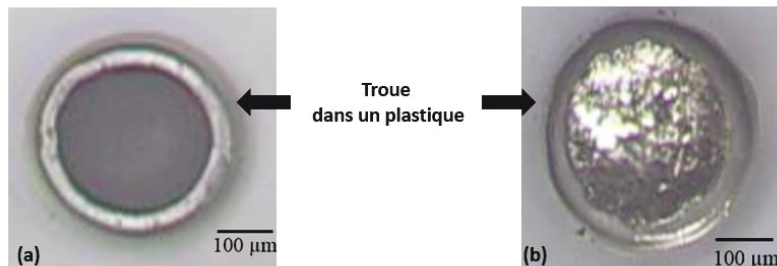


Figure 78 : (a) Un trou dans un plastique polycarbonate. (b) Le remplissage du trou par un époxy d'argent

- Dépôt d'une couche fine d'Ag à une température ambiante pendant une heure et une couche d' Au par voie chimique catalytique à 50°C pendant 50 min.

La figure 79 présente une photo microscopique de l'électrode après dépôt de l'argent (figure 79.a) et après dépôt d' Au (figure 79.b) :

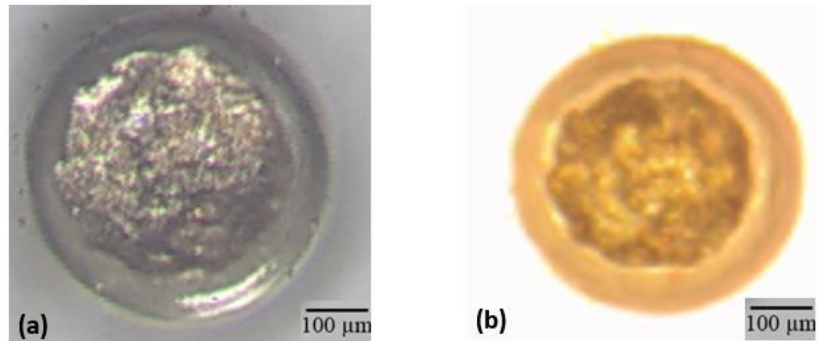


Figure 79 : (a) Électrode après dépôt d'argent. (b) Électrode après dépôt d'or.

On a caractérisé le dépôt réalisé par EDX, le spectre est présenté dans la figure 80-a, il montre un seul pic de l' Au aux environ de 2.1 eV. Les figures 80-b et 80-c montre des images de MEB avec les 2 grossissements 300 et 10k respectivement, les 2 images montrent une distribution uniforme et nanométrique de l' Au.

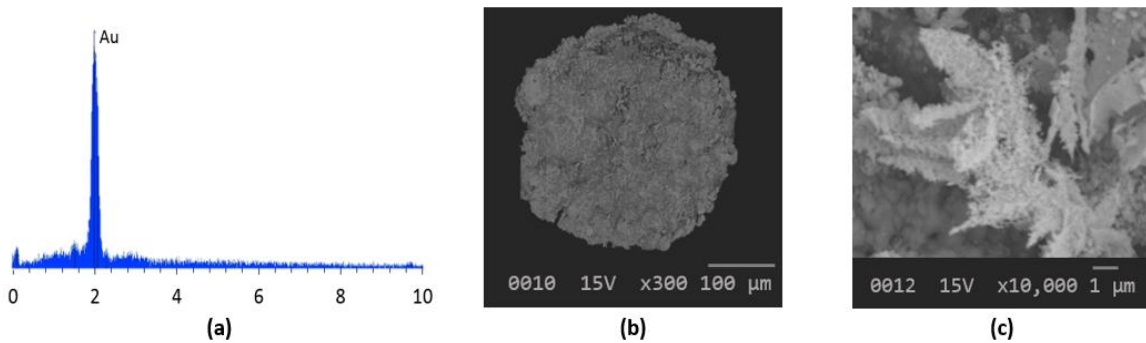


Figure 80 : (a) Spectre EDX de l'électrode. (b) photo du MEB avec un grossissement de 300x. (c) photo du MEB avec un grossissement de 10000x. Après dépôt d' Au.

- Le contact des électrodes est effectué avec des pistes métalliques sur une lame de verre de ITO fabriqué selon le même principe de lithographie décrit dans le paragraphe 2 pour la fabrication des moules microfluidique. La figure (81-a et 81-c) montre les connexions sur une lame de verre, la figure 81-c présente une photo du système fabriqué

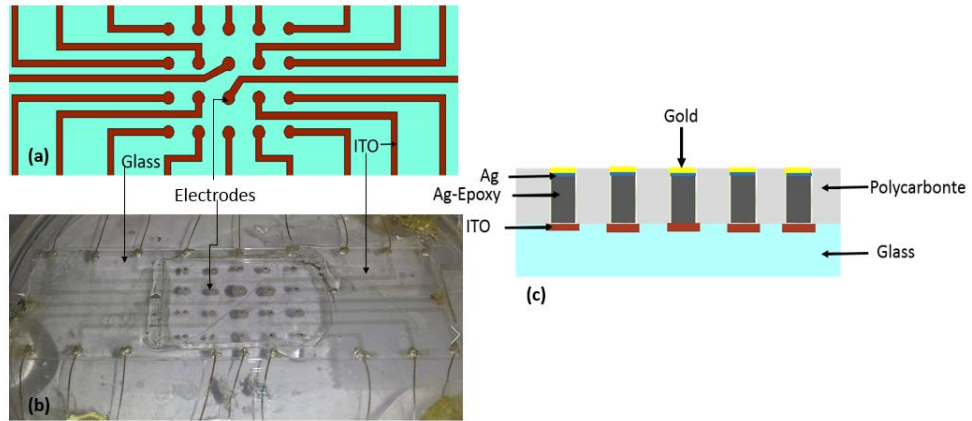


Figure 81 : (a) Schéma qui présente les pistes métalliques d'ITO sur une lame de verre. (b) Photo du système fabriqué. (c) Un schéma transversal de la structure fabriquée.

Ce procédé de fabrication a abouti à une déclaration d'invention déposée à l'université Laval [42].

Vu que la largeur des pistes métalliques est importante (0.5 mm), on ne peut pas avoir une matrice d'électrodes très dense.

4. Conclusion générale

Ce projet est une continuité logique des premiers travaux d'analyses dans la revue de la littérature dans l'imagerie électrochimique en phase liquide, il décrit la microfabrication d'une matrice de 200 microélectrodes sur un PCB élaboré par dépôts électrochimiques du Ni et de l'Au. Les premières expériences préliminaires ont abouti à la fabrication d'un canal qui peut contenir 6 électrodes linéaires, les résultats ont montré que la microfluidique offre un environnement adéquat pour contrôler le transport de la matière au voisinage des électrodes. Ainsi on a proposé de fabriquer des électrodes planaires avec des dimensions microscopiques pour une meilleure résolution spatiale. Un prétraitement est effectué sur le substrat de cuivre du PCB par électrodéposition d'une couche de Ni-Au. L'analyse MEB-EDX montre une morphologie continue et uniforme. Un procédé de fabrication de moule pour la réalisation des canaux microfluidiques est mis en place en utilisant une résine photosensible pour la conception du microcanal avec trois entrées de réactifs. Le défi était de faire le collage du canal sur le substrat de PDMS sur le PCB. Ceci a été effectué par le biais du dépôt par « spin coating » d'une fine couche de PDMS sur le bord de la matrice d'électrode. Ainsi, on a pu avoir un bon collage des 2 entités.

Durant la première phase du projet on a réalisé des images électrochimiques élémentaires selon les axes x et y pour chaque électrode. La dépendance entre la valeur du courant électrique mesurée et la concentration des molécules électrochimiques nous a permis de déduire la concentration des molécules électrochimiques au voisinage de chaque électrode, par le biais de la voltamétrie cyclique. Les images électrochimiques élémentaires ont montré un comportement similaire de neutralisation et une réponse forte et rapide au changement de l'environnement des électrodes.

L'intégration des images élémentaires par le biais de l'interface Matlab que nous avons développée, nous a permis de réaliser des images électrochimiques cartographiques de la distribution de ferrocyanure dans le canal microfluidique.

On a aussi confirmé que notre système est capable d'analyser la molécule de dopamine vu que le transfert de cette molécule est contrôlé par diffusion.

Enfin, on a développé un nouveau procédé de fabrication de matrice d'électrodes. Ce procédé permet d'obtenir des électrodes avec une surface d'or nano-structurée.

Contributions

Prix :

- Prix d'excellence « The Brian L Barge award for Excellence in Microsystems intégration » compétition organisée par la CMC microsystèmes en septembre 2014 pour la présentation technique intitulée : « Low Cost and High density Microelectrode Array on Polymer Substrate for Electrochemical Sensing and Particles Manipulation ».
- Prix du ReSMiQ-CMC pour la meilleure affiche dans le symposium annuel du réseau de recherche en microfluidique à l'université Laval en Mai 2015 intitulée : « Microfluidic Platform for In-vitro Detection of Dopamine, L-glutamic Acid, Glycine and Y-aminobutric Acid ».
- Prix de voyage pour présenter une affiche à l'université McGill dans la conférence des étudiants ECS (Electro-Chemical Society) en Juin 2014 intitulée : « Microelectrode Array and Computer-Controlled Multiplex System for In-Channel Electrochemical Detection »

Articles et conférences :

- Kara, A; Mathault, J; Greener, J; Miled, A; "Toward a New High-Throughput Electrochemical Imaging System for Dissolved Biomaterials"; International Conference on Analytical Sciences and Spectroscopy; Halifax, NS, Canada, Mai 2015.
- Kara, A; Mathault, J; Greener, J; Miled, A; "Electrochemical Imaging in Microchannels"; 98th Canadian Chemistry Conference and Exhibition; Ottawa, ON, Canada, Juin 2015.
- F. Paquet-Mercier, A. Kara, M. Safdar, N.B. Aznaveh, M. Zarabadi, J. Greener, "Development and calibration of a microfluidic biofilm growth cell with flow-templating and multi-modal characterization", IEEE-EMBC, 1557 - 1562, Aout. 2014,
- A. Kara, A. Miled, J. Greener, "Automated electrode array for in-channel electrochemical detection", IEEE-ICECS, Oct 2015. (accepté)
- A. Kara, J. Mathault, A. Reitz, J. Greener, A. Miled, "Microfluidics in-channel electrochemical imaging platform for neurotransmitter sensing", SPIE, 2015 (accepté).

- A.Kara, A.Reitz, J.Mathault, S. Mehoul-Loko, M. Amirdehi, A.Miled, J.Greener, "Introducing electrochemical imaging for microfluidics: a complete system approach" article en rédaction qui sera envoyé au journal Lab-on-Chip.

Déclarations d'inventions:

- Epoxy based through hole electrode ($100\mu m$) fabrication technique for electrochemistry measurement by electroplating of Ni and Ag. Accepté à l'université Laval en 2015.

Références Bibliographiques

- [1] M. D. M. Dryden, D. D. G. Rackus, M. H. Shamsi, and A. R. Wheeler, "Integrated digital microfluidic platform for voltammetric analysis," *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 18, pp. 8809–8816, 2013.
- [2] M. B. Fox, D. C. Esveld, a. Valero, R. Luttge, H. C. Mastwijk, P. V. Bartels, a. van den Berg, and R. M. Boom, "Electroporation of cells in microfluidic devices: a review," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 385, no. 3, pp. 474–485, 2006.
- [3] I. Dumitrescu, D. F. Yancey, and R. M. Crooks, "Dual-electrode microfluidic cell for characterizing electrocatalysts," *Lab Chip*, vol. 12, no. 5, p. 986, 2012.
- [4] M. A. Ali, P. R. Solanki, M. K. Patel, H. Dhayani, V. V. Agrawal, R. John, and B. D. Malhotra, "A highly efficient microfluidic nano biochip based on nanostructured nickel oxide," *Nanoscale*, vol. 5, no. 7, p. 2883, 2013.
- [5] M. Abdelgawad and a. R. Wheeler, "Rapid prototyping in copper substrates for digital microfluidics," *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 1, pp. 133–137, 2007.
- [6] C.-L. Choong, W. I. Milne, and K. B. K. Teo, "Review: carbon nanotube for microfluidic lab-on-a-chip application," *Int. J. Mater. Form.*, vol. 1, no. 2, pp. 117–125, 2008.
- [7] Z. Nie, C. a. Nijhuis, J. Gong, X. Chen, A. Kumachev, A. W. Martinez, M. Narovlyansky, and G. M. Whitesides, "Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices," *Lab Chip*, vol. 10, no. 4, pp. 477–483, 2010.
- [8] D. Erickson and D. Li, "Integrated microfluidic devices," *Anal. Chim. Acta*, vol. 507, no. 1, pp. 11–26, 2004.
- [9] R. S. Nicholson, "Theory and application of cyclic voltammetry for measurement of electrode reaction kinetics," *Anal. Chem.*, vol. 37, no. 11, pp. 1351–1355, Oct. 1965.
- [10] N. Wu and al, "Porous CuO–ZnO nanocomposite for sensing electrode of high-temperature CO solid-state electrochemical sensor," *Nanotechnology*, vol. 16, no. 12, pp. 2878–2881, 2005.
- [11] Y. Sadaoka, Y. Sakai, and T. Manabe, "CO₂ Sensing Characteristics of a Solid-state Electrochemical Sensor based on a Sodium Ionic Conductor," vol. 2, no. 9, pp. 945–947, 1992.
- [12] D. L. Williams, A. R. Doig, and A. Korosi, "Electrochemical-enzymatic analysis of blood glucose and lactate," *Anal. Chem.*, vol. 42, no. 1, pp. 118–121, 1970.
- [13] M. Yao, G. Shah, and J. Fang, "Highly Sensitive and Miniaturized Fluorescence Detection System with an Autonomous Capillary Fluid Manipulation Chip," *Micromachines*, vol. 3, no. 4, pp. 462–479, 2012.
- [14] S. Freire, "Interfaces between Microfluidics and Mass Spectrometry," *J Comput Phys*, pp. 849–854, 2008.
- [15] I. Barbulovic-Nad and A. R. Wheeler, "Cell Assays in Microfluidics," *Encycl. Microfluid. Nanofluidics*, pp. 209–216, 2008.

- [16] P. C. Ashok, G. P. Singh, H. a Rendall, T. F. Krauss, and K. Dholakia, "Waveguide confined Raman spectroscopy for microfluidic interrogation," *Lab Chip*, vol. 11, no. 7, pp. 1262–1270, 2011.
- [17] J. Wang and M. Wang, "Analytical electrochemistry" 2nd edition Wiley- VCH, NY, vol. 3. 2000.
- [18] A. J. Bard and L. R. Faulkner "fundamentals and applications," *Electrochemical methods* 2nd edition. University of Texas, USA. 2001.
- [19] R. S. Nicholson and I. Shain, "Theory of stationary electrode polarography: single scan and cyclic methods applied to reversible, irreversible, and kinetic systems," *Anal. Chem.*, vol. 36, no. 4, pp. 706–723, 1964.
- [20] P. Protti, P. Protti, *Introduction to Modern Voltammetric and Polarographic Analysis Techniques*, 4th edition. Italy: AMEL.srl, 2001.
- [21] W. Hamann and al "Electrochemistry," , 3rd edition, Wiley- VCH. Germany, *Wiley-VCH*, 1997.
- [22] C. W. Tobias and M. Eisenberg, "Diffusion and convection in electrolysis". A theoretical review" *J. Electrochem. Soc.*, vol. 99, no. 12, pp. 359–365, 1952.
- [23] S. Gouws, "Electrolysis". InTech, 2012.
- [24] R. S. Nicholson, "Theory and Application of Cyclic Voltammetry for Measurement of Electrode Reaction Kinetics," *Anal. Chem.*, vol. 37, no. 11, pp. 1351–1355, 1965.
- [25] R. J. Klingler and J. K. Kochi, "Heterogeneous rates of electron transfer. Application of cyclic voltammetric techniques to irreversible electrochemical processes," *J. Am. Chem. Soc.*, vol. 102, no. 14, pp. 4790–4798, 1980.
- [26] C. Lledo-Fernandez, "Electro-Catalytic Reactions," University of Hull, united kingdom, 2009.
- [27] H. Bruus, "Theoretical microfluidics," *Physics (College. Park. Md.)*, vol. 18, no. 33235, p. 363, 2008.
- [28] Y. Lin, and al "Carbon-ring microelectrode arrays for electrochemical imaging of single cell exocytosis: Fabrication and characterization," *Anal. Chem.*, vol. 84, no. 6, pp. 2949–2954, 2012.
- [29] M. G. Sullivan and al, "Automated electrochemical analysis with combinatorial electrode arrays," *Anal. Chem.*, vol. 71, no. 19, pp. 4369–4375, 1999.
- [30] K. Hayashi and al, "Real-time electrochemical imaging using an individually addressable multi-channel electrode," *Biosens. Bioelectron.*, vol. 15, no. 9–10, pp. 523–529, 2000.
- [31] N. B. Aznaveh, M. Safdar, G. Wolfaardt, and J. Greener, "Micropatterned biofilm formations by laminar flow-templating," *Lab Chip*, vol. 14, no. 15, p. 2666, 2014.
- [32] A. Kara, J. Mathault, J. Greener, and A. Miled, "Microfluidics in-channel electrochemical imaging platform for neurotransmitter sensing," *SPIE*, 2015.
- [33] S. Safari, P. R. Selvaganapathy, and M. J. Deen, "Microfluidic Reference Electrode with Free-Diffusion Liquid Junction," *J. Electrochem. Soc.*, vol. 160, no. 10, pp. B177–B183, 2013.

- [34] Z. Nie, C. A. Nijhuis, J. Gong, X. Chen, A. Kumachev, A. W. Martinez, M. Narovlyansky, and G. M. Whitesides, "Electrochemical sensing in paper-based microfluidic devices," *Lab Chip*, vol. 10, no. 4, pp. 477–483, 2010.
- [35] R. P. Baldwin, and al, "Fully Integrated On-Chip Electrochemical Detection for Capillary Electrophoresis in a Microfabricated Device," *Anal. Chem.*, vol. 74, no. 15, pp. 3690–3697, 2002.
- [36] D. J. Harrison, A. Manz, Z. Fan, H. Luedi, and H. M. Widmer, "Capillary electrophoresis and sample injection systems integrated on a planar glass chip," *Anal. Chem.*, vol. 64, no. 20, pp. 1926–1932, 1992.
- [37] E. Kamholz and P. Yager, "Theoretical analysis of molecular diffusion in pressure-driven laminar flow in microfluidic channels.," *Biophys. J.*, vol. 80, no. 1, pp. 155–160, 2001.
- [38] J. M. Nugent, K. S. V Santhanam, a. Rubio, and P. M. Ajayan, "Fast Electron Transfer Kinetics on Multiwalled Carbon Nanotube Microbundle Electrodes," *Nano Lett.*, vol. 1, no. 2, pp. 87–91, 2001.
- [39] V. Gau, S.-C. Ma, H. Wang, J. Tsukuda, J. Kibler, and D. a Haake, "Electrochemical molecular analysis without nucleic acid amplification.," *Methods*, vol. 37, no. 1, pp. 73–83, 2005.
- [40] C. Amatore, N. Da Mota, C. Sella, and L. Thouin, "General concept of high-performance amperometric detector for microfluidic (bio)analytical chips," *Anal. Chem.*, vol. 80, no. 13, pp. 4976–4985, 2008.
- [41] M. Schlesinger and M. Paunovic, Eds., *Modern Electroplating*. Hoboken, NJ, USA: John Wiley & Sons, Inc., 2010.
- [42] A. Kara, J. Greener, and A. Miled, "Thermoplastic Epoxy based Micro Electrode Array for Electrochemistry Analysis," Laval university, 2015.