THÈSE DE DOCTORAT

de l'Université de recherche Paris Sciences et Lettres
PSL Research University

Préparée à l'ESPCI

Développement d'un outil EHD microfluidique pour la mesure de propriétés physico-chimiques

Ecole doctorale n°397

PHYSIQUE ET CHIMIE DES MATERIAUX

Spécialité PHYSICO-CHIMIE

COMPOSITION DU JURY :

Mme. SALSAC Anne-Virginie
UTC, Rapporteur

M. SANDRE Olivier
ENSCBP, Rapporteur

M. BICO José
ESPCI, Examinateur

Mme. LEMAIRE Elisabeth
Institut de Physique de Nice
Présidente du jury

Mme. COLIN Annie
ESPCI, Directrice de thèse

M. PANNACCI Nicolas
IFP Energies nouvelles, Promoteur

Mme. DALMAZZONE Christine
IFP Energies nouvelles, Invitée

Soutenue par Estelle **ANDRÉ**
le 19 octobre 2018

Dirigée par **Annie COLIN**

ESPCI PARIS PSL RESEARCH UNIVERSITY PARIS

Remerciements

Je tiens d'abord à remercier Véronique Ruffier-Meray et Véronique Henriot qui m'ont accueillie pour mes trois années de thèse au sein du département Physico-Chimie des Matériaux et Fluides Complexes de la direction Chimie et Physico-Chimie Appliquées d'IFP Energies nouvelles, sur le site de Rueil-Malmaison.

Je voudrais également remercier Annie Colin, ma directrice de thèse. Je la remercie pour l'aide qu'elle m'a apportée pendant ces trois années via nos réunions constructives et ses remarques scientifiques toujours très pertinentes.

Je remercie aussi Nicolas Pannacci, mon promoteur de thèse qui m'a fait découvrir la microfluidique. Merci de m'avoir offert l'opportunité de faire cette thèse et de m'avoir accompagnée pendant ces trois années.

Je remercie également Christine Dalmazzone qui m'a aidée pendant ma thèse via son expertise en physico-chimie des fluides complexes et ses conseils toujours très avisés.

Je tiens aussi à remercier Maxime Moreau pour le module d'analyse d'image qui m'a été d'une grande aide pour mon projet de thèse.

Je remercie également toutes les personnes qui m'ont aidée et formée aux différents appareils de laboratoire, en particulier Corinne Burnichon, Brigitte Betro et Nathalie Palazzo. Je remercie plus particulièrement Sylvie Perrin pour ses conseils précieux et nos nombreuses discussions.

Je voudrais à présent remercier tous les membres présents ou passés du département R071 pour leur accueil et en particulier ceux que je n'ai pas encore cités c'est-à-dire Éric, Xavier, Marie-Hélène, Nicolas, Didier, Claire, Christophe, Matthias, Fabiola, Chloé, Antoine, Sylvie, Céline, Aurélie, Marie, Anne, Laurence, Alain, Isabelle, Philippe, Bruno ainsi que Ayako, Elie, Théo, Maria, Loick et tous ceux que je viens d'oublier ! Merci aussi à Sylvie Gouzien pour son aide et son efficacité à toute épreuve.

Je voudrais maintenant remercier le département Biotechnologies et en particulier Etienne Jourdier et Fadhel Ben Chaabane avec qui j'ai aussi pu collaborer sur un sujet tout aussi passionnant qu'est la morphologie des champignons filamenteux.

Marion, j'ai adoré travailler avec toi sur ce sujet même si ça n'a pas été tous les jours facile. Ces trois années de thèse n'auraient pas été les mêmes sans nos nombreuses discussions pendant diverses pauses café ou autour d'une petite bière. Je te remercie pour ton amitié, ton sens de l'humour et pour tout le reste.

Je tiens à remercier Julie. Merci de m'avoir supportée pendant ces deux (très longues pour toi !) années pendant lesquelles nous avons partagé le bureau H156 ainsi que notre amour pour le chocolat. Tu as toujours été présente que ce soit dans les bons ou les mauvais moments, pour des discussions scientifiques ou des potins autour d'un verre de vin.
Je remercie Emilie qui a aussi dû partager mes moments de fous rires et supporter ceux où je riais un peu moins.
Je remercie aussi Mona pour sa bonne humeur et ses nombreuses visites à notre bureau souvent agrémentées d'une histoire surprenante et d'un petit gâteau.

Je n'oublie pas mes autres collègues thésards, en particulier Ariane (et son duel contre une certaine burette !) ainsi que Charlotte (ma première cobureaute !), Claire, Virginie et Arthur avec lesquels nous nous sommes souvent retrouvés autour d'une ou deux bières (ou plus !) et mes partenaires de pause Laetitia, Vincent, Tamiris, François, Gwladys et Rémi.

J'en arrive maintenant à ma famille et mes amies de plus longue date. Merci à mes parents qui m'ont toujours soutenue tout au long de mes études ainsi qu'à mon grand-frère Emmanuel et mon frère jumeau Florian. Je remercie enfin Sam et Lénaïg mes amies de l'A7 qui ont toujours été présentes malgré la distance.

Table des matières

Introduction 7
Chapitre I Etat de l'art 11
I.1 La microfluidique digitale pour l'expérimentation haut-débit 11
I.1.1 Génération de gouttes en microfluidique 11
I.1.1.1 Génération passive de gouttes 11
I.1.1.1.1 Géométries de formation de gouttes 12
I.1.1.1.1.1 Jonction T 12
I.1.1.1.1.2 Co-courant 13
I.1.1.1.1.3 Flow-focusing 13
I.1.1.1.2 Régimes d'écoulement 14
I.1.1.2 Génération active de gouttes 15
I.1.2 Détection de gouttes 15
I.1.1 Manipulation de gouttes 16
I.1.1.1 Tri de gouttes 16
I.1.1.2 Coalescence de gouttes 17
I.1.1.3 Fractionnement de gouttes 18
I.1.1.4 Immobilisation des gouttes 19
I.1.2 Exemple de système totalement intégré 20
I.2 Rhéologie et mesure de viscosité 22
I.2.1 Rhéologie des fluides newtoniens et non newtoniens 22
I.2.1.1 Définition d'un fluide newtonien 22
I.2.1.2 Comportements des fluides non-newtoniens 23
I.2.1.2.1 Fluides à comportement indépendant du temps 23
I.2.1.2.2 Les fluides au comportement dépendant du temps 24
I.2.1.2.3 Viscoélasticité linéaire 25
I.2.1.3 Rhéomètres classiques 26
I.2.2 Microviscosimètres dans la littérature 29
I.2.2.1 Viscosimètres de cisaillement 29
I.2.2.1.1 Viscosimètres capillaires 29
I.2.2.1.2 Viscosimètres par capillarité 30
I.2.2.1.3 Viscosimètres co-courant 31
I.2.2.1.4 Viscosimètres par mesure de vitesse 32

I.2.2.1.5 Viscosimètres par électromouillage 33
I.2.2.1.6 Viscosimètres par vibration d'éléments 33
I.2.2.2 Viscosimètres en gouttes 34
I.2.2.2.1 Viscosimétrie par mesure de diffusion 34
I.2.2.2.2 Viscosimétrie par mesure de vitesse en gouttes 35
I.2.2.2.3 Viscosimétrie grâce à une jonction T 35
I.3 Déformation d'une goutte sous contrainte visqueuse 37
I.3.1 Taylor, les premières expériences et les premiers modèles 37
I.3.2 Déformation d'une goutte en microfluidique – Résultats expérimentaux et de simulations 38
I.3.2.1 Etudes expérimentales 38
I.3.2.2 Etudes numériques 41
I.4 Démarche de la thèse 44
Chapitre II Matériels et méthodes 45
II.1 Fluides et caractérisation 45
II.1.1 Fluides étudiés 45
II.1.1.1 Les fluides newtoniens 45
II.1.1.2 Les non-newtoniens - HPAM 45
II.1.2 Rhéologie des fluides newtoniens 46
II.1.3 Rhéologie des fluides non-newtoniens 48
II.1.4 Tension interfaciale 52
II.2 Microfabrication 58
II.3 Montage expérimental 60
II.4 Analyse d'image et extraction des données 61
II.4.1 plug im! 61
II.4.2 Programme Matlab 63
II.4.2.1 Extraction de la déformation maximale de la goutte 63
II.4.2.2 Extraction de la vitesse de la goutte à la position de la déformation maximale 64
II.4.2.3 Extraction du temps de relaxation de la goutte 66
II.4.2.4 Extraction du rayon de la goutte 67
II.4.2.5 Extraction du temps de convection 67
Chapitre III Déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique 69
III.1 Design du microsystème 69
III.1.1 Choix de la géométrie 69

III.1.2 Description des différentes géométries 69
III.2 Temps de relaxation d'une goutte déformée dans une chambre d'expansion microfluidique 72
III.2.1 Intégration du modèle de Taylor 72
III.2.2 Expression du temps de relaxation expérimental 75
III.3 Déformation maximale d'une goutte à l'entrée d'une chambre d'expansion microfluidique 77
III.3.1 Déformation d'une goutte en milieu confiné (B) 77
III.3.2 Déformation d'une goutte en milieu déconfiné (C) 81
III.3.2.1 Expression de la corrélation 81
III.3.2.2 Calculs d'incertitudes sur la mesure de la déformation maximale 83
III.3.2.2.1 Calcul d'incertitude sur les exposants de la corrélation 83
III.3.2.2.2 Incertitude sur la mesure de la déformation maximale 83
III.3.2.2.3 Calcul d'incertitude sur la valeur du rapport de viscosités 84
III.3.2.2.4 Discussion sur les calculs d'incertitudes 85
III.3.2.3 Essais en présence de tensioactifs 85
III.3.2.4 Essais en inversant la composition des phases 87
III.4 Conclusion 87
Chapitre IV Déformation de gouttes en présence de polymère 89
IV.1 Déformation d'une goutte en présence d'un polymère newtonien 89
IV.1.1 Systèmes étudiés 89
IV.1.2 Mesure de la déformation maximale 90
IV.1.3 Utilisation de la déformation maximale pour réaliser des mesures de viscosité 90
IV.1.4 Mesure du temps de relaxation 92
IV.2 Déformation d'une goutte en présence d'un polymère rhéofluidifiant 93
IV.2.1 Calcul du taux de cisaillement 93
IV.2.1.1 Ecoulement de Poiseuille 93
IV.2.1.2 Recirculations internes d'une goutte dans un écoulement de Poiseuille 95
IV.2.2 Production de gouttes contenant un fluide non-newtonien 98
IV.2.3 Essais de déformation de gouttes 99
IV.2.4 Mesure du temps de relaxation 102
IV.3 Conclusion 102
Chapitre V Outil microfluidique haut-débit 103
V.1 Mélange en microfluidique 103
V.1.1 Les différentes méthodes 103

V.1.2 La géométrie « chevrons » 104
V.2 Mélange à l'aide de chevrons et déformation de gouttes 106
V.2.1 Mélange de solutions aqueuses de glycérol 106
V.2.2 Déformation de gouttes dans un microsystème avec mélangeur 108
V.3 Conclusion 109
Conclusion et perspectives 111
Références 115
Table des Figures 123
Table des Tableaux 127
Annexes 129

Introduction

La microfluidique constitue l'étude et la manipulation de fluides qui s'écoulent dans des canaux de taille micrométrique. Elle concerne de faibles volumes de fluides typiquement de 10^{-9} à 10^{-18} L [1].
Les premiers systèmes microfluidiques ont été développés dans les années 80 pour réaliser de la chromatographie liquide et gazeuse [1]. Les avancées réalisées en microfluidique ont été poussées par des besoins émanant de différents domaines tels que la biologie moléculaire pour le séquençage de l'ADN ou encore celui de la Défense pour la détection sur le terrain de faibles quantités de produits chimiques. L'invention de la lithographie molle permettant un prototypage rapide pour la fabrication des microstructures a permis de promouvoir ce nouveau domaine à partir des années 2000 [2].

La microfluidique présente de nombreux avantages les principaux étant les suivants : de faibles quantités de produits et des temps de manipulation réduits. En effet, les procédures standards de laboratoire que sont le pipetage, le mélange, la centrifugation, l'incubation, … nécessitent beaucoup d'argent, de matériel et de temps. L'utilisation de la microfluidique permet une réduction du volume de l'échantillon, une analyse haut-débit, des temps de réaction réduits, un meilleur contrôle des écoulements et bien sûr une diminution des coûts. La microfluidique trouve ainsi de nombreuses applications dans de nombreux domaines faisant intervenir la biologie et la chimie [3] comme le diagnostic médical [4], l'analyse environnementale [5] ou encore l'énergie [6].

Une sous-catégorie de la microfluidique est l'étude d'écoulements diphasiques (typiquement eau et huile). Des gouttes monodisperses d'un volume de l'ordre du nL pouvant aller jusqu'au fL sont générées dans une phase continue immiscible avec la phase à disperser à une fréquence pouvant aller jusqu'à 30 000 Hz [7]. La microfluidique en gouttes ou encore microfluidique digitale permet une isolation chimique et physique du contenu de la goutte ce qui permet d'éviter une contamination croisée et l'encrassement des canaux. Grâce à cette technique, des gouttes au volume contrôlé sont obtenues, permettant leur manipulation fiable et répétable. Ainsi, une analyse haut-débit et automatique de leur contenu devient alors possible.
En effet, chaque goutte peut être considérée comme un réacteur miniature. Ainsi des cellules biologiques ou des réactifs chimiques peuvent y être encapsulées. D'autres réactifs chimiques peuvent ensuite être ajoutés ou la goutte peut être exposée à différentes sollicitations comme des UV, une variation de température ou encore différentes techniques de manipulations électriques, acoustiques, magnétiques, hydrodynamiques, …. De plus, la réduction du volume de l'échantillon permet une augmentation de sa concentration et donc de la sensibilité de l'analyse. Comme application, on peut

citer de la cristallisation de protéines [8], de la synthèse inorganique [9] ou encore de la réalisation de tests chimiques ou biologiques [10].

Cela fait maintenant plusieurs années que la microfluidique et en particulier la microfluidique digitale est citée comme méthode prometteuse dans le domaine de l'expérimentation haut-débit (EHD).
L'expérimentation haut-débit est une technique qui permet de réaliser un grand nombre d'essais plus rapidement et plus facilement qu'avec les techniques classiques. Cette technique est apparue dans les années 50 dans le domaine de la biologie [11].
L'expérimentation haut-débit peut ainsi être utilisée pour déterminer quel est le meilleur catalyseur, le meilleur réactif ou le meilleur solvant à utiliser pour une réaction donnée. Il est aussi possible d'utiliser une large gamme de réactifs dans des conditions données pour obtenir une multitude de produits comme c'est le cas dans les grandes industries pharmaceutiques.
Le but de ces techniques de criblage est de tester l'efficacité d'un large panel de molécules et de leurs combinaisons contre du matériel biologique (cellules ou protéines) touché par une certaine maladie (diabète, cancer,…) [12].

Ces essais de criblage sont réalisés en routine par des robots sur des plaques de microtitration comportant communément de 96 à 384, voire 1536 puits. Les techniques les plus avancées de criblage haut-débit ont déjà subi une première étape de miniaturisation en augmentant le nombre de puits et en réduisant le volume d'échantillon nécessaire et le temps de manipulation. On estime que l'utilisation de techniques haut-débit permet de faire gagner 130 millions de dollars et 9 mois sur la commercialisation d'un nouveau médicament [13].

L'expérimentation haut-débit, très répandue dans les laboratoires de biologie, l'est beaucoup moins dans les autres laboratoires comme ceux de chimie par exemple. Seulement quelques laboratoires industriels pratiquent l'expérimentation haut-débit en routine pour par exemple préciser des mécanismes de réaction, déterminer des solubilités, identifier des sels de molécules organiques, …
Cette différence d'utilisation entre ces deux domaines vient principalement des challenges technologiques qui en découlent. En effet, en biologie, les essais sont principalement réalisés en milieu aqueux à température ambiante alors qu'en chimie ils peuvent être réalisés à des températures beaucoup plus élevées et impliquer l'utilisation de solvants. Ainsi se pose le problème de la compatibilité des matériaux et celui de l'évaporation des solvants qui constitue l'une des principales limites des techniques haut-débit avec la précision sur le volume d'échantillon délivré par le robot [14].

Ainsi un bon candidat pour pallier ces limites est la microfluidique digitale car elle permet la miniaturisation en augmentant les débits, réduisant les coûts et évitant les problèmes d'évaporation. Néanmoins, alors qu'il est très facile de rajouter des nouveaux équipements accessibles par le bras robotique des installations haut-débit traditionnelles, le design complet d'une puce microfluidique incluant toutes les étapes désirées doit être prévu et optimisé à l'avance. Ces étapes incluent la formation des gouttes, leur détection et leur manipulation (mélange, tri, coalescence, fractionnement, immobilisation, …). L'étape de détection se base sur la mesure d'une propriété particulière de l'échantillon contenu dans la goutte. Souvent, des molécules fluorescentes sont utilisées pour détecter une activité biologique ou chimique. La sélection s'effectue alors grâce à une mesure optique. Cependant, on peut vouloir ouvrir cette sélection vers d'autres propriétés physico-chimiques comme la tension interfaciale ou encore la viscosité qui constituent des grandeurs employées de façon généralisée dans toute structure de recherche en physico-chimie appliquée.

A IFPEN, cette approche haut-débit est effective dans divers domaines comme la catalyse. La faisabilité de mesures haut-débit de tensions interfaciales en microfluidique a été abordée dans la thèse de Marie Moiré [15]. Nous souhaitons considérer la possibilité d'une telle démarche en microfluidique digitale : celle-ci pourra apporter des éléments supplémentaires sur la mesure de la tension interfaciale, mais nous voulons explorer principalement, de façon plus novatrice, la possibilité d'une mesure de viscosité.

L'objectif de la thèse est la mise en place d'une puce pour la mesure haut débit de la viscosité en microfluidique digitale. Le but est d'obtenir une mesure réalisable rapidement sur différents échantillons de compositions différentes et de démontrer l'applicabilité de la mesure à des fluides complexes.

Travailler au sein d'un établissement tel que IFPEN permet de bénéficier d'un environnement motivant favorisant le travail collaboratif entre ses différents départements de recherche. C'est dans ce cadre que je me suis aussi investie dans un autre projet couplant microfluidique digitale et biotechnologies. Ce travail a donné lieu au dépôt d'un brevet [16] et à un article en cours de rédaction (voir Annexes).

Dans une première partie d'état de l'art, nous présenterons les différents aspects de l'expérimentation haut-débit via la microfluidique digitale. Puis nous introduirons les notions générales de rhéologie et nous présenterons les microviscosimètres répertoriés dans la littérature Enfin nous nous intéresserons au phénomène que nous avons choisi pour mesurer la viscosité : la déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique.

Dans une deuxième partie, nous présenterons les matériels et méthodes mis en jeu pour réaliser cette étude. Dans une troisième partie, nous évaluerons la possibilité de réaliser des mesures de viscosité par l'analyse de la déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique sur des fluides modèles newtoniens. Dans une quatrième partie, nous testerons la validité de l'approche sélectionnée sur des systèmes plus complexes. Dans une cinquième partie, après nous être concentrés sur la partie détection de notre système microfluidique haut-débit, nous nous intéresserons à une brique supplémentaire, le mélange.

Chapitre I Etat de l'art

Dans ce chapitre, nous allons présenter les différents aspects de l'expérimentation haut-débit via la microfluidique digitale. Puis nous introduirons les notions générales de rhéologie et nous présenterons les microviscosimètres répertoriés dans la littérature Enfin nous nous intéresserons au phénomène que nous avons choisi pour mesurer la viscosité, la déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique.

I.1 La microfluidique digitale pour l'expérimentation haut-débit

Nous détaillerons dans cette partie les différentes briques qui peuvent constituer un système microfluidique haut-débit en gouttes. Nous ne présenterons pas ici le mélange car il s'agit de l'étape que nous avons choisi de développer (voir Chapitre V). Nous finirons par deux exemples de systèmes intégrant plusieurs de ces étapes.

I.1.1 Génération de gouttes en microfluidique

Le point de départ de la microfluidique digitale est la formation des gouttes constituant des microréacteurs. Une production contrôlée de gouttes est indispensable dans le domaine de l'expérimentation haut-débit pour faciliter leur manipulation et avoir une bonne précision sur leur contenu. Dans cette partie, nous allons présenter les différentes techniques de génération de gouttes.

I.1.1.1 Génération passive de gouttes

La génération de gouttes en microfluidique peut se faire de manière passive par l'introduction de deux fluides immiscibles dans un système microfluidique présentant une géométrie spécifique. La phase à disperser est introduite dans un microcanal où elle rencontre la phase continue. Sous un régime d'écoulement spécifique, un jet de phase dispersée se forme dans la phase continue et des petites perturbations dans l'écoulement vont provoquer des ondulations sinusoïdales au niveau du jet de phase dispersée. Ces ondulations s'amplifient pour finalement casser le jet en gouttes. Ce phénomène, appelé l'instabilité de Rayleigh-Plateau est à l'origine de la formation des gouttes dans les systèmes microfluidiques [17].

La géométrie de la jonction avec les débits et les propriétés physiques des fluides (tension interfaciale et viscosité) déterminent localement les caractéristiques de l'écoulement qui vont contrôler la déformation de l'interface et conduire éventuellement à la formation d'une goutte.

Les nombres adimensionnels sont souvent utilisés lors de l'étude de phénomènes physiques car ils permettent de caractériser l'importance relative des différents effets impactant le phénomène étudié. Parmi tous les nombres adimensionnels, le nombre le plus important pour la formation des gouttes est le nombre capillaire :

$$\mathrm{Ca} = \frac{\eta_c u}{\gamma} \quad (1)$$

Avec η_c la viscosité de la phase continue, u sa vitesse et γ la tension interfaciale. Le nombre capillaire compare l'importance relative entre les forces visqueuses et capillaires. Ce nombre varie entre 10^{-3} et 10 pour la plupart des microsystèmes de formation de gouttes [18]. D'autres nombres adimensionnels sont aussi souvent utilisés. Il s'agit de λ et ϕ qui représentent le ratio entre respectivement les viscosités et les débits des phases dispersée et continue.

Le nombre de Reynolds compare l'importance relative entre l'inertie et les forces visqueuses, il est défini de la manière suivante :

$$\mathrm{Re} = \frac{\rho u D_H}{\eta} \quad (2)$$

Avec ρ la masse volumique de la phase considérée et D_H le diamètre hydraulique du canal. Ce nombre est classiquement très inférieur à 1 dans les systèmes microfluidiques.

I.1.1.1.1 Géométries de formation de gouttes

Les géométries de type : jonction T, co-courant et flow-focusing sont les trois géométries les plus utilisées en microfluidique pour la production de gouttes. Les tailles des gouttes obtenues sont généralement caractérisées par leur coefficient de variation CV qui est défini par le rapport de l'écart-type sur la moyenne des diamètres des gouttes de la population.

I.1.1.1.1.1 Jonction T

La jonction T (Figure 1) a été employée pour la première fois en 2001 par Thorsen *et al.* [19] pour produire des gouttes d'eau dans de l'huile. Pour cela, ces deux fluides immiscibles sont injectés dans deux canaux perpendiculaires. La production de gouttes se fait là où les deux canaux se rencontrent. Cette géométrie est très utilisée car elle permet facilement de former des gouttes monodisperses (CV < 2 %). Des variantes de cette géométrie existent où l'on fait varier l'angle entre les deux canaux d'arrivée des fluides. Il est aussi possible de faire arriver les fluides face à face.

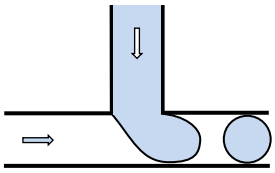


Figure 1 Géométrie jonction T

I.1.1.1.1.2 Co-courant

Comme son nom l'indique, dans la géométrie co-courant (Figure 2), les phases dispersée et continue constituent des courants parallèles au moment de leur rencontre dans le canal. Cette géométrie a été employée pour la première fois par Umbanhowar *et al.* [20]. Les géométries co-courant peuvent être soit planes (microsystèmes fabriqués par photolithographie), soit tridimensionnelles coaxiales (capillaires imbriqués), la géométrie coaxiale présentant l'avantage de limiter les problèmes de mouillage grâce à l'absence de ligne triple. Les gouttes formées en régime d'écoulement dripping présentent généralement un coefficient de variation en tailles inférieur à 3 %.

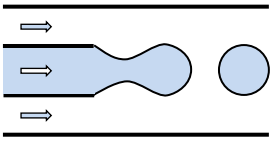


Figure 2 Géométrie co-courant

I.1.1.1.1.3 Flow-focusing

Pour la géométrie flow-focusing (Figure 3), les gouttes sont formées au niveau d'une jonction en croix ou similaire. La phase dispersée arrive par la branche de gauche et la phase continue par les branches verticales. La branche droite présente généralement une restriction. Anna *et al.* [21] furent les premiers à intégrer cette géométrie dans un système microfluidique. Cette géométrie permet de former des gouttes monodisperses présentant un coefficient de variation inférieur à 5 %.

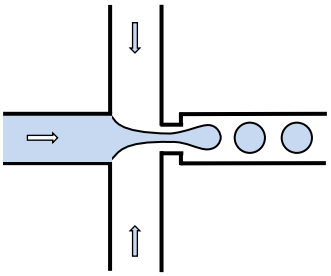


Figure 3 Géométrie flow-focusing

I.1.1.1.2 Régimes d'écoulement

Lors de la formation passive de gouttes, l'écoulement est contrôlé soit par des pousse-seringues soit par des sources de pression. Différents régimes d'écoulement peuvent alors être observés : squeezing, dripping, jetting, tip-streaming et tip-multi-breaking (Figure 4). Le passage d'un régime à l'autre peut se faire en faisant varier le nombre capillaire. Les 3 premiers régimes ont été observés en jonction-T, co-courant et flow-focusing. Les deux derniers régimes n'ont pas été observés dans des géométries en jonction-T.

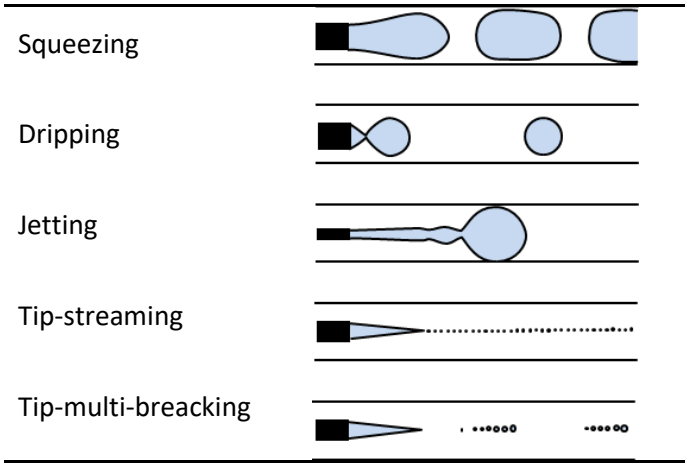


Figure 4 Schémas des différents modes de formation de gouttes en géométrie co-courant

Le régime « squeezing » est principalement contrôlé par le confinement dans les canaux. Généralement, les gouttes formées sous ce régime d'écoulement sont plus larges que la taille du canal et monodisperses. Ce mode apparait dans des jonctions-T pour des nombres capillaires inférieurs à 10^{-2} [22]. La phase dispersée obstrue complètement le canal au moment de la formation de la goutte. La goutte est confinée dans le canal et ressemble plus à un plug qu'à une sphère. Il est intéressant de noter que pour ce régime, le volume de la goutte est proportionnel au rapport des débits des phases dispersée et continue indépendamment de la viscosité de la phase continue [23].

Sous le régime de gouttes dripping, les gouttes sont plus petites que la taille du canal et monodisperses. Contrairement au régime squeezing, les gouttes se forment avant que la phase dispersée n'obstrue le canal. La taille des gouttes est principalement contrôlée par le nombre capillaire. On passe du régime dripping au régime jetting en augmentant le débit de la phase dispersée ou celui de la phase continue. Un jet de phase dispersée se terminant par des gouttes (instabilité de Rayleigh-Plateau) est alors émis. Sous le régime jetting, les gouttes sont polydisperses.

Concernant le régime tip-streaming, la phase dispersée est déformée en forme de cône au bout duquel de très petites gouttes monodisperses se forment. En tip-multi-breaking, des gouttes sont formées suivant des séquences périodiques au bout d'un cône de phase dispersée. Contrairement au cas du régime tip-streaming, ici le cône est instable.

I.1.1.2 Génération active de gouttes

Les systèmes générateurs de gouttes passifs trouvent spontanément leur point de fonctionnement (taille de gouttes et fréquence de formation) selon les conditions d'écoulement (géométrie, débit, pression) et les propriétés des fluides employés. Cependant, la production de gouttes peut aussi se faire de manière active grâce à l'introduction d'une énergie supplémentaire qui amène le contrôle de la formation des gouttes à un niveau supérieur. Cette énergie supplémentaire peut être de nature électrique, magnétique, acoustique, optique, thermique ou encore mécanique [24]. Elle permet soit d'introduire une force supplémentaire, soit de modifier les paramètres intrinsèques des fluides et par exemple de jouer sur l'équilibre entre forces visqueuses et capillaires. Cette méthode permet d'offrir plus de flexibilité sur le contrôle de la taille des gouttes et de leur fréquence de formation.

I.1.2 Détection de gouttes

Détecter la présence d'une goutte dans une partie spécifique du microsystème peut se révéler important lorsque l'on souhaite suivre des phénomènes dépendant du temps ou qui nécessitent une manipulation ultérieure de la goutte comme le tri. Détecter les gouttes permet surtout de les sélectionner et d'automatiser l'ensemble du système. En plus de détecter leur présence et de donner une indication sur leur taille, il est intéressant de pouvoir analyser leur contenu. Des techniques de spectrométrie de masse [25], spectrométrie Raman [26] ou d'électrophorèse capillaire [27] ont déjà été couplées avec des systèmes microfluidiques. Cependant, les deux techniques principales restent des techniques électriques et optiques.

Ainsi les gouttes peuvent être détectées de manière électrique avec par exemple la présence d'électrodes implantées dans le microsystème [28]. Si la phase dispersée est aqueuse, elle est souvent plus conductrice que la phase continue composée d'huile. Ainsi lorsqu'une goutte entre en contact avec les deux électrodes, un changement de résistance est enregistré. Cependant, le fait que chaque goutte entre en contact avec les électrodes peut générer de la contamination croisée.

Les techniques optiques détectent la lumière transmise ou émise par les gouttes à différentes longueurs d'onde. Des fibres optiques ont été intégrées à un microsystème pour détecter les gouttes [29].

Des mesures de fluorescence ont aussi été utilisées pour détecter les gouttes et leur contenu. On peut en particulier citer le système FADS (Fluorescent Activated Droplet Sorting) qui est capable de détecter des cellules dans des gouttes et de les trier à une fréquence pouvant aller jusqu'à 2000 Hz [30]. Cependant cette méthode requiert des équipements encombrants et couteux comme un faisceau laser et différentes lentilles.

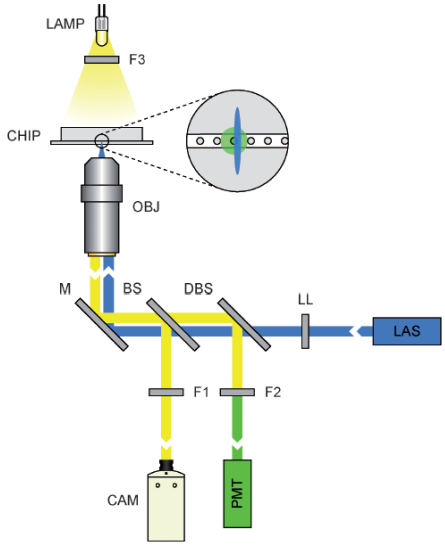


Figure 5 Schéma de principe du dispositif optique du FADS [30]

La méthode la plus simple et répandue est l'intégration d'une caméra rapide CCD à un microscope. Par analyse d'image, il devient alors possible de mesurer leur taille, leur fréquence d'apparition, l'intensité de la lumière diffusée par son contenu… Cependant, une analyse en temps réel nécessite une importante puissance de calcul et implique une limitation des débits.

Jakiela *et al.* [31] ont utilisé une caméra linéaire pour détecter des gouttes dans un canal microfluidique. La caméra linéaire enregistre moins de pixels, 2048 précisément, au lieu de plusieurs mégapixels enregistrés avec des caméras CCD standard, réduisant ainsi la puissance de calcul requise et permettant donc l'augmentation du débit. En analysant l'intensité lumineuse, la caméra linéaire peut détecter les extrémités avant et arrière de la goutte, fournissant ainsi des informations sur la vitesse et le volume des gouttes, ainsi que leur fréquence d'apparition.

I.1.1 Manipulation de gouttes

I.1.1.1 Tri de gouttes

Une fois que les gouttes ont été détectées et leur contenu éventuellement identifié, différentes techniques de tri existent pour pouvoir sélectionner les gouttes d'intérêt et rejeter les autres. Classiquement, la résistance hydraulique de la sortie principale est diminuée pour que les gouttes s'y

dirigent spontanément sans sollicitation extérieure. Ce tri peut se faire de manière passive sur la taille des gouttes par exemple en jouant sur le profil de l'écoulement et les différentes résistances hydrodynamiques des canaux [32]. Ce tri peut aussi se faire de manière active où la mesure d'une propriété de la goutte va déclencher ou non une réaction permettant de diriger une goutte vers un canal microfluidique choisi. La déviation vers un autre canal de sortie des gouttes peut se faire de manière mécanique avec l'intégration de valves au microsystème [33, 34] ou encore grâce à des ondes acoustiques [35].

La technique la plus prometteuse reste la diélectrophorèse. Ahn *et al.* [36] ont été les premiers à proposer cette technique. Les gouttes sont déviées au niveau d'une jonction en Y grâce à la création d'un champ électrique.

Des gouttes contenant des particules magnétiques peuvent aussi être facilement manipulées grâce à un champ magnétique [37]. Il est aussi possible de diriger des gouttes dans une direction donnée en jouant sur l'effet Marangoni grâce à un laser [38].

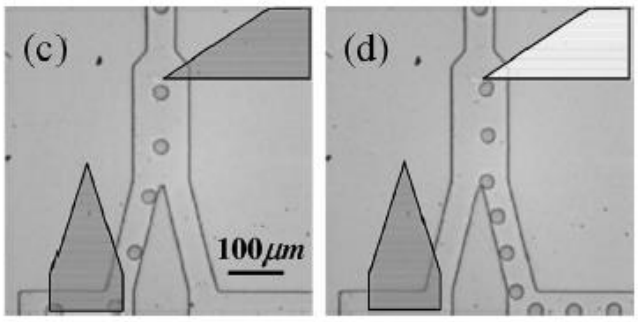


Figure 6 Technique de tri par diélectrophorèse [36]

I.1.1.2 Coalescence de gouttes

Les analyses chimiques ou biologiques nécessitent souvent la coalescence de différents liquides pour achever une réaction. Les réactions dans des gouttes peuvent être utilisées pour un certain nombre d'applications, y compris la formation de particules, la synthèse chimique, des études cinétiques ou pour la synthèse de biomolécules [39]. La microfluidique digitale permet d'obtenir des gouttes isolées qui peuvent être fusionnées pour servir de compartiments dans lesquels des réactions organiques rapides pourraient être étudiées.

Il existe plusieurs facteurs qui affectent la coalescence des gouttes comme les propriétés de mouillage des parois du canal, la géométrie des microcanaux, le nombre capillaire, la présence de tensioactifs, les viscosités des fluides et la vitesse des gouttes mais leur effet n'a pas encore été complètement caractérisé [40].

Le modèle le plus couramment utilisé pour prédire la coalescence des gouttes est le modèle du drainage du film de phase continue présent entre deux gouttes à proximité. Ce film les empêche de coalescer pendant une durée proportionnelle à $a_0\sqrt{\frac{\eta_c}{\gamma u}}$ avec a_0 le rayon des gouttes, η_c la viscosité de la phase continue, γ la tension interfaciale et u la vitesse d'approche de la première goutte vers la deuxième [41]. Dès que le film de liquide est assez fin, les forces intermoléculaires entrent en jeu et rompent l'interface permettant ainsi la coalescence. La plupart du temps, des tensioactifs sont ajoutés à la phase continue. La tension interfaciale est alors réduite, la génération et le transport des gouttes sont facilités, leur stabilité est prolongée et les risques de contamination croisée sont réduits. Ainsi, les gouttes peuvent être utilisées comme microréacteurs individuels. L'inconvénient de l'ajout de tensioactifs est qu'il nuit à la spontanéité de la coalescence des gouttes à cause de deux phénomènes principaux, la répulsion des tensioactifs et l'effet Marangoni. Les tensioactifs présents à l'interface se repoussent, ainsi le film ne s'amincit pas et les gouttes restent stables. De plus, l'effet Marangoni se produit et crée un contre-courant dans le film liquide ralentissant ainsi le drainage du film liquide.
Lorsqu'il s'agit tout de même de favoriser la coalescence, différentes techniques ont été mises en place comme l'électrocoalescence [42] où l'interface est soumise à un champ électrique intense ou des méthodes hydrodynamiques passives [43] basées sur le design de géométries de canaux spécifiques qui vont augmenter la vitesse d'approche des deux gouttes ou encore prolonger la durée pendant laquelle elle sont proches l'une de l'autre.

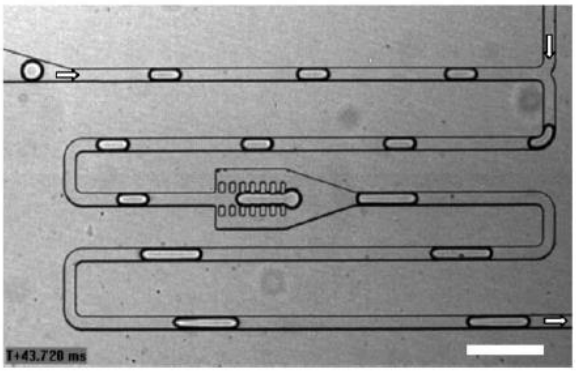


Figure 7 Coalescence de gouttes par voie hydrodynamique passive [43]

I.1.1.3 Fractionnement de gouttes

Les différents composés peuvent être introduits dans une puce grâce à un système robotisé. En raison de la vitesse d'un tel mouvement, les gouttes produites tendent à être de grande taille. Une méthode très prometteuse est la division ou le fractionnement contrôlé des gouttes.
En réduisant le volume des gouttes, il est alors possible de contrôler la concentration de produits chimiques à l'intérieur des gouttes et de produire des panels de gouttes pour des applications de

criblage à haut débit par fractionnements successifs. Le fractionnement des gouttes peut se faire facilement à l'aide d'une simple jonction Y. La symétrie de la jonction peut être modifiée pour ajuster les tailles relatives des gouttelettes filles. Une jonction parfaitement symétrique conduit à la rupture de la goutte en deux gouttes de taille égale [44].

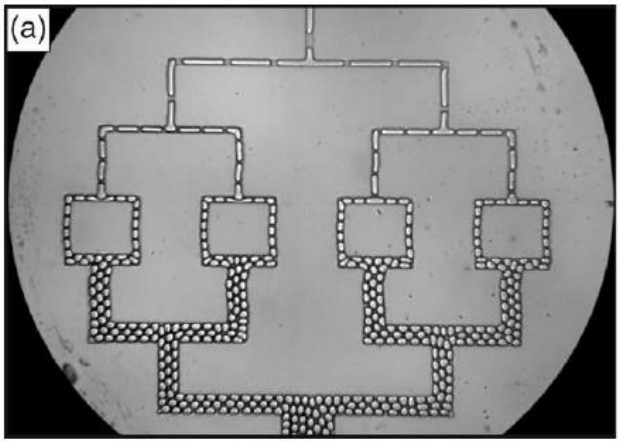


Figure 8 Fractionnement symétrique et successif de gouttes [44]

I.1.1.4 Immobilisation des gouttes

Compte tenu de la nature rapide des applications de criblage à haut débit, il n'est pas facile de suivre une seule goutte et d'observer la réaction qui se produit à l'intérieur. Une approche efficace consiste à piéger une goutte, à l'observer pendant qu'elle est immobile puis à la relâcher pour une éventuelle manipulation ultérieure. Cependant, étant donné que les gouttes d'un volume de l'ordre du picolitre sont très mobiles et non rigides, il est assez difficile de les piéger. Les chercheurs ont développé diverses nouvelles méthodes pour surmonter ce problème. Une méthode est d'inclure dans la géométrie du microcanal des encoches ou encore des puits où la goutte peut venir se coincer [45].
Des systèmes plus récents impliquant des vannes ont aussi été conçus pour l'immobilisation de gouttes [46].

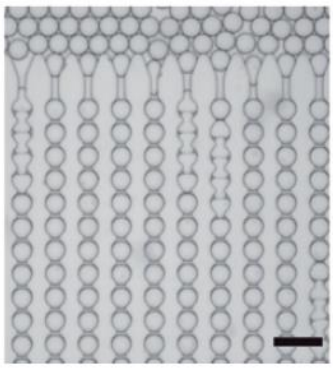


Figure 9 Gouttes coincées dans des micro-emplacements [45]

I.1.2 Exemple de système totalement intégré

Sjostrom *et al.* [47] ont conçu un incubateur microfluidique avec plusieurs zones d'observation pour étudier la cinétique d'action d'une enzyme sur un substrat en présence d'un inhibiteur. Les enzymes sont initialement mélangées à différentes concentrations d'inhibiteur marqué par fluorescence et des gouttes de ce mélange sont formées dans de l'huile fluorée. Les gouttes sont réinjectées dans une seconde puce où un picoinjecteur couplé à une électrode permet d'injecter dans chaque goutte le substrat aussi marqué par fluorescence accompagné d'une solution tampon. Les gouttes sont ensuite incubées dans un canal possédant différentes zones d'observation correspondant à différents temps d'incubation. La fluorescence des gouttes y est mesurée. Les différentes concentrations en inhibiteur et en substrat peuvent être variées en changeant les rapports de débits des picoinjecteurs. Les données peuvent ensuite être utilisées pour extraire les vitesses de réaction pour différentes combinaisons de concentrations en substrat et en inhibiteur, qui à leur tour sont utilisées pour déterminer les paramètres cinétiques de l'action de l'enzyme sur le substrat en présence d'inhibiteur.

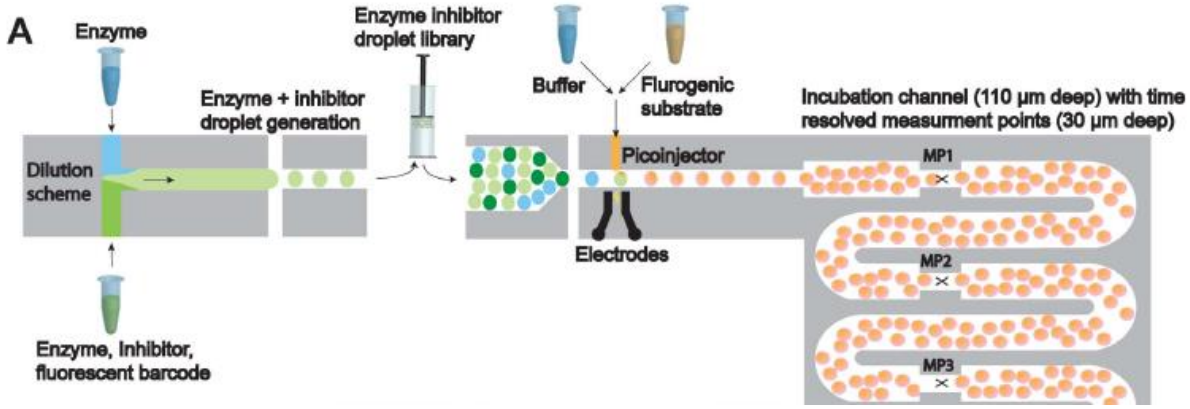


Figure 10 Schéma d'une approche microfluidique en gouttes permettant le suivi cinétique d'une réaction enzymatique [47]

Huang *et al.* [48] ont mis au point une approche microfluidique pour améliorer la production de protéines recombinantes d'une souche de levure. Les souches sont d'abord exposées aux UV pour induire des mutations puis encapsulées dans des gouttes, incubées et réinjectées dans une seconde puce microfluidique. Les souches sécrétant le plus l'enzyme souhaitée sont ensuite sélectionnées par FADS et recueillies pour le séquençage de leur ADN.

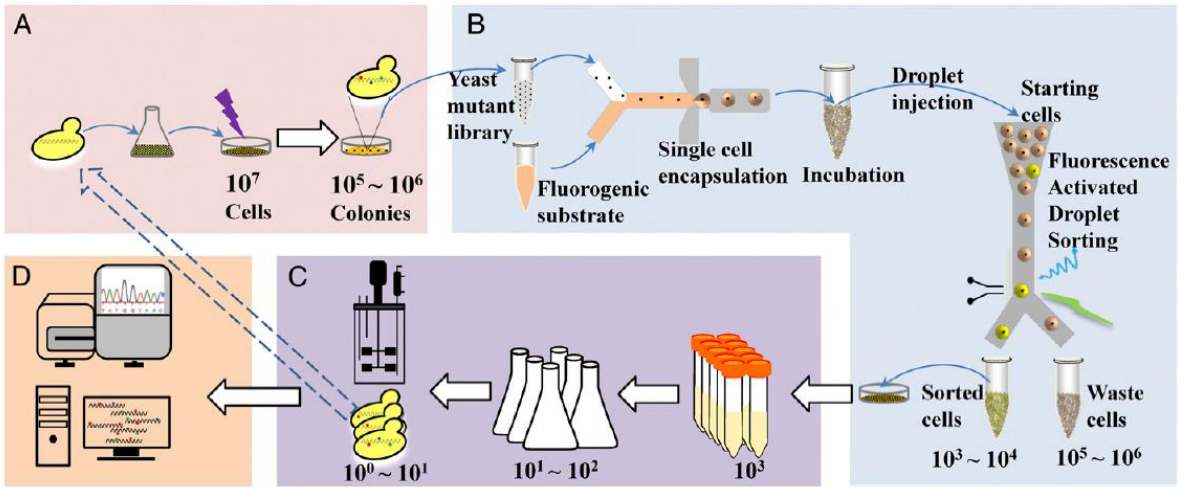


Figure 11 Schéma d'un criblage haut-débit de souches de levures pour leur sécrétion enzymatique améliorée [48]

Comme le montre les deux exemples précédents, des molécules fluorescentes sont souvent utilisées pour détecter une activité biologique ou chimique. L'analyse s'effectue alors grâce à une mesure optique. Cependant, on peut vouloir ouvrir cette mesure à d'autres propriétés en particulier physico-chimiques comme la viscosité. Dans la suite, nous commencerons par introduire les notions générales de rhéologie puis présenterons rapidement les rhéomètres classiques et finirons par la présentation des microviscosimètres répertoriés dans la littérature.

I.2 Rhéologie et mesure de viscosité

La rhéologie a été développée pour décrire les propriétés de matériaux au comportement mal défini et intermédiaire entre celui du solide élastique parfait et celui du fluide newtonien. Le mot rhéologie a été inventé en 1929 par Eugène Cook Bingham et désigne la science de la matière en écoulement [49, 50].

I.2.1 Rhéologie des fluides newtoniens et non newtoniens

I.2.1.1 Définition d'un fluide newtonien

Les mouvements les plus fréquemment mis en œuvre en rhéologie sont les mouvements de cisaillement. Un mouvement de cisaillement est classiquement représenté par le mouvement d'un échantillon entre deux faces planes, l'une au repos, l'autre animée d'un déplacement parallèle à elle-même. Sous l'effet de ce cisaillement, le matériau s'écoule en couches planes, parallèles entre elles, animées de vitesses différentes qui varient continûment entre 0 pour la couche en contact avec la surface fixe et V pour celle en contact avec la surface mobile (Figure 12).

Le taux de cisaillement notée $\dot{\gamma}$ caractérise la variation de vitesse entre ces deux couches limites. Elle est égale au quotient de la vitesse V et de l'épaisseur e de l'échantillon : $\dot{\gamma} = \frac{V}{e}$.

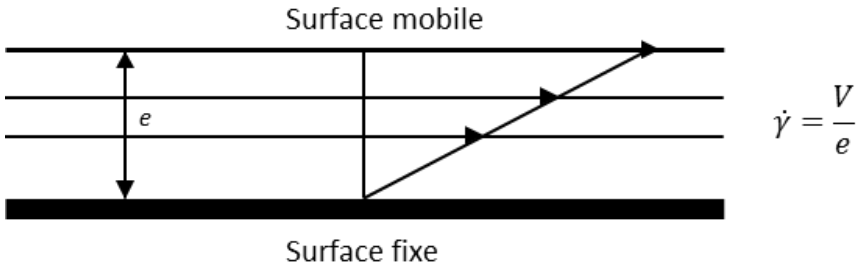


Figure 12 Mouvement de cisaillement entre deux surfaces planes

Les différentes couches se déplaçant les unes par rapport aux autres, des forces de frottement apparaissent entre ces couches et s'exercent tangentiellement à leur surface. Ces forces rapportées à l'unité de surface définissent la contrainte de cisaillement notée σ.

Le rapport de la contrainte au taux de cisaillement est appelé coefficient de viscosité et est classiquement noté η. Pour le cas des liquides newtoniens, il y a proportionnalité entre contrainte et taux de cisaillement ainsi la viscosité est la même quelle que soit le taux de cisaillement et est définie par $\eta = \frac{\sigma}{\dot{\gamma}}$.

I.2.1.2 Comportements des fluides non-newtoniens

Contrairement aux fluides newtoniens, la relation de proportionnalité entre contrainte et taux de cisaillement n'est plus vérifiée dans le cas des fluides non-newtoniens et leur viscosité varie avec le taux de cisaillement. De plus, cette viscosité apparente n'est pas seulement fonction des conditions d'écoulement, elle peut aussi dépendre de l'histoire du fluide.

Ainsi, il est possible de classer les fluides non-newtoniens en trois catégories :

- les systèmes pour lesquels la valeur du taux de cisaillement en un point donné du fluide dépend uniquement de la valeur de la contrainte de cisaillement en ce même point c'est-à-dire les fluides purement visqueux, inélastiques, indépendants du temps.
- les systèmes pour lesquels la relation entre vitesse et contrainte de cisaillement dépend aussi de la durée du cisaillement et de l'histoire du fluide c'est-à-dire les fluides thixotropes ou rhéopexes.
- les systèmes qui montrent à la fois un comportement de fluide visqueux et de solide élastique c'est-à-dire les fluides viscoélastiques.

A noter que certains fluides peuvent présenter les caractéristiques de deux voire même des trois catégories précédentes.

I.2.1.2.1 Fluides à comportement indépendant du temps

Les fluides non-newtoniens à comportement indépendant du temps peuvent être classés suivant le profil de leur rhéogramme qui représente l'évolution de la contrainte en fonction de. Ce classement met en évidence trois types de comportements (Figure 13) :

- Le comportement rhéofluidifiant (ou pseudo-plastique) : la viscosité décroît lorsque le taux de cisaillement augmente.
- Le comportement rhéoépaississant (ou dilatant) : le liquide devient plus visqueux lorsque le taux de cisaillement croît.
- Le comportement à seuil de contrainte (ou plastique) : le matériau ne s'écoule qu'au-delà d'une contrainte critique appelée seuil d'écoulement.

De nombreux modèles mathématiques permettant de modéliser le comportement en écoulement des différents fluides pseudo-plastiques et plastiques existent. Ils s'expriment sous la forme $\sigma = f(\dot{\gamma})$ la viscosité étant définie dans tous les cas par $\eta(\dot{\gamma}) = \frac{f(\dot{\gamma})}{\dot{\gamma}}$.

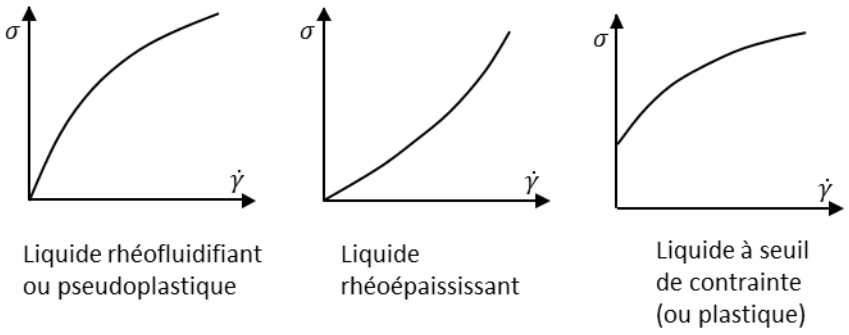


Figure 13 Rhéogramme des différents comportements

Le comportement rhéofluidifiant est le comportement non-newtonien indépendant du temps le plus courant. Dans le cas des solutions de polymères, à faibles taux de cisaillement, la viscosité approche un plateau newtonien pour lequel la viscosité est indépendante du taux de cisaillement, il s'agit de la viscosité à cisaillement nul η_0. On retrouve un plateau similaire à hauts taux de cisaillement. La viscosité associée est notée η_∞. Cette valeur est souvent très légèrement supérieure à la viscosité du solvant. Plusieurs modèles mathématiques ont été développés pour modéliser le comportement des fluides rhéofluidifiants, les principaux sont les suivants :

- La loi d'Ostwald ou loi en puissance : souvent l'évolution de la contrainte en fonction du taux de cisaillement présente un comportement linéaire lorsqu'elle est tracée en log-log ainsi il est possible d'écrire la relation suivante :

$$\sigma = m(\dot{\gamma})^n \tag{3}$$

avec 0 < n < 1 et m l'indice de consistance. Plus la valeur de n est faible, plus le fluide est rhéofluidifiant. Pour la plupart des solutions de polymère, la valeur de n varie entre 0,3 et 0,7, valeur qui varie en fonction de la concentration et de la masse molaire du polymère.

- Modèle de Cross : ce modèle est plus complet que le précédent car il prend en compte l'existence des plateaux newtoniens à faibles et hauts taux de cisaillement. Le modèle est le suivant :

$$\frac{\eta - \eta_\infty}{\eta_0 - \eta_\infty} = \frac{1}{1 + m(\dot{\gamma})^n} \tag{4}$$

I.2.1.2.2 Les fluides au comportement dépendant du temps

Certains liquides présentent un comportement dépendant de l'histoire passée de l'échantillon. C'est le cas en particulier pour les liquides thixotropes et rhéopexes. Ces liquides possèdent un caractère

respectivement rhéofluidifiant ou rhéoépaississant qui ne se manifeste pas en totalité dès l'application du cisaillement mais de manière différée dans le temps à cause d'une déstructuration de l'échantillon due au cisaillement. En pratique, un tel comportement est observé lorsqu'on réalise des mesures en faisant croître le taux de cisaillement suivies de mesures où on le fait décroître. Sur le rhéogramme, deux courbes sont obtenues, la courbe de retour ne coïncidant pas avec celle de l'aller. Une boucle d'hystérésis est alors obtenue. Une condition importante pour qu'un liquide soit thixotrope ou rhéopexe est que sa structure initiale puisse se régénérer naturellement par un repos suffisant. Le lien entre le temps caractéristique de déstructuration t_C et la durée d'observation t_E est formalisé par le nombre de Deborah De égal au rapport de ces deux temps (aussi appelé nombre de Weissenberg).
Ces changements de structure caractéristiques du régime non-linéaire n'ont lieu que si l'amplitude de l'excitation dépasse une valeur critique. Au-dessous de cette valeur, le comportement est qualifié de linéaire mais dépend des valeurs de De. Aux temps courts ($De \gg 1$) et aux temps longs ($De \ll 1$), le comportement est qualifié respectivement d'élastique et de visqueux. Le domaine intermédiaire ($De \approx 1$) constitue le domaine viscoélastique linéaire.

I.2.1.2.3 Viscoélasticité linéaire

Quand un solide élastique est déformé élastiquement, il retrouve sa forme initiale à l'arrêt de la contrainte. L'autre cas extrême est le cas déjà abordé des fluides newtoniens. Ainsi, il existe des matériaux qui présentent à la fois un comportement de solide élastique et de fluide visqueux sous des conditions définies. On peut citer en particulier les solutions de polymères, les gels, les émulsions, les mousses, …
Une des conséquences de ce type comportement est le développement de contraintes normales dans les directions normales à l'écoulement qui peut être à l'origine d'instabilités dans ce même écoulement. On définit ainsi la première et la deuxième différence de contraintes normales N_1 et N_2 de la manière suivante :

$$N_1 = \sigma_{xx} - \sigma_{yy} \tag{5}$$

$$N_2 = \sigma_{zz} - \sigma_{yy} \tag{6}$$

Avec :

$$\sigma_{xx} = -2\eta \frac{\partial V_x}{\partial x} \; ; \; \sigma_{yy} = -2\eta \frac{\partial V_y}{\partial y} \; ; \; \sigma_{zz} = -2\eta \frac{\partial V_z}{\partial z} \tag{7}$$

Et $V_x, V_y \; et \; V_z$ les vitesses de l'écoulement dans les différentes directions de l'espace.

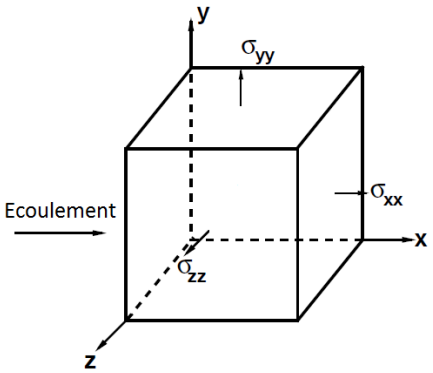


Figure 14 Contraintes se développant dans un écoulement

Le rapport entre la première différence de contraintes normales et la contrainte de cisaillement N_1/σ permet de caractériser le comportement viscoélastique d'un fluide. Si $N_1 \ll \sigma$ le fluide n'est pas élastique, si $N_1 \gg \sigma$ le fluide est viscoélastique.

Le test viscoélastique le plus fréquemment mis en œuvre est l'analyse oscillatoire encore appelée dynamique. Ce test consiste à imposer à l'échantillon un cisaillement oscillatoire de pulsation donnée ϖ. Ainsi la contrainte et le taux de cisaillement évoluent de manière sinusoïdale au cours du temps avec la même pulsation mais en présentant un certain déphasage de l'une par rapport à l'autre. La valeur de déphasage classiquement utilisée est celle entre la contrainte et la déformation de cisaillement, elle est notée δ . Le rapport représentant le ratio entre les amplitudes maximales de la contrainte et de la déformation de cisaillement est noté G* et est appelé module de cisaillement. Dans la pratique, les deux grandeurs fondamentales de la rhéologie dynamique sont utilisées. Il s'agit du module de conservation défini par $G' = G^* \cos\delta$ et du module de perte défini par $G'' = G^* \sin\delta$. Ces deux grandeurs décrivent respectivement les propriétés élastiques et visqueuses de l'échantillon et sont fréquemment appelées respectivement module élastique et module visqueux. Le déphasage δ est relié à ces modules par la relation $\tan\delta = G''/G'$. Pour des valeurs de déphasage entre 0 et 45°, l'échantillon a un comportement plus élastique que visqueux, c'est le contraire pour des valeurs de déphasage entre 45 et 90°. Ces grandeurs rhéologiques dynamiques dépendent de l'échantillon, de la température mais aussi de la fréquence de cisaillement $\frac{\omega}{2\pi}$. Ce type d'études permet principalement de sonder la structure du fluide complexe et de faire des tests de suivi de produit dans l'industrie.

I.2.1.3 Rhéomètres classiques

Les rhéomètres traditionnellement utilisés pour déterminer les viscosités et les rhéogrammes des substances liquides sont les rhéomètres de type Couette et ceux de type Poiseuille. Dans les deux cas, la substance étudiée est soumise à un mouvement de cisaillement indépendant du temps. Les

rhéomètres de type Poiseuille ne seront pas présentés ici car leur fonctionnement semblable à celui des rhéomètres capillaires sera présenté plus tard.

Les substances analysées à l'aide d'un rhéomètre de type Couette sont cisaillées entre deux surfaces solides, l'une au repos, l'autre mobile.

Les rhéomètres rotatifs cylindriques sont les plus utilisés. La substance étudiée est emprisonnée entre deux cylindres coaxiaux de même hauteur et de rayons différents. L'un des deux cylindres est fixe, l'autre mobile. Ensuite deux méthodes peuvent être envisagées. Pour la première, on impose au cylindre mobile un couple de rotation connu et l'on mesure sa vitesse angulaire. Pour la seconde, la vitesse angulaire est imposée au cylindre mobile et l'on mesure le couple résistant qu'il faut appliquer à l'autre cylindre pour qu'il reste immobile.

Pour mesurer une courbe d'écoulement, il est nécessaire de faire le lien entre le couple et la vitesse de rotation et le taux de cisaillement et la contrainte. A priori ceci n'est pas simple car la contrainte et le taux de cisaillement ne sont pas constants dans la géométrie. En absence d'instabilités hydrodynamiques, à bas nombre de Reynolds (i.e. si le tenseur d'inertie est négligeable devant le tenseur des contraintes), à bas nombre de Weissenberg (i.e. si les forces normales sont négligeables devant les forces visqueuses), lorsque l'écoulement est stationnaire, le couple de rotation Γ est directement relié à la contrainte de cisaillement par la formule $\sigma(R_1) = \frac{\Gamma}{2\pi h R_1^2}$ quel que soit le fluide étudié.

Pour trouver un lien entre la vitesse angulaire et le taux de cisaillement une loi constitutive pour le fluide est nécessaire. De façon générale, la première analyse faite par le rhéomètre consiste à supposer que le fluide est newtonien et qu'il ne glisse pas à la paroi. Des analyses plus poussées peuvent être ensuite réalisées dans un second temps. La viscosité est définie comme le rapport entre contrainte de cisaillement et taux de cisaillement.

Ces rhéomètres permettent de mesurer des viscosités entre 10^{-3} et 10^{7} Pa.s cependant ils nécessitent l'utilisation d'un volume d'échantillon relativement important.

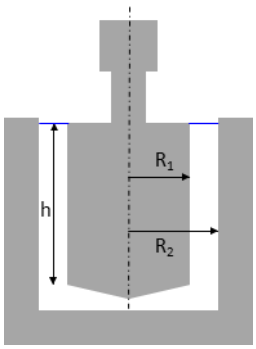


Figure 15 Géométrie à cylindres coaxiaux

Les rhéomètres rotatifs cône-plan sont aussi fréquemment utilisés. La substance étudiée est cette fois-ci emprisonnée entre un plateau et un cône dont l'axe est perpendiculaire au plan du plateau. L'angle entre le cône et le plan peut varier de 0,3 à 5°. Le principe de fonctionnement est similaire à celui du rhéomètre cylindrique rotatif. Dans ce cas, le cône est le solide mobile et le plateau le solide au repos. Cette géométrie permet d'avoir accès à la mesure de la première différence de contraintes normales N_1. Cette mesure passe par la mesure de la force normale F_z qui s'applique sur le cône suivant son axe. Ainsi la mesure de F_z permet de remonter à N_1 par la relation suivante :

$$N_1 = \frac{2}{\pi R^2} F_z \tag{8}$$

Les avantages de ce type de géométrie est qu'elle requiert un volume d'échantillon plus faible et permet d'atteindre des taux de cisaillement plus élevées cependant il ne convient pas à l'étude de matériaux dont la structure est complexe et fragile car ils risquent d'être détruits dans le volume entre le cône et le plateau.

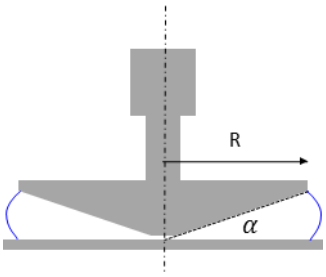


Figure 16 Géométrie cône-plan

I.2.2 Microviscosimètres dans la littérature

Après avoir introduit les notions générales de rhéologie, nous allons maintenant présenter les différents viscosimètres microfluidiques encore appelés microviscosimètres qui ont été développés et reportés dans la littérature. Nous expliquerons rapidement leur principe de fonctionnement et présenterons leurs avantages et inconvénients.

I.2.2.1 Viscosimètres de cisaillement

I.2.2.1.1 Viscosimètres capillaires

Beaucoup de ces microviscosimètres sont des viscosimètres capillaires. Ces viscosimètres possèdent des capteurs de pression qui mesurent des variations de pression ΔP le long d'un microcanal droit pour un débit de liquide imposé. Généralement, le canal est beaucoup plus large que haut ce qui permet d'appliquer l'équation (9) d'Hagen-Poiseuille :

$$\eta(\dot{\gamma}_w) = \frac{w d \Delta P}{2 l_0 (w + d)} \frac{1}{\dot{\gamma}_w} \quad (9)$$

avec w la largeur du canal, d sa profondeur et l_0 la distance entre deux capteurs. Le taux de cisaillement imposée par les parois est :

$$\dot{\gamma}_w = \frac{\dot{\gamma}_a}{3}\left[2 + \frac{d(\ln\dot{\gamma}_a)}{d(\ln\sigma_w)}\right] \quad (10)$$

avec σ_w la contrainte de cisaillement à la paroi déterminée à partir de la variation de pression et $\dot{\gamma}_a$ le taux de cisaillement apparente donnée par $\dot{\gamma}_a = \frac{6Q}{wd^2}$ avec Q le débit.

La dérivée dans l'équation (10*)* représente la correction appliquée dans le cas de fluides complexes. Pour des fluides newtoniens la valeur de cette dérivée est de 1.

Un viscosimètre de ce type disponible commercialement est le RheoSense (Figure 17). Le volume d'échantillon minimum nécessaire est de 20 µL, il peut balayer une gamme de taux de cisaillement allant de 0,5 à $1{,}4.10^6$ s^{-1} et de viscosités de 0,2 à 100 Pa.s. Cependant, dans le cas de viscosités très faibles, il faut jusqu'à 15 mL d'échantillon pour réaliser une mesure et pour des taux de cisaillement de l'ordre de 10 s^{-1} l'erreur peut atteindre 50 %. Enfin des procédures de nettoyages importantes doivent être mises en place pour des mesures sur des fluides biologiques ou contenant des particules. En effet, l'un des principaux inconvénients de ce système est qu'il se bouche facilement.

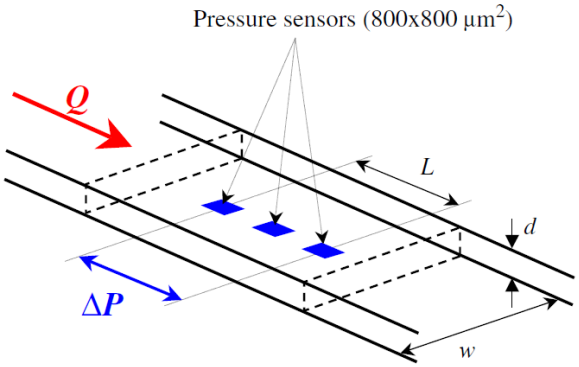


Figure 17 Schéma du RheoSense VROC [51]

De plus, l'utilisation de capteurs de pression implique la prise en compte des effets d'entrée et de sortie pour pouvoir déterminer la vraie différence de pression dans le canal. Ces effets peuvent être très importants dans le cas de solutions élastiques.

En se basant sur l'équation (9*)*, il existe aussi des microviscosimètres où le débit est mesuré pour des pressions imposées [52, 53]. Par rapport au RheoSense, les viscosimètres basés sur ce principe permettent de limiter les volumes morts et le temps d'acquisition cependant il est difficile d'atteindre des taux de cisaillement supérieures à 10^4 s^{-1}.

I.2.2.1.2 Viscosimètres par capillarité

Dans un rhéomètre par capillarité, le fluide est poussé dans un canal sous l'effet des forces capillaires. La viscosité et le taux de cisaillement sont déterminées par suivi de l'avancée du front de liquide dans un canal au cours du temps. Comme la vitesse de l'interface varie au cours du temps, une simple mesure permet d'avoir accès à une gamme de viscosités et de taux de cisaillement. Dans le cas de fluides newtoniens, la viscosité est obtenue grâce à l'équation de Hagen-Poiseuille sous la forme suivante :

$$\eta = \frac{h^2}{S}\frac{\Delta P}{u(t)L(t)} \tag{11}$$

avec u la vitesse du front de liquide, h la profondeur du canal, L la longueur de la colonne de liquide dans le canal, ΔP la différence de pression et S une constante spécifique à la géométrie du canal. La différence de pression est donnée par la loi de Laplace :

$$\Delta P = 2\gamma\cos\theta\left(\frac{1}{h}+\frac{1}{w}\right) \tag{12}$$

avec θ l'angle de contact, γ la tension interfaciale et w la largeur du canal.

Srivastava *et al.* [54] ont proposé un modèle prenant en compte le cas de fluides complexes qui présentent une loi puissance.

Srivastava *et al.* [55] ont développé un outil en verre et silicium pour analyser des échantillons aqueux (Figure 18). La gamme de viscosités atteignable varie entre 1 et 600 cP, celle des taux de cisaillement entre 5 et 1000 s^{-1}. Cependant une mesure pour un échantillon peut prendre jusqu'à 8 min. L'avantage de l'outil développé par Srivastava *et al.* est qu'il s'autocalibre grâce à un fluide de référence pour déterminer les paramètres dépendants de la géométrie des canaux. Cependant des taux de cisaillement élevées ne sont pas atteignables et le fluide analysé doit bien mouiller les parois du canal.

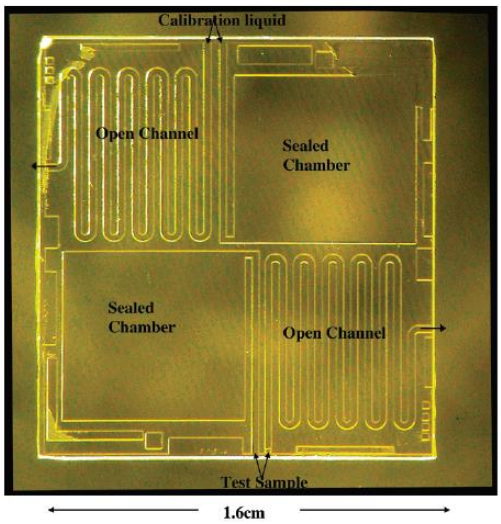


Figure 18 Microviscosimètre par mesure de tension de surface [55]

I.2.2.1.3 Viscosimètres co-courant

La viscosité de fluides complexes peut être mesurée en étudiant l'écoulement laminaire de deux fluides côte à côte mis en contact au niveau d'une jonction en Y [56]. L'un des deux fluides est un fluide newtonien de référence dont on connait la viscosité, l'autre est le fluide dont on cherche la viscosité. En relevant la position de l'interface entre les deux fluides et en connaissant leurs débits, il est possible de remonter au gradient de pression dans le canal grâce à l'équation suivante :

$$\nabla P = \alpha(\mathrm{L_r/e})\frac{\mathrm{Q_r \eta_r}}{\mathrm{e^3 L_r}} \tag{13}$$

avec Q_r le débit du liquide de référence, η_r sa viscosité, e la profondeur du canal, L_r la largeur occupée par le liquide de référence dans le canal et $\alpha(L_r/e)$ un facteur qui a pour valeur 12 pour des canaux présentant un rapport largeur/profondeur élevé. La contrainte de cisaillement à la paroi est directement reliée à ce gradient de pression par $\sigma_w = \nabla P \frac{e}{2}$.

Puis l'équation de Rabinowitsch-Mooney permet de calculer le taux de cisaillement au niveau de la paroi pour l'échantillon analysé :

$$\dot{\gamma}_w = 2\frac{Q_s}{e^2 L_s}(2+\beta) \quad (14)$$

avec Q_s le débit de l'échantillon à analyser, L_s la largeur occupée par cet échantillon dans le canal et β un facteur de correction qui correspond à la pente de la courbe $\ln\left(2\frac{Q_s}{e^2 L_s}\right)$ tracée en fonction de $ln(\sigma_w)$.

Un système commercial proposé par l'entreprise Formulaction est basé sur ce principe (Figure 19).

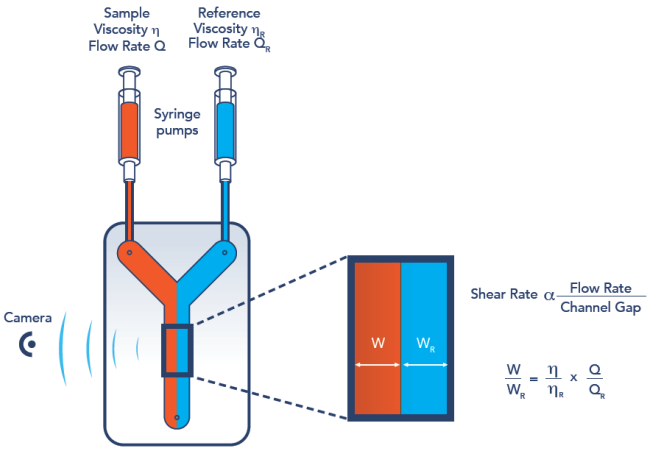


Figure 19 Schéma de principe du FLUIDICAM^{RHEO}

Ce système permettrait de mesurer des viscosités de 10^{-4} à 200 Pa.s et d'atteindre des taux de cisaillement de 10^5 s^{-1} pour un volume d'échantillon requis inférieur à 100 µL. Le gros avantage est que l'écoulement est visualisable en temps réel ce qui est pratique en cas de bouchage.

Solomon *et al.* [57] présentent un outil parallélisé basé sur le même principe qui permet de mesurer la viscosité de 8 échantillons en même temps. Une variation de ce système utilisant des capillaires imbriqués a aussi été développée [58, 59].

L'avantage de ce type de viscosimètres est qu'il permet de couvrir une grande gamme de viscosités pour une grande gamme de taux de cisaillement. L'inconvénient est qu'à faibles taux de cisaillement, l'interface peut se troubler à cause de la diffusion et qu'à forts taux de cisaillement l'interface peut devenir instable.

I.2.2.1.4 Viscosimètres par mesure de vitesse

Il est aussi possible de mesurer la viscosité d'un fluide en analysant son profil de vitesse dans un microcanal 2D à pressions imposées. Le profil de vitesse est quantifié par PIV (particle image

velocimetry). Le taux de cisaillement est ensuite calculé à partir de ce profil et la contrainte de cisaillement à partir de la pression imposée ce qui permet de tracer des rhéogrammes.
Degré *et al.* [60] ont déterminé les profils de vitesse de solutions de PEO à différentes différences de pression imposées. Cette méthode est un bon moyen pour déterminer les propriétés rhéologiques de fluides complexes car elle est non-invasive et relativement précise, elle permet d'atteindre une large gamme de taux de cisaillement en fonction de la géométrie du microcanal. L'inconvénient est qu'il ne faut pas que le fluide à analyser soit opaque et que toute l'instrumentation onéreuse et encombrante nécessaire à la PIV est requise.

I.2.2.1.5 Viscosimètres par électromouillage

Des mesures de viscosité peuvent aussi être réalisées en déterminant la vitesse d'un fluide se déplaçant dans un canal grâce à un champ électrique. La mesure dépend de la géométrie du canal et des propriétés du diélectrique. Elle se fait sur des échantillons de 10 µL, des viscosités entre 0,5 et 2 mPa.s ont été mesurées. Ces viscosimètres nécessitent une source de haute tension et ne permettent de réaliser des mesures que pour des fluides newtoniens et sur une faible gamme de viscosités [61].

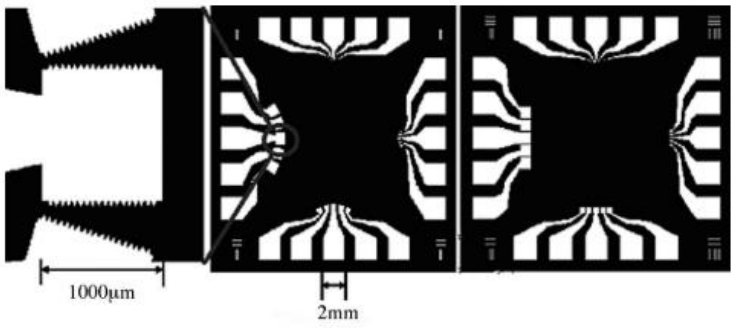


Figure 20 Electrodes d'un viscosimètre par électromouillage

I.2.2.1.6 Viscosimètres par vibration d'éléments

Des mesures de viscosité peuvent être réalisées en analysant le comportement vibratoire d'éléments tels que des micropoutres [62]. La viscosité de l'échantillon analysé est extraite du coefficient d'amortissement de l'élément vibrant. Khan *et al.* [63] ont pu réaliser des mesures de viscosité en moins de 30 s sur des échantillons de l'ordre de 5 pL. Un autre type de ces microviscosimètres a été présenté par Dehestru *et al.* [64], des mesures de viscosités entre 0,1 et 100 mPa.s ont été réalisées.
Cette méthode peut être utilisée pour une large gamme de fluides, même les plus visqueux. Cependant, cette méthode ne donne accès qu'à la viscosité et aux propriétés viscoélastiques en régime linéaire.

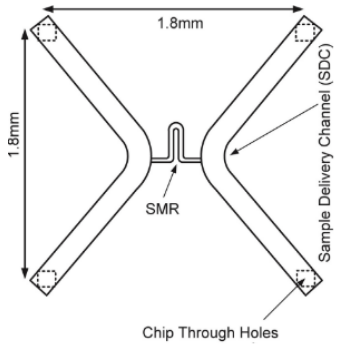


Figure 21 Schéma d'un viscosimètre à micropoutre vibrante [63]

I.2.2.2 Viscosimètres en gouttes

I.2.2.2.1 Viscosimétrie par mesure de diffusion

Schultz *et al.* [65] ont mis au point un outil utilisant le mouvement diffusif de microparticules suspendues dans un fluide newtonien (Figure 22). Des gouttes de différentes concentrations contenant des particules fluorescentes de taille connue (~1 µm) sont formées et stockées dans un microsystème. Le mouvement des particules est enregistré par vidéo. Le déplacement quadratique moyen (MSD) est calculé à partir des trajectoires des particules et permet d'accéder à leur coefficient de diffusion D dans l'échantillon de viscosité μ. La viscosité est ensuite calculée à partir de l'équation de Stokes-Einstein-Sutherland :

$$\eta = \frac{k_B T}{6\pi D a} \tag{15}$$

avec a le rayon des particules, T la température et k_B la constante de Boltzmann. Ils ont pu mesurer la viscosité de solutions aqueuses contenant du glycérol entre 1 et 30 mPa.s. La principale limite est que les gouttes formées doivent être de taille suffisante pour ne pas que la paroi du canal gène le déplacement des particules. Ainsi des gouttes d'un volume de 3,5 µl sont nécessaires. Les autres inconvénients sont que pour que la mesure puisse se faire, il faut ajouter des particules fluorescentes dans l'échantillon et que cette méthode n'est valide que pour des fluides newtoniens. De plus, cet outil répond à l'aspect criblage de l'EHD mais pas à celui de réduction du temps d'analyse car les gouttes formées doivent être immobiles pour réaliser la mesure.

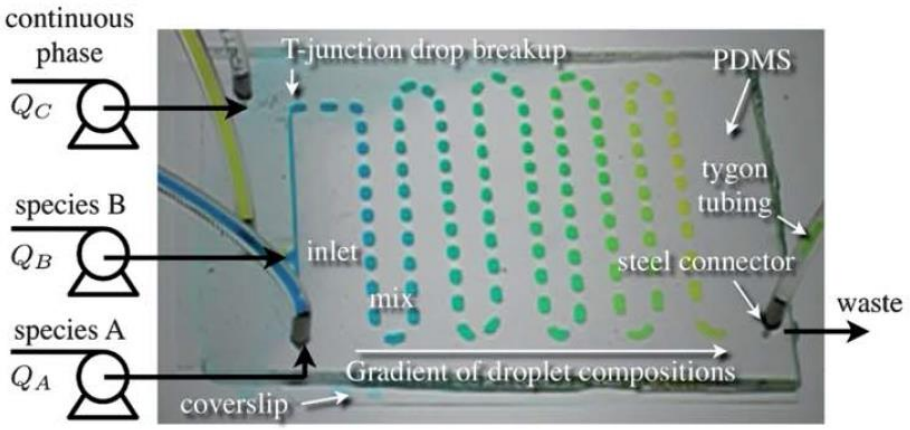


Figure 22 Microviscosimètre par mesure de diffusion [65]

I.2.2.2.2 Viscosimétrie par mesure de vitesse en gouttes

Un autre viscosimètre utilisant des gouttes a été développé par Livak-Dahl *et al.* [66]. Une goutte d'environ 30 nL est injectée dans une restriction très longue et étroite représentant 99 % de la résistance hydraulique du microsystème (Figure 23). La viscosité est tirée de la mesure de la vitesse de l'interface eau/huile dans le canal qui se déplace grâce à un gradient de pression. Il s'agit du même principe que pour les viscosimètres par capillarité mais dans ce cas les auteurs se sont limités à l'étude de fluides newtoniens. Des viscosités entre 1 et 100 mPa.s ont pu être mesurées. L'avantage est que cette technique n'est pas intrusive. Cependant, une goutte peut mettre jusqu'à presque 2 min pour traverser la restriction.

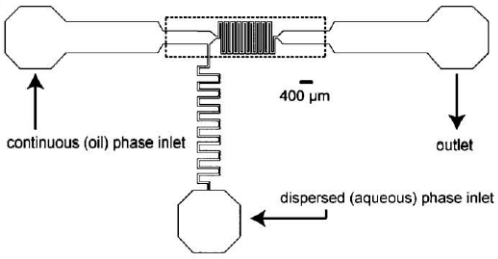


Figure 23 Viscosimètre à goutte confinée dans un restriction étroite [66]

I.2.2.2.3 Viscosimétrie grâce à une jonction T

Delamarre *et al.* [67] ont développé un viscosimètre pour des fluides newtoniens peu visqueux. Le principe est assez simple, il s'agit de former des gouttes de phase aqueuse dans une huile de viscosité connue au niveau d'une jonction-T entre deux canaux cylindriques. Ensuite, une relation linéaire entre le rapport de la longueur de la goutte de phase aqueuse sur celle du slug d'huile à la viscosité de la phase aqueuse est établie (Figure 24). Le principe de la mesure étant basé sur la loi de Poiseuille, les paramètres de la relation ne dépendent que de la géométrie du microsystème et des différences de

pressions imposées et non des propriétés physiques des fluides autres que la viscosité. Ce système permet de mesurer des viscosités entre 0,96 et 52 mPa.s pour des taux de cisaillement entre 20 et 6000 s^{-1} avec une incertitude de 0,1 %. Cependant une mesure peut prendre jusqu'à quelques minutes.

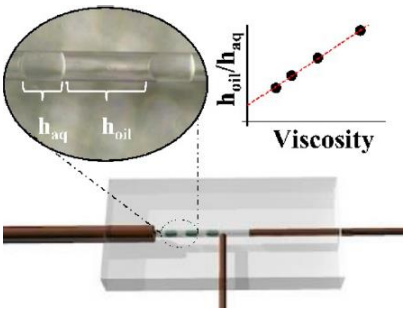


Figure 24 Viscosimètre à goutte avec une jonction T [67]

Parmi les microviscosimètres présentés ci-dessus, seuls ceux en gouttes pourraient être compatibles avec une analyse haut-débit. Cependant, le temps caractéristique du phénomène mis en jeu est souvent bien trop long ce qui empêcherait d'atteindre les hautes fréquences d'analyse imposées par le haut-débit. De plus, ces viscosimètres en gouttes ne permettent de mesurer des viscosités de fluides newtoniens uniquement ainsi les propriétés rhéologiques des fluides complexes ne sont pas accessibles.

Pour répondre à la caractéristique haut-débit que nous voulons donner à notre viscosimètre, premièrement l'utilisation de gouttes est indispensable. Pour rappel, chaque goutte peut ainsi être considérée comme un microréacteur dont il est possible de faire varier la composition. Deuxièmement, pour réaliser la mesure de viscosité, il faut pouvoir étudier un phénomène facilement observable. La formation de gouttes génère une interface qui peut être utilisée pour cette mesure. Troisièmement, pour obtenir une mesure rapide, il est nécessaire que le phénomène qui permet de réaliser la mesure présente un temps caractéristique faible.

Finalement, pour développer notre outil microfluidique qui permettra de réaliser des mesures de viscosité haut-débit en gouttes, nous avons choisi d'étudier le phénomène de déformation et relaxation d'une goutte dans une restriction microfluidique. En effet ce phénomène, précédemment utilisé par Cabral *et al.* [68] puis par Brosseau *et al.* [69] pour réaliser des mesures de tensions interfaciales, permet d'avoir accès à une mesure réalisée sur des gouttes, possède un temps caractéristique réduit et met en jeu des forces interfaciales mais aussi visqueuses ce qui nous permettra de réaliser des mesures de viscosité.

I.3 Déformation d'une goutte sous contrainte visqueuse

I.3.1 Taylor, les premières expériences et les premiers modèles

La déformation et la relaxation d'une goutte sphéroïdale dans un écoulement est un sujet d'étude relativement ancien. Taylor [70] a été le premier à écrire et développer des théories sur le sujet. Pour valider ses modèles, il a réalisé des expériences en utilisant un appareil appelé « moulin à quatre rouleaux ». La rotation des rouleaux créé un écoulement divergent. Une goutte d'un fluide immiscible avec la phase continue placée au milieu des quatre rouleaux s'étire et se déforme jusqu'à atteindre une situation d'équilibre. La forme de la goutte à l'équilibre est le résultat de la compétition entre les forces interfaciales qui tendent à ramener la goutte à une forme sphérique et les forces visqueuses qui tendent à la déformer. Lorsque la contrainte est trop importante, la goutte se casse car les contraintes visqueuses prennent le dessus sur la tension interfaciale. Le modèle que Taylor a défini à partir de ses expériences a été généralisé par Barthes-Biesel *et al.* [71].

Ils considèrent une goutte de viscosité η_d dans une phase continue de viscosité η_c. Le rayon de la goutte est noté a_o et la tension interfaciale avec la phase continue γ. La déformation de la goutte est définie de la manière suivante :

$$\mathrm{D} = \frac{\mathrm{a} - \mathrm{b}}{\mathrm{a} + \mathrm{b}} \tag{16}$$

avec a et b respectivement la plus grande et la plus petite dimension de la goutte.

La déformation d'une goutte peut être décrite par la solution de l'équation de Stokes dans la limite de déformations inférieures à 15 %. Ainsi la relaxation d'une telle goutte s'écrit de la manière suivante :

$$\frac{\partial \mathrm{D}}{\partial \mathrm{t}} + \frac{1}{\tau_{\mathrm{Ca}}}\mathrm{D} = \frac{5}{2\lambda + 3}\dot{\varepsilon} \tag{17}$$

avec $\lambda = \frac{\eta_d}{\eta_c}$ le ratio entre les viscosités des phases dispersée et continue, $\dot{\varepsilon} = \frac{du}{dx}$ le gradient de vitesse dans lequel la goutte se déplace et τ_{Ca} le temps caractéristique de relaxation ou temps capillaire.

$$\tau_{\mathrm{Ca}} = \frac{\alpha \eta_c a_0}{\gamma} \tag{18}$$

$$\text{avec } \alpha = \frac{(2\lambda+3)(19\lambda+16)}{40(\lambda+1)} \tag{19}$$

α correspond à un facteur de viscosité effective obtenu par Taylor.

A l'équilibre, la déformation de la goutte peut être décrite de la manière suivante :

$$D_{éq} = 2\frac{19\lambda + 16}{16\lambda + 16}\frac{\eta_c \dot{\varepsilon} a_o}{\gamma} \quad (20)$$

Dans le cas de conditions limites stationnaires à l'interface (absence d'écoulement ou vitesse constante), $\dot{\varepsilon}$ s'annule et la relaxation de la goutte suit une loi de décroissance exponentielle :

$$D = D_0 e^{-\frac{t}{\tau_{Ca}}} \quad (21)$$

Avec D_0 la déformation au temps initial t=0.

Lorsque le gradient de vitesse varie rapidement, il est nécessaire de considérer l'équation (17) dans son intégralité.

I.3.2 Déformation d'une goutte en microfluidique – Résultats expérimentaux et de simulations

I.3.2.1 Etudes expérimentales

Le modèle de Taylor a été utilisé par Cabral et Hudson [68] pour remonter à la tension interfaciale à partir de la déformation de la goutte. Ils ont utilisé le modèle le plus simple pour pouvoir réaliser des mesures rapides grâce à leur tensiomètre microfluidique.

L'équation (17) peut aussi s'écrire de la manière suivante :

$$\alpha\eta_c\left(\frac{5}{2\lambda + 3}\dot{\varepsilon} - u\frac{\partial D}{\partial x}\right) = \gamma\left(\frac{D}{a_0}\right) \quad (22)$$

Ainsi, en traçant le membre de droite de l'équation (22) en fonction du membre de gauche, il est possible de remonter à la tension interfaciale qui correspond à la pente.

Le microsystème présenté par Cabral *et al.* possède une zone de production de gouttes suivie d'une zone présentant une restriction. La mesure peut se faire aussi bien en entrée qu'en sortie de restriction. Quand la goutte rentre dans la restriction, elle subit une déformation suivant l'axe de l'écoulement. En sortie de restriction, la goutte se déforme dans une direction perpendiculaire à l'écoulement puis relaxe jusqu'à une forme sphéroïdale (Figure 25). Cabral *et al.* enregistrent la déformation de la goute au niveau de la restriction puis, grâce à une analyse vidéo et un traitement des données approprié, mesurent des tensions interfaciales entre 2,5 et 60 mN/m en 1 seconde pour des échantillons d'environ 10 µL.

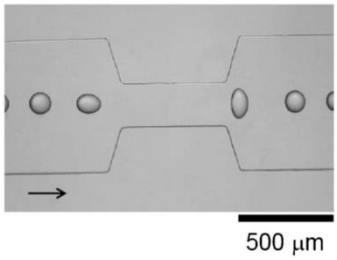


Figure 25 Gouttes déformées en entrée et en sortie de la restriction [68]

Brosseau *et al.* ont aussi développé un outil microfluidique permettant de réaliser des mesures de tension interfaciale en étudiant la déformation d'une goutte au niveau d'une restriction (Figure 26).

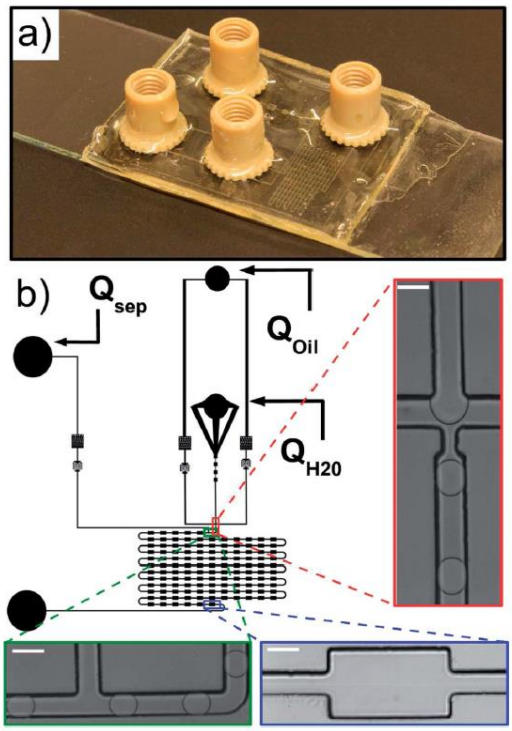


Figure 26 a) Photo du microsystème en NOA utilisé par Brosseau et al. [69]. b) Représentation schématique du système. Les gouttes d'eau dans l'huile fluorée sont formées au niveau d'une géométrie flow-focusing puis espacées à l'aide d'un canal dilueur et déformées dans une série de 121 chambres d'expansion. La barre d'échelle blanche correspond à une longueur de 100 µm.

Des gouttes d'eau dans de l'huile fluorée sont formées à une fréquence d'environ 100 Hz. Puis lorsque la goutte arrive au niveau de la chambre d'expansion, elle se déforme dans la direction perpendiculaire à l'écoulement pour atteindre un maximum de déformation avant de relaxer vers une forme sphéroïdale. Pour une géométrie fixe, cette déformation maximale dépend de la vitesse de la goutte, de la tension interfaciale et du rayon de la goutte. Les viscosités des phases dispersée et continue contrôlent aussi la déformation de la goutte. Ils n'ont pas étudié l'influence de la viscosité de la phase continue qu'ils ont maintenue à 1,24 mPa.s (huile fluorée HFE-7500). Ils remarquent cependant une influence de la viscosité de la phase dispersée à partir de 10 mPa.s. Ainsi, ils considèrent que la

déformation de la goutte est contrôlée par deux nombres adimensionnels, le nombre capillaire $Ca = \frac{\eta_c u}{\gamma}$ et un paramètre géométrique $R^* = \frac{2a_0}{W_1}$ avec W_1 la largeur du canal d'arrivée.

Ainsi, au lieu d'essayer d'ajuster un modèle préexistant sur leurs données comme Cabral *et al.*, ils ont cherché à établir une équation de corrélation à partir des deux nombres adimensionnels qu'ils pensent impactant sur la déformation maximale de la goutte. La mesure de tension interfaciale est donc simple et rapide et ne repose que sur la mesure d'un seul paramètre, la déformation maximale de la goutte. Ils ont donc étudié l'influence de la vitesse de la goutte puis de la tension interfaciale sur la déformation maximale. Pour différentes tensions interfaciales, ils ont fait varier le débit du dilueur en gardant la taille de la goutte constante puis pour un débit donné ils ont fait varier la taille de la goutte toujours pour différentes tensions interfaciales (Figure 27). Ces variations de tensions interfaciales se font par ajout d'éthanol dans la phase aqueuse dispersée.

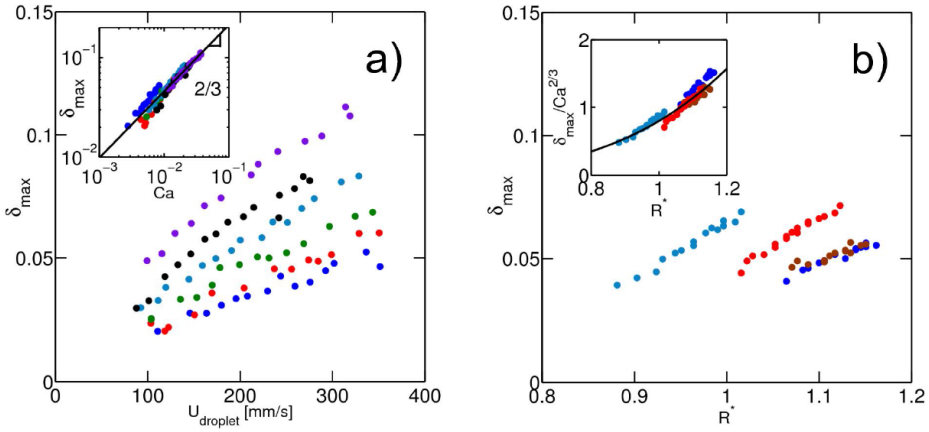


Figure 7.4 (a) Dependence of the droplet maximum deformation (δ_{max}) on the Capillary number (Ca) in conditions of fixed droplet radius R = 54 µm ± 8%. **Inset:** Collapse of the droplet maximum deformation on a master curve $\delta_{max} \propto Ca^{2/3}$ (black line). (b) Dependence of the droplet maximum deformation on the size of the droplet (R^*) for droplet speed $U_{droplet}$ = 330 mm · s^{-1} ± 15%. **Inset:** Collapse of the deformation data on a curve of equation $\delta_{max} = 0.8Ca^{2/3}R^{*3.7}$. Different colors are attributed to different surface tensions, according to the color code: γ = 49.5 mN · m^{-1}, (●); γ = 43.5 mN · m^{-1}, (●); γ = 29.2 mN · m^{-1}, (●); γ = 23.9 mN · m^{-1}, (●); γ = 19.5 mN · m^{-1}, (●); γ = 14.5 mN · m^{-1}, (●); γ = 10.6 mN · m^{-1}, (●).

Figure 27 Résultats obtenus par Brosseau et al. pour établir leur loi de corrélation

Ainsi une loi puissance de la forme suivante est obtenue :

$$\delta_{max} = 0{,}8\mathrm{Ca}^{2/3}\mathrm{R}^{*3{,}7} \qquad (23)$$

D'après les précédents travaux de Taylor [70], l'exposant associé au nombre capillaire dans le cas d'une faible déformation d'une goutte à l'équilibre dans un écoulement de cisaillement est généralement de 1. Cependant, dans le cas de Brosseau *et al.*, les gouttes sont confinées ce qui peut expliquer la valeur

de 2/3. Concernant l'exposant associé au facteur géométrique, il n'y a pas d'arguments théoriques qui expliquent cette dépendance à part celui du confinement.
Brosseau *et al.* utilisent ensuite la corrélation qu'ils ont mise en place pour l'appliquer à l'étude des cinétiques d'adsorption de tensioactifs fluorés à l'interface eau-huile.

Récemment, Kong *et al.* [72] ont appliqué la même méthodologie que Brosseau *et al.* dans une géométrie de microsystème similaire. Les gouttes sont néanmoins dans leur cas nettement plus confinées $R^* = 1{,}1 - 1{,}8$ contre $R^* = 0{,}9 - 1{,}2$ dans le cas de Brosseau *et al.* Les exposants de la loi de puissance trouvée sont cependant nettement différents, il est de 0,5 pour le nombre capillaire et de 1,1 pour R*. Ils attribuent cette différence aux variations dans les dimensions de la géométrie, en effet dans leur cas toutes les dimensions sont divisées par deux.

Encore plus récemment, sans entrer dans les détails des équations, Lele *et al.* [73] ont développé une méthode microfluidique pour cribler rapidement des additifs utilisés dans l'EOR. En utilisant, la même géométrie que Brosseau at al., ils déforment des gouttes aqueuses contenant différentes concentrations en additif alcalin et formées dans du brut pétrolier. Ils relèvent la déformation maximale de la goutte et étudient son évolution en fonction du pH, du type d'alcalin ou encore de la salinité et confirment que cette évolution est en lien direct avec la tension interfaciale.

I.3.2.2 Etudes numériques

Des simulations numériques ont aussi été réalisées sur la déformation d'une goutte dans une restriction microfluidique.
Nagel *et al.* [74] ont utilisé la méthode numérique des éléments frontière (BEM) pour comparer les résultats de déformation de gouttes sans tensio-actifs obtenus par Brosseau *et al.* [69] à leurs simulations. Ils se sont intéressés à deux paramètres seulement, le nombre capillaire Ca et le facteur géométrique R*. La courbe simulée d'évolution de la déformation de la goutte en fonction de la position dans le canal pour Ca= 0,037 et R*=1 montre une bonne concordance avec les résultats expérimentaux. Cependant, la loi puissance $D_{max} \propto Ca^{2/3}$ n'est qu'approximativement retrouvée pour R*= 0,9-1 avec une erreur moyenne d'environ 40 %.

Kadivar *et al.* [75] ont aussi comparé aux résultats expérimentaux de Brosseau *et al.* leurs résultats de simulation obtenus en utilisant la même méthode que Nagel *et al.* Ils ont trouvé deux régimes de déformation.

Pour le premier régime, correspondant aux gouttes plus petites que la largeur du canal d'arrivée dans la chambre d'expansion, la déformation dépend de la taille de la goutte et du nombre capillaire :

$$\delta_{max}{}^{I} \sim CaR^{*3} \quad (24)$$

Pour le second régime, correspondant aux gouttes plus larges que la largeur du canal d'arrivée dans la chambre d'expansion, la déformation dépend du nombre capillaire et du rapport entre la largeur du canal d'arrivée W_1 et la largeur de la chambre W_2 :

$$\delta_{max}{}^{II} \sim (1 - \frac{W_1}{W_2}) Ca^{0,7} \quad (25)$$

Les résultats de Brosseau *et al.* étant obtenus à la limite entre ces deux régimes, une loi intermédiaire a été obtenue.

Park and Dimitrakopoulos [76] ont utilisé une méthode numérique permettant de réaliser des simulations 3D (spectral boundary element method) pour étudier la déformation d'une goutte dans une restriction rectangulaire 2:1 dans un canal carré. Ils ont fixé le nombre capillaire à 0,1 et le diamètre normalisé de la goutte par rapport à la largeur du canal au niveau de la restriction est de 0,9. Ils se sont intéressés à l'influence du rapport des viscosités λ (Figure 28). En sortie de restriction, pour $\lambda < 1$, le maximum de déformation augmente avec λ. En effet, les gouttes moins visqueuses se déplacent plus vite dans le canal et ont donc moins le temps de se déformer. Lorsque la viscosité de la phase dispersée est supérieure à celle de la phase continue, plus le ratio est élevé, plus le fluide se déplace lentement à l'intérieur de la goutte qui a besoin de plus de temps pour se déformer.
De plus, pour expliquer l'effet du rapport des viscosités sur la déformation de la goutte, ils considèrent que la goutte est déformée par l'effet combiné des contraintes normales des phases dispersée et continue. Ainsi la déformation de la goutte est caractérisée par le temps caractéristique de relaxation de l'interface qui est donné par :

$$\tau \sim (1 + \lambda) \frac{\eta_c a_0}{\gamma} \quad (26)$$

Avec $\lambda = \frac{\eta_d}{\eta_c}$ le rapport des viscosités des phases dispersée et continue, a_o le rayon de la goutte et γ la tension interfaciale. Ce temps est équivalent à celui présenté par Taylor dans son modèle.

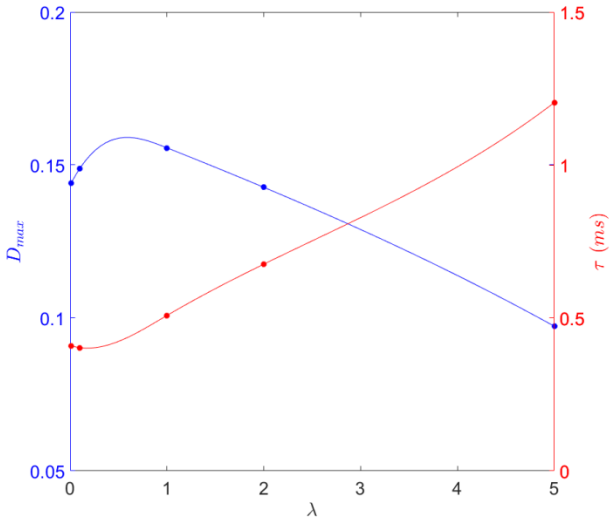


Figure 28 Synthèse des résultats obtenus par Park et Dimitrakopoulos pour la déformation d'une goutte dans une restriction microfluidique

I.4 Démarche de la thèse

La microfluidique digitale représente une technique très prometteuse dans le cadre de l'expérimentation haut-débit car elle permet la miniaturisation en augmentant les débits et réduisant les coûts. Des molécules fluorescentes sont souvent utilisées pour détecter une activité biologique ou chimique dans les gouttes ainsi formées. L'analyse s'effectue alors grâce à une mesure optique. Cependant, nous souhaitons ouvrir cette mesure à d'autres propriétés en particulier physico-chimiques comme la viscosité. En effet, il s'agit d'une des propriétés étudiées de façon généralisée dans toute structure de recherche en physico-chimie appliquée car impliquée dans de nombreux phénomènes. De nombreux microviscosimètres sont présentés dans la littérature cependant aucun n'est compatible avec une mesure haut-débit en gouttes.

Ainsi, pour développer notre outil microfluidique haut-débit en gouttes, nous avons choisi d'étudier le phénomène de déformation et relaxation d'une goutte dans une restriction microfluidique car il présente un temps caractéristique réduit et met en jeu des forces interfaciales mais aussi visqueuses ce qui nous permettra de réaliser des mesures de viscosité.
L'étude de la littérature existante sur ce phénomène indique que la viscosité de la phase goutte se retrouve rapidement et simplement au niveau de deux paramètres :

- la déformation maximale en complétant la corrélation obtenue par Brosseau *et al.* avec le rapport des viscosités $\lambda = \frac{\eta_d}{\eta_c}$: $D_{max} = kCa^a R^{*b} \lambda^c$ avec k, a, b, c des constantes, $Ca = \frac{\eta_c u}{\gamma}$ le nombre capillaire avec u la vitesse de la goutte à la déformation maximale, $R^* = \frac{2a_o}{W_1}$ le facteur géométrique avec W_1 la largeur de la restriction.

- le temps de relaxation capillaire $\tau_{Ca} = (1 + \lambda)\frac{\eta_c a_0}{\gamma}$

Dans les chapitres suivants, nous allons présenter les matériels et méthodes mis en jeu pour réaliser cette étude. Puis, nous allons évaluer la possibilité de réaliser des mesures de viscosité par ces deux approches sur des fluides modèles newtoniens. Ensuite, nous testerons la validité de l'approche sélectionnée sur des fluides plus complexes. Enfin, après nous être concentrés sur la partie détection de notre système microfluidique haut-débit, nous nous intéresserons à une brique supplémentaire, le mélange.

Chapitre II Matériels et méthodes

Dans ce chapitre, nous allons présenter les fluides qui ont été étudiés ainsi que les méthodes utilisées pour caractériser leur comportement rhéologique et mesurer les tensions interfaciales. Puis, nous détaillerons les méthodes de fabrication des microsystèmes, le montage expérimental ainsi que la méthode d'analyse des données.

II.1 Fluides et caractérisation

II.1.1 Fluides étudiés

II.1.1.1 Les fluides newtoniens

Les huiles silicones sont souvent utilisées pour la formation de gouttes dans des systèmes en PDMS (polydimethylsiloxane) [77] car elles présentent l'avantage d'être compatibles avec ce matériau. Deux huiles silicones de viscosités différentes ont été utilisées dans la suite, il s'agit des huiles silicones polydiméthylsiloxane 20 et 500 cSt à 25°C de chez VWR. Les huiles fluorées sont aussi utilisées dans de nombreuses applications microfluidiques [78]. L'un des avantages de ces huiles est que la majorité des composés organiques y sont insolubles. Elles présentent aussi l'avantage d'être inertes chimiquement et compatibles avec le PDMS. L'huile fluorée Fluorinert FC-70 (3M) a été utilisée par la suite.

Pour faire varier la viscosité, nous avons choisi le glycérol (BioXtra 99 %, Sigma Aldrich). Ce composé ne fait pas gonfler le PDMS [79] et est soluble en phase aqueuse. Le glycérol permet d'atteindre une gamme de variation de viscosité assez importante (de 1 à 1400 mPa.s à 20°C).

L'éthanol a été utilisé pour faire varier la tension interfaciale entre la phase de la goutte et la phase continue. L'éthanol est aussi compatible avec le PDMS [79].

Du dodecyltrimethylammonium bromide (DTAB, Sigma Aldrich) à 1.7 % (w/w) dans un mélange glycérol-eau à 60 % (w/w) a aussi été utilisé pour modifier la tension interfaciale entre la phase aqueuse et une huile silicone. Il s'agit d'un tensio-actif cationique soluble dans l'eau dont la concentration micellaire critique (CMC) est à 0,03 mol/L [80]. La concentration utilisée correspond donc à un peu plus de 2 fois la CMC.

Nous nous sommes aussi intéressés au polyéthylène glycol noté PEG. Le composé que nous avons étudié possède une masse molaire moyenne en masse $\overline{M}_w = 624\ g.mol^{-1}$. Ce polymère a été simplement préparé à différentes concentrations par dissolution dans de l'eau déionisée.

II.1.1.2 Les non-newtoniens - HPAM

Les HPAM sont des polyacrylamides partiellement hydrolysés. Ainsi ils sont constitués d'une succession de monères acrylamides qui forment une chaîne linéaire entre eux. Ces polymères sont chargés et

partiellement hydrolysés c'est-à-dire qu'une partie des fonctions amides sont des fonctions carboxyle ou carboxylate. Le taux d'hydrolyse correspond au nombre de motifs hydrolysés sur le nombre total de motifs du polymère.

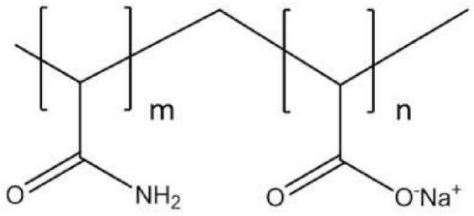


Figure 29 Polyacrylamide partiellement hydrolysé

Deux solutions de HPAM de masses molaires différentes ont été étudiées :

- FLOPAAM 3230, $\bar{M}_w = 9.10^6\ g/mol$ (SNF) avec un taux d'hydrolyse de 25 à 30%
- FLOPAAM 3630, $\bar{M}_w = 18.10^6\ g/mol$ (SNF) avec un taux d'hydrolyse de 25 à 30%

Les solutions de HPAM sont préparées de la manière suivante : le polymère sous forme de poudre est solubilisé à la concentration voulue dans une eau déionisée sous agitation magnétique pendant une nuit à température ambiante.

II.1.2 Rhéologie des fluides newtoniens

Les viscosités des différents fluides newtoniens utilisés ont été mesurées à 20°C sur le rhéomètre à contrainte imposée Physica MCR-301 (Anton Paar GmbH, Graz, Austria). Le rhéomètre est équipé d'un système Peltier de contrôle de la température (C-PTD200-SN928212). La géométrie utilisée est un système de cylindres coaxiaux à double-entrefer (DG26.7/Q1 – SN36551). Le taux de cisaillement a été varié entre 5 et 500 s^{-1}. Les différents mélanges eau-glycérol (Figure 30), les solutions aqueuses de polyéthylène glycol (Figure 31), les huiles silicones (Figure 32) ainsi que l'huile fluorée et les mélanges eau-éthanol étudiés (Figure 33) présentent bien un comportement newtonien sur la gamme de taux de cisaillement étudiée.

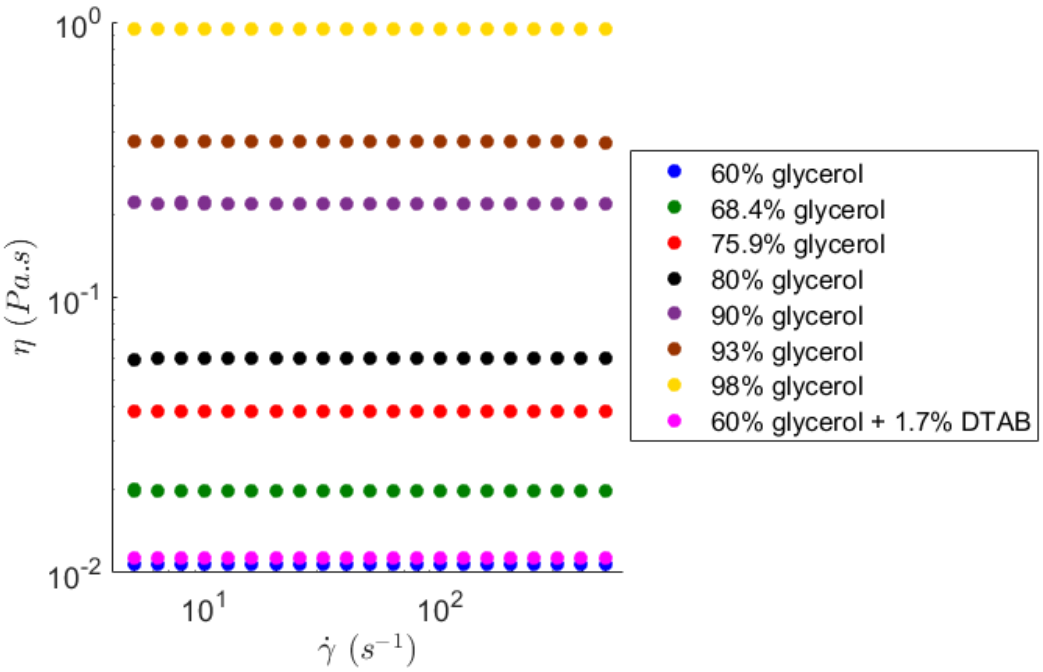


Figure 30 Viscosités à 20°C des différents mélanges eau-glycérol étudiés

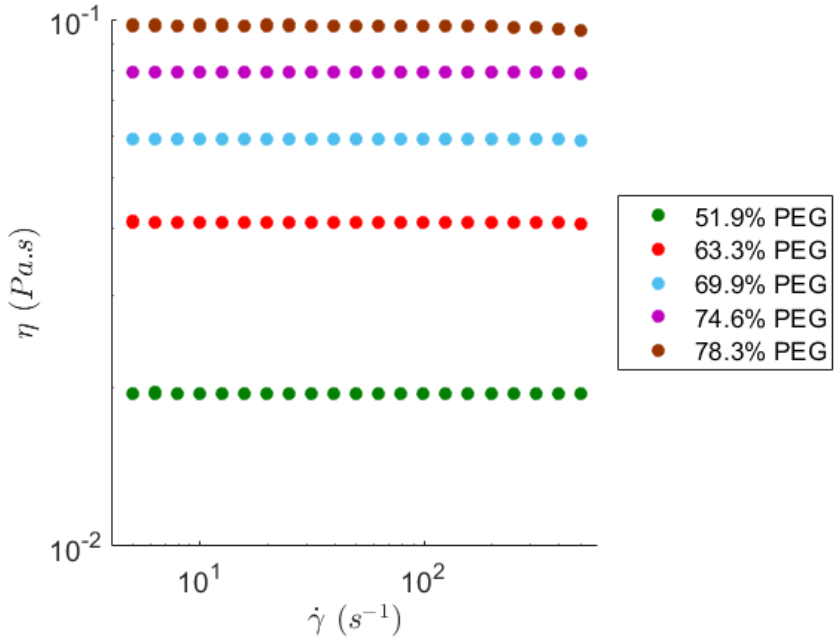


Figure 31 Viscosités à 20°C des différents solutions aqueuses de poly éthylène glycol étudiées

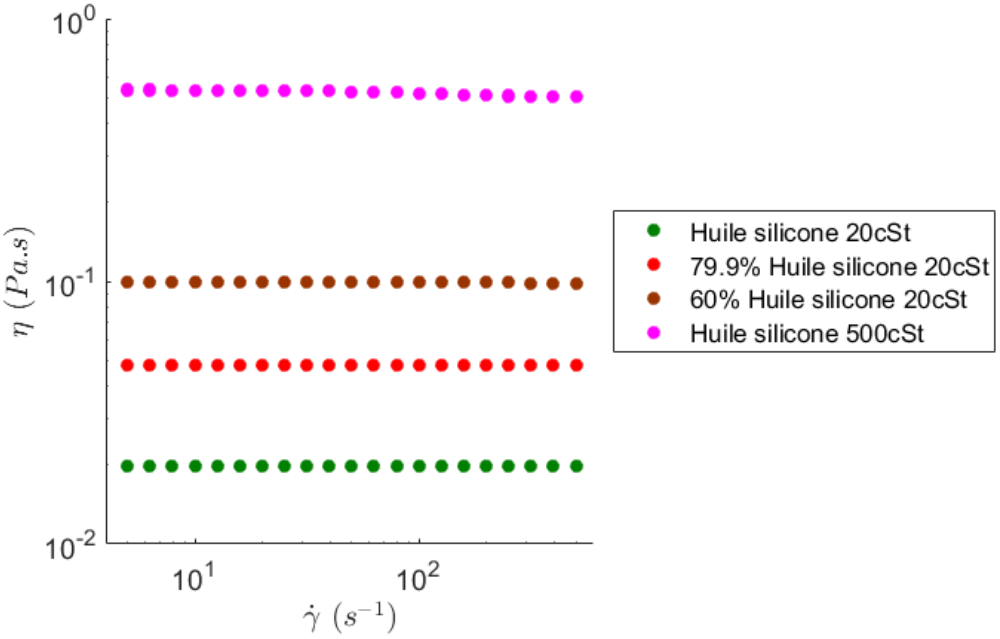


Figure 32 Viscosités à 20°C des différentes huiles silicones étudiées

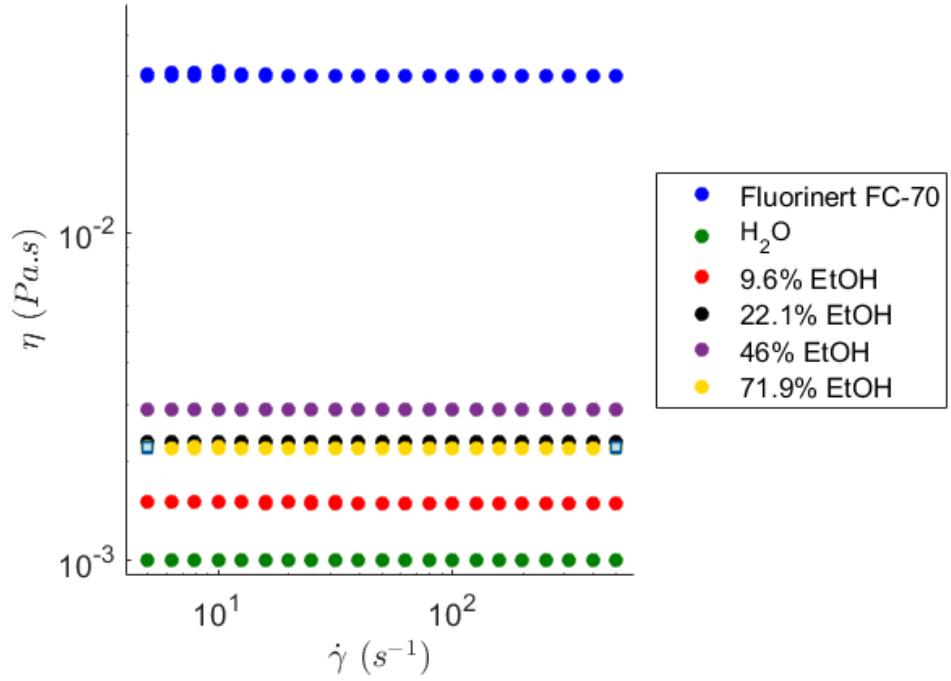


Figure 33 Viscosités à 20°C de l'huile fluorée et des différents mélanges eau/EtOH utilisés

II.1.3 Rhéologie des fluides non-newtoniens

Les mesures de viscosités des différents fluides non-newtoniens utilisés ont été réalisées à 20°C sur le rhéomètre à contrainte imposée Discovery HR-3 (TA Instruments, New Castle, États-Unis). Le rhéomètre est équipé d'un système Peltier de contrôle de la température. La géométrie utilisée est une géométrie cône-plan (SN982166). Le cône a un diamètre de 40 mm et un angle de 1°59, l'entrefer

est de 50 µm. Le taux de cisaillement a été varié entre 10 et 1000 s^{-1}. Chaque série de points est précédée d'une étape de pré-cisaillement pour mise en température à 10 s^{-1} pendant 300 s. La gamme de taux de cisaillement est explorée dans le sens croissant.

Quelle que soit la concentration et la longueur de la chaine, les solutions de HPAM étudiées présentent un comportement rhéofluidifiant sur toute la gamme de taux de cisaillement explorée (Figure 34 et Figure 35). Dans la gamme de taux de cisaillement étudiée, le plateau de viscosité à cisaillement nul n'est pas mesuré. On mesure cependant l'amorce du plateau de viscosité à haut taux de cisaillement mais seulement dans le cas du FLOPAAM 3630 à partir de 800 s^{-1}.

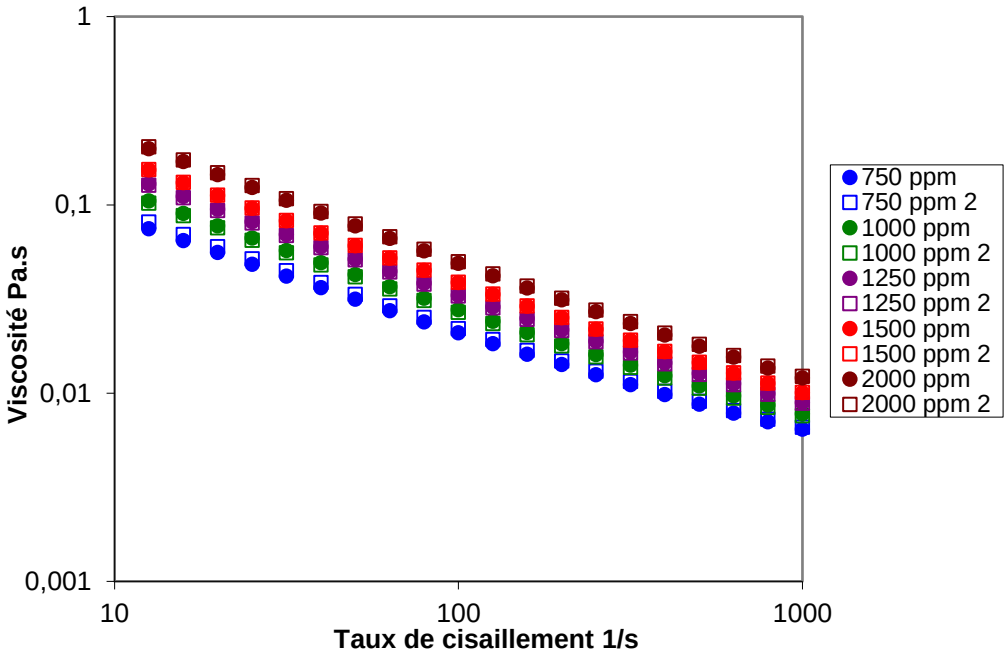


Figure 34 Courbe d'écoulement en viscosité du FLOPAAM 3230 obtenue en géométrie cône-plan pour différentes concentrations

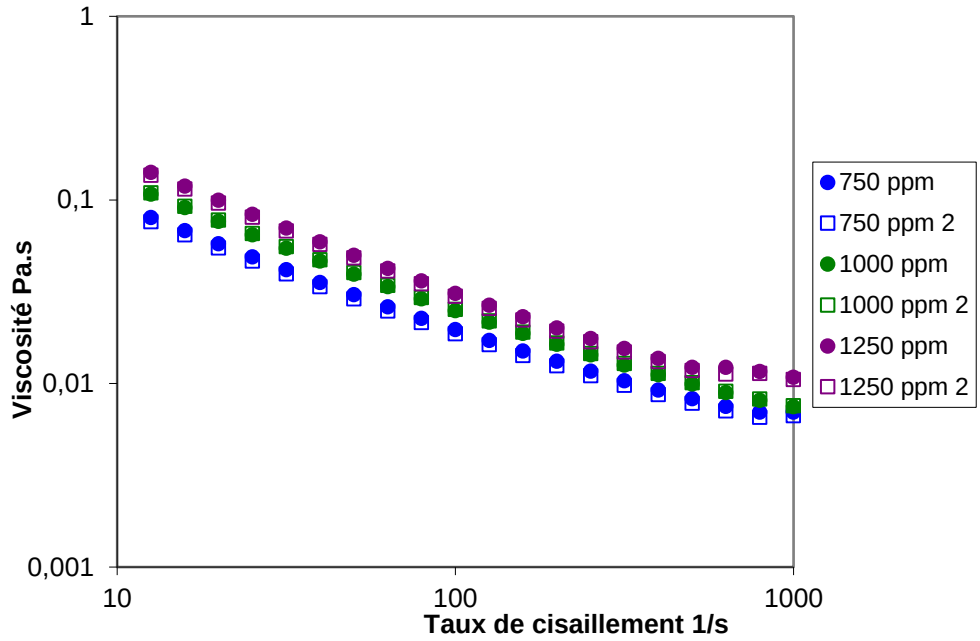


Figure 35 Courbe d'écoulement en viscosité du FLOPAAM 3630 obtenue en géométrie cône-plan pour différentes concentrations

La zone de rhéofluidification est ajustée par une loi de puissance du type :

$$\eta = A\dot{\gamma}^{n-1}$$

Avec η la viscosité, A une constante et n l'indice de rhéofluidification de la solution.

Les deux coefficients A et n ont été calculés sur la gamme 10 - 1000 s-1 pour le FLOPAAM 3230 et 10 - 300 s-1 pour le FLOPAAM 3630 (Tableau 1 et Tableau 2). Pour une concentration donnée, la solution de HPAM est d'autant plus rhéofluidifiante que la masse molaire est grande. De plus, pour un type de HPAM donné, le pouvoir rhéofluidifiant de la solution augmente en fonction de la concentration.

Tableau 1 Paramètres de la loi de puissance ajustant les courbes d'écoulement du FLOPAAM 3230

	A	n
FLOPAAM 3230 750 ppm	**0,30**	**0,43**
FLOPAAM 3230 750 ppm (2)	**0,34**	**0,42**
FLOPAAM 3230 1000 ppm	**0,46**	**0,40**
FLOPAAM 3230 1000 ppm (2)	**0,45**	**0,40**
FLOPAAM 3230 1250 ppm	**0,60**	**0,38**
FLOPAAM 3230 1250 ppm (2)	**0,59**	**0,38**
FLOPAAM 3230 1500 ppm	**0,73**	**0,37**
FLOPAAM 3230 1500 ppm (2)	**0,73**	**0,37**
FLOPAAM 3230 2000 ppm	**1,00**	**0,35**
FLOPAAM 3230 2000 ppm (2)	**1,02**	**0,35**

Tableau 2 Paramètres de la loi de puissance ajustant les courbes d'écoulement du FLOPAAM 3630

	A	n
FLOPAAM 3630 750 ppm	0,40	0,36
FLOPAAM 3630 750 ppm (2)	0,38	0,35
FLOPAAM 3630 1000 ppm	0,57	0,33
FLOPAAM 3630 1000 ppm (2)	0,58	0,33
FLOPAAM 3630 1250 ppm	0,80	0,30
FLOPAAM 3630 1250 ppm (2)	0,78	0,30

En géométrie cône plan, la mesure de la première différence des contraintes normales (N1) est accessible. Cette quantité devient mesurable dès lors que les chaînes de polymère sont étirées en solution de façon significative par la déformation imposée. Pour des solutions suffisamment concentrées, il existe donc un taux de cisaillement à partir de laquelle des contraintes normales se développent et augmentent avec le taux de cisaillement.

Les résultats obtenus dans le cas du FLOPAAM 3230 montrent que la concentration limite pour laquelle les contraintes normales se développent est de 1250 ppm (Figure 36). Dans le cas du FLOPAAM 3630, les contraintes normales se développent dès la plus petite concentration testée, c'est-à-dire 750 ppm (Figure 37). Les contraintes normales génèrent très souvent des instabilités d'écoulement. Lors des mesures, l'on considère que lorsque la contrainte normale est plus grande que la contrainte de cisaillement, les propriétés mesurées ne sont pas forcément correctes [81]. Nous admettrons une erreur de 10 % sur les valeurs obtenues.

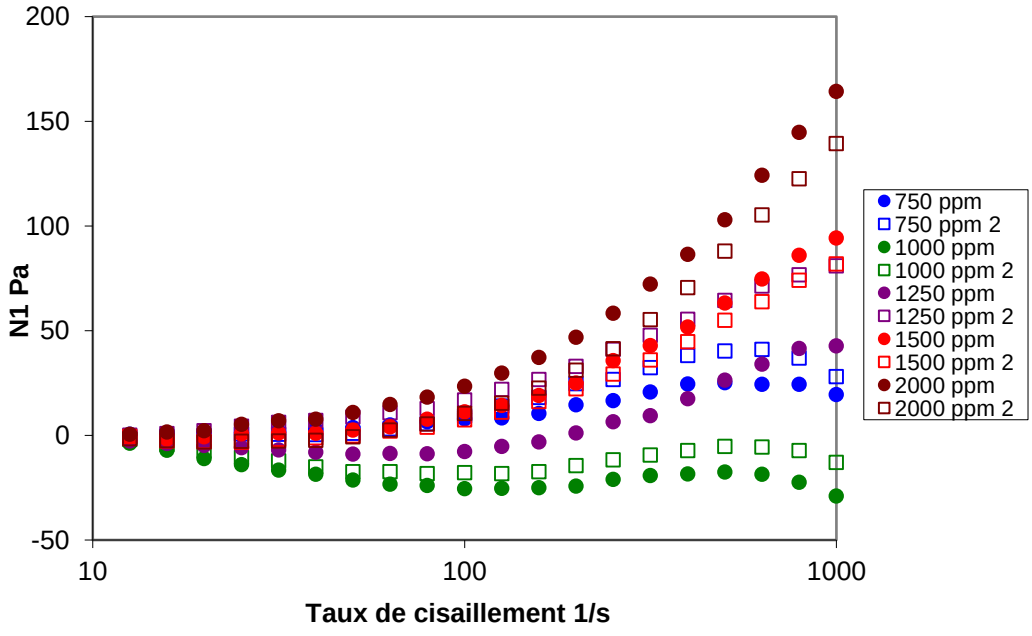


Figure 36 Courbe d'évolution de la contrainte normale en fonction de la vitesse de ciasaillement dans le cas du FLOPAAM 3230 à différentes concentrations

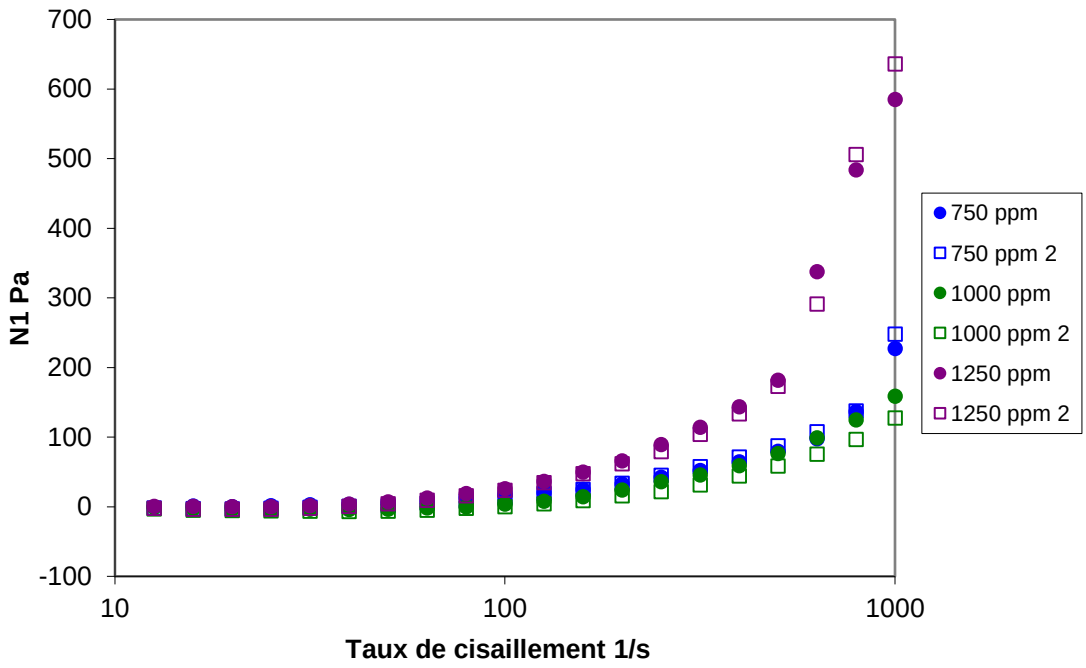


Figure 37 Courbe d'évolution de la contrainte normale en fonction de la vitesse de ciasaillement dans le cas du FLOPAAM 3630 à différentes concentrations

II.1.4 Tension interfaciale

Les tensions interfaciales ont été mesurées à la goutte pendante à température ambiante sur un tensiomètre Krüss (modèle DSA 25). Cette méthode permet de calculer une tension interfaciale à partir de la forme d'une goutte. Expérimentalement, une goutte du fluide 1 (le fluide 1 possédant la masse volumique la plus élevée) est formée à l'extrémité d'un capillaire plongé dans le fluide 2. Dans cette configuration, la force de gravité agissant sur la goutte tend à la déformer selon la direction verticale z alors que la tension interfaciale tend à conserver la forme sphérique de la goutte. Une goutte en forme de «poire» est alors obtenue. Comme la géométrie est axisymétrique, l'analyse du contour de la goutte dans un plan passant par l'axe de symétrie est suffisante.

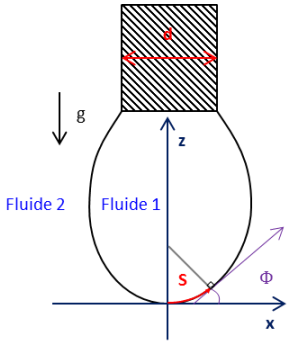


Figure 38 Schéma de principe de la mesure de la tension interfaciale par la méthode de la goutte pendante

La tension interfaciale entre la phase de la goutte et la phase continue provoque une augmentation de pression à l'intérieur de la goutte. En un point de l'interface, la relation existante entre la tension interfaciale γ et la différence de pression ΔP entre les deux phases peut être décrite par l'équation de Laplace :

$$\Delta \mathrm{P} = \gamma \left(\frac{1}{\mathrm{R}_1} + \frac{1}{\mathrm{R}_2} \right) \tag{27}$$

avec R_1 et R_2 les rayons de courbure horizontal et vertical de la goutte.

De plus, le poids de la goutte génère une pression hydrostatique à l'intérieur de la goutte. Cette pression dépend de la distance entre le point de mesure et l'extrémité du capillaire, elle est minimale à l'extrémité du capillaire et augmente avec la distance le long de l'axe vertical z.

Ainsi, la différence de pression ΔP le long de l'axe de symétrie peut aussi être donnée par :

$$\Delta \mathrm{P} = \frac{2\gamma}{\mathrm{b}} + \Delta \rho \mathrm{gz} \tag{28}$$

avec b le rayon de courbure à l'extrémité de la goutte, $\Delta\rho$ la différence de masse volumique entre la phase de la goutte et la phase continue et g l'accélération de pesanteur.

Les deux rayons de courbure peuvent être définis de la manière suivante :

$$\frac{1}{\mathrm{R}_1} = \frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{dS}} \tag{29}$$

et :

$$\frac{1}{\mathrm{R}_2} = \frac{\sin\phi}{\mathrm{x}} \tag{30}$$

avec S la longueur de l'arc entre l'extrémité de la goutte et le point de mesure sur le contour de la goutte et ϕ l'angle que fait la tangente au contour par rapport à l'axe des x.

En combinant les équations (27)(28)(29)(30), on obtient :

$$\frac{\mathrm{d}\phi}{\mathrm{d(S/b)}} = 2 + \frac{\mathrm{z}}{\mathrm{b}} \mathrm{B_o} - \frac{\sin\phi}{\mathrm{x/b}} \tag{31}$$

avec le facteur de forme de la goutte qui correspond au nombre de Bond :

$$\mathrm{B_o} = \frac{\Delta \rho \mathrm{g b}^2}{\gamma} \tag{32}$$

Lors d'une mesure, le grossissement de l'image est déterminé en entrant manuellement dans le logiciel le diamètre d du capillaire utilisé. Cela permet d'avoir accès aux dimensions réelles de la goutte. Puis le contour de la goutte est déterminé à partir de l'image de la goutte par analyse de niveaux de gris. Ensuite, le nombre de Bond est varié jusqu'à ce que le contour de la goutte calculé avec l'équation (31) corresponde au contour réel de la goutte. Enfin, en connaissant la différence de masse volumique entre les fluides 1 et 2, la tension interfaciale est calculée à partir de l'équation (32).

Pour chaque valeur de tension interfaciale donnée par la suite, des points ont été pris toutes les 10 s pendant 2500 s. La valeur donnée correspond à la moyenne calculée sur les 1000 dernières secondes (Tableau 3 et Tableau 4). L'incertitude donnée correspond à deux fois la valeur de l'écart-type. Dans tous les cas, l'équilibre est atteint dès les premières secondes de la mesure (Figure 39, Figure 40 et Figure 41).

Tableau 3 Tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante à 23 ± 2 °C entre les huiles silicones et les mélanges eau-glycérol étudiés. Les concentrations sont données en pourcentages massiques et les tensions interfaciales en mN/m.

	Huile silicone 20 cSt	**79,9 % Huile silicone 20 cst**	**60 % Huile silicone 20 cSt**	**Huile silicone 500 cSt**
60 % glycérol	27,7 ± 0,2	25,8 ± 0,1	27,7 ± 0,1	/
68,4 % glycérol	25,9 ± 0,3	27,0 ± 0,2	27,0 ± 0,2	/
75,9 % glycérol	25,4 ± 0,1		/	/
80 % glycérol	/	/	27,1 ± 0,2	26,9 ± 0,4
90 % glycérol	/	/	26,9 ± 0,3	26, ± 0,4
93 % glycérol	/	/	/	26,7 ± 0,1
98 % glycérol	/	/	26,7 ± 0,1	/
60 % glycérol + 1,7% DTAB	9,3 ± 0,1			

Dans le cas des couples de fluides huile silicone / mélange eau-glycérol, quelles que soient les différentes concentrations, la tension interfaciale entre la phase huile et la phase aqueuse ne change pas et est d'une manière générale de 26,6 ± 1,2 mN/m (Tableau 3). La Figure 39 montre trois des systèmes étudiés.

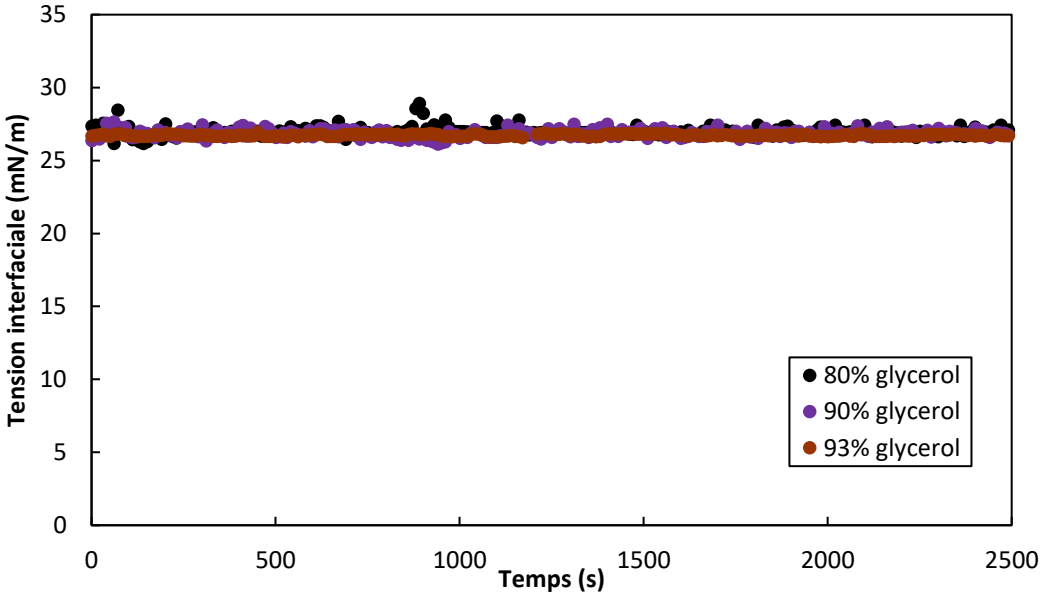


Figure 39 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 500 cSt et des mélanges eau-glycérol à différentes concentrations

Tableau 4 Tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante à 23 ± 2 °C entre les différentes huiles et les mélanges aqueux étudiés. Les concentrations sont données en pourcentages massiques et les tensions interfaciales en mN/m.

	Huile silicone 500 cSt	**Fluorinert FC-70**		**Huile silicone 20 cSt**		**Huile silicone 20 cSt**
0 % EtOH		50,8 ± 0,4	**51,9 % PEG**	17,8 ± 0,1	**FLOPAAM 3230 1000 ppm**	29,0 ± 0,3
10 % EtOH		33,3 ± 0,1	**63,3 % PEG**	14,1 ± 0,1	**FLOPAAM 3630 1000 ppm**	32,6 ± 0,1
22 % EtOH	17,8 ± 0,3	24,1 ± 0,1	**69,9 % PEG**	12,7 ± 0,1		
46 % EtOH	9,8 ± 0,2		**74,6 % PEG**	12,1 ± 0,1		
72 % EtOH	5,7 ± 0,1		**78,3 % PEG**	11,7 ± 0,1		

Contrairement au glycérol, les solutions aqueuses de polyéthylène glycol voient leur tension interfaciale avec l'huile silicone 20 cSt varier avec la concentration (Tableau 4 et Figure 41).

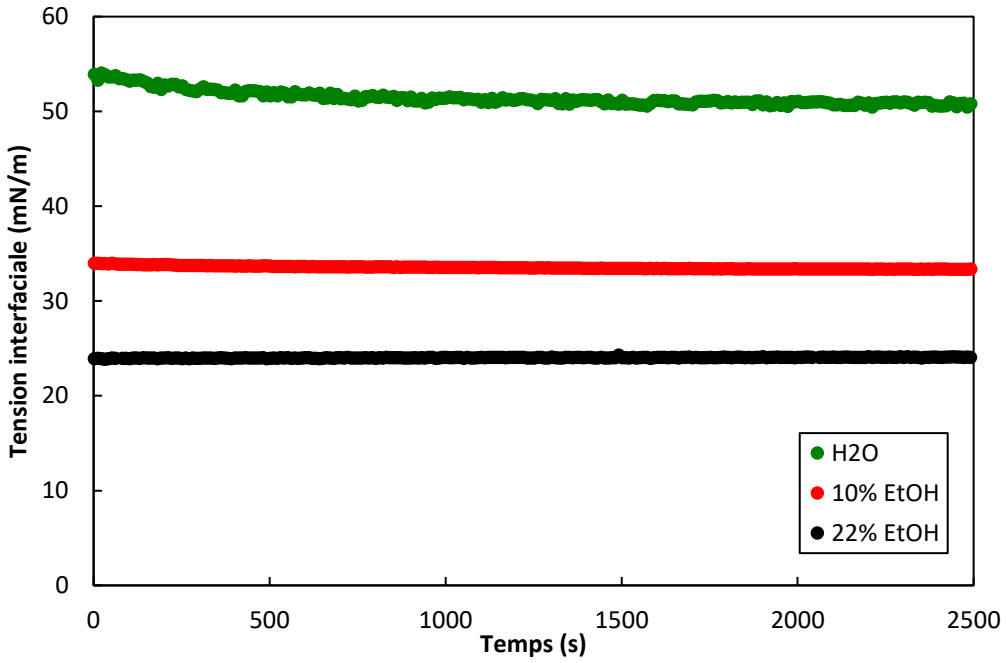


Figure 40 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile Fluorinert FC-70 et des mélanges eau-éthanol à différentes concentrations

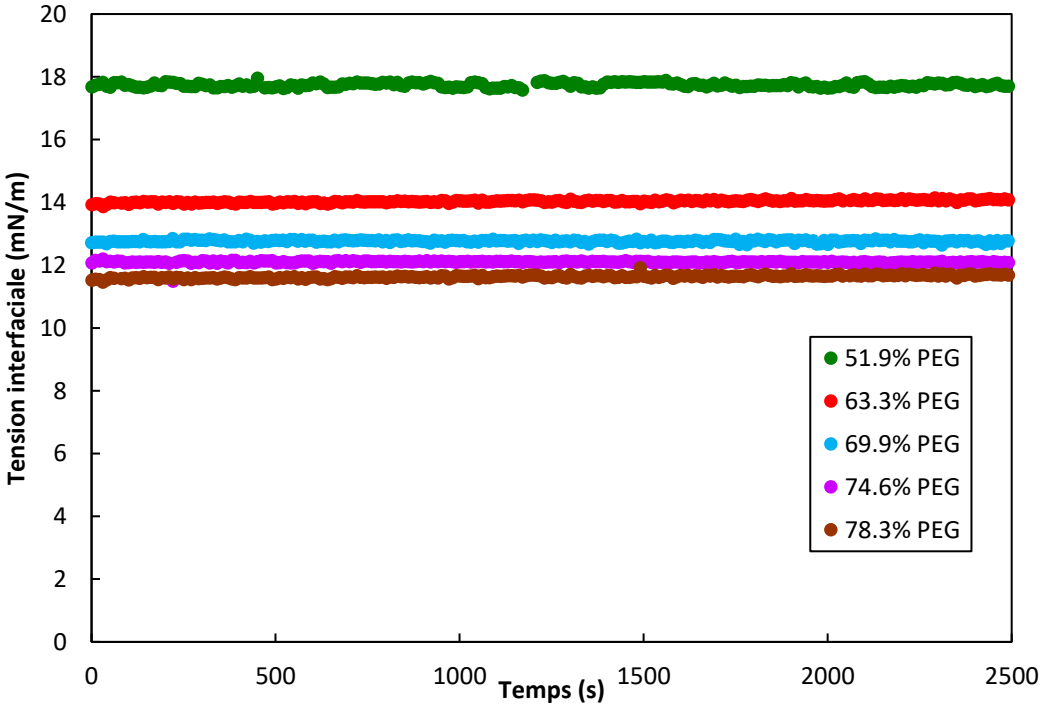


Figure 41 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 20 cSt et des solutions aqueuses de polyéthylène glycol à différentes concentrations

Dans le cas des solutions de FLOPAAM, les densités des deux phases sont trop proches pour pouvoir être mesurées à la goutte pendante. Les tensions présentées sur la Figure 43 ont donc été mesurées grâce à la méthode de la lame de Wilhelmy.

Dans cette méthode (Figure 42), une fine plaque de platine reliée à une microbalance plonge dans un réservoir contenant un ou deux liquides si la phase légère n'est pas l'air. La lame est positionnée à l'interface entre la phase légère et la phase lourde. La tension interfaciale est déterminée par l'équation suivante :

$$\gamma = \frac{\mathrm{F}}{\mathrm{P}\cos\theta} \tag{33}$$

avec γ la tension interfaciale (N/m)

F la force mesurée par la microbalance (N)

P le périmètre mouillé (m)

θ l'angle de contact entre la tangente de la ligne de mouillage et la surface de mouillage. La surface de la lame étant en platine rugueux, la mouillabilité est supposée parfaite et $\theta = 0\,°$ pour la plupart des liquides.

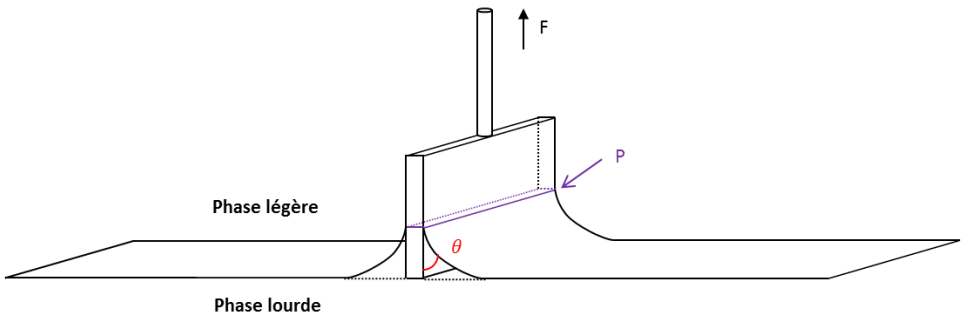


Figure 42 Méthode de la lame de Wilhelmy

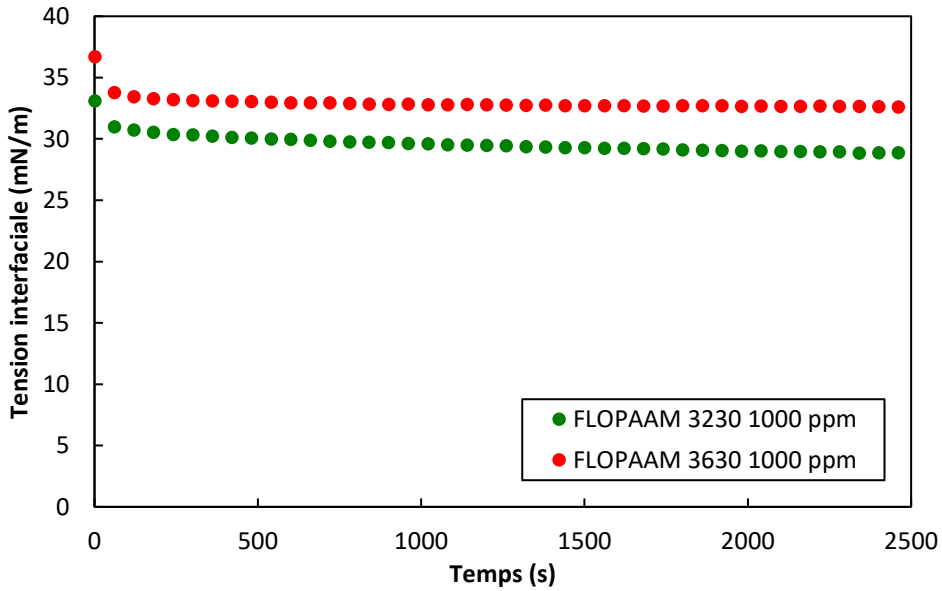


Figure 43 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 20 cSt et deux solutions de FLOPAAM

II.2 Microfabrication

Les microsystèmes utilisés sont fabriqués en suivant la méthode classique de photolithographie [2] (Figure 44). La géométrie des canaux a été dessinée grâce au logiciel Clewin conçu par WieWeb software. Ces dessins de géométries ont été imprimés sur des masques (Photext). Pour la fabrication du moule, un wafer de silicium (Neyco, diamètre 4 pouces, épaisseur 525 µm) est d'abord nettoyé grâce à un Plasma Cleaner (1 min, 29.6 W, 1100 mTorr air, Harrick Plasma). Puis, la résine SU8 (Microchem, série 2100) est étalée de manière uniforme sur le wafer grâce à un spin coater (Laurell Technologies Corporation). La résine est ensuite chauffée à 65°C pendant 5 min puis à 95°C pendant 30 min pour évaporer le solvant contenu dans la résine. Le masque est placé sur la résine et le tout est insolé aux UV (lampe UV LC8 HAMAMATSU) pour amorcer la réticulation de la résine non couverte par le masque. Pour avoir un bon contact entre le masque et la résine et ainsi une bonne définition des canaux, une plaque de verre transparent est posée sur le masque. La résine est ensuite chauffée une nouvelle fois à 65°C pendant 5 min puis à 95°C pendant 12 min pour finaliser le processus de polymérisation. Le wafer est ensuite rincé au PGMEA (propylène glycol monométhyl éther acétate, 99,5 %, Sigma Aldrich) pendant 5 min puis plongé dans une solution de PGMEA pendant 30 min. Cette étape permet de dissoudre la résine non exposée aux UV. Le wafer est ensuite séché à l'air puis chauffé à 200°C pendant 10 min pour assurer la tenue de la résine. Une étape de silanisation est ensuite réalisée pour diminuer l'adhésion entre le PDMS et la résine. Un récipient contenant une petite quantité de perfluoro octyl triethoxysilane est mis avec le wafer dans une enceinte fermée pendant 15 min.

Pour la réalisation des contre-moules en PDMS (polydiméthylsiloxane), le PDMS (90 % RTV 615 / 10 % agent réticulant, Momentive) est mélangé pendant 4 min puis dégazé sous vide. Ensuite le moule en résine est recouvert avec le PDMS et mis à 60°C pendant 1h30 au minimum pour réaliser la réticulation. Le contre-moule ainsi formé est ensuite découpé et décollé du moule. Les entrées et sorties de fluides sont percées à l'aide de poinçons dont la taille est adaptée au diamètre du tube voulu.

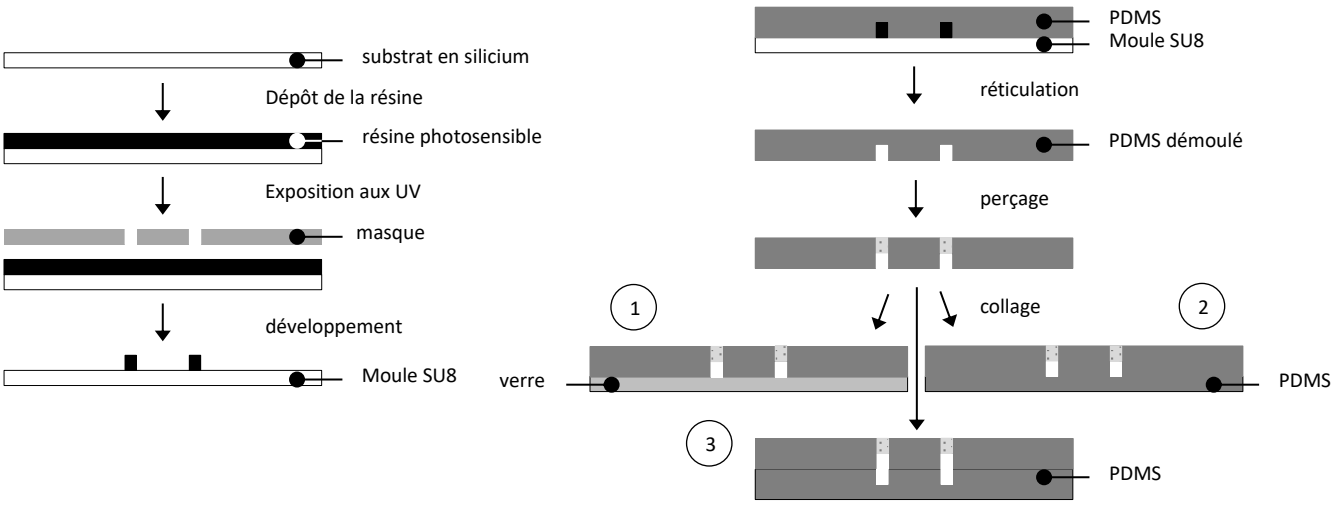


Figure 44 (à gauche) Réalisation d'un moule en résine SU8 par lithographie. (à droite) Fabrication de microcanaux en PDMS.

Le microsystème peut ensuite être fermé de plusieurs manières (Figure 44):

① Le contre-moule en PDMS est collé à une lame de verre [82] grâce au Plasma Cleaner (1 min, 29.6 W, 1100 mTorr air). Les parois du microsystème sont alors hydrophiles pendant environ 30 min [83]. Un microsystème PDMS/verre est alors obtenu. Dans certains cas, des huiles sont utilisées comme phase continue, il est nécessaire de rendre les parois du microsystème hydrophobes. Pour cela, une solution à 0,05 mol/L d'OTS (octadecyl trichlorosilane) dans l'hexadécane est injectée dans le microsystème pendant 1 min puis laissée en contact pendant 5 min. Les canaux sont ensuite rincés à l'hexadécane pendant 1 min puis remplis avec l'huile utilisée pour les essais ultérieurs.

② Le contre-moule en PDMS est fermé par du PDMS partiellement réticulé. Du PDMS est mis à partiellement réticuler dans une boîte de Pétri à l'étuve (60°C). Le contre-moule en PDMS est déposé au moment adéquat. Puis, le fond en PDMS en terminant sa réticulation se lie au contre-moule déjà réticulé ce qui permet de fermer le microsystème. Les parois du microsystème sont alors hydrophobes. Un microsystème PDMS/PDMS est alors obtenu. Si nécessaire, les parois du microsystème peuvent être rendues hydrophiles grâce à un traitement à l'acide acrylique [84, 85]. Une solution de benzophénone à 10 %m dans un mélange eau-acétone (50/50 %m) est injectée dans le microsystème à 1 mL/h pendant 15 min. La solution pénètre ainsi progressivement dans les parois du microsystème. Puis le microsystème est rincé à l'acétone. Une solution d'acide acrylique à 10 %m dans l'eau est ensuite injectée pour remplir le microsystème. Le microsystème est insolé sous la lampe UV (300 s, 30% Imax, distance échantillon 20 cm) et enfin rincé à l'eau. Les UV déclenchent la réaction de polymérisation de l'acide acrylique avec la benzophénone comme initiateur. Le polymère se forme au niveau de la paroi des canaux car la benzophénone est dans le PDMS et l'acide acrylique dans les canaux.

③ Le contre-moule en PDMS est fermé par un autre contre-moule en PDMS. Une fois les deux contre-moule réticulés, ces derniers sont traités au Plasma Cleaner. Puis, un film d'éthanol est déposé entre les deux contre-moules [86]. Il est alors possible d'aligner les deux géométries au microscope avant de terminer le collage en mettant le microsystème ainsi formé à l'étuve pendant une nuit. Les parois du microsystème sont alors hydrophobes.

La hauteur des canaux est déterminée en coupant le microsystème en deux et en mesurant leur hauteur à l'aide d'un microscope. Nous avons vérifié que la déformation des canaux consécutive à l'emploi des débits les plus élevés était négligeable. Pour un module d'Young du PDMS de 6.10^5 Pa et un débit de 80 mL/h ,une déformation inférieure à 4 % est obtenue.

II.3 Montage expérimental

Les fluides contenus dans des seringues en verre (SGE) sont injectés à l'aide de pousse-seringues (Harvard Apparatus) ou bien d'un contrôleur de pression (MFCS-EZ, Fluigent). Les seringues ou réservoirs sont reliées au microsystème par des tubes en PEEK (ID = 125µm – OD = 500µm) ou des tubes en FEP (OD = 1,6 mm). Les tubes utilisés sont choisis en fonction de la viscosité du fluide et du débit voulu de manière à ce que la perte de charge qui en résulte soit inférieure à la valeur maximale atteignable par le pousse-seringue ou le contrôleur de pression. Le microsystème est observé grâce à un microscope inversé (Axio Observer MAT, Zeiss) équipé d'un objectif x20.
Avant chaque série d'essais utilisant un nouveau microsystème, la mise au point est réalisée au mieux pour obtenir un contour de la goutte le plus net possible. Puis la position est repérée par un mécanisme dont le microscope est équipé. Ainsi la même mise au point est obtenue pour tous les essais réalisés dans un même microsystème.
Les vidéos des gouttes sont enregistrées à l'aide d'une caméra rapide (i-SPEED 2, Olympus) à une fréquence allant de 500 fps à 4000 fps en fonction de la vitesse de la goutte.

Remarque sur la mesure de déformation de la goutte :
L'incertitude sur la valeur de déformation vient principalement de l'incertitude sur les dimensions de la goutte liée à la taille d'un pixel. La taille d'un pixel est fixée par la résolution de la caméra ainsi que le grossissement de l'objectif utilisé. Plus le grossissement est important, plus la dimension (en m) correspondant à la taille d'un pixel sur l'image est faible. Cependant, plus le grossissement est important, plus le champ d'observation est faible car la dimension en pixels de l'image est fixée. Il faut donc choisir un grossissement d'objectif le plus grand possible pour minimiser l'incertitude sur les dimensions de la goutte mais pas trop grand pour que le champ d'observation soit assez large pour

permettre de suivre la relaxation de la goutte. Il faut aussi noter que le fait que la mise au point soit la même pour tous les essais réalisés dans un type de microsystème permet d'éviter une source d'erreur supplémentaire dans la mesure des dimensions de la goutte. Un autre paramètre à prendre en compte est la fréquence d'acquisition des images. En effet, pour notre caméra, plus celle-ci est importante plus la dimension en pixels de l'image est petite. De plus, plus la fréquence est importante, plus l'intensité lumineuse doit être importante. Ainsi l'incertitude sur les valeurs de déformation est fixée par le type de caméra utilisée. D'une manière générale, l'incertitude sur nos données pourrait être minimisée par l'emploi d'une caméra plus performante mais aussi beaucoup plus chère.

II.4 Analyse d'image et extraction des données

II.4.1 plug im !

La trajectoire des gouttes ainsi que leur forme sont obtenues par l'analyse des vidéos grâce à plug im !, une plate-forme logicielle pour le traitement des données développée par IFPEN [87]. L'algorithme utilise une méthode de segmentation visant à isoler le contour des gouttes du fond. La méthode utilisée est la méthode de segmentation automatique du Maximum de la Variance Interclasse (MVI) nécessitant le calcul de plusieurs grandeurs mesurables à partir de l'histogramme de chaque image de la vidéo analysée.

L'histogramme d'une image en niveaux de gris correspond, pour chaque niveau de gris, au nombre de pixels dont l'intensité est égale à ce niveau de gris au sein de l'image (entre 0 et 255 pour une image 8 bits). Les grandeurs mesurables sont les suivantes :

- la moyenne M du niveau de gris sur l'ensemble de l'image
- pour un seuil quelconque s (compris entre 0 et 255 pour une image 8 bits), la classe 0 contenant l'ensemble des pixels de l'image dont la valeur est inférieure ou égale à s et la classe 1 contenant l'ensemble des pixels dont la valeur est strictement supérieure à s
- les moyennes M0 (resp. M1) de l'ensemble des pixels contenus dans la classe 0 (resp. dans la classe 1)
- les probabilités d'occurrence p(C0) (resp. p(C1)) estimées par le rapport du nombre de pixels dans la classe C0 (resp. C1) sur le nombre de pixels de l'image.

Pour chaque valeur possible du seuil s, la variance interclasse est calculée de la manière suivante :

$$\mathrm{V(s)} = \mathrm{p(C0)(M0 - M)^2 + p(C1)(M1 - M)^2} \quad (34)$$

Le seuil retenu pour effectuer la segmentation est alors s_0 vérifiant $V(s_0) = Max[V(s)]$.

Comme les vidéos analysées n'ont pas toutes le même contraste, il est possible de régler le paramètre « Tolérance » correspondant à une tolérance sur la segmentation si celle-ci n'est pas réalisée correctement. Il est aussi possible de renseigner la surface minimale des objets à détecter, paramètre « Bruit max », ce qui permet d'éviter de détecter du bruit. Si le contour de la goutte n'est pas complet à l'issue de la segmentation, une étape de reconstruction du contour de la goutte est alors nécessaire. Pour fermer le contour de la goutte, il est possible de renseigner le paramètre « Taille goutte » correspondant approximativement au demi-rayon de la goutte.

Une fois le contour de la goutte détecté, un rectangle est ajusté sur ce contour (Figure 45). La déformation des gouttes est calculée grâce à la formule suivante :

$$D = \frac{w - l}{w + l} \tag{35}$$

avec w la plus grande dimension de la goutte suivant l'axe des y perpendiculaire à l'écoulement et l la plus petite dimension de la goutte suivant l'axe des x parallèle à l'écoulement. w et l correspondent en fait aux deux longueurs du rectangle. Les coordonnées x, y de la goutte sont prises comme étant celles du centre du rectangle.

Le fichier résultat renseigne aussi pour chaque image de la vidéo le numéro de l'image, le numéro de la goutte sur l'image, la surface et le périmètre de la goutte. Toutes les valeurs sont données en pixels, l'origine est prise comme étant le coin inférieur gauche de l'image.

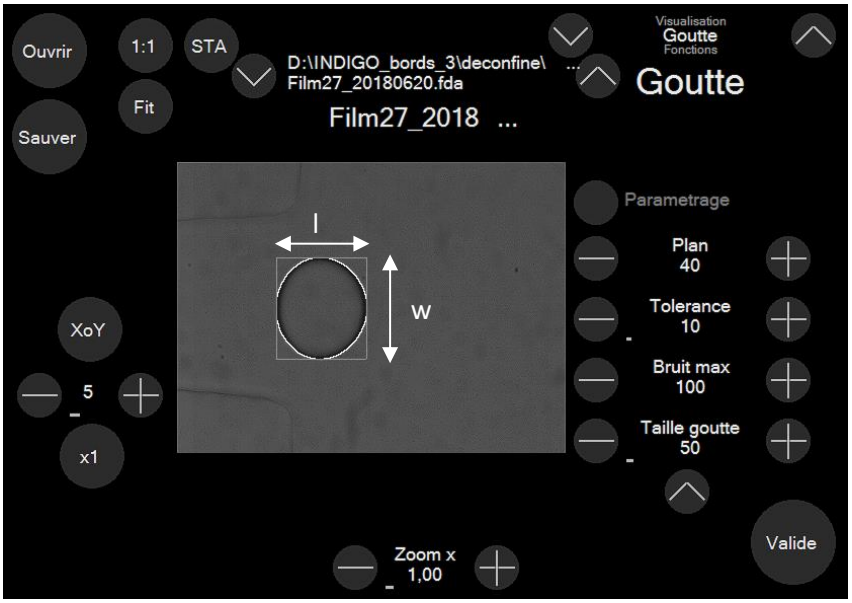


Figure 45 Interface du logiciel d'analyse d'images plug im !

II.4.2 Programme Matlab

Les fichiers résultats sont ensuite importés dans Matlab et les données sont analysées grâce au programme détaillé ci-dessous.

II.4.2.1 Extraction de la déformation maximale de la goutte

Les grandeurs données en pixel sont converties en mètres. La courbe représentant la déformation des gouttes en fonction de leur position dans le canal est tracée (Figure 46) puis les éventuels points aberrants sont retirés. Une courbe est composée des points obtenus pour 3 gouttes successives. Ensuite, un ajustement d'une forme semblable à l'équation (36) c'est-à-dire de la forme de l'équation (37) est réalisé sur les données à partir de l'entrée de la goutte dans la chambre d'expansion. En effet, cette forme d'ajustement a été utilisée par Gires *et al.* [88] pour leurs travaux sur la déformation d'une capsule contenant de l'albumine à l'entrée d'une expansion. Elle correspond à une fonction linéaire exponentielle classiquement utilisée pour modéliser la réponse en intensité d'un courant à un saut de potentiel dans un circuit RLC en régime critique amorti.

$$L_i(t) = [L_i(0) - L_{i\infty} - \alpha_i(t - t_e)]e^{-(t-t_e)/\tau_i} + L_{i\infty} \tag{36}$$

$$y = p(1) + (p(2)x + p(3))e^{-\frac{x}{p(4)}} \tag{37}$$

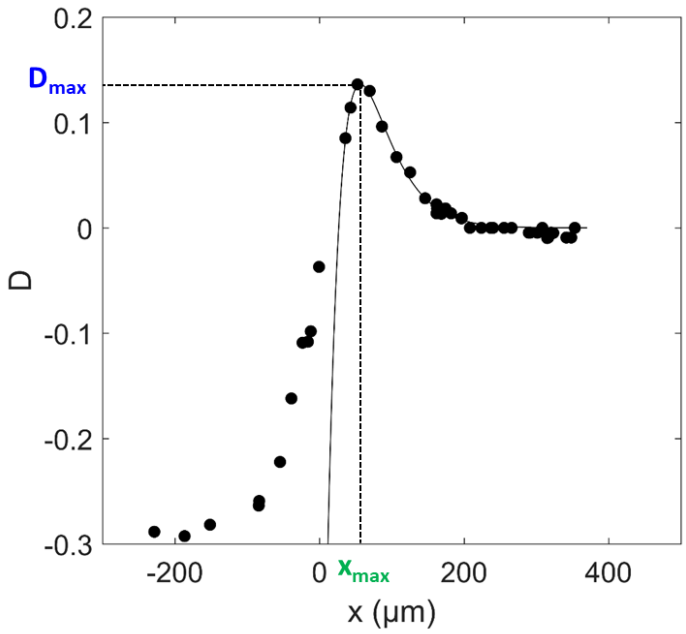


Figure 46 Exemple d'évolution de la déformation d'une goutte en fonction de sa position dans le canal

Cette forme d'ajustement a été choisie car elle permet de déterminer à la fois la valeur de la déformation maximale et celle du temps de relaxation de la goutte. On note $\epsilon = p(1)$ qui correspond à la déformation résiduelle de la goutte loin de la restriction.

La valeur de la déformation maximale D_{max} est ensuite prise comme étant la valeur maximale de la courbe ajustée. La position associée à cette déformation maximale x_{max} est aussi relevée (Figure 46).

Dans certains cas, lorqu'on regarde plus attentivement les courbes de déformation (Figure 47), on s'aperçoit qu'à cause du faible nombre de points présents dans la zone de la déformation maximale, la valeur issue de l'ajustement $D_{max,exp}$ peut être sous-estimée par rapport à la valeur de déformation la plus élevée des données brutes $D_{max,brut}$. Ainsi, pour certains essais, losque l'ajustement sous-estimait trop la valeur de la déformation maximale réelle, nous avons considéré dans le traitement ultérieur des données la valeur brute. Une fréquence d'acquisition d'images plus élevée pourrait éviter ce problème en vue d'une automatisation ultérieure de l'analyse des données.

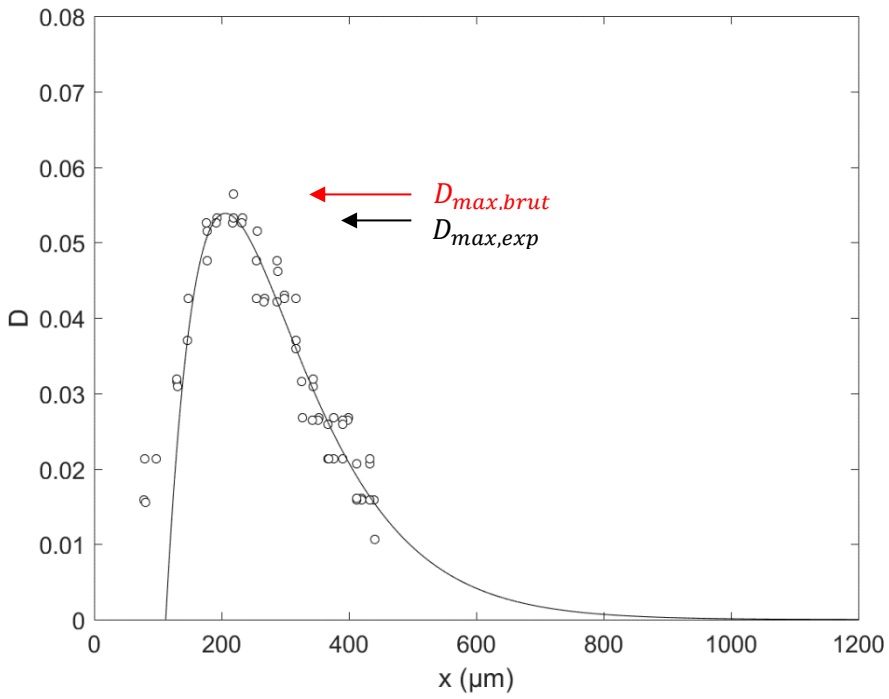


Figure 47 Evolution de la déformation d'une goutte de FLOPAAM 3230 1000 ppm en fonction de sa position dans le canal. $D_{max,exp}$ est la valeur de déformation maximale obtenue grâce à l'ajustement et $D_{max,brut}$ la valeur de déformation la plus élevée des données brutes.

II.4.2.2 Extraction de la vitesse de la goutte à la position de la déformation maximale

Pour pouvoir établir la corrélation reliant la déformation maximale au nombre capillaire, il faut le calculer. Pour cela, il faut déterminer la vitesse des gouttes, elle est calculée de la manière suivante :

la vitesse instantanée d'une goutte à la position x sur l'image i est égale à sa position sur l'image i+1 moins sa position sur l'image i le tout divisé par t_f qui correspond au temps entre chaque image, ce qui se traduit par l'équation (38).

$$U_i(x) = \frac{x_{i+1} - x_i}{t_f} \tag{38}$$

Le fait de calculer les vitesses à partir des acquisitions vidéo permet de s'affranchir des éventuelles incertitudes sur les débits.

Les données représentant l'évolution de la vitesse de la goutte en fonction de sa position dans le canal (Figure 48) sont ensuite ajustées sur un modèle de sigmoïde utilisé pour représenter des phénomènes à seuil et dont l'équation est la suivante :

$$y = p(1) + p(2)\tanh(p(3)(x + p(4))) \tag{39}$$

La vitesse de la goutte associée à la déformation maximale U_{Dmax} qui sera ensuite injectée dans le nombre capillaire est prise comme étant la valeur que prend la fonction ajustée de la vitesse lorsque l'abscisse vaut celle de la position de la déformation maximale.

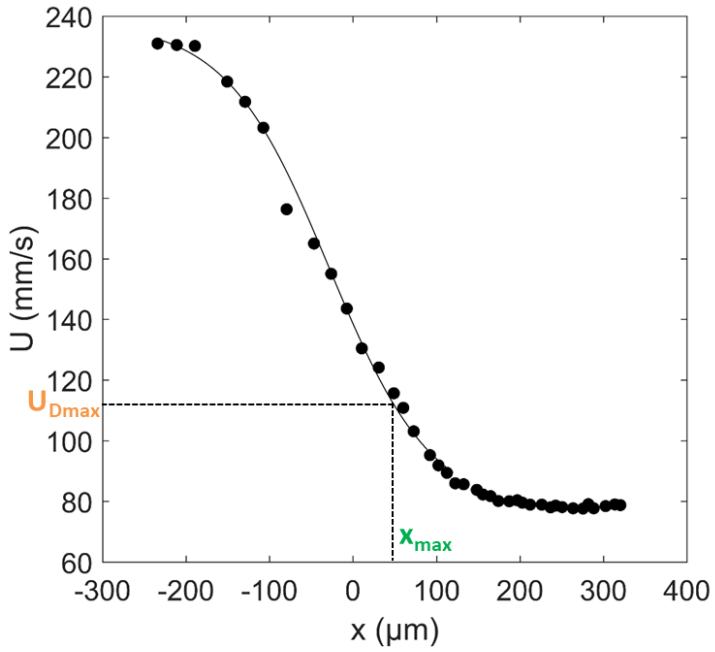


Figure 48 Exemple d'évolution de la vitesse d'une goutte en fonction de sa position dans le canal

II.4.2.3 Extraction du temps de relaxation de la goutte

Grâce aux valeurs ajustées de déformation et de vitesse de la goutte en fonction de sa position dans le canal, la déformation est tracée en fonction du temps (Figure 49). Le temps écoulé associé à une position dans le canal est calculé de la manière suivante :

$$t_1 = 0$$
$$t_{j+1} = t_j + \frac{x_{j+1} - x_j}{U_j} \tag{40}$$

Les données sont ensuite ajustées suivant l'équation suivante (Figure 49) :

$$ln(D(t) - \epsilon) = p(1) - \frac{t}{p(2)} \tag{41}$$

Le temps de relaxation τ est ainsi défini comme étant égal à p(2) dans l'équation (41).
Cette méthode permet de calculer de manière précise la valeur du temps de relaxation. En effet, cette valeur est déterminée par un ajustement réalisé sur une zone comprenant de nombreux points.

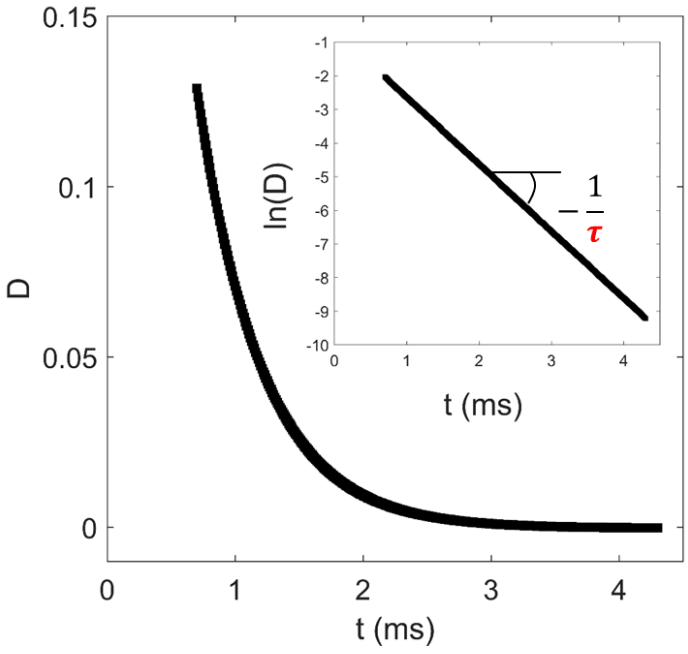


Figure 49 Exemple d'évolution de la déformation d'une goutte en fonction du temps. Insert : Méthode de calcul de la valeur du temps de relaxation

II.4.2.4 Extraction du rayon de la goutte

La taille des gouttes est aussi extraite de l'analyse des données. Le rayon de la goutte est pris comme étant égal au rayon du disque équivalent de même aire que celle de la goutte.

II.4.2.5 Extraction du temps de convection

Le taux d'extension est défini de la manière suivante :

$$\dot{\varepsilon}_i = \frac{u_{i+1} - u_i}{\Delta x} \tag{42}$$

avec u la vitesse de la goutte issue de l'ajustement et $\Delta x = 1\ \mu m$ le pas choisi.

$\dot{\varepsilon}$ est ensuite tracé en fonction du temps (Figure 50). On remarque qu'il suit une décroissance exponentielle en fonction du temps. Ainsi, nous définissons un temps de convection τ_U tel que :

$$\dot{\varepsilon} = \dot{\varepsilon}_0 e^{-\frac{t}{\tau_U}} \tag{43}$$

Les valeurs de taux d'extension sont donc passées au logarithme et le temps de convection est déduit de la pente de la droite obtenue (Figure 50).

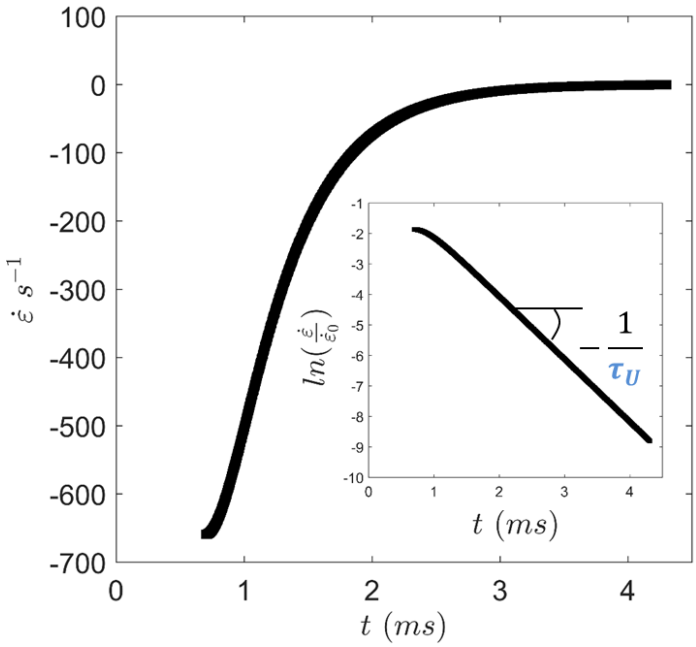


Figure 50 Exemple d'évolution du taux d'extension en fonction du temps. Insert : Méthode de calcul de la valeur du temps de convection.

Chapitre III Déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique

Dans ce chapitre, nous allons dans un premier temps présenter les géométries utilisées pour déformer les gouttes. Puis nous étudierons les deux grandeurs expérimentales qui nous intéressent à savoir le temps de relaxation et la déformation maximale de la goutte. Nous montrerons que la mesure du temps de relaxation ne permet pas de remonter à la viscosité de la goutte. Nous montrerons ensuite que la mesure de la déformation maximale de la goutte à l'entrée de la chambre d'expansion est quant à elle bien influencée par la viscosité de la goutte. Ainsi nous chercherons une corrélation permettant de relier la déformation maximale de la goutte aux différentes grandeurs gouvernant le phénomène et en particulier la viscosité de la goutte.

III.1 Design du microsystème

III.1.1 Choix de la géométrie

Pour observer la déformation de la goutte, nous avons choisi de nous placer au niveau de la sortie d'une restriction 1 : 3. En effet, il s'agit d'une géométrie simple, facile à obtenir par microfabrication. D'autres techniques actives de déformation de gouttes existent comme l'utilisation d'un champ électrique [89] cependant elles sont plus complexes à mettre en place expérimentalement. La variation abrupte de la largeur du canal permet à la goutte de passer par un maximum de déformation, avec une variation plus douce de la géométrie comme les formes optimisées de Zografos *et al.* [90], la goutte atteindrait sa forme relaxée en sortie de restriction sans passer par ce maximum. Enfin, le fait que la géométrie soit plane et non axisymétrique permet de minimiser la perte d'information lors de l'observation. En effet, celle-ci s'effectue dans un plan. Avec une géométrie axisymétrique, nous perdrions l'information sur la déformation de la goutte dans la direction perpendiculaire à ce plan.

III.1.2 Description des différentes géométries

Quatre configurations de goutte ont été étudiées dans trois géométries différentes. La première géométrie (A) est inspirée des travaux de Cabral *et al.* [68] et les deux autres géométries (B et C) des travaux de Brosseau *et al.* [69]. Ces trois géométries possèdent les mêmes éléments constitutifs (Figure 51). Des gouttes monodisperses sont produites à une jonction T (A) ou une géométrie flow-focusing (B et C). Des canaux supplémentaires sont ajoutés en aval pour pouvoir contrôler la vitesse des gouttes. Les gouttes sont ensuite éventuellement déconfinées par variation de la hauteur du canal (C). Pour

cette configuration, la hauteur du canal est modifiée seulement après la zone de production pour pouvoir produire des gouttes de la taille souhaitée au niveau du flow-focusing. Puis, les gouttes sont déformées lors de leur entrée dans une chambre de déformation dont la largeur est égale à trois fois celle du canal d'arrivée. Enfin, après avoir atteint leur déformation maximale, elles relaxent vers une forme sphérique.

Ces trois géométries varient principalement à cause des dimensions des canaux et de la chambre d'expansion (Figure 52) et de la manière dont la goutte est confinée dans le canal d'arrivée :

- **A – 1** : la goutte est confinée dans le canal d'arrivée seulement dans le sens de la hauteur
- **A – 2** : la goutte n'est pas confinée dans le canal d'arrivée
- **B** : la goutte est confinée dans le canal d'arrivée dans le sens de la hauteur et de la largeur
- **C** : la goutte n'est pas confinée dans le canal d'arrivée

Pour la géométrie A, les deux configurations de gouttes sont dues à une variation des débits au niveau de la zone de production pour former des gouttes de taille plus ou moins importante.

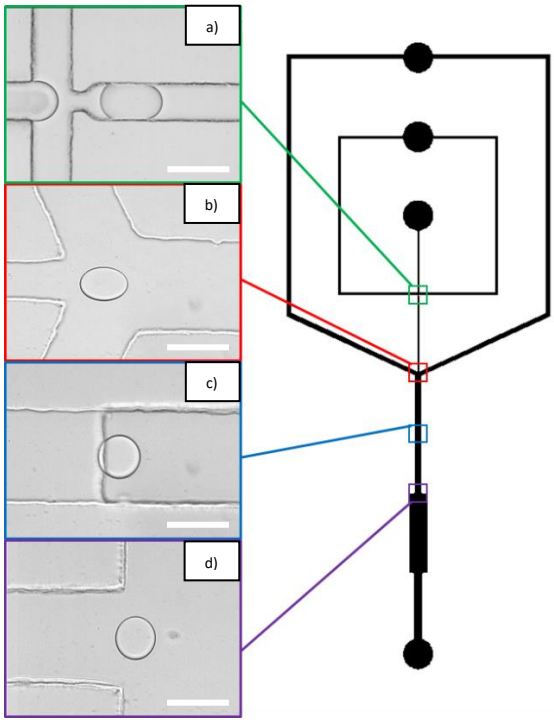
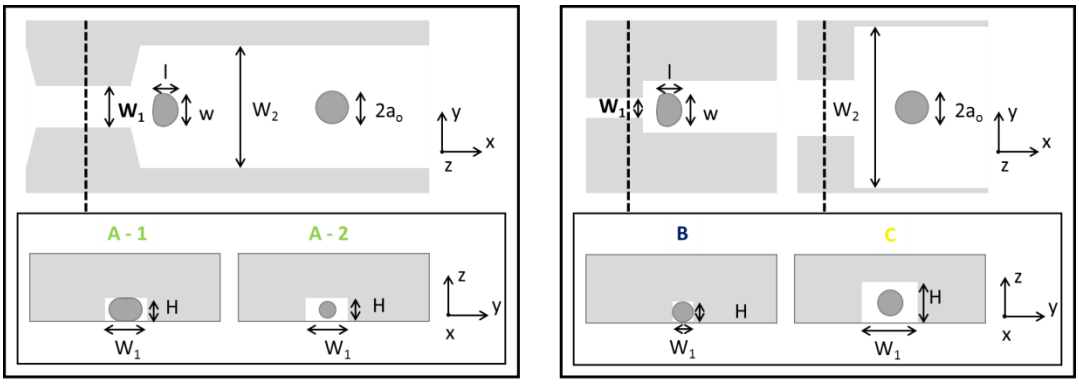


Figure 51 Géométrie typique des puces microfluidiques utilisées – a) zone de production des gouttes – b) zone d'accélération des gouttes – c) zone de déconfinement des gouttes – d) zone de déformation des gouttes. Le trait blanc correspond à 200 µm.



A - 1	
H (µm)	133
W_1 (µm)	250
W_2 (µm)	725

B	
H (µm)	120
W_1 (µm)	120
W_2 (µm)	310

C	
H (µm)	240
W_1 (µm)	333
W_2 (µm)	960

Figure 52 Dimensions des chambres des différentes géométries des microsystèmes utilisés

Nous considérons, dans un premier temps, la situation la plus simple sans tensioactif ni polymère. Après leur formation, les gouttes sont déformées au niveau de la chambre d'expansion dans la direction perpendiculaire à l'écoulement. La déformation de la goutte atteint un maximum un peu après l'entrée de la chambre d'expansion puis la goutte relaxe vers une forme sphéroïdale.

Différents couples de fluides ont été étudiés dans les différentes géométries de microsystèmes présentées en Figure 52. Les viscosités des phases dispersée et continue sont répertoriées dans les Tableau 5 et Tableau 6. Pour ces différents couples de fluides, le nombre capillaire Ca est varié via la modification de la vitesse de la goutte par changement du débit au niveau de l'arrivée supplémentaire de phase continue. Le paramètre R* est varié via la modification du diamètre de la goutte par changement des débits de phase dispersée et continue au niveau de la zone de production de gouttes. Le Tableau 7 répertorie les gammes dans lesquelles la vitesse et la taille des gouttes ont été variées.

Tableau 5 Viscosités des différents systèmes étudiés dans le microsystème A. La phase dispersée est un mélange glycérol-eau, la phase continue, un mélange d'huiles silicones.

A – 1	A – 2
$\eta_d = 60$ mPa.s // $\eta_c = 107$ mPa.s // $\lambda = 0{,}6$	$\eta_d = 60$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}1$
$\eta_d = 367$mPa.s // $\eta_c = 107$ mPa.s // $\lambda = 3{,}4$	$\eta_d = 367$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}7$
$\eta_d = 939$ mPa.s // $\eta_c = 107$ mPa.s // $\lambda = 8{,}8$	$\eta_d = 2{,}3$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}004$
$\eta_d = 60$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}1$	$\eta_d = 2{,}9$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}006$
$\eta_d = 219$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}4$	$\eta_d = 2{,}2$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}004$
$\eta_d = 367$ mPa.s // $\eta_c = 520$ mPa.s // $\lambda = 0{,}7$	

Tableau 6 Viscosités des différents systèmes étudiés dans les microsystèmes B et C. La phase dispersée est un mélange d'huiles silicones, la phase continue, un mélange glycérol-eau.

B	C
$\eta_d = 19{,}8$ mPa.s // $\eta_c = 10{,}8$ mPa.s // $\lambda = 1{,}8$	$\eta_d = 19{,}8$ mPa.s // $\eta_c = 10{,}8$ mPa.s // $\lambda = 1{,}8$
$\eta_d = 99{,}4$ mPa.s // $\eta_c = 10{,}8$ mPa.s // $\lambda = 9{,}2$	$\eta_d = 47{,}9$ mPa.s // $\eta_c = 10{,}8$ mPa.s // $\lambda = 4{,}4$
$\eta_d = 47{,}9$ mPa.s // $\eta_c = 19{,}8$ mPa.s // $\lambda = 2{,}4$	$\eta_d = 99{,}4$ mPa.s // $\eta_c = 10{,}8$ mPa.s // $\lambda = 9{,}2$
$\eta_d = 19{,}8$ mPa.s // $\eta_c = 19{,}8$ mPa.s // $\lambda = 1$	$\eta_d = 19{,}8$ mPa.s // $\eta_c = 19{,}8$ mPa.s // $\lambda = 1$
$\eta_d = 19{,}8$ mPa.s // $\eta_c = 38{,}5$ mPa.s // $\lambda = 0{,}5$	$\eta_d = 47{,}9$ mPa.s // $\eta_c = 19{,}8$ mPa.s // $\lambda = 2{,}4$
	$\eta_d = 99{,}4$ mPa.s // $\eta_c = 19{,}8$ mPa.s // $\lambda = 5$

Tableau 7 Gamme de variation du rayon et de la vitesse à la déformation maximale des gouttes dans les différents microsystèmes étudiés

	A - 1	A - 2	B	C
$a_{o,min}$ (µm)	85,8	45,8	43,5	64,8
$a_{o,max}$ (µm)	97,7	57,5	81,4	84,7
$U_{Dmax,min}$ (mm/s)	6,0	9,0	10,3	66,2
$U_{Dmax,max}$ (mm/s)	22,2	17,5	58,1	261,2

III.2 Temps de relaxation d'une goutte déformée dans une chambre d'expansion microfluidique

III.2.1 Intégration du modèle de Taylor

Nous nous sommes dans un premier temps intéressés à l'étude du temps de relaxation de la goutte dans la chambre d'expansion. Repartons de l'équation (17) que l'on peut réécrire :

$$\frac{dD}{dt} = \frac{1}{\tau_{Ca}}\left(D_{éq} - D\right) \tag{44}$$

Avec D la déformation de la goutte, τ_{Ca} le temps de relaxation capillaire et $D_{éq}$ la déformation de la goutte dans des conditions stationnaires.

En intégrant cette équation, on obtient :

$$D(t) = D_1 \exp^{-t/\tau_{Ca}} + \exp^{-t/\tau_{Ca}} \int_0^t \frac{D_{éq}(t')}{\tau_{Ca}} \exp^{t'/\tau_{Ca}} dt' \tag{45}$$

Avec D_1 une constante d'intégration.

Pour pouvoir continuer l'intégration, il faut trouver une forme mathématique pour $D_{éq}(t')$. D'après son expression, seul $\dot{\varepsilon}$ dépend du temps. Nous supposons que les gouttes peuvent être assimilées à des traceurs et qu'elles ont la même vitesse que celle de la phase continue. Cette hypothèse reste valable même dans le cas confiné car la présence de la goutte ne modifie que très peu le profil de vitesse dans le canal [91]. Nous supposons donc que ces deux vitesses vont évoluer de la même manière en fonction du temps. Nous avons mesuré expérimentalement le taux d'extension dans la chambre qui correspond à la dérivée de la vitesse de la goutte en fonction de sa position dans le canal. L'opposé de cette grandeur varie de manière exponentielle avec le temps passé par la goutte dans la chambre d'expansion (Figure 50). Ainsi nous pouvons écrire :

$$\mathrm{D_{éq}(t) = D_0 exp^{-Ut\prime/L}} \qquad (46)$$

Avec L une longueur caractéristique impliquée dans l'écoulement que nous expliciterons par la suite et D_0 une autre constante d'intégration.

Nous définissons un temps de convection $\tau_U = {}^{L}/_{U}$ proportionnel à l'inverse de la vitesse de l'écoulement. Ainsi en terminant l'intégration nous obtenons l'équation suivante :

$$\mathrm{D(t) = C_1 exp^{-t/\tau_{Ca}} + C_2 exp^{-t/\tau_U}} \qquad (47)$$

Avec C_1 et C_2 des constantes.

La Figure 53 représente le temps de relaxation expérimental τ en fonction du temps capillaire τ_{Ca}. Le temps expérimental est de 2,5 à 32 fois supérieur au temps capillaire. La Figure 54 représente quant à elle le temps de relaxation expérimental en fonction du temps de convection. Ces deux temps sont du même ordre de grandeur.

Ainsi, expérimentalement, $\tau_U \gg \tau_{Ca}$ et la valeur du temps de relaxation mesurée expérimentalement est finalement égale à τ_U. Pour que ces deux temps soient du même ordre de grandeur, il faudrait :

- soit diminuer τ_U c'est-à-dire :
    - Soit augmenter la vitesse de la goutte. La vitesse de la goutte ne peut être cependant augmentée que dans une certaine limite pour éviter qu'elle ne se casse dans la zone de déformation.
    - Soit diminuer la longueur caractéristique L. Diminuer L reviendrait à diminuer aussi la taille de la goutte et donc le temps capillaire par la même occasion.

- Soit augmenter τ_{Ca} c'est-à-dire :
    - Soit augmenter les viscosités des fluides. Cependant une augmentation de viscosité implique une diminution de débit et donc de vitesse pour ne pas monter trop en pression dans le microsystème.
    - Soit augmenter la taille de la goutte ce qui revient à augmenter la longueur caractéristique.
    - Soit diminuer la tension interfaciale mais on retrouve le risque de rupture de la goutte.

Ainsi expérimentalement les solutions sont limitées pour faire prévaloir le temps capillaire sur le temps de convection et ainsi pouvoir avoir accès aux propriétés physico-chimiques de la goutte par mesure du temps de relaxation.

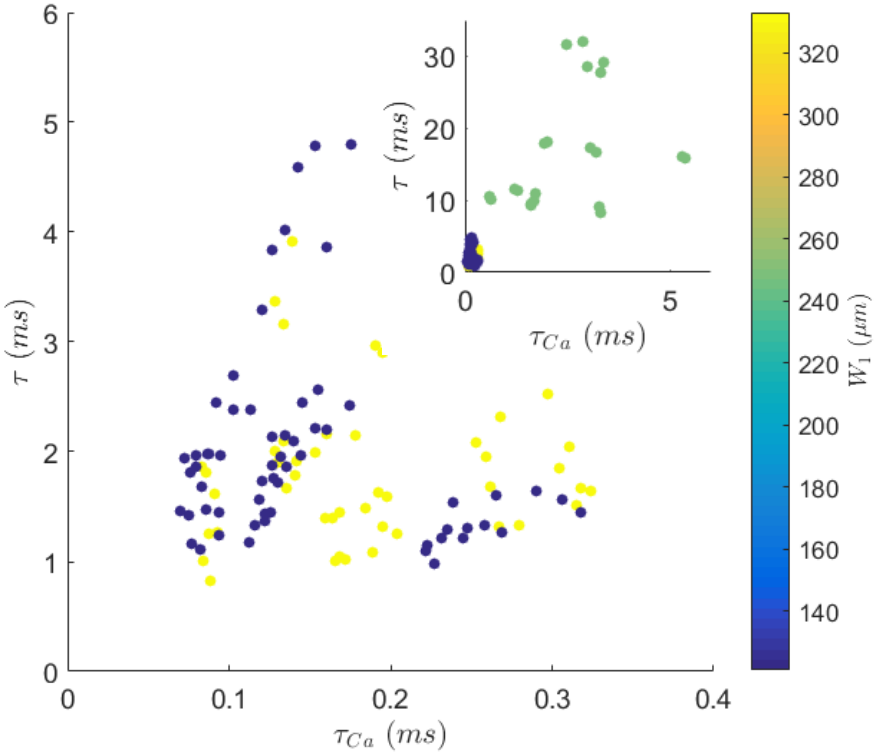


Figure 53 Temps de relaxation expérimental en fonction du temps capillaire pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes B et C. Insert : Elargissement sur les points obtenus dans le microsystème A.

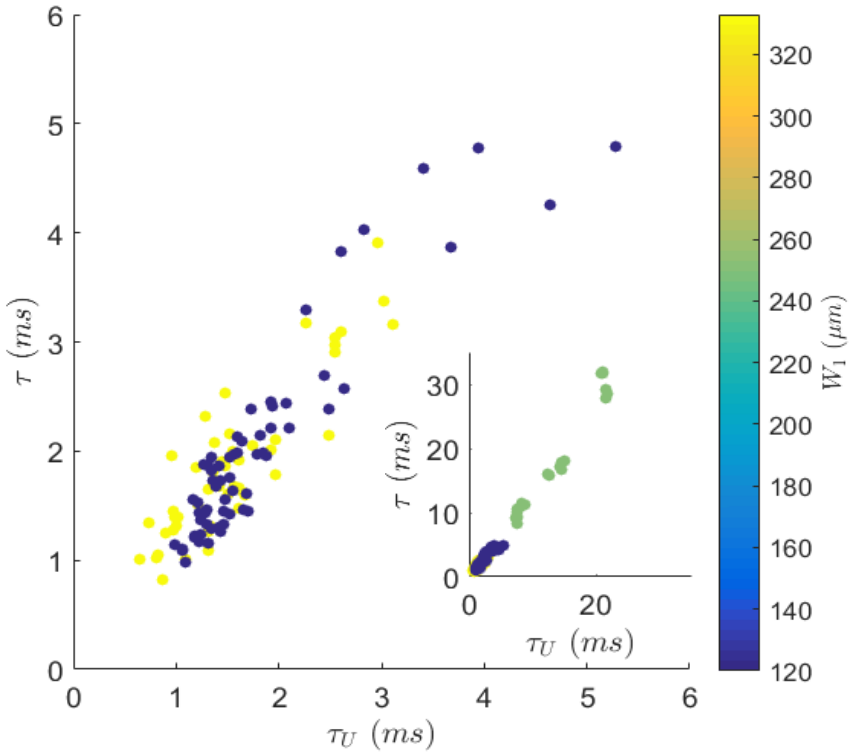


Figure 54 Temps de relaxation expérimental en fonction du temps de convection pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes B et C. Insert : Elargissement sur les points obtenus dans le microsystème A.

III.2.2 Expression du temps de relaxation expérimental

Pour la suite, nous avons donc cherché une expression du temps de convection de la forme $\tau_U = {}^{L}/_{U}$. Pour l'expression de la vitesse U, nous considérons celle de la vitesse à la déformation maximale U_{Dmax}. Pour l'expression de la distance caractéristique L, elle s'exprime simplement en fonction de W_1 la largeur du canal d'arrivée (Figure 55). Elle aurait tout aussi bien pu s'exprimer en fonction W_2 car pour tous les essais le rapport W_2/W_1 est gardé à 3.

Nous remarquons une légère déviation pour les valeurs de $R^* = 2a_0/W_1$ les plus élevées. Nous ne savons pas vraiment comment l'interpréter. Des simulations numériques 3D seraient nécessaires pour apporter quelques éléments de réponse.

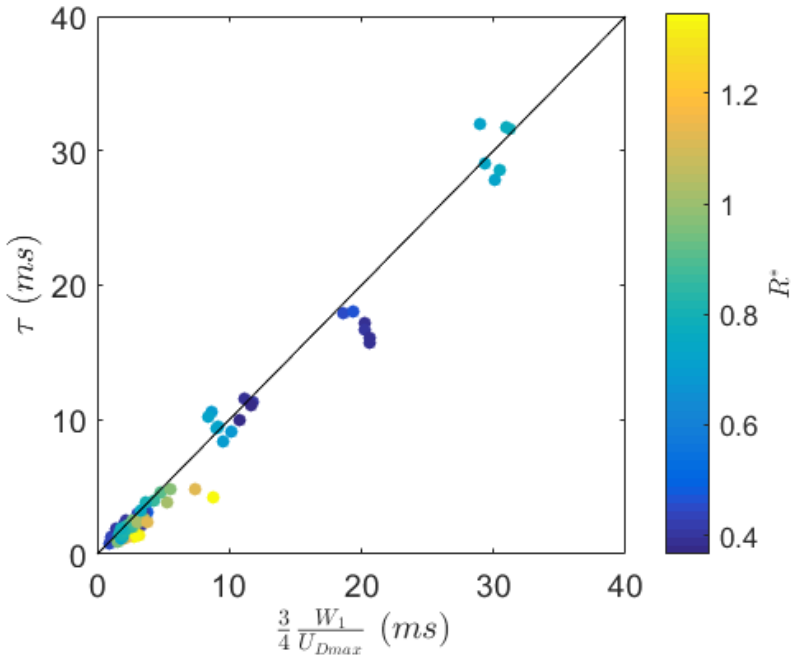


Figure 55 Evolution du temps de relaxation expérimental en fonction du rapport W_1/U_{Dmax} pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes A, B et C

Finalement, nous venons de montrer que le temps de relaxation de la goutte que nous pouvons mesurer expérimentalement dépend uniquement de paramètres physiques comme la vitesse de la goutte, sa taille ou encore la géométrie des canaux mais pas des propriétés physico-chimiques de la goutte comme en particulier sa viscosité.

Tous les points présentés précédemment ont été obtenus pour des couples de fluides présentant la même tension interfaciale. Des essais supplémentaires ont été réalisés avec le DTAB (dodecyltrimethylammonium bromide), un tensioactif anionique, pour vérifier que le temps de relaxation expérimental ne dépend pas de la tension interfaciale. Le DTAB a été ajouté à 1.7 %m dans la phase continue constituée d'un mélange glycérol-eau à 60 %m. La phase dispersée est l'huile silicone 20 cSt. La tension interfaciale entre la phase dispersée et la phase continue est de 9,3 mN/m c'est-à-dire trois fois plus faible que pour le cas sans tensioactif. Les essais ont été réalisés dans le microsystème C. Sur la Figure 56, le temps de relaxation expérimental obtenu en présence du DTAB est positionné sur la corrélation établie précédemment pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème C. Les points du DTAB retombent bien dans le nuage de points de la corrélation.

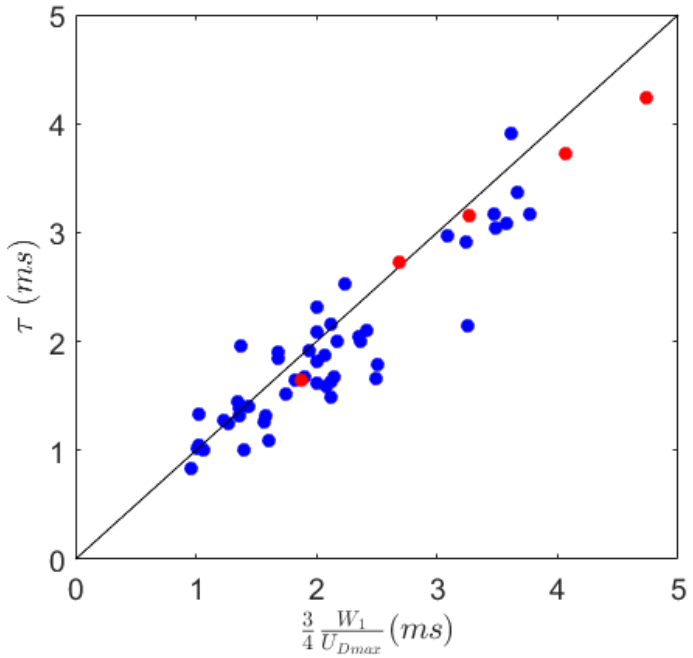


Figure 56 Temps de relaxation obtenu dans le cas du DTAB (en rouge) positionné sur la courbe maitresse $\tau = \frac{3}{4}\frac{W_1}{U_{Dmax}}$

La mesure du temps de relaxation expérimental ne permet donc pas d'avoir accès à la viscosité de la phase de la goutte car il ne dépend ni des viscosités des deux phases ni de la tension interfaciale.

III.3 Déformation maximale d'une goutte à l'entrée d'une chambre d'expansion microfluidique

Nous allons maintenant nous intéresser à la mesure de la déformation maximale. Pour rappel, pour une géométrie de microsystème fixée, la déformation maximale de la goutte dépend des propriétés physiques suivantes : la vitesse et le rayon de la goutte, la tension interfaciale et la viscosité des deux phases. A partir de ces propriétés, il est possible de définir trois nombres adimensionnels : le nombre capillaire Ca, un facteur géométrique $R^* = \frac{2a_o}{W_1}$ et le ratio des viscosités $\lambda = \frac{\eta_d}{\eta_c}$. Nous cherchons donc une loi de puissances de la forme $D_{max} = kCa^a R^{*b} \lambda^c$.

III.3.1 Déformation d'une goutte en milieu confiné (B)

Dans un premier temps, nous avons réalisé des essais dans le microsystème B. Pour une taille fixe de gouttes et pour plusieurs tensions interfaciales, nous avons fait varier la vitesse de gouttes composées d'un mélange eau-éthanol formées dans l'huile fluorée FC-70. L'objectif est d'avoir accès à l'évolution de la déformation maximale en fonction du nombre capillaire $Ca = \frac{\eta_c U_{Dmax}}{\gamma}$ avec η_c la viscosité de la

phase continue, U_{Dmax} la vitesse de la goutte à la déformation maximale et γ la tension interfaciale (Figure 57).

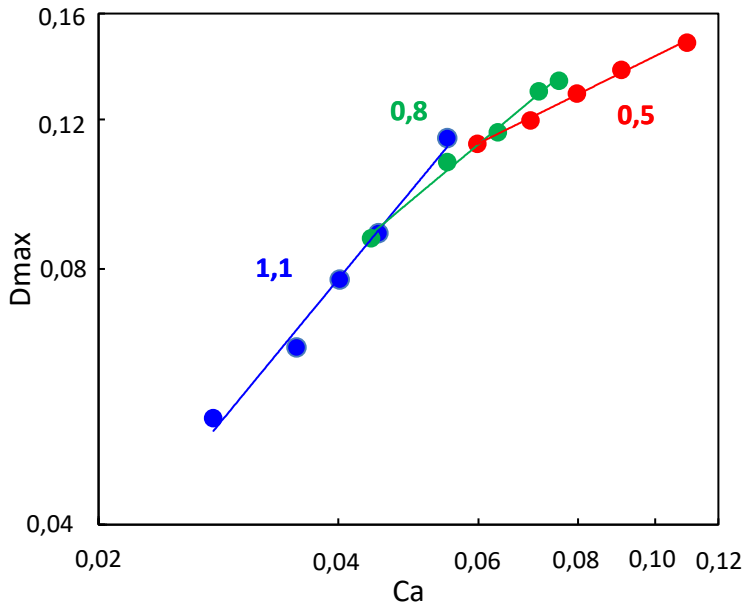


Figure 57 Evolution de la déformation maximale Dmax en fonction du nombre capillaire Ca pour un rayon de goutte fixé $a_o = 74 \pm 7\%$. La phase dispersée est un mélange eau-éthanol, la phase continue l'huile fluorée FC-70. Les différentes couleurs correspondent aux différentes tensions interfaciales : bleu $\gamma = 50.8\ mN/m$; vert $\gamma = 33.3\ mN/m$; rouge $\gamma = 24.1\ mN/m$. Les nombres indiqués correspondent à l'exposant associé au nombre capillaire

Nous constatons que l'exposant obtenu associé au nombre capillaire varie en fonction de la tension interfaciale ce qui ne semble pas être le cas pour Brosseau *et al.* [69] qui trouvent un exposant unique de 2/3. Dans notre cas, cet exposant diminue avec la tension interfaciale.

Concernant l'exposant unique obtenu par Brosseau *et al.*, il résulte de la superposition de données obtenues pour beaucoup plus de points et de tensions interfaciales différentes. Cependant, en regardant en détail ses données, la même tendance est observée.

Si nous calculons l'exposant unique que nous obtenons en prenant en compte les données des 3 systèmes étudiés, nous obtenons aussi un exposant de 2/3.

Ainsi, en comparant nos résultats à ceux obtenus par Brosseau *et al.*, nous pouvons d'abord conclure que la méthodologie expérimentale mise en place est valide car nous obtenons des résultats similaires. Nous concluons aussi que l'exposant associé au nombre capillaire varie en fonction de la tension interfaciale.

Nous nous sommes aussi intéressés à l'impact de la variation de la taille de la goutte et surtout des viscosités des phases continue et dispersée sur la valeur de la déformation maximale. Pour pouvoir faire varier facilement les viscosités des phases dispersée et continue, nous avons choisi de changer de système et d'utiliser des mélanges d'huiles silicones pour la phase dispersée et des mélanges glycérol-eau pour la phase continue.

Pour chaque couple de fluides, les valeurs de déformation maximale sont ajustées suivant l'équation $D_{max} = kCa^a R^{*b} \lambda^c$, les valeurs obtenues pour les exposants a, b et c sont répertoriées dans le Tableau 8. On remarque en particulier que l'exposant associé au nombre capillaire varie avec la viscosité de la phase continue comme c'est le cas pour la tension interfaciale.

Tableau 8 Viscosités et exposants obtenus lors de l'ajustement des valeurs de déformations maximales suivant l'équation $D_{max} = kCa^a R^{*b} \lambda^c$ pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B

η_c (mPa.s)	η_d (mPa.s)	λ	a	b	c
10	20	2	**0,9**	2,7	-0,14
	100	10			
20	40	2	**0,7**	2,8	-0,15
	20	1			
40	20	0,5	**0,5**	2,3	/

Lorsque la goutte est confinée dans le canal, un film de lubrification se forme entre la paroi du canal et la goutte. La majorité des études concernant le calcul de l'épaisseur de ce film dans le cas d'écoulements diphasiques concernent des systèmes gaz/liquide. Depuis Bretherton [92] qui a fourni une estimation de l'épaisseur du film de lubrification pour de très faibles nombres capillaires dans des canaux de section circulaire, les modèles se sont étendus à de plus larges gammes de nombres capillaires et à des canaux de section carrée. Quel que soit le modèle considéré et les conditions, l'épaisseur de ce film augmente avec une puissance du nombre capillaire Ca^α avec $\alpha > 0$.

Ainsi, plus la tension interfaciale est faible ou plus la viscosité de la phase continue est grande, plus l'épaisseur de ce film est importante. La présence de ce film peut créer des forces de dissipation supplémentaires qui vont gêner la déformation de la goutte. Ainsi plus le nombre capillaire est grand plus la goutte est gênée dans sa déformation et plus l'exposant associé au capillaire s'écarte de 1 en diminuant.

Ces résultats sont cohérents avec les résultats de simulation obtenus par Nagel et al. [74]. En se plaçant dans les mêmes conditions que Brosseau et al., ils montrent avec des résultats de simulations numériques que la loi puissance $D_{max} \propto Ca^{2/3}$ n'est qu'approximativement retrouvée pour

$R^* = [0{,}9; 1]$ avec une erreur moyenne d'environ 40 %. Ils montrent aussi que plus la taille de la goutte diminue c'est-à-dire plus le confinement diminue, plus l'exposant associé à Ca tend vers 1.

Connaissant cela, il est toutefois toujours possible mathématiquement de chercher une corrélation sur les points obtenus lors de certains essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B (Figure 58). Le coefficient de détermination est ici de $r^2 = 0{,}92$. Cette valeur est principalement due au fait que, comme nous l'avons montré précédemment, il n'est pas possible de trouver une corrélation générale valable pour toutes les viscosités et tensions interfaciales.

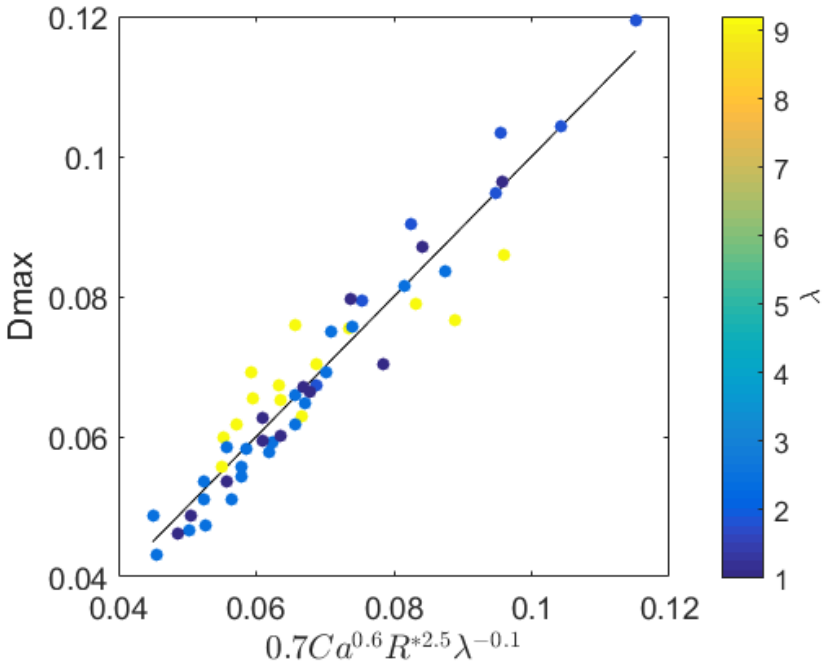


Figure 58 Ajustement de la déformation maximale Dmax obtenue pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B sur la courbe maîtresse $Dmax = 0.7Ca^{0.6}R^{*2.5}\lambda^{-0.1}$

La corrélation obtenue en Figure 58 n'est obtenue que pour des valeurs de rapports de viscosités $\lambda > 1$. En effet, comme prévu par les résultats de simulations de Park et Dimitrakopoulos [76], la décroissance de la déformation maximale avec le rapport des viscosités λ n'est valable que pour des valeurs de λ supérieures à 1. La Figure 59 représente le rapport $\frac{D_{max}}{0{,}7Ca^{0{,}6}R^{*2{,}5}}$ en fonction du rapport des viscosités λ. Les points rouges ont été obtenus pour $\lambda = 0{,}5$, les bleus sont les points présentés sur la Figure 58. Les points obtenus pour $\lambda = 0{,}5$ ne suivent pas la décroissance suivie par les points obtenus pour $\lambda > 1$.

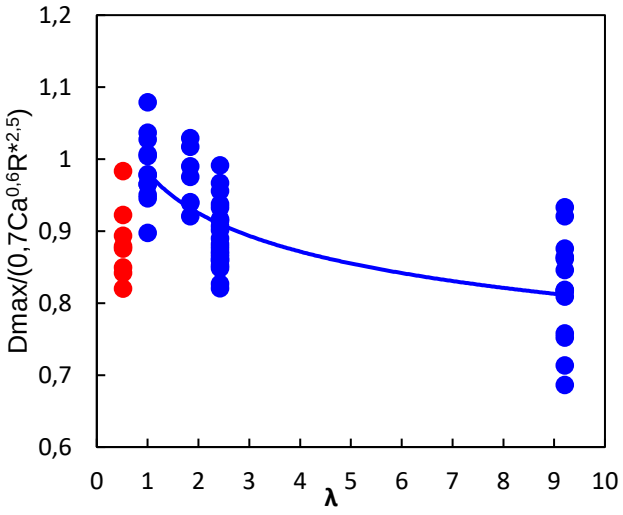


Figure 59 Evolution de $\frac{D_{max}}{0{,}7Ca^{0{,}6}R^{*2{,}5}}$ en fonction de λ pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B

En conclusion, lorsque la goutte est confinée, il n'est pas possible de trouver une corrélation générale de la forme $D_{max} = kCa^a R^{*b} \lambda^c$ dont les exposants sont valables quelles que soient les valeurs des viscosités des deux phases et de la tension interfaciale. De plus, cette forme n'est valable que pour des valeurs de λ supérieures à 1.

III.3.2 Déformation d'une goutte en milieu déconfiné (C)

III.3.2.1 Expression de la corrélation

Pour trouver une corrélation générale qui permet de relier la déformation maximale de la goutte à la viscosité de la phase de la goutte valable quelles que soient les valeurs des viscosités et de la tension interfaciale, nous avons décidé de réaliser des essais seulement avec des couples de fluides dont le rapport des viscosités λ est supérieur à 1 et de déconfiner la goutte. De cette manière, la goutte ne sent plus les parois du canal via le film de lubrification et la déformation de la goutte n'est plus impactée par le confinement.

Les résultats présentés ci-dessous sont donc les points obtenus lors des essais réalisés dans le microsystème C pour tous les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau. La Figure 60 représente la valeur de la déformation maximale Dmax de la goutte en fonction du nombre capillaire Ca. Pour chaque rapport de viscosités présenté 3 tailles de gouttes ont été considérées. Contrairement au cas confiné (B), l'exposant associé au nombre capillaire Ca est de 1 quelle que soit la valeur de la viscosité de la phase continue. Cette valeur d'exposant est cohérente avec les résultats de simulations de Kadivar *et al.* [75] qui obtiennent un exposant de 0,98 dans la zone où R* est inférieur à 1.

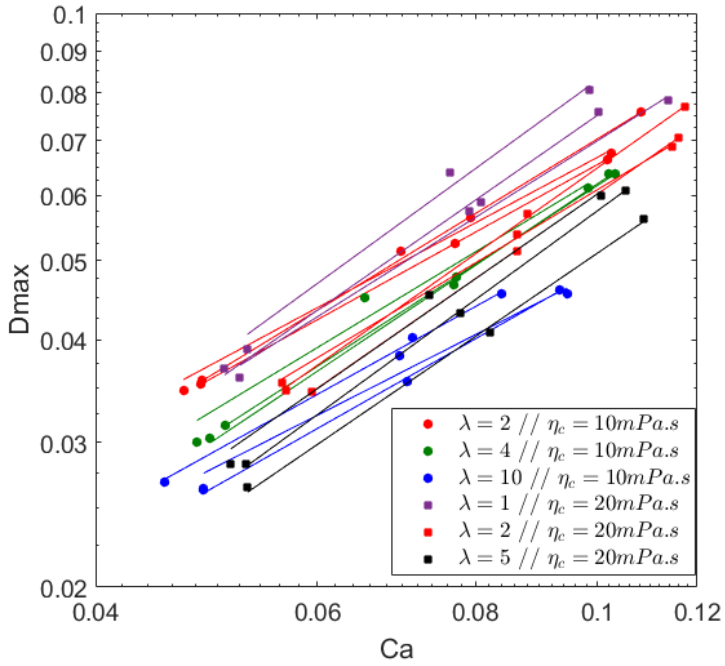


Figure 60 Déformation maximale en fonction du nombre capillaire pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème C

Pour la suite, l'exposant associé au nombre capillaire Ca a été fixé à 1 et l'ajustement a été réalisé sur une équation de la forme $D_{max} = kCaR^{*b}\lambda^{c}$. La Figure 61 présente le résultat de l'ajustement obtenu. Le coefficient de détermination est de 0,96.

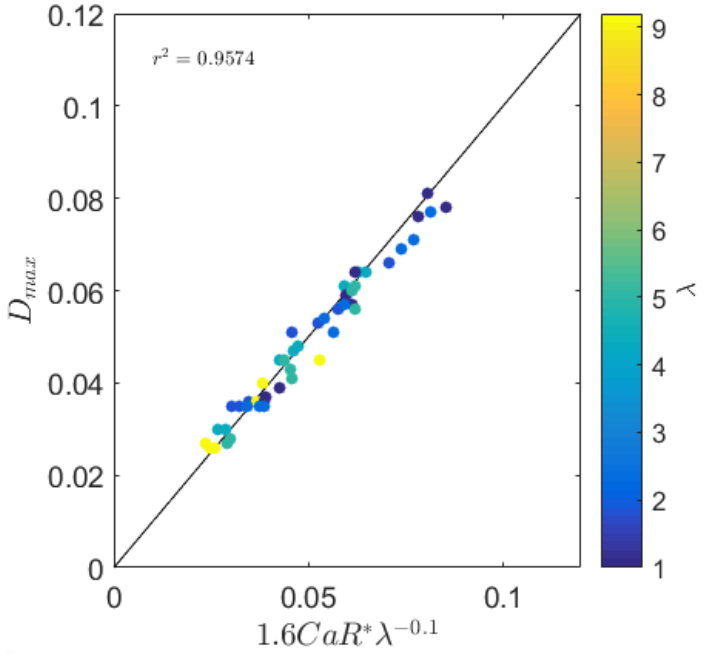


Figure 61 Ajustement de la déformation maximale Dmax obtenue pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème C sur la courbe maîtresse $Dmax = 1.6CaR^{*}\lambda^{-0.1}$

III.3.2.2 Calculs d'incertitudes sur la mesure de la déformation maximale

III.3.2.2.1 Calcul d'incertitude sur les exposants de la corrélation

Les exposants de la corrélation sont calculés grâce à la méthode des moindres carrés. Il est possible de calculer un intervalle de confiance pour chacun des paramètres calculés. Le niveau de certitude souvent pris en compte est de 95 %.

L'intervalle de confiance pour les paramètres de l'ajustement est calculé de la manière suivante :

$$C = a \pm t\sqrt{\mathrm{S}} \tag{48}$$

avec a le vecteur des coefficients obtenus grâce à l'ajustement, t le quantile de la loi de Student qui dépend du niveau de confiance souhaité et du degré de liberté et S le vecteur composé des éléments diagonaux de la matrice de covariance des coefficients. Pour un ajustement linéaire, cette matrice est obtenue par le calcul de $(X^T X)^{-1} s^2$ avec X la matrice des variables et s^2 l'erreur quadratique moyenne. Pour un ajustement non-linéaire comme le nôtre (49), X est remplacé par la matrice jacobienne des valeurs ajustées correspondant aux coefficients.

$$D_{\max} = \mathrm{kCaR}^{*\mathrm{b}}\lambda^{\mathrm{c}} \tag{49}$$

Dans notre cas, nous cherchons un intervalle avec un niveau de certitude de 95 %. Le nombre de degrés de liberté est de $n - p = 45$ avec n le nombre d'expériences et p le nombre de coefficients. Le quantile de Student correspondant est $t = 2{,}0$.

Après calcul, on obtient donc les coefficients suivants avec les intervalles correspondants :

$$k = 1{,}6 \quad (1{,}3\ ;\ 2{,}0)$$
$$b = 1 \quad (0{,}7;\ 1{,}3)$$
$$c = -0{,}1 \quad (-0{,}06;\ -0{,}14)$$

Multiplier le nombre d'expériences permettrait de diminuer l'incertitude sur la valeur des exposants.

III.3.2.2.2 Incertitude sur la mesure de la déformation maximale

L'incertitude sur les valeurs de déformation maximale est calculée à l'aide de la méthode de propagation des erreurs. L'incertitude sur la valeur de déformation vient principalement de l'incertitude sur les dimensions et positions des gouttes liée à la taille d'un pixel. Ainsi autour de chaque point expérimental de déformation un carré d'incertitudes correspondant à une incertitude de ± 1 pixel dans le calcul des déformations et de la position de la goutte est tracé. Pour chaque carré, un nouveau point de déformation est généré aléatoirement à un coin, un milieu de segment ou au milieu

du carré. Puis l'ajustement selon la méthode des moindres carrés est relancé sur cette nouvelle série de points. Une centaine de série de points est générée pour chaque essai. Puis l'incertitude sur la valeur de la déformation maximale est calculée comme étant égale à l'écart-type calculé sur la centaine de valeurs obtenues. Pour tous les essais, la valeur obtenue est de $\Delta D = 0{,}003$ ce qui correspond finalement à la moitié d'un pas de déformation (Figure 62).

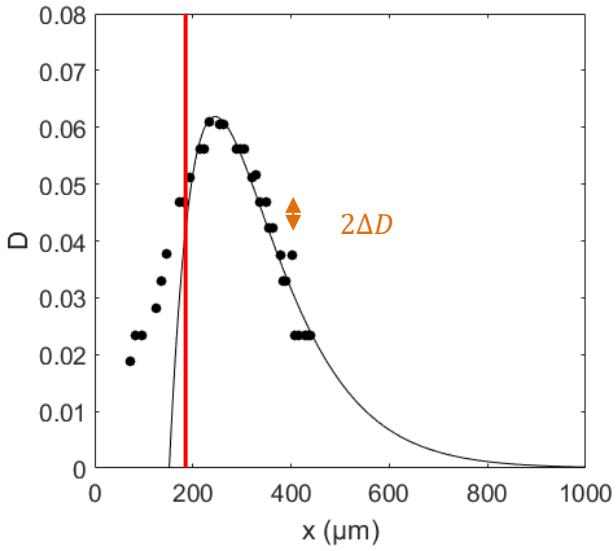


Figure 62 Exemple d'ajustement réalisé sur les points dans la chambre (limite : ligne rouge) selon l'équation $y = p_1 + (p_2 x + p_3) e^{-\frac{x}{p_4}}$

III.3.2.2.3 Calcul d'incertitude sur la valeur du rapport de viscosités

L'incertitude sur la valeur du rapport de viscosités peut être calculée à partir de l'expression de la corrélation $D_{max} = 1.6 Ca R^* \lambda^{-0.1}$.

A partir de cette expression, l'incertitude relative sur la valeur du rapport de viscosités est donnée par :

$$\frac{\Delta\lambda}{\lambda} = 10\frac{\Delta \mathrm{D_{max}}}{\mathrm{D_{max}}} + 10\frac{\Delta \mathrm{Ca}}{\mathrm{Ca}} + 10\frac{\Delta \mathrm{R^*}}{\mathrm{R^*}} \qquad (50)$$

L'erreur sur la mesure de la déformation maximale est $\Delta D_{max} = 0{,}003$, ce qui donne pour une valeur de déformation maximale de 0,08 $\frac{\Delta D_{max}}{D_{max}} = 0{,}04$.

Nous prenons 5 % d'erreur sur la mesure de la viscosité de la phase continue, 5 % sur la mesure de la vitesse de la goutte à la position de la déformation maximale et 2 % sur la mesure de la tension interfaciale. On obtient finalement une erreur de 12 % sur la valeur du nombre capillaire.

Concernant l'erreur sur R^*, elle est principalement liée à la taille du pixel lors de la mesure de la taille de la goutte par analyse vidéo. 1 pixel correspond à 1,3 µm ainsi pour un rayon moyen de goutte de 75 µm, l'erreur obtenue est de 2 %. L'incertitude sur chaque grandeur étant évaluée de manière assez

large, une incertitude de 180 % au maximum sur la valeur de λ est finalement obtenue avec cette méthode.

III.3.2.2.4 Discussion sur les calculs d'incertitudes

Plaçons-nous maintenant dans la perspective de réaliser une mesure de viscosité à partir de la mesure d'une déformation maximale. L'incertitude sur la valeur de la viscosité de la goutte calculée grâce à la corrélation vient d'abord de l'incertitude sur la valeur de la déformation maximale. Cette incertitude est principalement liée aux performances de la caméra utilisée c'est-à-dire sa résolution et sa fréquence d'acquisition d'images. Une meilleure résolution permettrait de diminuer l'erreur sur les valeurs de déformation ΔD de diminuer l'incertitude sur la taille de la goutte. Une fréquence d'acquisition plus élevée (tout en gardant l'intégralité du champ d'observation) permettrait d'acquérir plus de points dans la zone de déformation maximale et donc d'améliorer l'ajustement.

L'incertitude vient aussi de la faible valeur de l'exposant associé au rapport de viscosités λ. Cependant, diminuer l'incertitude sur les autres paramètres de la corrélation grâce aux solutions mentionnées précédemment permettrait de diminuer l'incertitude sur la valeur finale de viscosité obtenue.

III.3.2.3 Essais en présence de tensioactifs

La corrélation présentée en Figure 61 a été obtenue pour des couples de fluides présentant la même tension interfaciale. Des essais supplémentaires ont été réalisés avec le DTAB (dodecyltrimethylammonium bromide), pour vérifier que cette corrélation reste valable pour une autre tension interfaciale. Le DTAB a été ajouté à 1.7 %m dans la phase continue constituée d'un mélange glycérol-eau à 60 %m. La phase dispersée est l'huile silicone 20 cSt. La tension interfaciale entre la phase dispersée et la phase continue est de 9,3 mN/m. Les essais ont été réalisés dans le microsystème C. Pour ces essais le rayon de la goutte est de 74,4 ± 0,7 µm.

Moiré *et al.* [80] ont développé un système microfluidique qui permet de faire des mesures de tensions interfaciales. En bref, il s'agit de deux capillaires imbriqués dans lesquels deux fluides immiscibles sont injectés. Selon la valeur du débit de chaque phase, des gouttes se forment ou un jet est obtenu. Ce passage d'un régime à l'autre appelée « transition jet-goutte » peut être relié théoriquement à la tension interfaciale entre les deux phases. Les auteurs ont aussi étudié des couples de fluides du type huile silicone / mélange glycérol-eau + DTAB et ce sont en particulier intéressés aux aspects cinétiques. L'adsorption des tensioactifs à l'interface se fait en deux étapes, le transport convectif-diffusif et l'adsorption en elle-même. Pour ce type de tensioactif, il a été montré que l'étape limitante n'est pas l'adsorption mais le transport [93].

Moiré *et al.* montrent que le DTAB présente une cinétique rapide, c'est-à-dire que les molécules de tensioactifs ont le temps de diffuser et de s'adsorber à l'interface avant que les gouttes ne se forment. Les auteurs le prouvent en montrant que la tension interfaciale qu'ils mesurent avec leur tensiomètre et à la goutte pendante est la même, la valeur obtenue grâce à la méthode de la goutte pendante étant la valeur à l'équilibre. Ainsi l'équilibre est atteint dès la formation des gouttes. Comme nous déformons la goutte loin de sa zone de production, nous supposons qu'elle est à l'équilibre lorsque nous réalisons nos mesures.

Sur l'insert de la Figure 63 est représenté la déformation maximale de la goutte en fonction du nombre capillaire. On retrouve ici un exposant de 1 associé au nombre capillaire. Lorsque les valeurs de déformation maximale sont positionnées sur la corrélation, les points retombent parfaitement dans le nuage de points (Figure 63). Nous vérifions donc ici que la corrélation obtenue est aussi valable pour des systèmes avec tensioactifs qui présentent des tensions interfaciales différentes.

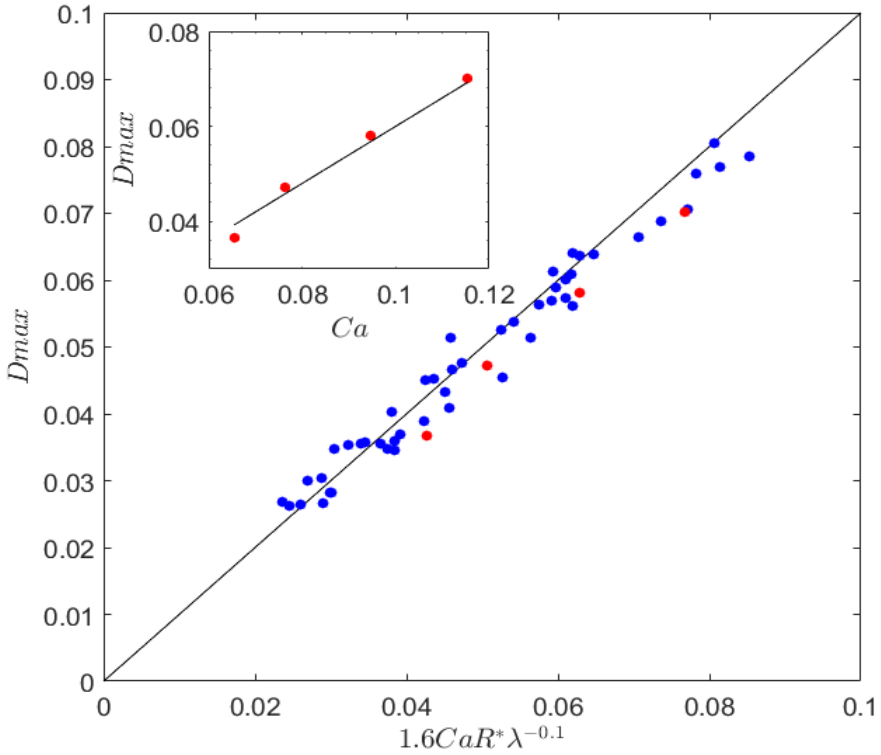


Figure 63 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec le couple huile silicone 20 cSt / mélange glycérol-eau 60 %m + 1,7 %m DTAB dans le microsystème C (en rouge) sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR^*\lambda^{-0.1}$ *(en bleu). Insert : Déformation maximale de la goutte en fonction du nombre capillaire*

III.3.2.4 Essais en inversant la composition des phases

Pour les essais réalisés pour obtenir la corrélation, la phase continue est aqueuse et les gouttes sont constituées d'huile silicone. Pour les résultats présentés en Figure 64, les deux phases ont été inversées, la phase continue est constituée de l'huile silicone 20 cSt et la phase de la goutte d'un mélange glycérol-eau 75 %m. Comme les points retombent bien sur la corrélation nous montrons ainsi qu'il est possible de l'utiliser pour étudier la viscosité de phases aqueuses.

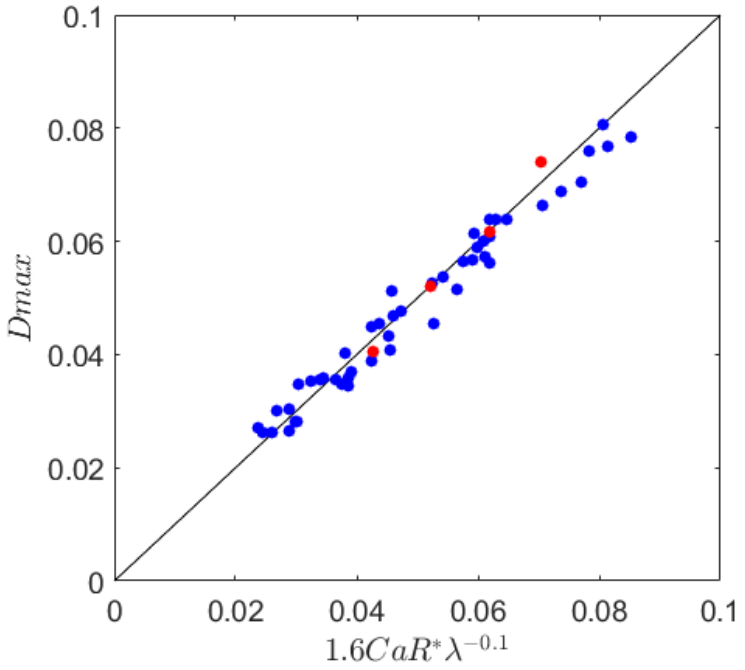


Figure 64 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec le couple mélange glycérol-eau 75%m (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C (en rouge) sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR^*\lambda^{-0.1}$ *(en bleu).*

III.4 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que la mesure du temps de relaxation de la goutte après sa déformation à l'entrée d'une chambre d'expansion microfluidique ne permet pas de remonter à la viscosité de la goutte. En effet, la contribution des propriétés physico-chimiques de la goutte est masquée par les conditions de l'écoulement. Nous avons ensuite montré que la mesure de la déformation maximale de la goutte à l'entrée de la chambre d'expansion est quant à elle bien influencée par la viscosité de la goutte. Ainsi nous avons trouvé une corrélation permettant de relier la déformation maximale de la goutte aux différentes grandeurs gouvernant le phénomène et en particulier la viscosité de la goutte. Une corrélation générale n'a pu être trouvée que dans le cas où la goutte n'est pas confinée dans le canal microfluidique. Lorsque la goutte est confinée, le film de lubrification présent entre la goutte et la paroi du canal impacte la déformation de la goutte et fait

varier les exposants de la corrélation en fonction des propriétés physico-chimiques des fluides. Nous avons aussi montré que la corrélation trouvée reste valable en présence de tensioactif et en inversant la composition des phases dispersée et continue.

Chapitre IV Déformation de gouttes en présence de polymère

Dans ce chapitre, nous allons étudier l'impact de la présence de solutions aqueuses de polymères présentant un comportement rhéologique caractéristique de fluides newtoniens ainsi que non-newtoniens sur la déformation de la goutte. L'objectif est d'évaluer la validité de la corrélation trouvée dans le chapitre précédent pour des fluides complexes.

IV.1 Déformation d'une goutte en présence d'un polymère newtonien

IV.1.1 Systèmes étudiés

Nous considérons maintenant la situation où la phase de la goutte est constituée d'une solution aqueuse de polymère. Le polymère que nous avons choisi est le polyéthylène glycol noté PEG (Figure 65). Le composé que nous avons étudié possède une masse molaire moyenne en masse $\bar{M}_w = 624\ g.mol^{-1}$. Ce polymère présente un comportement newtonien sur la gamme de taux de cisaillement étudiée (voir Chapitre II). Ce polymère a été préparé à différentes concentrations dans de l'eau déionisée. Les différentes concentrations préparées ainsi que les viscosités et tensions interfaciales associées sont reportées dans le Tableau 9. La phase continue utilisée est l'huile silicone 20 cSt.

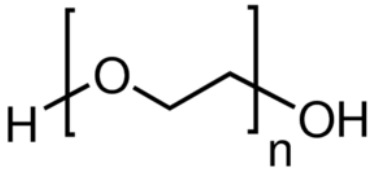


Figure 65 Polyéthylène glycol (PEG)

Tableau 9 Propriétés physico-chimiques et concentrations des solutions aqueuses de PEG utilisées

%m PEG	Viscosité (mPa.s)	Tension interfaciale (mN/m)
51,9	19,5	17,8
63,3	41,2	14,1
69,9	59,3	12,7
74,6	79,4	12,1
78,3	97,1	11,7

Nous avons réalisé les essais avec les solutions de PEG à différentes concentrations dans le microsystème C. Pour chacune des concentrations testées, la vitesse des gouttes a été variée. Le rayon des gouttes est de $76\ \mu m\ \pm 8\ \%$.

IV.1.2 Mesure de la déformation maximale

Après analyse, les valeurs de déformation maximale sont positionnées sur la courbe maîtresse correspondant à la corrélation trouvée dans le chapitre III (Figure 66). Les points obtenus retombent bien sur la corrélation attendue. Comme la tension interfaciale entre la solution aqueuse de polymère et l'huile silicone varie pour chaque concentration, on vérifie à nouveau que la corrélation reste valable pour différentes tensions interfaciales.

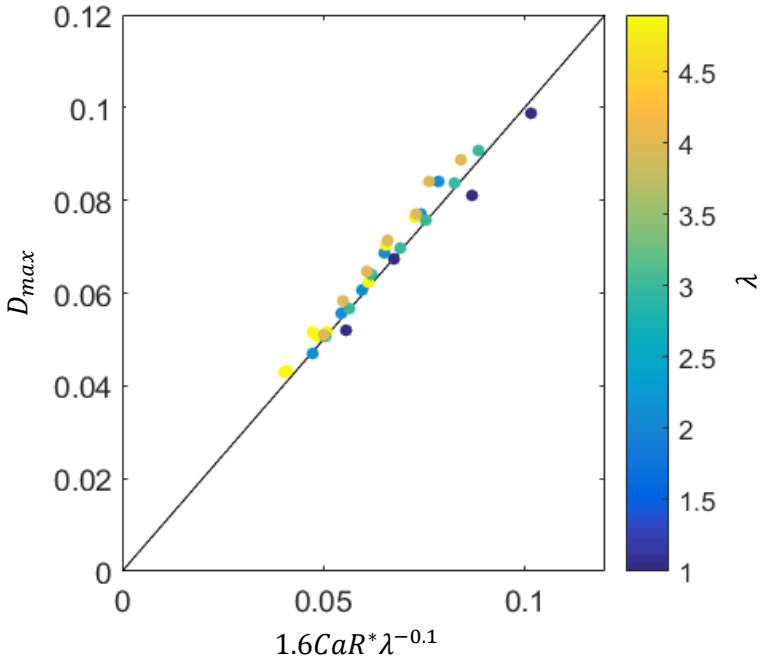


Figure 66 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec les couples solutions aqueuses de PEG (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR^*\lambda^{-0.1}$.

IV.1.3 Utilisation de la déformation maximale pour réaliser des mesures de viscosité

Maintenant, à partir des données obtenues, au lieu de nous servir de la viscosité de la phase dispersée connue par mesure au rhéomètre pour l'injecter dans la corrélation (comme nous l'avons fait pour la Figure 66), nous allons maintenant comparer la valeur de la viscosité de la phase dispersée obtenue

au rhéomètre $\eta_{d,rheo}$ avec celle obtenue en utilisant la corrélation par mesure de la déformation maximale $\eta_{d,mf}$:

$$\eta_{d,mf} = \eta_c \left(\frac{D_{max}}{1.6 Ca R^*} \right)^{1/-0.1} \quad (51)$$

Pour cela, pour chaque concentration en PEG, trois valeurs de nombre capillaire ont été choisies (Tableau 10) puis en utilisant la corrélation les trois valeurs de viscosités correspondantes ont été calculées. Une valeur moyenne a ensuite été calculée sur ces trois valeurs.

Tableau 10 Valeurs des nombres capillaires utilisées

Ca_1	Ca_2	Ca_3
0,077 ± 0,003	0,085 ± 0,001	0,094 ± 0,004

La Figure 67 représente les valeurs moyennes de viscosité de la phase dispersée obtenues à partir de la mesure de la déformation maximale en fonction de la valeur obtenue au rhéomètre pour les essais réalisés avec les solutions aqueuses de PEG à différentes concentrations.

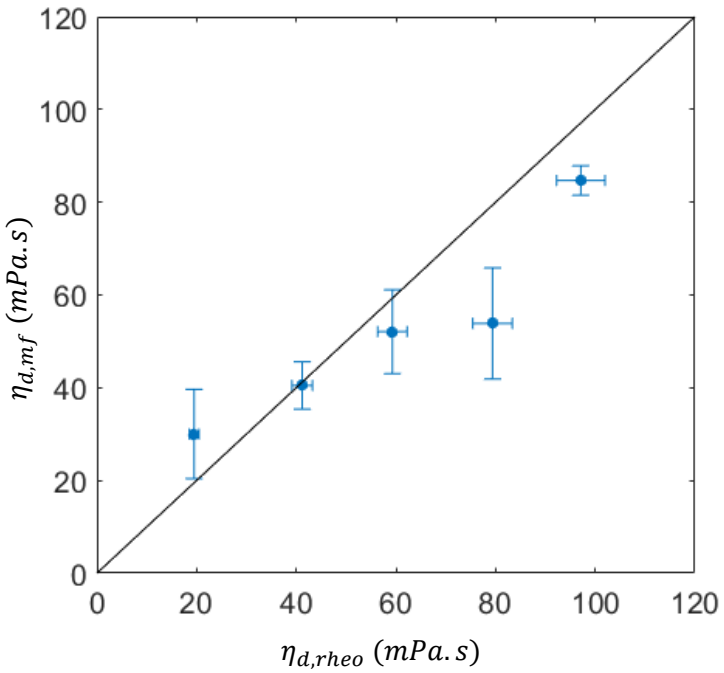


Figure 67 Mesure de la viscosité de la phase dispersée à partir de la mesure de la déformation maximale en fonction de la valeur obtenue au rhéomètre pour les essais réalisés avec les solutions aqueuses de PEG à différentes concentrations

Les barres d'erreurs sur les valeurs en abscisses présentées sur la Figure 67 correspondent à l'incertitude classique de 5% obtenue sur une valeur de viscosité obtenue par mesure au rhéomètre.

Les barres d'erreurs sur les valeurs en ordonnées correspondent quant à elles aux valeurs maximum et minimum de viscosité obtenues avant le calcul de la moyenne à partir des trois capillaires.

Les points s'alignent le long de la bissectrice ainsi la corrélation déterminée dans le chapitre III peut être utilisée pour remonter à la viscosité d'une solution aqueuse de PEG contenue dans la phase de la goutte.

IV.1.4 Mesure du temps de relaxation

Concernant la mesure du temps de relaxation, les valeurs retombent bien sur la corrélation obtenue au Chapitre III (Figure 68). Cela confirme notre interprétation c'est-à-dire que la valeur du temps de relaxation ne dépend pas des propriétés physico-chimiques des fluides étudiés c'est-à-dire ni de la viscosité, ni de la tension interfaciale.

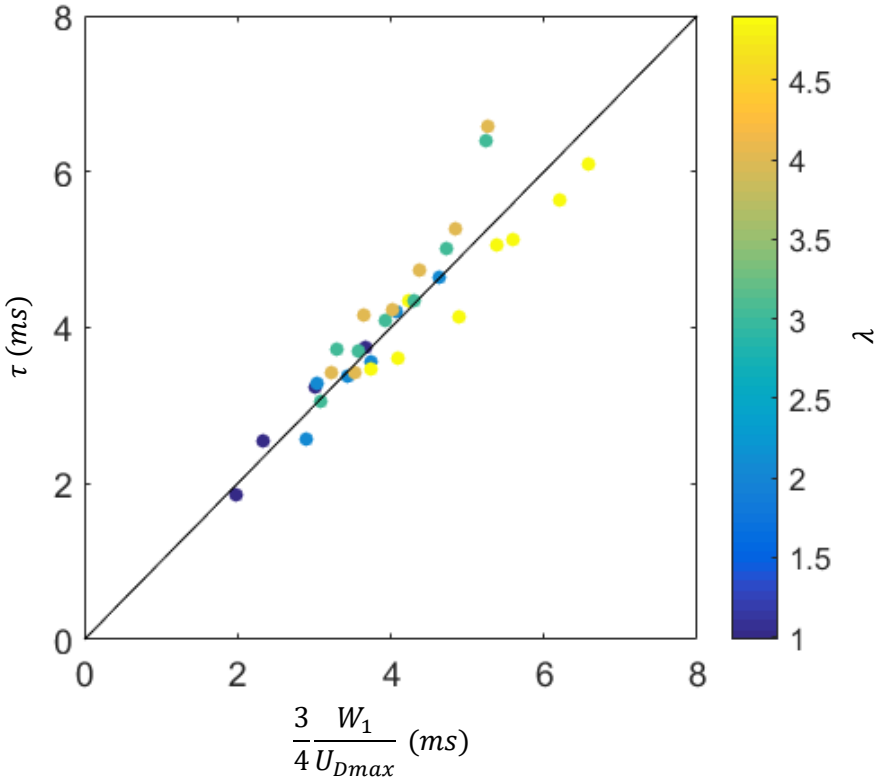


Figure 68 Positionnement des valeurs de temps de relaxation obtenues pour les essais réalisés avec les couples solutions aqueuses de PEG (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C sur la courbe maîtresse d'équation $\tau = \frac{3}{4}\frac{W_1}{U_{Dmax}}$

IV.2 Déformation d'une goutte en présence d'un polymère rhéofluidifiant

Jusqu'à maintenant, nous nous étions seulement intéressés à l'étude de fluides newtoniens. Ici nous allons étudier l'impact de la présence d'un fluide non-newtonien dans la phase dispersée sur la déformation de la goutte. Les polymères non-newtoniens que nous avons choisi sont les polyacrylamides partiellement hydrolysés (HPAM) FLOPAAM 3230 et 3630 présentés dans le Chapitre II. Nous avons choisi d'étudier les solutions aqueuses de ces deux polymères à 1000 ppm. A cette concentration, le FLOPAAM 3630 commence à développer des forces normales et donc présenter un comportement viscoélastique contrairement au FLOPAAM 3230 que l'on peut considérer comme purement rhéofluidifiant.

Par définition, contrairement aux fluides newtoniens, les fluides non-newtoniens ont leur viscosité qui varie avec le taux de cisaillement. Ainsi pour pouvoir réaliser notre analyse, il nous faut donc connaître la valeur du taux de cisaillement dans la phase de la goutte.

IV.2.1 Calcul du taux de cisaillement

Pour calculer la valeur du taux de cisaillement dans la goutte, il nous faut d'abord nous intéresser plus précisément à l'écoulement dans lequel se déplace la goutte c'est-à-dire un écoulement de Poiseuille.

IV.2.1.1 Ecoulement de Poiseuille

Dans le cas d'un écoulement de Poiseuille, un fluide s'écoule dans un long canal droit et rigide grâce à la présence d'une différence de pression imposée aux bornes de ce canal. Dans le cas où la largeur w du canal est très grande devant sa hauteur h, le canal est représenté par deux plaques parallèles infinies séparées d'une distance h (Figure 69).

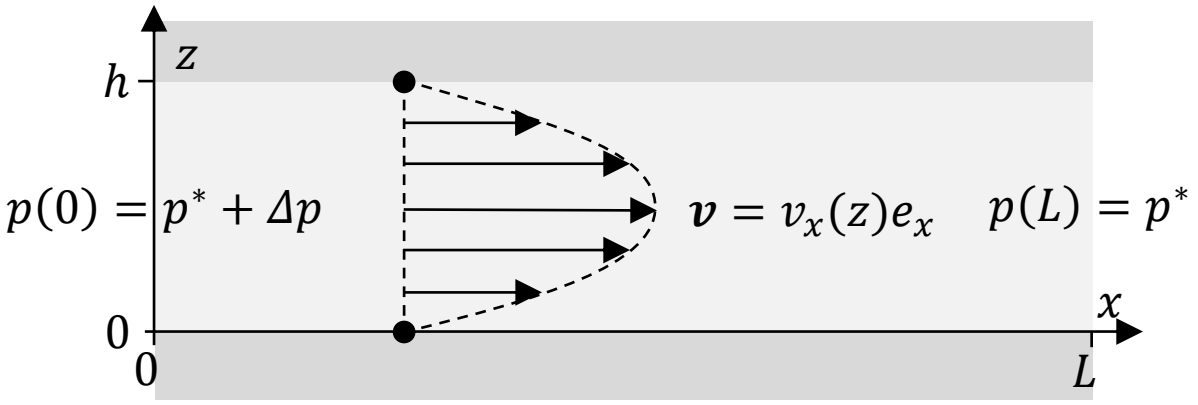


Figure 69 Schéma du profil de vitesse d'un écoulement de Poiseuille entre deux plaques parallèles

Le canal est parallèle à l'axe des x et est invariant par translation selon cette même direction. Par définition, le canal est aussi invariant par translation selon l'axe des y. Une différence de pression constante Δp est appliquée aux bornes d'un segment du canal de longueur L selon l'axe des x.

La pression en une position x du canal peut s'écrire :

$$\mathrm{p(x)} = \frac{\Delta \mathrm{p}}{\mathrm{L}}(\mathrm{L} - \mathrm{x}) + \mathrm{p}^{*} \tag{52}$$

D'après l'invariance de la géométrie par translation selon l'axe des x et des y, la vitesse de l'écoulement selon l'axe des x ne dépend que de z. Ainsi, il est possible d'écrire l'équation de Navier-Stokes selon l'axe des x de la manière suivante :

$$\eta\, \partial_{\mathrm{z}}^{2} \mathrm{v_x(z)} = \partial_{\mathrm{x}} \mathrm{p(x)} \tag{53}$$

Puis :

$$\eta\, \partial_{\mathrm{z}}^{2} \mathrm{v_x(z)} = -\frac{\Delta \mathrm{p}}{\eta \mathrm{L}} \tag{54}$$

Avec $v_x(0) = 0$ et $v_x(h) = 0$.
La solution est une parabole d'équation suivante :

$$\mathrm{v_x(z)} = \mathrm{v_{max}}\left(\frac{4\mathrm{z}}{\mathrm{h}} - \frac{4\mathrm{z}^2}{\mathrm{h}^2}\right) \tag{55}$$

Avec

$$\mathrm{v_{max}} = -\frac{\mathrm{h}^2}{8\eta}\frac{\Delta \mathrm{p}}{\mathrm{L}} \tag{56}$$

Le débit à travers une section de largeur w est :

$$\mathrm{Q} = \int_0^{\mathrm{w}} \mathrm{dy} \int_0^{\mathrm{h}} \mathrm{dz} \frac{\Delta \mathrm{p}}{2\eta \mathrm{L}}(\mathrm{h} - \mathrm{z})\mathrm{z} = \frac{\mathrm{h}^3 \mathrm{w}}{12\eta}\frac{\Delta p}{\mathrm{L}} \tag{57}$$

Ainsi la vitesse de moyenne dans le canal est :

$$\mathrm{v_{moy}} = \frac{\mathrm{Q}}{\mathrm{hw}} = \frac{2}{3}\mathrm{v_{max}} \tag{58}$$

Lorsque l'hypothèse $h \ll w$ n'est pas vérifiée, il est nécessaire d'introduire un facteur correctif qui correspond à une réduction de l'aire de la section effective du canal.

On obtient alors :

$$\mathrm{v_{moy}} = \frac{\mathrm{w_{eff}}}{\mathrm{w}}\left(\frac{2}{3}\mathrm{v_{max}}\right) \tag{59}$$

avec

$$\frac{\mathrm{w_{eff}}}{\mathrm{w}} \cong 1 - 0.63\frac{\mathrm{h}}{\mathrm{w}} \tag{60}$$

Dans notre cas, avec $w = 960\ \mu m$ et $h = 240\ \mu m$, on obtient $\frac{v_{max}}{v_{moy}} = 1{,}76$.

IV.2.1.2 Recirculations internes d'une goutte dans un écoulement de Poiseuille

Nous cherchons ici à calculer le taux de cisaillement moyen dans une goutte transportée au centre d'un écoulement de Poiseuille. Sarrazin *et al.* [94] ont montré que le profil de vitesse dans la goutte suivait une forme parabolique semblable au profil de l'écoulement de Poiseuille dans lequel elle circule.

Une goutte positionnée près du centre d'un écoulement de Poiseuille subit des recirculations internes. Le fluide circule vers l'avant de la goutte près de son centre et vers l'arrière près de l'interface. Hudson *et al.* [95] ont utilisé la méthode présentée simplement par Nadim et Stone [96] pour déterminer les circulations à l'intérieur d'une goutte crées par un écoulement de Poiseuille dans un canal rectangulaire. Les expressions présentées caractérisant les écoulements dans la goutte sont valides uniquement pour des gouttes déconfinées qui ne sentent pas la présence des parois du canal.

D'après Hudson [95], la vitesse au centre de la goutte, dans le référentiel du centre de masse de la goutte, dans la direction de l'écoulement est donnée par :

$$\mathrm{v_0} = \frac{1}{2(1+\lambda)}\mathrm{v_{max}}\left(\frac{2\mathrm{a_0}}{\mathrm{h}}\right)^2 \tag{61}$$

Cette expression, valable pour $\frac{w}{h} \gg 1$, constitue une très bonne approximation dans notre cas où $\frac{w}{h} = 4$ [95].

De plus, après calcul, Hudson donne aussi une expression de la vitesse de la goutte v_g en fonction de la vitesse maximale de l'écoulement de la phase continue v_{max} :

$$v_g = v_{max}\left(1 - \left(\frac{2a_0}{h}\right)^2 \frac{\lambda}{2+3\lambda}\right) \quad (62)$$

En combinant les équations (61) et (62), on obtient finalement :

$$v_0 = \frac{\left(\frac{2a_0}{h}\right)^2}{2(1+\lambda)\left(1 - \left(\frac{2a_0}{h}\right)^2 \frac{\lambda}{2+3\lambda}\right)} v_g \quad (63)$$

A la périphérie de la goutte, le fluide retourne vers l'extrémité arrière de la goutte. A l'équateur, l'écoulement dans la goutte est parallèle à l'axe de l'écoulement et est négatif. La vitesse de recirculation moyenne à l'équateur, dans le référentiel du centre de masse de la goutte, est donnée par :

$$v_e = -\frac{5}{4} v_0 \quad (64)$$

L'équation du profil de vitesse moyen selon l'axe de l'écoulement est finalement (Figure 71) :

$$v(r) = v_0\left(\frac{9(r+a_0)}{2a_0} - \frac{9(r+a_0)^2}{4{a_0}^2} - \frac{5}{4}\right) \quad (65)$$

avec r la distance entre le centre de la goutte et la surface de la goutte au niveau de l'équateur (voir Figure 70).

Finalement, une expression du taux de cisaillement moyen dans la goutte peut être donnée par :

$$\dot{\gamma}_{moy} = \frac{9v_0}{4a_0} = \frac{9}{4a_0} \frac{\left(\frac{2a_0}{h}\right)^2}{2(1+\lambda)\left(1 - \left(\frac{2a_0}{h}\right)^2 \frac{\lambda}{2+3\lambda}\right)} v_g \quad (66)$$

Dans la suite, nous considérerons que cette méthode de calcul permet d'obtenir une première bonne approximation de la valeur du taux de cisaillement dans la goutte.

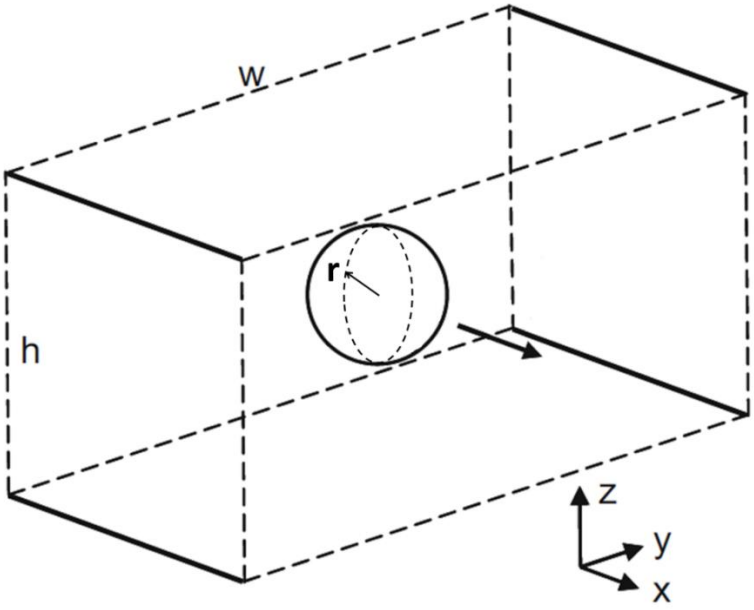


Figure 70 Schéma de la géométrie

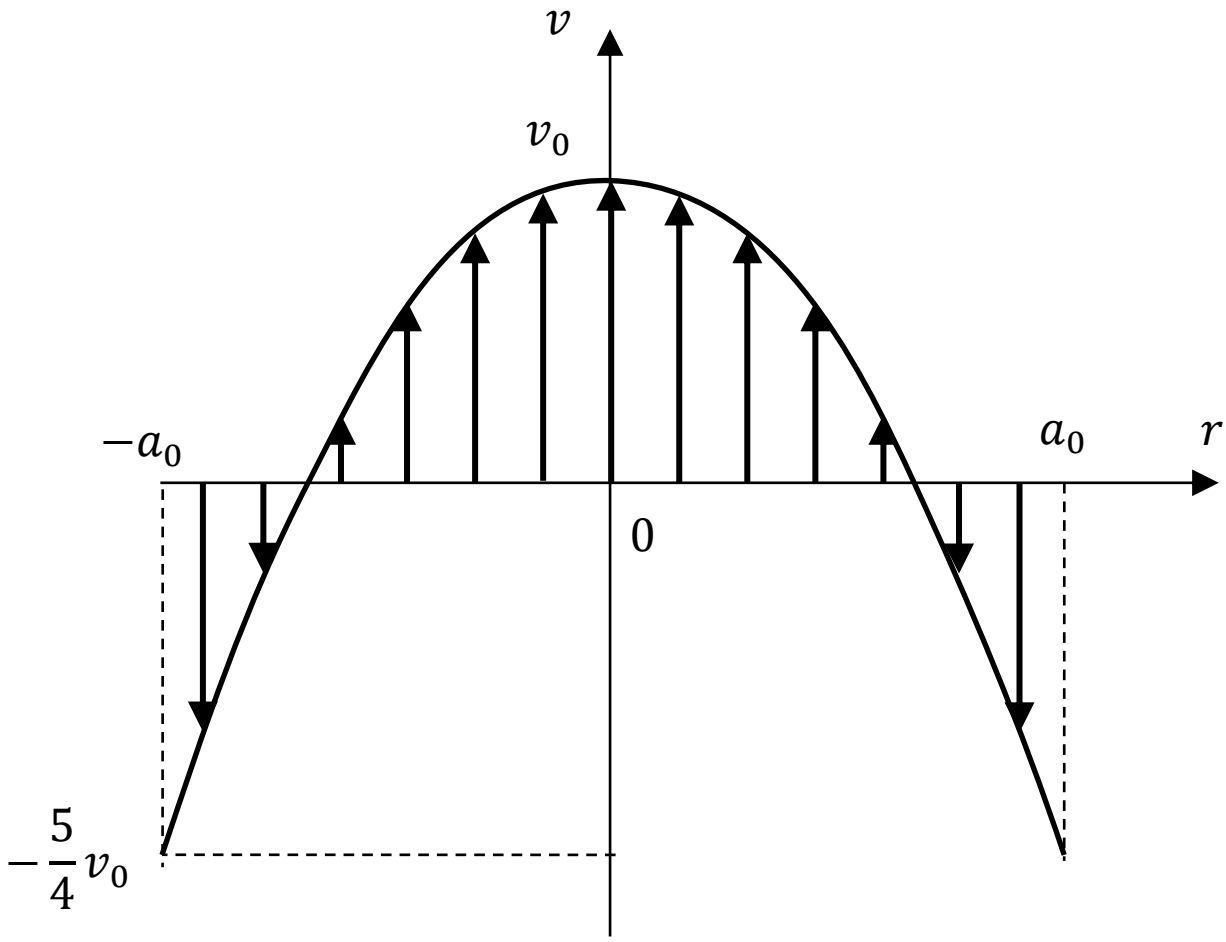


Figure 71 Profil de vitesse moyen des recirculations internes au niveau de l'équateur dans le référentiel de la goutte

IV.2.2 Production de gouttes contenant un fluide non-newtonien

Des essais ont été réalisés dans le microsystème C avec l'huile silicone 20 cSt comme phase continue et les solutions aqueuses de FLOPAAM 3630 et 3230 à 1000 ppm comme phase dispersée. La solution aqueuse de FLOPAAM 3630 à 1000 ppm présente un comportement viscoélastique.

Il a été montré que lorsque ce type de polymère compose la phase dispersée, ses propriétés viscoélastiques modifient la dynamique de formation des gouttes par rapport au cas purement newtonien.

Lorsqu'une goutte de phase dispersée se forme dans une phase continue, nous appellerons filament le jet de liquide reliant l'arrivée de phase dispersée à la goutte en formation avant son détachement complet.

Pour le cas newtonien, le diamètre du filament diminue de façon exponentielle (régime dominé par l'inertie de la phase continue), puis de manière linéaire jusqu'à rupture du filament pour former la goutte (régime dominé par les forces capillaires).

Pour le cas non-newtonien, un régime intermédiaire est observé pendant lequel l'état du filament résulte de l'équilibre entre forces élastiques et forces capillaires : la pression capillaire tend à amincir le filament, tandis que les forces élastiques induites pas l'étirement du fluide résistent à cet amincissement. Le rayon du filament décroît aussi exponentiellement avec le temps mais plus lentement.

De plus, avant sa rupture totale, le filament adopte une structure particulière constituée d'un chapelet de gouttes sphériques reliées par des ponts de fluide, appelé collier de perles ou beads-on-a-string en anglais [97].

Comme présenté en Figure 72, nous observons ce phénomène dans le cas d'une solution aqueuse de FLOPAAM 3630 à 1000 ppm. La position de relevé de l'épaisseur du filament a été choisie de manière arbitraire car Arratia *et al.* [97] ont montré que l'allure de l'évolution cette épaisseur était indépendante de la position choisie. Sur la Figure 73, on observe une phase de décroissance exponentielle de l'épaisseur du filament (jusqu'au point rouge) puis une phase de décroissance linéaire. Etant donné que dans le cas newtonien la goutte se détache très rapidement, nous supposons que la première décroissance exponentielle de l'épaisseur du filament est trop rapide pour que nous puissions la relever dans nos conditions. Ainsi ce que nous observons correspond à la phase de décroissance exponentielle associée au comportement viscoélastique suivie de la phase de décroissance linéaire précédent le décrochage de la goutte.

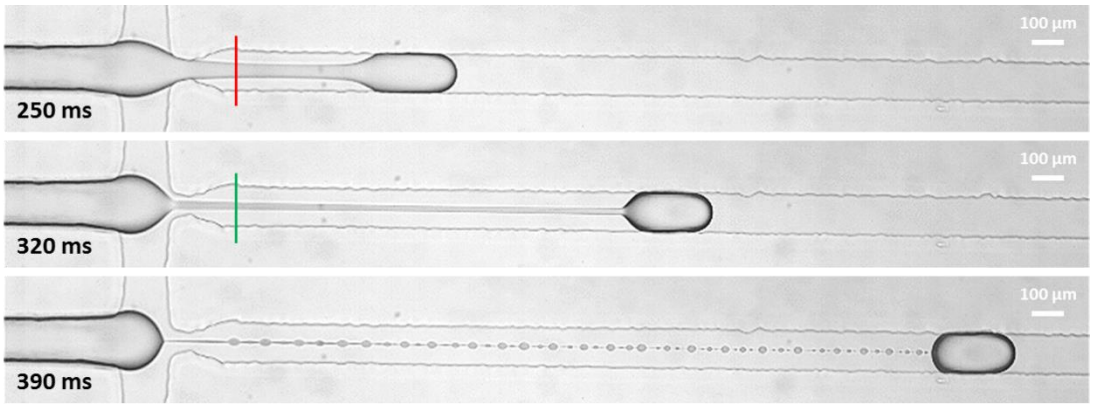


Figure 72 Images à différents temps de la production de gouttes de FLOPAAM 3630 1000 ppm dans de l'huile silicone 20 cSt au niveau du flow-focusing. Les barres verticales représentent la position du relevé de l'épaisseur du filament.

Après le décrochage complet de la goutte, les petites gouttes composant le collier de perles se déplacent de manière très rapide au centre du canal, coalescent et s'intègrent à la goutte qui vient de se décrocher. Ainsi, nous ne sommes pas gênés par la présence de gouttes satellites lors de l'analyse ultérieure de la déformation de la goutte.

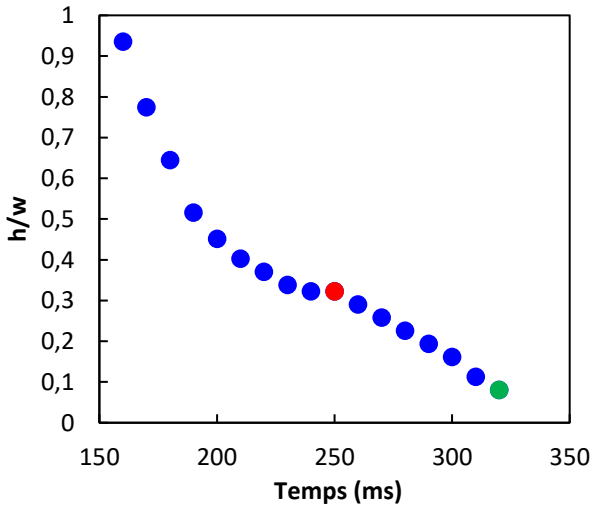


Figure 73 Evolution de l'épaisseur h du filament rapportée à la largeur du canal w en fonction du temps

IV.2.3 Essais de déformation de gouttes

Pour chaque essai impliquant l'un des deux polymères, la vitesse de la goutte est variée entre 130 et 170 mm/s pour le FLOPAAM 3230 et entre 90 et 140 mm/s pour le FLOPAAM 3630. La taille des gouttes est de $63\ \mu m \pm 5\%$ pour le FLOPAAM 3230 et de $70\ \mu m \pm 3\%$ pour le FLOPAAM 3630. La déformation de la goutte, sa vitesse et sa taille sont mesurées de la même manière que pour les fluides newtoniens.

Puis, à l'aide de la corrélation trouvée pour les fluides newtoniens (Chapitre III), le rapport de viscosités correspondant est déterminé :

$$\lambda_N = \left(\frac{D_{max,exp}}{1.6CaR^*}\right)^{1/-0.1} \quad (67)$$

Puis la valeur obtenue est injectée dans la formule qui permet de calculer le taux de cisaillement moyen dans la goutte :

$$\dot{\gamma}_{moy} = \frac{9}{4a_0}\frac{\left(\frac{2a_0}{H}\right)^2}{2(1+\lambda_N)\left(1-\left(\frac{2a_0}{H}\right)^2\frac{\lambda_N}{2+3\lambda_N}\right)}U_{Dmax} \quad (68)$$

La valeur de taux de cisaillement obtenue est reportée dans les lois de puissance caractérisant le comportement rhéofluidifiant du FLOPAAM déterminées dans le Chapitre II pour calculer une nouvelle valeur de viscosité :

$$\eta_{d,rheo} = A\dot{\gamma}_{moy}^{n-1} \quad (69)$$

Cette nouvelle valeur est ensuite injectée dans la corrélation pour déterminer une nouvelle valeur de déformation maximale :

$$D_{max,rheo} = 1.6CaR^*\left(\frac{\eta_{d,rheo}}{\eta_c}\right)^{-0.1} \quad (70)$$

La Figure 74 présente les valeurs de déformation maximale calculées en prenant en compte la valeur du taux de cisaillement dans la goutte $D_{max,rheo}$ en fonction de la déformation maximale expérimentale $D_{max,exp}$. Ces deux valeurs sont très proches. Ainsi, le caractère rhéofluidifiant (FLOPAAM 3230) et même viscoélastique (FLOPAAM 3630) n'impacte que très peu la valeur de la déformation maximale de la goutte comparé au cas newtonien.

Ces résultats sont en accord avec les observations faites par Chung *et al.* [98]. En effet, ils ont réalisé des simulations pour étudier l'écoulement de gouttes viscoélastiques dans expansion microfluidique 1 : 5. Ils montrent que pour des rapports de viscosités proches de 1, comme c'est notre cas, le comportement de la goutte est le même dans le cas newtonien et viscoélastique.

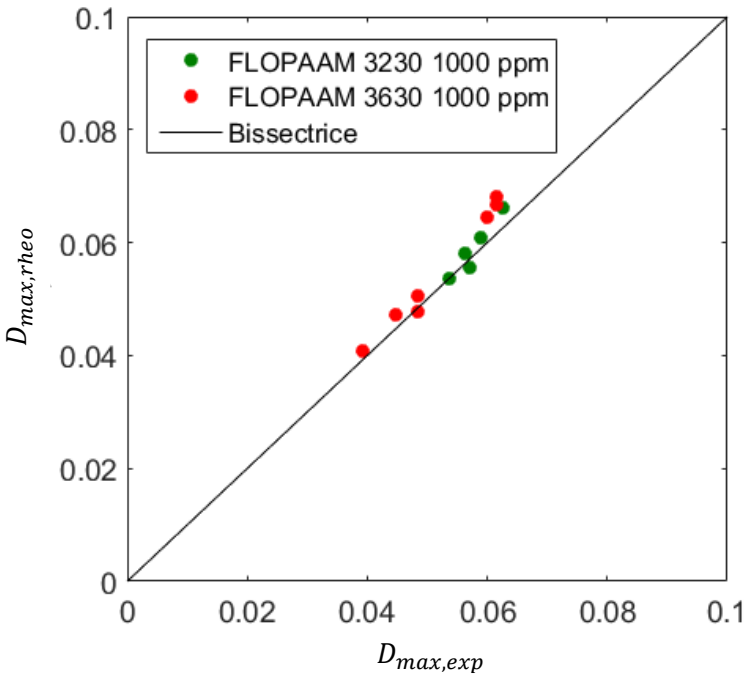


Figure 74 Déformation maximale calculée en prenant en compte la valeur du taux de cisaillement dans la goutte en fonction de la déformation maximale expérimentale pour les essais réalisés avec le FLOPAAM 3230 et 3630 à 1000 ppm

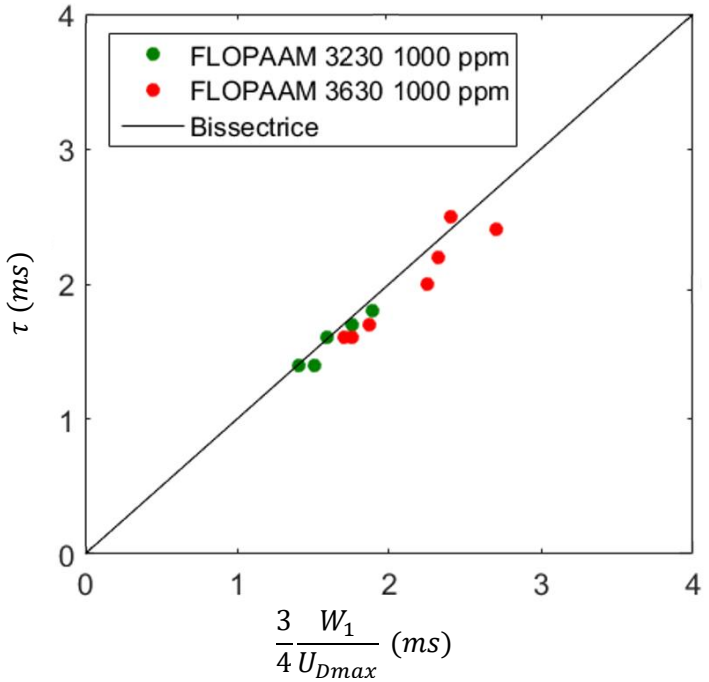


Figure 75 Positionnement des valeurs de temps de relaxation obtenues pour les essais réalisés avec le FLOPAAM 3230 et 3630 sur la corrélation d'équation $\tau = \frac{3}{4}\frac{W_1}{U_{Dmax}}$

IV.2.4 Mesure du temps de relaxation

La Figure 75 présente les valeurs de temps de relaxation expérimentaux en fonction du rapport $\frac{3}{4}\frac{W_1}{U_{Dmax}}$. On confirme que le comportement de la goutte est le même que dans le cas d'un fluide newtonien car les points retombent bien sur la corrélation.

IV.3 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons montré que la corrélation déterminée dans le chapitre III reliant la déformation maximale de la goutte à la viscosité de la phase de la goutte reste valable pour des gouttes contenant des fluides complexes. Nous avons montré que nous pouvions nous servir de cette corrélation pour remonter à la viscosité d'une solution aqueuse de PEG contenue dans la goutte. Nous avons aussi évalué la validité de cette corrélation dans le cas de gouttes contenant un polymère présentant un comportement rhéologique non-newtonien. Pour cela, nous avons calculé le taux de cisaillement dans la goutte pour remonter à la viscosité effective grâce aux courbes de rhéologie. Et nous avons montré que des comportements rhéofluidifiants ou même viscoélastiques ne remettaient pas en cause la validité de la corrélation.

Chapitre V Outil microfluidique haut-débit

Dans ce chapitre, nous allons présenter une première « brique » permettant d'aller vers une analyse haut-débit c'est-à-dire l'intégration d'un mélangeur à la géométrie de notre microsystème. Pour cela, nous présenterons dans un premier temps le mélange en microfluidique. Puis nous présenterons la géométrie que nous avons choisie, décrirons en détails le microsystème utilisé et enfin présenterons les résultats des essais de déformation de gouttes réalisés avec ce dernier.

V.1 Mélange en microfluidique

V.1.1 Les différentes méthodes

A faible nombre de Reynolds Re, l'écoulement dans un canal microfluidique est laminaire et unidirectionnel. Le mélange de deux solutions s'écoulant à co-courant est alors purement diffusif.
Ainsi pour un écoulement diphasique parallèle dans un canal droit, on peut définir $\tau_{conv} = \frac{w}{2v_{moy}}$ le temps qu'il faut à un fluide s'écoulant à une vitesse moyenne v_{moy} pour parcourir une distance $\frac{w}{2}$ équivalente à la moitié de la largeur du canal. On peut aussi définir le temps $\tau_{diff} = \frac{w^2}{4D}$ le temps qu'il faut à des molécules de coefficient de diffusion D présentes dans l'une des deux phases pour diffuser sur la moitié du canal de largeur w.
Le nombre de Péclet correspond au rapport entre le temps de diffusion τ_{diff} et celui de convection τ_{conv} et il est donc défini par :

$$\mathrm{Pe} = \frac{\mathrm{v_{moy}w}}{\mathrm{2D}} \tag{71}$$

Pour un écoulement unidirectionnel, la distance le long du canal nécessaire pour le mélange est donnée par :

$$\Delta \mathrm{y_m} \sim \mathrm{v_{moy}} * \tau_{\mathrm{diff}} = \mathrm{Pe} * \frac{\mathrm{w}}{2} \tag{72}$$

Pour une largeur de canal typique de $w = 200\ \mu m$, une vitesse moyenne $v_{moy} = 1\ mm/s$ et un coefficient de diffusion de $D = 10^{-10}\ m^2.s^{-1}$, on obtient une distance de 10 cm incompatible avec les dimensions d'un système microfluidique.

Pour réduire cette distance de mélange, différentes techniques ont été développées. Plusieurs articles récemment publiés listent les mélangeurs développés pour la microfluidique, ils couvrent les 10 dernières années [99, 100, 101]. Les mélangeurs sont séparés en deux catégories, les actifs et les passifs. Les mélangeurs actifs font intervenir une source d'énergie extérieure pour réaliser le mélange. Cette énergie peut être un champ électrique [102], magnétique [103], acoustique [104] … Concernant les mélangeurs passifs, cela se joue plutôt au niveau de la géométrie des canaux qui va être complexifiée pour améliorer la diffusion ou encore l'advection chaotique.

Les mélangeurs passifs contrairement aux actifs sont plus simples à mettre en œuvre. Parmi ces mélangeurs, on peut trouver des géométries 2D et 3D. Les géométries 3D sont assez complexes à mettre en œuvre [105] contrairement aux géométries 2D qui sont plus accessibles à la fabrication en utilisant les méthodes de lithographie classiques. On trouve des mélangeurs qui sont basés sur la technique de laminage [106]. Pour cela, l'écoulement va être successivement scindé puis recombiné pour augmenter la surface de contact entre les deux fluides à mélanger et ainsi accélérer le mélange par diffusion. Il existe aussi des mélangeurs où les fluides vont s'écouler dans des canaux présentant une géométrie en forme de créneaux, de sinusoïde ou encore de zig-zag [107]. Une autre grande catégorie de mélangeurs passifs 2D sont ceux dont la géométrie va permettre la formation de zones d'advection chaotique. On trouve en particulier des mélangeurs où les canaux vont former des intersections successives [108], d'autres où la largeur des canaux va varier de manière périodique [109]. On peut aussi créer ce phénomène d'advection chaotique en insérant des obstacles au milieu des canaux pour déstabiliser l'écoulement laminaire [110]. Une technique particulièrement efficace est l'incorporation de chevrons [111].

V.1.2 La géométrie « chevrons »

La géométrie que nous avons retenue est celle avec des chevrons car elle présente l'une des meilleures performances de mélange, a été largement étudiée et est simple à mettre en place par microfabrication. Elle consiste en une répétition de rainures au fond du canal microfluidique. Un chevron est composé de deux rainures qui se rejoignent pour former une pointe généralement avec un angle de 45° par rapport à la direction de l'écoulement, l'une étant deux fois plus longue que l'autre. La profondeur du chevron a plus d'impact que l'angle et le meilleur mélange est obtenu pour une profondeur de chevron égale à la moitié de la hauteur du canal [112]. De plus, ces chevrons sont généralement creusés dans le fond du canal (profondeur négative par rapport au fond du canal) alors que Kwak *et al.* [113] montrent que des chevrons en positif sont plus efficaces pour le mélange.

D'après Stroock *et al.* [111], il est possible de relier la distance nécessaire pour atteindre 90% de mélange dans une structure avec chevrons au logarithme du nombre de Péclet (Pe) (Figure 76) dans les conditions présentées dans le Tableau 11. Pour déterminer le degré de mélange, des images dans

le plan perpendiculaire à l'écoulement sont prises par imagerie confocale de fluorescence. Puis l'écart-type est calculé de la manière suivante :

$$\sigma = \langle (\mathrm{I} - \langle \mathrm{I} \rangle)^2 \rangle^{1/2} \tag{73}$$

avec I la valeur d'échelle de gris d'un pixel prise entre 0 et 1 et ⟨ ⟩ correspondant à une moyenne réalisée sur tous les pixels de l'image. L'écart-type est de 0,5 pour deux courants totalement séparés et de 0 pour un mélange parfait. Un mélange à 90 % correspond à un écart-type de 0,05.

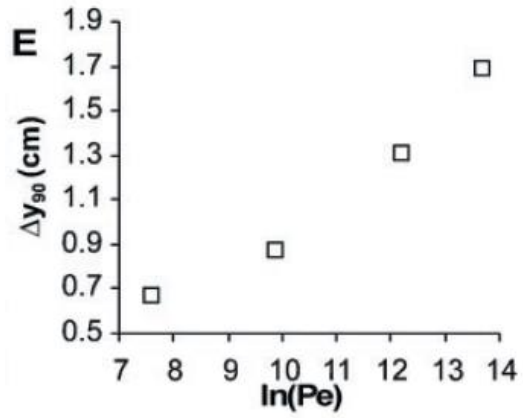


Figure 76 Evolution de la distance pour obtenir un mélange à 90 % en fonction du logarithme du nombre de Péclet [111]

Tableau 11 Carcatéristiques du mélangeur à chevrons utilisé par Stroock et al. [111]

Hauteur du canal	85 µm
Largeur du canal	200 µm
Chevrons	Négatifs
Profondeur des chevrons	36 µm
Largeur / Distance entre les chevrons	50 µm
1 cycle	2 séries de 6 chevrons
Distance entre 2 cycles	650 µm
Longueur totale	30 mm (15 cycles)
Fluide	Eau
Marqueur	Fluorescéine greffée à un polymère
Coefficient de diffusion D	4.10^{-10} m^2/s

V.2 Mélange à l'aide de chevrons et déformation de gouttes

V.2.1 Mélange de solutions aqueuses de glycérol

Pour nos essais, nous souhaitons mélanger deux solutions aqueuses de glycérol de concentrations différentes et pouvoir, en les injectant à différents ratios de débits, balayer une gamme de viscosités entre 20 et 100 mPa.s.

Ainsi, si on considère une phase A composée uniquement de glycérol et une phase B composée d'un mélange aqueux concentré en glycérol. Pour $w = 200\,\mu m$, $D = 5.10^{-11}\,m^2/s$ [114] et $u = 5\,mm/s$, on a $\Delta y_m = 1\,m.$. La longueur obtenue est bien trop grande pour un système microfluidique. Ce calcul justifie la nécessité d'utiliser une géométrie de mélangeur spécifique qui va accélérer le mélange dans notre puce microfluidique.

La géométrie que nous avons choisie est présentée en Figure 77 et ses caractéristiques dans le Tableau 12. La géométrie est semblable aux précédentes, cependant au lieu d'une arrivée unique de phase dispersée, la géométrie en possède deux, une pour chacune des deux solutions à mélanger. Ces deux arrivées de liquides se rejoignent puis sont séparées de la zone de création de gouttes par des chevrons. Nous avons choisi des cycles de chevrons identiques à ceux de Stroock c'est-à-dire composés de deux fois six chevrons (Figure 78 a)). Ces chevrons sont asymétriques, l'angle qu'ils font avec l'axe x du canal est de 45° et le rapport entre le plus court et le plus long côté est de de 1 : 2. De plus, les chevrons sont dessinés en positif en haut du canal (Figure 78 b)) pour avoir de meilleures performances de mélange [113].

Lorsque la formule de Stroock est appliquée à notre cas, on obtient $Pe = 10^4$ et $ln(Pe) = 9{,}2$ ce qui correspond à une longueur d'environ 8 mm soit 4 cycles de 12 chevrons.
Comme notre géométrie est un peu différente, pour être sûrs que le mélange se fasse bien et pour avoir une certaine latitude dans les débits appliqués, nous avons choisi d'intégrer 9 cycles de 12 chevrons à la géométrie de notre microsystème.

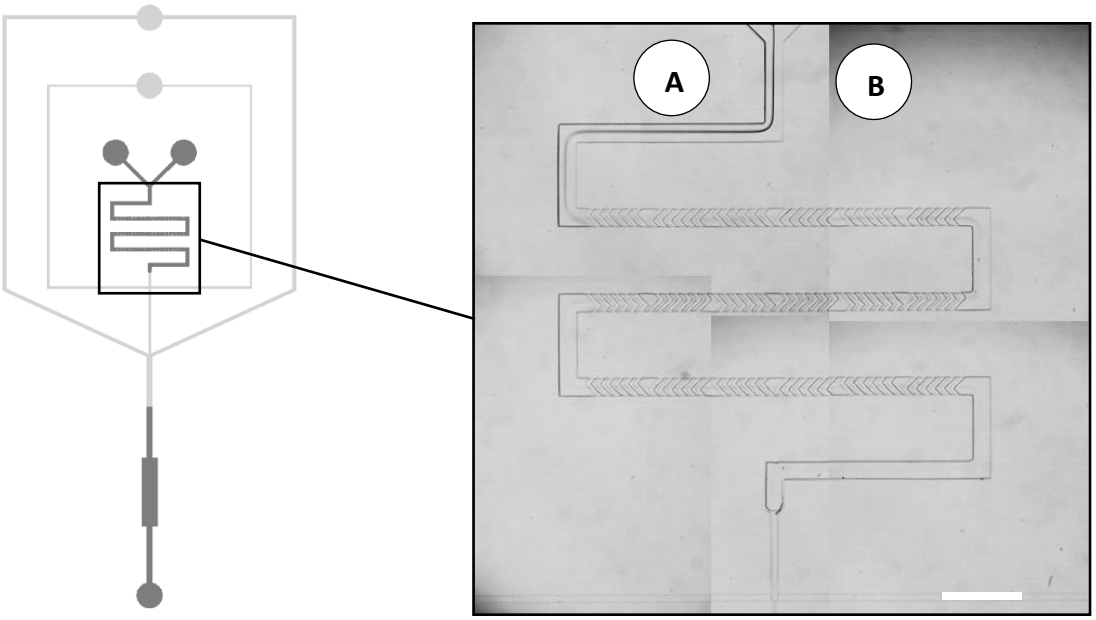


Figure 77 Géométrie du microsystème avec mélangeur (A et B sont les arrivées des deux mélanges glycérol-eau). Le trait blanc correspond à 1 mm.

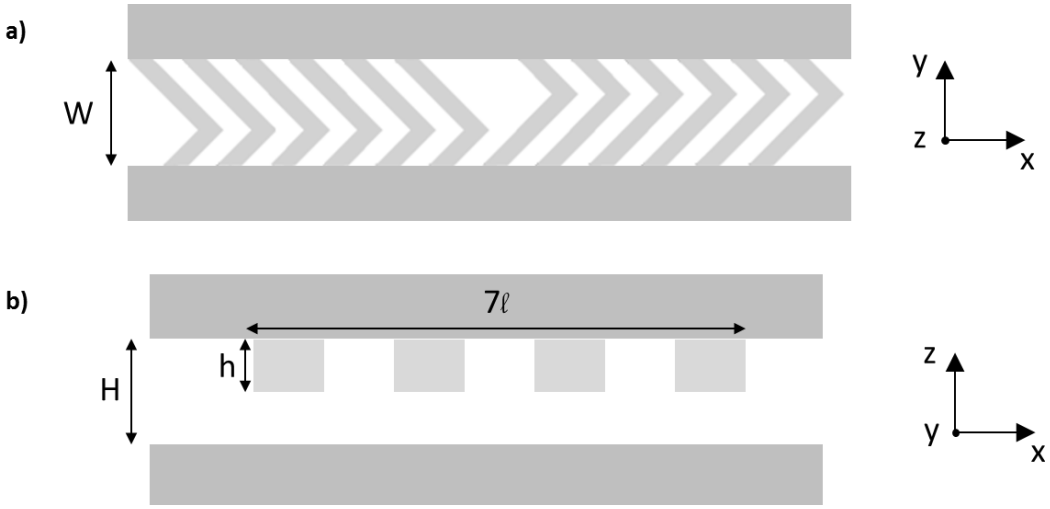
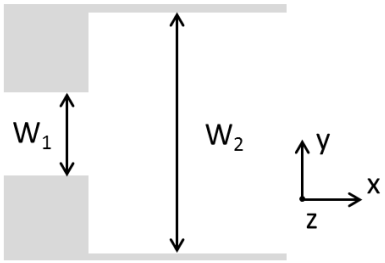


Figure 78 a) Schéma de 1 cycle de 2 fois 6 chevrons b) Schéma de chevrons positifs

Tableau 12 Caractéristiques de la zone de mélange du microsystème

Hauteur du canal (H)	240 µm
Largeur du canal (W)	200 µm
Chevrons	Positifs
Hauteur des chevrons (h)	120 µm
Largeur / Distance entre les chevrons (ℓ)	50 µm
1 cycle	2 séries de 6 chevrons
Distance entre 2 cycles	50 µm / 1mm
Longueur totale	9 cycles

Comme le microsystème est issu de l'impression d'un nouveau masque et d'une nouvelle microfabrication, les dimensions de la zone de déformation sont un peu différentes (Figure 79). Le moule permettant de fabriquer le microsystème correspondant a été fabriqué par la start-up Microfactory [115].



H (µm)	240
W_1 (µm)	285
W_2 (µm)	885

Figure 79 Schéma et dimensions de la zone de déformation de goutte pour le système microfluidique comportant une zone de mélange

V.2.2 Déformation de gouttes dans un microsystème avec mélangeur

Nous avons injecté dans le microsystème deux solutions aqueuses de glycérol à différentes concentrations. La solution A est composée à 64 %m de glycérol et la solution B à 89 %m de glycérol. Ces deux solutions sont injectées à différents ratios de débits à l'aide de pousse-seringues pour obtenir différentes viscosités de phase dispersées en sortie de mélangeur. Les différents ratios utilisés sont présentés dans le Tableau 13.

Tableau 13 Ratios de débits utilisés dans le microsystème avec mélangeur et viscosités correspondantes

QA/QB	%vol A	%vol glycérol	viscosité (mPa.s)
/	100	58,5	15,1
4,00	80	64,1	20,4
1,00	50	72,5	41,8
0,54	35	76,7	64,5
0,25	20	80,9	100,8
/	0	86,5	191,5

La Figure 80 présente la valeur de viscosité de la phase de la goutte obtenue en utilisant la corrélation obtenue au chapitre III en fonction de la viscosité théorique donnée par les ratios de débits. Une bonne concordance de ces deux valeurs est trouvée.

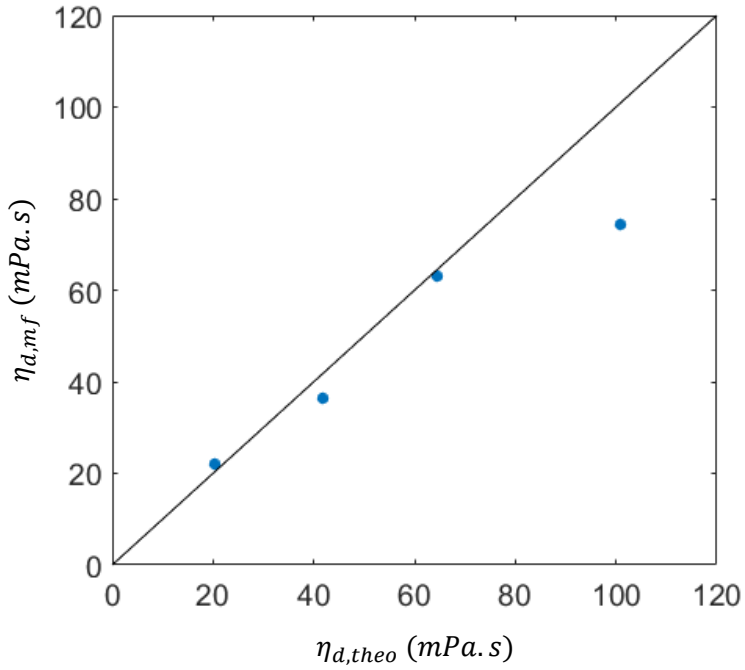


Figure 80 Mesure de la viscosité de la phase dispersée à partir de la mesure de la déformation maximale en fonction de la valeur obtenue théoriquement à partir des ratios de débits pour les essais réalisés dans le microsystème avec zone de mélange

V.3 Conclusion

Les résultats présentés dans cette partie permettent de faire un premier pas vers une analyse haut-débit de la viscosité de gouttes microfluidiques. En effet grâce au mélangeur, nous avons montré qu'il était possible de mettre en contact deux composés différents et de les mélanger pour ensuite avoir accès à la viscosité du mélange qui en résulte.

Conclusion et perspectives

Dans cette thèse, nous avons réalisé les premières étapes permettant le développement d'un outil microfluidique pour réaliser des mesures haut-débit de viscosité. Nous nous sommes concentrés principalement sur la partie détection/mesure. Pour cela, nous avons choisi d'étudier le phénomène de déformation et de relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique. Et nous avons conçu une puce et développé une méthode d'analyse permettant de remonter à la viscosité d'un fluide contenu dans une goutte microfluidique.

Dans un premier temps nous nous sommes intéressés à des fluides modèles présentant un comportement newtonien. Nous avons montré que la mesure du temps de relaxation de la goutte après sa déformation à l'entrée d'une chambre d'expansion microfluidique ne permet pas de remonter à la viscosité de la goutte. En effet, la contribution des propriétés physico-chimiques de la goutte est masquée par les conditions de l'écoulement. Nous avons ensuite montré que la mesure de la déformation maximale de la goutte à l'entrée de la chambre d'expansion est quant à elle bien influencée par la viscosité de la goutte. Ainsi nous avons trouvé une corrélation permettant de relier la déformation maximale de la goutte aux différentes grandeurs gouvernant le phénomène et en particulier la viscosité de la goutte. Une corrélation générale n'a pu être trouvée que dans le cas où la goutte n'est pas confinée dans le canal microfluidique. Lorsque la goutte est confinée, le film de lubrification présent entre la goutte et la paroi du canal impacte la déformation de la goutte et fait varier les exposants de la corrélation en fonction des propriétés physico-chimiques des fluides. Nous avons aussi montré que la corrélation trouvée reste valable en présence de tensioactif et en inversant la composition des phases dispersée et continue.

Dans un second temps, nous avons montré que cette corrélation reste aussi valable pour des gouttes contenant des fluides complexes. Nous avons montré que nous pouvions nous servir de cette corrélation pour remonter à la viscosité d'une solution aqueuse de PEG contenue dans la goutte. Nous avons aussi évalué la validité de cette corrélation dans le cas de gouttes contenant un polymère présentant un comportement rhéologique non-newtonien. Pour cela, nous avons calculé le taux de cisaillement dans la goutte pour remonter à la viscosité effective grâce aux courbes de rhéologie. Et nous avons montré que des comportements rhéofluidifiants ou même viscoélastiques ne remettaient pas en cause la validité de la corrélation.

Finalement, nous avons travaillé sur une géométrie intégrant une zone de mélange composée de chevrons. L'intégration d'un tel mélangeur rend ainsi possible la mise en contact de deux composés chimiques pour une mesure de viscosité ultérieure du mélange obtenu.

Nous proposons ainsi une méthode pour réaliser des mesures de viscosité dans notre puce microfluidique :

- mesurer la tension interfaciale entre la phase dispersée et la phase continue. La phase continue pouvant être une huile minérale ou organique immiscible avec la phase dispersée.
- introduire les fluides dans le microsystème et mesurer la vitesse, la taille et la déformation des gouttes dans la chambre d'expansion grâce à la méthode d'analyse développée dans ce travail
- en déduire la viscosité correspondante grâce à la corrélation présentée dans le Chapitre III

Certes, cette méthode ne permet pas d'obtenir une valeur quantitative précise de la viscosité de la goutte à cause de l'incertitude importante associée à cette valeur. Cependant, cette méthode permet d'avoir accès à l'allure de l'évolution relative de la viscosité de la goutte en fonction de la concentration de l'agent viscosifiant. Dans le cadre d'une analyse haut-débit, avoir accès à l'évolution relative de la réponse en fonction des conditions opératoires est souvent suffisant pour repérer les conditions adéquates pour une formulation par exemple. Si nécessaire, il est toujours possible de réaliser une mesure plus précise sur l'échantillon choisi à l'aide d'un rhéomètre classique.

Des simulations 3D pourraient être réalisées pour augmenter la compréhension que l'on a du phénomène de déformation de goutte au niveau d'une restriction microfluidique. Les résultats de ses simulations pourraient ainsi être confrontés aux résultats obtenus expérimentalement.

Un autre point sur lequel il serait possible de travailler est l'automatisation du protocole de mesure de la déformation de goutte. En effet, pour l'instant les essais de déformation de gouttes sont réalisés dans le microsystème puis les vidéos acquises sont analysées ultérieurement par différents programmes. En couplant un logiciel d'acquisition vidéo avec les programmes d'analyse d'images et de données, il serait possible d'avoir accès à une mesure de viscosité en simultané. De plus, avoir une séquence d'analyse totalement automatisée permettrait d'analyser plus de gouttes pour un point de mesure et d'obtenir plus de points de mesures pour ainsi augmenter sa précision .

Ce système de mesure pourrait aussi être relié au dispositif permettant l'injection des fluides. Dans le cas d'un screening par exemple, il serait alors possible de varier automatiquement les concentrations des différents additifs et ainsi balayer une large gamme de conditions opératoires pour déterminer par

exemple l'effet de l'ajout d'un additif sur les propriétés viscosifiantes d'un polymère. (pour les formulations EOR par exemple).
Pour illustration, il serait aussi possible de suivre une cinétique de polymérisation par mesure de l'augmentation de la viscosité de la goutte au cours du temps en positionnant des chambres de déformation à la suite pour les cinétiques les plus rapides ou en mettant en place une boucle de recirculation pour les plus lentes.

Tous nos essais ont été réalisés à température ambiante mais il serait possible de réaliser des essais en température en incorporant un système de contrôle de la température. Lee *et al.* [116] ont développé sur le même principe que Cabral *et al.* [68] un tensiomètre microfluidique qui présente l'avantage de posséder un système de contrôle de la température. Ce dispositif permet ainsi un contrôle précis de la température lors de la mesure de la déformation de la goutte.

Pour conclure, les perspectives de ce travail sont nombreuses pour aboutir à un système complètement intégré et automatisé pour réaliser des mesures haut-débit de viscosité sur des gouttes microfluidiques.

Références

[1] Whitesides G.M., The origins and the future of microfluidics, *Nature*, **2006**, *442(7101)*, p. 368.

[2] Xia Y., Whitesides G.M., Soft Lithography, *Angewandte Chemie International Edition*, **1998**, *37(5)*, p. 550.

[3] Chiu D.T., deMello A.J., Di Carlo D., Doyle P.S., Hansen C., Maceiczyk R.M., Wootton R.C., Small but Perfectly Formed?: Successes, Challenges, and Opportunities for Microfluidics in the Chemical and Biological Sciences, *Chem*, **2017**, *2(2)*, p. 201.

[4] Cate D.M., Adkins J.A., Mettakoonpitak J., Henry C.S., Recent developments in paper-based microfluidic devices, *Analytical chemistry*, **2015**, *87(1)*, p. 19.

[5] Jokerst J.C., Emory J.M., Henry C.S., Advances in microfluidics for environmental analysis, *The Analyst*, **2012**, *137(1)*, p. 24.

[6] Sinton D., Energy: the microfluidic frontier, *Lab on a chip*, **2014**, *14(17)*, p. 3127.

[7] Holtze C., Rowat A.C., Agresti J.J., Hutchison J.B., Angilè F.E., Schmitz, C H J, Köster S., Duan H., Humphry K.J., Scanga R.A., Johnson J.S., Pisignano D., Weitz D.A., Biocompatible surfactants for water-in-fluorocarbon emulsions, *Lab on a chip*, **2008**, *8(10)*, p. 1632.

[8] Zheng B., Gerdts C.J., Ismagilov R.F., Using nanoliter plugs in microfluidics to facilitate and understand protein crystallization, *Current opinion in structural biology*, **2005**, *15(5)*, p. 548.

[9] Abou-Hassan A., Sandre O., Cabuil V., Microfluidics in inorganic chemistry, *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, **2010**, *49(36)*, p. 6268.

[10] Theberge A.B., Courtois F., Schaerli Y., Fischlechner M., Abell C., Hollfelder F., Huck, Wilhelm T S, Microdroplets in microfluidics: an evolving platform for discoveries in chemistry and biology, *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, **2010**, *49(34)*, p. 5846.

[11] Shevlin M., Practical High-Throughput Experimentation for Chemists, *ACS medicinal chemistry letters*, **2017**, *8(6)*, p. 601.

[12] Macarron R., Banks M.N., Bojanic D., Burns D.J., Cirovic D.A., Garyantes T., Green D.V.S., Hertzberg R.P., Janzen W.P., Paslay J.W., Schopfer U., Sittampalam G.S., Impact of high-throughput screening in biomedical research, *Nature reviews. Drug discovery*, **2011**, *10(3)*, p. 188.

[13] Szymański P., Markowicz M., Mikiciuk-Olasik E., Adaptation of high-throughput screening in drug discovery-toxicological screening tests, *International journal of molecular sciences*, **2012**, *13(1)*, p. 427.

[14] Michael Berg, Katrin Undisz, Ralf Thiericke, Peter Zimmermann, Thomas Moore, and Clemens Posten, Evaluation of Liquid Handling Conditions in Microplates.

[15] Moiré M., *Etude des propriétés interfaciales eau/huile/tensioactifs par microfluidique application à l'EOR chimique*, Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, **2015**.

[16] Drougard M., André E., Jourdier E., Ben Chaabane F., Pannacci N., *Procédé de modification de la morphologie de champignons filamenteux agrégés de type coagulant*, 17/58.924.

[17] Zhou C., Yue P., Feng J.J., Simulation of neutrophil deformation and transport in capillaries using newtonian and viscoelastic drop models, *Annals of biomedical engineering*, **2007**, *35(5)*, p. 766.

[18] Christopher G.F., Anna S.L., Microfluidic methods for generating continuous droplet streams, *J. Phys. D: Appl. Phys.*, **2007**, *40(19)*, R319-R336.

[19] Thorsen T., Roberts R.W., Arnold F.H., Quake S.R., Dynamic Pattern Formation in a Vesicle-Generating Microfluidic Device, *Phys. Rev. Lett.*, **2001**, *86*, p. 4163.

[20] Umbanhowar P.B., Prasad V., Weitz D.A., Monodisperse Emulsion Generation via Drop Break Off in a Coflowing Stream, *Langmuir*, **2000**, *16(2)*, p. 347.

[21] Anna S.L., Bontoux N., Stone H.A., Formation of dispersions using "flow focusing" in microchannels, *Appl. Phys. Lett.*, **2003**, *82(3)*, p. 364.

[22] Christopher G.F., Noharuddin N.N., Taylor J.A., Anna S.L., Experimental observations of the squeezing-to-dripping transition in T-shaped microfluidic junctions, *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, **2008**, *78(3 Pt 2)*, p. 36317.

[23] Garstecki P., Fuerstman M.J., Stone H.A., Whitesides G.M., Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction-scaling and mechanism of break-up, *Lab on a chip*, **2006**, *6(3)*, p. 437.

[24] Zhu P., Wang L., Passive and active droplet generation with microfluidics: a review, *Lab on a chip*, **2016**.

[25] Oedit A., Vulto P., Ramautar R., Lindenburg P.W., Hankemeier T., Lab-on-a-Chip hyphenation with mass spectrometry: strategies for bioanalytical applications, *Current opinion in biotechnology*, **2015**, *31*, p. 79.

[26] Jahn I.J., Žukovskaja O., Zheng X.-S., Weber K., Bocklitz T.W., Cialla-May D., Popp J., Surface-enhanced Raman spectroscopy and microfluidic platforms: Challenges, solutions and potential applications, *The Analyst*, **2017**, *142(7)*, p. 1022.

[27] Ouimet C.M., D'amico C.I., Kennedy R.T., Advances in capillary electrophoresis and the implications for drug discovery, *Expert opinion on drug discovery*, **2017**, *12(2)*, p. 213.

[28] Moiseeva E.V., Fletcher A.A., Harnett C.K., Thin-film electrode based droplet detection for microfluidic systems, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2011**, *155(1)*, p. 408.

[29] Robert de Saint Vincent, Matthieu, Cassagnère S., Plantard J., Delville J.-P., Real-time droplet caliper for digital microfluidics, *Microfluid Nanofluid*, **2012**, *13(2)*, p. 261.

[30] Baret J.-C., Miller O.J., Taly V., Ryckelynck M., El-Harrak A., Frenz L., Rick C., Samuels M.L., Hutchison J.B., Agresti J.J., Link D.R., Weitz D.A., Griffiths A.D., Fluorescence-activated droplet sorting (FADS): efficient microfluidic cell sorting based on enzymatic activity, *Lab on a chip*, **2009**, *9(13)*, p. 1850.

[31] Jakiela S., Makulska S., Korczyk P.M., Garstecki P., Speed of flow of individual droplets in microfluidic channels as a function of the capillary number, volume of droplets and contrast of viscosities, *Lab on a chip*, **2011**, *11(21)*, p. 3603.

[32] Tan Y.-C., Ho Y.L., Lee A.P., Microfluidic sorting of droplets by size, *Microfluid Nanofluid*, **2008**, *4(4)*, p. 343.

[33] Fu A.Y., Chou H.-P., Spence C., Arnold F.H., Quake S.R., An Integrated Microfabricated Cell Sorter, *Anal. Chem.*, **2002**, *74(11)*, p. 2451.

[34] Abate A.R., Agresti J.J., Weitz D.A., Microfluidic sorting with high-speed single-layer membrane valves, *Appl. Phys. Lett.*, **2010**, *96(20)*, p. 203509.

[35] Franke T., Abate A.R., Weitz D.A., Wixforth A., Surface acoustic wave (SAW) directed droplet flow in microfluidics for PDMS devices, *Lab on a chip*, **2009**, *9(18)*, p. 2625.

[36] Ahn K., Kerbage C., Hunt T.P., Westervelt R.M., Link D.R., Weitz D.A., Dielectrophoretic manipulation of drops for high-speed microfluidic sorting devices, *Appl. Phys. Lett.*, **2006**, *88(2)*, p. 24104.

[37] Zhang K., Liang Q., Ma S., Mu X., Hu P., Wang Y., Luo G., On-chip manipulation of continuous picoliter-volume superparamagnetic droplets using a magnetic force, *Lab on a chip*, **2009**, *9(20)*, p. 2992.

[38] Baroud C.N., Delville J.-P., Gallaire F., Wunenburger R., Thermocapillary valve for droplet production and sorting, *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, **2007**, *75(4 Pt 2)*, p. 46302.

[39] Teh S.-Y., Lin R., Hung L.-H., Lee A.P., Droplet microfluidics, *Lab on a chip*, **2008**, *8(2)*, p. 198.

[40] SHEN F., LI Y., LIU Z.-M., CAO R.-T., WANG G.-R., Advances in Micro-Droplets Coalescence Using Microfluidics, *Chinese Journal of Analytical Chemistry*, **2015**, *43(12)*, p. 1942.

[41] Klaseboer, Chevaillier, Gourdon, Masbernat, Film Drainage between Colliding Drops at Constant Approach Velocity: Experiments and Modeling, *Journal of colloid and interface science*, **2000**, *229(1)*, p. 274.

[42] Eow J.S., Ghadiri M., Drop–drop coalescence in an electric field: The effects of applied electric field and electrode geometry, *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, **2003**, *219(1-3)*, p. 253.

[43] Niu X., Gulati S., Edel J.B., deMello A.J., Pillar-induced droplet merging in microfluidic circuits, *Lab on a chip*, **2008**, *8(11)*, p. 1837.

[44] Link D.R., Anna S.L., Weitz D.A., Stone H.A., Geometrically mediated breakup of drops in microfluidic devices, *Physical review letters*, **2004**, *92(5)*, p. 54503.

[45] Schmitz, Christian H J, Rowat A.C., Köster S., Weitz D.A., Dropspots: a picoliter array in a microfluidic device, *Lab on a chip*, **2009**, *9(1)*, p. 44.

[46] Leung K., Zahn H., Leaver T., Konwar K.M., Hanson N.W., Pagé A.P., Lo C.-C., Chain P.S., Hallam S.J., Hansen C.L., A programmable droplet-based microfluidic device applied to

multiparameter analysis of single microbes and microbial communities, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2012**, *109(20)*, p. 7665.

[47] Sjostrom S.L., Joensson H.N., Svahn H.A., Multiplex analysis of enzyme kinetics and inhibition by droplet microfluidics using picoinjectors, *Lab on a chip*, **2013**, *13(9)*, p. 1754.

[48] Huang M., Bai Y., Sjostrom S.L., Hallström B.M., Liu Z., Petranovic D., Uhlén M., Joensson H.N., Andersson-Svahn H., Nielsen J., Microfluidic screening and whole-genome sequencing identifies mutations associated with improved protein secretion by yeast, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, **2015**, *112(34)*, E4689-96.

[49] Couarraze G., Grossiord J.-L., *Initiation à la rhéologie*, Technique & Documentation, **2000**.

[50] Coussot P., Grossiord J.-L., *Comprendre la rhéologie: de la circulation du sang à la prise du béton*, EDP Sciences, **2002**.

[51] Pipe C.J., Majmudar T.S., McKinley G.H., High shear rate viscometry, *Rheol Acta*, **2008**, *47*, p. 621.

[52] Solomon D.E., Abdel-Raziq A., Vanapalli S.A., A stress-controlled microfluidic shear viscometer based on smartphone imaging, *Rheol Acta*, **2016**, *55(9)*, p. 727.

[53] Hudson S.D., Sarangapani P., Pathak J.A., Migler K.B., A microliter capillary rheometer for characterization of protein solutions, *Journal of pharmaceutical sciences*, **2015**, *104(2)*, p. 678.

[54] Srivastava N., Burns M.A., Analysis of non-Newtonian liquids using a microfluidic capillary viscometer, *Analytical chemistry*, **2006**, *78(5)*, p. 1690.

[55] Srivastava N., Davenport R.D., Burns M.A., Nanoliter viscometer for analyzing blood plasma and other liquid samples, *Analytical chemistry*, **2005**, *77(2)*, p. 383.

[56] Guillot P., Colin A., Determination of the flow curve of complex fluids using the Rabinowitsch–Mooney equation in sensorless microrheometer, *Microfluid Nanofluid*, **2014**, *17(3)*, p. 605.

[57] Solomon D.E., Vanapalli S.A., Multiplexed microfluidic viscometer for high-throughput complex fluid rheology, *Microfluid Nanofluid*, **2014**, *16(4)*, p. 677.

[58] Lan W.J., Li S.W., Xu J.H., Luo G.S., Rapid measurement of fluid viscosity using co-flowing in a co-axial microfluidic device, *Microfluid Nanofluid*, **2010**, *8(5)*, p. 687.

[59] Nguyen N.-T., Yap Y.-F., Sumargo A., Microfluidic rheometer based on hydrodynamic focusing, *Meas. Sci. Technol.*, **2008**, *19(8)*, p. 85405.

[60] Degré G., Joseph P., Tabeling P., Lerouge S., Cloitre M., Ajdari A., Rheology of complex fluids by particle image velocimetry in microchannels, *Appl. Phys. Lett.*, **2006**, *89(2)*, p. 24104.

[61] Lin Y.-Y., Lin C.-W., Yang L.-J., Wang A.-B., Micro-viscometer based on electrowetting on dielectric, *Electrochimica Acta*, **2007**, *52(8)*, p. 2876.

[62] Belmiloud N., Dufour I., Colin A., Nicu L., Rheological behavior probed by vibrating microcantilevers, *Appl. Phys. Lett.*, **2008**, *92(4)*, p. 41907.

[63] Khan M.F., Schmid S., Larsen P.E., Davis Z.J., Yan W., Stenby E.H., Boisen A., Online measurement of mass density and viscosity of pL fluid samples with suspended microchannel resonator, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2013**, *185*, p. 456.

[64] Dehestru G., Leman M., Jundt J., Dryden P., Sullivan M., Harrison C., A microfluidic vibrating wire viscometer for operation at high pressure and high temperature, *The Review of scientific instruments*, **2011**, *82(3)*, p. 35113.

[65] Schultz K.M., Furst E.M., High-throughput rheology in a microfluidic device, *Lab on a chip*, **2011**, *11(22)*, p. 3802.

[66] Livak-Dahl E., Lee J., Burns M.A., Nanoliter droplet viscometer with additive-free operation, *Lab on a chip*, **2013**, *13(2)*, p. 297.

[67] DeLaMarre M.F., Keyzer A., Shippy S.A., Development of a simple droplet-based microfluidic capillary viscometer for low-viscosity Newtonian fluids, *Analytical chemistry*, **2015**, *87(9)*, p. 4649.

[68] Cabral J.T., Hudson S.D., Microfluidic approach for rapid multicomponent interfacial tensiometry, *Lab on a chip*, **2006**, *6(3)*, p. 427.

[69] Brosseau Q., Vrignon J., Baret J.-C., Microfluidic Dynamic Interfacial Tensiometry (μDIT), *Soft matter*, **2014**, *10(17)*, p. 3066.

[70] Taylor G.I., The Formation of Emulsions in Definable Fields of Flow, *Proceedings of the Royal Society of London. Series A*, **1934**, *146*, p. 501.

[71] Barthès-Biesel D., Acrivos A., Deformation and burst of a liquid droplet freely suspended in a linear shear field, *J. Fluid Mech.*, **1973**, *61(01)*, p. 1.

[72] Kong L., Saar K.L., Jacquat R., Hong L., Levin A., Gang H., Ye R., Mu B., Knowles T.P.J., Mechanism of biosurfactant adsorption to oil/water interfaces from millisecond scale tensiometry measurements, *Interface focus*, **2017**, *7(6)*, p. 20170013.

[73] Lele P., Syed A.H., Riordon J., Mosavat N., Guerrero A., Fadaei H., Sinton D., Deformation of microdroplets in crude oil for rapid screening of enhanced oil recovery additives, *Journal of Petroleum Science and Engineering*, **2018**.

[74] Nagel M., Gallaire F., Boundary elements method for microfluidic two-phase flows in shallow channels, *Computers & Fluids*, **2015**, *107*, p. 272.

[75] Kadivar E., Farrokhbin M., A numerical procedure for scaling droplet deformation in a microfluidic expansion channel, *Physica A: Statistical Mechanics and its Applications*, **2017**, *479*, p. 449.

[76] Park S.-Y., Dimitrakopoulos P., Transient dynamics of an elastic capsule in a microfluidic constriction, *Soft matter*, **2013**, *9(37)*.

[77] Anna S.L., Bontoux N., Stone H.A., Formation of dispersions using “flow focusing” in microchannels, *Appl. Phys. Lett.*, **2003**, *82(3)*, p. 364.

[78] Baret J.-C., Surfactants in droplet-based microfluidics, *Lab on a chip*, **2012**, *12(3)*, p. 422.

[79] Lee J.N., Park C., Whitesides G.M., Solvent compatibility of poly(dimethylsiloxane)-based microfluidic devices, *Analytical chemistry*, **2003**, *75(23)*, p. 6544.

[80] Moiré M., Peysson Y., Herzhaft B., Pannacci N., Gallaire F., Augello L., Dalmazzone C., Colin A., Ultralow Interfacial Tension Measurement through Jetting/Dripping Transition, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids*, **2017**, *33(10)*, p. 2531.

[81] Beaumont J., Louvet N., Divoux T., Fardin M.-A., Bodiguel H., Lerouge S., Manneville S., Colin A., Turbulent flows in highly elastic wormlike micelles, *Soft matter*, **2013**, *9(3)*, p. 735.

[82] Duffy D.C., McDonald J.C., Schueller O.J., Whitesides G.M., Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane), *Analytical chemistry*, **1998**, *70(23)*, p. 4974.

[83] Ginn B.T., Steinbock O., Polymer Surface Modification Using Microwave-Oven-Generated Plasma, *Langmuir*, **2003**, *19(19)*, p. 8117.

[84] Hu S., Ren X., Bachman M., Sims C.E., Li G.P., Allbritton N.L., Surface-directed, graft polymerization within microfluidic channels, *Analytical chemistry*, **2004**, *76(7)*, p. 1865.

[85] M.H. Schneider, B. Kozlov, H. Willaime, Y. Tran, F. Rezgui, and P. Tabeling, Wettability patterning in microfluidic systems by poly(acrylic acid) graft polymerisation, *μTAS*, **2010**.

[86] Jo B.-H., van Lerberghe L.M., Motsegood K.M., Beebe D.J., Three-dimensional micro-channel fabrication in polydimethylsiloxane (PDMS) elastomer, *J. Microelectromech. Syst.*, **2000**, *9(1)*, p. 76.

[87] IFP Energies nouvelles, *plug im!*, softare platform for data processing, **2018**.

[88] Gires P.-Y., Barthes-Biesel D., Leclerc E., Salsac A.-V., Transient behavior and relaxation of microcapsules with a cross-linked human serum albumin membrane, *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, **2016**, *58*, p. 2.

[89] Xi H.-D., Guo W., Leniart M., Chong Z.Z., Tan S.H., AC electric field induced droplet deformation in a microfluidic T-junction, *Lab on a chip*, **2016**, *16(16)*, p. 2982.

[90] Zografos K., Pimenta F., Alves M.A., Oliveira, M. S. N., Microfluidic converging/diverging channels optimised for homogeneous extensional deformation, *Biomicrofluidics*, **2016**, *10(4)*, p. 43508.

[91] Sarrazin F., *Microréacteurs diphasiques pour le développement rapide des procédés*, Institut National Polytechnique de Toulouse, **2006**.

[92] Bretherton F.P., The motion of long bubbles in tubes, *J. Fluid Mech.*, **1961**, *10(02)*, p. 166.

[93] Wang K., Zhang L., Zhang W., Luo G., Mass-Transfer-Controlled Dynamic Interfacial Tension in Microfluidic Emulsification Processes, *Langmuir the ACS journal of surfaces and colloids*, **2016**, *32(13)*, p. 3174.

[94] Sarrazin F., Loubière K., Prat L., Gourdon C., Bonometti T., Magnaudet J., Experimental and numerical study of droplets hydrodynamics in microchannels, *AIChE J.*, **2006**, *52(12)*, p. 4061.

[95] Hudson S.D., Poiseuille flow and drop circulation in microchannels, *Rheol Acta*, **2010**, *49(3)*, p. 237.

[96] Nadim A., Stone H.A., The Motion of Small Particles and Droplets in Quadratic Flows, *Studies in Applied Mathematics*, **1991**, *85(1)*, p. 53.

[97] Arratia P.E., Gollub J.P., Durian D.J., Polymeric filament thinning and breakup in microchannels, *Physical review. E, Statistical, nonlinear, and soft matter physics*, **2008**, *77(3 Pt 2)*, p. 36309.

[98] Chung C., Kim J.M., Hulsen M.A., Ahn K.H., Lee S.J., Effect of viscoelasticity on drop dynamics in 5:1:5 contraction/expansion microchannel flow, *Chemical Engineering Science*, **2009**, *64(22)*, p. 4515.

[99] Cai G., Xue L., Zhang H., Lin J., A Review on Micromixers, *Micromachines*, **2017**, *8(9)*, p. 274.

[100] Lee C.-Y., Wang W.-T., Liu C.-C., Fu L.-M., Passive mixers in microfluidic systems: A review, *Chemical Engineering Journal*, **2016**, *288*, p. 146.

[101] Lee C.-Y., Chang C.-L., Wang Y.-N., Fu L.-M., Microfluidic mixing: a review, *International journal of molecular sciences*, **2011**, *12(5)*, p. 3263.

[102] Wu Y., Ren Y., Tao Y., Hou L., Hu Q., Jiang H., A novel micromixer based on the alternating current-flow field effect transistor, *Lab on a chip*, **2016**, *17(1)*, p. 186.

[103] Chang M., Gabayno J.L.F., Ye R., Huang K.-W., Chang Y.-J., Mixing efficiency enhancing in micromixer by controlled magnetic stirring of Fe3O4 nanomaterial, *Microsyst Technol*, **2017**, *23(2)*, p. 457.

[104] van Phan H., Coşkun M.B., Şeşen M., Pandraud G., Neild A., Alan T., Vibrating membrane with discontinuities for rapid and efficient microfluidic mixing, *Lab on a chip*, **2015**, *15(21)*, p. 4206.

[105] Yang J., Qi L., Chen Y., Ma H., Design and Fabrication of a Three Dimensional Spiral Micromixer, *Chin. J. Chem.*, **2013**, *31(2)*, p. 209.

[106] Li J., Xia G., Li Y., Numerical and experimental analyses of planar asymmetric split-and-recombine micromixer with dislocation sub-channels, *J. Chem. Technol. Biotechnol.*, **2013**, *88(9)*, p. 1757.

[107] Hossain S., Ansari M.A., Kim K.-Y., Evaluation of the mixing performance of three passive micromixers, *Chemical Engineering Journal*, **2009**, *150(2-3)*, p. 492.

[108] Afzal A., Kim K.-Y., Passive split and recombination micromixer with convergent–divergent walls, *Chemical Engineering Journal*, **2012**, *203*, p. 182.

[109] Afzal A., Kim K.-Y., Convergent–divergent micromixer coupled with pulsatile flow, *Sensors and Actuators B: Chemical*, **2015**, *211*, p. 198.

[110] Chen X., Li T., A novel design for passive misscromixers based on topology optimization method, *Biomedical microdevices*, **2016**, *18(4)*, p. 57.

[111] Stroock A.D., Dertinger S.K.W., Ajdari A., Mezic I., Stone H.A., Whitesides G.M., Chaotic mixer for microchannels, *Science (New York, N.Y.)*, **2002**, *295(5555)*, p. 647.

[112] Ansari M.A., Kim K.-Y., Shape optimization of a micromixer with staggered herringbone groove, *Chemical Engineering Science*, **2007**, *62(23)*, p. 6687.

[113] Kwak T.J., Nam Y.G., Najera M.A., Lee S.W., Strickler J.R., Chang W.-J., Convex Grooves in Staggered Herringbone Mixer Improve Mixing Efficiency of Laminar Flow in Microchannel, *PloS one*, **2016**, *11(11)*, e0166068.

[114] Petitjeans P., Maxworthy T., Miscible displacements in capillary tubes. Part 1. Experiments, *J. Fluid Mech.*, **1996**, *326(-1)*, p. 37.

[115] Microfactory, https://www.microfactory.eu.

[116] Lee D., Fang C., Ravan A.S., Fuller G.G., Shen A.Q., Temperature controlled tensiometry using droplet microfluidics, *Lab on a chip*, **2017**, *17(4)*, p. 717.

Table des Figures

Figure 1 Géométrie jonction T 13
Figure 2 Géométrie co-courant 13
Figure 3 Géométrie flow-focusing 13
Figure 4 Schémas des différents modes de formation de gouttes en géométrie co-courant 14
Figure 5 Schéma de principe du dispositif optique du FADS [30] 16
Figure 6 Technique de tri par diélectrophorèse [36] 17
Figure 7 Coalescence de gouttes par voie hydrodynamique passive [43] 18
Figure 8 Fractionnement symétrique et successif de gouttes [44] 19
Figure 9 Gouttes coincées dans des micro-emplacements [45] 19
Figure 10 Schéma d'une approche microfluidique en gouttes permettant le suivi cinétique d'une réaction enzymatique [47] 20
Figure 11 Schéma d'un criblage haut-débit de souches de levures pour leur sécrétion enzymatique améliorée [48] 21
Figure 12 Mouvement de cisaillement entre deux surfaces planes 22
Figure 13 Rhéogramme des différents comportements 24
Figure 14 Contraintes se développant dans un écoulement 26
Figure 15 Géométrie à cylindres coaxiaux 27
Figure 16 Géométrie cône-plan 28
Figure 17 Schéma du RheoSense VROC [51] 30
Figure 18 Microviscosimètre par mesure de tension de surface [55] 31
Figure 19 Schéma de principe du FLUIDICAM^{RHEO} 32
Figure 20 Electrodes d'un viscosimètre par électromouillage 33
Figure 21 Schéma d'un viscosimètre à micropoutre vibrante [63] 34
Figure 22 Microviscosimètre par mesure de diffusion [65] 35
Figure 23 Viscosimètre à goutte confinée dans un restriction étroite [66] 35
Figure 24 Viscosimètre à goutte avec une jonction T [67] 36
Figure 25 Gouttes déformées en entrée et en sortie de la restriction [68] 39
Figure 26 a) Photo du microsystème en NOA utilisé par Brosseau et al. [69]. b) Représentation schématique du système. Les gouttes d'eau dans l'huile fluorée sont formées au niveau d'une géométrie flow-focusing puis espacées à l'aide d'un canal dilueur et déformées dans une série de 121 chambres d'expansion. La barre d'échelle blanche correspond à une longueur de 100 µm. 39
Figure 27 Résultats obtenus par Brosseau et al. pour établir leur loi de corrélation 40
Figure 28 Synthèse des résultats obtenus par Park et Dimitrakopoulos pour la déformation d'une goutte dans une restriction microfluidique 43
Figure 29 Polyacrylamide partiellement hydrolysé 46
Figure 30 Viscosités à 20°C des différents mélanges eau-glycérol étudiés 47
Figure 31 Viscosités à 20°C des différents solutions aqueuses de poly éthylène glycol étudiées 47
Figure 32 Viscosités à 20°C des différentes huiles silicones étudiées 48
Figure 33 Viscosités à 20°C de l'huile fluorée et des différents mélanges eau/EtOH utilisés 48
Figure 34 Courbe d'écoulement en viscosité du FLOPAAM 3230 obtenue en géométrie cône-plan pour différentes concentrations 49

Figure 35 Courbe d'écoulement en viscosité du FLOPAAM 3630 obtenue en géométrie cône-plan pour différentes concentrations 50
Figure 36 Courbe d'évolution de la contrainte normale en fonction de la vitesse de ciasaillement dans le cas du FLOPAAM 3230 à différentes concentrations 51
Figure 37 Courbe d'évolution de la contrainte normale en fonction de la vitesse de ciasaillement dans le cas du FLOPAAM 3630 à différentes concentrations 52
Figure 38 Schéma de principe de la mesure de la tension interfaciale par la méthode de la goutte pendante 52
Figure 39 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 500 cSt et des mélanges eau-glycérol à différentes concentrations 55
Figure 40 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile Fluorinert FC-70 et des mélanges eau-éthanol à différentes concentrations 56
Figure 41 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 20 cSt et des solutions aqueuses de polyéthylène glycol à différentes concentrations..... 56
Figure 42 Méthode de la lame de Wilhelmy 57
Figure 43 Courbes de tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante entre l'huile silicone 20 cSt et deux solutions de FLOPAAM 57
Figure 44 (à gauche) Réalisation d'un moule en résine SU8 par lithographie. 59
Figure 45 Interface du logiciel d'analyse d'images plug im ! 62
Figure 46 Exemple d'évolution de la déformation d'une goutte en fonction de sa position dans le canal 63
Figure 47 Evolution de la déformation d'une goutte de FLOPAAM 3230 1000 ppm en fonction de sa position dans le canal. $Dmax, exp$ est la valeur de déformation maximale obtenue grâce à l'ajustement et $Dmax, brut$ la valeur de déformation la plus élevée des données brutes. 64
Figure 48 Exemple d'évolution de la vitesse d'une goutte en fonction de sa position dans le canal... 65
Figure 49 Exemple d'évolution de la déformation d'une goutte en fonction du temps. Insert : Méthode de calcul de la valeur du temps de relaxation 66
Figure 50 Exemple d'évolution du taux d'extension en fonction du temps. Insert : Méthode de calcul de la valeur du temps de convection. 67
Figure 51 Géométrie typique des puces microfluidiques utilisées – a) zone de production des gouttes – b) zone d'accélération des gouttes – c) zone de déconfinement des gouttes – d) zone de déformation des gouttes. Le trait blanc correspond à 200 µm. 70
Figure 52 Dimensions des chambres des différentes géométries des microsystèmes utilisés 71
Figure 53 Temps de relaxation expérimental en fonction du temps capillaire pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes B et C. Insert : Elargissement sur les points obtenus dans le microsystème A. 74
Figure 54 Temps de relaxation expérimental en fonction du temps de convection pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes B et C. Insert : Elargissement sur les points obtenus dans le microsystème A. 75
Figure 55 Evolution du temps de relaxation expérimental en fonction du rapport W_1/U_{Dmax} pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans les microsystèmes A, B et C 76
Figure 56 Temps de relaxation obtenu dans le cas du DTAB (en rouge) positionné sur la courbe maitresse $\tau = 34W1UDmax$ 77

Figure 57 Evolution de la déformation maximale Dmax en fonction du nombre capillaire Ca pour un rayon de goutte fixé $ao = 74\ \pm 7\%$. La phase dispersée est un mélange eau-éthanol, la phase continue l'huile fluorée FC-70. Les différentes couleurs correspondent aux différentes tensions interfaciales : bleu $\gamma = 50.8\ mN/m$; vert $\gamma = 33.3\ mN/m$; rouge $\gamma = 24.1\ mN/m$. Les nombres indiqués correspondent à l'exposant associé au nombre capillaire 78
Figure 58 Ajustement de la déformation maximale Dmax obtenue pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B sur la courbe maîtresse $Dmax = 0.7Ca0.6R * 2.5\lambda - 0.1$..... 80
Figure 59 Evolution de $Dmax0{,}7Ca0{,}6R * 2{,}5$ en fonction de λ pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B 81
Figure 60 Déformation maximale en fonction du nombre capillaire pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème C..... 82
Figure 61 Ajustement de la déformation maximale Dmax obtenue pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème C sur la courbe maîtresse $Dmax = 1.6CaR * \lambda - 0.1$ 82
Figure 62 Exemple d'ajustement réalisé sur les points dans la chambre (limite : ligne rouge) selon l'équation $y = p1 + p2x + p3e - xp4$..... 84
Figure 63 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec le couple huile silicone 20 cSt / mélange glycérol-eau 60 %m + 1,7 %m DTAB dans le microsystème C (en rouge) sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR * \lambda - 0.1$(en bleu). Insert : Déformation maximale de la goutte en fonction du nombre capillaire 86
Figure 64 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec le couple mélange glycérol-eau 75%m (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C (en rouge) sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR * \lambda - 0.1$(en bleu). 87
Figure 65 Polyéthylène glycol (PEG)..... 89
Figure 66 Positionnement des points obtenus pour l'essai réalisé avec les couples solutions aqueuses de PEG (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C sur la courbe maîtresse d'équation $Dmax = 1.6CaR * \lambda - 0.1.$ 90
Figure 67 Mesure de la viscosité de la phase dispersée à partir de la mesure de la déformation maximale en fonction de la valeur obtenue au rhéomètre pour les essais réalisés avec les solutions aqueuses de PEG à différentes concentrations..... 91
Figure 68 Positionnement des valeurs de temps de relaxation obtenues pour les essais réalisés avec les couples solutions aqueuses de PEG (phase dispersée) / huile silicone 20 cSt (phase continue) dans le microsystème C sur la courbe maîtresse d'équation $\tau = 34W1UDmax$ 92
Figure 69 Schéma du profil de vitesse d'un écoulement de Poiseuille entre deux plaques parallèles 93
Figure 70 Schéma de la géométrie..... 97
Figure 71 Profil de vitesse moyen des recirculations internes au niveau de l'équateur dans le référentiel de la goutte 97
Figure 72 Images à différents temps de la production de gouttes de FLOPAAM 3630 1000 ppm dans de l'huile silicone 20 cSt au niveau du flow-focusing. Les barres verticales représentent la position du relevé de l'épaisseur du filament. 99
Figure 73 Evolution de l'épaisseur h du filament rapportée à la largeur du canal w en fonction du temps..... 99

Figure 74 Déformation maximale calculée en prenant en compte la valeur du taux de cisaillement dans la goutte en fonction de la déformation maximale expérimentale pour les essais réalisés avec le FLOPAAM 3230 et 3630 à 1000 ppm 101
Figure 75 Positionnement des valeurs de temps de relaxation obtenues pour les essais réalisés avec le FLOPAAM 3230 et 3630 sur la corrélation d'équation $\tau = 34W1UDmax$ 101
Figure 76 Evolution de la distance pour obtenir un mélange à 90 % en fonction du logarithme du nombre de Péclet [111] 105
Figure 77 Géométrie du microsystème avec mélangeur (A et B sont les arrivées des deux mélanges glycérol-eau). Le trait blanc correspond à 1 mm. 107
Figure 78 a) Schéma de 1 cycle de 2 fois 6 chevrons b) Schéma de chevrons positifs 107
Figure 79 Schéma et dimensions de la zone de déformation de goutte pour le système microfluidique comportant une zone de mélange 108
Figure 80 Mesure de la viscosité de la phase dispersée à partir de la mesure de la déformation maximale en fonction de la valeur obtenue théoriquement à partir des ratios de débits pour les essais réalisés dans le microsystème avec zone de mélange 109

Table des Tableaux

Tableau 1 Paramètres de la loi de puissance ajustant les courbes d'écoulement du FLOPAAM 3230 50
Tableau 2 Paramètres de la loi de puissance ajustant les courbes d'écoulement du FLOPAAM 3630 51
Tableau 3 Tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante à 23 ± 2 °C entre les huiles silicones et les mélanges eau-glycérol étudiés. Les concentrations sont données en pourcentages massiques et les tensions interfaciales en mN/m. 54
Tableau 4 Tensions interfaciales mesurées à la goutte pendante à 23 ± 2 °C entre les différentes huiles et les mélanges aqueux étudiés. Les concentrations sont données en pourcentages massiques et les tensions interfaciales en mN/m. 55
Tableau 5 Viscosités des différents systèmes étudiés dans le microsystème A. La phase dispersée est un mélange glycérol-eau, la phase continue, un mélange d'huiles silicones 71
Tableau 6 Viscosités des différents systèmes étudiés dans les microsystèmes B et C. La phase dispersée est un mélange d'huiles silicones, la phase continue, un mélange glycérol-eau. 72
Tableau 7 Gamme de variation du rayon et de la vitesse à la déformation maximale des gouttes dans les différents microsystèmes étudiés 72
Tableau 8 Viscosités et exposants obtenus lors de l'ajustement des valeurs de déformations maximales suivant l'équation $Dmax = kCaaR * b\lambda c$ pour tous les essais réalisés avec les couples mélanges d'huiles silicones / mélanges glycérol-eau dans le microsystème B 79
Tableau 9 Propriétés physico-chimiques et concentrations des solutions aqueuses de PEG utilisées 89
Tableau 10 Valeurs des nombres capillaires utilisées 91
Tableau 11 Carcatéristiques du mélangeur à chevrons utilisé par Stroock et al. [111] 105
Tableau 12 Caractéristiques de la zone de mélange du microsystème 108
Tableau 13 Ratios de débits utilisés dans le microsystème avec mélangeur et viscosités correspondantes 109

Annexes

Encapsulated Germination Method to control *Aspergillus oryzae* morphology in submerged fermentation

Drougard Marion*, André Estelle*, Jourdier Etienne, Ben Chaabane Fadhel

IFP Energies nouvelles, 1-4 Avenue de Bois-Préau 92852 Rueil Malmaison, France

*contributed equally

Corresponding author: *etienne.jourdier@ifpen.fr*, 0147525266

Abstract

Pellet formation in fungal submerged fermentation leads to difficulties in their implementation and can decrease their productivity. The morphogenesis of aggregating species is poorly understood, mainly based on a single theory sorting them into two groups, depending on whether aggregation occurs between conidia or between hyphae. To prevent aggregation between conidia, we developed a pioneering strategy based on microfluidics to separate conidia in a water-in-oil emulsion for the duration of their germination. By this way, growth is achieved without any possible physical interaction between conidia. This Encapsulated Germination Method (EGM) was applied to three aggregating *Aspergillus* strains: *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus terreus* showed behaviors in agreement with their classification, but not *Aspergillus niger*, which suggests a more complex aggregation mechanism. Applied to *A. oryzae*, EGM strategy resulted in a morphological change from pellets to freely dispersed mycelium. This dispersed morphology is preserved during transfers under some defined conditions, offering the perspective of an industrial application.

Key words: *Aspergillus oryzae*, Submerged fermentation, Filamentous fungi morphologies, microfluidics, coagulation and non-coagulation theory, Encapsulated Germination Method (EGM)

Introduction

Filamentous fungi fermentations are widely used to produce commercial metabolites such as organic acids, enzymes or antibiotics. Among the micro-organisms with strong industrial interest, *Aspergillus oryzae* is used for example as a host to produce several recombinant enzymes for the biofuel industry (e.g. cellulases, amylases) (Spohr *et al.* 1998) but also for the chemical and food industries (e.g. asparaginase, glutaminase) (Hendriksen *et al.* 2009; Koibuchi *et al.* 2000). Several recent publications have also shown its potential for the production of C4 dicarboxylic acids (e.g. malate, fumarate,

succinate) (Brown *et al.* 2013; Ochsenreither *et al.* 2014). Most of these processes are operated in submerged fermentation, generating different distinct fungal morphologies, mainly dependent on species and physicochemical conditions within their environment (Grimm *et al.* 2005; Wucherpfennig *et al.* 2010; Žnidaršič and Pavko 2001).

Morphology comprehension

Filamentous fungi growth begins with conidia germination in suitable environment conditions resulting in the formation of a germ tube which extends in filaments called hyphae in a polarized way. When hyphae exceed a certain length, branches are formed along the hyphae resulting in a network called mycelium. Two extreme forms of this mycelium in submerged culture are classically distinguished: freely dispersed hyphae leading in a fluid broth or macroscopic aggregated hyphae which can be shared into two secondary types : several spherical and compact aggregates called pellets or loose irregular hyphal aggregates called clumps (Paul and Thomas 1998). Originally, two different mechanisms were proposed to explain processes involved in pellet formation (Takahashi and Yamada 1959): when aggregation appears at early stages, before and during conidia germination, pellet formation is called "coagulative" (**Fig 1**-1), as for *Aspergillus oryzae*, *Aspergillus niger* or *Aspergillus nidulans* for example, while "non-coagulative" pellet formation refers to a later aggregation between hyphae originating from one (**Fig 1**-2-a) or several conidia (**Fig 1**-2-b), as for *Aspergillus terreus*, *Penicillium chrysogenum or Rhizopus oryzae* for example (Žnidaršič and Pavko 2001). These mechanisms remain poorly studied while they are at the origin of filamentous fungi morphology.

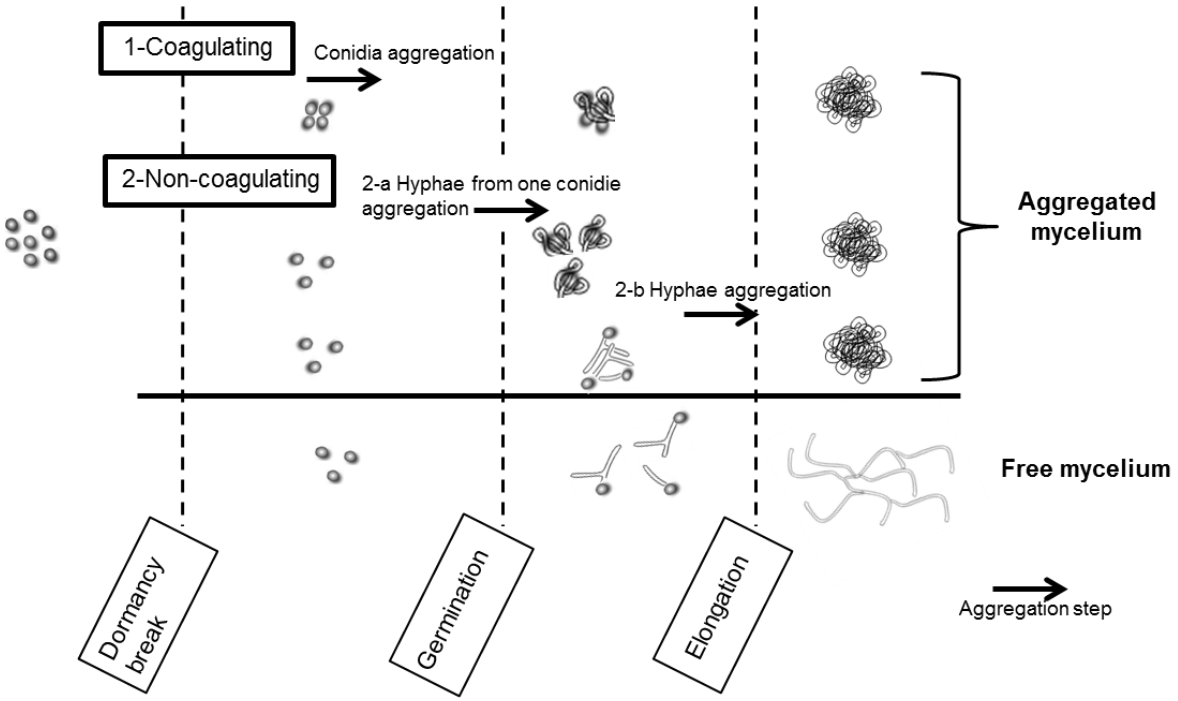


Fig. 1 Coagulating (1) and non-coagulating (2-a-b) theories of fungal pellet formation, based on apparition of aggregation step, before or after conidia germination

Morphology impact on bioprocess and production

Pellet morphology generally leads to a lower viscosity of the broth compared to free mycelium, the energy required to mix the broth medium is then lowered which can be an advantage for an industrial process. But on the other hand, metabolite production by some fungi is reduced when growing as pellets (Schuster *et al.* 2002; Rhodes *et al.* 1962). In dense pellets, core cells do not have access to the nutrients from the broth because of diffusional limitations through the pellet, resulting in stressed or inactive biomass not taking part in production. Cronenberg *et al.* found that only the outer layer (100 to 200 µm) of *Penicillium chrysogenum* pellets consumed glucose (Cronenberg *et al.* 1994), while only the peripheral hyphae in A*spergillus niger* pellets took up labeled phosphorus, and there was no subsequent translocation into the pellet core (Yanagita and Kogané 1963). Dispersed mycelium generally increases broth viscosity but allows to maximize the specific productivity of the microorganisms with an homogeneous transfer of nutrients within the mycelium (Krull *et al.* 2013). Controlling the morphology of aggregating filamentous fungi to ensure achieving free mycelia would be a significant advantage for several metabolites production processes, to improve specific productivity, to facilitate transfers between bioreactors, and to ensure reproducible cultures during propagation. For example, dispersed mycelial suspensions of *Aspergillus niger* appear to produce higher citric acid (Paul *et al.* 1999) and amylase yields than the pelleted form, similar results have been reported for fumaric acid production by several species of *Rhizopus* genus or penicillin production by *Penicillium chrysogenum* (Gibbs *et al.* 2000).

Morphology controls

Traditionally, fungal morphology can be often controlled by well-defined environmental conditions. Most studies focused on variations in the growth environment, modifying important operating parameters such as broth medium composition, inoculum concentration, pH set point, temperature, dissolved oxygen concentration and mechanical stress (Krull *et al.* 2013). A new sophisticated technique for controlling fungal morphology is the addition of microparticles within growth medium (Gonciarz and Bizukojc 2014; Driouch *et al.* 2010; Walisko *et al.* 2012; Driouch *et al.* 2014). These studies show interesting morphological transitions for one *A. niger* species but managing microparticles at industrial scale may be challenging.

In recent years, microfluidics has triggered important advances with the opportunity to carefully control geometries, flows, and chemical gradients, but also to screen millions of objects in a high-throughput way (Mashaghi *et al.* 2016). Single bacterial or mammalian cells can be compartmentalized in droplets, allowing screening of enzymes expressed intracellularly or secreted from cells (Clausell-Tormos *et al.* 2008). Larger drops have also been used to grow yeast cells to screen for extracellular metabolite production or consumption (Najah *et al.* 2014). (Beneyton *et al.* 2016)described in 2016 the use of

microfluidics for the encapsulation of filamentous fungus *A. niger* conidia for high throughput screening of a mutant strain library.

In this work, a physical conidia separation from three species of *Aspergillus* genus before and during germination is proposed by a microfluidic tool to prevent pellet formation in coagulating species. An emulsion of growth medium droplets dispersed in an organic continuous phase allows the individual encapsulation of fungal conidia. Conidia inside droplets are physically separated during their germination, recovered when germinated and then transferred to a classic growth medium which does not require any modification. The purpose of this study is to compare this Encapsulated Germination Method (EGM) strategy using three typical fungi, *Aspergillus oryzae* and *Aspergillus niger* described as coagulating species and *Aspergillus terreus* as a non-coagulating species. To our knowledge, there are no studies relative to the control of filamentous fungi aggregated morphology by using droplet-based microfluidics techniques.

Material & Methods

Strains and media

Aspergillus oryzae NRRL 3488, and *Aspergillus terreus* NRRL 1960 were obtained from Agricultural Research Service Collection, at the National Center for Agricultural Utilization Research in Peoria, Illinois USA. *Aspergillus niger* ATCC 1015 was obtained from the American Type Culture Collection in Virginia, USA. The strains were first rehydrated following supplier recommendations and then cultured on potato dextrose agar plates for several days at 24°C until conidiation. Conidia were recovered with a 25% glycerol solution, filtered through sterile rockwool in order to avoid possible presence of mycelium and then aliquoted in banks kept at -80°C.

Submerged cultures in 250 mL Erlenmeyer flasks were performed using 50 mL YPDP medium: Potatoes dextrose (BD) 24 g/L, Yeast Extract (Merck) 5 g/L and Bacto Peptone (BD) 5 g/L.

Microfluidic experimental device

Dispersed phase

The aqueous phase is composed of 15 ml of YPDP medium half diluted (pH : 6.1 ± 0.1, glucose : 10 g/L) and inoculated with fungal conidia from the filtered bank at a concentration of (5.0 ± 0.3) 10^5 conidia/mL, then transferred in a glass syringe. A magnetic stirring device is used to prevent conidia sedimentation inside the syringe during encapsulation.

Continuous phase

The oily phase is composed of a fluorinated oil (FC3283, 3M) with a perfluoropolyether-derived surfactant (PFPE surfactant) chosen among two available PFPE surfactants. One is the ammonium salt

of carboxy PFPE synthetized by reacting Krytox (157FS(H), Dupont) with NH_4OH. The other one is the PFPE-polyethylene glycol (PFPE-PEG) which is a triblock copolymer and available commercially as Pico-Surf™ 1 (5 % in FC-40, Dolomite Microfluidics).

Microfabrication

Microfluidic devices are produced using standard photolithography techniques using photomasks (Photext). In brief, a negative mold of the structure is prepared by photolithography of SU8-2100 on a silicon wafer. Polydimethylsiloxane (PDMS, RTV 615, Momentive) is poured over the mold, cured in an oven for at least 2h at 65 °C and peeled off the mold. The holes for the tubing connection are punched with a biopsy needle. To seal the device, glass-PDMS surfaces are oxidized using air plasma. The resulting device is treated with a solution of octadecyltrichlorosilane (OTS) in hexadecane to render the channel walls hydrophobic.

Chip design

The microfluidic channel geometry is designed using the layout editor CleWin with two inlets, one for the oil phase and the other one for the aqueous phase and one outlet (**Fig 2**). Droplets are produced at a standard flow focusing junction. A chamber is designed before the outlet of the device for droplets observation. The channels are 120 µm wide. The width of this chamber is three times greater than the width of the inlet channels. The height of the channels is 120 µm.

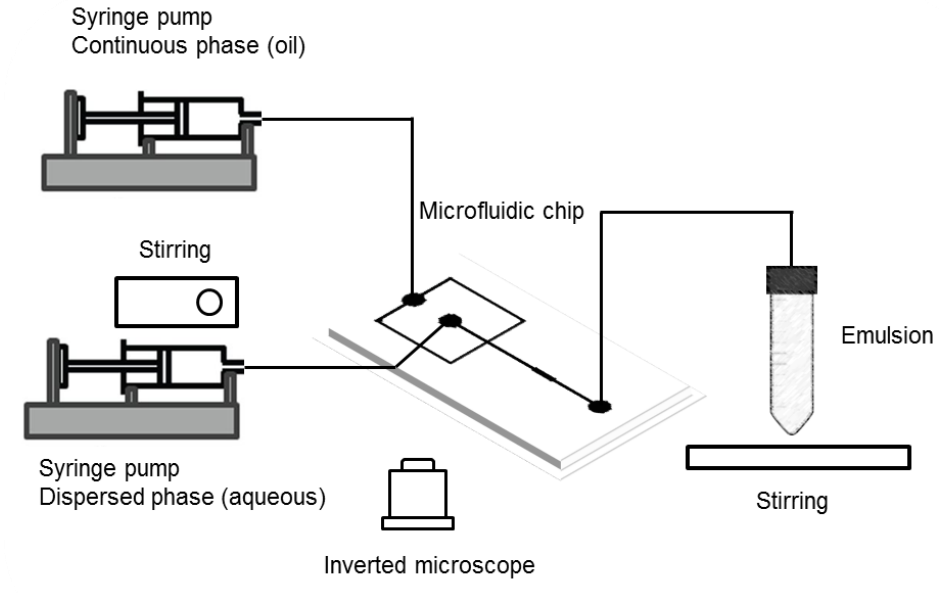


Fig 2 Microfluidic test bench. Continuous phase and dispersed phase are injected with syringe pumps into the microfluidic chip where emulsion is created. An inverted microscope allows encapsulation observation with one conidium per droplet. Emulsion is recovered in Falcon tube under stirring for germination

Microfluidics

The fluids were injected from glass syringes (SGE, 10 and 25 mL) using syringe pumps (Harvard apparatus) to control the flow rates inside the microfluidic chip. Syringe and the microfluidic chip were connected via PEEK tubing of outer diameter 750 µm. The chip was connected to a Falcon tube via a FEP tubing of outer diameter 1/16".

High-speed microscopy

The microfluidic chip was mounted on an inverted microscope (Axio Observer Mat, Zeiss) and imaged using a x20 microscope objective. The microscope was equipped with a high-speed camera (i-SPEED LT, Olympus) allowing real time visualization and recording at a frame rate of 2000 pictures per second.

Analytical methods

Glucose analysis

Glucose concentration during submerged cultures was analyzed by high performance liquid chromatography (HPLC). Samples were centrifuged and supernatants were filtered (0,2 µm) and diluted 10 times with water. The separation was carried out by a Metacarb 87P column (Varian) under 80 °C in a water mobile phase (0,4 ml/min, 32 bar). Signals were detected by a Waters 2414 refractometer.

Biomass

Cell biomass was collected at the end of the cultures by filtering the entire broth with 1,2 µm glass microfiber filter (VWR), washed and then dried overnight at 105 °C to measure the solid dry weight.

Morphology characterization

The different morphologies were captured by scanning the bottom of Erlenmeyer flasks with a scanner (HP Scanjet 62710) and confirmed by sample analysis under a binocular microscope (Leica S8APO) equipped with a camera (Leica MC170 HD and software LAS V4.9). Pellets diameter have been determined by ImageJ software.

Results

Classic inoculation

Aspergillus oryzae, Aspergillus niger and *Aspergillus terreus* present aggregated morphologies when cultured in liquid conventional growth medium, with direct conidia inoculation, as shown in **Fig 3**a and b, *A.oryzae* and *A.terreus* form regular pellets, with respective diameter of 3.7 ± 0.8 mm and 1.7 ± 0.2 mm. *A.niger* forms a large aggregate (**Fig 3**c).

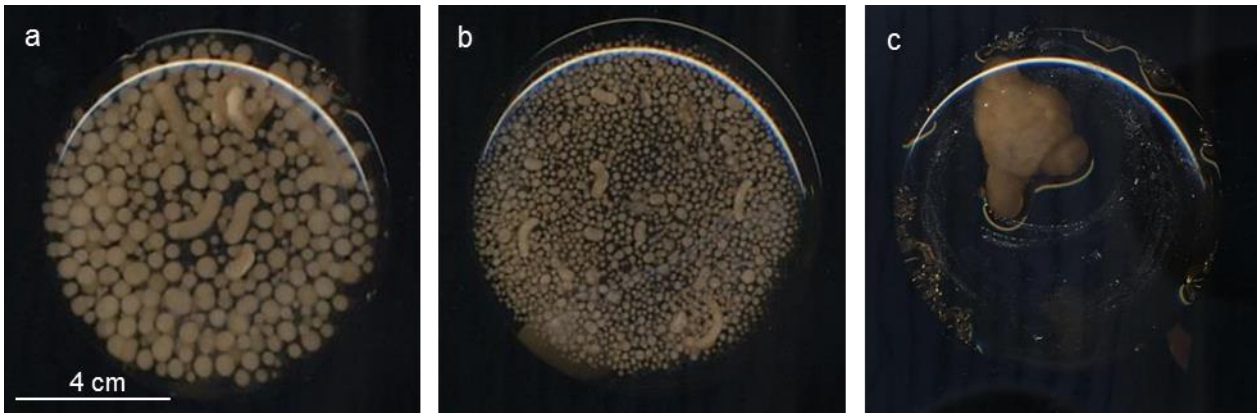


Fig 3 Morphologies of *A.oryzae* (a), *A.terreus* (b) and *A.niger* (c) in YPDP liquid medium with direct conidia inoculation after 48h growth at 24°C, 175 rpm (Scan of Erlenmeyer bottom)

To highlight the stage of aggregation in the development of these species, we then developed a microfluidic method to isolate conidia before and during their germination.

Development of Encapsulated Germination Method

Goal

The main challenge of EGM was to obtain an emulsion stable enough to maintain conidia separated during germination without droplets coalescence but easily destabilized after germination time. In addition, the emulsion must contain one conidium per droplet on average, to avoid any coagulation between them.

Material choice

We chose a fluorinated oil as the continuous phase. Fluorinated oils are hydrophobic and lipophobic. Hence, the exchange of molecules between the oil and aqueous phases is reduced. Moreover, they are inert and constitute the only case for which cell proliferation with long-term incubation of organisms has been demonstrated (Clausell-Tormos *et al.* 2008). In this case, gas exchange was indeed crucial and perfluorocarbon has already proved to enhance oxygen transfer (Ju *et al.* 1991). PFPE fluorinated surfactants has been shown to produce monodispersed and stable water-in-oil droplets in microfluidic devices (Holtze *et al.* 2008). We chose to study two fluorinated surfactants, Pico-Surf™ 1 and the carboxylic terminated PFPE derived from Krytox, as candidates for growth of microorganisms. Carboxylic terminated PFPE has questionable biocompatibility properties because of its polar carboxylic head. Its use resulted in a perturbed morphology for all strains tested (data not shown). Only Pico-Surf™ 1 showed biocompatibility properties.

Encapsulation

PicoSurf™ 1 was tested at 1.8 g/L, concentration equal to the CMC (Critical Micelle Concentration), and 2.5 g/L both leading droplets coagulation during encapsulation. 3 g/L was therefore the minimum

concentration allowing an optimal encapsulation and stable emulsion. The phases flow rates have been adjusted to obtain on average 1 conidium per droplet and a droplet size adapted to the final size of germinated tubes. Aqueous phase containing conidia was injected at 3 mL/h and oil phase at 8 mL/h. Microscopic observation of each encapsulation confirmed the presence of 1 conidium per drop in average and a droplet size of 145 ± 5 µm diameter and 2 nL volume. In these conditions, three hours are sufficient to obtain 10 mL of emulsion with 4.5 million encapsulated conidia and 20 mL of residual oil.

Germination

The outflow of the microsystem was collected in a 50 mL Falcon tube under 80 rpm stirring, to prevent an overstabilization of the emulsion. After 16 hours under stirring, we observed that conidia were well maintained within the drops and that germinated tubes appeared (**Fig 4**).

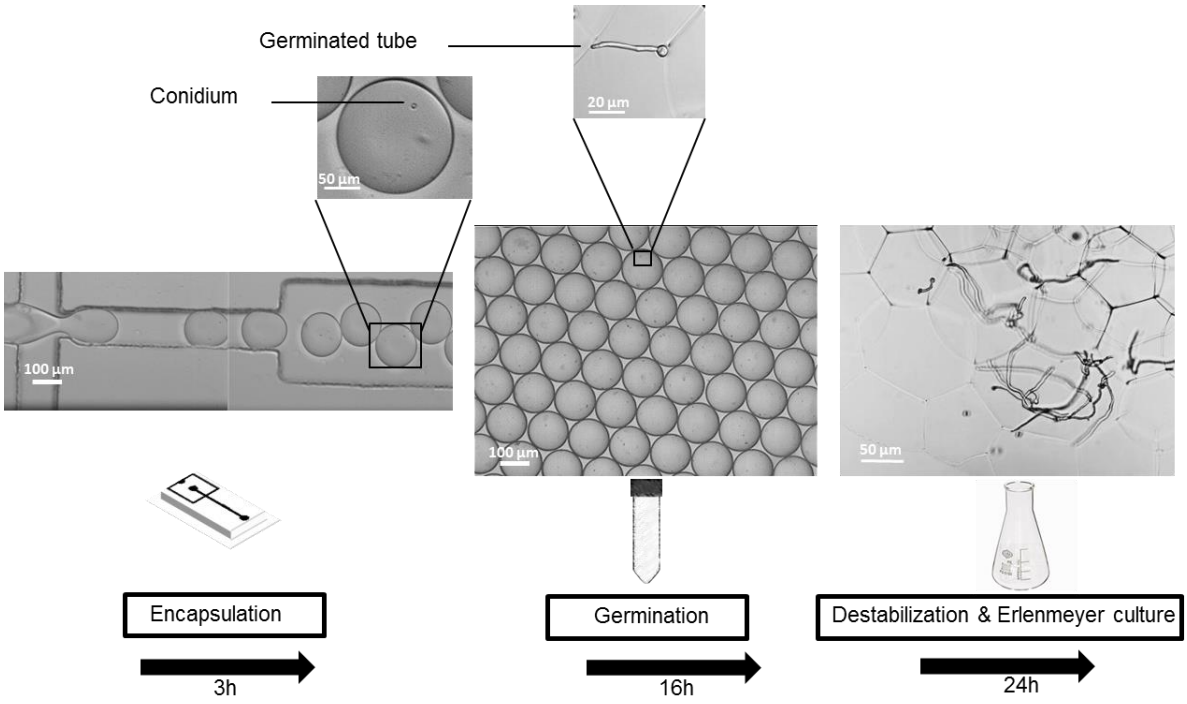


Fig 4 Principle of the Encapsulated Germination Method (EGM). Encapsulation of conidia is performed during 3h with a microsystem. One conidium per droplet is maintained within emulsion in Falcon tube during 16h until germinated tubes appear. After destabilization, the aqueous phase with young hyphae is transferred for culture in Erlenmeyer

Destabilization and culture

When germinating tubes appeared, the emulsion was destabilized to recover the aqueous phase. Centrifugation was tested as a destabilization method but was not effective for phases separation without altering the dispersion of the conidia. By several rinsing of the emulsion with virgin fluoridated oil (without surfactant), Picosurf^{TM} 1 concentration decreased below the CMC, which resulted in the destabilization of the emulsion, leading to two separated phases. Finally, 10 mL of the recovered

aqueous phase containing germinated tubes could be easily transferred into a 250 mL Erlenmeyer flask containing 40 mL of YPDP medium. The growth was set during 24h at 24°C and 175 rpm.

Applications

For each fungus, we prepared a conidia encapsulation using our microfluidic experimental device (see Methods and above), and two controls to assess the impact of the conditions of germination in Falcon tube:

- control A comprising 10 ml of YPDP medium (half diluted), inoculated at 5.10^5 conidia/mL and placed in a Falcon tube following same conditions of stirring as the emulsion tube;
- control B, identical to control A, supplemented with 20 mL of oily phase.

Aqueous phase resulting from the destabilized emulsion and containing the germinated tubes (10 mL) was then transferred into an Erlenmeyer flask with 40 mL of YPDP medium. In the same way, the aqueous phases of the two controls were also transferred into two Erlenmeyer flasks containing 40 mL of YPDP medium.

Aspergillus oryzae

Pellets formed by *Aspergillus oryzae* (**Fig 3**a) theoretically arise from conidia aggregation before or during germination (coagulating type of aggregation). After 24 hours of growth, we indeed observed very different morphologies depending on the germination method we used. Without conidia encapsulation (control A and control B) growth resulted in mycelium aggregated in dense pellets with respective diameter 3,2 ± 0.8 and 2.3 ± 0.3 mm (**Fig 5Fig** a and b respectively). With physical isolation of the conidia during their germination using our microfluidic device, growth resulted in a fluid culture with freely dispersed mycelium of slimy aspect (**Fig 5**c).

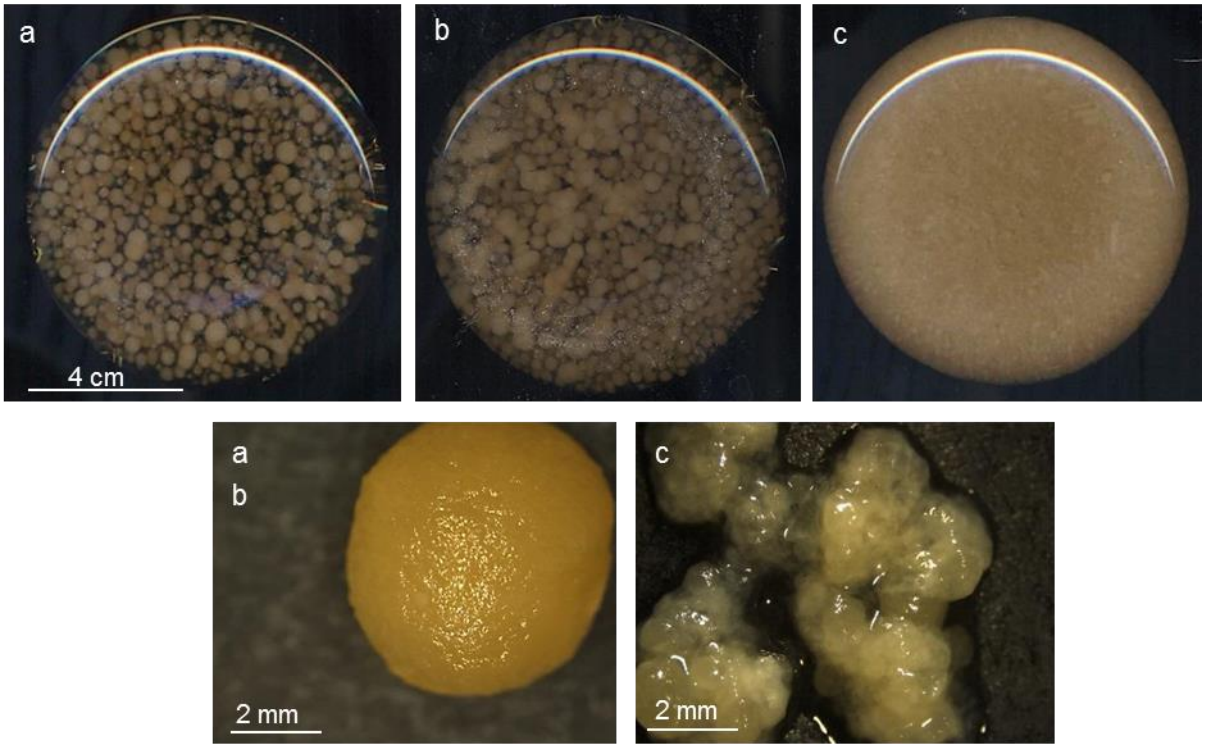


Fig 5 24h submerged cultures of *Aspergillus oryzae:* controls A and B (a, b) present aggregated morphologies while Encapsulated Germination Method (c) resulted in a fluid mycelium (Scan of Erlenmeyer bottom)

Aspergillus terreus

When cultured in a liquid broth medium, *Aspergillus terreus* presents an aggregated morphology as well (**Fig 3**b) but theoretically formed this time by a non-coagulant mechanism, with aggregation between mycelia. Using our microfluidic device, we did not observe any morphological change after encapsulated germination compared to the controls, with aggregation in pellets in the three cases (**Fig 6**). However, pellet diameter was slightly lower, 2.0 ± 0.2 mm for control cultures (**Fig 6**a and b) versus 1.2 ± 0.1 mm for the culture after encapsulated germination (**Fig 6**c).

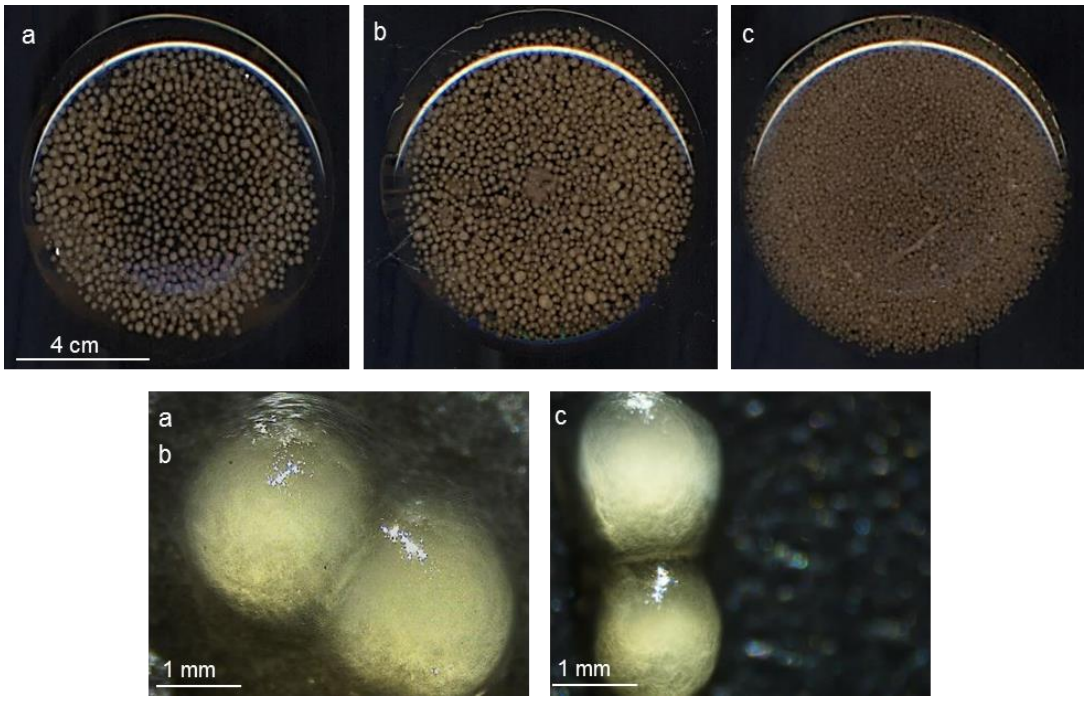


Fig 6 24h submerged cultures of *Aspergillus terreus:* controls A and B (a, b) and encapsulation (c) present aggregated morphologies (Scan of Erlenmeyer bottom)

Aspergillus niger

A.niger is also described as a coagulating strain, exactly as *A. oryzae*. In our conditions, its mycelium aggregation is in the form of large irregular aggregate (**Fig 3**c), which is a different kind of aggregated morphology compared to regular pellets observed for the two other studied strains. During our encapsulation experiment, we observed the same kind of large aggregated mycelium, both for controls (**Fig 7**a and b) and for the encapsulated germination culture (**Fig 7**c). As for *A. terreus*, using our microfluidic device did not impact the final morphology of *A. niger*.

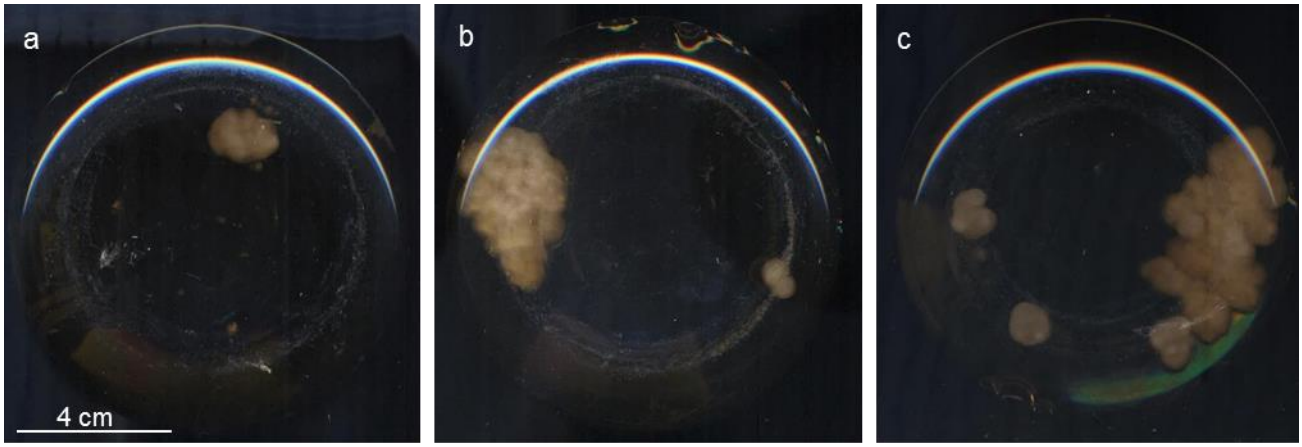


Fig 7 24h submerged cultures of *Aspergillus niger*: controls A and B (a, b) and encapsulation (c) present aggregated morphologies (Scan of Erlenmeyer bottom)

Investigations of *A.oryzae* culture parameters

The *A.oryzae* studied strain responding favorably to EGM with a dispersed morphology, additional investigations were conducted in order to show potential further applications and advantages of a fluid morphology.

Metabolism

Encapsulated germination method was performed a second time with reproducible results. Glucose concentration and final biomass concentration were measured during the cultures in Erlenmeyer flasks. The final biomass concentrations after glucose exhaustion were similar in the 3 conditions (from 13.5 to 14.3 ± 0.7 g/L) but glucose consumption was slightly faster in the case of encapsulated germination (**Fig 8**).

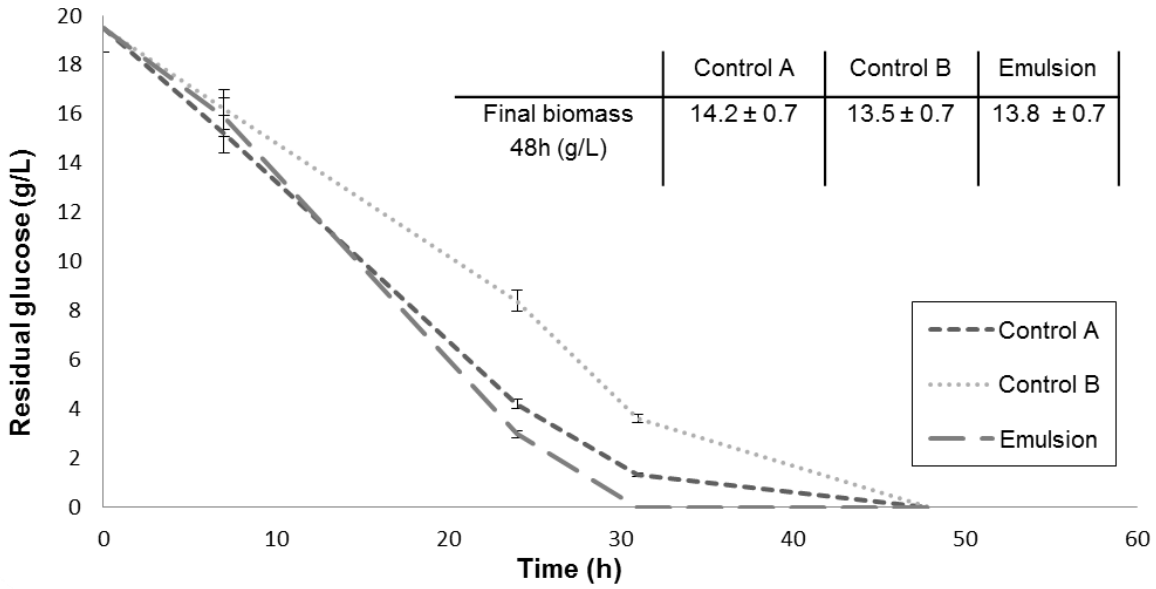


Fig 8 Residual glucose and final biomass concentrations measurement of *A. oryzae* Erlenmeyer cultures with (emulsion) or without (controls A and B) EGM application

Propagation

To use this method for *A.oryzae* industrial fermentations, the freely dispersed morphology obtained after encapsulation has to be well maintained during propagation. Since inoculation size is known to impact morphology, we first tested 3 transfer ratio (20 %, 4 % and 0.8 % v/v) for inoculation from Falcon tube containing destabilized emulsion to 50 mL in Erlenmeyer flask. A transfer ratio of 0.8 % v/v resulted in spherical pellets, and 4 % v/v resulted in ununiformed pellets, only 20 % v/v resulted in freely dispersed mycelium (**Fig 9**a). The same test using controls A and B instead of the destabilized emulsion gave

aggregated mycelium for all transfer ratio (data not shown). Then we tested propagation by inoculating fresh Erlenmeyer flasks using this fluid Erlenmeyer culture. Here again, a transfer ratio of 20 % v/v was required to keep a freely dispersed morphology after 24h culture, since 4 % and 0.8 % v/v resulted in aggregated morphology (**Fig 9**b).

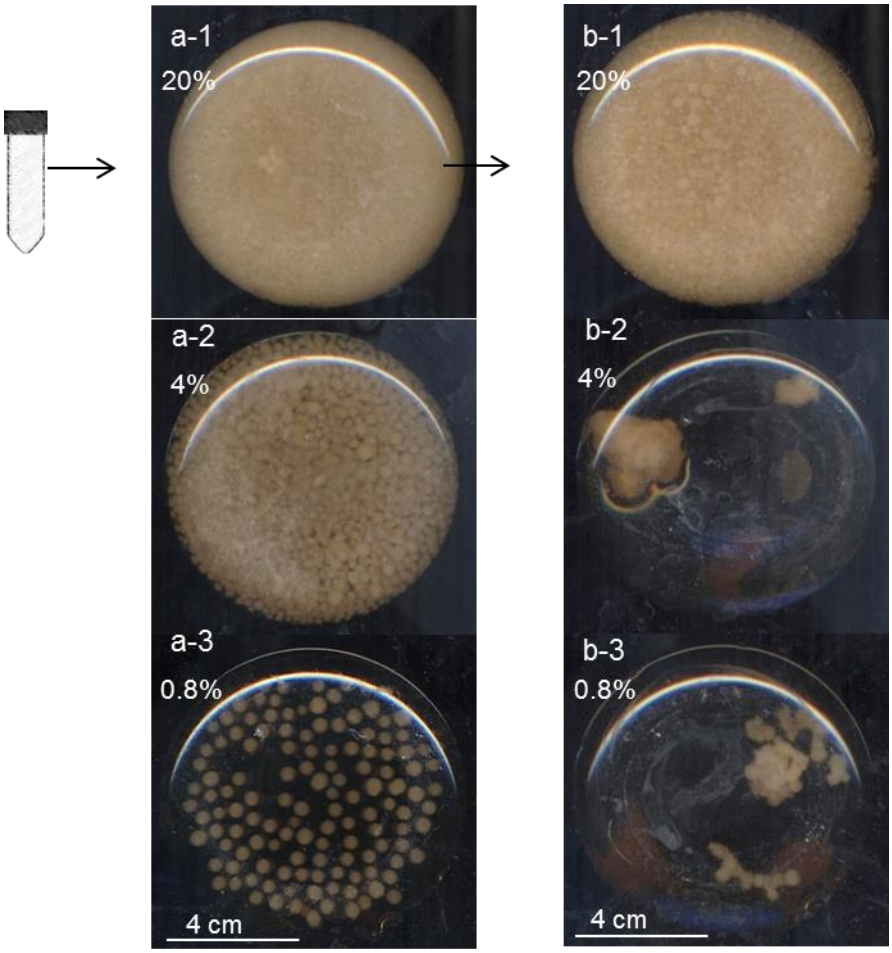


Fig 9 Behavior of the dispersed morphology obtained after encapsulation during propagation, 24h submerged culture of *A.oryzae*, seeding with 20% (a-1), 4% (a-2) and 0.8% (a-3) v/v from tube destabilized emulsion and 24h Erlenmeyer cultures from 20% v/v emulsion (b-1), 4% (b-2) and 0.8% (b-3)

Discussion

Considering the theory of fungal pellet formation, we developed a method to avoid conidia aggregation, by a physical separation in a medium-in-oil emulsion created using a microfluidic device. In principle, this methodology should be well suited for coagulating fungal species as described in literature. To our knowledge, it is the first time a microfluidic device is performed to understand and control the morphology of microbial cultures.

Using EGM, we observed a morphological change from aggregated to dispersed mycelium for *A.oryzae* but not for *A.terreus*. These results are consistent with their description as coagulating and non-coagulating species respectively. Indeed, conidia are physically separated making impossible the setting of physico-chemical forces bringing them closer. These forces, mainly of electrostatic and hydrophobic origin but little identified, could be partly responsible for coagulating fungal species aggregation (Zhang and Zhang 2016; Dynesen and Nielsen 2003). Once the germination is finished and the emulsion is destabilized, the resulting mycelium does not aggregate, and the final morphology is therefore dispersed. On the other hand, even if conidia of *A.terreus* are separated during germination, once germ tubes or/and young hyphae are placed in contact again, the aggregation is still possible, and the final morphology remains aggregated.

In the case of *A. niger*, we did not observe any morphological change using this method, its aggregated morphology is kept in all our experiments. This result is not consistent with its description as a coagulating species. EGM experiment with *A. oryzae* clearly shows that this method is efficient to prevent aggregation between conidia, so it must have prevented conidia aggregation for *A. niger* as well. However, it is possible that *A. niger* presents aggregation steps throughout the growth, not only during germination (as for coagulating species) but also during elongation and embranchment stages (as for non-coagulating species). But, to our knowledge, no further aggregation phenomenon has been precisely described for this species.

We observed also that for some transfer ratio, freely dispersed *A. oryzae* mycelium could re-aggregate as well. Effects of inoculum size on morphology have already been describe as an important parameter with strong effect on morphology especially for non-coagulating species and when inoculation was realized from conidia suspension (Takahashi and Yamada 1959), (Tucker and Thomas 1992). Here, since *A.oryzae* belongs to coagulating type, it is not supposed to be particularly sensitive to inoculum size. From freely dispersed mycelial culture obtained by modification of growth, transfers ratio are poorly studied but this result shows that fungal aggregation is a complex phenomenon, with many contributing parameters, and that coagulating and non-coagulating theory is well suited for the first stages of growth but maybe insufficient to explain final aggregated morphology.

However, EGM allows to obtain a fluid morphology of *A.oryzae* species and as expected, this fluid culture showed a faster glucose assimilation, probably due to a higher active biomass diffused through culture broth and not starved in the core of the pellets. This phenomenon is already described and explained by an improvement of oxygen and nutrients transfers within the mycelium following the assumption that diffusion is the dominating mass transport mechanism. The deformation of pellet structure was found to have effectively a positive impact on the penetration depth of substrates (Hille *et al.* 2009). At higher scale, this improved nutrients availability would probably result in a better metabolite production and a higher productivity (Krull *et al.* 2013; Paul *et al.* 1999).

Furthermore, our method only requires a unique intervention during the 19 first hours of growth. Even if initial volumes are restricted (10 to 20 mL) by the formation of an emulsion with a microsystem, we showed that we maintained a fluid morphology even when we transferred the broth from one Erlenmeyer culture to another at a propagation rate of 20 % (v/v). It is thus possible to propagate the mycelium up to volumes required for an industrial implementation, while retaining the fluid morphology. This strategy will be of high interest if the dispersed mycelial suspensions appear to have higher yield or productivity of a valuable product than the pelleted suspensions.

Finally, we showed that EGM is an efficient way to prevent pellets formation in case of *A.oryzae* described as coagulating type. It confirms that conidia coagulation during first hours of culture is responsible of some aggregated morphology. A fluid morphology was obtained during all growth, with a faster glucose consumption. In addition, this fluid morphology is maintained when propagation is implemented under conditions defined in this study. These results offer the possibility of scale up applications. We have also highlighted, in regards with *A. niger* results, that some species described as coagulating type are able to aggregate after germination, probably due to contact between hyphae. Although historically this species has been classified in this type by microscopic observation of conidia coagulation (Takahashi and Yamada 1959), it is therefore possible that other mechanisms could be responsible for this final aggregated morphology. We may therefore think that the aggregation of filamentous fungi may not be limited to two types or that some species may not be restricted to only one of these two types. Supplementary kind of aggregation remain to be emphasized, EGM can be applied to bring further explanations since it allows to overcome one aggregation step during first stages of growth.

Notes

Compliance with ethical standards

Conflict of interest

IFP Energies nouvelles has filed a patent application on this methodology.

Ethical approval

This article does not contain any studies with human or animals performed by any of the authors.

References

Beneyton T, Wijaya IPM, Postros P, Najah M, Leblond P, Couvent A, Mayot E, Griffiths AD, Drevelle A (2016) High-throughput screening of filamentous fungi using nanoliter-range droplet-based microfluidics. Sci Rep 6:27223. doi: 10.1038/srep27223

Brown SH, Bashkirova L, Berka R, Chandler T, Doty T, McCall K, McCulloch M, McFarland S, Thompson S, Yaver D, Berry A (2013) Metabolic engineering of *Aspergillus oryzae* NRRL 3488 for increased production of L-malic acid. Appl Microbiol Biotechnol 97:8903–8912. doi: 10.1007/s00253-013-5132-2

Clausell-Tormos J, Lieber D, Baret J-C, El-Harrak A, Miller OJ, Frenz L, Blouwolff J, Humphry KJ, Köster S, Duan H, Holtze C, Weitz DA, Griffiths AD, Merten CA (2008) Droplet-based microfluidic platforms for the encapsulation and screening of Mammalian cells and multicellular organisms. Chem Biol 15:427–437. doi: 10.1016/j.chembiol.2008.04.004

Cronenberg C, Ottengraf S, van den Heuvel J, Pottel F, Sziele D, Shügerl K, Bellgardt K (1994) Influence of age and structure of *Pencillium chrysogenum* pellets on the internal concentration profiles. Bioprocess Engineering 10:209–216

Driouch H, Sommer B, Wittmann C (2010) Morphology engineering of *Aspergillus niger* for improved enzyme production. Biotechnol Bioeng 105:1058–1068. doi: 10.1002/bit.22614

Driouch H, Roth A, Dersch P, Wittmann C (2014) Filamentous fungi in good shape: Microparticles for tailor-made fungal morphology and enhanced enzyme production. Bioeng Bugs 2:100–104. doi: 10.4161/bbug.2.2.13757

Dynesen J, Nielsen J (2003) Surface hydrophobicity of *Aspergillus nidulans* conidiospores and its role in pellet formation. Biotechnol Prog 19:1049–1052. doi: 10.1021/bp0340032

Gibbs PA, Seviour RJ, Schmid F (2000) Growth of filamentous fungi in submerged culture: problems and possible solutions. Crit Rev Biotechnol 20:17–48. doi: 10.1080/07388550091144177

Gonciarz J, Bizukojc M (2014) Adding talc microparticles to *Aspergillus terreus* ATCC 20542 preculture decreases fungal pellet size and improves lovastatin production. Engineering in Life Sciences 14:190–200. doi: 10.1002/elsc.201300055

Grimm LH, Kelly S, Krull R, Hempel DC (2005) Morphology and productivity of filamentous fungi. Appl Microbiol Biotechnol 69:375–384. doi: 10.1007/s00253-005-0213-5

Hendriksen HV, Kornbrust BA, Østergaard PR, Stringer MA (2009) Evaluating the potential for enzymatic acrylamide mitigation in a range of food products using an asparaginase from *Aspergillus oryzae*. J Agric Food Chem 57:4168–4176. doi: 10.1021/jf900174q

Hille A, Neu TR, Hempel DC, Horn H (2009) Effective diffusivities and mass fluxes in fungal biopellets. Biotechnol Bioeng 103:1202–1213. doi: 10.1002/bit.22351

Holtze C, Rowat AC, Agresti JJ, Hutchison JB, Angilè FE, Schmitz CHJ, Köster S, Duan H, Humphry KJ, Scanga RA, Johnson JS, Pisignano D, Weitz DA (2008) Biocompatible surfactants for water-in-fluorocarbon emulsions. Lab Chip 8:1632–1639. doi: 10.1039/b806706f

Ju LK, Lee JF, Armiger WB (1991) Enhancing oxygen transfer in bioreactors by perfluorocarbon emulsions. Biotechnol. Prog. 7:323–329. doi: 10.1021/bp00010a006

Koibuchi K, Nagasaki H, Yuasa A, Kataoka J, Kitamoto K (2000) Molecular cloning and characterization of a gene encoding glutaminase from *Aspergillus oryzae*. Appl Microbiol Biotechnol 54:59–68. doi: 10.1007/s002530000329

Krull R, Wucherpfennig T, Esfandabadi ME, Walisko R, Melzer G, Hempel DC, Kampen I, Kwade A, Wittmann C (2013) Characterization and control of fungal morphology for improved production performance in biotechnology. J Biotechnol 163:112–123. doi: 10.1016/j.jbiotec.2012.06.024

Mashaghi S, Abbaspourrad A, Weitz DA, van Oijen AM (2016) Droplet microfluidics: A tool for biology, chemistry and nanotechnology. TrAC Trends in Analytical Chemistry 82:118–125. doi: 10.1016/j.trac.2016.05.019

Najah M, Calbrix R, Mahendra-Wijaya IP, Beneyton T, Griffiths AD, Drevelle A (2014) Droplet-based microfluidics platform for ultra-high-throughput bioprospecting of cellulolytic microorganisms. Chem Biol 21:1722–1732. doi: 10.1016/j.chembiol.2014.10.020

Ochsenreither K, Fischer C, Neumann A, Syldatk C (2014) Process characterization and influence of alternative carbon sources and carbon-to-nitrogen ratio on organic acid production by *Aspergillus oryzae* DSM1863. Appl Microbiol Biotechnol 98:5449–5460. doi: 10.1007/s00253-014-5614-x

Paul G, Priede M, Thomas C (1999) Relationship between morphology and citric acid production in submerged *Aspergillus niger* fermentations. Biochemical Engineering Journal 3:121–129. doi: 10.1016/S1369-703X(99)00012-1

Paul GC, Thomas CR (1998) Characterisation of mycelial morphology using image analysis. In: Schügerl K (ed) Relation Between Morphology and Process Performances. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 1–59

Rhodes R, Lagoda A, Misenheimer T, Smith M, Anderson R, Jackson R (1962) Production of fumaric acid in 20-liter fermentors. Appl Microbiol Biotechnol:9–15

Schuster E, Dunn-Coleman N, Frisvad JC, Van Dijck, P W M (2002) On the safety of *Aspergillus niger* - a review. Appl Microbiol Biotechnol 59:426–435. doi: 10.1007/s00253-002-1032-6

Spohr A, Carlsen M, Nielsen J, Villadsen J (1998) α-Amylase production in recombinant *Aspergillus oryzae* during fed-batch and continuous cultivations. Journal of Fermentation and Bioengineering 86:49–56. doi: 10.1016/S0922-338X(98)80033-0

Takahashi K, Yamada H (1959) Studies on the effects of some physical conditions on the submerged mold culture. II. On the two types of pellet formation in shaking culture. J.Chemic.Soc.Jpn 33:707

Tucker KG, Thomas CR (1992) Mycelial morphology: The effect of spore inoculum level. Biotechnology Letters 14

Walisko R, Krull R, Schrader J, Wittmann C (2012) Microparticle based morphology engineering of filamentous microorganisms for industrial bio-production. Biotechnology Letters 34:1975–1982. doi: 10.1007/s10529-012-0997-1

Wucherpfennig T, Kiep KA, Driouch H, Wittmann C, Krull R (2010) Morphology and Rheology in Filamentous Cultivations. Advances in Applied Microbiology 72:89–136. doi: 10.1016/S0065-2164(10)72004-9

Yanagita T, Kogané F (1963) Site of biosyntheses of sulfur compounds in growing colonies of *Aspergillus niger*. J. Gen. Appl. Microbiol. 9:331–336

Zhang J, Zhang J (2016) The filamentous fungal pellet and forces driving its formation. Crit Rev Biotechnol 36:1066–1077. doi: 10.3109/07388551.2015.1084262

Žnidaršič P, Pavko A (2001) The Morphology of Filamentous Fungi in Submerged Cultivations as a Bioprocess Parameter. Food Technology and Biotechnology 39:237–252

Résumé

L'expérimentation haut-débit (EHD) représente une demande en croissance dans le domaine de la recherche. Cela fait maintenant plusieurs années que la microfluidique et en particulier la microfluidique digitale est citée comme méthode prometteuse dans ce domaine. En effet, elle permet l'utilisation de faibles volumes mais surtout la possibilité de traiter chaque goutte comme un microréacteur indépendant. L'analyse du contenu de la goutte est souvent réalisée sur ses propriétés optiques. Nous voulons ouvrir cette analyse à d'autres propriétés, en particulier physico-chimiques, comme la viscosité. L'objectif de ce travail est la mise en place d'une puce pour la mesure haut débit de la viscosité en microfluidique digitale. Pour atteindre cet objectif, nous avons choisi d'étudier le phénomène de déformation et relaxation d'une goutte à la sortie d'une restriction microfluidique. Dans le cas de fluides Newtoniens, nous avons établi une corrélation permettant de relier la déformation maximale de la goutte aux différentes grandeurs gouvernant le phénomène et en particulier la viscosité. Nous avons aussi montré que la corrélation trouvée reste valable lorsque les fluides mis en présence sont plus complexes c'est-à-dire pour des systèmes avec tensioactifs ou constitués de polymères présentant un comportement rhéologique non-Newtonien. L'intégration d'un mélangeur à la puce microfluidique permet de faire un premier pas vers le haut-débit car notre puce rend ainsi possible une mesure de viscosité réalisable rapidement sur des échantillons de compositions différentes et applicable à des fluides complexes.

Mots Clés

Microfluidique digitale, Expérimentation haut-débit, Viscosité

Abstract

High- throughput experimentation (HTE) represents a growing demand in the field of research. Microfluidics, and in particular digital microfluidics, have been cited as a promising method in this field for several years now. Indeed, it allows the use of small volumes but especially the possibility ton consider each droplet as an independent microreactor. The analysis of the content of the droplet is often performed on its optical properties. We want to open this analysis to other properties, especially physicochemical properties, such as viscosity. The objective of this work is the development of a chip for the high-throughput measurement of viscosity in digital microfluidics. To achieve this goal, we have chosen to study the phenomenon of deformation and relaxation of a droplet at the exit of a microfluidic constriction. In the case of Newtonian fluids, we have established a correlation linking the maximum deformation of the droplet to the different numbers governing the phenomenon and in particular the viscosity. We have also shown that the correlation found is valid when complex fluids are in presence such as fluids containing surfactants or non-Newtonian polymers. The integration of a mixer to the microfluidic chip allows to make a first step towards high-throughput experimentation because our chip thus makes it possible to obtain quickly a measurement of viscosity on samples of different compositions applicable to complex fluids.

Keywords

Microfluidics, Droplets, High throughput, Viscosity