

Homogénéisation de l'écoulement dans une cellule de Hele-Shaw et caractérisation par μ PIV en champ large

C.-L. AZZOPARDI^a, T. LEBLOIS, M. BARTHES,
J.-F. MANCEAU, F. CHOLLET^b

Institut FEMTO-ST – Université Bourgogne Franche-Comté, CNRS (UMR6174)

15b avenue des Montboucons, 25030 BESANCON CEDEX, France

^a cl.azzopardi@femto-st.fr ^b franck.chollet@femto-st.fr

Résumé :

Les microsytèmes servant à la détection biologique ont, en général, pour principe de faire s'écouler un échantillon biologique à analyser à proximité d'une surface sensible. Dans l'optique de faciliter la mise en contact entre le biomarqueur à détecter et la surface sensible, des chambres de détections larges et peu profondes sont majoritairement utilisées. Les conditions expérimentales appliquées (faibles vitesses d'écoulements, nombre de Reynolds < 100) conduisent à des écoulements laminaires dans les microcanaux d'arrivées fluidiques mais aussi dans la chambre de détection (1cm x 1cm x 80 μ m). Les écoulements ne sont généralement pas homogènes sur l'ensemble du capteur et provoquent de forts gradients de vitesse affectant l'uniformité de capture des analytes sur l'ensemble de la surface active. Il devient, dès lors intéressant de contrôler l'homogénéisation des écoulements sur ces surfaces afin d'améliorer la réponse de ce type de capteur. Notre travail a consisté à étudier ces écoulements au travers de simulations en éléments finis et de mesures en μ PIV dans des puces réalisées en micro fabrication salle blanche.

Abstract :

Usually the operation of microsensors for biological assay is based on passing the biological sample at proximity of a surface covered with selective binding agents. Accordingly, most of these sensors use microfluidic circuits with shallow detection chambers to bring the analyte nearer to the active surface and improve speed and efficiency. The flow, fixed by the experimental condition (low flow velocity, Reynolds number < 100), is then laminar not only in the input microchannels but also inside the detection chamber. However, such flow is strongly influenced by the boundary conditions and is usually not homogeneous all over the sensor, particularly in large chamber (1cm x 1cm x 80 μ m), causing important velocity gradients that in turn impact the capture uniformity of the analyte on the active surface. We propose in our work to control the flow homogeneity in order to improve the response of the sensor. We study different architectures of microfluidic chips with finite element simulations and compare the flow results with experimental measurement obtained on microfluidic chips manufactured in our cleanroom and characterized using μ PIV method.

Mots clefs : Microfluidique, μ PIV, Écoulement, Cellule de Hele-Shaw

1 Introduction

Dans les capteurs biologiques basés sur la microfluidique, l'analyte d'intérêt est en général amené en contact avec une surface fonctionnalisée où il est capturé. Cette surface est ensuite analysée par mesure optique (SPR...) ou acoustique (QCM...), permettant ainsi de quantifier précisément les analytes présents dans le liquide. Notre groupe développe des capteurs acoustiques à base de membranes résonantes couplées ou non qui sont agencées en matrice pour augmenter la sensibilité du capteur et pour réaliser le multiplexage des mesures. Cette architecture nécessite l'utilisation d'une grande chambre d'analyse où les écoulements doivent être contrôlés pour garantir une bonne homogénéité des débits sur l'ensemble de la surface du capteur lors de l'insertion ou du renouvellement des fluides dans la cavité. On limite ainsi les écarts de traitement lors des réactions de fonctionnalisation, de capture, d'inactivation ou encore lors des étapes de nettoyage de la surface de capture.

Il est dès lors nécessaire de concevoir des puces microfluidiques où la géométrie et les caractéristiques des fluides permettent un écoulement homogène sans zone morte ou zone de recirculation au sein de la chambre.

Parmi les différentes architectures d'alimentation de chambres de détection, l'entrée/sortie unique, évasée ou non, est la structure la plus simple à concevoir mais conduit à une mauvaise homogénéité des écoulements [1] [2]. Pour y remédier, des structures en arborescence sont couramment utilisées pour amener les fluides sur les bordures des chambres [3]. On trouve cependant dans la littérature peu d'études systématiques, particulièrement sur les chambres de grandes dimensions, qui combinent études théoriques et expérimentales. L. Saias et al. [1] ont cherché à améliorer les écoulements dans une chambre rectangulaire en faisant varier la structure de l'arborescence vers une forme en losange pour des raisons d'encombrement. P. Pálóvics et al. [2] ont amélioré les écoulements dans une chambre circulaire constituée d'un matériau poreux en développant une structure à 3 entrées/sorties inclinés à 30°. Par ailleurs, W. Liao et al. [3] ont modifié les dimensions des arborescences pour leur attribuer des propriétés biomimétiques sans toutefois modifier notablement les écoulements.

Notre étude va porter sur la mise au point d'une stratégie pour améliorer l'uniformité des écoulements en comparant la configuration classique constituée d'une entrée/ une sortie avec des architectures arborescentes des canaux d'entrée/sortie. L'étude des écoulements dans la chambre microfluidique de grande surface et de faible profondeur sera effectuée à travers des simulations par éléments finis en 2D et par une étude expérimentale. Les chambres étudiées, de forme carrée, ont comme particularité d'être alimentées par les coins pour répondre à des contraintes d'encombrement vis-à-vis des arborescences. Nous proposons, en outre, une caractérisation par PIV sur la surface de la chambre, ce qui est notable, puisque peu appliqué aux structures de cette dimension (1cm x 1cm) au vu de la difficulté de mise en œuvre de cette technique.

2 Architectures étudiées

Nous allons étudier, au travers des simulations et des mesures, l'influence sur les écoulements des architectures d'entrées/sorties pour deux architectures de puces microfluidiques.

Pour minimiser le volume de l'échantillon à analyser et pour faciliter la diffusion des bio-analytes vers la surface d'interaction [4] nous avons fixé la hauteur de la chambre à 80µm. Dans ces conditions, nous nous plaçons dans un régime d'écoulement laminaire et la cavité microfluidique peut être assimilée à une cellule de Hele-Shaw de 1cm x 1cm de côté.

Les dimensions de la chambre étant fixées, pour faire varier les écoulements nous proposons de modifier les structures des canaux d'alimentation. Ainsi, nous travaillerons avec une structure ayant 1 entrée/sortie qui représente la solution standard à améliorer et une structure à 16 entrées/sorties représentant une solution optimisée.

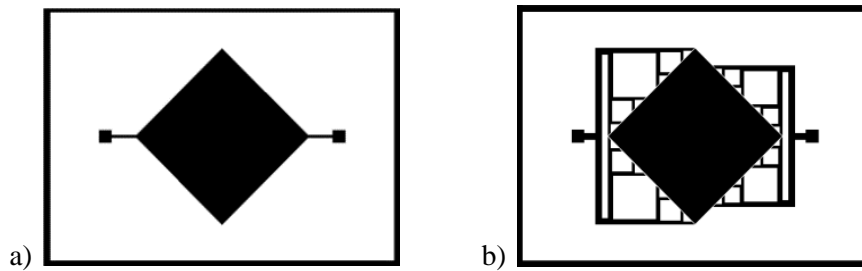


Figure 1 : Formes des architectures étudiées. a) 1 entrée/sortie. b) 16 entrées/sorties

3 Fabrication

Pour l'étude expérimentale, les dispositifs microfluidiques (puces) ont été réalisés par technique de microfabrication en salle blanche. Les canaux fluidiques et la chambre sont structurés dans un substrat de silicium par gravure chimique KOH. Les trous des arrivées fluidiques traversant le wafer sont réalisés par une gravure profonde par plasma et procédé Bosch (DRIE Rapier SPTS). La chambre est ensuite refermée par collage anodique d'un substrat de verre autorisant l'observation optique. Les puces sont finalement séparées par découpe à la scie. Des connecteurs (Nanoport Upchurch) sont collés sur la face arrière des puces pour les relier au circuit fluidique (Figure 2a).

L'utilisation d'une gravure KOH contraint la forme et le placement des motifs à graver selon l'orientation cristalline du silicium. Le substrat étant dans un plan $\langle 100 \rangle$, les canaux microfluidiques sont orientés selon les directions $\langle 100 \rangle$ pour produire une section trapézoïdale, et les bords de la chambre sont orientés selon les directions $\langle 110 \rangle$ pour éviter la sous-gravure (Figure 2b).

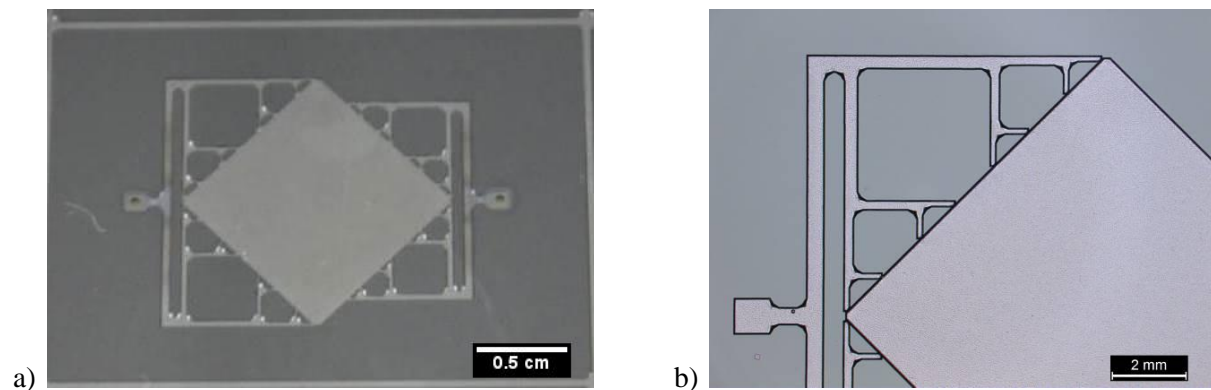


Figure 2 : a) Photo de la puce microfluidique après collage anodique.
b) Image prise au microscope optique du circuit microfluidique après gravure KOH.

4 Simulation des écoulements

La simulation des écoulements par éléments finis de ces structures a été faite sous COMSOL Multiphysics® en utilisant le modèle laminaire 2D avec approximation de faible profondeur, qui correspond bien à l'écoulement de Hele-Shaw. L'objectif de vitesse moyenne dans la chambre était de $200 \mu\text{m/s}$. Les conditions aux limites ont été fixées en imposant en entrée un débit de $15 \mu\text{l/min}$, en sortie la pression atmosphérique, et une condition de non glissement (no-slip) sur les bords de la structure. Pour l'étude de l'homogénéité, nous nous sommes intéressés aux lignes de courant et aux vitesses d'écoulements. Ces informations sont d'autant plus pertinentes qu'elles sont aussi fournies par notre méthode de caractérisation expérimentale. Les résultats de simulation sont présentés pour les deux architectures sur la figure 3.

Les échelles ont été ajustées pour représenter au mieux les écoulements au sein de la chambre. Les vitesses d'écoulements dans et à proximité des canaux sont largement supérieures à la valeur maximale de l'échelle.

Premièrement, nous observons que la structure 1 présente un fort gradient de vitesse aux niveaux des entrées/sorties. Dans la structure 2, le débit est divisé entre les différentes embouchures, ce qui localise fortement ces variations. D'autre part, la majorité de l'écoulement se focalise entre les deux canaux de la puce 1 créant des zones à faibles circulations dans les coins supérieurs et inférieurs. Au contraire, sur la puce 2, l'écoulement est distribué par les nombreux canaux. On remarque toutefois, que passé la moitié de la chambre, la vitesse change légèrement à cause de la dissymétrie des canaux d'entrée et de sortie.

En conclusion, les simulations montrent que l'on obtient une meilleure homogénéité des écoulements pour la structure 2 que pour la structure 1.

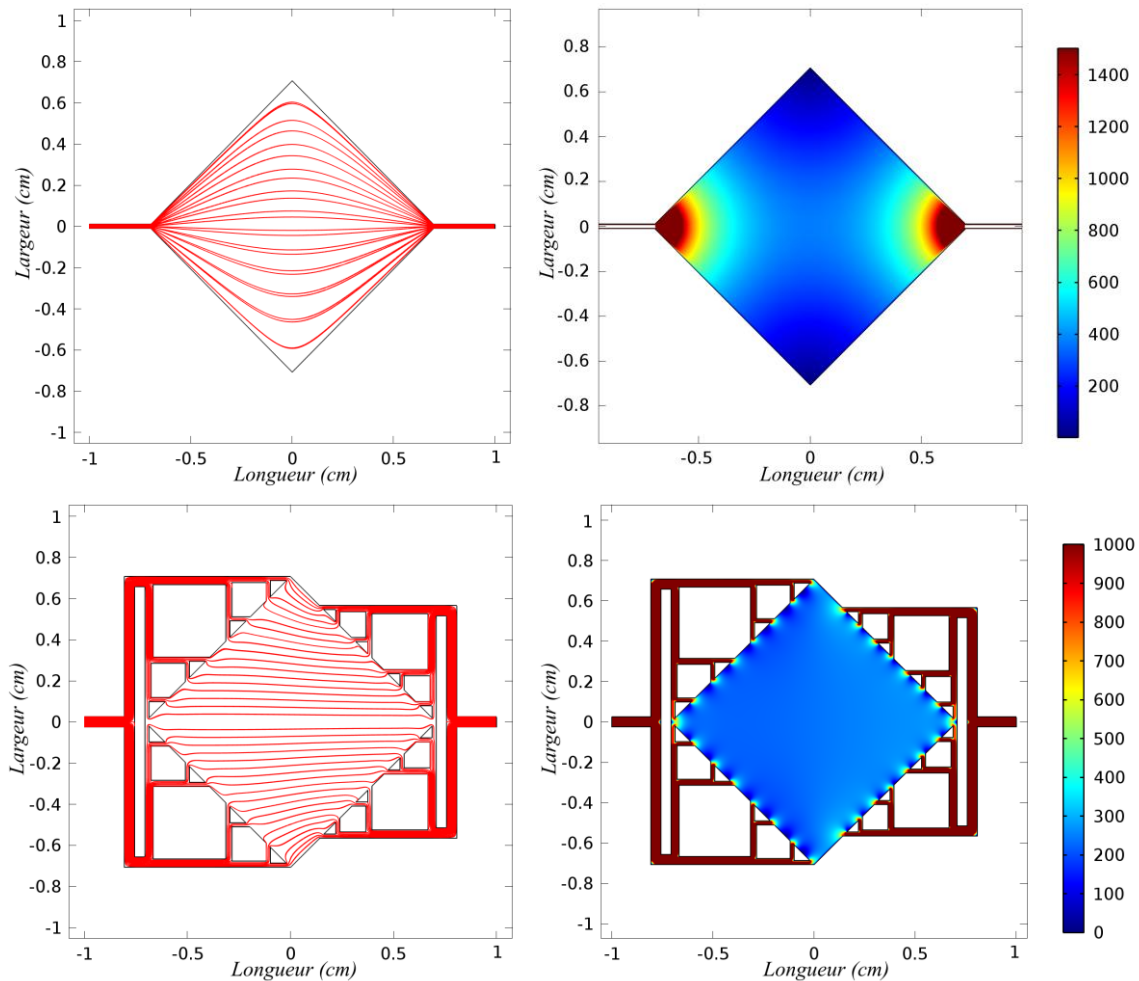


Figure 3 : Simulation des écoulements dans les puces 1 (haut) et 2 (bas).
(gauche) Lignes de courant (droite) Amplitudes de vitesses ($\mu\text{m/s}$).

5 Mesure des écoulements

La mesure expérimentale des vitesses d'écoulement se fait par méthode de μPIV . Le liquide convoyant des microparticules est contraint de s'écouler dans la puce à débit constant par une différence de pression fixée aux bornes du circuit fluide. L'écoulement des microparticules dans la chambre de détection est filmé pour être traité par corrélation entre deux images successives. On obtient ainsi les informations de vitesses d'écoulement et de lignes de courant.

5.1 Banc d'expérimentation

Le banc d'expérimentation pour les mesures en μPIV (Particle Image Velocimetry) est composé d'une caméra CMOS de résolution 2048x2048 pixels (iDS Eye UI-3370CP-M-GL Rev.2) couplée à une

source de lumière blanche (Schott kl 2500) et montée sur une binoculaire utilisée en grossissement x1 (Nikon SMZ800) permettant d'imager entièrement la chambre sur le capteur avec une résolution de $5,5\mu\text{m}/\text{pixels}$. L'opacité à la lumière visible du silicium et la texturation en fond de canal, due à la gravure, sont des facteurs limitants qui sont compensés par l'utilisation d'un fort éclairage et par un temps d'exposition long sur la caméra. Cela conditionne ainsi l'expérimentation dans des écoulements de l'ordre de la dizaine de $\mu\text{l}/\text{min}$. Le liquide est ensemencé de particules en mélamine de diamètre 920nm (microParticles GmbH MF-NB-COOH-S1058) présentant une vitesse de sédimentation estimée à environ $0,23\mu\text{m}/\text{s}$, ce qui reste environ mille fois inférieure à la vitesse moyenne d'écoulement du liquide (calculée au niveau de la diagonale de la cellule de Hele-Shaw). Le choix de cette taille de particules évite ainsi la sédimentation et la modification des écoulements dans la puce.

5.2 Caractérisation par PIV

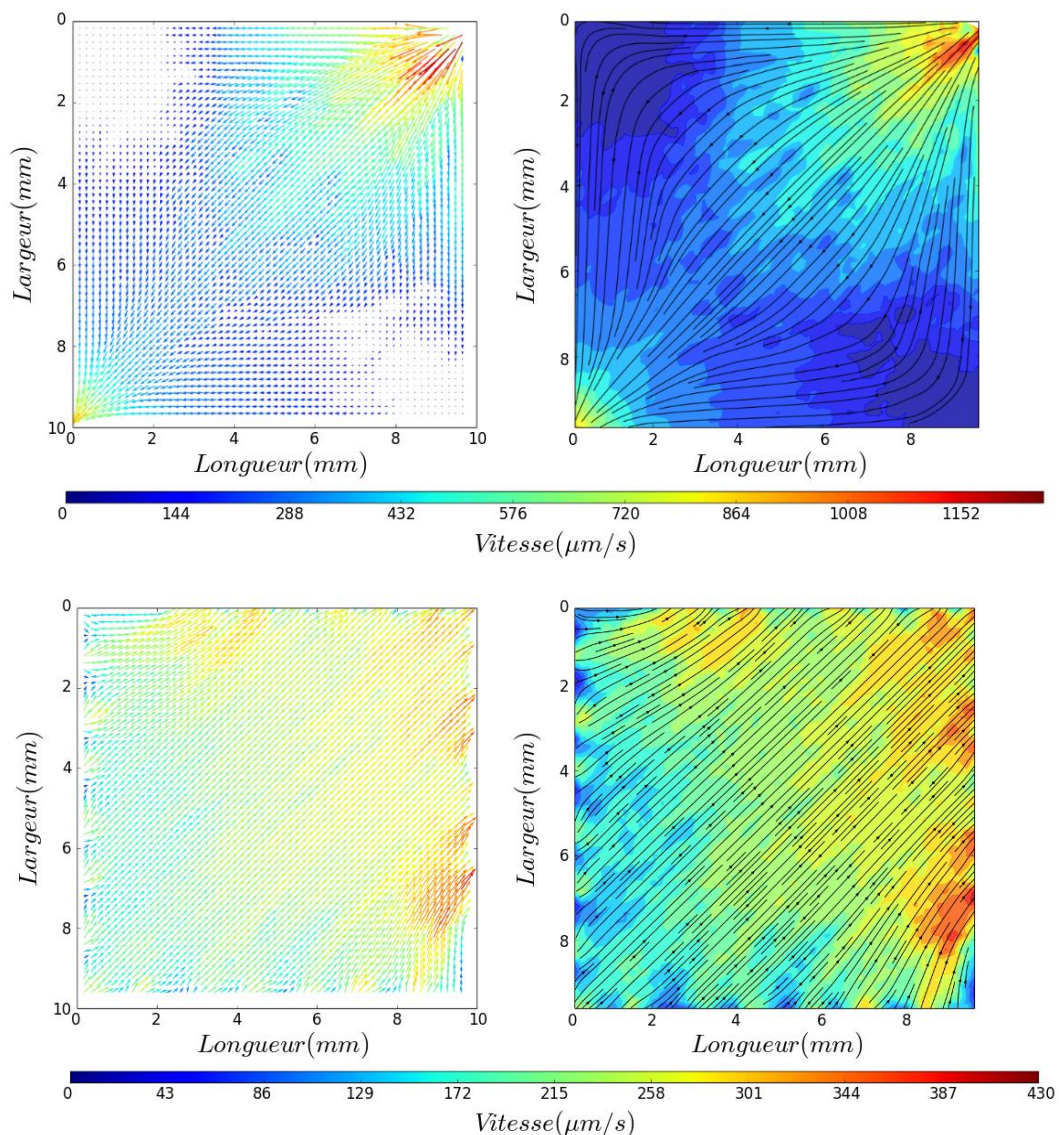


Figure 4 : Mesure des vitesses d'écoulements des puces 1 (haut) et 2 (bas).
(gauche) : Vecteurs de vitesse. (droite) : Amplitudes de vitesse et lignes de courant

Pour chaque structure, plus de 200 paires d'images ont été utilisées pour le traitement PIV. Ces paires d'images sont prises à un intervalle de 50ms. Le prétraitement et le traitement des images ont été réalisés en utilisant le programme PyV [5,6] développé à l'institut FEMTO-ST. Au cours du prétraitement, une image de fond moyenne de l'ensemble des images enregistrées a été soustraite aux

images instantanées, permettant ainsi de s'affranchir des réflexions et/ou motifs parasites. La région d'intérêt (ROI) sélectionnée pour effectuer le traitement est la totalité de la veine d'essai, à l'exclusion des canaux d'alimentation et de sortie de la cellule. En effet, cela permet d'éviter des valeurs erronées au niveau des entrées/sortie, lieux de changement de section et donc de fort gradient de vitesse. Le traitement PIV par corrélation croisée de la ROI permet d'obtenir le champ de vitesse instantané. Un seuillage effectué sur le ratio des deux premiers pics de corrélation permet d'éliminer les vecteurs de vitesse aberrants. Finalement, un champ moyen de vecteurs est calculé à partir de l'ensemble des 200 champs de vitesse instantané. Ce champ moyen de vecteurs est représenté figure 4 pour les deux architectures étudiées. Les graphiques sur la partie gauche correspondent aux champs de vecteurs vitesses, et les graphiques sur la partie droite, aux iso-vitesses avec les lignes de courant.

5.3 Comparaison entre caractérisation par PIV et simulation

Dans l'ensemble, les résultats obtenus à partir du traitement PIV semblent cohérents avec ceux obtenus par les simulations en éléments finis. Tout d'abord, les lignes de champs de vitesses montrent de fortes similitudes dans l'aspect général. Cependant, on observe des différences dans les zones en périphérie des canaux d'alimentation. Ceci est dû à la forte vélocité des particules dans ces zones qui rend difficile l'exploitation par traitement PIV pour les temps d'expositions utilisés au cours de ces expérimentations. En outre, les allures générales du champ de vitesse sont similaires malgré une asymétrie notable pour la puce 1. Afin d'évaluer l'homogénéité des écoulements dans les mesures expérimentales nous considérons au centre de la cellule une zone d'intérêt de 8x8mm en excluant les minima et maxima locaux dus à la proximité des embouchures. Dans ces conditions, on observe que les variations maximales de vitesses dans la chambre de la puce 1 peuvent au minimum atteindre un facteur 5. Les variations maximales de vitesses dans la puce 2 sont par contre de l'ordre d'un facteur 2. Ces résultats obtenus tant en simulation qu'en expérimentation tendent à montrer que l'architecture d'alimentation fluïdique de la puce 2 offre un avantage en termes d'homogénéisation des vitesses d'écoulement.

6 Conclusion

Afin d'optimiser la détection d'éléments biologiques par les capteurs acoustiques que nous développons, nous nous sommes intéressés à l'amélioration de l'uniformité des écoulements dans les chambres de détection en étudiant l'homogénéité des écoulements en fonctions des structures d'alimentations. Nous avons proposé l'étude de deux structures types par simulation numérique éléments finis et par mesure expérimentale en μ PIV.

Cette étude a notamment demandé de concevoir un banc de μ PIV permettant l'observation sur un champ d'un cm^2 , tout en visualisant, en lumière blanche, des particules de taille inférieure au μm .

Le banc de mesure ainsi réalisé, a permis de vérifier que les lignes de courants et les vitesses obtenues par traitement PIV sont cohérentes avec les résultats obtenus en simulation. Toutefois, les valeurs obtenues à proximité des canaux d'alimentation se révèlent moins précises que celles obtenues au centre de la cellule. Pour améliorer ces résultats, il faudrait pouvoir utiliser un temps d'exposition plus court, immobilisant convenablement les particules aux environs des entrées malgré leur grande vitesse dans les canaux. Cela nécessiterait un éclairage plus puissant et une caméra ayant une sensibilité plus élevée. Dans l'immédiat, nous comptons approfondir l'étude des structures d'alimentation des chambres de détection pour améliorer encore l'homogénéisation des écoulements dans nos capteurs.

Remerciements

Ces travaux ont été partiellement supportés par le réseau Renatech et la centrale de microfabrication de l'institut FEMTO-ST. Les auteurs remercient aussi le support financier du Laboratoire d'Excellence ACTION, Contrat ANR-11-LABX-0001-01. Les calculs ont été effectués en partie sur le calculateur du Mésocentre de calcul de Franche-Comté .

Références

- [1] L. Saias, J. Autebert, L. Malaquin, and J.-L. Viovy, “Design, modeling and characterization of microfluidic architectures for high flow rate, small footprint microfluidic systems,” *Lab on a Chip*, vol. 11, no. 5, p. 822, 2011.
- [2] P. Pálovics, F. Ender, and M. Rencz, “Microfluidic flow-through chambers for higher performance,” presented at the Design, Test, Integration & Packaging of MEMS and MOEMS, Bordeaux, 2017.
- [3] W. Liao et al., “Biomimetic microchannels of planar reactors for optimized photocatalytic efficiency of water purification,” *Biomicrofluidics*, vol. 10, no. 1, Feb. 2016.
- [4] T. M. Squires, R. J. Messinger, and S. R. Manalis, “Making it stick: convection, reaction and diffusion in surface-based biosensors,” *Nature Biotechnology*, vol. 26, no. 4, pp. 417–426, Apr. 2008.
- [5] D. Bonnet et al., “Piv in a running automotive engine: simultaneous velocimetry for intake manifold runners,” *J. Flow Vis. Image Process.*, vol. 19, no. 3, pp. 239–253, 2012
- [6] D. Bonnet, M. Barthès, L. Girardot, and Y. Bailly, “PYV: a PIV processing software in python,” presented at the Euroscopy, Paris, France, 2011.