

N° d'ordre : 3420

THÈSE

présentée à

l'université Bordeaux I

École doctorale des sciences chimiques

par Philippe LAVAL

pour obtenir le grade de

Docteur

Spécialité : physico-chimie de la matière condensée

Outils microfluidiques pour l'étude des processus de cristallisation : solubilité, polymorphisme et cinétique de nucléation

Soutenue le 17 septembre 2007

Après avis de :

M. Stéphane VEESLER Rapporteur
M. Jean-Louis VIOVY Rapporteur

Devant la commission d'examen formée de :

M. Fernando LÉAL-CALDÉRON
M. Mathieu JOANICOT
M. Jean-Pierre JOLIVET
M. Jean-Baptiste SALMON
M. Jean-Louis VIOVY Rapporteur
M. Stéphane VEESLER Rapporteur

Remerciements

Je tiens tout d'abord à remercier très sincèrement Mathieu Joanicot, directeur du Laboratoire du Futur, pour sa disponibilité, ses conseils aussi bien scientifiques que professionnels, ainsi que pour la confiance et la liberté qu'il m'a accordées au cours de la thèse.

Je remercie vivement Jean-Louis Viovy et Stéphane Veessler qui m'ont fait l'honneur de juger ce travail, ainsi que Fernando Léal-Caldéron et Jean-Pierre Jolivet pour avoir accepté de faire partie du jury.

Je suis tout particulièrement reconnaissant envers Jean-Baptiste Salmon qui a encadré ma thèse. Merci JB pour ta présence quotidienne, les nombreuses discussions scientifiques, ta pédagogie, ta rigueur communicative, les nombreuses relectures des papiers et du manuscrit, et surtout pour ton amitié. Je suis fier d'avoir été ton premier thésard.

Ces trois années passées au LOF ont été l'occasion de rencontrer des personnes de grandes valeurs, toujours prêtes à donner un coup de main ou à partager un moment de convivialité. Je les remercie donc tous chaleureusement. Plus personnellement je tiens à remercier Galder Cristobal pour sa créativité et sa gentillesse; Céline Mocquant pour son attention et son aide dans le dédale administratif; Jacques Leng pour ses conseils avisés; Annie Colin pour les discussions scientifiques et ses anecdotes; Roman Koetiz, Bertrand Pavageau et Bernard Roux pour leur aide continue et toujours d'un grand secours. Merci aussi à Matthieu Guirardel et Arash Dogde sans lesquels la salle blanche ne serait pas ce qu'elle est, et à Christophe Pradère pour son aide en thermique. Bien entendu je remercie vivement les ex et actuels thésards : Pierre Le pionnier, Flavie et Paco, Fanny et Chloé et leur craquage à l'ESRF, Julie la broyeuse de gouttes, et enfin Cindy. Je n'oublie pas non plus Simon le GO des rencontres sportives, Séb et Thomas avec leur accent du sud-ouest, Aurélie pour son aide en LabView, et Mali pour sa Ford Escort. Merci également à Guillaume, Patrick, David et Vincent, toujours à l'heure pour partir manger à 11h45. J'en viens maintenant à remercier toute l'équipe Dalkia avec une mention spéciale à Martine pour sa bonne humeur.

Je suis également très reconnaissant envers Armand Ajdari et Michael Kohl pour les discussions fructueuses en physico-chimie et en cristallisation.

Je remercie sincèrement tous les stagiaires : Nicolas Lisai, Céline Giroux et Aurore Crombez, sans lesquels une grande partie de ce travail n'aurait pas été réalisé. Bon courage Aurore pour ta thèse.

Enfin un grand merci à Caroline pour son aide, sa patience et surtout sa présence, et à ma famille pour m'avoir toujours soutenu dans mes choix.

Table des matières

1	Cristallisation et microfluidique, un couplage à fort potentiel	13
1.1	Introduction à la cristallisation	13
1.1.1	Solubilité	14
1.1.2	Sursaturation	15
1.1.3	Nucléation	16
1.1.4	Croissance des cristaux	25
1.1.5	Polymorphisme	26
1.1.6	Conclusion	30
1.2	La microfluidique	31
1.2.1	Techniques de fabrication	32
1.2.2	Mécanique des fluides dans les microcanaux	33
1.2.3	Les gouttes en microfluidique	38
1.3	La cristallisation en microfluidique	43
1.3.1	Synthèse de nanoparticules monodisperses	43
1.3.2	Cristallisation de protéines	44
1.3.3	Études des cinétiques de nucléation	46
1.4	Conclusion et objectifs de la thèse	47
2	Outil microfluidique de criblage de diagramme de solubilité	49
2.1	Principe du système microfluidique et dispositif expérimental	50
2.1.1	Principe du système microfluidique	50
2.1.2	Dispositif expérimental	51
2.2	Mesure d'un diagramme de solubilité	63
2.2.1	Remplissage des canaux et cristallisation	63
2.2.2	Application d'un gradient de température et mesure de la limite de solubilité	64
2.2.3	Discussion des résultats	65
2.2.4	Vers l'étude du polymorphisme	67
2.3	Perspectives de développement	68
2.3.1	Améliorations de la thermalisation	69
2.3.2	Optimisation des matériaux	69
2.4	Conclusion	70

3	Détection et mesure de solubilité de formes polymorphiques	71
3.1	Principe du système microfluidique	71
3.2	Dispositif expérimental	73
3.2.1	Puce microfluidique	73
3.2.2	Contrôle thermique du dispositif	75
3.3	Détection des formes polymorphiques de KNO_3	78
3.3.1	Description de la méthode de mesure	78
3.3.2	Analyse des cristaux	82
3.3.3	Mesure des limites de solubilité	84
3.3.4	Discussion	85
3.4	Étude statistique de formation des polymorphes	88
3.4.1	Relation entre proportion des différents polymorphes et taux de nucléation	88
3.4.2	Nucléation aléatoire dans les gouttes	88
3.4.3	Influence des paramètres expérimentaux	89
3.4.4	Discussion	90
3.5	Conclusion	93
4	Étude des cinétiques de nucléation	95
4.1	Principe de fonctionnement	95
4.1.1	Principe général	95
4.1.2	Dispositif expérimental	97
4.2	Expériences et résultats	97
4.2.1	Protocole expérimental	97
4.2.2	Mesures des cinétiques de nucléation	99
4.2.3	Reproductibilité des mesures	101
4.3	Discussion	104
4.3.1	Détermination de la limite de la zone de métastabilité	104
4.3.2	Évolution des cinétiques de nucléation	105
4.3.3	Comparaison à un modèle de distribution d'impuretés	109
4.3.4	Rôle de la phase continue	114
4.4	Conclusion	117
5	Étude de cinétique de nucléation rapide	119
5.1	Le dispositif microfluidique	119
5.1.1	Principe	119
5.1.2	Dispositif expérimental	120
5.2	Expériences et résultats	128
5.2.1	Discussion des résultats	133
5.2.2	Perspectives	136
5.3	Conclusion	137

A	Protocole de fabrication d'un dispositif microfluidique par lithographie molle	143
----------	---	------------

Introduction

Les échanges entre les cultures scientifiques sont en permanence sources d'idées nouvelles conduisant à des avancées théoriques et technologiques, voire à la naissance de nouvelles disciplines. Par exemple les nanotechnologies, souvent qualifiées de sciences transversales, proviennent des bénéfices apportés par les croisements entre différentes disciplines (chimie, physique du solide, microélectronique...). Dans le cas de la confrontation entre la cristallisation industrielle et la microfluidique, a priori les ordres de grandeur s'opposent. La première discipline est plutôt issue du génie des procédés, où les quantités de produit mises en jeu sont souvent exprimées en tonne, et la seconde des microtechnologies avec un développement privilégié en biologie et où les quantités mises en jeu sont inférieures au microlitre. Malgré cela, un couplage entre ces deux domaines s'avère très prometteur.

La cristallisation est une opération moléculaire lors de laquelle un corps généralement en phase gazeuse ou liquide, se transforme en phase solide organisée, i.e. un cristal. La cristallisation est depuis longtemps utilisée en tant qu'opération unitaire en génie des procédés. L'intérêt de cette étape peut être de purifier le produit, de l'isoler en solution pour le récupérer sous forme solide, ou de conférer au solide des propriétés spécifiques désirées. Afin de contrôler les propriétés finales des produits, la maîtrise du processus de cristallisation est essentielle. Cela suppose d'effectuer en amont, pour chaque système, des études thermodynamiques et cinétiques sur l'étape de cristallisation. Ces études s'avèrent cependant longues et laborieuses puisqu'elles consistent principalement à tester de nombreuses conditions opératoires telles que la nature du solvant, la température, le pH... Par ailleurs, le mécanisme de formation des premiers germes cristallins, malgré son rôle majeur lors du processus de cristallisation, est encore mal compris. Dans le domaine de la cristallisation, il existe donc aujourd'hui une forte demande pour le développement de nouveaux outils de mesure, plus rapides et offrant l'opportunité de mieux comprendre les étapes de cristallisation. Depuis quelques années, les avantages apportés par la microfluidique se révèlent être particulièrement bien adaptés pour réaliser de telles études [47, 136].

La microfluidique est issue de la tendance à la miniaturisation qui a débuté dans la seconde moitié du XX^{ème} siècle avec l'émergence de la microélectronique suivie par celle des MEMS (Micro Electro Mechanical Systems). Elle fait référence aux systèmes permettant de contrôler l'écoulement de fluides dans des réseaux de canaux submillimétriques. Depuis les progrès réalisés dans la fabrication des systèmes microfluidiques à la fin des années 1990, ces derniers connaissent un véritable engouement, principalement dans les domaines de la chimie et de la biologie. Les opportunités offertes par la microfluidique d'atteindre un

haut degré d'intégration des étapes élémentaires effectuées dans les laboratoires (mélange, synthèse, séparation, analyse. . .) rendent possible la réalisation de réels « laboratoires sur puce ». La miniaturisation et la parallélisation des tests offrent également la possibilité d'effectuer rapidement des criblages de conditions expérimentales tout en ne consommant que quelques microlitres voire nanolitres de produits. Par ailleurs, les propriétés spécifiques des systèmes microfluidiques sont aussi utilisées pour obtenir des mesures difficiles à réaliser à l'échelle macroscopique : cinétiques de réactions chimiques rapides [95, 105], séparation de composés en chimie analytique [72], repliement de macromolécules biologiques [88, 90], ou encore plus récemment cristallisations de protéines jamais réalisées [46, 136].

L'objectif de la thèse présentée ici est de s'appuyer sur les avantages de la microfluidique pour proposer des nouveaux outils permettant d'acquérir plus rapidement et simplement des données thermodynamiques et cinétiques de processus de cristallisation. L'ensemble des outils développés est basé sur l'utilisation de gouttes de solution d'une centaine de nanolitres, générées et manipulées dans des dispositifs microfluidiques. Ces gouttes sont utilisées comme microréacteurs indépendants dans lesquels il est possible d'induire la formation des cristaux dans des conditions expérimentales de température et de concentration très bien contrôlées. Les différents systèmes s'appuient sur la possibilité d'observer un grand nombre de gouttes pour effectuer des criblages de conditions opératoires et accéder à des données statistiques, essentielles pour étudier par exemple les phénomènes de nucléation.

Le manuscrit est organisé en cinq parties :

- La première est consacrée à une brève synthèse bibliographique. Après une présentation des différents aspects de la cristallisation avec un accent mis sur les méthodes expérimentales de mesure, nous introduirons quelques notions concernant la microfluidique. Nous évoquerons également les différents outils microfluidiques déjà existants pour l'étude de la cristallisation.
- Le premier système microfluidique a été développé pour effectuer des criblages rapides de diagrammes de solubilité. Il est basé sur le stockage de centaines de gouttes de concentrations et de températures différentes, permettant une lecture directe sur la puce, de la limite de solubilité d'un soluté dans un solvant.
- Pour sonder les différentes formes polymorphiques dans lesquelles sont susceptibles de cristalliser un soluté, nous avons développé un second système basé sur le stockage de 150 à 300 gouttes identiques et un contrôle précis de leur température. Nous verrons que le système permet d'étudier séparément et simplement les différentes formes cristallines produites à la suite d'une étape de cristallisation induite par refroidissement. Nous expliquerons pourquoi, pour la première fois, il a été possible de mesurer la solubilité d'une forme métastable du nitrate de potassium.
- Le troisième dispositif, similaire au précédent, permet de mesurer des cinétiques de nucléation de cristaux en solution. Le principe consiste à réaliser des mesures statistiques sur l'apparition de cristaux dans plus de 300 gouttes stockées dans un canal. Nous verrons qu'à partir des expériences effectuées, il est possible de remonter au mécanisme de nucléation et de quantifier le rôle joué par les impuretés.
- Le dernier outil est également consacré à l'étude des cinétiques de nucléation. Comme le dispositif précédent, il est basé sur une mesure statistique de l'apparition de cris-

taux. Cependant, cette fois-ci les gouttes s'écoulent en permanence dans un canal, ce qui permet d'appliquer des trempes en température importantes et ainsi d'observer des cinétiques particulièrement rapides.

Chapitre 1

Cristallisation et microfluidique, un couplage à fort potentiel

1.1 Introduction à la cristallisation

La cristallisation est l'une des opérations les plus anciennes pratiquées dans le domaine de la chimie. C'est une technique de séparation et de purification employée pour produire une grande variété de matériaux. La cristallisation est définie comme un changement de phase au cours duquel un solide cristallin est obtenu à partir d'une phase généralement liquide. Cette dernière peut être constituée d'un composé unique tel que le silicium fondu utilisé pour fabriquer les supports en microélectronique. Elle peut aussi être une solution, définie comme un liquide contenant des espèces sous forme dispersée (ions ou molécules solvatés), tel que le sel dans l'eau de mer. Par la suite, nous nous consacrerons uniquement à ce deuxième cas.

Malgré l'importance de la cristallisation dans les procédés de l'industrie chimique, et malgré les travaux de recherche abondants dont elle a fait l'objet, dans la pratique l'étape de cristallisation dans l'industrie a été pendant longtemps considérée plutôt comme un art que comme une science [30, 79]. Depuis le début des années 1990, l'essor des industries pharmaceutiques, alimentaires et de biotechnologie a permis d'engendrer un intérêt nouveau et grandissant pour les techniques de cristallisation [79]. Les domaines de recherche sur ce sujet sont nombreux ; ils concernent par exemple les études fondamentales sur les premières étapes de formation des cristaux [57, 134], le contrôle des structures cristallines [121], la mise au point de nouveaux outils permettant d'effectuer des criblages à haut débit de conditions expérimentales [25], et bien d'autres encore. Les enjeux sont très importants puisque des étapes de cristallisation dépendent la pureté du produit final, sa structure cristalline, sa distribution de taille, sa morphologie et ses propriétés physico-chimiques [76].

L'objectif de la première partie de ce chapitre, est de présenter les principaux aspects théoriques et pratiques concernant la cristallisation. Comme les travaux de cette thèse portent sur le développement de nouveaux outils pour étudier la cristallisation, un accent particulier sera mis sur la description des techniques expérimentales de mesure.

1.1.1 Solubilité

Définition

Une solution liquide est une phase homogène constituée généralement d'un solvant dans lequel une ou plusieurs substances moléculaires, appelées solutés, sont dispersées. La solubilité est la quantité maximale de soluté pouvant être dissout dans un solvant à une température et une pression données. Dans ce manuscrit, elle sera toujours exprimée en gramme de soluté pour cent grammes de solvant (g / 100 g). Lorsque le maximum est atteint, la solution est dite saturée. Dans cet état, le système est à l'équilibre thermodynamique et il y a par conséquent égalité des potentiels chimiques du soluté μ_s en solution et du soluté sous forme solide μ_c . Le potentiel chimique du soluté en solution s'écrit :

$$\mu_s = \mu_0 + kT \ln \gamma x \quad (1.1)$$

avec μ_0 le potentiel standard, x la fraction molaire en soluté dans la solution, γ le coefficient d'activité du soluté, k la constante de Boltzmann, et T la température de la solution [76]. $\gamma = 1$ lorsque la solution est idéale, c'est-à-dire lorsque les interactions entre les molécules du solvant et les molécules du soluté sont les mêmes que celles entre les molécules du soluté.

La solubilité est reliée à la compétition entre les interactions à l'intérieur du solide (Van der Waals, électrostatiques...) et celles entre les molécules du solvant et les molécules du soluté. Dans le cas des molécules organiques, en général, plus le solvant « ressemble » au soluté (groupements polaires, chaîne carbonée), plus la solubilité est grande. Dans la majorité des cas, la solubilité d'un soluté dans un solvant augmente avec la température. La solubilité de plusieurs composés dans l'eau en fonction de la température est présentée sur la figure 1.1.

Méthodes de mesure

Il existe principalement deux techniques de mesure de la solubilité d'un soluté dans un solvant. La première est basée sur une variation lente de la température et la seconde, dite isotherme, est effectuée à température constante.

Le mode opératoire de la première méthode consiste à remplir un réacteur thermalisé et agité, avec une composition solvant / soluté connue. Il faut que le soluté soit en excès à la température minimale du réacteur et qu'il soit totalement dissout à la température maximale. En partant d'une température basse (une partie du soluté est sous forme solide), le réacteur est progressivement chauffé jusqu'à ce que tout les cristaux se soient dissous. Typiquement, le taux de variation de la température est de l'ordre de $0.2 \text{ }^\circ\text{C min}^{-1}$. À ce point, la température de solubilité de la solution est atteinte. Le plus souvent le moment où les cristaux disparaissent complètement est observé à l'œil nu. D'autres méthodes basées sur des mesures de l'indice de réfraction, la conductivité, la diffusion de la lumière, la densité, la calorimétrie [79, 85, 94]..., peuvent toutefois également être utilisées. Cette technique de mesure permet d'atteindre une précision de $\pm 0.1 \text{ }^\circ\text{C}$.

La méthode isotherme est également réalisée à partir d'une composition connue en soluté et en solvant introduite dans un réacteur agité, mais cette fois la température est fixée.

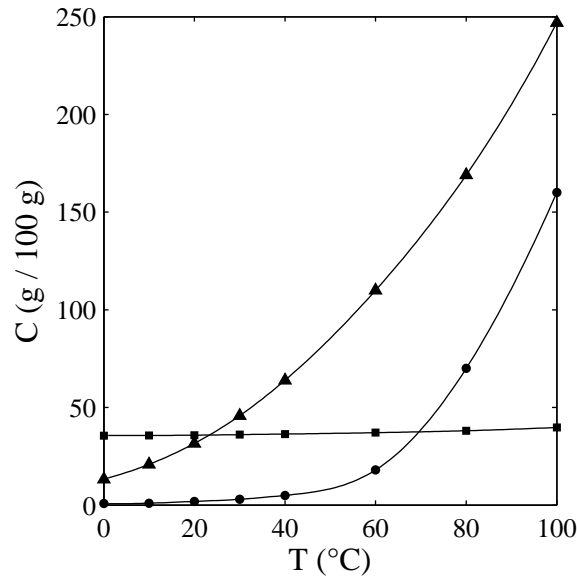


FIG. 1.1 – Courbe de solubilité de trois composés dans l'eau : (●) acide adipique ; (■) chlorure de sodium ; (▲) nitrate de potassium.

La thermalisation du réacteur doit être effectuée de façon très précise et à la température de travail, il faut que le soluté soit en excès. Une fois que le mélange est à l'équilibre, le solvant pur est ajouté par petites quantités connues et par intervalles de temps longs (typiquement 1 h). La limite de solubilité est atteinte lorsque suffisamment de solvant a été ajouté pour que tout le soluté se soit dissout. Une seconde méthode isotherme consiste dans un premier temps, à agiter un mélange contenant un excès de soluté pendant un temps long (typiquement 24 h), et ensuite à mesurer la concentration en soluté dissout dans le solvant (extrait sec, dosage...).

1.1.2 Sursaturation

À l'équilibre thermodynamique, tant que la concentration C d'un soluté dans un solvant est inférieure ou égale à la solubilité C^* , le soluté est entièrement dissout. Pour le faire cristalliser, il faut que la solution soit sursaturée, c'est-à-dire que la concentration en soluté soit supérieure à C^* . Lorsque la solution est sursaturée, la force motrice de la cristallisation est la différence entre le potentiel chimique μ du soluté dans la solution et du potentiel chimique μ^* à l'équilibre cristal / solution. Cette différence s'écrit :

$$\Delta\mu = \mu - \mu^* = kT \ln S, \quad (1.2)$$

où k est la constante de Boltzman, T la température, et S est la sursaturation donnée par :

$$S = \frac{a_1^{n_1} a_2^{n_2} \dots a_j^{n_j}}{a_1^{*n_1} a_2^{*n_2} \dots a_j^{*n_j}}, \quad (1.3)$$

dans le cas de cristaux ioniques composés de molécules qui se dissocient dans la solution en ions du type $i = 1, 2, \dots, j$. n_i est le nombre d'ions i dans une molécule du cristal, a_i et a_i^* sont respectivement les activités des ions i dans la solution initiale et dans la solution à l'équilibre cristal / solution. Comme il est parfois difficile de connaître l'activité d'un composé dans une solution loin de son équilibre thermodynamique, l'hypothèse des solutions diluées est souvent admise. Elle permet d'assimiler le rapport des activités au rapport entre les concentrations initiales C_i et à l'équilibre C_i^* . On a alors :

$$S = \frac{C_1^{n_1} C_2^{n_2} \dots C_j^{n_j}}{C_1^{*n_1} C_2^{*n_2} \dots C_j^{*n_j}}. \quad (1.4)$$

Dans le cas de cristaux non-ioniques, la sursaturation s'écrit simplement :

$$S = \frac{C}{C^*}, \quad (1.5)$$

avec C et C^* respectivement les concentrations du soluté dans la solution initiale et à l'équilibre. Par définition, si $S > 1$ le soluté cristallise, si $S < 1$ les cristaux se dissolvent et si $S = 1$ ils sont à l'équilibre.

De façon pratique, il existe différentes manières de sursaturer une solution. Dans le cas où la solubilité d'un soluté augmente fortement avec la température, la solution est généralement sursaturée par refroidissement en-dessous de sa température de solubilité. Lorsque la solubilité varie peu avec la température, la sursaturation est plutôt obtenue à température constante par évaporation du solvant ou par ajout d'un « mauvais » solvant. La sursaturation peut également être établie par précipitation, c'est-à-dire par une réaction chimique entre le soluté et une autre substance chimique produisant un composé très faiblement soluble. Cette méthode permet de produire des sursaturations très élevées [82]. Il existe encore d'autres techniques mais que nous ne présenterons pas ici (changement de pH, ...).

Pour faire cristalliser un soluté initialement complètement dissout dans un solvant, il faut donc sursaturer la solution. Cependant, en pratique, lorsque la solution est sursaturée l'apparition des cristaux n'est pas instantanée, il faut attendre un certain temps d'induction qui dépend entre autres du degré de sursaturation. Ce phénomène s'explique par le processus de *nucléation*.

1.1.3 Nucléation

Le mécanisme de nucléation intervient lors des transitions de phase du premier ordre. Il correspond à l'étape de formation du premier germe, ou nucléus, de la nouvelle phase qui pourra ensuite croître. La nucléation est un processus que l'on retrouve dans un grand nombre de phénomènes tels que la formation des nuages, de la glace, ou encore des bulles dans un verre de champagne. C'est un processus activé où des fluctuations de densité et de structure mènent à des germes de la nouvelle phase. Les germes doivent passer une barrière d'énergie pour qu'ils puissent croître jusqu'à une taille macroscopique. À cause des

dimensions nanométriques mises en jeu (le germe n'est constitué que de quelques atomes) il est difficile d'observer la nucléation expérimentalement.

Dans le cas de la cristallisation, il existe différents types de nucléation qui peuvent être classés en deux catégories : la nucléation primaire et la nucléation secondaire. On parle de nucléation primaire lorsque les germes se forment dans une solution exempte de cristaux. Elle est dite homogène, si le germe apparaît en solution sans contact avec un corps étranger (parois du réacteur, particules solides...). Elle est hétérogène dans le cas contraire, si le germe se forme sur un support, appelé communément impureté (cf. figure 1.2.a). La nucléation est secondaire lorsque des cristaux déjà présents dans la solution permettent l'apparition de nouveaux nucléi de la même phase [76]. Ce type de nucléation ne sera pas considéré dans la suite du manuscrit.

Théorie classique de la nucléation

Nucléation homogène

La théorie classique de la nucléation est issue des travaux de Gibbs [37], Volmer et Weber [125], Becker et Döring [10] entre la fin du XIX^{ème} et le début du XX^{ème} siècle. Elle fut initialement basée sur la condensation de la vapeur en liquide puis étendue à la cristallisation dans un milieu fondu ou en solution. La théorie utilise les lois de la thermodynamique pour déterminer l'énergie libre d'un nucléus. Celle-ci est constituée d'un premier terme traduisant le gain d'énergie en volume et d'un second correspondant au coût de l'interface nucléus / solution. Dans le cas de la nucléation homogène et si le nucléus est sphérique de rayon R , l'énergie libre s'écrit :

$$\Delta F = -\frac{4\pi}{3\nu_0}R^3\Delta\mu + 4\pi R^2\sigma, \quad (1.6)$$

avec ν_0 (m³) le volume moléculaire de la nouvelle phase, $\Delta\mu$ (J) est la différence entre le potentiel chimique de la phase constituant le germe et celui du soluté en solution (son expression est donnée par l'équation 1.2, σ (J m⁻²) est la tension de surface du germe cristallin dans la solution. Bien que ν_0 et σ caractérisent des objets nanométriques (nucléi), la théorie fait l'hypothèse que leurs valeurs sont identiques à celles des objets macroscopiques. Le volume moléculaire est donc donné par $\nu_0 = M/\rho N_A$, M (g mol⁻¹) étant la masse volumique du cristal, ρ (g m⁻³) sa densité et N_A le nombre d'Avogadro. σ est la tension de surface moyenne du cristal dans la solution [57].

La dépendance de l'énergie libre avec le rayon du germe est représentée sur la figure 1.2.b. Elle montre qu'un germe doit atteindre une taille critique de rayon R^* pour pouvoir grossir jusqu'à une taille macroscopique. Pour former ce germe « critique » appelé nucléus, il faut d'abord passer une barrière d'énergie ΔF^* qui est obtenue par simple dérivation :

$$\Delta F^* = \frac{16\pi\nu_0^2\sigma^3}{3(kT)^2 \ln^2 S}. \quad (1.7)$$

Le rayon du germe critique est donné par :

$$R^* = \frac{2\nu_0\sigma}{kT \ln S}. \quad (1.8)$$

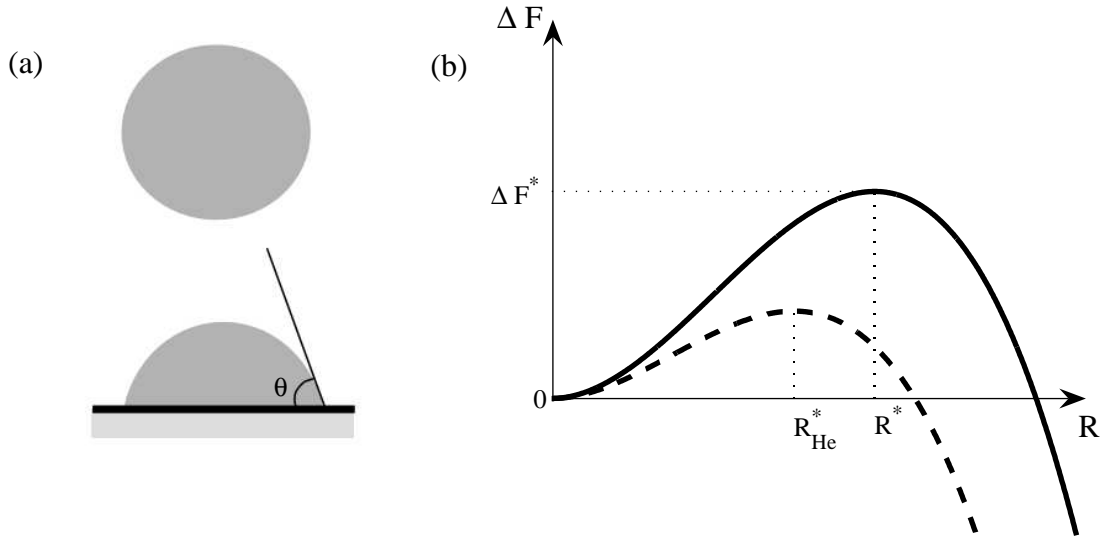


FIG. 1.2 – (a) Nucléation homogène d’un germe sphérique et nucléation hétérogène sur un substrat. θ est l’angle de contact entre le germe et le substrat. (b) Énergie libre ΔF en fonction du rayon R du germe dans les cas de la nucléation homogène (trait plein) et hétérogène (tirets).

À partir de la barrière d’énergie ΔF^* , la théorie classique de la nucléation exprime le nombre de nucléi formés par unité de temps et de volume, appelé taux de nucléation J , par le produit d’un terme exponentiel et d’un préfacteur :

$$J = c_n Z f^* \exp\left(-\frac{\Delta F^*}{kT}\right), \quad (1.9)$$

où c_n est la concentration en sites de nucléation en solution, Z est le facteur de Zeldovich et f^* est la fréquence d’attachement des molécules au germe [57]. Le terme exponentiel traduit la probabilité de passer la barrière d’énergie pour former un nucléus. Dans le cas de la nucléation homogène, chaque molécule de la solution est potentiellement un site de nucléation. c_n est donc égal à la concentration en molécules en solution, de l’ordre de 10^{28} – 10^{29} m^{-3} . Il existe principalement deux mécanismes pour décrire la fréquence d’attachement : un mécanisme contrôlé par la réaction et l’autre gouverné par la diffusion des molécules à la surface du germe. Dans le second cas, et pour les nucléi sphériques de rayon R^* , $f^* \approx 4\pi C^* S D R^*$, D étant le coefficient de diffusion des molécules [57]. Le facteur de Zeldovich traduit le fait que la probabilité qu’un nucléus au niveau du maximum de la barrière d’énergie continue à grossir pour former un cristal, est inférieure à un. Z est de l’ordre de 0.1–0.01 [101].

En utilisant les expressions théoriques de Z et f^* , le taux de nucléation peut s’écrire de manière générale :

$$J = A S \exp(-B / \ln^2 S), \quad (1.10)$$

où B est donné par :

$$B = \frac{16\pi\nu_0^2\sigma^3}{3(kT)^3}, \quad (1.11)$$

et le préfacteur A est compris entre 10^{26} – 10^{30} $\text{m}^3 \text{s}^{-1}$. La figure 1.3.a présente le comportement du rapport J/S en fonction de la sursaturation. Elle permet de montrer que le rapport tend vers A lorsque S tend vers l'infini, et l'insert illustre le fait que le taux de nucléation augmente brusquement sur une gamme étroite de la sursaturation. Ceci signifie qu'à volume fixé, la formation des nucléi passe d'une cinétique très lente à une cinétique extrêmement rapide pour une faible variation de la sursaturation. Pour cette raison, le domaine où la cinétique est très lente est souvent considéré comme une zone métastable, et la gamme de sursaturation où le taux de nucléation augmente rapidement correspond à la limite de cette zone.

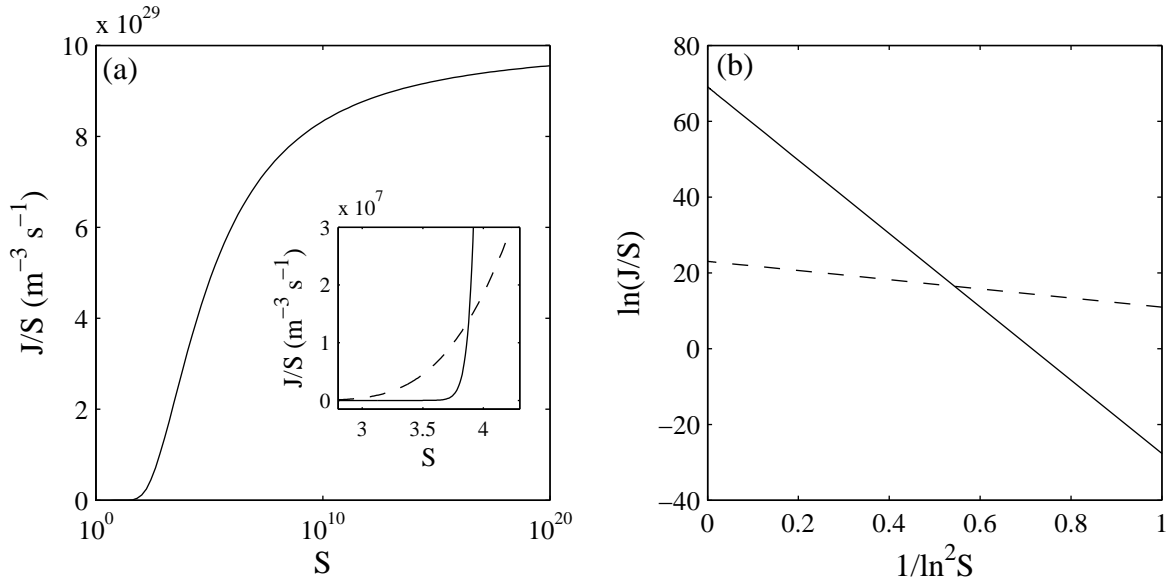


FIG. 1.3 – (a) Taux de nucléation divisé par la sursaturation (J/S) en fonction de la sursaturation dans le cas homogène. Dans l'insert, zoom sur une gamme étroite de sursaturation. La courbe en trait plein correspond à la nucléation homogène et celle en tirets correspond à la nucléation hétérogène. (b) $\ln(J/S)$ en fonction de $1/\ln^2 S$ dans les cas homogène (trait plein) et hétérogène (tirets). Pour tracer ces courbes, il a été choisi pour le cas homogène : $B_{\text{HO}} = 97$, $A_{\text{HO}} = 10^{30} \text{m}^3 \text{s}^{-1}$, et pour le cas hétérogène : $B_{\text{HE}} = B_{\text{HO}}/8$ et $A_{\text{HE}} = 10^{10} \text{m}^3 \text{s}^{-1}$.

Nucléation hétérogène

La nucléation hétérogène est également un processus activé et le taux de nucléation est de la même forme que celui de la nucléation homogène lorsque toutes les impuretés ont la même barrière d'énergie. Le taux de nucléation est donc donné par la relation 1.10 mais avec des

valeurs différentes pour A et B . En effet, la concentration en sites de nucléation n'est plus la concentration en molécules mais la concentration en impuretés c_i . De plus, la tension de surface doit être remplacée par une tension de surface effective $\sigma_{\text{eff}} = \sigma f_s(\theta)$, prenant en compte le contact nucléus / substrat. f_s est une fonction comprise entre 0 et 1. Elle dépend de l'angle de mouillage θ déterminé par l'équation d'Young $\cos \theta = (\sigma_s - \sigma_{cs})/\sigma$, avec σ_s et σ_{cs} les tensions de surface respectives entre le substrat et la solution et entre le nucléus et le substrat. Tant que $\theta < 180^\circ$, $\sigma_{\text{eff}} < \sigma$. Comme le montre la figure 1.2, la barrière d'énergie à passer pour former un nucléus dans le cas hétérogène est plus faible que dans le cas homogène. Toutefois, le taux de nucléation hétérogène n'est pas toujours supérieur au taux de nucléation homogène. En effet, comme l'indique la figure 1.3, le taux de nucléation homogène devient supérieur à l'hétérogène aux fortes sursaturations. Ce changement est dû à une différence très importante entre les valeurs du préfacteur A ($A_{\text{HE}} \ll A_{\text{HO}}$). De façon générale, à faible sursaturation le mécanisme de nucléation hétérogène domine.

Validité de la théorie

La théorie classique de la nucléation homogène a été validée par un grand nombre d'expériences basées principalement sur la technique des gouttes décrite dans la section suivante [134]. Ces expériences concernent la condensation de la vapeur comme celle du n-butanol réalisée par Viisanen *et al.* [124], et la solidification d'un liquide pur dans les cas par exemple de composés organiques [62, 117], inorganiques [15], de polymères [39] et de métaux [116]. Toutes ces expériences ont permis de retrouver le bon ordre de grandeur du taux de nucléation prédit par la théorie. Pour rendre la théorie encore plus réaliste, un certain nombre de raffinements y ont été apportés, prenant en compte par exemple la forme non sphérique des nucléi [134] et la surpression à l'intérieur des germes [17].

Dans le cas de la nucléation hétérogène d'un solide à partir d'un liquide pur, la théorie est plus difficile à vérifier expérimentalement. En effet, cela exige un substrat propre, parfaitement défini et qui active le processus de nucléation, alors que de manière générale ils ont des géométries diverses et possèdent des surfaces dont l'activité par rapport à la nucléation peut être variée [134]. L'influence de la taille et de la forme des impuretés sur le taux de nucléation a été étudiée de façon théorique par plusieurs groupes [70, 101], mais il existe très peu d'expériences sur ce sujet.

En ce qui concerne la nucléation homogène en solution, de nombreux doutes persistent à cause principalement de la présence permanente d'impuretés qui empêche d'observer la nucléation homogène [134]. Même les groupes qui ont utilisé la technique des gouttes n'ont pu constater que la nucléation hétérogène [74, 128]. Seules les expériences de précipitation, permettant d'atteindre des sursaturations extrêmement élevées, offrent la possibilité d'observer la nucléation homogène (cf. figure 1.3.b) [83]. Par ailleurs, des discussions ont lieu sur les hypothèses de la théorie, souvent considérées comme trop simplificatrices [34]. Par exemple, l'utilisation de la tension de surface solide / solution σ dans l'équation 1.7, n'a sans doute pas beaucoup de sens pour des germes nanométriques tels que les nucléi [76]. De plus, la théorie suppose que les nucléi ont déjà la même organisation moléculaire que la forme macroscopique des cristaux, ce qui signifie que lors de la nucléation, les proces-

sus de changement de densité et d'organisation doivent avoir lieu simultanément [122]. Des travaux récents réalisés sur la cristallisation de colloïdes remettent en cause certaines hypothèses de la théorie [1, 31, 36]. Ils montrent tout d'abord que les nucléi ne sont pas sphériques et que leur tension de surface varie selon la face. Il apparaît également que les tensions de surface mesurées sont pratiquement sept fois plus faibles que celles prédites par les simulations et que la structure interne du cristal n'est pas celle attendue.

Depuis quelques années, une nouvelle théorie suggère que dans certaines conditions la nucléation d'un cristal est probablement un processus à deux étapes : une première étape de formation d'une phase dense en soluté, métastable par rapport au cristal, suivie d'une deuxième étape où les molécules s'ordonnent pour former le cristal [58, 122, 130]. Cette théorie est la conclusion de travaux réalisés sur des protéines modèles en solution, montrant que les fluctuations de densité qui ont lieu proche de la zone de séparation liquide-liquide favorisent la cristallisation [109, 130]. Les fluctuations de densité ont pour effet de diminuer la barrière d'énergie à passer pour former les nucléi. Un modèle permettant d'exprimer le taux de nucléation dans le cas du mécanisme à deux étapes a été introduit par Kashchiev *et al.* [58]. Il est basé sur l'hypothèse que des particules denses en soluté nucléent dans la solution et ensuite que des cristaux nucléent à l'intérieur de ces particules, les cristaux et les particules ayant des taux de nucléation différents. Un schéma de ce mécanisme est représenté sur la figure 1.4.

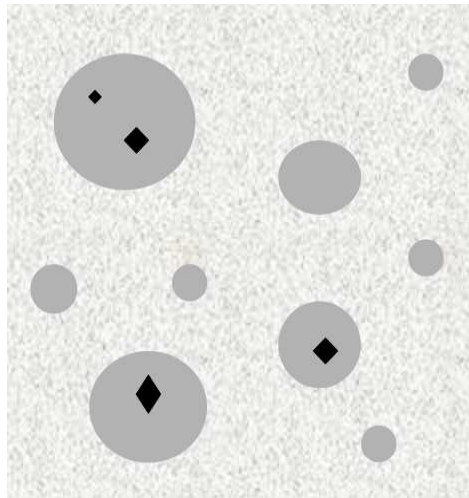


FIG. 1.4 – Mécanisme de nucléation à deux étapes. Les cristaux (noir) nucléent dans des particules intermédiaires denses en soluté (gris).

Techniques expérimentales de mesure du taux de nucléation

Méthode de mesure classique

Comme la nucléation est un phénomène statistique et que la taille des nucléi est nanométrique, leur formation ne peut pas être observée directement, elle doit être mesurée par

des méthodes indirectes. Dans l'industrie, la technique classique de mesure du taux de nucléation est basée sur la mesure de la distribution de taille des cristaux dans un réacteur continu où la sursaturation est maintenue constante [79]. En théorie, en supposant que toutes les particules sont issues d'événements de nucléation identiques (pas de phénomène d'attrition [77]), la densité de cristaux de taille caractéristique L , noté $n(L)$, doit être de la forme :

$$n(L) = n^0 e^{-L/G\tau}, \quad (1.12)$$

avec n^0 la condition limite représentant la densité de particules de taille « nulle » par unité de volume ($n(0) = n^0$), G (m s^{-1}) le taux de croissance des cristaux supposé indépendant de L , et τ (s) le temps moyen de séjour dans le réacteur. Ainsi, si τ est connu, le tracé semilogarithmique de la densité n en fonction de la taille L des cristaux, présenté sur la figure 1.5, permet d'accéder à n^0 à partir de l'ordonnée à l'origine et de calculer G grâce à la pente. Si $N(L)$ est le nombre de cristaux de taille inférieure à L par unité de volume,

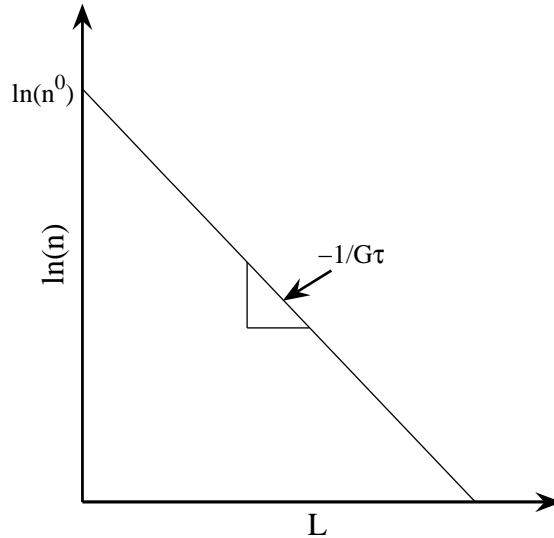


FIG. 1.5 – Tracé semilogarithmique de la densité de population de cristaux n en fonction de la taille caractéristique L .

on a :

$$N(L) = \int_0^L n(l) dl, \quad (1.13)$$

et par conséquent, le taux de nucléation peut s'écrire :

$$J = \left. \frac{dN}{dt} \right|_{L \rightarrow 0} = \left[\frac{dN}{dL} \frac{dL}{dt} \right]_{L \rightarrow 0} = n^0 G. \quad (1.14)$$

La mesure de la distribution de taille permet donc de déterminer à la fois le taux de nucléation et le taux de croissance des cristaux. Cette méthode donne cependant un taux

de nucléation moyen, sans faire la différence entre les modes de nucléation primaire et secondaire, et sans prendre en compte la présence d'impuretés ou encore les phénomènes d'attrition liés à l'agitation [77].

Mesure de nucléation lors de précipitation

La nucléation homogène peut être obtenue dans le cas de la précipitation à partir de techniques décrites par Nielsen [83]. La précipitation permet en effet d'atteindre des sursaturations suffisamment élevées pour que le taux de nucléation homogène soit supérieur au taux de nucléation hétérogène. Un dispositif expérimental, couramment appelé « stop flow », permet de mélanger rapidement deux réactifs et de mesurer à la fois le temps τ à partir duquel les premiers cristaux deviennent visibles et la quantité N de particules formées. Le taux de nucléation est déterminé par $J = N/(V\tau)$, où V est le volume de réactif utilisé. La sursaturation est supposée constante lors du processus de nucléation. Dans le cas de la précipitation du sulfate de baryum, Nielsen montre que le tracé logarithmique du nombre de particules en fonction de la concentration initiale en soluté présente une rupture de pente à une concentration critique. Cette rupture est interprétée comme le changement de régime entre la nucléation hétérogène et la nucléation homogène.

Méthode des gouttes

Pour mesurer les taux de nucléation homogène dans le cas de la cristallisation, une autre méthode a été introduite par Vonnegut [126] et Turnbull [116] au début des années 1950. Elle est basée sur la cristallisation dans un grand nombre de gouttes dispersées dans un milieu inerte, c'est-à-dire qui n'influence pas les événements de nucléation. Cette technique présente tout d'abord la possibilité de travailler avec des gouttes sans impuretés lorsque le nombre de gouttes de solution dispersée est grand devant la quantité d'impuretés initialement présente dans la solution. Comme le montre la figure 1.6, les impuretés sont alors confinées dans un petit nombre de gouttes et dans toutes les autres la solution est vierge de tout corps étranger. La méthode des gouttes permet également d'étudier simultanément un grand nombre d'expériences de cristallisation. Cette possibilité s'avère essentielle à la fois pour les expériences de nucléation homogène et hétérogène puisque le caractère statistique des événements de nucléation rend nécessaire l'observation d'un grand nombre de tests pour obtenir des résultats significatifs.

Dans le cas où les gouttes sont parfaitement monodisperses, de volume V , et que la nucléation est mononucléaire, c'est-à-dire qu'il n'y a qu'un seul événement de nucléation par goutte, le taux de nucléation est directement relié à la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux au cours du temps. En effet, si au temps t , $P(t)$ est la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux, la probabilité au temps $t + dt$ est donnée par :

$$P(t + dt) = P(t)(1 - JVdt) . \quad (1.15)$$

$JVdt$ est la probabilité qu'un cristal nucléé dans une goutte de volume V pendant le temps dt . Le produit JV est la fréquence de nucléation dans les gouttes. En intégrant l'équation 1.15, et en prenant comme condition initiale $P(t = 0) = 1$ (toutes les gouttes

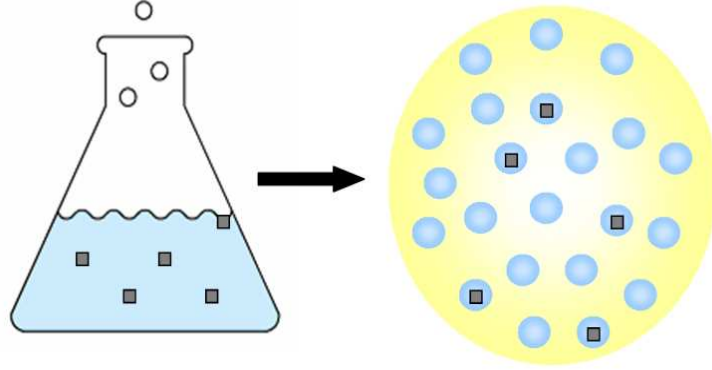


FIG. 1.6 – Principe de la méthode des gouttes. Les carrés gris représentent les impuretés initialement présentes dans le bécher. Par dispersion de la solution, elles deviennent confinées dans un nombre restreint de gouttes. Les autres gouttes ne possèdent aucune impureté.

sont vides à $t = 0$), on obtient :

$$P(t) = \exp(-JVt). \quad (1.16)$$

Si la nucléation est polynucléaire dans les gouttes, la relation 1.16 n'est pas vérifiée. Pour que la nucléation soit mononucléaire, il faut qu'après nucléation, un cristal croisse suffisamment vite pour que la concentration en solution, et donc le taux de nucléation, deviennent très faibles avant qu'un second événement de nucléation ait lieu. Cette condition est respectée si le temps caractéristique de croissance des cristaux t_c est très petit devant le temps de nucléation $t_n = 1/JV$. Le temps de croissance est défini par $t_c = V_c^{1/3}/G$, avec G (m s^{-1}) la vitesse de croissance des cristaux, et V_c le volume atteint par le cristal une fois qu'il a consommé assez de soluté en solution pour que la concentration C_{lent} restante en soluté corresponde à une très faible probabilité de nucléation dans la goutte. Si la concentration limite C_{lent} est connue, V_c peut être obtenu en écrivant la conservation de la masse :

$$C_{\text{in}}m_g = C_{\text{lent}}m_g + m_c, \quad (1.17)$$

où C_{in} est la concentration initiale en soluté dans la solution, m_g la masse de solvant dans une goutte et m_c la masse d'un cristal de volume V_c . En exprimant m_c en fonction de V_c , de la masse molaire M du cristal, de son volume moléculaire ν_0 et du nombre d'Avogadro N_A , on trouve :

$$V_c = \frac{\nu_0 N_A m_g C_{\text{in}}}{M} \left(1 - \frac{S_{\text{lent}}}{S}\right), \quad (1.18)$$

avec S la sursaturation initiale et S_{lent} la sursaturation à la concentration C_{lent} . Dans les gouttes, la nucléation est donc mononucléaire si $JVV_c^{1/3}/G \ll 1$. Comme V_c est propor-

tionnel au volume du réacteur à C_{in} fixée, plus V est petit, plus il y a de chance que le mécanisme soit mononucléaire.

Dans la référence [116], Turnbull a utilisé la méthode des gouttes pour mesurer la cinétique de solidification de gouttelettes de mercure liquide. Pour réaliser ces expériences, les gouttes de mercure de diamètre variant de 2 à 8 μm , sont produites en agitant du mercure liquide dans une huile organique ou silicone. Divers additifs sont ajoutés à la solution afin d'étudier l'influence de l'état de surface des gouttes. La sursaturation est induite par refroidissement et la mesure de la proportion de gouttes cristallisées au cours du temps est effectuée par dilatométrie. Comme les gouttes n'ont pas le même volume, une mesure préliminaire de la polydispersité est effectuée. Turnbull montre que pour certaines compositions chimiques de l'interface goutte / huile, les mesures des taux de nucléation sont cohérentes avec la théorie classique de la nucléation homogène. Les préfacteurs A mesurés sont du bon ordre de grandeur. Pour d'autres compositions, la proportionnalité entre la fréquence de nucléation et la surface des gouttes indiquent que la nucléation est hétérogène.

Ces expériences montrent que la méthode des gouttes permet bien, a priori, de mesurer des taux de nucléation homogène dans le cas de la solidification de liquides purs. En revanche, d'autres groupes ont tenté d'utiliser cette technique pour la cristallisation de solutés à partir d'une solution, et à chaque fois, les variations du taux de nucléation au cours du temps et les faibles valeurs du préfacteur A (comprises entre 10^7 et $10^{11} \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$) indiquent que la nucléation est hétérogène [74, 128]. Cela est dû principalement au fait que la concentration en impuretés est typiquement comprise entre 10^6 et 10^8 par millilitre de solution [134]. Ainsi, pour que la nucléation homogène puisse être observée, le diamètre des gouttes doit être inférieur à 10 μm . Dans pratiquement toutes les expériences, cette condition n'est pas vérifiée. De plus, quelque soit la taille des gouttes, la nucléation peut toujours être catalysée à l'interface de la goutte.

1.1.4 Croissance des cristaux

Dès qu'un germe a atteint la taille critique, il peut grossir pour former un cristal macroscopique. La croissance cristalline est un aspect fondamental de la cristallisation puisqu'elle permet par exemple de contrôler la morphologie et le faciès des cristaux. Bien qu'il existe une littérature très riche concernant ce phénomène, nous nous contenterons dans ce manuscrit d'introduire la relation la plus couramment utilisée pour modéliser la cinétique de croissance. En général le taux de croissance des cristaux est déterminé par un modèle théorique de diffusion-réaction qui mène à :

$$G = K(C - C^*)^g = K'(S - 1)^g, \quad (1.19)$$

avec G (m s^{-1}) le taux de croissance, K (m s^{-1}) un coefficient global de la croissance, $K' = K/C^{*g}$, C ($\text{g} / 100 \text{ g}$ de solvant) la concentration de la solution sursaturée, C^* la concentration à l'équilibre et g un exposant compris entre 1 et 2 souvent considéré comme l'ordre du processus de cristallisation [79]. Cette relation montre que la sursaturation est le moteur de la croissance.

1.1.5 Polymorphisme

Le polymorphisme est la capacité qu'a une substance de cristalliser sous au moins deux structures cristallines différentes. Des polymorphes ont une composition chimique identique mais ils présentent des variations dans l'arrangement interne des atomes, ions ou molécules. Ce phénomène a été découvert par Klaproth en 1788, lorsqu'il a mis en évidence l'existence des formes calcite et aragonite du carbonate de calcium. Le polymorphisme est un phénomène fréquent en cristallisation et particulièrement dans le cas des molécules organiques. D'après McCrone, « le nombre de polymorphes découverts semble souvent être proportionnel au temps passé et à l'argent dépensé pour les rechercher » [30]. Les polymorphes peuvent présenter des propriétés physiques et chimiques différentes telles que le point de fusion, la solubilité, la dureté, le faciès des cristaux, les propriétés optiques ou la réactivité chimique. Pour ces raisons, ils jouent un rôle considérable sur l'utilisation finale du produit et c'est pourquoi un intérêt grandissant leur est porté aussi bien au niveau scientifique qu'au niveau industriel [99]. Par exemple, dans le domaine pharmaceutique, la biodisponibilité d'une molécule active peut dépendre de la forme polymorphique dans laquelle elle est cristallisée [45]. Pour éviter des problèmes majeurs, lorsqu'une nouvelle molécule est synthétisée il est essentiel dans un premier temps de déterminer les différents polymorphes susceptibles de se former, d'étudier leurs stabilités relatives, et de connaître leur cinétique d'apparition et de transition.

L'objectif de cette section est d'introduire brièvement les différents aspects thermodynamiques et cinétiques du polymorphisme. Nous présenterons également différentes méthodes de détection ainsi que certaines techniques de sélection de polymorphes.

Stabilité thermodynamique

Deux polymorphes d'une même substance sont considérés comme deux phases distinctes. Pour qu'ils coexistent à l'équilibre, il faut que la loi de variance de Gibbs soit respectée :

$$F = N - P + 2, \quad (1.20)$$

F est la variance, N le nombre de substances et P le nombre de phases. Dans le cas de deux polymorphes, $F = 1$. Le système ne possède donc qu'un seul degré de liberté. Ainsi, si la pression est fixée, deux polymorphes ne peuvent coexister qu'à une température donnée, et réciproquement si la température est fixée.

La stabilité relative entre deux polymorphes dépend de leur énergie libre, le plus stable est celui dont l'énergie libre est la plus basse. Ainsi, dans des conditions de température et de pression spécifiques, en dehors des points de transition, il ne peut exister qu'un seul polymorphe stable, les autres sont « métastables » et sont potentiellement capables de se transformer en polymorphe plus stable. Dans certains cas le temps caractéristique de transformation d'un polymorphe métastable en forme stable peut être infiniment long.

En exprimant la différence de potentiel chimique entre deux polymorphes (notés A et

B), en fonction de leurs activités respectives a_A et a_B , on peut écrire :

$$\Delta\mu_{AB} = \mu_A - \mu_B = RT \ln \frac{a_A}{a_B}, \quad (1.21)$$

et en faisant l'approximation $\gamma_A = \gamma_B$:

$$\Delta\mu_{AB} = RT \ln \frac{C_A}{C_B}, \quad (1.22)$$

avec C_A et C_B les concentrations à la limite de solubilité de chacun des polymorphes à la température T . Le plus stable est donc celui dont la solubilité est la plus faible. De façon similaire, on montre qu'à pression constante, la phase stable possède également la température de fusion la plus élevée [99].

Cinétique de cristallisation, règle d'Ostwald

La formation des polymorphes est souvent gouvernée par la cinétique plutôt que par la thermodynamique. Dans de nombreux cas de procédés de cristallisation, les polymorphes métastables apparaissent avant les formes stables. Ostwald fut le premier en 1897 [86] à rapporter ce phénomène, et il érigea en règle qu'un système chimique ne tendait pas directement vers l'état le plus stable, mais tendait plutôt vers l'état métastable qui lui était le plus voisin.

Afin d'illustrer ce phénomène, nous avons schématisé sur la figure 1.7 les courbes de solubilité de deux polymorphes A et B. La phase A est moins soluble que la phase B sur

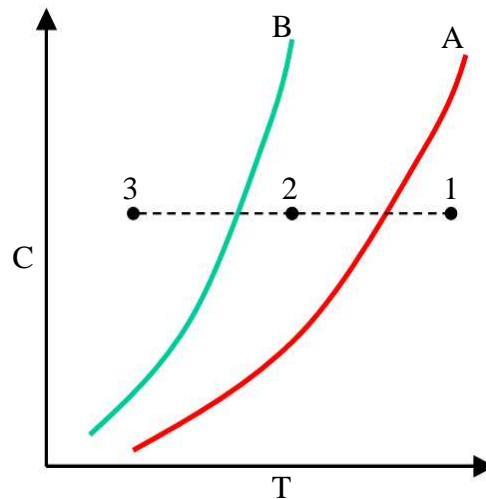


FIG. 1.7 – Courbes de solubilité de deux polymorphes A et B. À la position 1 la solution est sous-saturée pour les deux polymorphes. En 2, la solution n'est sursaturée que par rapport au polymorphe A, et en 3 elle est sursaturée par rapport à A et B.

toute la gamme de température, A est donc toujours la forme stable. Lorsque le système est refroidi du point 1 au point 2, seule la forme stable peut cristalliser puisque la solution est toujours sous-saturée pour B ($S_B < 1$). En revanche, au point 3, la solution est sursaturée par rapport aux deux phases. Mais bien que $S_A > S_B$, c'est souvent la phase métastable qui apparaît la première. On a donc dans ce cas $J_B > J_A$. Pour expliquer cela, reprenons l'expression théorique du taux de nucléation (cf. équation 1.10). En supposant que les facteurs de forme et les volumes moléculaires sont proches pour les deux polymorphes, l'inégalité $J_B > J_A$ impose $A_B > A_A$ ou $\sigma_B < \sigma_A$.

Pour saisir l'influence de la tension de surface des polymorphes sur les taux de nucléation, un calcul simple peut être réalisé dans le cas de la nucléation homogène. En supposant que la forme stable cristallise à une sursaturation $S_A = 5$, que la tension de surface $\sigma_A = 10 \text{ mJ m}^{-2}$ et que le préfacteur $A = 10^{30}$ est constant, si $S_B = 4$ et $\sigma_B = 8 \text{ mJ m}^{-2}$, alors une différence de seulement 20 % de la tension de surface entraîne une augmentation considérable du taux de nucléation. Par exemple, si $J_A \approx 1 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ alors $J_B \approx 10^9 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ (on suppose le volume moléculaire constant). Cet effet est encore amplifié si $A_B > A_A$. La différence entre les tensions de surface est supportée par les travaux expérimentaux et théoriques de Sangwal [97] et Söhnel [103]. Ils montrent que la tension de surface est directement reliée à l'enthalpie de dissolution et qu'elle est d'autant plus grande que la solubilité est faible. Ce comportement est bien cohérent avec les différences de solubilité entre les polymorphes stables et métastables. La forme métastable a une énergie interfaciale plus faible puisque sa solubilité est plus grande.

La formation de polymorphes métastables est susceptible d'être suivie, après un temps plus ou moins long, d'une transformation en un polymorphe plus stable, puisque le système tend toujours à atteindre un équilibre thermodynamique.

Transformations polymorphiques

En solution, il peut se produire principalement deux types de transformations polymorphiques : la transformation solide et la transformation par dissolution. La première correspond à la transformation d'un polymorphe métastable en un polymorphe plus stable. Elle implique la formation d'un nucléi de la nouvelle phase dans la phase mère, suivie d'une étape de croissance. Ce changement de structure conduit souvent à une variation du volume du cristal et parfois même à une modification de son faciès [76]. D'après Mynukh [80], l'étape de nucléation peut être influencée par la présence de défauts dans le polymorphe métastable. Il apparaît en effet que dans certains cas, la transformation polymorphique peut être induite en grattant simplement la surface du cristal.

La transformation par dissolution se traduit par la dissolution d'un polymorphe métastable en faveur de la croissance d'un polymorphe stable, et a pour force motrice la différence de solubilité entre les deux phases [18, 30, 120]. Plus précisément, lorsque la cinétique de nucléation de la phase métastable est la plus rapide, celle-ci se forme et croît jusqu'à ce que la concentration en solution atteigne la limite de solubilité. À ce moment, la solution étant encore sursaturée par rapport au polymorphe stable, celui-ci peut encore nucléer et croître. La solution devenant alors sous-saturée par rapport au polymorphe métastable, il

se dissout totalement et donc disparaît en faveur de la forme stable. En ce qui concerne la cinétique, la transition par dissolution est limitée soit par la cinétique de dissolution de la forme métastable, soit par la cinétique de croissance de la forme stable [26]. C'est cette transformation qui rend impossible la coexistence de deux polymorphes différents dans une même solution.

Ces différents modes de transformation font qu'il est souvent difficile d'obtenir des polymorphes métastables en solution. Ils peuvent aussi être la cause d'une non reproductibilité des procédés de cristallisation puisqu'après la nucléation d'une forme cristalline plus stable, il se peut que la forme initialement préparée ne soit plus jamais obtenue [30]. Les exemples illustrant cette non reproductibilité sont nombreux dans la littérature. Un cas récent concerne le Norvir, un médicament contre le SIDA, dont la formation soudaine d'une structure cristalline différente de celle produite depuis des mois, a provoqué une pénurie dans sa distribution [94]. Comme les différences entre les propriétés physiques des polymorphes d'un même composé chimique peuvent affecter de façon importante les qualités du produit final, il est essentiel de déterminer les différents polymorphes susceptibles de se former avant de mettre au point les procédés de fabrication d'une nouvelle molécule.

Techniques de génération et de détection des polymorphes

Pour le moment, il n'existe toujours pas de méthode universelle pour connaître tous les polymorphes d'une substance chimique, mais plusieurs techniques expérimentales de génération et d'isolation de polymorphes sont décrites dans les références [9, 81]. Elles sont basées sur le criblage de conditions expérimentales pour étudier l'influence de la tension de surface σ , de la sursaturation S et de la température T , sur la formation des différents polymorphes. Les principales voies de génération des polymorphes sont : la sublimation suivie d'une recristallisation, la cristallisation d'un milieu fondu, les transformations à l'état solide, la cristallisation en solution, et la cristallisation par atomisation. Les trois premières sont réalisées sans solvant, ce qui permet de maintenir la tension de surface σ constante [12, 121]. La cristallisation en solution est la plus courante puisqu'elle est semblable au procédé final de cristallisation. Elle consiste à étudier les formes polymorphiques susceptibles de cristalliser en fonction de différentes propriétés des solvants (polarité, proticité), et en fonction de différentes conditions de sursaturation et de température [121]. Pour réaliser ces études, à chaque fois, la cristallisation est induite soit par refroidissement soit par basculement de solvant. La dernière voie expérimentale de formation des polymorphes, la cristallisation par atomisation, est la plus récente. Elle consiste à produire des gouttelettes très fines de solution par pulvérisation. L'évaporation du solvant étant très rapide dans ces conditions, elle permet d'atteindre des sursaturations extrêmement élevées en particulier lorsqu'elle est couplée à des solvants supercritiques (CO_2) métastables [121]. Cette technique favorise fortement la formation des polymorphes.

Pour caractériser les polymorphes générés lors de chaque expérience de cristallisation, il existe de multiples méthodes d'analyse. En fait, comme les polymorphes diffèrent à la fois par leur structure cristalline et par leur propriétés physiques et chimiques, toute méthode de mesure des propriétés des solides devrait permettre de les détecter et de les caractériser.

Cependant les techniques les plus courantes sont la diffraction des rayons X, la microscopie optique, les analyses thermiques comme la DSC (Differential Scanning Calorimetry), les mesures de densité, la spectroscopie infrarouge et plus récemment la résonance magnétique nucléaire (RMN), la spectroscopie proche infrarouge et la spectroscopie Raman [3]. Seule la diffraction des rayons X permet une mesure directe de la structure du cristal, les autres reposent sur les différences des propriétés physiques des polymorphes. La spectroscopie Raman est une technique de caractérisation de plus en plus utilisée. Comme la spectroscopie infrarouge, elle est basée sur l'interaction lumière-matière et résulte des vibrations moléculaires et cristallines. Ces deux méthodes donnent généralement des informations complémentaires sur les structures moléculaires. La spectroscopie Raman présente l'avantage, entre autre, d'être particulièrement sensible dans le cas de molécules non symétriques comme la plupart des molécules pharmaceutiques, alors que le signal diffusé par les solvants polaires tels que l'eau est relativement faible. Ceci rend donc possible des suivis *in situ* de réactions ou de processus de cristallisation. Grâce à cette technique d'analyse, Anquetil *et al.* [3] ont mis au point un outil permettant de réaliser des études en temps réel de la formation de polymorphes dans des volumes de quelques microlitres.

Une fois les polymorphes connus, la détermination des conditions opératoires (solvant, sursaturation et température) permettant d'obtenir un polymorphe particulier est très longue puisqu'elle exige un grand nombre de tests. Pour cette raison, les industriels ont de plus en plus souvent recours à des stations robotiques pour effectuer des criblages haut débit de conditions expérimentales [25]. Depuis le début des années 1990, ils utilisent aussi couramment des logiciels de modélisations moléculaires pour prédire les formes polymorphiques. Basées sur le calcul de l'énergie potentielle des différentes structures cristallines, ces modélisations prédisent fréquemment une quantité de formes polymorphiques bien plus grande que celle observée expérimentalement [25]. Cette différence importante est due au fait qu'elles ne prennent pas en compte les aspects cinétiques, en particulier lors du processus de nucléation. Les modélisations moléculaires permettent cependant de déterminer si les polymorphes les plus stables ont bien été obtenus expérimentalement [25, 121].

1.1.6 Conclusion

Dans cette première section, différents aspects de la cristallisation ont été introduits. Il s'avère que les mécanismes de formation des cristaux en solution, et en particulier l'étape de nucléation, sont des phénomènes complexes qui ne sont toujours pas bien compris. Malgré l'émergence de nouvelles théories, pour progresser dans la compréhension de ces phénomènes il est aujourd'hui surtout nécessaire de réaliser de meilleures études expérimentales et de meilleures simulations. Aussi, pour faciliter les études des formes polymorphiques, c'est-à-dire les rendre plus rapides et donc moins coûteuses, de nouveaux outils de criblage à haut débit doivent encore être développés. Dans beaucoup de cas, les robots restent chers, et consomment une quantité de produits souvent trop importante. Nous allons voir par la suite que les systèmes microfluidiques, basés en particulier sur l'utilisation de gouttes, peuvent apporter des solutions pertinentes pour l'étude de processus de cristallisation.

1.2 La microfluidique

La microfluidique fait référence aux technologies qui permettent le contrôle et la manipulation des écoulements de fluides dans des réseaux de canaux de dimensions comprises entre 1 et 1000 μm . À ces échelles, les volumes mis en jeu sont très faibles, ils varient du femtolitre (10^{-15} L) au microlitre (10^{-6} L), et les transferts thermiques sont extrêmement rapides grâce à un rapport surface / volume élevé. L'une des premières applications de la technologie microfluidique fut développée par Manz *et al.* en 1992 [72] dans le domaine de l'analyse, où la miniaturisation permet une amélioration de la séparation de molécules, un temps d'analyse plus court, et une consommation très faible de produit. Depuis la fin des années 1990, le développement de la microfluidique s'est accéléré grâce, en particulier, à l'apparition de nouvelles technologies de fabrication peu coûteuses et rapides, basées sur l'utilisation du polydiméthylsiloxane (PDMS) [29]. Ce fort développement est également dû à la demande toujours plus grande de systèmes d'analyses portables et bon marché, et aux besoins dans le domaine de la biotechnologie de nouveaux outils permettant de manipuler des cellules et de réaliser des criblages à haut débit avec une faible quantité de produits.

Aujourd'hui, la technologie microfluidique est utilisée dans de multiples domaines. En biologie, des systèmes très avancés ont été mis au point et même commercialisés, pour séparer et trier des cellules vivantes [13, 27, 127], pour faire cristalliser des protéines [47, 96] et pour effectuer des analyses d'ADN [28, 61, 75]. L'objectif à terme est de réaliser de véritables laboratoires sur puce intégrant les différentes fonctions nécessaires à des analyses biologiques complètes [129]. En chimie, des microréacteurs sont désormais fréquemment utilisés pour mélanger rapidement des réactifs, pour réaliser des synthèses dangereuses, pour produire des nouveaux matériaux et étudier des réactions de cinétique rapide. Plusieurs outils microfluidiques d'analyse ont également été développés pour mesurer par exemple des viscosités [42], ou les flux thermiques dégagés par une réaction [64] . . .

Le développement par Quake *et al.* [118] de microvannes et de micropompes intégrées aux dispositifs fabriqués en PDMS a été une avancée majeure en microfluidique. Ces nouveaux composants élémentaires ont permis en effet de concevoir des puces microfluidiques avec un haut degré d'intégration et ainsi de contrôler individuellement des centaines de microréacteurs [112]. Une deuxième avancée importante concerne la manipulation d'écoulements diphasiques, permettant de créer dans les microcanaux, des bulles ou des gouttes monodisperses et de composition chimique contrôlée. Elle connaît aujourd'hui un succès croissant puisqu'elle se révèle être une voie prometteuse aussi bien pour produire des particules de polymères, des émulsions ou des mousses, que pour l'étude de réactions chimiques dans des microréacteurs individuels [43, 104].

Dans cette section, nous verrons dans une première partie un exemple de procédé de fabrication des microcanaux. Nous présenterons ensuite quelques éléments pour bien comprendre les caractéristiques des écoulements dans les dispositifs microfluidiques et nous insisterons plus particulièrement sur les écoulements diphasiques.

1.2.1 Techniques de fabrication

Le développement de la microfluidique a été accompagné de l'apparition d'une large gamme de technologies de fabrication des dispositifs. Les premiers systèmes microfluidiques ont été fabriqués par gravure du silicium et du verre. Depuis, pour des raisons de coût, de temps de fabrication ou de propriétés physico-chimiques, d'autres matériaux sont utilisés tels que le PMMA, des colles à base de thiolène, le polyimide et le PDMS. Ce dernier est le matériau le plus répandu dans les laboratoires puisque la technologie PDMS est aujourd'hui la plus facile à réaliser, la plus rapide (un dispositif en une journée) et sans doute une des plus économique [29]. Pour ces raisons, tous les systèmes microfluidiques utilisés durant la thèse ont été fabriqués en PDMS.

Les dispositifs en PDMS sont fabriqués par lithographie douce. Cette technique est basée sur la fabrication d'un moule en résine réalisé par photolithographie, et utilisé pour transposer le motif des canaux dans une matrice en PDMS. Les techniques de photolithographie ont été développées essentiellement pour la fabrication des semi-conducteurs dans le domaine de la microélectronique.

La fabrication du moule nécessite plusieurs étapes schématisées sur la figure 1.8.a. Dans

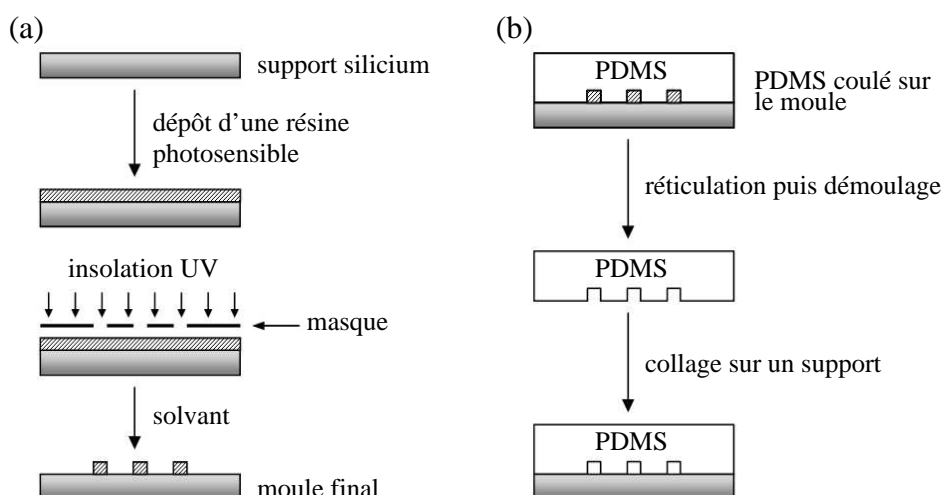


FIG. 1.8 – Méthode de fabrication d'un dispositif microfluidique par lithographie douce. (a) Fabrication du moule par photolithographie. (b) Fabrication du dispositif microfluidique en PDMS à partir du moule.

un premier temps, une fine couche de résine photosensible est déposée sur un substrat (silicium, verre...) par la technique de « spin-coating ». L'épaisseur de la couche est contrôlée par la vitesse de rotation du support et la viscosité de la résine. Le solvant initialement présent dans la résine est ensuite évaporé par une étape dite de « pre-exposure bake » qui consiste à chauffer le substrat et la résine à 95 °C pendant un temps donné. Après cette étape, la couche est exposée à une radiation lumineuse (UV) à travers un masque compor-

tant des endroits opaques et transparents pour insoler uniquement certaines parties. Ceci permet de définir le motif du moule que l'on souhaite produire. Si la résine est négative (la résine SU-8 par exemple), l'insolation a pour effet de la faire réticuler. Ainsi, après une nouvelle étape de chauffage à 95 °C pour finaliser la réticulation, les endroits non éclairés peuvent être dissous à l'aide d'un solvant spécifique. Un moule d'épaisseur contrôlée et correspondant au motif désiré est alors obtenu. À partir de cette technique, il est possible de produire des microcanaux de hauteur comprise typiquement entre 1 et 500 μm .

Les étapes de fabrication de la puce en PDMS à partir du moule sont schématisées sur la figure 1.8.b. Du PDMS liquide dans lequel a été ajouté un agent réticulant à une concentration de 1 g / 10 g, est coulé sur le moule. Après cuisson (environ une heure à 65 °C), le PDMS se transforme en un élastomère. La couche de PDMS peut alors être retirée du moule. On obtient ainsi le motif du moule imprimé dans la matrice de PDMS avec une résolution de quelques dizaines de nanomètres [73]. Finalement, après avoir percé les trous à travers le PDMS pour l'injection des fluides, la matrice est collée sur un support plat tel qu'une galette de silicium (appelé « wafer ») ou une lame de verre. Une description plus précise des étapes de fabrication des puces utilisées dans cette thèse est présentée dans l'annexe A, notamment pour la réalisation de canaux d'épaisseur élevée (500 μm).

Bien que les dispositifs microfluidiques en PDMS soient peu coûteux et rapides à réaliser, ils ne conviennent pas pour toutes les applications. L'inconvénient majeur du PDMS est qu'en présence de solvants comme les alcanes et les aromatiques, il a tendance à se dégrader et surtout à gonfler, ce qui a pour effet de déformer les microcanaux et de provoquer l'apparition de fuites. Il s'avère aussi que le PDMS est un matériau poreux à travers lequel les liquides peuvent s'évaporer. Si cette caractéristique est utilisée dans certaines applications pour concentrer des solutions [68], elle se révèle être un véritable obstacle pour effectuer des expériences à hautes températures puisque dans ces conditions, le phénomène d'évaporation est fortement accéléré [123]. Pour éviter ces problèmes, il est encore souvent nécessaire d'utiliser des puces en verre ou en silicium dont la physico-chimie des surfaces peut être facilement modifiée par silanisation. La silanisation est un greffage chimique de molécules appelées silane, effectué par exemple pour modifier les propriétés de mouillage d'une surface. Il est aujourd'hui également possible d'utiliser d'autres technologies comme celle développée par Cygan *et al.* [24] qui ont mis au point une technique pour fabriquer des dispositifs à partir d'une colle commerciale (NOA 81) résistante aux solvants organiques. D'autres technologies récemment développées permettent de fabriquer des dispositifs en Kapton [7] ou en un polymère fluoré [131], à la fois résistant aux solvants organiques et avec des propriétés physiques et physico-chimiques spécifiques.

1.2.2 Mécanique des fluides dans les microcanaux

Une physique non intuitive

La physique des écoulements des fluides est fortement modifiée par la miniaturisation des canaux. Aux petites échelles, elle ne correspond pas aux écoulements de fluides que nous avons l'habitude d'observer tous les jours à plus grande échelle, et pour la comprendre

il faut perdre l'intuition développée progressivement au cours des années sur les écoulements inertiels. À ces échelles il n'y a aucune turbulence, l'inertie ne joue aucun rôle et les écoulements sont pilotés uniquement par les contraintes de pression et les contraintes visqueuses. D'autre part, l'absence de turbulence fait que le mélange d'espèces chimiques ne s'opère que par diffusion moléculaire. Dans la suite de ce paragraphe nous traduirons ces effets par deux nombres adimensionnés : le nombre de Reynolds et le nombre de Péclet.

Profil des écoulements

Dans le cas général d'un fluide Newtonien, le champ de vitesse \mathbf{u} d'un écoulement obéit à l'équation de Navier-Stokes :

$$\rho \left(\frac{\partial \mathbf{u}}{\partial t} + \mathbf{u} \cdot \nabla \mathbf{u} \right) = -\nabla p + \eta \Delta \mathbf{u} + \mathbf{f}, \quad (1.23)$$

où p est le champ de pression, \mathbf{f} est une force extérieure exercée par unité de volume, ρ la densité du fluide, et η sa viscosité dynamique. Le champ de vitesse obéit aussi à l'équation de conservation de la masse :

$$\frac{\partial \rho}{\partial t} + \operatorname{div}(\rho \mathbf{u}) = 0, \quad (1.24)$$

qui, lorsque le fluide est incompressible s'écrit :

$$\operatorname{div}(\mathbf{u}) = 0. \quad (1.25)$$

En microfluidique, dans la grande majorité des applications, les écoulements ont un nombre de Reynolds Re petit, c'est-à-dire que les forces inertielles sont faibles devant les forces visqueuses. Par conséquent, les écoulements sont toujours *laminaires* et les effets inertiels sont généralement négligeables. Le nombre de Reynolds correspond au rapport entre les forces inertielles et les forces visqueuses. Il s'écrit :

$$Re = \frac{f_{\text{inertielles}}}{f_{\text{visqueuses}}} = \frac{\rho UL}{\eta}, \quad (1.26)$$

avec U et L respectivement la vitesse et la longueur caractéristique de l'écoulement. Ainsi, par exemple, dans le cas d'une circulation d'eau à une vitesse de 1 mm s^{-1} dans un microcanal circulaire de rayon $100 \text{ }\mu\text{m}$, le nombre de Reynolds est égal à $Re = 0.1$. Les effets inertiels sont bien faibles devant les effets visqueux. Lorsque le nombre de Reynolds est petit devant 1, le terme non linéaire de l'équation de Navier-Stokes peut être négligé et le champ de vitesse stationnaire obéit alors à l'équation de Stokes :

$$-\nabla p + \eta \Delta \mathbf{u} + \mathbf{f} = 0. \quad (1.27)$$

Notons toutefois que l'écoulement peut rester laminaire même pour des nombres de Reynolds supérieur à 1. En général, les premières turbulences apparaissent pour $Re > 1000$ dans un écoulement du type Poiseuille.

Pour estimer rapidement le type de profil d'écoulement induit par une surpression dans un canal microfluidique, considérons un canal de largeur w suffisamment grande devant sa hauteur b de façon à pouvoir se placer dans l'approximation de la cellule de Hele-Shaw (cf. figure 1.9.a). Dans cette géométrie, on peut faire l'hypothèse que l'écoulement est invariant selon y . En supposant le fluide incompressible et en appliquant l'équation 1.27, on trouve que le fluide ne s'écoule que selon l'axe x et que la vitesse dépend uniquement de z , suivant un profil de type écoulement de Poiseuille comme illustré sur la figure 1.9.b. Le glissement du fluide aux parois est négligé. Il apparaît aussi que le gradient de pression est constant

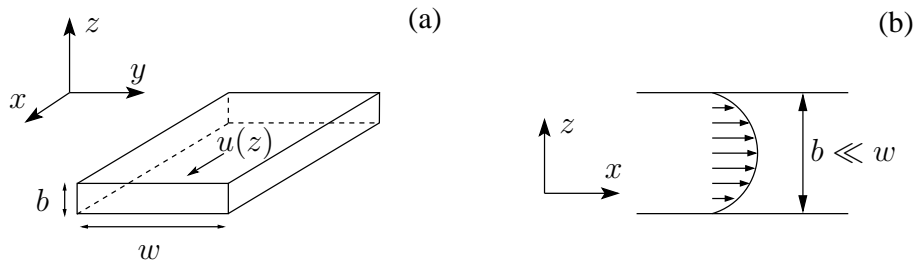


FIG. 1.9 – (a) Schéma d'un canal de largeur w grande devant sa hauteur b . Ce canal peut être considéré comme une cellule de Hele-Shaw. (b) Profil d'écoulement de Poiseuille dans le canal. $\mathbf{u}(z)$ est le vecteur vitesse du fluide à la position z .

selon l'axe x , et qu'il est relié au débit Q du fluide par l'expression :

$$Q = w \int_{-b/2}^{b/2} dz u(z) = \frac{b^3 w}{12\eta} \frac{dP}{dx}. \quad (1.28)$$

La perte de charge le long d'un canal droit de longueur L , c'est-à-dire la différence de pression entre l'entrée et la sortie, est donc donnée par :

$$\Delta P = \frac{12L\eta}{b^3 w} Q. \quad (1.29)$$

Par analogie à la résistance électrique, le rapport $\Delta P/Q$ est appelé résistance hydrodynamique du canal. Il est important de noter qu'elle augmente très vite au fur et à mesure que la hauteur b diminue. Les pressions atteintes pour imposer des débits peuvent donc rapidement devenir considérables. Par exemple, pour imposer un débit d'eau de $100 \mu\text{L h}^{-1}$ dans un canal de longueur 2 cm, de largeur $100 \mu\text{m}$ et de hauteur $50 \mu\text{m}$, il faut appliquer une surpression de ≈ 5 mbar à l'entrée du canal. Si à présent la hauteur du canal est de $10 \mu\text{m}$, la pression à appliquer à l'entrée est de 0.7 bar. L'approximation de la cellule de Hele-Shaw permet à la fois d'obtenir rapidement une estimation du profil de vitesse des fluides et de se rendre compte des effets d'échelle sur la perte de charge dans un canal. Dans le cas plus général d'un canal de largeur w et de hauteur b , les expressions du profil de vitesse et de la résistance hydrodynamique sont sensiblement plus complexes. En ce qui concerne la résistance, l'influence des petites dimensions reste du même ordre de grandeur, en revanche, pour déterminer le profil de vitesse il faut prendre en compte les variations de l'écoulement selon l'axe y [108].

Dispersion hydrodynamique

La principale caractéristique des écoulements à bas nombre de Reynolds est que le mélange entre les fluides se fait uniquement par un mécanisme de diffusion. Ainsi, comme l'illustre la figure 1.10, lorsqu'un solvant et un soluté sont injectés dans un canal en forme de Y, les deux liquides s'écoulent en parallèle et le soluté diffuse dans le solvant. La dis-

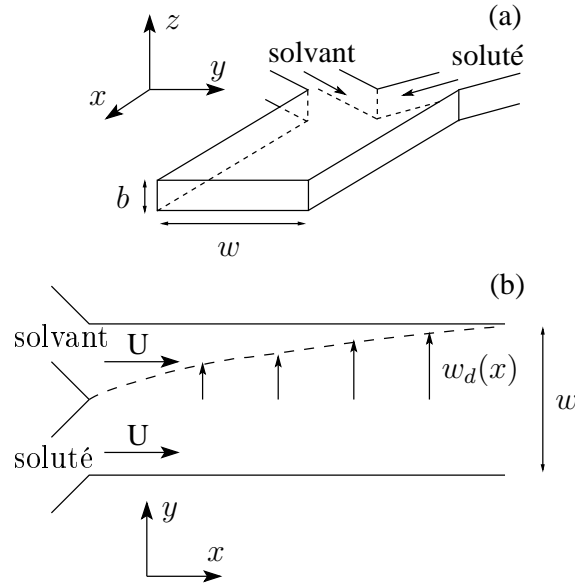


FIG. 1.10 – (a) Schéma d'un canal en forme de Y dans lequel sont injectés un soluté et un solvant. (b) Lorsque les deux produits pénètrent dans le canal principal à une vitesse moyenne U , le mélange se fait uniquement par diffusion. Le profil en pointillé délimite le domaine caractéristique de diffusion du soluté dans le solvant.

tance de diffusion w_d augmente progressivement le long du canal. Dans le cas d'une cellule de Hele-Shaw et pour une solution idéale (viscosité, densité, coefficient de diffusion D constants) $w_d \approx 2\sqrt{Dx/U}$ [108]. Dans ces conditions, il est possible d'estimer si le mélange entre deux fluides peut être réalisé dans un canal en calculant le rapport entre le temps caractéristique de diffusion et le temps caractéristique de convection sur la distance w . Ce rapport correspond au nombre de Péclet Pe :

$$Pe = \frac{t_{\text{diffusion}}}{t_{\text{convection}}} = \frac{w^2/D}{w/U} = \frac{Uw}{D}, \quad (1.30)$$

avec w la largeur du canal. Si $Pe \gg 1$, cela signifie que la diffusion est lente par rapport au déplacement du fluide dans le canal. Dans ce cas, il faut que les fluides s'écoulent sur une distance très grande pour que le mélange entre deux composés devienne homogène (dans le cas de la figure 1.10, cette distance est de l'ordre de $Pe w/16$).

Ce mécanisme de mélange peut prendre un temps excessivement long pour certaines applications. Par exemple, pour maîtriser des réactions chimiques de précipitation, il faut

être capable de mettre en contact et de mélanger deux solutions différentes en un temps plus court que le temps caractéristique de la réaction. Le mélange par diffusion est un réel obstacle pour réaliser ce type d'opération.

L'écoulement de type Poiseuille dans un canal microfluidique est responsable aussi de la dispersion dite de Taylor-Aris [110]. Pour comprendre cette dispersion, considérons un canal droit dans lequel s'écoule un fluide A. Supposons qu'à un instant t_0 , une fine bande de fluide B miscible dans A, est injectée à une position donnée dans le canal. La bande du fluide B est représentée en noire sur la figure 1.11. L'écoulement de Poiseuille a pour effet d'étirer la

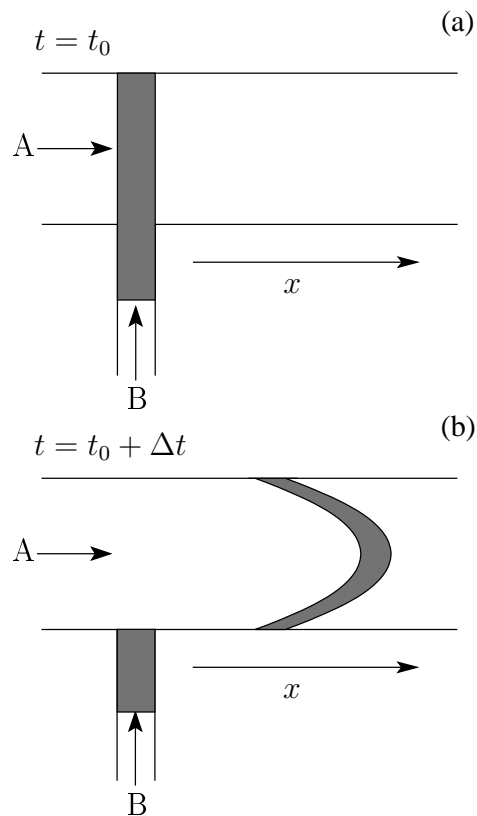


FIG. 1.11 – Illustration de la dispersion de Taylor-Aris. À l'instant t_0 le composé B (en noir) est injecté dans le canal où circule le produit A (a). Après un temps Δt l'écoulement de Poiseuille fait que le bouchon du composé B s'est étiré le long du canal (b).

bande puisque le fluide situé au centre du canal s'écoule plus rapidement que le fluide proche des bords. Bien que ce phénomène soit parfois utilisé pour mélanger plusieurs composés [22], il s'avère souvent être un handicap sérieux pour réaliser des réactions chimiques de temps contrôlé, puisqu'il engendre une distribution des temps de résidence des réactifs dans le canal. Les réactifs proches des parois passent plus de temps dans le canal que ceux situés au centre [44].

Dans les systèmes microfluidiques monophasiques le temps de mélange est donc élevé et

la dispersion de Taylor-Aris induit une distribution des temps de résidence dans les canaux. Il est possible de s'affranchir de ces caractéristiques souvent indésirables, en réalisant des écoulements multiphasiques permettant de former des gouttes.

1.2.3 Les gouttes en microfluidique

Formation des gouttes

Dans un canal microfluidique des gouttes peuvent être produites à l'intersection entre deux fluides non miscibles. Si les débits d'injection des fluides sont maintenus constants, les gouttes sont monodisperses et se forment en continu comme cela est présenté figure 1.12. De multiples géométries de canaux permettent de produire des gouttes. Historiquement, le

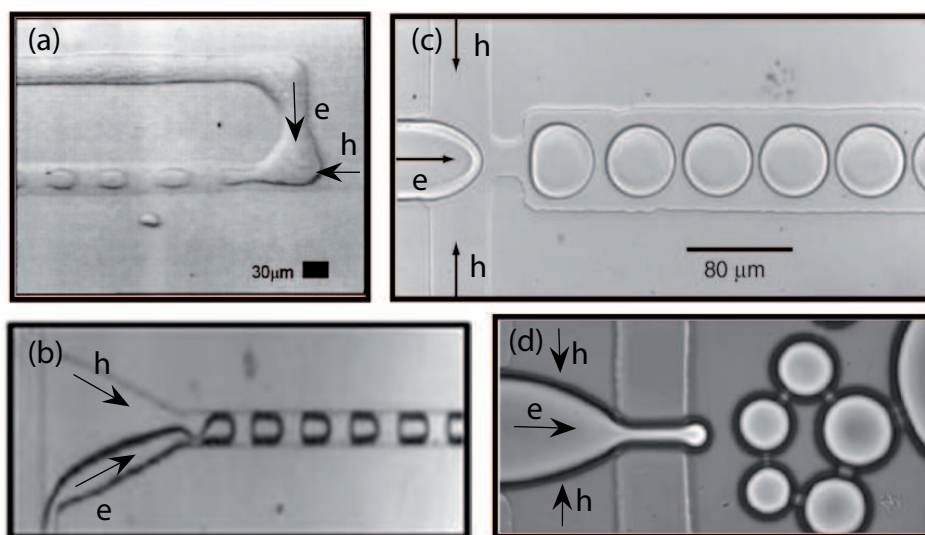


FIG. 1.12 – Exemples de géométries de canaux microfluidiques permettant de former des gouttes. (a) Intersection en T [113]. (b) Régime de goutte d'un écoulement parallèle de deux liquides immiscibles [41]. (c) et (d) Géométries de « flow focusing » [2, 52]. Les flèches ajoutées sur les images indiquent les écoulements d'huile (h) et d'eau (e).

premier dispositif a été introduit par Thorsen *et al.* [113]. Ils ont montré qu'il était possible de former des gouttes dans une géométrie dite en T représentée sur la figure 1.12.a. Dans cette configuration, le fluide à disperser est introduit perpendiculairement à un canal dans lequel s'écoule le fluide porteur. D'autres possibilités consistent à injecter les fluides dans une géométrie d'écoulements parallèles, appelé coflow [41] (cf. figure 1.12.b), dans des microcanaux coaxiaux [119], ou encore dans une géométrie en croix [2]. Une variante de cette dernière géométrie, appelé « flow focusing » (cf. figure 1.12.c-d), consiste à faire

passer les deux liquides dans une constriction de quelques dizaines de micromètres. Cette géométrie permettant le meilleur contrôle des tailles de gouttes, c'est celle que nous avons choisie dans cette thèse pour former les gouttes.

Le mécanisme de formation des gouttes est un problème complexe. Il est lié au confinement des fluides dans les canaux, aux propriétés chimiques des surfaces et à la compétition entre les forces visqueuses qui tendent à des écoulements parallèles le long du canal et les forces capillaires qui tendent à former des gouttes pour minimiser l'énergie de surface. Le mode de formation des gouttes en géométrie confinée a été étudié par Guillot *et al.* [40] et Garstecki *et al.* [35]. Ces travaux montrent que la formation des gouttes est issue d'un mécanisme de blocage-pincement. De façon simple, en même temps que le doigt de la phase constituant les gouttes avance dans la jonction des canaux, son extrémité grossit pour réduire l'énergie de surface. Ainsi, lorsque la largeur du doigt atteint la taille du canal de sortie, il agit comme un bouchon bloquant le passage de l'huile. Pour continuer à avancer, cette dernière est alors forcée de pincer le doigt ce qui provoque la formation d'une goutte. La figure 1.13, qui représente une série d'images prises au moment de la formation d'une goutte, illustre le phénomène de pincement du doigt par la phase continue. Ce mécanisme de blocage-pincement permet de déterminer dans quelles conditions de débit et de nombre capillaire des gouttes se forment à une jonction. Le nombre capillaire correspond au rapport entre les forces visqueuses et les forces capillaires.

En revanche, pour le moment il n'existe pas encore de théorie permettant de prévoir le volume et la fréquence de formation des gouttes. Les expériences montrent cependant que ces caractéristiques dépendent de plusieurs paramètres tels que les débits d'injection des liquides, le nombre capillaire, la géométrie des canaux [35, 114]... Par exemple, les résultats de Garstecki *et al.* [35] représentés sur la figure 1.14 montrent que la taille des gouttes dépend du rapport de débits eau / huile et non du débit total des liquides.

Les propriétés chimiques des surfaces des canaux jouent un rôle déterminant sur le sens de l'émulsion. La phase continue est toujours constituée du fluide qui a le plus d'affinité avec les parois, c'est-à-dire qui est le plus mouillant. La phase dispersée est donc constituée du fluide le moins mouillant. Ainsi, si de l'eau et de l'huile silicone sont injectées dans des microcanaux hydrophobes comme les canaux en PDMS, il se forme forcément des gouttes d'eau dans l'huile. Pour produire des gouttes du fluide initialement le plus mouillant, il est possible de traiter les parois du canal par exemple par des techniques de plasma ou de greffage de molécules spécifiques [6, 11, 111]. Cependant, ces traitements étant souvent difficiles à réaliser et parfois peu robustes, il est toujours préférable si possible, d'utiliser directement un matériau présentant les bonnes propriétés de mouillage.

Applications des gouttes en microfluidique

Les écoulements diphasiques en microfluidique permettent de s'affranchir de difficultés importantes rencontrées dans le cas monophasique présenté précédemment. En présence de gouttes en effet, la dispersion de Taylor-Aris le long du canal disparaît puisque tout le liquide à l'intérieur de chaque goutte s'écoule à une même vitesse moyenne. Ainsi, lorsque le régime d'écoulement est stable, chaque position du canal à travers lequel circulent les

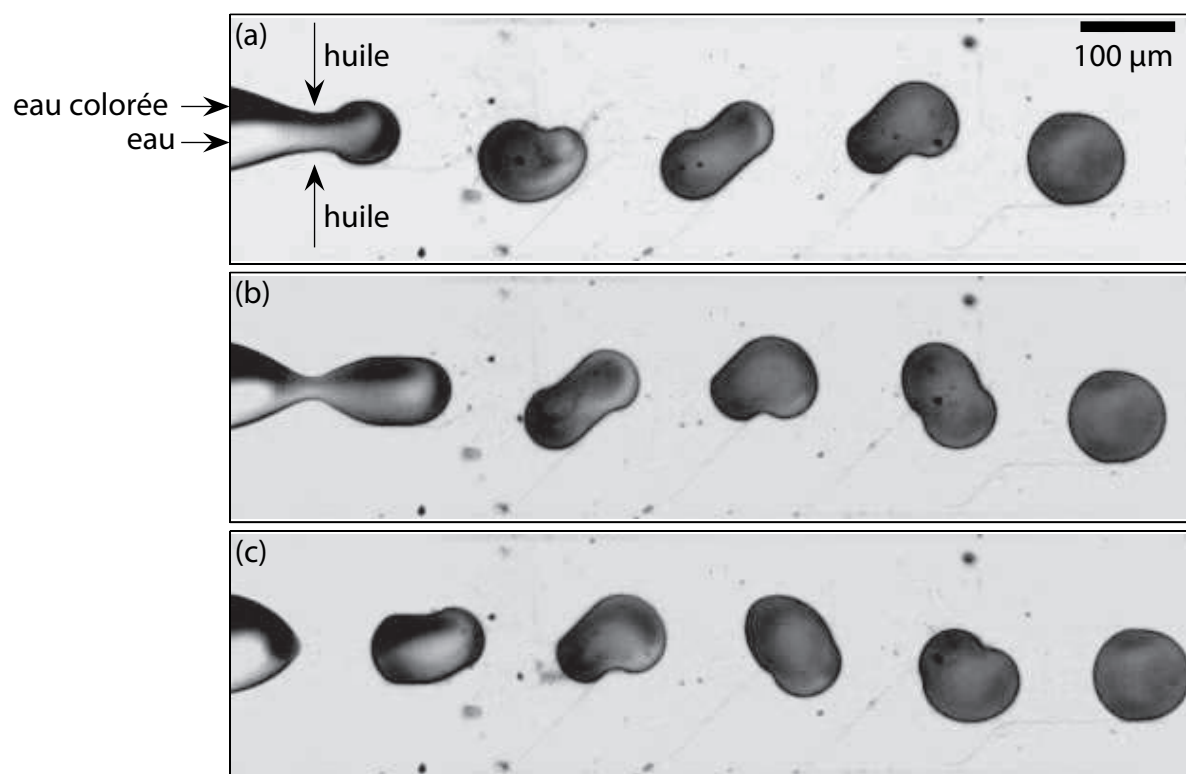


FIG. 1.13 – Séries images illustrant la formation de gouttes. Les liquides sont injectés à débit constant. Les images, prises successivement par intervalles de temps de quelques millisecondes, montrent que l'écoulement d'huile vient pincer le doigt de la phase aqueuse. Les recirculations à l'intérieur des gouttes font que le mélange entre l'eau et le colorant se fait très rapidement. Ces images sont issues de la référence [98]

gouttes correspond à un temps de résidence unique par rapport au moment où elles sont produites. Si elles se déplacent à une vitesse V , le temps t d'écoulement pour atteindre la distance d est directement donné par la relation $t = d/V$. Cette équivalence entre l'espace et le temps est schématisée sur la figure 1.15.a. Un autre avantage majeur des gouttes est qu'elles induisent un mélange rapide des produits. Song *et al.* [106] ont montré que lorsqu'une goutte s'écoule, il apparaît à l'intérieur des recirculations de liquides qui conduisent à une homogénéisation rapide. Ces recirculations sont dues au fait que les gouttes sont contraintes d'avancer en « roulant » dans les canaux pour respecter la condition limite de vitesses nulles aux parois. Le mélange est bien visible sur la figure 1.13 où on observe que les gouttes deviennent rapidement homogènes une fois formées. Les virages le long du canal permettent d'accélérer la vitesse de mélange en brisant les symétries des recirculations [106]. Grâce à de tels dispositifs il est possible d'atteindre des temps de mélange très courts, pouvant atteindre quelques millisecondes. Une dernière caractéristique importante

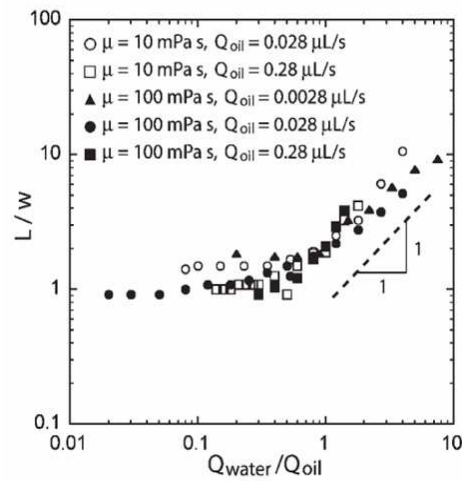


FIG. 1.14 – Mesures obtenues par Garstecki *et al.* [35]. Elles montrent que de la taille L des gouttes ne dépend pas du débit total de liquide mais du rapport des débits. μ est la viscosité de l’huile et w la largeur du canal.

des gouttes est qu’elles présentent un rapport surface sur volume très grand rendant plus rapides les échanges thermiques.

Les multiples avantages offerts par les gouttes font qu’elles sont aujourd’hui à la base de nombreuses applications. Par exemple, un des domaines d’application concerne la création de nouveaux matériaux. À partir des systèmes microfluidiques, Nieves *et al.* [84] ont pu produire des gouttes monodisperses de cristaux liquides, Weitz *et al.* [119] génèrent des émulsions doubles et triples grâce à des montages astucieux de micropipettes présentés sur la figure 1.15.c, ou encore Doyle *et al.* [115] fabriquent des particules de formes variées (disques, cylindres) en solidifiant des gouttes contenant des polymères photoréticulables (cf. figure 1.15.b).

Les gouttes se révèlent être également d’excellents microréacteurs chimiques. L’absence de dispersion et la possibilité de mélanger rapidement dans les gouttes plusieurs composés à des concentrations contrôlées permettent d’une part d’accéder facilement à des cinétiques rapides de réactions chimiques [106]. Par exemple, l’évolution des produits formés au cours des réactions peut être suivi par des mesures *in situ* des spectres Raman à l’aide d’un microscope Raman confocal [23]. D’autre part, pour différentes applications les performances de ces microréacteurs en terme de qualité de produits et de conditions opératoires dépassent celles des réacteurs « batch » classiques. Par exemple, la distribution de taille des particules obtenues à la suite d’une réaction de précipitation en goutte est fortement réduite par la rapidité du mélange [20]. Günther and Jensen [43] rapportent également que grâce aux transferts thermiques importants, les écoulements multiphasiques permettent d’augmenter le rendement de réactions chimiques fortement exothermiques telles que les réactions d’oxydation, de chlorination, de bromination et de sulfonation.

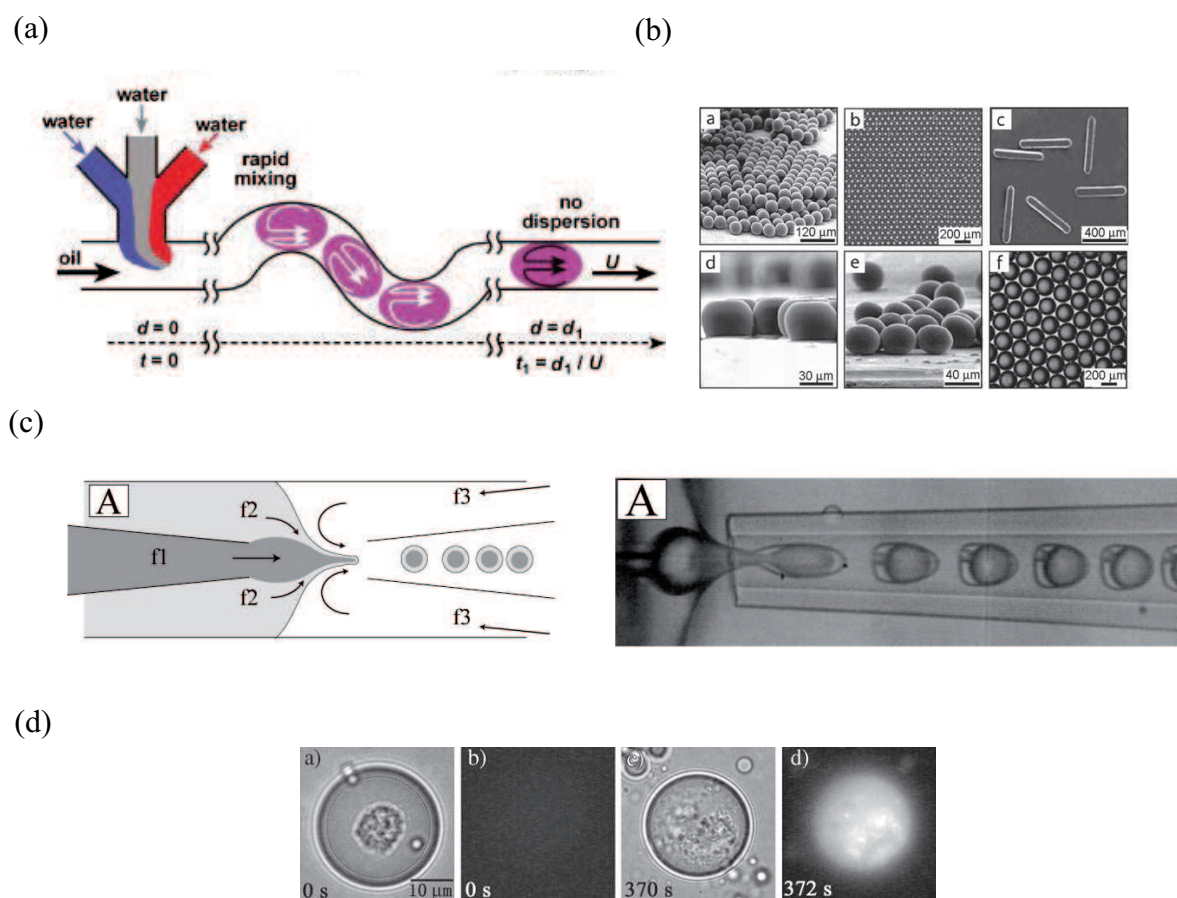


FIG. 1.15 – Exemples d'applications des gouttes en microfluidique. (a) Amélioration du transport et du mélange de différents liquides. Les gouttes jouent le rôle de microréacteurs [106]. (b) Particules monodisperses dont la taille et la forme sont contrôlées par les caractéristiques des gouttes générées [133]. (c) Doubles émulsions fabriquées dans un système de capillaires emboîtés [119]. (d) Test enzymatique effectué sur une cellule unique isolée à l'intérieur d'une goutte [50].

Les systèmes microfluidiques multiphasiques sont aussi largement exploités pour des applications biologiques. Elles concernent les études de cristallisation de protéines [104], l'encapsulation de cellules [107], l'analyse d'ADN [16, 19] ou des tests sur les enzymes [50]. . . Une illustration de tests enzymatiques est présentée sur la figure 1.15.d. Les principaux avantages des gouttes dans ces domaines sont la faible quantité de produits consommés, l'absence de contamination entre chaque réacteur et la possibilité de réaliser des criblages de conditions expérimentales [92].

1.3 La cristallisation en microfluidique

Les possibilités offertes par les dispositifs microfluidiques de manipuler des petites quantités de produits, de mélanger rapidement des réactifs, de contrôler les temps de réactions, les transferts thermiques ainsi que les géométries, font qu'ils sont aujourd'hui largement utilisés pour étudier la formation de solides. Ces différentes propriétés permettent en effet de réaliser par exemple des criblages rapides de conditions expérimentales tout en ne consommant qu'une quantité très faible de produits. Ceci se révèle être fondamental en particulier pour l'étude de la cristallisation de protéines. Dans le cadre de la synthèse de particules, les microréacteurs sont utilisés pour produire des particules extrêmement monodisperses et de taille contrôlée. Enfin, la possibilité de former des gouttes monodisperses de température contrôlée ouvre une nouvelle voie pour effectuer des mesures de cinétiques de nucléation à partir de la méthode des gouttes. Dans cette section nous ferons une description non exhaustive de différents outils microfluidiques déjà utilisés pour l'étude de la formation de solides et la synthèse de particules. Nous commencerons tout d'abord par présenter les travaux de Jensen *et al.* [44] sur la formation de particules solides. Nous présenterons ensuite différents outils microfluidiques développés pour réaliser des criblages de conditions opératoires pour la cristallisation de protéines puis nous finirons par quelques applications pour la mesure de cinétiques de cristallisation.

1.3.1 Synthèse de nanoparticules monodisperses

Le temps de mélange des réactifs ainsi que la distribution du temps de résidence (DTR) des particules dans le milieu réactionnel sont des points critiques pour la synthèse de particules solides monodisperses. Plus le temps de mélange est court et plus la DTR est étroite, plus les particules sont monodisperses. Les microréacteurs classiques monophasiques s'avèrent donc peu efficaces pour ce type de synthèse en raison d'un temps de mélange long, dominé par la diffusion, et d'une DTR très grande à cause de la dispersion de Taylor-Aris. Dans la référence [44], Jensen *et al.* démontrent qu'un dispositif microfluidique basé sur un écoulement diphasique réactifs liquides / bulles d'air, permet d'améliorer considérablement les performances des microréacteurs. Un schéma du dispositif microfluidique utilisé est présenté sur la figure 1.16.a. Les réactifs sont injectés dans les deux premières entrées en amont du canal et un flux de gaz est introduit dans la troisième entrée. Grâce à des techniques de vélocimétrie par imagerie de particules et de microscopie de fluorescence, Jensen *et al.* ont montré que la présence des bulles d'air induit des recirculations du liquide produisant un mélange efficace des réactifs et qu'elle réduit fortement la DTR. L'efficacité du dispositif a été illustré en comparant des particules de silice synthétisées dans le microréacteur sans bulle (dispersion importante) avec des particules de silice synthétisées dans le microréacteur avec des bulles. Des échantillons des particules obtenues dans les deux cas sont présentés sur les figures 1.16.b et 1.16.c. Elles montrent clairement une polydispersité beaucoup plus importante dans le cas de l'écoulement monophasique.

Un autre exemple de synthèse de particules en microréacteur diphasique est rapporté par Mathies *et al.* dans la référence [20]. Ils présentent un dispositif permettant de synthé-

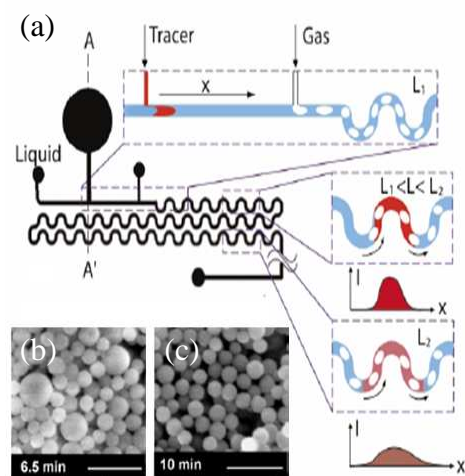


FIG. 1.16 – (a) Schéma du dispositif microfluidique utilisé par Jensen *et al.* [44]. L'injection d'un traceur permet de déterminer l'évolution de la distribution du temps de résidence le long du canal. (b) Image de particules typiques produites dans le cas d'un écoulement sans bulles, obtenue par microscopie électronique à balayage (MEB). (c) Image MEB de particules typiques produites en présence de bulles.

tiser à haute température des nanocristaux de CdSe. Pour cela, des gouttes contenant les réactifs dissous dans un solvant organique (octadecène) sont produites dans une huile fluo-rée. Une fois formées les gouttes s'écoulent à travers un canal chauffé entre 240 et 300 °C. Comme les particules de silice dans le cas précédent, les nanocristaux de CdSe obtenus à l'issue de cette synthèse présentent une grande monodispersité. Ces résultats montrent encore une fois l'efficacité des dispositifs microfluidiques basés sur des écoulements diphasiques pour produire des particules de taille parfaitement contrôlée.

1.3.2 Cristallisation de protéines

Une grande partie des systèmes microfluidiques développés aujourd'hui concerne des applications en biologie et en particulier pour la cristallisation de protéines. Les recherches sur les structures des protéines sont actuellement considérables. Sachant que leurs structures sont déterminées principalement par diffraction des rayons X, l'étape de cristallisation des protéines est essentielle pour ce type d'étude. L'obtention de cristaux de bonne qualité pour l'analyse aux rayons X est cependant un processus extrêmement complexe et les méthodes pour former de tels cristaux sont pour le moment principalement empiriques. Elles consistent à réaliser des centaines de tests pour trouver les conditions expérimentales (concentrations en sel, solutions tampon, agents précipitants...) permettant d'optimiser le processus de cristallisation. Les méthodes classiques utilisées pour effectuer ces criblages consomment typiquement 1 μL de solution concentrée en protéine par test. L'ensemble du criblage d'une molécule nécessite généralement quelques grammes de produit [21]. Comme

cette quantité n'est pas toujours disponible ou s'avère être excessivement chère, il existe une forte demande pour des techniques expérimentales qui consomment moins de produits.

Zheng *et al.* [136] ont rapporté en 2003 un système microfluidique permettant d'effectuer des criblages de conditions de cristallisation de protéines utilisant uniquement environ 4 nL de solution par essai. Chaque essai est réalisé dans une goutte contenant les différents réactifs nécessaires. Comme le montre la figure 1.17.a, les gouttes sont formées dans un microcanal et leurs concentrations en réactifs sont modifiées en continu au cours du temps en changeant les débits d'injection des produits. Avec ce dispositif, ils affirment que des

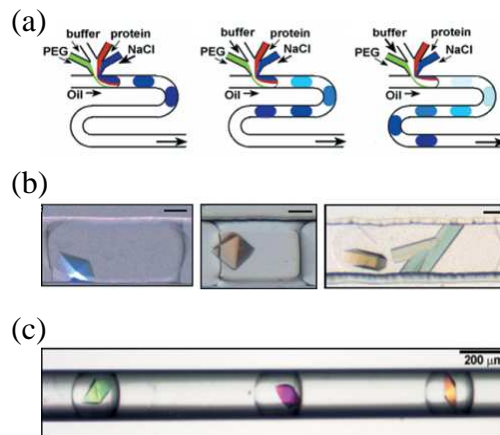


FIG. 1.17 – (a) Formation en continu de gouttes contenant des compositions différentes en produits injectés. (b) Exemples de cristaux de protéines obtenus dans les gouttes après incubation. (c) Cristaux de protéines dans des gouttes stockées dans un capillaire externe pour pouvoir effectuer des mesures de diffraction des rayons X. Ces figures sont issues des références [136, 137].

centaines de gouttes de compositions différentes peuvent être produites en 1–2 min avec une erreur sur les concentrations d'environ 15 %. Comme nous le verrons plus tard dans ce manuscrit, le contrôle précis des concentrations au sein des gouttes est complexe puisqu'il dépend fortement de l'élasticité des systèmes en PDMS et de l'imprécision des poussettes-seringue. Une fois les gouttes formées, les seringues d'injection sont déconnectées de la puce microfluidique pour maintenir les gouttes stockées dans le canal. Le dispositif est alors incubé et la formation des cristaux est observée périodiquement à l'aide d'un microscope. Des photos de cristaux obtenus dans les gouttes pour différentes protéines sont présentées sur la figure 1.17.b. Une évolution de ce dispositif consiste à stocker les gouttes dans un capillaire en verre externe afin de pouvoir effectuer des mesures *in situ* de diffraction des rayons X (cf. figure 1.17.c).

Face aux promesses de tels systèmes, plusieurs autres outils microfluidiques de criblages pour la cristallisation de protéines ont été développés [47, 65, 102]. Par exemple, Quake *et al.* [47] ont mis au point des systèmes dont le principe de fonctionnement est basé sur la manipulation de pico-volumes de solution à l'aide de vannes et de pompes intégrées à la puce microfluidique. Cette technologie permet de contrôler individuellement les compo-

sitions de centaines de volumes et par conséquent de réaliser des criblages avec un dispositif extrêmement compact. Par rapport aux systèmes des gouttes, cette technique ne nécessite pas l'utilisation de seringues pour injecter les liquides, et nécessite donc réellement qu'une très faible quantité de produit (pipetage directement dans la puce de quelques microlitres).

1.3.3 Études des cinétiques de nucléation

Comme cela a été présenté dans la première section de ce chapitre, la méthode des gouttes est la technique la plus fiable pour mesurer des taux de nucléation de cristaux. Cependant cette méthode reste difficile à réaliser expérimentalement notamment à cause de la polydispersité des gouttes généralement obtenues par émulsification. À cela s'ajoute la présence de tensioactifs susceptibles d'induire la nucléation hétérogène, les interactions possibles entre les gouttes, et les difficultés rencontrées pour observer la présence des cristaux. Étant donné que la microfluidique permet de produire des gouttes extrêmement monodisperses, sans tensioactif et séparées les unes des autres, elle s'impose être une technique idéale pour appliquer la méthode des gouttes et mesurer des taux de nucléation. Malgré cela, nous n'avons recensé que deux références rapportant l'utilisation de la microfluidique pour une telle application.

La première concerne une étude réalisée en 1959 par White et Frost, 40 ans avant « l'invention » de la microfluidique, pour des mesures de taux de nucléation de cristaux de nitrate de potassium [128]. Le schéma du montage expérimental ayant servi à produire les gouttes est représenté sur la figure 1.18.a. La solution de nitrate de potassium est injectée à travers un capillaire centré dans un tube où circule une huile organique à une température supérieure à la température de solubilité de la solution. Les diamètres des capillaires ne sont pas précisés mais grâce à ce système ils arrivent à former des gouttes dont le diamètre peut être varié de 0.2 à 2 mm en changeant les débits. Les gouttes sont produites en continu et une fois formées elles s'écoulent par gravité dans une colonne d'huile dont la température est inférieure à la température de solubilité. À différentes positions le long de la colonne, c'est-à-dire à différents temps, deux cents gouttes sont observées une à une avec un microscope pour mesurer la probabilité qu'une goutte possède un cristal. Cette étape est sans doute assez laborieuse. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 1.18.b. Ils observent bien que cette probabilité augmente au cours du temps et qu'elle augmente d'autant plus rapidement que la solution est sursaturée. La non linéarité des courbes est interprétée par la présence d'impuretés dans certaines gouttes qui modifient le taux de nucléation.

Plus récemment, en 2007, Gong *et al.* [38] ont utilisé un dispositif microfluidique pour mesurer des taux de nucléation de cristaux colloïdaux. Le système microfluidique sert uniquement à fabriquer des gouttes monodisperses d'une suspension de colloïdes dans de l'huile silicone. Une fois formées, les gouttes sont récupérées dans une fine cuve en verre et observées sous microscope. Ils déterminent ensuite les taux de nucléation à partir des mesures de la proportion de gouttes cristallisées au cours du temps. Nous ne détaillerons pas plus ces travaux, mais ils démontrent déjà un fort potentiel des systèmes microfluidiques pour l'étude des cinétiques de nucléation.

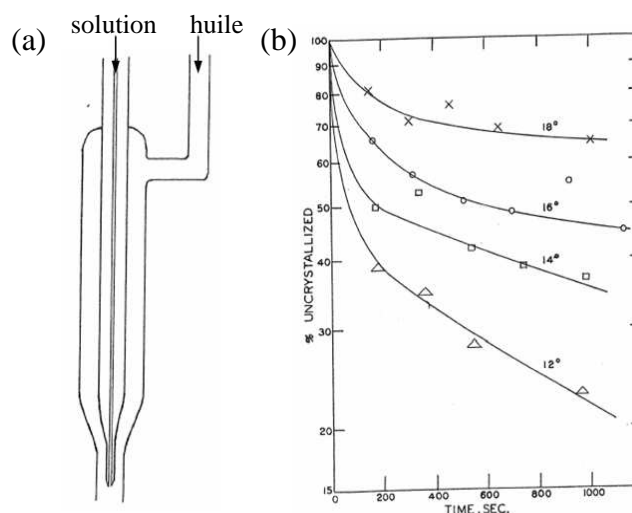


FIG. 1.18 – (a) Dispositif utilisé pour produire de gouttes de solution dans l’huile. (b) Mesures du pourcentage de gouttes non cristallisées au cours du temps pour différentes températures. Le diamètre des gouttes est de $350 \mu\text{m}$. Ces figures sont issues de la référence [128].

1.4 Conclusion et objectifs de la thèse

Nous avons vu dans ce premier chapitre que l’étude de la cristallisation était encore à ce jour limitée par l’absence d’outils simples à utiliser, rapides, et peu coûteux. Les difficultés rencontrées et les temps d’expérience mis en jeu pour les mesures de solubilité, de cinétique de nucléation et de détection de polymorphes, se traduisent par un manque de données expérimentales et qui amène souvent à des procédés de cristallisation assez mal maîtrisés. En ce qui concerne le processus de nucléation de cristaux, nous avons également montré que c’était un phénomène encore mal compris et qui nécessite de nouvelles études expérimentales à l’aide de techniques mieux adaptées.

Aujourd’hui, les systèmes microfluidiques semblent pouvoir offrir une réponse pertinente à ces besoins. Les dispositifs développés ces dernières années, et en particulier ceux basés sur les écoulements diphasiques, se révèlent en effet efficaces pour étudier et contrôler la formation de solides. Dans de tels systèmes, les gouttes sont de véritables microréacteurs indépendants. Leur volume et leur composition chimique sont très bien contrôlés par les débits d’injection et le mélange au sein de chacune des gouttes est directement induit par leur circulation dans les microcanaux. Cependant, il n’existe pas encore à ce jour d’outils microfluidiques complets et aboutis pour l’étude de la cristallisation.

L’objectif de cette thèse est de développer un ensemble de systèmes microfluidiques rendant plus facile et plus rapide l’investigation approfondie de procédés de cristallisation. Cet ensemble est constitué de quatre dispositifs distincts basés sur des écoulements diphasiques et le stockage de gouttes. Chacun des outils mis au point fera l’objet d’un chapitre entier dans ce manuscrit. Ces différents chapitres seront donc structurés sur une base commune, à

savoir : une description expérimentale du dispositif, une présentation des résultats obtenus à partir d'expériences typiques et une discussion des résultats.

Le premier dispositif présenté est un instrument de criblage de diagrammes de phase du type diagramme de solubilité. Cette fonction est réalisée grâce à une lecture directe et rapide de la courbe de solubilité d'un soluté dans un solvant, obtenue à partir du stockage d'une matrice de gouttes présentant chacune un couple concentration en soluté / température différent.

Le deuxième dispositif concerne la détection et l'étude des formes polymorphiques susceptibles d'apparaître lors d'un procédé de cristallisation. Il consiste à induire des événements de cristallisation dans des centaines de gouttes d'environ 100 nL et de caractériser les cristaux formés, soit par leur température de solubilité, soit par des mesures de leur spectre Raman. La cristallisation dans des gouttes de petit volume permet de réaliser des mesures impossible à faire avec les méthodes classiques (dans des volumes macroscopiques).

Les deux derniers systèmes ont été développés pour mesurer des cinétiques de nucléation de cristaux. Basés sur la méthode des gouttes, ils permettent de mesurer rapidement des taux de nucléation. L'un donne accès en particulier à des cinétiques de nucléation relativement lentes (typiquement de 1 min à 1 h) dans des gouttes stockées dans un long microcanal. L'autre permet de mesurer des cinétiques plus rapides dans des gouttes perpétuellement agitées.

Chapitre 2

Outil microfluidique de criblage de diagramme de solubilité

Dans les domaines de la biochimie, de la génomique et de la protéomique, l'expression de « criblage » fait référence à des techniques visant à découvrir et à étudier des molécules aux propriétés nouvelles et biologiquement actives. Pour accélérer ces découvertes et ainsi mettre au point des matériaux et des médicaments nouveaux, les centres de recherches s'appuient désormais principalement sur l'informatique et la robotique. Par exemple, les industries pharmaceutiques utilisent aujourd'hui des plateformes automatisées pour effectuer des tests standards de caractérisation des comportements biologiques (ADME) et des propriétés physicochimiques, sur les centaines de nouveaux composés qu'elles produisent par jour [100].

Ces plateformes robotiques restent cependant encore très coûteuses (de l'ordre de 200 k\$), exigent une maintenance lourde et avec un volume typique de 10 μL par test, elles consomment toujours une quantité trop importante de produits pour certains domaines tels que la protéomique [21, 71]. Pour résoudre en partie ces problèmes, une des solutions consiste à miniaturiser les outils de criblage et pour cela, la microfluidique se révèle être une alternative particulièrement intéressante [8]. Aujourd'hui, un certain nombre de dispositifs prometteurs réalisant des analyses de cellules ou de molécules biochimiques, ont déjà été mis au point et même commercialisés [32, 92].

Dans ce chapitre nous présentons un dispositif microfluidique développé pour réaliser des criblages rapides de diagrammes de solubilité. Dans une première partie, nous présenterons en détail le principe de la puce microfluidique ainsi que le dispositif expérimental. Dans une seconde partie, nous présenterons un exemple de mesure de solubilité réalisée à partir d'une solution d'acide adipique dans l'eau. Nous montrerons que cet outil microfluidique permet de mesurer simultanément dix points de la courbe de solubilité du soluté en environ une heure et avec 250 μL de solution. Ces résultats ont été publiés dans la référence [66].

2.1 Principe du système microfluidique et dispositif expérimental

2.1.1 Principe du système microfluidique

Comme le montre la figure 2.1, le principe du système microfluidique présenté dans ce

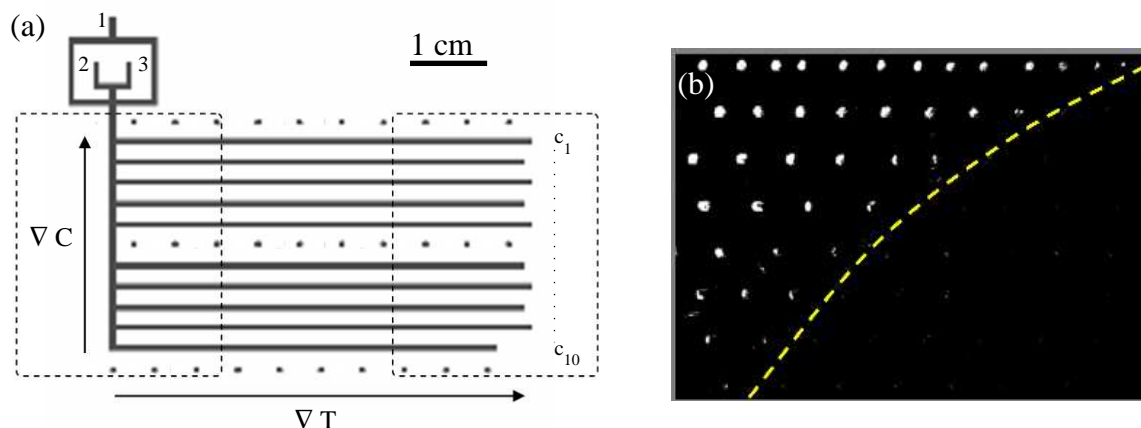


FIG. 2.1 – (a) Schéma du dispositif microfluidique (largeur des canaux : $500 \mu\text{m}$). L'huile silicone est injectée dans l'entrée 1 et les solutions aqueuses dans les entrées 2 et 3. Les deux rectangles en pointillés représentent les positions des deux modules Peltier utilisés pour appliquer des gradients de température ∇T . Les trois rangées de points indiquent les positions des mesures de température. (b) Exemple d'une lecture directe d'un diagramme de solubilité dans le cas d'un soluté organique. La ligne pointillée délimite les gouttes contenant des cristaux de celles qui n'en contiennent plus. Elle donne donc une estimation de la limite de solubilité.

chapitre consiste à lire directement sur une puce microfluidique, un diagramme de phase à deux dimensions de façon quantitative. Plus précisément, le dispositif est basé sur le couplage entre le stockage de centaines de gouttes de compositions chimiques différentes dans des canaux parallèles et l'application d'un gradient de température le long de ces canaux. Ceci permet de construire un diagramme concentration *vs.* température à partir d'une matrice bidimensionnelle de gouttes.

Pour lire sur la puce le diagramme de solubilité d'un soluté dans un solvant, les canaux parallèles, appelés « canaux de stockage », doivent tout d'abord être remplis avec des gouttes dont la concentration en soluté varie d'un canal à l'autre. Dans le cas le plus courant où la solubilité du soluté augmente avec la température, la nucléation de cristaux est ensuite induite par refroidissement dans chacune des gouttes stockées. Enfin, un gradient de température adéquat est appliqué le long des canaux de stockage. Il y a alors dissolution complète des cristaux situés dans les gouttes de température supérieure à leur température de solubilité. Au final, comme le montre la figure 2.1.b, la limite entre les gouttes

contenant des cristaux et les gouttes vides peut être directement visualisée. Cette limite permet de remonter facilement à la température de solubilité de la solution aux différentes concentrations.

Par la suite, nous proposons une description détaillée du dispositif expérimental. En particulier, nous verrons comment stocker dans les canaux des gouttes de différentes concentrations en soluté, puis nous présenterons une étude approfondie du contrôle thermique.

2.1.2 Dispositif expérimental

Description de la puce microfluidique

La puce microfluidique est fabriquée en poly(diméthylsiloxane) (PDMS) et silicium à partir de la technologie de lithographie molle décrite dans le chapitre 1. Les canaux moulés dans la matrice en PDMS ont une hauteur et une largeur de $500 \mu\text{m}$. Comme les procédés classiques de microfabrication ne permettent pas de réaliser une telle hauteur de canal, il a été nécessaire de développer un procédé spécifique décrit dans l'annexe A. La matrice en PDMS est collée directement sur un support en silicium de diamètre 3 p ($1 \text{ p} = 2.54 \text{ cm}$) et d'épaisseur $500 \mu\text{m}$.

Le réseau de canaux de la puce est présenté sur la figure 2.1.a. Il est constitué d'une zone d'injection avec trois entrées et d'une zone de stockage composée de dix canaux c_i . Chaque sortie de ces canaux est reliée à une électrovanne à pincement (cf. figure 2.2) permettant de les ouvrir ou de les fermer de façon indépendante.

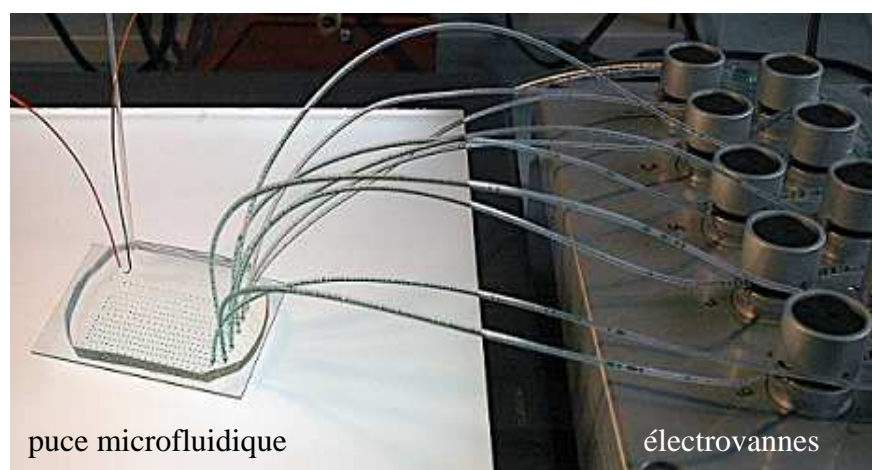


FIG. 2.2 – Puce microfluidique et électrovannes utilisées pour ouvrir et fermer de façon indépendante les canaux de stockage. Des gouttes contenant différentes concentrations de colorant sont stockées dans les canaux. Pour plus de clarté et pour visualiser le gradient de concentration, la couche de PDMS a été collée sur un support en verre ($76 \times 52 \text{ mm}$) plutôt que sur un support en silicium.

Dans l'entrée 1 de la puce, de l'huile silicone (Rhodorsil, 500 cSt) est injectée à un débit

$Q_1 \approx 3 \text{ mL h}^{-1}$. Les solutions aqueuses permettant de formuler les différentes compositions chimiques souhaitées sont injectées dans les entrées 2 et 3 aux débits respectifs Q_2 et Q_3 typiquement compris entre 0 et 1 mL h^{-1} . Tous les liquides sont injectés à débits constants à l'aide de pousses-seringue (Harvard Apparatus). Au niveau de l'intersection des deux phases injectées, il se forme en continu des gouttes monodisperses d'un mélange des solutions aqueuses dans l'huile. Le volume des gouttes V est directement obtenu à partir de la fréquence f de formation des gouttes et du débit total des solutions aqueuses par la relation $V = (Q_2 + Q_3)/f$. Typiquement, V est compris entre 100 et 300 nL et f varie de 0.1 à 5 s^{-1} . La fréquence, donc le volume, peut être modulée par le rapport des débits de la phase aqueuse et de l'huile. La composition chimique à l'intérieur de ces gouttes est directement reliée au rapport Q_2/Q_3 .

Les diamètres des tubes d'injection ne sont pas critiques. Il faut cependant éviter des diamètres internes trop petits pour maintenir des pertes de charge faibles au niveau des tubes. Pour cette étude, des tubes de diamètre interne 0.8 mm et 0.5 mm (FEP) ont été utilisés respectivement pour les injections de l'huile et des solutions aqueuses. Dans les conditions expérimentales utilisées, la perte de charge le long des tubes est ainsi inférieure à 0.1 bar. En ce qui concerne les sorties, il est préférable d'utiliser des tubes dont le diamètre interne est plus grand que les dimensions des canaux pour diminuer le risque de bouchage en cas de présence de phase solide. Ici nous avons choisi des tubes de diamètre interne 0.8 mm.

Méthode de stockage des gouttes

Fonctionnement des électrovannes

Un schéma du principe de fonctionnement d'une électrovanne est représenté sur la figure 2.3. Chacun des tubes flexibles semi-rigides, reliés aux sorties des canaux de stockage, est terminé par un tube souple en PVC d'environ 5 cm de longueur placé entre les organes de pincement d'une électrovanne (Asco Joucomatic). Le simple pincement du tube souple permet de fermer le canal correspondant. Il est important de préciser que pour réussir à arrêter rapidement l'écoulement dans un canal, il faut que celui-ci, ainsi que son tube de sortie, soient préalablement remplis de liquide. Si des bulles d'air sont présentes lors de la fermeture du canal, le liquide continue à se déplacer pendant un certain temps à cause de la compressibilité de l'air. Au moment où la vanne pince le tube souple, un volume de liquide est déplacé. Pour éviter un reflux de liquide en direction du canal, qui aurait pour effet de perturber les gouttes stockées, la résistance hydrodynamique en aval de la vanne doit donc être aussi faible que possible. Pour cela, il est préférable de placer l'électrovanne au niveau de l'extrémité du tube semi-rigide et utiliser des tubes souples courts. Avec un tel système, l'arrêt du liquide dans les canaux se montre très efficace. Il est cependant probable que dans le cas de canaux plus petits et fabriqués en PDMS, l'arrêt des liquides soit beaucoup plus délicat à réaliser à cause de l'augmentation des pertes de charge et de l'élasticité du matériau.

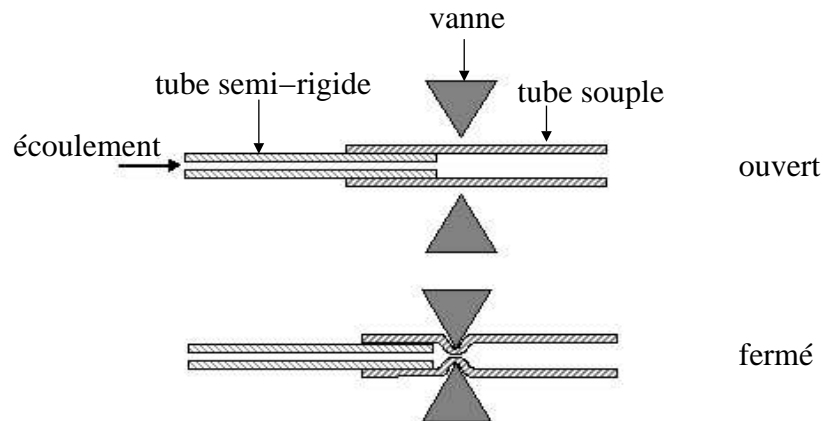


FIG. 2.3 – Principe des électrovannes à pincement. Chacun des tubes semi-rigides reliés aux sorties de la puce est terminé par un tube souple en PVC qui peut être bloqué ou non par une électrovanne à pincement.

Protocole de stockage des gouttes

Grâce au contrôle de l'ouverture et de la fermeture de chaque sortie, il est possible de stocker des gouttes de différentes compositions chimiques dans les canaux c_i . Plusieurs étapes, résumées sur la figure 2.4, sont cependant nécessaires pour effectuer un tel remplissage. Dans un premier temps, l'ensemble des canaux et des tubes sont remplis d'huile silicone. Ensuite, tous les canaux de stockage sont fermés sauf c_1 . Les gouttes formées dans la zone d'injection s'écoulent alors dans le seul canal ouvert. Une fois l'écoulement stabilisé, le canal c_1 est fermé et simultanément, le canal c_2 est ouvert. Les gouttes qui étaient dans c_1 restent immobiles alors que celles qui continuent à se former s'écoulent dans c_2 . Il est alors possible de changer la composition chimique des gouttes en modifiant le rapport de débits Q_2/Q_3 . De cette manière, on peut remplir successivement les dix canaux de stockage avec différentes compositions. Ce protocole permet de stocker jusqu'à vingt gouttes par canal. Si l'on augmente ce nombre, en jouant par exemple sur le rapport des débits huile / solution, les gouttes deviennent trop proches les unes des autres et le léger mouvement induit par la fermeture d'un canal peut provoquer la coalescence de certaines d'entre elles.

Afin de faciliter le remplissage des canaux, les électrovannes et les pousset-seringue ont été automatisés à l'aide d'un programme réalisé avec le logiciel Labview. La fenêtre de contrôle du programme est présentée sur la figure 2.5. Après avoir indiqué les débits à imposer dans chaque canal ainsi que le temps d'ouverture des différentes vannes, le programme permet de remplir automatiquement l'ensemble des canaux. Les débits des pousset-seringue 1 et 2 servant à injecter les phases aqueuses, peuvent être définis de façon indépendante pour chaque canal. Le pousse-seringue 3, utilisé pour injecter l'huile, impose toujours le même débit.

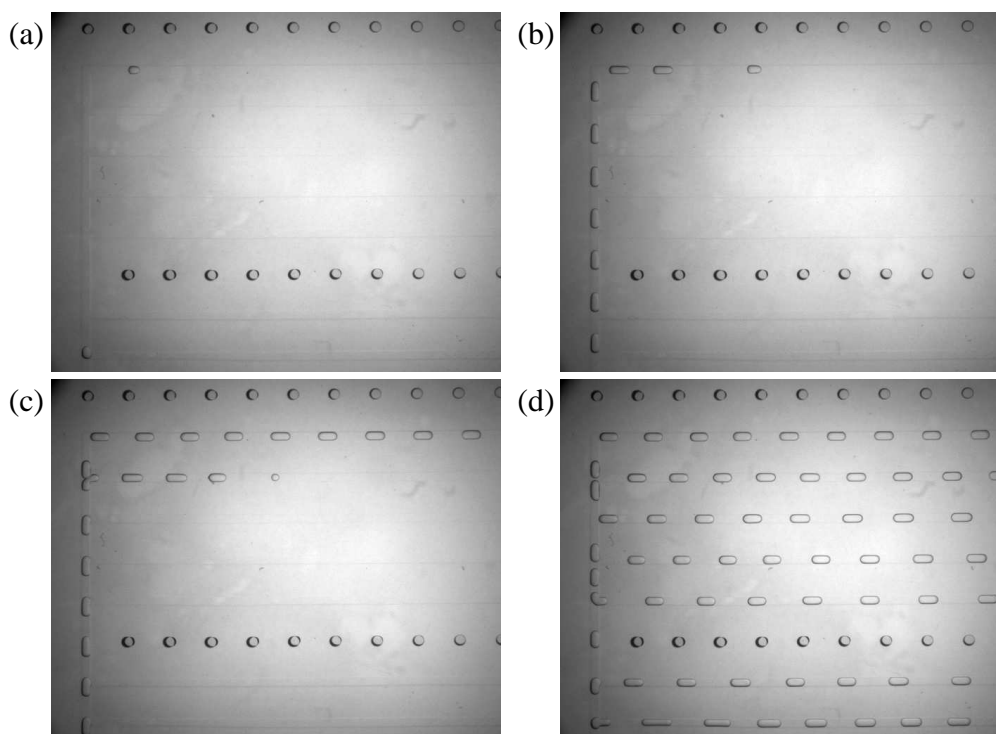


FIG. 2.4 – Séquence de remplissage des canaux de stockage. Pour des raisons de visibilité, le PDMS est collé sur une lame de verre et non sur un support en silicium. (a) Tous les canaux sont préalablement remplis d'huile silicone. (b) Tous les canaux sont fermés sauf celui du haut. Les gouttes s'écoulent dans le canal ouvert. (c) Les gouttes dans le premier canal du haut sont stoppées (canal fermé), seul le deuxième canal est ouvert. (d) Tous les canaux de stockage sont remplis de gouttes immobilisées. La largeur des canaux est de $500 \mu\text{m}$.

Contrôle des compositions chimiques

Pour étudier des diagrammes de phase et plus particulièrement des diagrammes de solubilité, le contrôle des compositions chimiques des gouttes est un élément crucial. Cependant, à cause de l'élasticité du PDMS et de la précision des pousses-seringue, il existe une erreur rémanente sur la concentration à l'intérieur des gouttes. Afin de caractériser le contrôle des compositions chimiques que l'on peut atteindre avec le dispositif, nous avons réalisé une étude *in situ* en utilisant la spectroscopie Raman comme technique d'analyse. La spectroscopie Raman est une méthode non-destructrice permettant de sonder les modes de vibration moléculaire d'un échantillon et par conséquent, de caractériser par exemple, la composition chimique d'une solution.

Pour cette étude nous avons utilisé un microscope Raman confocal (HR800 Horiba ; Jobin-Yvon) avec un objectif $50\times$ pour focaliser dans les gouttes un faisceau laser de longueur d'onde 532 nm , et collecter la composante Raman de la lumière diffusée. Nous avons aussi choisi un réseau 600 traits par millimètre pour disperser le faisceau récupéré et

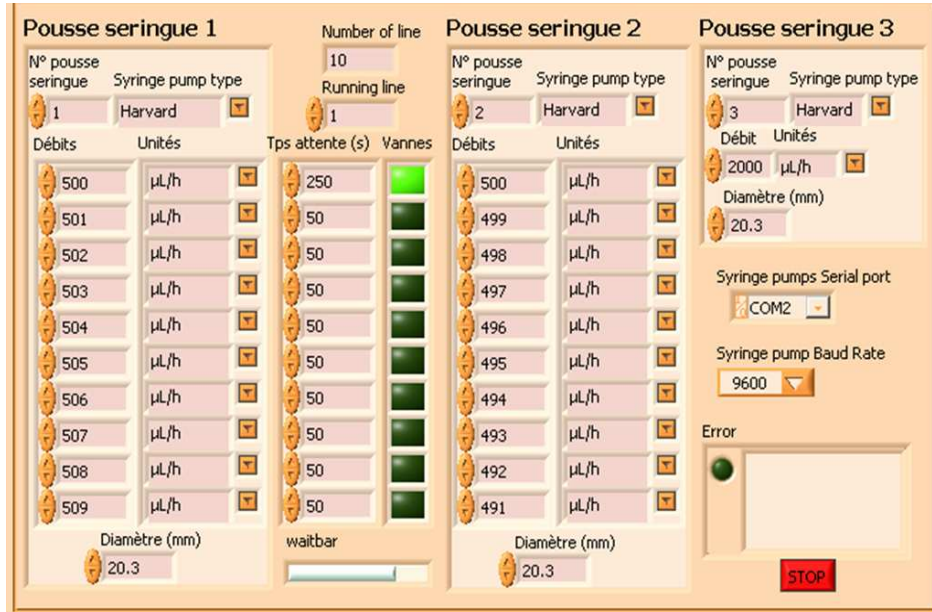


FIG. 2.5 – Interface de contrôle du programme Labview développé pour remplir de façon automatisée l'ensemble des canaux avec des gouttes de différentes concentrations. Le programme contrôle à la fois les trois pousser-seringue pour l'injection des liquides et les ouvertures et fermetures des dix électrovannes.

un trou confocal de $500 \mu\text{m}$ de diamètre pour limiter le bruit de fond provenant des zones en dehors du plan focal. Les mesures ont été réalisées à travers la couche de PDMS sur des gouttes composées d'un mélange de deux solutions aqueuses de $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ (à 0.5 M) et $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ (à 0.5 M) injectées respectivement dans les entrées 2 et 3 de la puce. Ces deux composés sont particulièrement intéressants puisqu'ils présentent des signaux Raman à la fois intenses et bien distincts. À titre d'exemple, la figure 2.6 montre trois spectres Raman obtenus à partir de gouttes composées de différents rapports de concentration $R_C = [\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6] / [\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Les deux pics centrés à 2060 et 2095 cm^{-1} caractérisent $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ et celui centré à 2136 cm^{-1} caractérise $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$. Pour ces deux composés, l'aire sous leurs bandes respectives est directement liée à leur concentration par :

$$A_i = K_i C_i V_0 t, \quad (2.1)$$

où A_i est l'aire sous les bandes Raman du composé i , C_i sa concentration, K_i une constante spécifique, V_0 le volume d'analyse et t le temps d'intégration de la mesure du spectre [23]. Ainsi, le rapport R_A des aires des bandes des deux composés est proportionnel à R_C et indépendant des paramètres d'acquisition t et V_0 . L'utilisation simultanée des deux produits $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$ et $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ permet donc une autocalibration des spectres Raman mesurés.

Afin d'optimiser le protocole de remplissage de la puce microfluidique, nous avons d'abord utilisé la spectroscopie Raman pour suivre la cinétique de stabilisation d'un écoulement après un changement des débits d'injection. Cette étude préliminaire est nécessaire

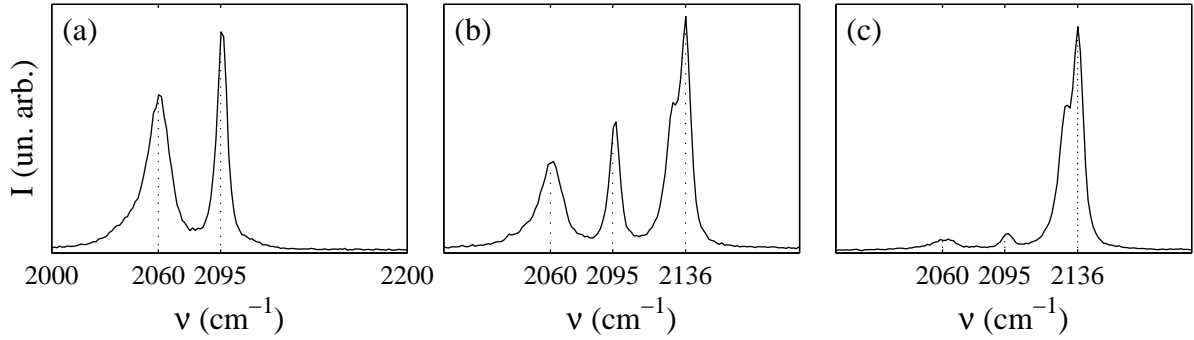


FIG. 2.6 – Spectres Raman réalisés sur des gouttes contenant différents rapports de concentration R_C en potassium hexacyanoferrate (II) $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6$ et potassium hexacyanoferrate (III) $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$. I est l'intensité du signal et ν est le nombre d'onde. (a) $R_C = 0$ (b) $R_C = 1$ (c) $R_C = 9$.

puisqu'à cause de l'élasticité du PDMS et du système d'injection, le dispositif présente un temps de réponse qui ne permet pas un changement instantané des débits. Pour déterminer ce temps de réponse, nous avons réalisé l'expérience suivante : à $t < 0$ s, $Q_2 = 0$ et $Q_3 = 500 \mu\text{L h}^{-1}$, et à $t > 0$ s, $Q_2 = Q_3 = 250 \mu\text{L h}^{-1}$. Pendant les trente premières secondes, les gouttes s'écoulent dans c_1 qui est le seul canal maintenu ouvert. Ensuite, les gouttes sont stockées dans cinq autres canaux après 1, 2, 4, 6 et 10 min d'écoulement. La mesure des spectres Raman des gouttes stockées permet ainsi de suivre l'évolution des concentrations au cours du temps. La figure 2.7.a représente le rapport R_A en fonction du temps. Les trois premiers points (entre 5 et 30 s) sont obtenus sur des gouttes uniques du premier canal. Les autres points correspondent à des moyennes réalisées sur plusieurs gouttes de chaque canal. La figure montre que R_A atteint une valeur à peu près constante après 60 s, ce qui signifie que l'écoulement devient stable après ce temps. Le temps de réponse du système est donc de l'ordre de 1 min. Les oscillations de R_A observées après 1 min d'écoulement sont attribuées en partie à l'erreur sur la mesure du spectre Raman mais surtout à l'imprécision des pousses-seringue. L'erreur de ces derniers est estimée à 5 % du débit d'après une étude effectuée en interne au laboratoire [48]. Comme l'erreur des deux pousses-seringue utilisés pour injecter les solutions s'ajoutent, l'erreur sur la concentration peut atteindre 10 %.

Une deuxième expérience a été réalisée pour caractériser le gradient de concentration qu'il est possible de produire avec un tel dispositif. Pour cela, les canaux de stockage ont été remplis de gouttes avec des rapports $R_C^0 = Q_2/Q_3$ différents d'un canal à l'autre. Lors du remplissage de chaque canal, l'écoulement est maintenu pendant 90 s avant de le fermer afin d'atteindre une composition stable. Une fois les gouttes stockées, des mesures de spectres Raman ont été réalisées dans trois gouttes de chaque canal. La figure 2.7.b représente le rapport R_A mesuré, en fonction de R_C^0 . Les valeurs de R_A sont moyennées sur l'ensemble des gouttes sondées dans un même canal et les barres d'erreur correspondent à la déviation standard de ces mesures. La figure 2.7.b montre que R_A est bien proportionnel à R_C^0 . Il

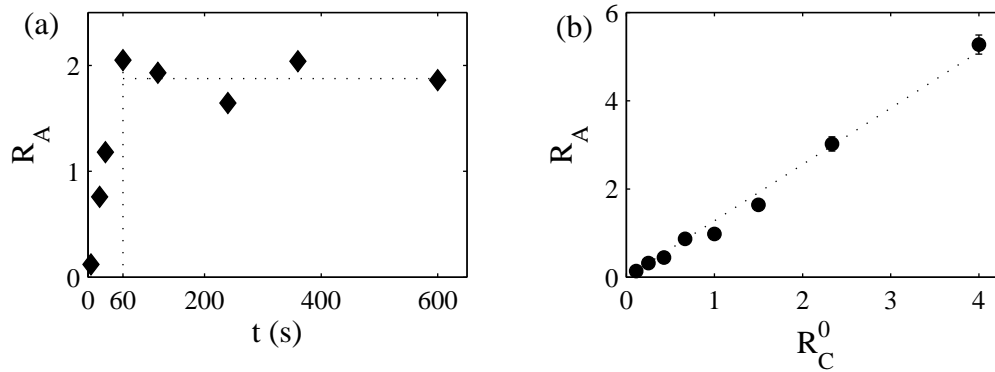


FIG. 2.7 – (a) Évolution du rapport R_A dans les gouttes après un changement des débits Q_2 et Q_3 des solutions aqueuses. Avant $t = 0$ s, $Q_2 = 0$ et $Q_3 = 500 \mu\text{L h}^{-1}$. Pour $t > 0$ s, $Q_2 = Q_3 = 250 \mu\text{L h}^{-1}$. Entre 5 et 30 s, les valeurs de R_A sont obtenues à partir de trois gouttes uniques du canal c_1 . Après $t = 60$ s, chaque point correspond à la moyenne calculée sur plusieurs gouttes d'un même canal. Les barres d'erreur, correspondant à la déviation standard des mesures effectuées sur les gouttes de chaque canal, sont masquées par les symboles. (b) Rapport de concentration R_A mesuré dans les gouttes en fonction du rapport R_C^0 déterminé à partir des débits des solutions aqueuses. La droite pointillée correspond à l'ajustement linéaire des données expérimentales.

apparaît cependant un écart de quelques pourcents par rapport à l'ajustement linéaire des données qui est expliqué encore une fois par l'imprécision des pousses-seringue et l'erreur sur la mesure des spectres Raman.

En conclusion, ces études montrent que le dispositif microfluidique permet bien de créer un gradient de concentration contrôlé. Avec un temps de réponse du système de l'ordre de 60 s, il est possible de remplir les dix canaux en une dizaine de minutes, soit un volume de solution consommé inférieur à $200 \mu\text{L}$.

Contrôle thermique

Le contrôle de la température est le troisième point critique du dispositif. Pour étudier des diagrammes de solubilité sur une large gamme de température, il a été nécessaire de développer et de caractériser différentes techniques permettant de thermaliser toutes les parties du système. Tout d'abord, pour pouvoir introduire dans la puce microfluidique des solutions devant être maintenues à une température supérieure à la température ambiante, nous utilisons le système de chauffage schématisé sur la figure 2.8. La seringue qui contient la solution est enroulée dans une résistance chauffante flexible (Minco) et le tube correspondant est fixé également sur une résistance chauffante flexible grâce à des tubes métalliques collés sur le réchauffeur. La température de chaque résistance est contrôlée par une sonde Pt100 couplée à un régulateur (Minco). Pour homogénéiser la température du tube, il est en plus enroulé dans une feuille d'aluminium. Ce système a été utilisé au laboratoire pour

maintenir des liquides à une température supérieure à 80 °C.

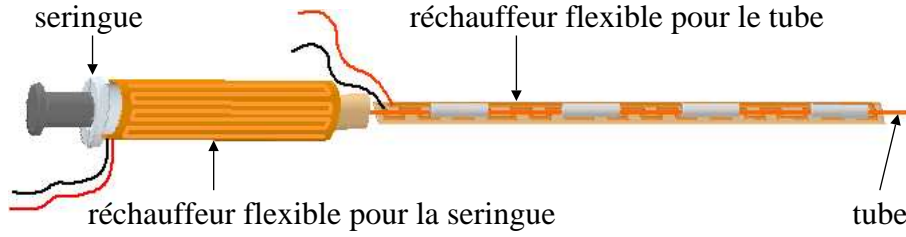


FIG. 2.8 – Schéma du système de chauffage de la seringue et du tube d'injection. Une première résistance chauffante flexible est enroulée autour de la seringue et une seconde résistance est fixée sur le tube.

Le contrôle thermique de la puce microfluidique est réalisé à l'aide de deux modules Peltier (Melcor ; $3 \times 3 \text{ cm}^2 \times 5 \text{ mm}$) placés sous le support en silicium. Leurs positions sont représentées par les deux rectangles en pointillés sur la figure 2.1. Les deux modules sont posés sur un thermostat constitué d'un support dans lequel circule de l'eau dont la température est contrôlée par un cryostat. Ils sont alimentés par une alimentation de laboratoire (300 W) à deux sorties. Afin d'améliorer les transferts thermiques entre les différents éléments du dispositif, de la graisse thermique est déposée au niveau des contacts entre la puce, les modules Peltier et le thermostat. Un module Peltier permet aussi bien de chauffer que de refroidir. Avec un tel montage, il est donc possible de chauffer la puce, de la refroidir, ou encore d'imposer un gradient de température entre les deux modules.

La température au niveau des canaux de la puce microfluidique est mesurée grâce à des thermocouples (Thermocoax) placés dans des trous traversant la couche de PDMS. Les signaux mesurés par les thermocouples sont traités à l'aide d'un système d'acquisition et du logiciel Labview. Comme le montre la figure 2.9, les trous sont remplis d'huile silicone pour se rapprocher au maximum des conditions à l'intérieur des canaux. Les positions des points de mesure de la température sont indiquées sur la figure 2.1 par les trois rangées de points parallèles aux canaux de stockage. Il est important de noter que lorsque le support en silicium est chauffé ou refroidi, il apparaît un gradient de température sur l'épaisseur de la couche de PDMS et donc sur la hauteur des canaux. À l'équilibre, en supposant que le flux thermique est constant et unidirectionnel suivant l'axe z de la couche de PDMS, le profil de température $T(z)$ est donné par :

$$T(z) = \frac{h}{\lambda_p} \left(\frac{T_0 - T_{si}}{1 + hH/\lambda_p} \right) z + T_{si}, \quad (2.2)$$

avec z la position ($z = 0$ correspond à la surface du silicium), h le coefficient de transfert conducto-convectif avec l'air, λ_p la conductivité thermique du PDMS, H l'épaisseur de la couche de PDMS, T_{si} la température du silicium et T_0 la température de l'air. Pour $h = 20 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$, $T_0 = 23 \text{ °C}$, $H = 5 \text{ mm}$ et en supposant la conductivité thermique de l'huile égale à celle du PDMS ($\lambda_p = 0.2 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), la différence de température entre la

partie inférieure du canal ($z = 0$) et la partie supérieure ($z = 0.5$ mm) est de $0.03(T_0 - T_{si})$ et atteint par exemple 0.5 °C pour $T_{si} = 40$ °C et 1.5 °C pour $T_{si} = 70$ °C. Par conséquent, la précision maximale qui peut être atteinte sur la mesure la température à un point donné du canal dépend de la différence de température entre le silicium et l'air. L'erreur peut typiquement atteindre 1.5 °C pour les grands écarts de température $T_0 - T_{si}$.

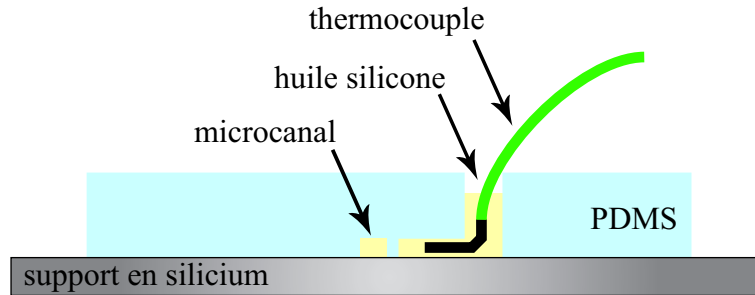


FIG. 2.9 – Schéma d'un thermocouple inséré dans un canal spécifique de $500 \mu\text{m}$ de hauteur. Le canal est rempli d'huile silicone afin de reproduire les mêmes conditions qu'à l'intérieur des canaux microfluidiques.

Sur la figure 2.10.a, nous avons représenté les mesures de températures réalisées au niveau des trois rangées de trous dans le cas où un gradient de température est appliqué. Typiquement, pour produire un tel gradient, il faut appliquer -1 V au module Peltier de

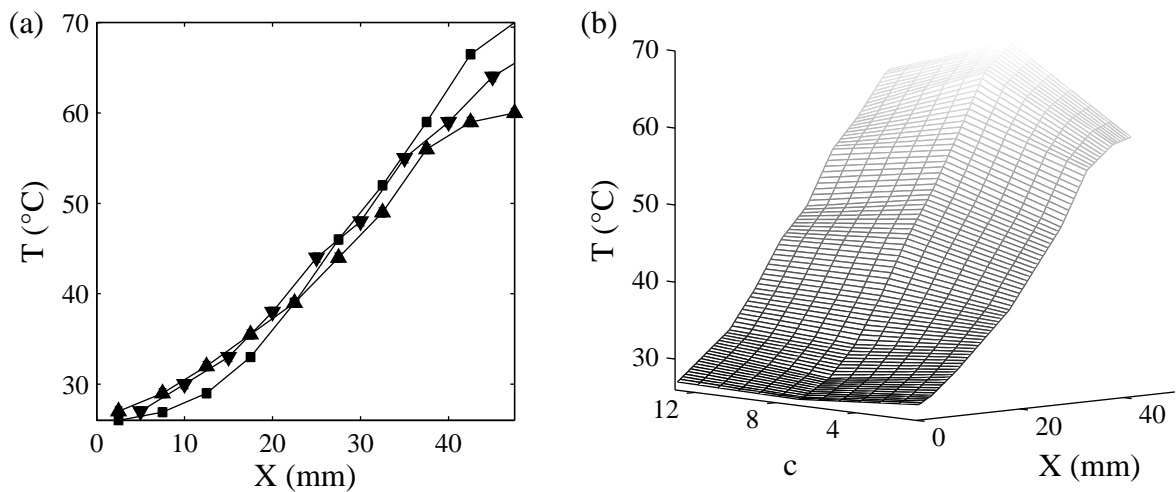


FIG. 2.10 – Profil de température de la puce microfluidique dans le cas d'un gradient de température donné. (a) Températures mesurées avec des thermocouples le long des canaux de stockage au niveau des différentes positions représentées sur la figure 2.1.a. (▲) Série de mesures réalisée au dessus du canal c_1 ; (■) série entre c_5 et c_6 ; (▼) série en dessous de c_{10} . (b) Interpolation du profil de température de la puce.

gauche (cf. figure 2.1) et +3 V à celui de droite avec un thermostat maintenu à 10 °C. On observe tout d'abord une variation régulière de la température le long des canaux. Ce gradient de température est obtenu dans le cas d'un écart séparant les deux modules Peltier, optimisé à 2 cm.

La figure 2.10.a montre également que la température n'est pas parfaitement homogène dans la direction perpendiculaire à celle des canaux. Cet effet, particulièrement marqué au niveau des extrémités des canaux, s'explique par la taille des modules Peltier (3 cm de large) qui n'est pas assez grande par rapport à la largeur de la zone de stockage (2.5 cm de large) pour s'affranchir des effets de bord. Pour obtenir une température plus homogène il faudrait utiliser des modules Peltier plus larges ou diminuer la largeur de la zone de stockage en rapprochant les canaux. Cependant, dans le cas présent, pour un gradient de température donné, le profil de température complet de la zone de stockage est déterminé en effectuant une interpolation linéaire des trois séries de mesure réalisées le long des canaux. On obtient alors des profils de température tels que celui représenté sur la figure 2.10.b qui correspond aux séries de mesure de la figure 2.10.a.

Il est possible d'appliquer un gradient de température linéaire entre les modules Peltier grâce à l'utilisation d'un support en silicium. Dans le cas d'un support en verre, un tel gradient ne peut pas être produit. Pour illustrer les différences entre les profils obtenus dans le cas du verre et du silicium, la partie du support située entre les deux éléments Peltier peut être modélisée par un matériau à une dimension, de longueur L , d'épaisseur a , de conductivité thermique λ et de coefficient de transfert conducto-convectif avec l'air h (cf. figure 2.11.a). Ce modèle est obtenu en supposant la température invariante suivant la largeur du support et homogène sur l'épaisseur. Lorsque les deux extrémités sont maintenues aux températures T_1 et T_2 , la température le long de la barre est de la forme :

$$T(x) = T_0 + Ae^{x/\alpha} + Be^{-x/\alpha}, \quad (2.3)$$

avec T_0 la température de l'air, $\alpha = \sqrt{a\lambda/2h}$ la longueur caractéristique de diffusion thermique, et A et B , deux constantes dépendant de T_0 , T_1 , T_2 , L et α . Sur la figure 2.11.b, nous avons représenté les profils de température dans les cas de matériaux en silicium ($\lambda = 90 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$) et en verre ($\lambda = 1 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), et en prenant $T_1 = 30 \text{ °C}$, $T_2 = 60 \text{ °C}$, $T_0 = 23 \text{ °C}$, $L = 2 \text{ cm}$, $a = 0.5 \text{ mm}$ et $h = 20 \text{ W m}^{-2} \text{ K}^{-1}$. Ces profils montrent un écart important entre les deux matériaux. Avec un support en verre, comme la longueur caractéristique de diffusion thermique est faible par rapport à l'écart entre les modules ($\alpha \approx 3 \text{ mm}$ et $L = 2 \text{ cm}$), il n'est pas possible d'imposer un gradient de température linéaire. L'échange conducto-convectif avec l'air est trop grand devant le transfert thermique le long du matériau. En revanche, $\alpha \approx 30 \text{ mm}$ dans le cas du silicium, un gradient linéaire peut donc être facilement imposé.

Pour déterminer de façon plus précise les profils de température complet de la puce, nous avons réalisé des mesures supplémentaires à l'aide d'une caméra infrarouge (CEDIP, JADE MNWIR J550). Cependant, comme le PDMS n'est pas complètement transparent à l'infrarouge, les mesures ont été réalisées sans la couche de PDMS, directement sur la surface supérieure du support en silicium. Aussi, pour permettre une mesure absolue de

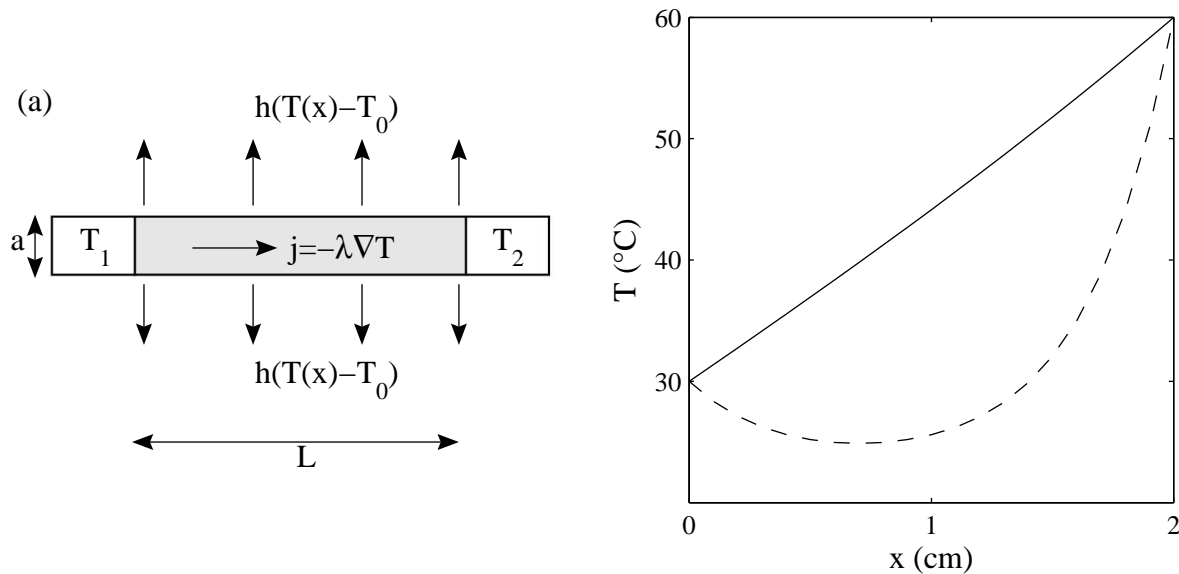


FIG. 2.11 – (a) Schéma d'une coupe du support de la puce entre les deux modules Peltier séparés d'une distance L . a est l'épaisseur du support. Les deux extrémités sont maintenues aux températures T_1 et T_2 . Les flux thermiques sont indiqués par les flèches. (b) Profil de température calculé dans le cas d'un support en silicium (trait plein) et d'un support en verre (trait en pointillé).

la température, la surface de silicium est recouverte d'une couche de peinture noire optiquement opaque à l'infrarouge d'épaisseur $20 \mu\text{m}$. Les modules Peltier sont placés sous le support dans la même configuration que précédemment. La figure 2.12.a présente une image typique du support en silicium obtenue avec la caméra infrarouge lorsqu'un gradient de température est appliqué. On y devine facilement l'emplacement des éléments Peltier au niveau de la zone froide (bleue) et de la zone chaude (rouge). L'image montre clairement que la température varie rapidement sur les bords des modules Peltier. Ceci permet d'expliquer les variations de température observées sur la largeur de la zone de stockage (représentée en pointillés blanc sur l'image) dans le paragraphe précédent. Les températures au niveau des lignes marquées par les symboles blancs ont été tracées sur la figure 2.12.b. Ces mesures confirment les résultats précédents obtenus avec les thermocouples. Le gradient de température est bien régulier le long des canaux de stockage et comme sur la figure 2.10.b, on note une légère variation du gradient pour $X < 12 \text{ cm}$ et $X > 38 \text{ cm}$ à cause des effets de bord. On retrouve aussi qu'entre les modules Peltier, la température est bien homogène sur la largeur de la zone de stockage et qu'un écart apparaît pour $X < 12 \text{ cm}$ et $X > 38 \text{ cm}$. Il apparaît cependant que cet écart est beaucoup plus faible que dans le cas de la figure 2.10.a, où les mesures de température sont effectuées à l'extérieur de la zone de stockage. Perpendiculairement aux canaux de stockage, la température est donc a priori plus homogène que ce qui avait été supposé précédemment.

En résumé, le dispositif expérimental développé permet de chauffer les liquides injectés

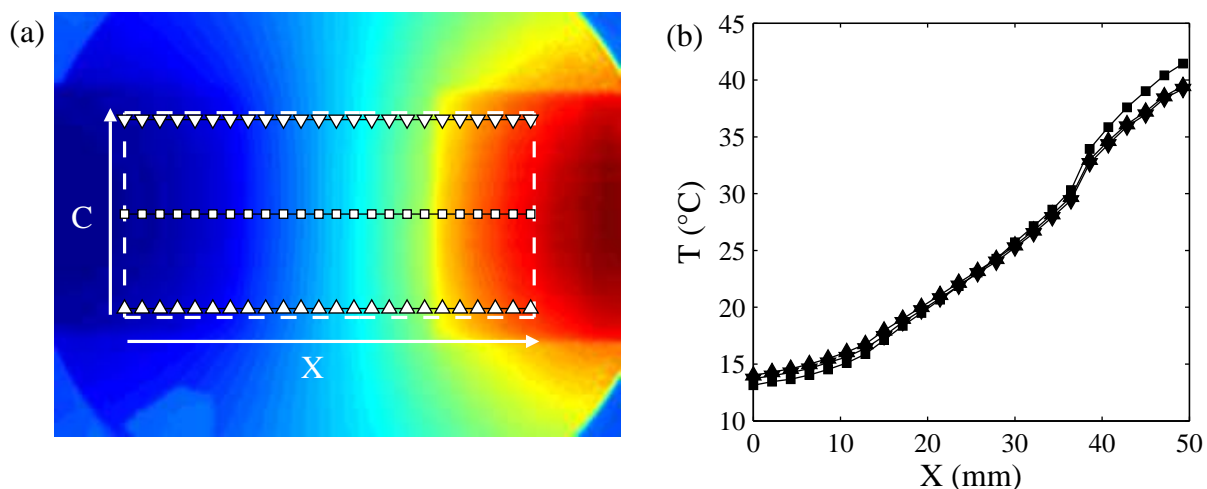


FIG. 2.12 – (a) Image d’un support en silicium de diamètre 3 p obtenue à partir d’une caméra infrarouge. Deux modules Peltier sont utilisés pour imposer un gradient de température suivant l’axe X . Le rectangle en pointillés blancs délimite les extrémités des canaux de stockage. (b) Températures mesurées par la caméra infrarouge au niveau des lignes représentées sur (a) avec les symboles correspondants.

dans les canaux et de chauffer la puce microfluidique, de la refroidir ou encore d’imposer un gradient de température régulier le long de la zone de stockage. Avec les modules Peltier utilisés, il est possible d’atteindre une différence de température de 60 °C (typiquement de 10 à 70 °C) entre les extrémités des canaux de stockage.

Observation de la zone de stockage

L’objectif du dispositif est de visualiser directement avec un instrument optique, le diagramme de solubilité d’un soluté dans un solvant. Ainsi, afin de lire un maximum de mesures de solubilité à partir d’une même image, l’idéal serait d’avoir un champ d’observation permettant de voir la totalité de la zone de stockage des gouttes. Étant donné les dimensions de cette zone (2.5×5 cm), nous utilisons un microscope binoculaire couplé à un objectif de faible grossissement. Les images obtenues sont enregistrées à partir d’une caméra. Au grossissement minimal, le couplage entre le microscope et la caméra ne permet cependant pas d’observer un champ supérieur à 2.2×2.8 cm. Lors d’une expérience, pour visualiser toute la zone de stockage, il faut donc déplacer la puce microfluidique et prendre plusieurs images.

Comme le support de la puce microfluidique est en silicium, donc opaque dans le visible, l’observation se fait en réflexion. Pour l’éclairage, nous utilisons un anneau lumineux fixé sur l’objectif et relié par une fibre optique à une soucre de lumière. Pour pouvoir réaliser des observations entre polariseur et analyseur croisés, le polariseur est fixé sur l’anneau d’éclairage et l’analyseur est fixé sur l’objectif. Ce montage permet de croiser et décroiser

le couple polariseur / analyseur.

2.2 Mesure d'un diagramme de solubilité

Pour montrer que le dispositif présenté dans ce chapitre permet bien d'effectuer des criblages de diagramme de solubilité, nous avons choisi de réaliser des expériences de mesure de solubilité à partir d'une solution d'acide adipique dans l'eau. L'acide adipique ($C_6H_{10}O_4$) est une molécule organique principalement utilisée pour la synthèse des polyamides comme par exemple le nylon, mais aussi pour ses propriétés antioxydantes (E355). Sa solubilité dans l'eau dépendant fortement de la température, il se révèle être un candidat judicieux pour tester le dispositif.

2.2.1 Remplissage des canaux et cristallisation

Pour remplir les canaux de stockage avec des gouttes contenant différentes concentrations en acide adipique dans l'eau, il suffit d'injecter dans l'entrée 2 de la puce, une solution initiale concentrée en acide adipique, et dans l'entrée 3, le solvant pur, c'est-à-dire de l'eau. Ainsi, la concentration en soluté dans les gouttes peut être contrôlée à partir du rapport des débits d'injection des deux liquides. Dans cette configuration, comme la solution est diluée par ajout de solvant, la concentration à l'intérieur des gouttes est forcément inférieure à celle de la solution initiale.

La solution initiale utilisée pour réaliser l'expérience de criblage est composée de 10.14 g d'acide adipique (Aldrich ; 99 %) dans 50.66 g d'eau désionisée (soit une concentration $C^0 = 20 \text{ g} / 100 \text{ g}$ d'acide adipique dans l'eau). La température de solubilité de cette solution est de $63 \text{ }^\circ\text{C}$ [4]. Pour éviter toute cristallisation lors de l'injection dans la puce, la seringue contenant la solution et le tube correspondant sont chauffés à plus de $65 \text{ }^\circ\text{C}$. De l'eau déminéralisée est introduite dans l'entrée 3 de la puce. Dans les gouttes, la concentration en acide adipique est directement liée au rapport des débits Q_2/Q_3 par la relation :

$$C = \frac{C^0}{1 + (1 + C^0)(\rho_3 Q_3)/(\rho_2 Q_2)} \quad (2.4)$$

avec C la concentration dans les gouttes, Q_3 et Q_2 respectivement les débits d'injection de l'eau et de la solution, ρ_3 la masse volumique de l'eau et ρ_2 celle de la solution initiale à la température de formation des gouttes. Pour estimer la masse volumique de la solution, nous avons pesé une fiole jaugée contenant 5 mL de solution introduite à $70 \text{ }^\circ\text{C}$. Avec cette méthode nous avons pu mesurer $\rho_2 \approx 0.98 \text{ kg L}^{-1}$ ce qui correspond également à la masse volumique de l'eau à $67 \text{ }^\circ\text{C}$. À partir de ce résultat, nous avons donc choisi de faire l'approximation $\rho_3/\rho_2 = 1$.

Pendant le remplissage des canaux, la puce est chauffée à $65 \text{ }^\circ\text{C}$ pour éviter la cristallisation de l'acide adipique. La concentration C des gouttes stockées dans les canaux c_i est détaillée dans le tableau 2.1. Dans chaque canal, avant d'arrêter les gouttes, les débits sont maintenus constants pendant 90 s pour atteindre un écoulement stabilisé. En raison

d'un temps de stabilisation de l'écoulement un peu plus long au départ, la durée totale de remplissage de la puce est de 20 min.

	c_1	c_2	c_3	c_4	c_5	c_6	c_7	c_8	c_9	c_{10}
Q_3 ($\mu\text{L h}^{-1}$)	0	100	200	300	400	500	550	600	650	700
Q_2 ($\mu\text{L h}^{-1}$)	1000	900	800	700	600	500	450	400	350	300
C (g / 100 g d'eau)	20	17.5	15.5	13	11	9.1	8.1	7.1	6.2	5.3

TAB. 2.1 – Concentration massique C d'acide adipique dans les gouttes stockées dans les canaux c_i , en fonction des débits d'injection Q_2 pour la solution et Q_3 pour l'eau.

Une fois que toute la puce est remplie, elle est refroidie à -5 °C. Pour atteindre cette température, l'eau circulant dans le thermostat est refroidie à 9 °C et une puissance de 4 W est appliquée à chaque module Peltier. Les cristaux apparaissent dans les gouttes au fur et à mesure que la puce est refroidie et la cinétique d'apparition est d'autant plus rapide que les gouttes sont concentrées. Après 20 min d'attente à -5 °C, des cristaux ont nucléé dans toutes les gouttes sauf dans celles du canal c_{10} qui contiennent la plus basse concentration en acide adipique. Pour cette raison, ce canal ne sera pas pris en considération dans la suite de l'étude.

2.2.2 Application d'un gradient de température et mesure de la limite de solubilité

Après l'étape de cristallisation, un gradient de température est appliqué entre 32 et 65 °C le long des canaux de stockage. Ce gradient de température a été choisi de manière à couvrir l'ensemble des températures de solubilité des solutions stockées dans la puce, comprises entre 40 à 63 °C. Dès que le gradient est appliqué, la taille des cristaux diminue et certains de ceux situés au niveau des températures les plus élevées disparaissent complètement. Au bout d'environ 20 min, un état d'équilibre est atteint, on ne perçoit plus d'évolution de la taille des cristaux. Sur une partie de la zone de stockage, présentée sur la figure 2.13.a, il apparaît alors une limite entre les gouttes contenant encore des cristaux et les gouttes dans lesquelles les cristaux se sont complètement dissous. Si une goutte contient un cristal à l'équilibre thermodynamique, cela signifie que sa température est inférieure à sa température de solubilité alors que si le cristal s'est entièrement dissout, cela indique que sa température est supérieure à sa température de solubilité. Par conséquent, pour chaque canal, c'est-à-dire pour chaque concentration, la limite de solubilité est comprise entre la dernière goutte contenant un cristal (la plus à droite) et la première goutte vide (la plus à gauche). De façon arbitraire, la position de la limite de solubilité est prise au milieu de ces deux gouttes (voir figure 2.13.b).

La photo de la figure 2.13.a est prise sous analyseur / polariseur croisés pour faire ressortir les objets biréfringents tels que les cristaux d'acide adipique. Grâce à ce mode d'observation, au plus faible grossissement, il est possible de détecter des cristaux dont la

taille minimale est de $50 \times 50 \mu\text{m}^2$.

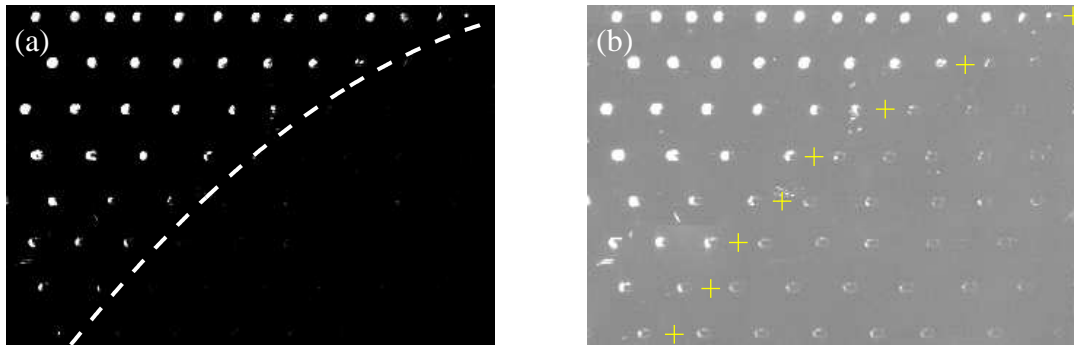


FIG. 2.13 – Images d'une partie de la zone de stockage prise entre polariseur et analyseur croisés. Des gouttes d'une solution d'acide adipique sont stockées dans les canaux. Entre le canal du haut et celui du bas la concentration en acide adipique a été graduellement diminuée. Après une étape de cristallisation de toutes les gouttes, un gradient de température est appliqué (basses températures à gauche et hautes températures à droite). (a) La ligne en traits-tirés qui sépare les gouttes contenant des cristaux des gouttes vides donne une estimation de la limite de solubilité du soluté. (b) Même image mais avec un contraste différent permettant de visualiser la position des gouttes. Les croix jaunes représentent les positions choisies comme limites de solubilité.

Connaissant les positions précises des limites de solubilité on peut alors leur faire correspondre une température grâce au profil de température de la puce obtenu par interpolation. Les températures de solubilité finalement mesurées sont représentées sur la figure 2.14. Elles sont en bon accord avec les données de la littérature. À cause de la discrétisation de l'espace engendrée par l'utilisation de gouttes, il existe une incertitude sur la position exacte de la limite de solubilité. Cette incertitude est représentée par les barres d'erreur sur la figure 2.14. Elle correspond à l'écart de température entre les deux gouttes entourant la limite de solubilité. Dans le cas présenté ici, comme le gradient de température est de l'ordre de $0.7 \text{ }^\circ\text{C mm}^{-1}$ et que deux gouttes consécutives sont séparées typiquement de 3 mm, la différence de température entre deux gouttes est d'environ $2 \text{ }^\circ\text{C}$. Par conséquent, la température de solubilité ne peut être connue qu'avec une précision de $\pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$. Il est cependant important de noter qu'en imposant des gradients de température plus faibles, la précision devient meilleure. L'inconvénient est que le domaine d'investigation du diagramme de solubilité est alors réduit.

2.2.3 Discussion des résultats

Sur dix expériences (dix canaux) réalisées, seulement huit températures de solubilité ont pu être mesurées puisque les gouttes du canal c_{10} n'ont pas été pris en compte et qu'aucun cristal ne s'est complètement dissout dans le canal c_1 où la solution est la plus concentrée. Le fait que la limite de solubilité ne soit pas visible dans c_1 , alors que d'après

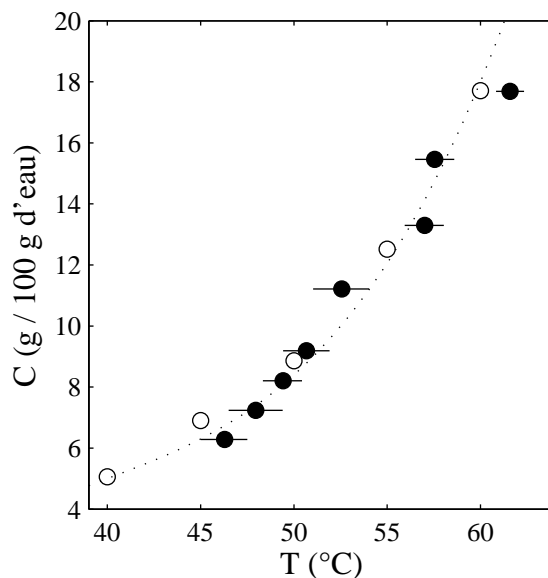


FIG. 2.14 – (●) Solubilité de l'acide adipique dans l'eau mesurée dans le cas d'un gradient de température de $0.7 \text{ }^\circ\text{C mm}^{-1}$. (○) Données de solubilité tirées de la référence [4]. Les barres d'erreur correspondent à la différence de températures des deux gouttes de part et d'autre de la limite de solubilité. La ligne pointillée est un guide pour l'oeil.

les données de la littérature la température de solubilité est de $63 \text{ }^\circ\text{C}$, est attribuée à la non homogénéité de la température sur la largeur de la zone de stockage. En effet, comme nous avons pu le voir dans la section précédente, il existe une variation non négligeable de la température au niveau des bords de la zone de stockage. Dans la partie chaude de la puce en particulier, la température chute fortement aux extrémités du module Peltier. Ainsi, malgré un maintien à $65 \text{ }^\circ\text{C}$ de la partie centrale de la zone chaude, la température la plus élevée le long du canal c_1 peut être inférieure à $63 \text{ }^\circ\text{C}$.

L'absence de nucléation de cristaux dans le canal c_{10} révèle une limite intrinsèque au dispositif. Dans le chapitre précédent, nous avons vu que le temps de nucléation est inversement proportionnel au volume du réacteur (dans le cas où la nucléation a lieu dans le volume). Plus le volume est petit, plus la probabilité d'observer un événement de nucléation est faible. Par conséquent, pour que les temps de nucléation soient de l'ordre de quelques minutes dans les gouttes stockées, il est nécessaire d'imposer des sursaturations élevées. Cependant, dans des gouttes contenant des faibles concentrations en soluté, à la température minimale de refroidissement, limitée à environ $-10 \text{ }^\circ\text{C}$, la sursaturation se révèle insuffisante pour atteindre des temps de nucléation relativement courts. En utilisant des modules Peltier plus puissants il serait possible de descendre plus bas en température et ainsi d'augmenter la sursaturation. En revanche, l'eau risque alors de cristalliser. Le dispositif ne permet donc pas de mesurer rapidement les limites de solubilité aux faibles concentrations, les concentrations limites dépendant du soluté étudié. Néanmoins, si né-

cessaire, rien n'empêche d'attendre la nucléation des cristaux pendant plusieurs heures ou plusieurs jours.

Sur la figure 2.14, le point à la concentration 17.5 g / 100 g (canal c_2) présente un écart particulièrement accentué par rapport aux données de la littérature. Comme c'est le point situé à la température la plus élevée, cet écart peut peut-être s'expliquer par un phénomène de perméation de l'eau à travers la couche de PDMS. En effet, il a été montré par Verneuil *et al.* [123] que dans le cas d'un canal rempli d'eau de longueur 1 mm, de hauteur 20 μm et de largeur environ 500 μm , le débit de perméation de l'eau à travers une couche de PDMS est de l'ordre de 5 nL h⁻¹ à 28 °C. De plus, il a également été observé que la vitesse de perméation augmente de 5 % par degré celsius entre 20 et 30 °C. En supposant que le taux de variation de la vitesse est constant jusqu'à 50 °C, à cette température, le débit de perméation peut être estimé à 10 nL h⁻¹. Dans notre cas, ceci signifie qu'une goutte de 200 nL perd environ 5 % de son volume d'eau par heure. Dans le but de vérifier ce phénomène de perméation, nous avons suivi au cours du temps, l'évolution de la taille d'une goutte d'eau dans l'huile stoppée dans un microcanal maintenu à 50 °C. Après 4 h d'expérience, nous avons pu constater une diminution d'environ 10 % de son volume, ce qui est inférieur au volume prédit mais toutefois du même ordre de grandeur. Comme la partie chaude de la puce est maintenue au total environ 40 min à 60–65 °C pendant toute la durée d'une expérience de mesure de solubilité (20 min de remplissage et 20 min avec le gradient de température) nous pouvons estimer au final, que les gouttes les plus chaudes perdent environ 3–4 % de leur volume d'eau. Si on suppose qu'il n'y a pas perméation du soluté, cette perte d'eau se traduit par une augmentation de leur concentration du même pourcentage. Ainsi, une goutte de solution à 17.5 g / 100 g située dans la partie la plus chaude de la puce atteint une concentration de 18.2 g / 100 g à la fin de l'expérience. En conclusion, si le phénomène de perméation est sans doute responsable d'une partie de l'erreur sur la mesure de la température de solubilité à la concentration 17.5 g / 100 g, pour expliquer l'écart observé, il faut également prendre en compte l'imprécision des pousses-seringue ($\approx 5\%$).

2.2.4 Vers l'étude du polymorphisme

Un cas particulier rencontré lors de la mesure de la solubilité d'un soluté dans un solvant concerne les molécules susceptibles de cristalliser sous plusieurs formes polymorphiques de températures de solubilité différentes. Nous avons été confronté à ce problème dans le cas de la mesure de la solubilité du nitrate de potassium (KNO_3) dans l'eau. En effet, à l'issue de cette expérience, réalisée à partir d'une solution initiale constituée de 60 g de KNO_3 dans 100 g d'eau, nous avons obtenu l'image de la zone de stockage présentée sur la figure 2.15. Cette image présente deux anomalies majeures : tout d'abord, la limite entre les gouttes contenant des cristaux et les gouttes sans cristaux, déterminée par le trait en pointillés, est située à des températures inférieures à celles de la limite prédite par la littérature (trait plein). D'autre part, certains cristaux semblent plus « persistants » que d'autres. Par exemple, dans les deux canaux du bas sur la figure 2.15, des gouttes contiennent encore des cristaux alors qu'elles sont situées à des températures plus élevées que certaines gouttes

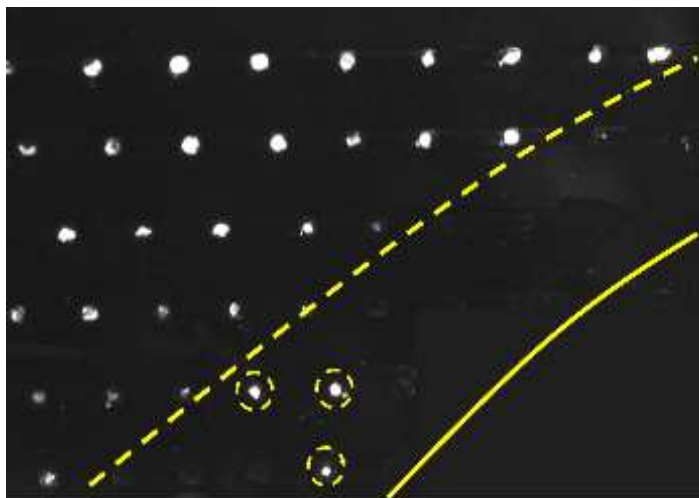


FIG. 2.15 – Image de la zone de stockage prise entre polariseur et analyseur croisés obtenue dans le cas d’une étude du diagramme de solubilité du nitrate de potassium dans l’eau. Un gradient de température est appliqué le long des canaux (froid à gauche et chaud à droite). La ligne en trait plein représente la limite de solubilité attendue d’après les données de la littérature. La ligne en pointillés représente la limite de solubilité mesurée. Les cristaux entourés sont ceux qui semblent présenter une température de solubilité différente.

dans lesquelles les cristaux se sont intégralement dissous. Ces « anomalies » mettent en évidence l’existence de deux formes polymorphiques différentes de cristaux de KNO_3 réparties a priori aléatoirement dans les gouttes. Dans ce cas particulier, le dispositif ne permet donc pas de mesurer une limite de solubilité. Par contre, cette expérience montre qu’en faisant cristalliser des molécules dans des gouttes suffisamment petites, il est possible de différencier les polymorphes formés. Sachant que la détection et la sélection des polymorphes sont des enjeux majeurs pour les industries pharmaceutiques, nous avons réalisé un système de détection des polymorphes, basé sur la cristallisation en gouttes. Ce système sera détaillé dans le chapitre suivant.

2.3 Perspectives de développement

Le dispositif présenté dans cette section a été développé pour montrer la faisabilité d’un outil microfluidique permettant de réaliser des criblages de diagrammes de solubilité. Cependant, pour le rendre plus performant, c’est-à-dire par exemple utiliser moins de produit, atteindre des meilleures précisions ou encore permettre un remplissage des canaux plus aisé, il est nécessaire d’apporter un certain nombre d’améliorations.

2.3.1 Améliorations de la thermalisation

Un des points importants à développer concerne la thermalisation des tubes de sortie. En effet, pour étudier des limites de solubilité à des températures élevées, la puce est chauffée à une température supérieure à la température de solubilité. Ceci, afin d'éviter toute cristallisation à l'intérieur des canaux pendant que les gouttes circulent. Par contre, dès qu'elles pénètrent dans les tubes de sortie, qui sont laissés à la température ambiante, la solution dans les gouttes devient sursaturée. Il y a donc apparition des cristaux puis blocage progressif des tubes. Pour éviter ce problème, une des solutions consiste à chauffer les tubes de sortie. Il est cependant techniquement difficile de les chauffer de la même façon que le tube d'injection de la solution puisqu'il faudrait ajouter vingt résistances chauffantes (dix avant les électrovannes et dix après), chacune reliée à un régulateur indépendant. Une méthode plus plausible pourrait consister à insérer chaque tube de sortie dans un tube métallique courbé de diamètre légèrement supérieur, avec un espace au niveau des électrovannes pour pouvoir pincer les tubes souples. Comme le tube métallique conduit la chaleur, il suffit alors de ne chauffer qu'une partie des tubes avec une seule résistance pour que l'ensemble soit maintenu à une température assez élevée pour éviter la cristallisation. L'inconvénient de ce système est qu'il entraîne une rigidification du dispositif.

La non-homogénéité de la température sur la largeur de la zone de stockage de la puce est un autre point à améliorer. En effet, à cause de cette variation de la température, il est nécessaire de réaliser trois séries de mesures de température pour chaque gradient pour reconstituer le profil de température de la puce. De plus, comme ce profil est obtenu par interpolation linéaire des séries de mesures, la température estimée est légèrement différente de la température réelle. Le profil du gradient de température mesuré avec la caméra infrarouge a montré que les variations de température sur la largeur de la zone de stockage ont lieu principalement au bord des modules Peltier alors qu'au milieu, la température est homogène. Par conséquent, pour obtenir une température plus homogène, il suffit soit d'utiliser des modules Peltier plus larges, soit de réduire la largeur de la zone de stockage en diminuant l'espace entre les canaux.

2.3.2 Optimisation des matériaux

Une modification importante à apporter au dispositif consiste à utiliser des puces microfluidiques réalisées en un matériau rigide et non poreux. En effet, plusieurs problèmes liés à l'utilisation du PDMS ont été soulevés dans ce chapitre. Tout d'abord, nous avons vu que la porosité du PDMS entraîne la perméation de l'eau et donc une modification des concentrations dans les gouttes. De plus, à cause des propriétés élastiques du PDMS, il existe une cinétique de stabilisation des écoulements qui se révèle critique pour stopper des gouttes. Dans le cas présenté dans ce chapitre, comme la section des canaux est relativement grande ($500 \times 500 \mu\text{m}^2$), les pertes de charge restent faibles (inférieures à 1 bar) donc le PDMS se déforme peu. En revanche, dans le cas de canaux plus petits, qui pourraient être utilisés par exemple pour réduire la consommation de produit ou diminuer la distance entre les gouttes stockées, les pertes de charge, donc les déformations du PDMS, deviennent

importantes. Il devient alors très difficile de stopper rapidement des gouttes. La réalisation de puces microfluidiques en verre devrait permettre de résoudre ces problèmes et en particulier d'effectuer des expériences à haute température (supérieure à 80 °C). Plusieurs entreprises proposent ce type de produit avec un traitement possible des parois des canaux pour les rendre hydrophobes. Notons néanmoins que l'utilisation de puces en verre peut poser problème pour appliquer des gradients de température linéaires le long des canaux de stockage. L'idéal est une puce constituée d'une face en verre et l'autre en silicium.

Par ailleurs, l'objectif du projet est de proposer un système permettant d'étudier des diagrammes de phase concentration *vs.* température pour une large gamme de produits. Par exemple, en plus des diagrammes de solubilité d'un soluté dans l'eau, nous souhaiterions pouvoir étudier la solubilité de solutés dans des solvants organiques, des diagrammes d'équilibre liquide / liquide ou encore les phénomènes d'agrégation de divers polymères en fonction de la concentration en sel ajouté et de la température. Pour atteindre cet objectif, il faut être capable de faire des gouttes des différents produits dans les canaux. Pour cela, un travail important doit encore être mené sur les phases porteuses (l'huile) et le traitement de surface des parois des canaux. La voie la plus prometteuse semble être l'utilisation d'huiles fluorées et la fluorination des parois par des silanes [131].

2.4 Conclusion

Le système microfluidique présenté dans ce chapitre est donc un outil permettant de réaliser rapidement des mesures de limites de solubilité. Il est basé à la fois sur le stockage de gouttes de différentes compositions chimiques et sur un contrôle précis des températures. L'expérience présentée dans le cas d'une solution d'acide adipique dans l'eau a montré qu'en une heure et avec 250 μL de solution, il est possible de mesurer jusqu'à dix points de la courbe de solubilité sur une large gamme de température et avec une précision de l'ordre de ± 1 °C. L'étape de cristallisation dans des gouttes d'une centaine de nanolitres limite toutefois l'utilisation du dispositif à l'étude de molécules qui cristallisent relativement rapidement. Une seconde limite du système concerne les molécules susceptibles de cristalliser sous plusieurs formes polymorphiques de températures de solubilité différentes. De nombreux points doivent être encore améliorés pour atteindre des meilleures précisions, une consommation de produit plus faible et surtout pour pouvoir étudier une plus large de gamme de composés, en particulier dans les solvants organiques. Pour le moment, la méthode de détection est simplement optique, il pourrait être aussi intéressant de coupler le dispositif par exemple à un spectroscope Raman ou infrarouge pour réaliser des analyses plus performantes.

Chapitre 3

Détection et mesure de solubilité de formes polymorphiques

Dans ce chapitre, nous présentons un deuxième système microfluidique développé à la suite des tentatives de mesure de la solubilité du nitrate de potassium, décrites dans le chapitre 2. Ce dispositif a pour objectif de proposer un nouvel outil permettant de déterminer les formes polymorphiques susceptibles de nucléer au cours d'un processus de cristallisation. L'importance du contrôle du polymorphisme a été abordée dans le chapitre 1. La détection des différents polymorphes est basée sur la mesure de leur températures de solubilité respectives et sur un couplage possible de la mesure *in situ* de leurs spectres Raman. Après une description du principe et une caractérisation détaillée du dispositif, nous présenterons une expérience de détection des formes polymorphiques issues de la cristallisation du nitrate de potassium dans l'eau. Nous verrons que ce système permet entre autres, de mesurer les limites de solubilité des polymorphes sur une large gamme de température, mais aussi d'étudier quels paramètres peuvent influencer la nucléation d'une forme par rapport à une autre.

3.1 Principe du système microfluidique

L'expérience de mesure de la solubilité de KNO_3 dans l'eau, présentée en fin du chapitre 2, a montré qu'en faisant cristalliser le soluté dans des petites gouttes, il était possible de faire nucléer différents types de cristaux présentant des limites de solubilité distinctes. Comme le soluté n'est composé que d'une molécule, l'existence de plusieurs limites de solubilité suggère que les cristaux correspondent à des formes polymorphiques différentes. À pression atmosphérique, il est connu que le nitrate de potassium existe sous trois formes cristallines distinctes (phases I, II et III). La phase II, stable à température ambiante se transforme en phase I au-dessus de 403 K et en refroidissant la phase I à 397 K, le cristal passe d'abord par la phase III avant de revenir à la phase II à 383 K [5, 33, 63, 93]. À température ambiante, bien que seul le polymorphe II soit stable, plusieurs groupes ont pu observer le polymorphe III en tant que phase métastable [60]. En solution, il est bien connu

que le KNO_3 peut cristalliser sous la forme métastable III mais à notre connaissance, sa solubilité n'a jamais pu être mesurée dans des réacteurs classiques. Il existe une littérature importante sur la forme III à cause de ses propriétés ferroélectriques et de sa stabilité dans des films minces ($\leq 1 \mu\text{m}$). Pour ces raisons, le polymorphe III est considéré comme un matériau très prometteur pour les futures RAM des ordinateurs [78].

Pour mieux comprendre ce phénomène, nous avons développé un deuxième système microfluidique permettant d'induire des événements de nucléation dans un grand nombre de gouttes contenant une unique concentration en soluté. Ainsi, comme cela est schématisé par la figure 3.1, en multipliant le nombre de gouttes et en refroidissant suffisamment la solution, la nucléation des différents polymorphes devraient être favorisée.

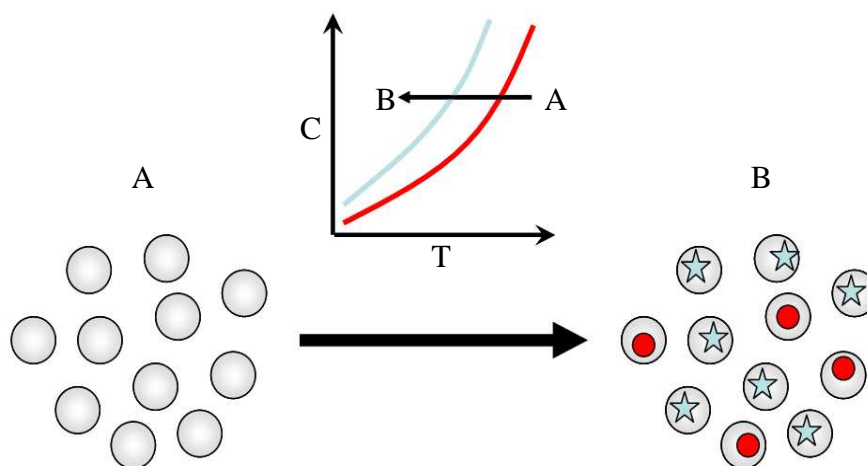


FIG. 3.1 – Principe de la cristallisation dans des gouttes. Dans l'état A, les gouttes de la solution sont complètement liquides. Suite à une trempe en température, la solution devient sursaturée pour les deux types de cristaux (bleu et rouge). Il y a alors nucléation possible des deux formes (état B).

Le schéma du réseau de canaux et une photo de la puce sont représentés sur la figure 3.2. Entre 150 et 300 gouttes d'une solution à une concentration donnée en soluté peuvent être stockées dans un long canal en forme de serpent. Pour réaliser une expérience de détection des différents types de cristaux, les gouttes stockées sont refroidies jusqu'à ce qu'un cristal se soit formé dans chacune d'entre elles, puis la puce est chauffée progressivement. Les différentes formes polymorphiques peuvent ainsi être détectées par leurs températures de solubilité. Un couplage avec une mesure *in situ* des spectres Raman des cristaux permet de déterminer de façon précise leur nature.

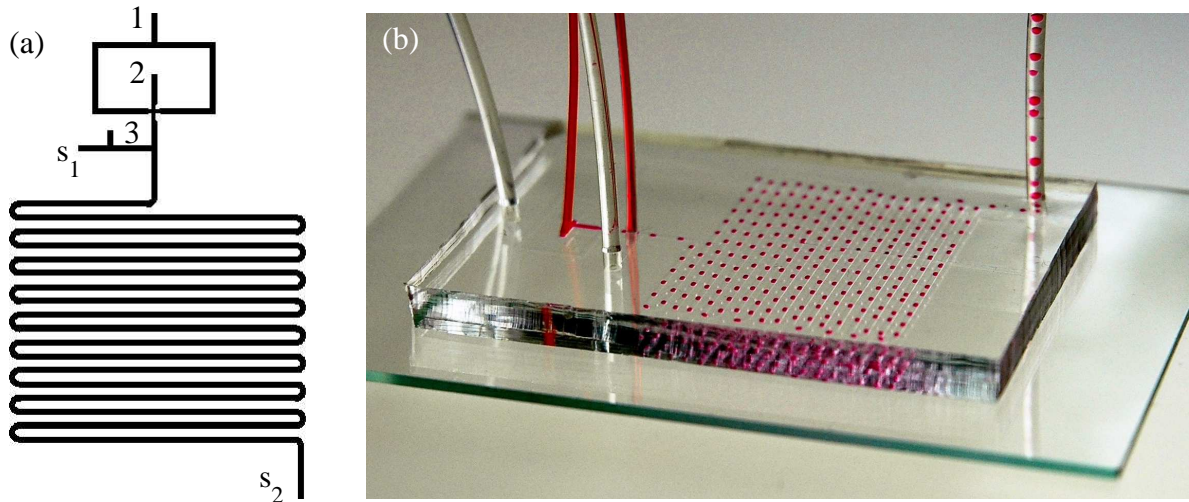


FIG. 3.2 – (a) Schéma du réseau de canaux de la puce microfluidique. Les entrées 1, 2 et 3 indiquent les entrées pour l'injection des liquides. s_1 et s_2 indiquent les sorties reliées à des électrovannes. La largeur des canaux est de $500\ \mu\text{m}$. (b) Photo de la puce microfluidique. Des gouttes d'une solution aqueuse contenant un colorant sont stockées dans le serpent. Le volume des gouttes est d'environ $100\ \text{nL}$. Pour plus de clarté, la couche de PDMS est collée sur une lame de verre de dimensions $76 \times 52\ \text{mm}^2$

3.2 Dispositif expérimental

3.2.1 Puce microfluidique

La puce est réalisée de la même façon que la puce à diagramme de phase présentée dans le chapitre précédent (cf. annexe A). Elle est constituée de canaux moulés dans une matrice en PDMS et scellés avec un support en silicium de diamètre $3\ \text{p}$ et d'épaisseur $500\ \mu\text{m}$. La hauteur et la largeur des canaux sont de $500\ \mu\text{m}$.

Un schéma du réseau de canaux précisant les entrées et les sorties est présenté sur la figure 3.2. De l'huile silicone (Rhodorsil 20 cSt) est injectée dans l'entrée 1 de la puce, et la solution aqueuse, initialement préparée à une concentration donnée en soluté, est injectée dans l'entrée 2. Les débits typiques des liquides, introduits à l'aide de pousses-seringue, sont de l'ordre de $1800\ \mu\text{L h}^{-1}$ pour l'huile et $600\ \mu\text{L h}^{-1}$ pour la solution. Dans ces conditions, le volume des gouttes formées à l'intersection des deux phases est compris entre 100 et $200\ \text{nL}$. Le volume est contrôlé par le rapport des débits des deux phases et il est mesuré à partir de la fréquence de formation des gouttes et du débit de la solution. L'entrée 3 sert à introduire un supplément d'huile silicone à un débit d'environ $600\ \mu\text{L h}^{-1}$. Cela permet d'augmenter la distance entre les gouttes après qu'elles aient été formées, et ainsi d'éviter que certaines ne coalescent pendant qu'elles circulent ou lorsqu'elles sont stockées dans le serpent.

Un système à deux sorties s_1 et s_2 , pouvant être ouvertes ou fermées de façon contrôlée

grâce à des électrovannes à pincement, est utilisé pour stocker des gouttes dans le long canal. Le montage des électrovannes est le même que celui décrit dans le chapitre 2. Pour stocker des gouttes il suffit de suivre le protocole suivant : dans un premier temps, s_2 est ouverte et s_1 est fermée. Toutes les gouttes s'écoulent dans le long canal. Une fois que l'écoulement est stabilisé, s_2 est fermée et simultanément, s_1 est ouverte. Les gouttes présentes dans le serpentin restent immobilisées alors que celles qui continuent à être formées se dirigent vers la sortie s_1 . Les débits peuvent alors être arrêtés. Notons cependant qu'à cause des déformations des canaux induites par une perte de charge de l'ordre de 0.1 bar le long du serpentin (le PDMS est un élastomère), il apparaît un léger écoulement des gouttes stockées vers s_1 , dès que les sorties sont permutées. Pour éviter ce reflux, il est préférable de fermer également s_1 une fois que les pousses-seringue sont arrêtés. Une photo du canal dans lequel sont stockées près de 170 gouttes est représentée sur la figure 3.3. Le nombre total de gouttes est limité par l'écart minimum entre deux gouttes qui doit être maintenu suffisamment grand pour éviter les événements de coalescence au moment de la fermeture des électrovannes.

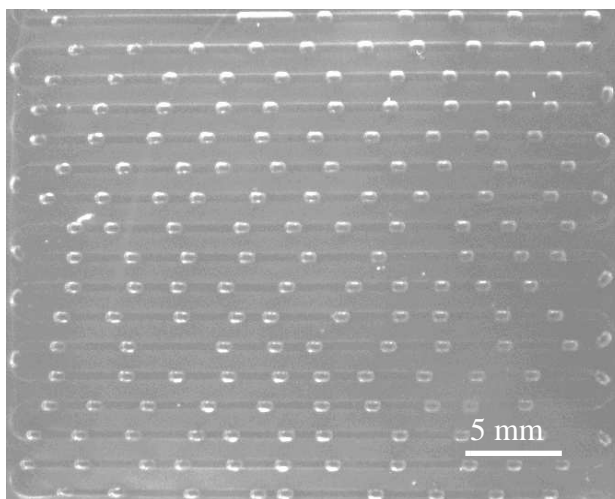


FIG. 3.3 – Photo de la zone de stockage (22×28 mm), prise avec la caméra à travers le microscope binoculaire. Environ 175 gouttes d'une solution de KNO_3 dans l'eau sont stockées.

Pour réaliser des expériences sur un plus grand nombre de gouttes, et ainsi obtenir une meilleure statistique, un deuxième protocole de stockage consiste à insérer une goutte d'huile fluorée entre chaque goutte de solution pour jouer un rôle de tampon et ainsi éviter toute coalescence. L'idée d'insérer une goutte d'une troisième phase pour séparer deux gouttes de solution a été introduite par Zheng *et al.* [135]. Dans cette référence, une bulle d'air est insérée entre deux gouttes d'une solution aqueuse dans de l'huile fluorée. Pour réaliser ce type de remplissage, de l'huile fluorée (FC40), au lieu de l'huile silicone, est introduite dans l'entrée 3 de la puce. Comme le montre la figure 3.4.a, l'huile fluorée ayant la propriété d'être non miscible ni avec l'huile silicone ni avec l'eau, il se forme des gouttes

d'huile fluorée entre les gouttes de solution. En ajustant les débits d'injection des différents liquides il est alors possible d'obtenir une alternance d'une goutte de solution et d'une d'huile fluorée avec un écart très faible. En injectant de l'huile silicone (Rhodorsil 500 cSt) à environ $1300 \mu\text{L h}^{-1}$, la solution à $800 \mu\text{L h}^{-1}$ et l'huile fluorée à $600 \mu\text{L h}^{-1}$, plus de 300 gouttes de solution peuvent être stockées dans le canal (voir figure 3.4.b).

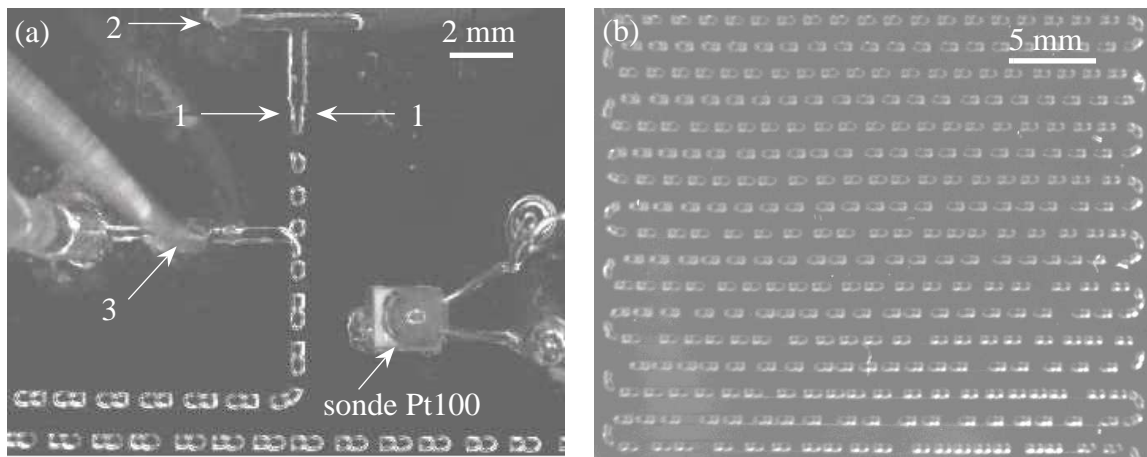


FIG. 3.4 – (a) Illustration de la formation des gouttes de la solution dans de l'huile silicone et de l'insertion d'une goutte d'huile fluorée entre deux gouttes de solution. La solution est injectée dans l'entrée 2, l'huile silicone dans l'entrée 1, et l'huile fluorée dans l'entrée 3. (b) Photo montrant qu'avec l'insertion de gouttes d'huile fluorée, il est possible de stocker plus de 300 gouttes de solution sans qu'il y ait de coalescence ;

3.2.2 Contrôle thermique du dispositif

Pour réaliser les étapes de cristallisation et de dissolution au cours d'une expérience, il est nécessaire de contrôler précisément la température du dispositif. Tout d'abord, lorsqu'une solution doit être maintenue à chaud avant d'être introduite, la seringue contenant la solution et le tube correspondant sont chauffés avec le même montage que celui présenté dans le chapitre 2 (cf. figure 2.8, page 58). En ce qui concerne la puce microfluidique, comme le montre la figure 3.5, elle est posée sur un module Peltier (Melcor ; $62 \times 62 \times 4 \text{ mm}^3$; 120 W), lui-même en contact avec un support dans lequel circule de l'eau thermostatée par un cryostat. De la graisse thermique est déposée au niveau des différentes surfaces en contact pour améliorer les transferts thermiques. Le module Peltier est contrôlé par un régulateur PID (AMS Technologies) relié à une sonde Pt100 (Minco) mesurant la température de la puce. Pour que la température mesurée soit aussi proche que possible de celle des liquides dans des canaux, la sonde est préalablement collée sur le support en silicium puis moulée dans la matrice de PDMS lors de la fabrication de la puce (cf. figure 3.4.a). Le régulateur est piloté à l'aide d'un programme Labview qui permet en particulier d'imposer

des rampes de températures à des vitesses contrôlées. Avec ce dispositif, il est possible d'imposer des vitesses de refroidissement ou de chauffe jusqu'à $0.5 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$. Au-delà, la régulation devient moins efficace. Quatre thermocouples (Thermocoax) sont également insérés autour de la zone de stockage, dans des trous remplis d'huile et traversant la couche de PDMS (cf. figure 2.9, page 59). Reliés au programme Labview, ils servent à vérifier l'homogénéité de la température et à avoir une mesure plus précise que celle obtenue avec la sonde Pt100. En fixant la température du thermostat (support sous le module Peltier) à $3 \text{ }^\circ\text{C}$, la puce peut être refroidie jusqu'à $-20 \text{ }^\circ\text{C}$. À cause de la condensation de l'humidité de l'air sur la surface de la puce dès que le système est refroidi, il devient rapidement difficile de voir à travers la couche de PDMS. Pour résoudre ce problème, de l'eau est déposée sur toute la surface. Le volume d'eau est retenu sur la puce grâce à une surélévation des bords de la couche de PDMS réalisée lors de sa fabrication.

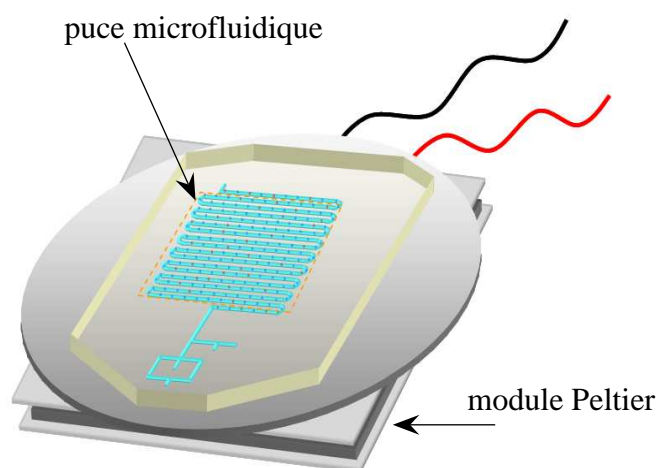


FIG. 3.5 – Schéma du module Peltier permettant de thermaliser l'ensemble de la puce microfluidique.

Pour déterminer de façon encore plus rigoureuse le profil de température à l'intérieur de la zone de stockage, des mesures supplémentaires ont été effectuées à l'aide de la caméra infrarouge utilisée dans le chapitre 2. Comme précédemment, ces mesures ont été réalisées directement sur le support en silicium (sans la matrice de PDMS) recouvert d'une couche de peinture noire mate d'épaisseur $20 \mu\text{m}$. Pour ces mesures, la sonde Pt100 est collée directement sur le support en silicium. La figure 3.6.a montre une image du support chauffé à $26 \text{ }^\circ\text{C}$, obtenue avec la caméra infrarouge. Sur toute la partie de la puce située au-dessus du module Peltier, la température semble relativement homogène (orange). La figure 3.6.b est un zoom sur l'emplacement théorique de la zone de stockage de la puce, entourée par les pointillés sur la figure 3.6.a. Grâce à un étalement de l'échelle des couleurs, elle montre que la température sur l'ensemble de cette zone est très homogène. L'écart maximum de température est inférieur à $0.3 \text{ }^\circ\text{C}$ et l'écart type est de $0.04 \text{ }^\circ\text{C}$.

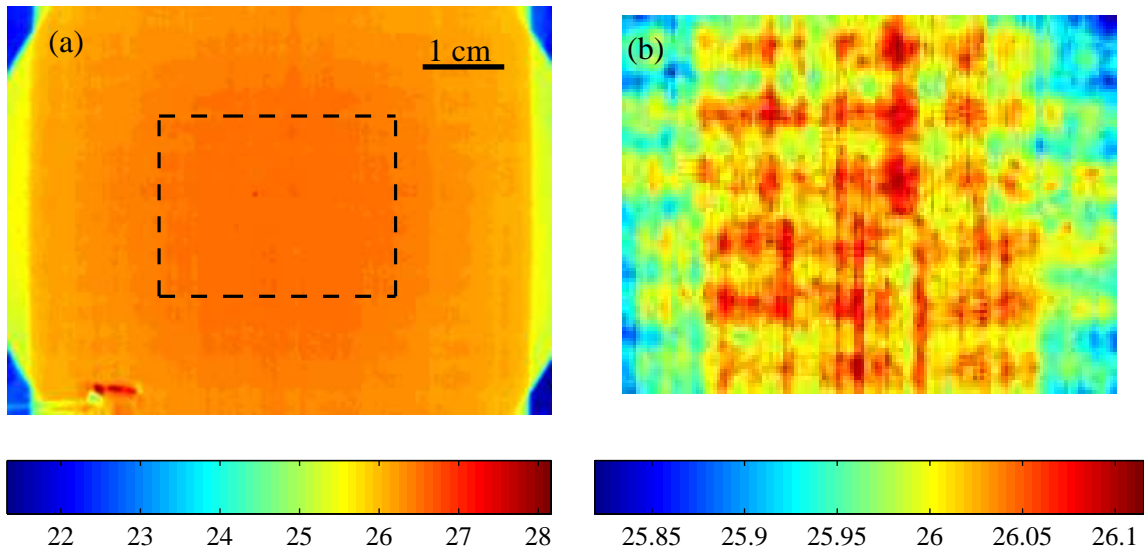


FIG. 3.6 – (a) Image du support en silicium obtenue avec une caméra infrarouge. Le support est chauffé à 26 °C à l’aide du module Peltier. Le bleu correspond aux zones froides et le rouge aux zones chaudes. La sonde Pt100 est visible en bas à gauche. Le rectangle en pointillés représente la position de la zone de stockage de la puce microfluidique. (b) Zoom sur la zone de stockage avec un éclatement de l’échelle de couleur pour mieux observer le profil de température.

Les images de la figure 3.6 ont été enregistrées dans le cas où la température est maintenue constante pendant un temps suffisamment long pour atteindre un état stationnaire. Cependant, il est important de vérifier que la température est également homogène lorsqu’une rampe de température est imposée par exemple pour refroidir la puce et faire nucléer les cristaux, ou pour la chauffer et dissoudre les polymorphes. Pour cela, nous avons chauffé la puce de 20 à 26 °C à une vitesse d’environ 0.1 °C s^{-1} imposée par une régulation manuellement. La température moyenne de la zone de stockage mesurée pendant la rampe est tracée sur la figure 3.7.a. Les oscillations observées sont dues aux imperfections de la régulation manuelle. Sur la figure 3.7.b, nous avons tracé l’écart type des températures de la zone de stockage pendant le chauffage de la puce. Malgré une variation relativement rapide de la température, la température de la zone de stockage reste bien homogène avec un écart type compris entre 0.03 et 0.05 °C. La correspondance entre les oscillations de l’écart type et celles de la vitesse de montée de la température moyenne montre que plus la vitesse de variation de la température est rapide, moins la température est homogène. Malgré cela, avec un écart type toujours inférieur à 0.05 °C, la température de la puce reste très bien contrôlée.

En résumé, la température est uniforme sur l’ensemble des gouttes stockées dans le canal en serpentin. Elle ne peut toutefois pas être mesurée de façon extrêmement précise puisqu’elle n’est pas homogène sur la hauteur du canal. Dans le chapitre précédent (page 58), nous avons montré que l’écart de température sur l’épaisseur d’un canal pouvait

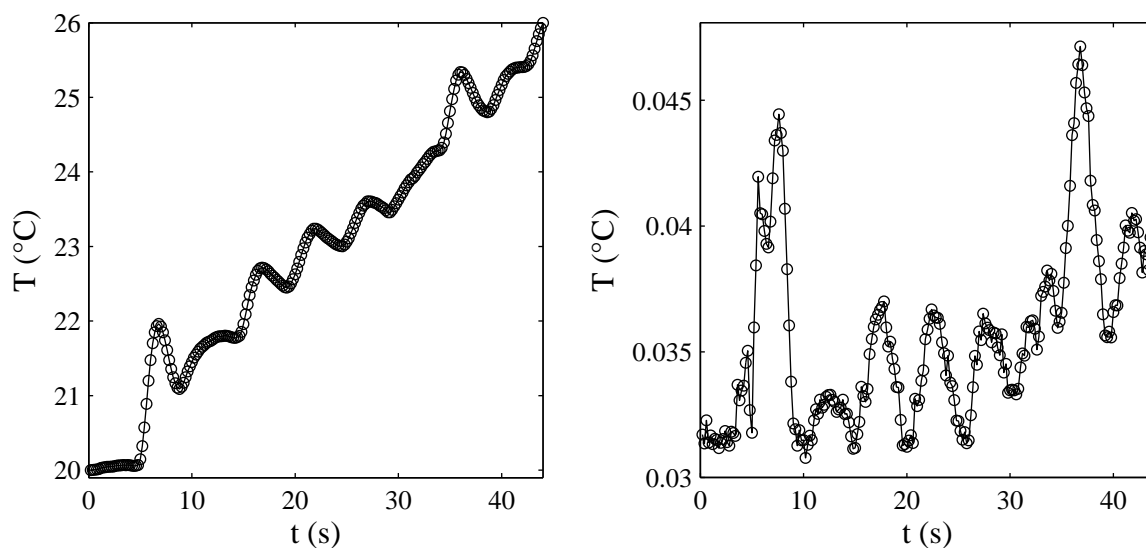


FIG. 3.7 – (a) Évolution de la température moyenne de la zone de stockage, mesurée avec la caméra infrarouge, en même temps qu’une rampe manuelle de température est imposée par le régulateur du module Peltier. Rampe entre 20 et 26 °C à 0.1 °C s⁻¹. (b) Écart type de la température de la zone de stockage pendant la rampe de température.

atteindre typiquement 0.5 °C et même 1.5 °C pour les refroidissements ou les chauffages les plus forts.

3.3 Détection des formes polymorphiques de KNO₃

Dans cette partie, nous présentons une étude des différents types de cristaux du nitrate de potassium susceptibles de nucléer au cours d’un processus de cristallisation. L’expérience présentée en fin du chapitre 2 a montré que le KNO₃ pouvait a priori cristalliser sous deux formes distinctes avec des températures de solubilité différentes. En mesurant leurs températures de solubilité et leurs spectres Raman grâce au dispositif microfluidique, nous allons montrer que les deux types de cristaux correspondent bien à des formes polymorphiques différentes. Nous verrons aussi qu’en reproduisant l’expérience pour différentes concentrations initiales en soluté, il est possible de déterminer leurs courbes de solubilité respectives sur une large gamme de température.

3.3.1 Description de la méthode de mesure

Les premières expériences ont été réalisées pour observer la présence de différentes formes polymorphiques de KNO₃ et mesurer leurs températures de solubilité. Lorsque ces expériences ont été effectuées, la technique d’insertion d’une goutte d’huile fluorée entre

deux gouttes de solution n'était pas encore développée et le module Peltier était contrôlé manuellement avec une alimentation de laboratoire.

Formation des cristaux

Le mode opératoire de la cristallisation d'un soluté est le suivant : des gouttes d'une solution initialement préparée à une concentration donnée en KNO_3 , sont stockées dans le long canal de la puce microfluidique. Pour éviter toute cristallisation pendant le remplissage, la puce, la seringue contenant la solution et le tube correspondant sont chauffés à une température supérieure à la température de solubilité de la solution. Une fois les gouttes stockées, la puce est refroidie progressivement par paliers pour sursaturer la solution et donc induire la nucléation de cristaux dans les gouttes. Sur la figure 3.8 est tracée la température de la puce pendant l'étape de refroidissement dans le cas d'une solution composée de 40 g de KNO_3 dans 100 g d'eau déminéralisée. La température de solubilité du soluté à cette concentration est de 26 °C [76]. La puce est dans un premier temps refroidie rapidement jusqu'à 14 °C, puis par palier de 1 °C toutes les 3 min (des paliers de 2 °C sont appliqués entre 14 et 10 °C). Sur la figure 3.8, au début de chaque palier les oscillations de la température sont dues à une régulation manuelle de l'alimentation des modules Peltier. Les symboles en forme de losange indiquent les moments où les photos de

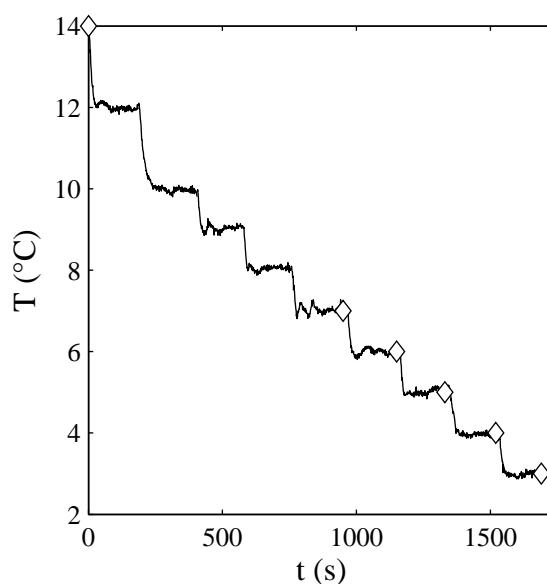


FIG. 3.8 – Température de la puce microfluidique lorsqu'elle est refroidie par paliers de 1 °C pour faire nucléer des cristaux dans chaque goutte. La température est mesurée avec un thermocouple inséré à travers le PDMS. La puissance délivrée au module Peltier est réglée manuellement à l'aide d'une alimentation de laboratoire. Les symboles (\diamond) indiquent les moments où des images de la zone de stockage présentées sur la figure 3.9 ont été enregistrées.

la zone de stockage, représentées sur la figure 3.9, ont été prises. Ces clichés montrent que

les cristaux apparaissent progressivement dans les gouttes, et a priori de façon aléatoire, au fur et à mesure que la température diminue. Des cristaux nucléent dans les gouttes pendant toute la durée de chaque palier en dessous de 7 °C. La majorité des cristaux apparaissent toutefois entre 6 et 5 °C. Avant, pratiquement toutes les gouttes sont encore vides et à 3 °C, toutes les gouttes contiennent un cristal. La température T_m à laquelle la majorité des cristaux apparaissent peut être interprétée comme une température limite de la zone de métastabilité de la solution. Au-dessus de 6 °C, qui correspond à une sursaturation S de 4.8, la cinétique de nucléation est très lente et en-dessous de 5 °C ($S = 5.3$) la cinétique devient rapide. Ici, $T_m = 5 \pm 1$ °C. Le mode d'apparition des cristaux dans les gouttes, et en particulier leur fréquence de nucléation, est un aspect que nous étudierons dans le chapitre suivant. En effet, comme cela a été vu dans le chapitre 1, il est possible de remonter au taux de nucléation du procédé de cristallisation en mesurant la probabilité qu'une goutte possède un cristal au cours du temps.

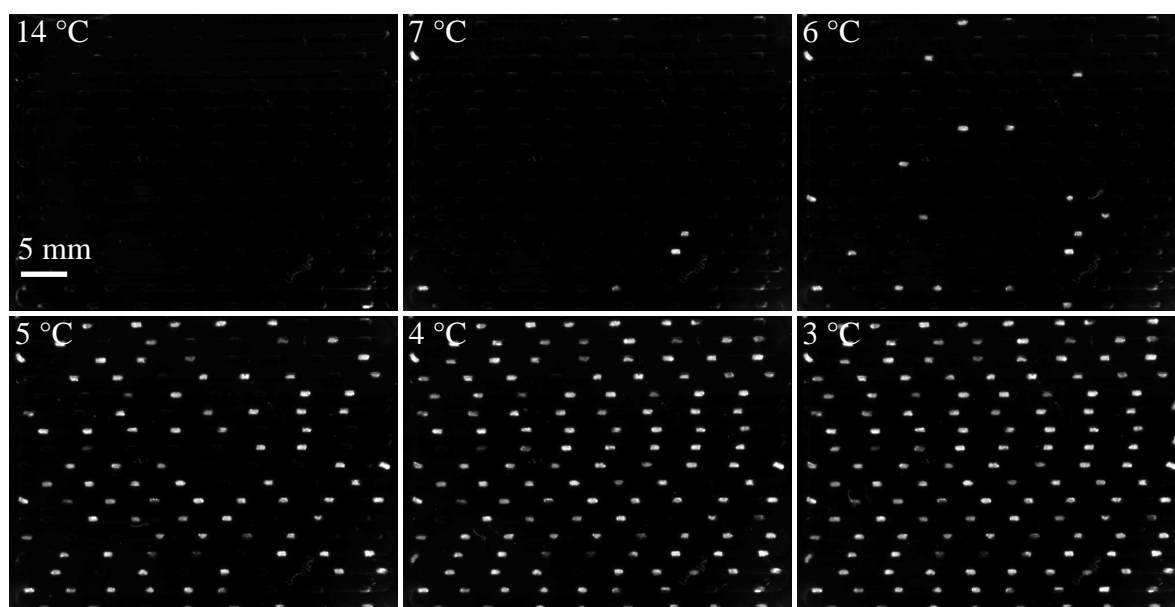


FIG. 3.9 – Images de la zone de stockage enregistrées pendant les paliers de refroidissement. Les instants où les photos ont été prises sont indiqués par les symboles en losange sur la figure 3.8. La puce est observée sous polariseur / analyseur croisés pour mieux faire ressortir les cristaux de KNO_3 , qui ont la propriété d'être biréfringents.

Pour connaître le mécanisme d'apparition des cristaux, nous avons suivi la formation de cristaux dans les gouttes au cours du temps. Une séquence d'images typiquement obtenue est représentée sur la figure 3.10. Cette séquence permet tout d'abord de mesurer une vitesse caractéristique de croissance des cristaux de l'ordre de $30 \mu\text{m s}^{-1}$. Dans les gammes de températures et de sursaturations appliquées, cette vitesse de croissance varie peu. Sachant que la taille minimale de détection d'un cristal est d'environ $50 \times 50 \mu\text{m}^2$, cela signifie que les cristaux peuvent être détectés une seconde après qu'ils aient nucléé. La série



FIG. 3.10 – Suivi au cours du temps de la croissance d'un cristal à l'intérieur d'une goutte stockée dans le canal.

d'images de la figure 3.10 semble aussi indiquer qu'un unique événement de nucléation a lieu par goutte. Cette hypothèse est soutenue par le fait que les cristaux apparaissent aléatoirement dans les gouttes, puisque ce comportement est caractéristique d'un temps de nucléation long par rapport au temps de croissance, et donc d'événement de nucléation mononucléaire dans les gouttes [55]. Si le temps de croissance était long devant le temps de nucléation, des nucléi auraient le temps de se former dans toutes les gouttes avant que nous puissions voir le premier cristal, et ainsi, comme la vitesse de croissance est très rapide, au bout de quelques secondes toutes les gouttes devraient contenir des cristaux visibles. Notons par ailleurs que l'événement de nucléation semble avoir lieu à la surface de la goutte comme l'ont montré d'autres observations. Nous reviendrons sur cet aspect (nucléation en surface ou en volume) dans le chapitre suivant.

Détection des formes polymorphiques

Une fois que toutes les gouttes contiennent un cristal, la puce est chauffée par paliers de $1\text{ }^{\circ}\text{C}$ en attendant à chaque fois un temps arbitraire de 7 min pour s'approcher de l'équilibre entre le solide et la solution. La figure 3.11 présente des photos de la zone de stockage à différentes températures pendant l'étape de dissolution des cristaux. Ces cristaux correspondent à la même expérience que celle de la figure 3.8. Les images montrent qu'une première population de cristaux se dissout complètement à $21\text{ }^{\circ}\text{C}$, et que le reste des cristaux se dissout à $26\text{ }^{\circ}\text{C}$, cette seconde température étant la température de solubilité de la solution prévue par la littérature. Cette expérience confirme donc bien les résultats obtenus dans le chapitre précédent, c'est-à-dire que le nitrate de potassium cristallise sous différentes formes avec des températures de solubilité distinctes. Comme le soluté n'est composé que d'une espèce chimique, l'existence de deux limites de solubilité caractérise la présence de deux formes polymorphiques.

D'après les considérations thermodynamiques présentées dans le chapitre 1 page 26, à une température et une pression données, la structure cristalline la plus stable est toujours celle dont la solubilité est la plus faible. Par conséquent, la forme polymorphique qui se dissout à plus basse température doit être une forme métastable de KNO_3 et celle qui se dissout à la deuxième solubilité doit être une forme plus stable. Cette différence de stabilité est supportée par le fait que lors de l'étape de dissolution, il apparaît que certains cristaux

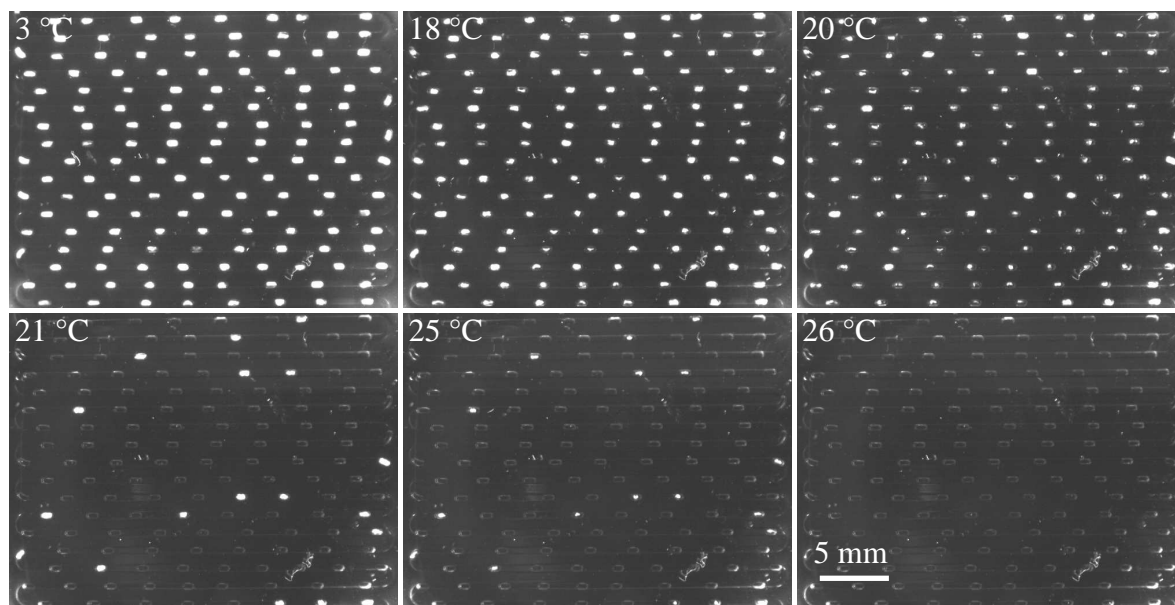


FIG. 3.11 – Photos de la zone de stockage enregistrées à différents moments pendant une remontée de la température par palier. La solution est constituée de 40 g de KNO_3 dans 100 g d'eau.

qui se dirigent vers une dissolution à la première température de solubilité, « regrossissent » soudainement et se dissolvent finalement à la deuxième température de solubilité. Ce type d'événements, qui reste rare, est caractéristique d'un phénomène de transformation solide spontanée d'un cristal métastable vers une forme plus stable.

3.3.2 Analyse des cristaux

Observation par microscopie optique

Des photos de cristaux dans les gouttes, prises avec un fort grossissement, sont présentées sur la figure 3.12. Pour des raisons de clarté, ces photos ont été faites dans une puce avec un support en verre afin de pouvoir observer les cristaux par transmission. Durant l'observation sous microscope, la puce n'est pas thermalisée donc les cristaux se dissolvent progressivement. Les photos montrent que les faciès des cristaux sont très différents les uns des autres. Ceux qui se dissolvent en premier sont des gros cristaux avec quelques défauts alors que les autres ont un aspect plus « dissociés », en forme d'aiguilles (c) ou de grains compactés (d), qui remet en doute l'hypothèse de nucléation mononucléaire dans les gouttes. Cependant, en suivant sous microscope la nucléation de cristaux du type (c), il apparaît qu'ils se forment bien à partir d'un unique événement de nucléation, mais que leur vitesse de croissance est beaucoup plus rapide que celle présentée précédemment. Ils atteignent la taille de la goutte en moins de 5 s. Cette croissance rapide et leur aspect opaque sous polariseur / analyseur croisés, laissent supposer que ces cristaux poussent en forme de

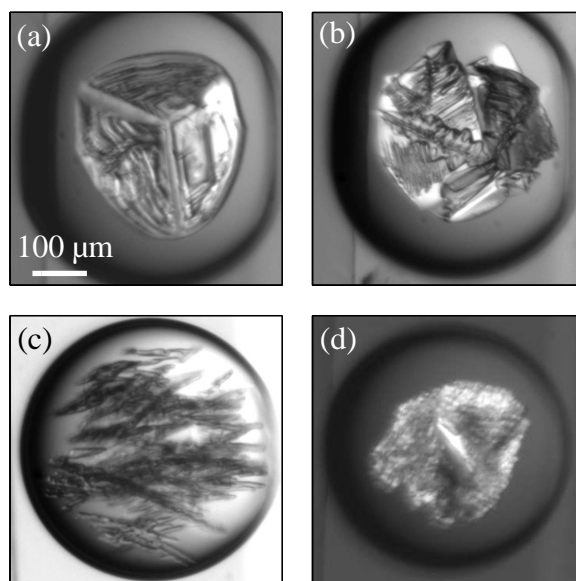


FIG. 3.12 – Photos des différents types de cristaux observés dans les gouttes. (a) et (b) correspondent aux cristaux qui se dissolvent à la première limite de solubilité. (c) et (d) sont des cristaux qui se dissolvent à la deuxième limite de solubilité.

dendrites [76]. Le fait qu'ils se dissolvent partiellement entre le moment où ils se forment et le moment où la photo est prise, pourrait expliquer l'observation d'aiguilles enchevêtrées au lieu de dendrites. La photo (d) représente un cas particulier et assez rare du faciès de la forme la moins soluble. Il est obtenu à la suite d'une transformation spontanée d'un cristal ayant initialement cristallisé sous la forme métastable. Ce type de transformation est clairement visible lors des étapes de dissolution. Pendant la transformation, au moment du passage de la structure cristalline métastable vers la forme plus stable, les contraintes topologiques font qu'un cristal de forme initiale (a) ou (b) se brise en une multitude de grains tout en conservant sa forme globale [76].

Analyse par spectroscopie Raman

Pour confirmer la présence de deux polymorphes et connaître leur nature, nous avons mesuré *in situ* leurs spectres Raman en utilisant le même montage que celui décrit dans le chapitre 2. Pour obtenir les différents spectres, les mesures ont dû être réalisées sur plusieurs cristaux avant la première dissolution, et ce n'est qu'après avoir dépassé la première limite de solubilité qu'il a été possible d'associer les spectres mesurés aux différents types de cristaux. Clairement, la figure 3.13 montre que les deux populations de cristaux présentent des spectres Raman bien distincts. Les valeurs des fréquences de vibrations des modes covalents ν_1 et ν_3 de NO_3^- permettent d'identifier sans ambiguïté que la forme qui se dissout en premier est la forme III de KNO_3 (métastable) et que celle qui se dissout à la température la plus élevée est la forme II (stable) [5, 14]. Cette étude confirme bien les

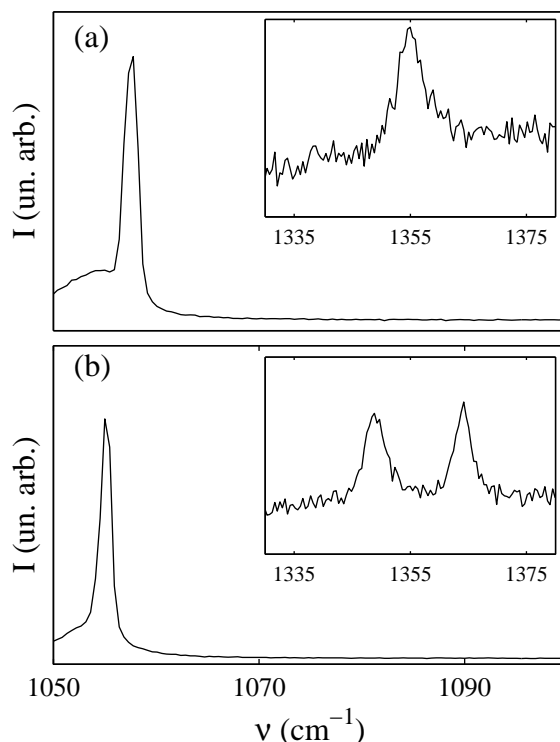


FIG. 3.13 – Spectres Raman des deux populations de cristaux mesurés *in situ* dans la puce microfluidique. I est l'intensité du signal et ν est le nombre d'onde. (a) Spectre d'un cristal qui se dissout à la température la plus basse. Il correspond à la forme polymorphique III du KNO_3 . (b) Spectre d'un cristal qui se dissout à la température la plus élevée. Il correspond à la forme II. Le mode d'élongation ν_1 de NO_3^- est à 1058 cm^{-1} (a) et 1055 cm^{-1} (b). Dans les inserts : bandes Raman des modes ν_3 , situées à 1355 cm^{-1} (a), 1348 et 1364 cm^{-1} (b).

prévisions faites précédemment sur les différences de stabilité des deux polymorphes.

3.3.3 Mesure des limites de solubilité

Les expériences de détection des différentes formes polymorphiques permettent d'accéder en même temps aux températures de solubilité des solutions. Ainsi, en répétant l'expérience illustrée par les figures 3.9 et 3.11, avec différentes solutions contenant des concentrations en KNO_3 variant de 20 à 70 g / 100 g d'eau par pas de 10 g / 100 g, nous avons pu mesurer les courbes de solubilité des deux polymorphes sur une large gamme de température (cf. figure 3.14). Le bon accord entre les points obtenus pour la forme II, et les données de la littérature, prouvent la fiabilité du dispositif pour déterminer des températures de solubilité. Si la courbe de solubilité de la forme stable du nitrate de potassium est très bien connue, à notre connaissance, c'est la première fois que celle de la forme III (métastable) a été mesurée.

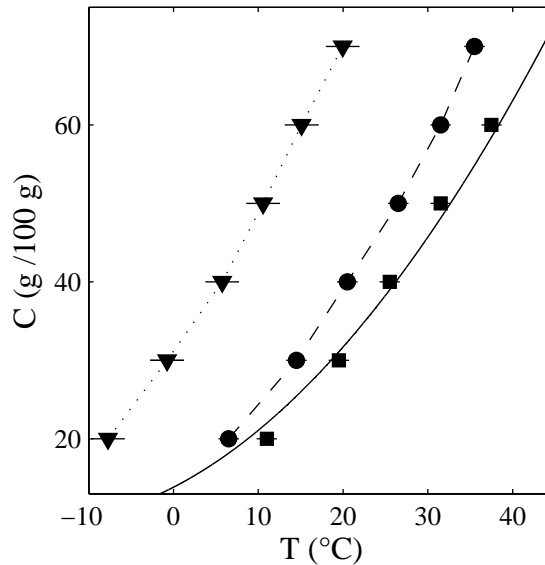


FIG. 3.14 – (\bullet) et (\blacksquare) sont respectivement les courbes de solubilités des polymorphes III et II de KNO_3 , mesurées avec le dispositif microfluidique. La ligne en tirets est un guide pour l'oeil et celle en trait plein correspond aux données de la littérature. (\blacktriangledown) correspondent aux températures T_m auxquelles la majorité des cristaux nucléent dans les gouttes.

Grâce à ces mesures, nous avons également pu estimer la température T_m aux différentes concentrations. La courbe obtenue sur la figure 3.14 peut être interprétée comme la limite de la zone de métastabilité de la solution dans les conditions opératoires des expériences. Il est intéressant de noter que pour chaque concentration, T_m correspond à une sursaturation comprise entre 5 et 5.5 par rapport à la solubilité du polymorphe stable. Ceci permet de dire que quelque soit la concentration, la cinétique de nucléation diverge aux alentours de $S = 5$. Nous reviendrons de façon plus détaillée sur la cinétique de nucléation dans le chapitre suivant.

3.3.4 Discussion

Grâce aux expériences qui viennent d'être présentées, nous venons de montrer qu'en faisant cristalliser le nitrate de potassium dans des petites gouttes, il était possible d'observer la forme polymorphique III qui est métastable. Il reste désormais à expliquer pourquoi cela est possible dans des gouttes et non dans des réacteurs classiques. La réponse à cette question est liée à la proportionnalité entre la fréquence de nucléation et le volume du réacteur. Dans le chapitre 1, nous avons vu en effet que $f = JV$, avec f la fréquence de nucléation, J le taux de nucléation et V le volume du réacteur. Plus le volume est petit, plus le nombre de nucléi qui se forment par unité de temps est faible. Ainsi, lorsque le volume est suffisamment petit, la probabilité qu'un cristal nucléé est tellement petite que dès qu'un nucléus apparaît, il a le temps de grossir et de consommer assez de soluté pour faire passer

la solution en-dessous de la limite métastable avant qu'un second événement de nucléation ait lieu. Autrement dit, si le temps de nucléation est grand devant le temps de croissance, la nucléation est mononucléaire. Cette condition est respectée si $JVV_c^{1/3}/G \ll 1$, avec G la vitesse de croissance des cristaux et V_c le volume des cristaux à partir duquel suffisamment de matière a été consommée pour que la solution soit passée en-dessous de la limite métastable [55, 59]. Bien que les étapes de formation des cristaux présentées précédemment, semblent montrer que la nucléation dans les gouttes est mononucléaire, il est important de s'assurer que l'inégalité est vérifiée.

Dans le cas de gouttes de 100 nL constituées de la solution à 40 g de KNO_3 pour 100 g d'eau, nous avons vu que la majorité des cristaux apparaissent à $S \approx 5$, et que $G \approx 30 \mu\text{m s}^{-1}$. De plus, d'après la figure 3.9, à 5 °C, il apparaît en $t \approx 7$ min, $N = 60$ cristaux dans environ $N_0 = 150$ gouttes initialement vides. En supposant le taux de nucléation constant pendant la durée du palier, ceci permet d'estimer $J = \ln(N_0/(N_0 - N))/(Vt) \approx 10^7 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ (cf. chapitre 1, page 24). Le volume V_c est donné par :

$$V_c = \frac{\nu_0 N_A m_g C_{\text{in}}}{M} \left(1 - \frac{S_{\text{lent}}}{S}\right), \quad (3.1)$$

avec ν_0 le volume moléculaire dans un cristal de KNO_3 , N_A le nombre d'Avogadro, m_g la masse d'une goutte, C_{in} la concentration initiale en soluté, M la masse molaire de KNO_3 , S_{lent} la sursaturation en-dessous de laquelle la cinétique de nucléation est très lente, et S la sursaturation juste avant la nucléation. En prenant $C_{\text{in}} = 40 \text{ g} / 100 \text{ g}$, $S_{\text{lent}} = 1$ (cf. figure 3.14) et $S = 5$, et avec $\nu_0 = 8.10^{-29} \text{ m}^3$, $m_g = 10^{-4} \text{ g}$ et $M = 101 \text{ g mol}^{-1}$, nous trouvons $V_c \approx 16 \text{ nL}$. À partir de ces ordres de grandeur, nous pouvons estimer $JVV_c^{1/3}/G \approx 10^{-2}$. Cette valeur étant très inférieure à 1, elle permet de confirmer que la nucléation à l'intérieur des gouttes est bien mononucléaire. En calculant les sursaturations par rapport à la solubilité du polymorphe métastable, $JVV_c^{1/3}/G$ reste toujours très inférieur à 1.

Dans les gouttes, la nucléation est donc mononucléaire alors qu'elle est polynucléaire dans les réacteurs classiques. Ainsi, dans ces derniers, les deux formes polymorphiques peuvent nucléer dans le même volume. Une fois formés, comme cela est représenté sur la figure 3.15, les différents types de cristaux croissent jusqu'à ce que la concentration de la solution atteigne C_3 . À cette concentration, la solution n'est plus sursaturée pour le polymorphe III, il s'arrête donc de grossir. Par contre, comme à C_3 la solution est toujours sursaturée pour le polymorphe II, celui-ci continue à croître ce qui entraîne la dissolution du polymorphe III. Cette disparition de la forme III en faveur de la II est appelée transformation par dissolution [99]. Ce type de transformation peut également avoir lieu même si le polymorphe le plus stable n'a pas nucléé au départ. En effet, à la concentration C_3 , la solution étant toujours sursaturée pour II, même si le taux de nucléation est faible, celui-ci est susceptible de nucléer si le volume du réacteur est suffisamment grand. Ces transformations polymorphiques expliquent pourquoi dans un réacteur classique, la forme métastable III de KNO_3 se dissout et ne peut pas être observée aux temps longs.

À l'inverse, dans le cas des expériences en gouttes présentées dans ce chapitre, comme la nucléation est mononucléaire, si différentes formes polymorphiques cristallisent, elles

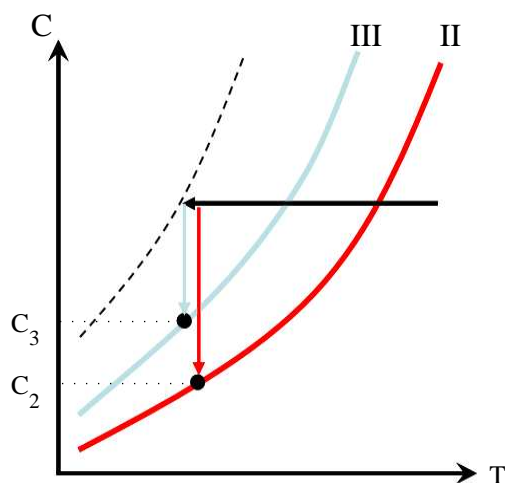


FIG. 3.15 – Schéma représentant le fait que suivant la nucléation des polymorphes II ou III, le cristal grossit jusqu'à ce que la solution atteigne la concentration C_2 ou C_3 . La courbe en tirets représente la limite de la zone métastable.

sont isolées les unes des autres dans des gouttes séparées. Dans chaque goutte, les cristaux grossissent jusqu'à atteindre la concentration C_3 pour III et C_2 pour II. Il ne peut pas y avoir de transformation polymorphique par dissolution. Bien que dans une goutte contenant un polymorphe métastable, la solution reste sursaturée pour les formes plus stables, la probabilité qu'un autre polymorphe nucléé est pratiquement nulle puisque comme le montre la figure 3.14, la solution est très faiblement métastable.

En conclusion, il est possible d'observer différentes formes polymorphiques dans des petites gouttes grâce au phénomène de nucléation mononucléaire qui empêche toute transformation par dissolution. Des transformations spontanées d'une structure métastable en une structure stable restent toutefois possibles. Ce type d'événement a été observé au cours des expériences mais il reste rare. Le fait que le temps de nucléation soit grand dans les gouttes permet aussi d'atteindre des sursaturations plus élevées que dans les réacteurs classiques avant le premier événement de nucléation. Comme les formes polymorphiques moins stables ont toujours des températures de solubilité plus basses, la possibilité d'atteindre des sursaturations plus élevées pourrait favoriser également leur nucléation.

Les expériences et les analyses qui viennent d'être présentées montrent que grâce au mécanisme de nucléation mononucléaire dans des gouttes, le dispositif microfluidique permet à la fois de faire cristalliser plusieurs formes polymorphiques d'un soluté, de mesurer leur température de solubilité, et de les analyser individuellement par spectroscopie Raman et par microscopie optique.

3.4 Étude statistique de formation des polymorphes

Grâce à la cristallisation dans un grand nombre de gouttes, le dispositif permet également d'effectuer des études sur les probabilités de nucléation des différents polymorphes. Ce type d'investigation peut se révéler très intéressant pour déterminer par exemple les paramètres qui favorisent la formation d'un polymorphe particulier.

3.4.1 Relation entre proportion des différents polymorphes et taux de nucléation

Les probabilités d'observer différents polymorphes dans les gouttes sont directement reliées à leurs cinétiques de nucléation. Pour mieux comprendre cette relation, considérons J_A et J_B les taux de nucléation respectifs de deux polymorphes A et B. Dans le cas d'un grand nombre de gouttes de volume V , au bout d'un temps t long, la probabilité que ce soit le polymorphe A qui nucléé dans une des gouttes stockées est déterminée par :

$$P(A) = \frac{J_A}{J_A + J_B} = \frac{N_A}{N_A + N_B}. \quad (3.2)$$

Pour avoir des chances d'observer les deux formes réparties dans N gouttes stockées, il faut que $NP(A)$ et $NP(B)$ soient supérieurs à 1, c'est-à-dire que les rapports J_A/J_B et N_A/N_B soient inférieurs à N . Autrement dit, pour observer simultanément plusieurs formes polymorphiques, il faut que leurs taux de nucléation soient relativement proches. De plus, plus le nombre de gouttes est important, plus la probabilité que différents polymorphes nucléent est grande.

3.4.2 Nucléation aléatoire dans les gouttes

Avant de retirer des informations statistiques des expériences réalisées avec le système microfluidique, il est toutefois nécessaire de vérifier que certaines gouttes ne favorisent pas la nucléation d'une forme polymorphique spécifique. Pour cela, nous avons effectué une expérience de reproductibilité dans le cas d'une solution composée de 30 g de KNO_3 dans 100 g d'eau. L'étude consiste à réaliser quatre cycles successifs et identiques constitués des étapes de cristallisation, de dissolution des polymorphes III et de dissolution des polymorphes II, le tout sur un même ensemble de 300 gouttes stockées dans la puce. Pour imposer les mêmes rampes de température à chaque cycle, le régulateur du module Peltier est contrôlé par le logiciel Labview. Après chaque étape de dissolution des polymorphes III, une photo de la zone de stockage est enregistrée. Les quatre photos obtenues sont représentées sur la figure 3.16. Elles montrent clairement que les polymorphes II sont situés à chaque fois dans des gouttes différentes, ce qui signifie qu'a priori leur nucléation n'est pas influencée par certaines gouttes. À partir de ce résultat, nous pouvons conclure que la cristallisation des polymorphes est bien aléatoire. En toute rigueur il faudrait aussi vérifier que la nucléation des polymorphes III est également aléatoire mais cela nécessiterait de faire un très grand nombre de cycles.

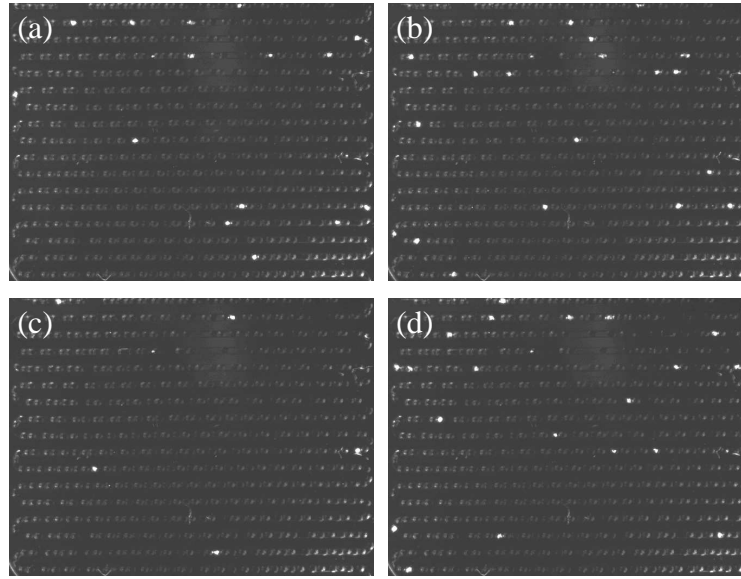


FIG. 3.16 – Positions des polymorphes II après quatre cycles identiques de cristallisation et de dissolution. Entre chaque cycle, tous les cristaux sont dissous. Ces quatre images montrent que les polymorphes stables cristallisent dans des gouttes différentes à chaque cycle.

3.4.3 Influence des paramètres expérimentaux

Le contrôle précis des conditions expérimentales et la nucléation aléatoire dans plus de 300 gouttes, font que le système microfluidique est un outil bien adapté pour étudier l'influence de paramètres expérimentaux sur la nucléation des différentes formes cristallines. Dans le cas de solutions de KNO_3 dans l'eau, le but est de voir quels facteurs permettent de contrôler la proportion de polymorphes II par rapport aux polymorphes III dans l'ensemble des gouttes stockées. Pour cela, nous avons choisi d'étudier le rôle des paramètres tels que la concentration initiale en soluté, la sursaturation et la température minimale de refroidissement.

Pour réaliser cette étude, le pourcentage p_2 de polymorphes II sur l'ensemble des cristaux qui ont nucléé dans les gouttes, a été mesuré pour plusieurs températures de refroidissement et plusieurs solutions contenant différentes concentrations en KNO_3 . La figure 3.17 présente le type de profil de température appliqué à la puce pour chacune des expériences : une fois que les gouttes sont stockées, la température est diminuée à une vitesse de $0.1 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$ jusqu'à atteindre la température de refroidissement T_F . La puce est ensuite maintenue à T_F pendant 5 min avant d'être remontée à $0.1 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$, jusqu'à la température de la première dissolution T_{s3} . Au cours d'une expérience, p_2 est mesuré automatiquement par traitement d'images. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 3.18. La figure 3.18.a montre tout d'abord que pour une concentration donnée, le pourcentage de polymorphes II varie fortement. La figure 3.18.b montre que pour chaque concentration, plus la solution est sursaturée, plus p_2 est grand. Cependant, à une sursaturation donnée, p_2 varie avec

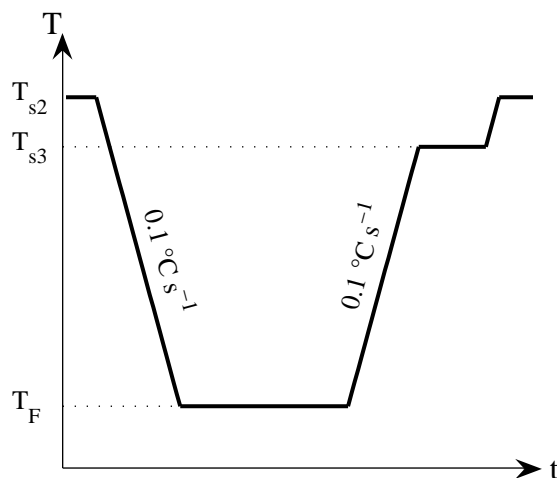


FIG. 3.17 – Profil de température imposé à la puce microfluidique pour étudier l'influence de divers paramètres sur la proportion de polymorphes II. T_{s2} et T_{s3} sont respectivement les températures de solubilité des formes II et III de KNO_3 à la concentration étudiée. T_F est la température de refroidissement de l'expérience. Toutes les rampes de température sont réalisées à 0.1 °C s^{-1} .

la concentration en soluté. La sursaturation n'est donc pas le facteur le plus pertinent pour contrôler la nucléation des polymorphes II. En traçant p_2 en fonction de la température de refroidissement T_F sur la figure 3.18.c, nous constatons qu'indépendamment de la concentration, p_2 augmente lorsque T_F diminue. Plus la température de refroidissement est basse, plus il y a de polymorphes II. C'est donc la température de refroidissement qui semble jouer un rôle prédominant sur p_2 . Ce comportement signifie que la cinétique de nucléation des polymorphes II se rapproche de celle des polymorphes III au fur et à mesure que la température T_F diminue.

Ces résultats doivent toutefois être retenues avec précaution puisque bien que les barres d'erreur n'aient pas été représentées sur la figure 3.18 pour des raisons de clarté, elles sont très importantes, de l'ordre de plusieurs pourcents. Les barres d'erreur sont déterminées par la largeur à mi-hauteur de la loi binomiale qui décrit la densité de probabilité de nucléation du polymorphe II à partir d'une expérience au cours de laquelle N_2 polymorphes II ont nucléé sur N événements [132]. L'importance de l'erreur vient du fait que le nombre de polymorphes II est petit par rapport au nombre total de cristaux.

3.4.4 Discussion

L'évolution de p_2 avec la température de refroidissement observée précédemment, révèle que plus T_F est basse, plus la cinétique de nucléation du polymorphe II se rapproche de celle du polymorphe III. Au cours de cette discussion, nous allons voir que l'évolution de p_2 peut donner des informations supplémentaires, notamment sur le rapport entre les tensions de surface respectives des différents polymorphes.

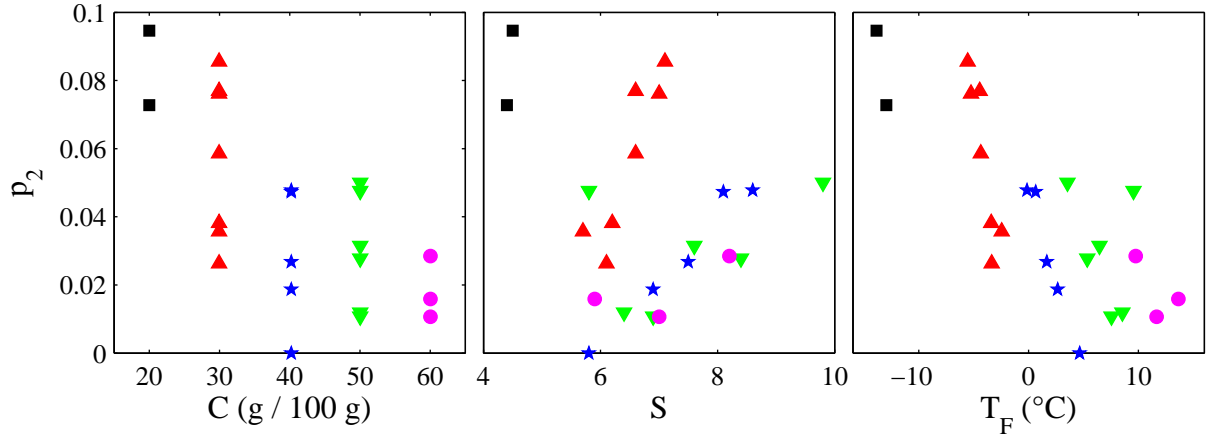


FIG. 3.18 – Évolution de p_2 (pourcentage de polymorphe II), en fonction (a) de la concentration C en KNO_3 , (b) de la sursaturation S , et (c) de la température de refroidissement T_F . Concentration en KNO_3 : (■) 20, (▲) 30, (★) 40, (▼) 50 et (●) 60 g / 100 g.

Pour obtenir ces informations supplémentaires, p_2 doit être exprimé en fonction des tensions de surface. Pour cela, rappelons tout d'abord l'équation 3.2 :

$$p_2 = \frac{J_2}{J_2 + J_3}, \quad (3.3)$$

avec J_2 et J_3 respectivement les taux de nucléation des polymorphes II et III. En utilisant l'expression du taux de nucléation de la théorie classique de la nucléation, et en supposant que seules la tension de surface et la sursaturation diffèrent suivant le type de polymorphes, nous pouvons écrire :

$$p_2 = \left\{ 1 + \frac{S_3}{S_2} \exp \left[-\frac{K\sigma_2^3}{T^3} \left(\frac{(\sigma_3/\sigma_2)^3}{\ln^2 S_3} - \frac{1}{\ln^2 S_2} \right) \right] \right\}^{-1}, \quad (3.4)$$

avec T la température, K une constante, σ_2 la tension de surface entre le polymorphe II et la solution, σ_3 celle correspondant au polymorphe III, et S_2 et S_3 respectivement les sursaturations pour les polymorphes II et III.

En supposant que la tension de surface est proportionnelle à la température [103], le facteur $K' = K\sigma_2^3/T^3$ peut être considérée comme une constante. En prenant comme volume moléculaire $\nu_0 = 8.10^{-29} \text{ m}^3$ [69], et $\sigma_2 \approx 30 \text{ mJ m}^{-2}$ à température ambiante [103], nous trouvons $K' \approx 40$. Pour comprendre le comportement de p_2 en fonction des différents paramètres, sur la figure 3.19.a nous avons tracé p_2 en fonction de la sursaturation S_2 pour une concentration initiale $C_{\text{in}} = 60 \text{ g / 100 g}$ et différentes valeurs de $r = \sigma_3/\sigma_2$. Notons que S_3 est reliée à S_2 à partir des courbes de solubilité présentées sur la figure 3.14. Les courbes montrent que pour retrouver le fait que p_2 augmente avec la sursaturation, il faut que la tension de surface du polymorphe stable soit supérieure à celle du polymorphe métastable

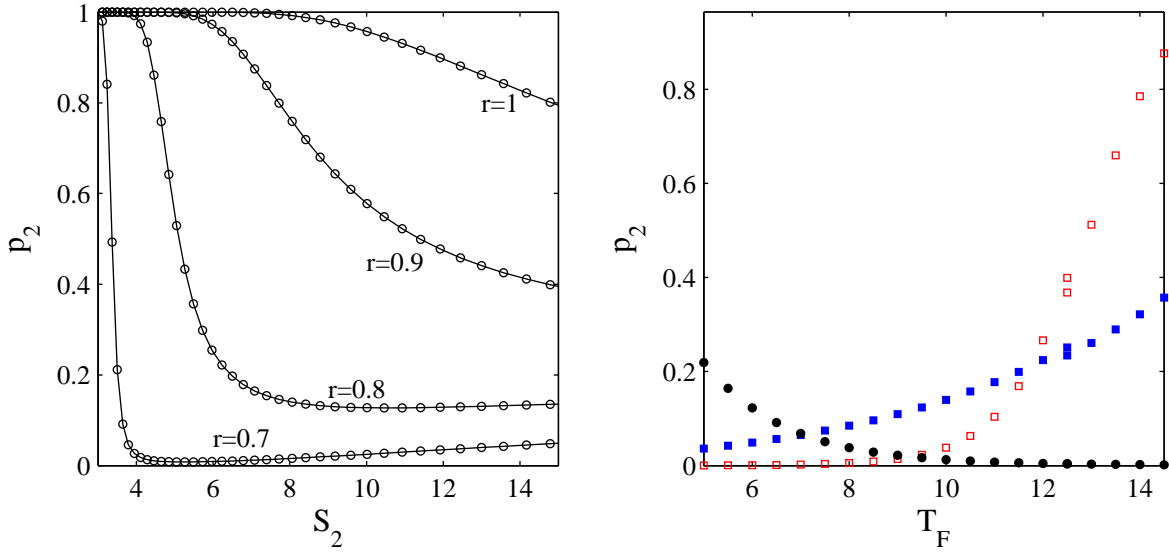


FIG. 3.19 – (a) Évolutions de la probabilité p_2 en fonction de la sursaturation, obtenues à partir de l'équation 3.4, pour différents rapports $r = \sigma_3/\sigma_2$. (b) Évolutions de p_2 en fonction de la température de refroidissement T_F à une sursaturation fixée $S_2 = 5$, et pour différents comportements de r avec T_F . (■) $r = 0.8$ constant. (□) r augmente avec T_F : $r = 0.65 + f(S_2/S_3)$. (●) r diminue quand T_F augmente : $r = 0.85 - f(S_2/S_3)$. $f(S_2/S_3) = (S_2/S_3 - \min(S_2/S_3)) / (\max(S_2/S_3) - \min(S_2/S_3))$ augmente avec T_F .

et que le rapport r soit inférieur à 0.8. Ce comportement est cohérent avec les travaux de Söhnel [103], qui a mis en évidence un lien fort entre la solubilité d'un soluté et la tension de surface soluté/solution. Plus la solubilité est grande, plus la tension de surface est faible. Comme le polymorphe III est plus soluble que le polymorphe II, on retrouve bien $\sigma_2 > \sigma_3$.

Par ailleurs, la figure 3.14 (page 85) montre que l'écart entre les courbes de solubilité des deux polymorphes diminue aux basses températures. En suivant la logique que le rapport r des tensions de surface est lié au rapport des solubilités, r doit donc augmenter lorsque la température T_F diminue. Sur la figure 3.19.b, nous avons tracé p_2 en fonction de la température T_F et pour une sursaturation S_2 fixée à 5, qui correspond à la sursaturation où la majorité des cristaux nucléent. Pour cela, nous avons fait varier la concentration initiale C_{in} , S_3 étant toujours déduite de S_2 et C_{in} à partir des courbes de solubilité. En plus de C_{in} , différentes variations du rapport r avec T_F ont été appliquées. De façon arbitraire nous avons choisi : $r = 0.8$, $r = 0.65 + f(S_2/S_3)$, et $r = 0.85 - f(S_2/S_3)$ avec $f(S_2/S_3) = (S_2/S_3 - \min(S_2/S_3)) / (\max(S_2/S_3) - \min(S_2/S_3))$, pour simuler les cas respectifs r constant, r croissant et r décroissant. Sur les trois évolutions de p_2 , il n'y a que celle pour laquelle r augmente lorsque la température diminue qui permet de retrouver la diminution de p_2 avec T_F observée sur la figure. 3.18.c. Ceci concorde avec les travaux de Söhnel.

Grâce au dispositif microfluidique, il est donc possible de déterminer rapidement les

paramètres influençant la probabilité de nucléation d'un polymorphe particulier. Malgré des barres d'erreur importantes, l'étude a montré que la nucléation de la forme II du nitrate de potassium pouvait être favorisée en diminuant la température de refroidissement de la puce. Par ailleurs, à partir de simples arguments basés sur la théorie classique de la nucléation, et en supposant que seules les tensions de surface jouent un rôle, on peut reproduire l'évolution de p_2 avec T_F lorsque ces dernières varient comme les solubilités. Nous pensons que ce type d'étude peut être un moyen de mesurer les tensions de surface nucléus / solution des différents polymorphes.

3.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté un système microfluidique entièrement thermalisé permettant de stocker un grand nombre de gouttes d'environ 100 nL. À partir d'expériences réalisées avec des solutions de nitrate de potassium dans l'eau, nous avons montré qu'il était possible de détecter la nucléation de différentes formes polymorphiques d'un composé et de les étudier séparément. Cette détection est rendue possible grâce au mécanisme de nucléation mononucléaire à l'intérieur des gouttes. Comme chaque goutte ne contient qu'une seule structure cristalline, il ne peut pas y avoir de transformation polymorphique par dissolution. Cette dernière étant la principale raison qui rend difficile l'observation simultanée de plusieurs polymorphes dans les réacteurs classiques. L'utilisation des 300 microréacteurs permet également d'obtenir des informations sur les cinétiques de nucléation des polymorphes. En particulier, nous avons vu que c'est un moyen efficace pour comprendre comment favoriser la nucléation d'un polymorphe par rapport à l'autre. En apportant quelques améliorations au dispositif (cf. page 68), il devrait pouvoir devenir un outil très intéressant pour l'industrie pharmaceutique qui cherche à déterminer en permanence les propriétés polymorphiques des molécules qu'elles synthétisent.

Chapitre 4

Étude des cinétiques de nucléation

Ce chapitre est consacré à la présentation d'un nouvel outil microfluidique pour mesurer les cinétiques de nucléation de cristaux en solution. Généralement, lors de processus de cristallisation dans des réacteurs industriels, la nucléation met en jeu des mécanismes multiples et extrêmement complexes (nucléation primaire et secondaire, homogène et hétérogène), et pour le moment, la mesure des distributions de taille de particules décrite dans le chapitre 1 est une des seules techniques permettant de déterminer les bons ordres de grandeurs des taux de nucléation. Cependant, comme elle ne donne qu'une moyenne de la mesure de la cinétique de nucléation, pour étudier spécifiquement la nucléation homogène, ou observer par exemple l'influence de divers paramètres tels que les solvants ou les impuretés sur la cinétique, la méthode des gouttes se montre beaucoup plus efficace. Toutefois, cette technique reste encore peu utilisée en raison principalement des difficultés expérimentales. Une des principales motivations pour le développement du système microfluidique présenté dans ce chapitre est donc de rendre la méthode des gouttes plus accessible. D'autre part, ce type d'outils présente aussi l'intérêt de pouvoir réaliser de nouvelles études expérimentales sur les cinétiques de formation des cristaux, ce qui est un élément essentiel pour améliorer la compréhension des mécanismes de nucléation en solution.

Dans ce chapitre, après une présentation du principe de fonctionnement du dispositif, nous exposerons quelques exemples de cinétiques de nucléation mesurées avec le système microfluidique. Nous discuterons ensuite des informations données par ces résultats sur les mécanismes de nucléation qui ont lieu dans les gouttes.

4.1 Principe de fonctionnement

4.1.1 Principe général

Le principe du système est basé sur la méthode des gouttes décrite de façon détaillée dans le chapitre 1 page 23. Rappelons que cette méthode a été utilisée au départ pour étudier les cinétiques de nucléation homogène. Comme cela est illustré sur la figure 4.1, le fait de diviser un volume d'une solution en un grand nombre de gouttes, permet d'isoler

dans certaines gouttes les impuretés initialement présentes dans la solution et donc d'observer la nucléation homogène dans les autres. De plus, en réduisant suffisamment la taille

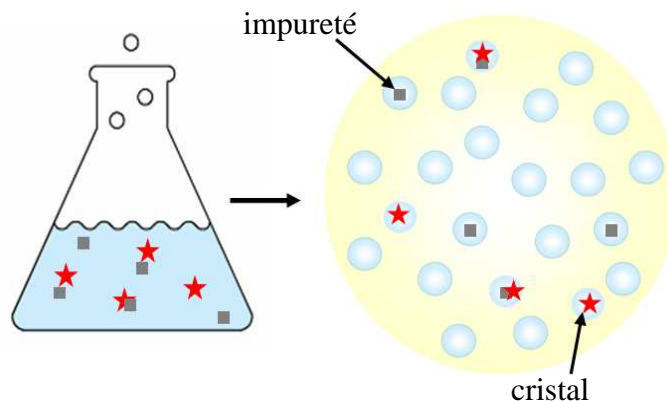


FIG. 4.1 – Illustration de la méthode des gouttes. Les impuretés initialement présentes dans un grand volume de solution sont isolées dans quelques gouttes après émulsification. Dans le cas de gouttes suffisamment petites, la nucléation est mononucléaire.

des gouttes, le temps de nucléation des cristaux devient grand devant leur temps de croissance. Dans ce cas, seuls des événements de nucléation mononucléaires ont lieu dans les gouttes (voir les conditions données dans le chapitre 3 page 86). Aussi, la nucléation étant un processus stochastique, les cristaux apparaissent dans les gouttes de façon aléatoire, et la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux au temps t est alors donnée par :

$$P(t) = \exp(-JVt), \quad (4.1)$$

où J est le taux de nucléation et V le volume des gouttes. La mesure de P permet donc a priori d'accéder directement au taux de nucléation, c'est-à-dire à la cinétique de nucléation. La méthode des gouttes pose cependant quelques difficultés expérimentales. En effet, les gouttes, généralement produites par émulsification de la solution en utilisant des tensioactifs, ne sont jamais monodisperses. Ainsi, il est d'abord nécessaire de caractériser leur polydispersité et utiliser un modèle approprié [56], et de plus les tensioactifs peuvent induire la nucléation hétérogène. De plus, il a été montré que les événements de nucléation dans les gouttes n'étaient pas toujours indépendants notamment dans le cas d'émulsions concentrées [51]. Enfin, la mesure de $P(t)$ est souvent laborieuse et / ou indirecte.

Le principe du système présenté dans ce chapitre, consiste à s'appuyer sur les avantages de la microfluidique afin d'offrir un outil facile à utiliser, rapide et robuste, pour mesurer des cinétiques de nucléation. Ces avantages concernent essentiellement la monodispersité des gouttes produites, le contrôle précis et rapide de la température, et l'observation directe des événements de cristallisation.

Les bases du dispositif sont similaires à celles du système de détection des polymorphes présenté dans le chapitre précédent. Plus de 300 gouttes de la solution à étudier préalablement préparée sont stockées dans un long microcanal. Une fois les gouttes stockées, la solution est sursaturée par refroidissement de la puce microfluidique à une vitesse contrôlée, jusqu'à une température inférieure à la température de solubilité de la solution. Lorsque la sursaturation devient suffisamment élevée, il apparaît des cristaux à l'intérieur des gouttes de façon aléatoire. Pour les raisons données dans le chapitre 3, page 80, la nucléation dans les gouttes est mononucléaire. Au fur et à mesure que les cristaux nucléent, la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux au cours du temps est déterminée directement par une observation globale de la zone de stockage des gouttes permettant de visualiser tous les événements de cristallisation. Cette probabilité est définie par $P(t) = k(t)/N$, où N est le nombre de gouttes stockées et $k(t)$ est le nombre de gouttes sans cristal au temps t . À partir de $P(t)$, il est ensuite a priori possible d'en déduire le taux de nucléation J par la relation précédente 4.1.

4.1.2 Dispositif expérimental

Le dispositif, présenté sur la figure 4.2, est identique à celui mis au point pour la détection des polymorphes dans le chapitre précédent. Aussi, pour mesurer P de façon précise, il est nécessaire de réaliser des statistiques sur un maximum de gouttes. Ainsi, le mode retenu pour l'injection des liquides et le stockage des gouttes est celui basé sur l'insertion de gouttes d'huile fluorée décrit page 74, permettant de stocker plus de 300 gouttes. Une photo de la puce microfluidique est présentée sur la figure 4.2.a. Comme le montre la figure 4.2.b, la puce est thermalisée à l'aide du module Peltier contrôlé avec un régulateur lui-même piloté par ordinateur. La température de la puce est mesurée avec une sonde Pt100 et des thermocouples insérés à travers la couche de PDMS. Rappelons que l'homogénéité de la température est inférieure à 0.1 °C. La zone de stockage ($25 \times 25 \text{ mm}^2$), est observée grâce au microscope binoculaire et à la caméra fixée sur celui-ci, sous polariseur et analyseur croisés. La taille minimale des cristaux observés sous ce champ est de l'ordre de 50 μm . Pour traiter les films réalisés au cours d'une expérience de cristallisation, nous avons développé un programme Matlab spécifique. Ce programme permet de déterminer directement la probabilité P à partir des films enregistrés. Pour plus d'informations sur le dispositif expérimental, le lecteur peut se référer au chapitre 3.

4.2 Expériences et résultats

4.2.1 Protocole expérimental

Pour effectuer les mesures de cinétiques de nucléation avec le dispositif microfluidique développé, le protocole expérimental est le suivant : pendant la formation et le stockage des gouttes de la solution à étudier, la puce microfluidique est chauffée à une température supérieure à la température de solubilité de la solution. Le volume des gouttes est mesuré

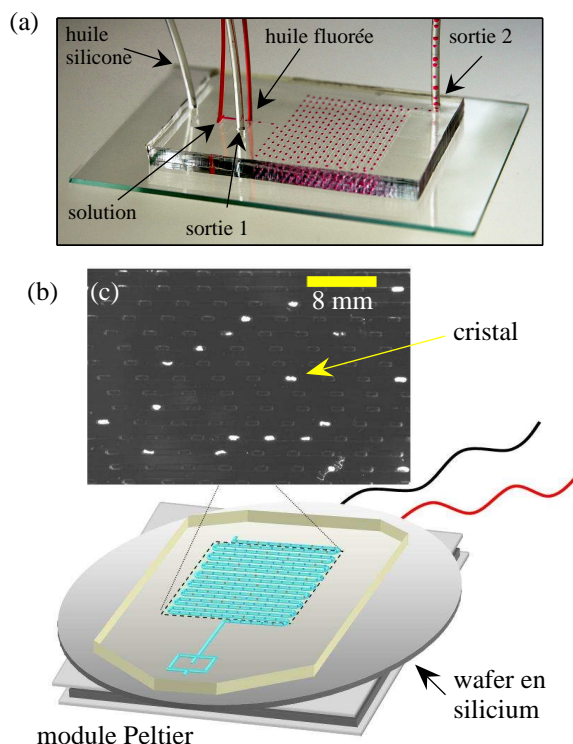


FIG. 4.2 – (a) Photo de la puce microfluidique. Pour des raisons de clarté, la puce est collée sur un support en verre. (b) Puce microfluidique thermalisée grâce à un élément Peltier. (c) Image de la zone de stockage des gouttes. L'observation sous polariseur et analyseur croisés permet de faire ressortir la présence des cristaux biréfringents (zones lumineuses).

à partir de leur fréquence de formation et du débit d'injection de la solution. Notons que dans toutes les expériences présentées dans ce chapitre, le volume des gouttes est compris entre 100 et 110 nL, à part dans certains cas pour lesquelles ils seront précisés. Le nombre de gouttes stockées dans le serpentin est compté manuellement. Il varie généralement entre 300 et 320. À la suite de l'étape de stockage, la puce est refroidie à une vitesse constante de $0.1 \text{ } ^\circ\text{C s}^{-1}$ jusqu'à la température d'étude. Cette température est ensuite maintenue constante pendant toute la durée de l'expérience comme cela est illustré sur la figure 4.3. Dès que la puce commence à être refroidie, l'enregistrement des images de la zone de stockage des gouttes est enclenché, et il ne sera stoppé qu'à la fin de l'expérience. Typiquement, la fréquence d'acquisition utilisée est de l'ordre d'une image toutes les 5 secondes. Le film obtenu au final permet de suivre tous les événements de nucléation qui ont eu lieu dans la zone de stockage du canal.

Comme le montre la figure 4.3, la nucléation d'un certain nombre de cristaux est généralement observée avant que la température finale n'ait été atteinte. Pour mesurer la cinétique de nucléation uniquement à la température d'étude, c'est-à-dire la température plateau T_p , aucun de ces cristaux ne doit être pris en compte. Ainsi, si sur N gouttes

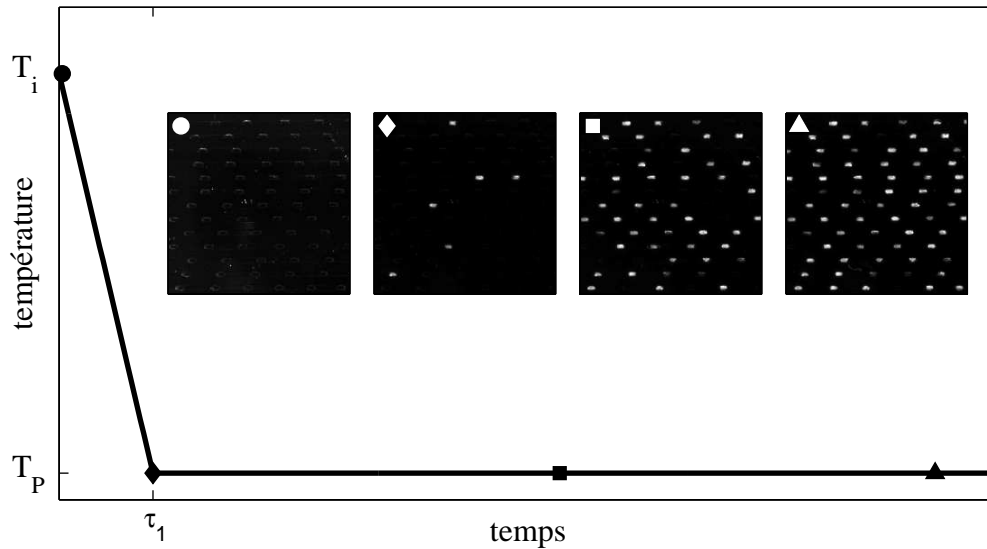


FIG. 4.3 – Profil de température typique appliqué à la puce microfluidique au cours d’une mesure de cinétique de nucléation. Entre $t = 0$ s et $t = \tau_1$, la puce est refroidie à 0.1 °C s^{-1} de la température initiale T_i à la température d’étude dite température plateau T_p . T_i est supérieure à la température de solubilité de la solution T_s . Images typiques de la zone de stockage prises à différents moments de l’expérience indiqués par les symboles. Pour mieux observer les cristaux, une partie réduite de la zone de stockage est représentée. La largeur des canaux est de $500 \text{ }\mu\text{m}$.

stockées, n possèdent un cristal à l’issue de la trempe, la mesure de la probabilité $P(t)$ ne se fera que sur les $N - n$ gouttes vides au début du plateau de température.

4.2.2 Mesures des cinétiques de nucléation

Dans le but de tester le dispositif, des mesures de cinétiques de nucléation ont été effectuées dans le cas de solutions composées de KNO_3 dissout dans de l’eau déminéralisée. Nous avons choisi le nitrate de potassium parce qu’il présente l’avantage d’avoir une limite de solubilité qui varie rapidement avec la température, permettant d’atteindre facilement des sursaturations relativement élevées sans avoir besoin de diminuer la température de manière excessive. Cependant, comme nous l’avons vu dans le chapitre précédent, le nitrate de potassium peut cristalliser sous deux formes polymorphiques distinctes avec des limites de solubilité différentes. Par conséquent, lorsque la solution est à une température inférieure aux deux températures de solubilité, la sursaturation par rapport aux deux polymorphes est différente. Comment définir alors la sursaturation à laquelle nucléent les cristaux ? D’après les études présentées dans le chapitre 3, le nombre de polymorphes II (stables) qui nucléent au cours des expériences est très faible (entre 0 et 10%) devant le nombre de polymorphes III (métastables). Ainsi, comme les conditions expérimentales pour les mesures de cinétique de nucléation sont très proches de celles utilisées pour la détection

de polymorphes, nous négligerons la présence des polymorphes II et choisirons comme sursaturation, celle par rapport aux polymorphes III.

Des mesures de la proportion de gouttes contenant des cristaux ont été réalisées pour différentes concentrations en KNO_3 et différentes sursaturations. Les résultats obtenus dans le cas d'une solution à 40 g de KNO_3 dans 100 g d'eau sont présentés sur la figure 4.4.a. À

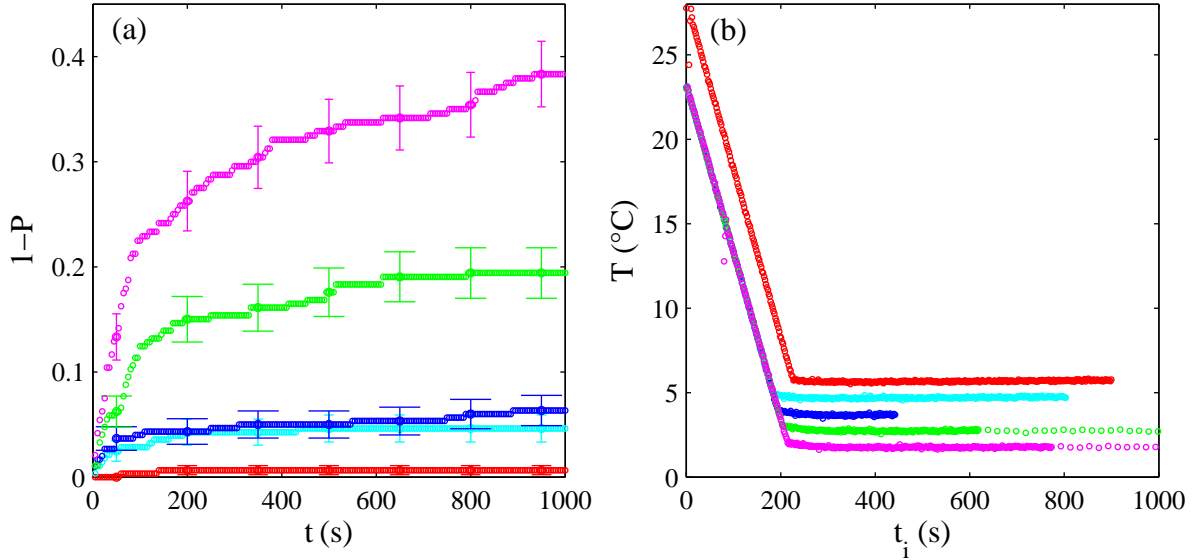


FIG. 4.4 – (a) Mesures de la proportion de gouttes qui contiennent un cristal en fonction du temps pour une solution de KNO_3 à 40 g / 100 g et pour cinq températures plateau T_p différentes. Rose : $T_p = 1.8$; vert : 2.8; bleu : 3.8; bleu ciel : 4.8; rouge : 5.8 °C. $P(t)$ est la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux au temps t . t est le temps à partir du début du plateau de température. Les barres d'erreur, représentées sur un nombre réduit de points pour plus de clarté, sont déterminées à partir de la loi binomiale. (b) Profils de température correspondants aux mesures de (a). t_i est le temps à partir du début de la trempe en température.

côté, sur la figure 4.4.b, sont représentés les profils de températures correspondants, mesurés par les thermocouples insérés dans la puce microfluidique. Bien que les mesures de P ne soient effectuées qu'à partir du moment où T_p est atteinte, les trempes en température ont été incluses sur la figure pour montrer les profils de température complets appliqués au dispositif. La température restant constante pendant toute la durée du plateau, l'enregistrement des profils est généralement arrêté avant la fin des expériences.

La figure 4.4 montre bien que la proportion de gouttes avec des cristaux augmente au cours du temps et que la cinétique d'apparition des cristaux est d'autant plus rapide que la température de refroidissement est basse. Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard de la densité de probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux lorsque k gouttes sont vides sur N gouttes stockées. Cette distribution de probabilité est décrite par

la loi binomiale :

$$DP = C_N^k P^k (1 - P)^{N-k}, \quad (4.2)$$

avec DP la densité de la probabilité P . Comme le montre la figure 4.4.a, grâce aux statistiques sur un grand nombre de gouttes, l'erreur sur la probabilité est relativement faible.

4.2.3 Reproductibilité des mesures

Répétabilité des mesures de la probabilité P

Pour vérifier la répétabilité des expériences, plusieurs mesures de cinétique de nucléation ont été effectuées sur un même ensemble de gouttes stockées et sur des gouttes différentes en suivant un même protocole. Les expériences ont été réalisées à partir de gouttes constituées d'une solution à 30 g de KNO_3 dans 100 g d'eau. À chaque fois, les gouttes stockées sont refroidies à -4.7°C pendant environ 300 s puis elles sont chauffées à 23°C ($T_s = 18.6^\circ\text{C}$) jusqu'à ce que tous les cristaux se dissolvent complètement. Quatre cinétiques ont été mesurées sur un premier ensemble de gouttes avant de vider le canal puis de le remplir une nouvelle fois avec une deuxième série de gouttes sur laquelle deux autres cinétiques ont été mesurées. L'ensemble des résultats est représenté sur la figure 4.5. La superposition

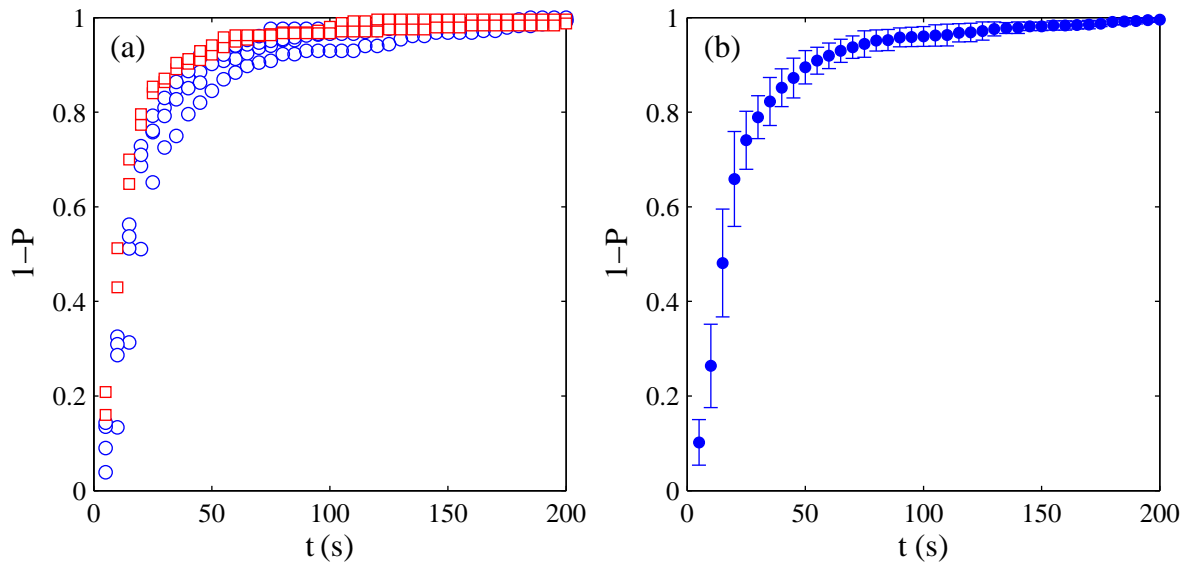


FIG. 4.5 – (a) Expériences de reproductibilité effectuées à partir d'une solution de KNO_3 dans l'eau à une concentration de 30 g / 100 g. Cercles bleus : 4 mesures successives réalisées sur un premier ensemble de gouttes stockées. Carrés rouges : 2 mesures successives sur un second ensemble de gouttes stockées. (b) Moyenne des données présentées en (a). Les barres d'erreur correspondent à la déviation standard des mêmes données.

des courbes indique que les mesures sont bien reproductibles pour un ensemble de mêmes

gouttes. En comparant les deux séries d'expériences, il apparaît un très léger décalage mais l'erreur reste de l'ordre d'une dizaine de pourcents. Ces résultats montrent donc une bonne reproductibilité des expériences. La dispersion des données est importante aux temps courts mais au-delà de 60 s, la proportion de gouttes contenant un cristal est très reproductible (cf. figure 4.5).

Apparition des premiers cristaux

Comme nous l'avons vu précédemment, il apparaît généralement des cristaux dans quelques gouttes avant que la température plateau ne soit atteinte. Cette observation nous a conduit à étudier les premiers événements de nucléation ayant lieu dans les gouttes à la suite d'une trempe en température, pour savoir s'ils étaient aléatoires ou non. Pour cela, sept cycles de températures représentés sur la figure 4.6.h ont été successivement appliqués à un ensemble de gouttes stockées dans la puce microfluidique. Au cours d'un cycle, la

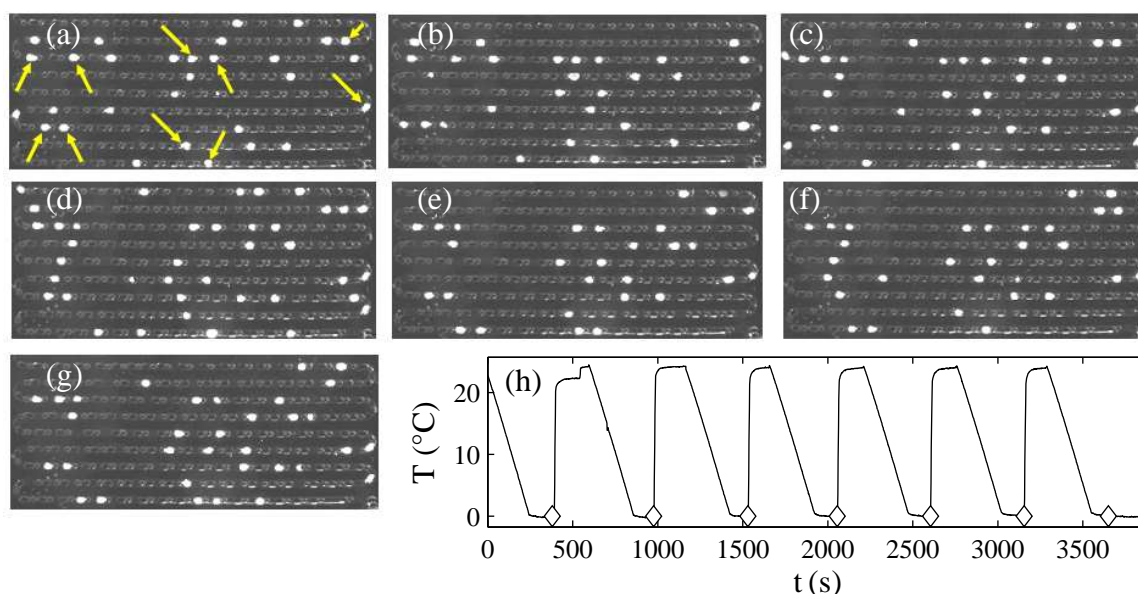


FIG. 4.6 – (a–g) Images prises à différents instants marqués par les losanges sur (h). (h) Profil de température appliqué à un même ensemble de gouttes stockées dans la puce microfluidique. Les flèches jaunes sur l'image (a) indiquent une partie des gouttes dans lesquelles un cristal apparaît à chaque cycle. La concentration de la solution en KNO_3 est de 30 g / 100 g. Températures de solubilité pour le polymorphe stable $T_s = 18.3$ °C et pour le polymorphe métastable $T_s = 14.9$ °C.

température est tout d'abord refroidie de 23 °C à 0 °C à une vitesse de 0.1 °C s⁻¹. Elle est ensuite maintenue à 0 °C pendant environ 2 min avant d'être rapidement remontée à 23 °C, afin de dissoudre tous les cristaux qui ont nucléé (températures de solubilité pour le polymorphe stable $T_s = 18.3$ °C et pour le polymorphe métastable III $T_s = 14.9$ °C).

Lors du refroidissement à 0 °C, il apparaît rapidement quelques cristaux dans les gouttes, puis la cinétique de nucléation devient extrêmement lente. Ce phénomène laisse déjà supposer que la nucléation est favorisée par certaines gouttes. De plus, les images de la zone de stockage prises à la fin du plateau à 0 °C pour chaque cycle, présentées sur les figures 4.6.a–g, montrent clairement qu’un certain nombre de gouttes recristallisent à chaque cycle de température. Cependant, est-ce que cette observation signifie pour autant que la nucléation est favorisée dans certaines gouttes ? Pour répondre à cette question, nous avons comparé les probabilités qu’une goutte cristallise de 0 à 7 fois aux cours des expériences présentées sur la figure 4.6, avec le cas où la cristallisation dans les gouttes est aléatoire. Lorsque la nucléation est aléatoire, la probabilité p_g qu’une goutte recristallise exactement n_c fois au cours de n cycles est donnée par la loi binomiale :

$$p_g = C_n^{n_c} p^{n_c} (1-p)^{n-n_c}, \quad (4.3)$$

où p est la probabilité qu’un cristal nucléé dans une goutte durant un cycle. Dans le cas des expériences, la probabilité p_g est déterminée à partir des images de la figure 4.6. La valeur de p est obtenue en calculant le rapport entre le nombre moyen de gouttes contenant un cristal et le nombre total de gouttes. Ce choix semble cohérent puisque le nombre de nucléations de cristaux par cycle est relativement homogène, de l’ordre de 31 ± 2 , menant à $p = 0.19 \pm 0.02$. Sur la figure 4.7, nous avons représenté p_g en fonction de n_c pour 7 cycles, à la fois dans le cas d’événements de nucléation aléatoires (équation 4.3) et dans le cas des expériences. La figure 4.7 montre sans ambiguïté que les proportions de gouttes

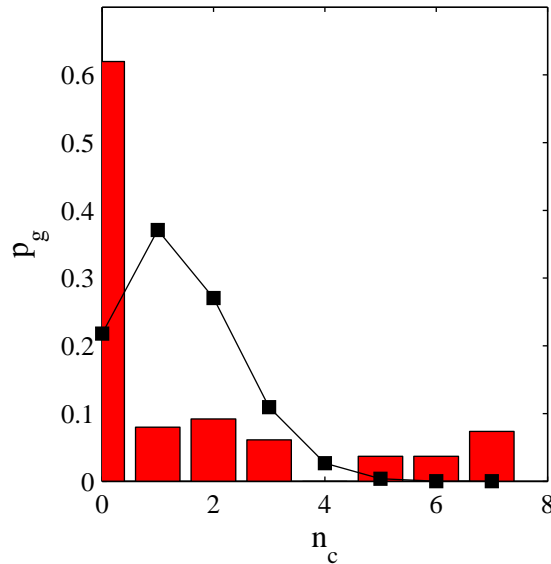


FIG. 4.7 – Probabilité p_g qu’une goutte cristallise n_c fois sur sept cycles de température. Les barres rouges correspondent aux valeurs expérimentales et les points noirs sont les valeurs théoriques de p_g dans le cas où l’apparition des cristaux est aléatoire. $p = 0.19 \pm 0.02$.

qui recristallisent 5, 6 ou 7 fois durant les expériences sont très supérieures aux valeurs qui devraient être obtenues si la nucléation était aléatoire. De façon corrélée, la quantité de gouttes qui cristallisent uniquement de 1 à 3 fois est bien faible par rapport à la prédiction théorique et la proportion de gouttes qui ne cristallisent jamais est très importante. En conclusion, la nucléation de cristaux est bien influencée dans certaines des gouttes stockées. Bien que ce phénomène soit souvent supposé lors des expériences de cristallisation en goutte [116, 128], a priori, c'est la première fois qu'il est clairement mis en évidence. La raison généralement avancée pour expliquer ce phénomène est la présence d'impuretés dans certaines des gouttes qui induisent des événements de nucléation hétérogène avec des taux de nucléation particulièrement élevés.

4.3 Discussion

4.3.1 Détermination de la limite de la zone de métastabilité

Une application directe des mesures des probabilités $P(t)$ est la possibilité d'estimer la limite de la zone de métastabilité, c'est-à-dire la limite à partir de laquelle la cinétique de nucléation passe de très lente à très rapide. Cette limite peut être obtenue en notant pour chaque concentration étudiée, pour quelles températures par exemple $1 - P < 25\%$, $25\% < 1 - P < 75\%$ et $1 - P > 75\%$, au bout d'un temps arbitraire $t = 100$ s. Ainsi, lorsque $1 - P < 25\%$ la cinétique est considérée comme lente, et lorsque $1 - P > 75\%$ elle est considérée comme rapide. La figure 4.8.a présente un exemple des points retenus dans le cas d'une série de mesures effectuées pour une concentration en KNO_3 de 50 g / 100 g. Les résultats obtenus pour un ensemble d'expériences réalisées à différentes concentrations sont représentés sur la figure 4.8.b. Cette dernière révèle deux informations importantes sur la cinétique. La première est que la zone de passage entre une cinétique lente et une cinétique rapide se fait sur un domaine de température restreint. Par exemple, à 50 g / 100 g, toute la dynamique de la cinétique observable avec le dispositif microfluidique a lieu entre 4.5 et 9 °C. Au-dessus de 9 °C la cinétique est très lente et en-dessous de 4.5 °C elle est très rapide. La seconde information est que la majorité des points sont situés entre les sursaturations $S = 5$ et $S = 8$ quelque soit la concentration. Cela signifie que toute l'évolution de la cinétique semble avoir lieu entre ces deux valeurs de S et qu'elle est légèrement influencée par la concentration. En effet, à $C = 60$ g / 100 g, la limite des 75 % est atteinte pour $S \approx 5$ alors que pour $C = 40$ g / 100 g, elle est atteinte pour $S \approx 7$. Il est important de rappeler ici que ces valeurs dépendent du volume des gouttes utilisées. Cette représentation des mesures permet donc d'avoir rapidement une idée du comportement de la cinétique de nucléation et de savoir à quelle température refroidir pour obtenir une cinétique lente ou rapide.

Notons que les données présentées ici ne peuvent pas être obtenues à partir des méthodes de mesure classiques. En effet, dans des grands volumes, l'apparition d'un premier cristal se ferait pour des sursaturations beaucoup plus faibles. Dans notre cas, chaque point de mesure correspond à une statistique sur plus de 300 événements de nucléation, et l'individualisation

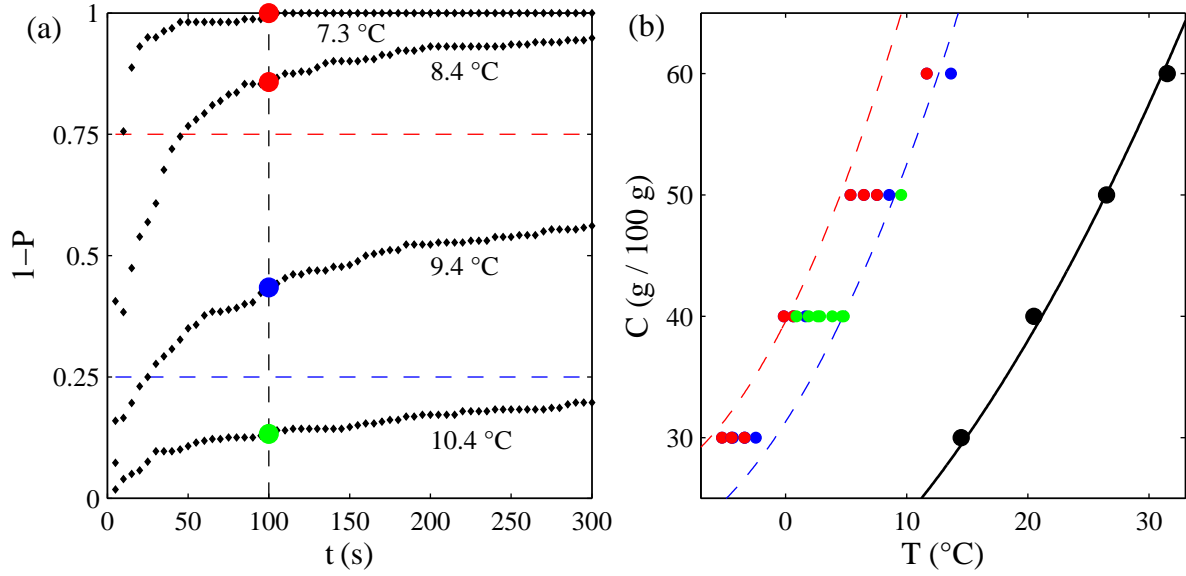


FIG. 4.8 – (a) Mesures de la proportion $1 - P$ de gouttes cristallisées en fonction du temps, pour des gouttes composées de 50 g de KNO_3 dans 100 g d'eau, et pour différentes températures de refroidissement. Les cercles déterminent les probabilités inférieures à 25 % (vert), comprises entre 25 et 75 % (bleu) et supérieures à 75 % (rouge) au temps $t = 100$ s. Ces limites sont symbolisées par les tirets bleus et rouges. (b) Températures correspondantes aux probabilités déterminées par la méthode décrite en (a) et pour différentes concentrations en KNO_3 . Les lignes en tirets bleus et rouges représentent respectivement les températures pour lesquelles $S = 5$ et $S = 8$. La courbe noire correspond à la courbe de solubilité du polymorphe III du KNO_3 .

de ces événements dans les gouttes fait que la limite de métastabilité mesurée n'est pas gouvernée par les premières impuretés qui induisent la cristallisation. Lors des mesures présentées sur la figure 4.8.b, de nombreux cristaux sont apparus pour $S < 5$ (certains même pendant la trempe), mais ils n'ont pas influencé la nucléation d'autres cristaux comme ce serait le cas dans un bécher classique.

Dans la suite de ce chapitre, nous allons tenter d'exploiter les courbes $P(t)$ pour mesurer les taux de nucléation et quantifier le rôle des impuretés.

4.3.2 Évolution des cinétiques de nucléation

Comme cela a été rappelé au début de ce chapitre, lorsque la nucléation a lieu en volume et que le taux de nucléation des cristaux J est constant, la probabilité $P(t)$ qu'une goutte ne possède pas de cristaux à l'instant t doit suivre la loi exponentielle :

$$P(t) = \exp(-JVt), \quad (4.4)$$

avec V le volume des gouttes. Ainsi en traçant $\ln P$ en fonction de t , une droite de pente $-JV$ et passant par l'origine doit être obtenue. Et si V est connu, il est alors possible de

déterminer le taux de nucléation.

En traçant les courbes $\ln P(t)$ à partir des probabilités mesurées avec le dispositif microfluidique, nous obtenons des profils similaires à ceux présentés sur la figure 4.9. Toutes

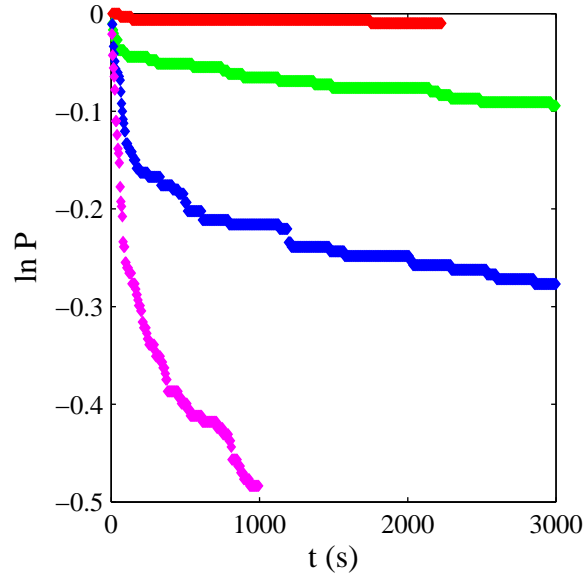


FIG. 4.9 – $\ln P$ en fonction de t pour 4 températures de refroidissement différentes : $T_p = 3.8$ (rouge), 2.8 (vert), 1.9 (bleu) et 0.9 °C (magenta), pour $C = 40$ g / 100 g.

ces courbes ont clairement un comportement non linéaire (plus d'une trentaine de mesures ont été réalisées pour des concentrations variant de 30 à 60 g / 100 g. Des expériences aux temps longs, jusqu'à 3000 s, ont été effectuées uniquement à 40 g / 100 g).

Une manière simplifiée de traiter les cinétiques de nucléation mesurées consiste à considérer une fréquence de nucléation moyenne qui varie au cours du temps. Dans ce cas, la probabilité ne suit plus la relation 4.4, mais elle peut s'exprimer de la façon suivante :

$$P(t) = \exp\left(-\int_0^t f(\tau)d\tau\right), \quad (4.5)$$

avec $f(t)$ la fréquence de nucléation moyenne dans une goutte à l'instant t , égale à la dérivée temporelle de $-\ln P$. À partir de cette hypothèse, les courbes présentées sur la figure 4.9 indiquent que la fréquence de nucléation décroît au cours du temps avec un effet particulièrement accentué dans les premiers instants.

Pour caractériser l'évolution des cinétiques de nucléation avec la sursaturation, il est possible de simplifier encore le problème en considérant que les cinétiques de nucléation sont le résultat de trois mécanismes de nucléation différents : un mécanisme rapide qui induit la nucléation entre 0 et 150 s, un mécanisme intermédiaire entre 150 et 700 s et un mécanisme lent au-delà de 700 s. La fréquence de nucléation liée à chaque mécanisme est déterminée à partir de la pente moyenne des courbes $\ln P(t)$ sur chacune des ces périodes.

Les temps limites des différentes périodes ont été choisis de façon à ce que les segments de droite correspondants soient le plus proches possible de la courbe $\ln P(t)$. Un exemple de segmentation est présenté sur la figure 4.10.a.

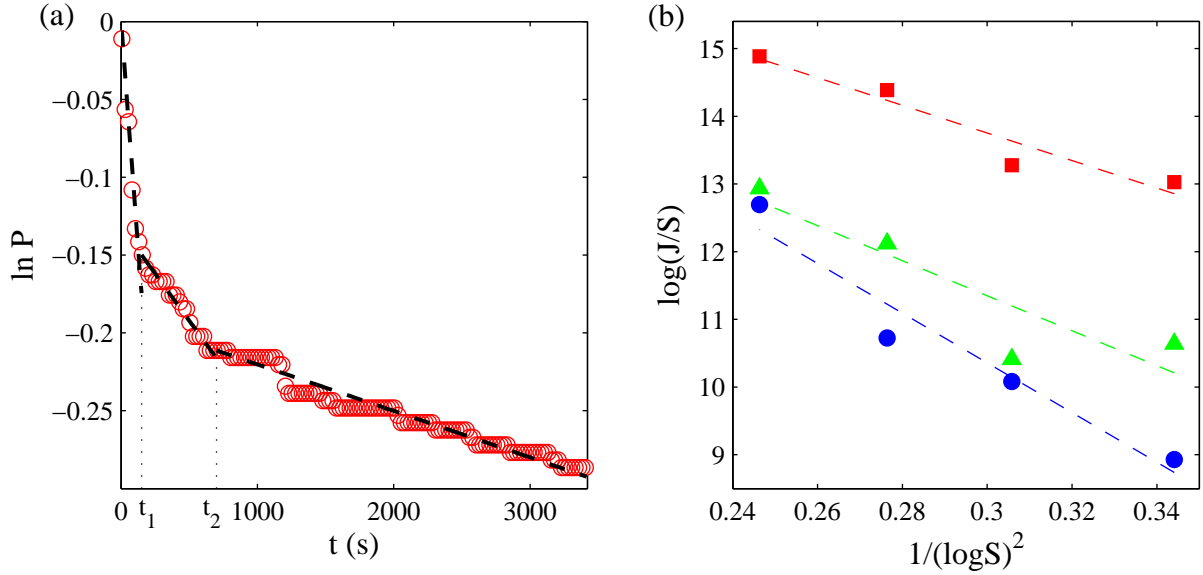


FIG. 4.10 – (a) Exemple de la segmentation en 3 parties d’une mesure de la cinétique de nucléation. La mesure correspond à une concentration $C = 40$ g / 100 g refroidie à 1.9 °C. Sur chaque période, les droites en trait plein représentent la régression linéaire des mesures. $t_1 = 150$ et $t_2 = 700$ s. (b) $\ln J/S$ en fonction $1/\ln^2 S$ obtenus à partir des mesures à $C = 40$ g / 100 g présentées sur la figure 4.9. Chaque couleur correspond à une période différente : entre 0 et 150 s (rouge), entre 150 et 700 s (vert) et au-delà de 700 s (bleu). Les droites en trait plein sont les régressions linéaires de chaque série de mesure.

Cette segmentation permet donc de déterminer trois fréquences de nucléation par mesure de la cinétique d’apparition des cristaux dans les gouttes. En supposant que la nucléation a lieu dans le volume des gouttes, un taux de nucléation J peut alors être déduit de chaque fréquence de nucléation trouvée. D’après la théorie de la nucléation, J doit être de la forme :

$$J = AS \exp\left(-\frac{B}{\ln^2 S}\right), \quad (4.6)$$

avec

$$B = \frac{16\pi\nu_0^2\sigma^3}{3(kT)^3}. \quad (4.7)$$

Ainsi, dans le but de déterminer les préfacteurs cinétiques A et les tensions de surface σ correspondant aux différents J , ce procédé a été répété pour les courbes présentées sur la figure 4.12, obtenues à partir d’une solution de concentration 40 g / 100 g et à différentes sursaturations. Cette étude permet de mesurer le taux de nucléation correspondant

à chaque période pour plusieurs sursaturations. Les évolutions de $\ln J/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$ pour les trois périodes sont tracées sur la figure 4.10.b. Les préfacteurs et les tensions de surface déduites de ces courbes sont récapitulés dans le tableau 4.1. Pour calculer les valeurs de σ , nous avons pris $\nu_0 = 8.10^{-29} \text{ m}^{-3}$, et $T = 276 \text{ K}$ constante.

période	de 0 à 150 s	de 150 à 700 s	après 700 s
$\sigma.10^3 \text{ J m}^{-2}$	22	23.5	26
$A.10^{-8} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$	4	2	20

TAB. 4.1 – Valeurs de la tension de surface σ et du préfacteur cinétique A mesurées à partir des trois régressions linéaires représentées sur la figure 4.10.

Les valeurs de σ suggèrent que la tension de surface effective des nucléi est d'autant plus petite que la cinétique de nucléation est rapide, ce qui suppose que le mécanisme de nucléation évolue progressivement au cours du temps. Il est important de préciser cependant que les différentes valeurs dans le tableau 4.1 sont fortement influencées par les bornes choisies pour chaque période. La différence entre les tensions de surface mesurées sur les deux premiers segments n'est en fait pas clairement définie. Cette étude montre en revanche sans ambiguïté que la cinétique de nucléation perçue dépend de la gamme de temps sur laquelle elle est observée. Par exemple si la cinétique est étudiée uniquement aux temps longs, elle peut être plutôt considérée comme lente alors qu'elle apparaît rapide aux temps courts.

La non linéarité de $\ln P$ a été rapportée dans de nombreuses références traitant de la cinétique de nucléation par la méthode des gouttes [51, 74, 91, 126, 128]. La raison invoquée par les différents auteurs pour expliquer ce phénomène est la présence d'impuretés dans certaines gouttes catalysant des événements de nucléation hétérogène. Cette hypothèse concorde bien avec l'étude précédente montrant que ce sont toujours les mêmes gouttes qui cristallisent en premier à la suite d'une trempe en température. De plus, le rôle des impuretés sur la variation des pentes est confirmé par la référence [74] dans laquelle Melia *et al.* rapportent qu'en purifiant les solutions par filtration, c'est-à-dire en éliminant une partie des impuretés, la non linéarité de $\ln P$ est fortement atténuée. Pound et La Mer [91] attribuent l'évolution des pentes sur des temps très longs à une distribution aléatoire dans les gouttes de « petites particules d'un corps étranger », c'est-à-dire des impuretés, susceptibles d'activer des événements de nucléation hétérogène. À partir de cette hypothèse, ils ont pu ajuster leurs données en considérant que le nombre d'impuretés dans les gouttes suivait une distribution de Poisson.

Par la suite, nous allons essayer d'expliquer les évolutions de $\ln P(t)$ et le rôle des impuretés à l'aide du modèle utilisé par Pound et La Mer. D'après les hypothèses du modèle, la cinétique de nucléation aux temps courts est dominée par la nucléation hétérogène et aux temps longs par la nucléation homogène dans les gouttes ne contenant aucune impureté. Nous verrons quelles sont les conditions pour lesquelles le modèle permet de décrire les données expérimentales et nous comparerons les paramètres obtenus à ceux prédits par la théorie classique de la nucléation.

4.3.3 Comparaison à un modèle de distribution d'impuretés

Modèle de Pound et La Mer

Pound et La Mer [91] attribuent l'évolution des pentes sur des temps très longs, comme celle des courbes représentées sur la figure 4.9, à une distribution d'impuretés dans les gouttes suivant une loi de Poisson. Une illustration d'une telle distribution est présentée sur la figure 4.11.a.

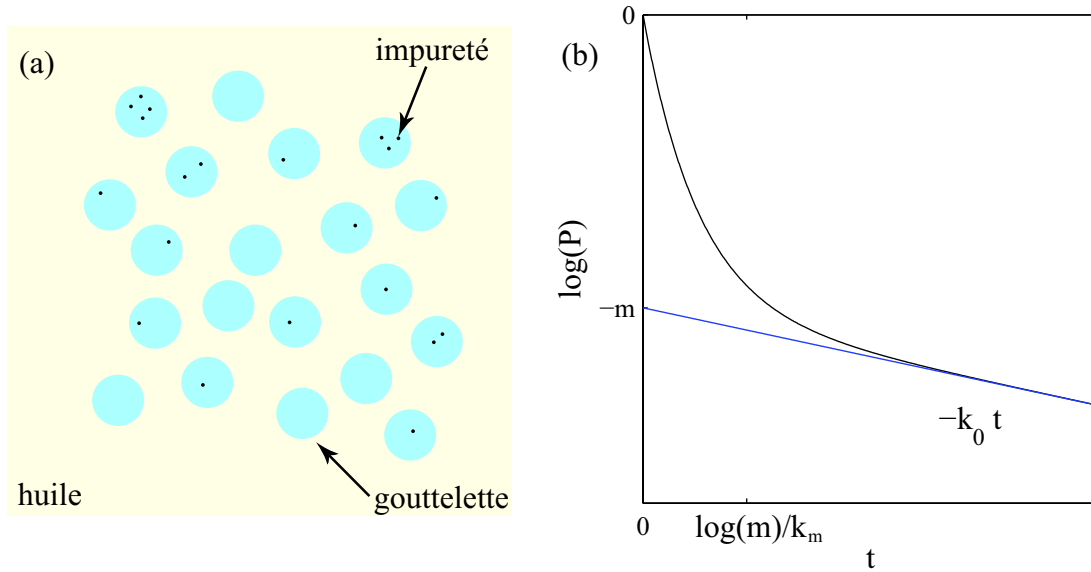


FIG. 4.11 – (a) Illustration de la distribution d'impuretés dans les gouttes utilisée dans le modèle de Pound et La Mer [91]. Certaines gouttes contiennent plusieurs impuretés, d'autres en contiennent aucune. (b) Loi $\ln P$ en fonction de t prédite par le modèle. Aux temps longs, $\ln P$ tend vers l'asymptote $-k_0 t - m$. $\ln m/k_m$ est le temps caractéristique à partir duquel la cinétique est gouvernée par k_0 .

Le modèle est le suivant : si N est le nombre de gouttes et m le nombre moyen de sites actifs (impuretés) par goutte, le nombre de gouttes N_p possédant p sites actifs est donné par :

$$N_p = N \frac{m^p e^{-m}}{p!}, \quad (4.8)$$

et le nombre de gouttes sans impuretés par :

$$N_0 = N e^{-m}. \quad (4.9)$$

Par ailleurs, si k_0 est la fréquence de nucléation homogène et k_m le taux de nucléation sur un site actif, la probabilité P qu'une goutte ne contienne pas de cristaux au temps t

s'écrit :

$$P(t) = e^{-m} e^{-k_0 t} + \sum_{p=1}^{\infty} \frac{m^p e^{-m}}{p!} e^{-pk_m t}. \quad (4.10)$$

Les termes $\exp(-k_0 t)$ et $\exp(-pk_m t)$ sont respectivement les probabilités qu'une goutte sans site actif et possédant p sites actifs ne contienne pas de cristaux au temps t . Cela suppose que k_m est une moyenne de la fréquence de nucléation des impuretés et que ces dernières agissent de façon indépendante. L'équation 4.10 peut également s'écrire :

$$P(t) = e^{-m}(e^{-k_0 t} - 1) + e^{-m} \exp(me^{-k_m t}). \quad (4.11)$$

Le comportement typique de $\ln P$ en fonction du temps, déterminé à partir de l'équation 4.11, est représenté sur la figure 4.11.b. La courbe est bien non linéaire et la valeur absolue de la pente décroît progressivement au fur et à mesure que t augmente. Lorsque t tend vers l'infini, $\ln P$ tend vers l'asymptote $\ln P = -k_0 t - m$. La pente aux temps longs correspond donc à la fréquence de nucléation homogène.

La figure 4.12 présente les courbes théoriques prédites par l'équation 4.11 pour des valeurs de m , k_0 et k_m optimisées de façon à ce que les courbes coïncident au mieux avec les données expérimentales. Comme le montre la figure 4.12, il apparaît que le modèle permet de bien reproduire les courbes expérimentales en choisissant les valeurs des paramètres listées dans le tableau 4.2.

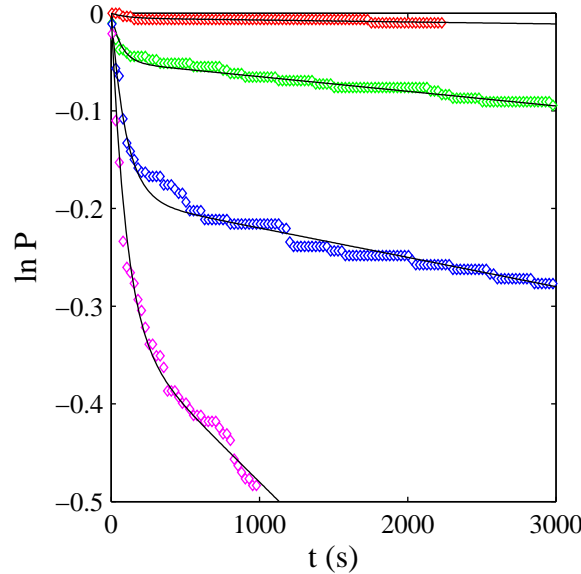


FIG. 4.12 – Séries de mesures identiques à celles présentées sur la figure 4.9. Les courbes en trait plein correspondent aux courbes prédites par le modèle de Pound et La Mer après optimisation des paramètres.

Le paramètre m varie de $5 \cdot 10^{-3}$ à 0.33 correspondant à une augmentation de 1.5 à 100 du nombre total de sites actifs présents dans 300 gouttes stockées. Le nombre de gouttes

	rouge	vert	bleu	rose
S	5.5	6.1	6.7	7.5
m	0.005	0.05	0.19	0.33
k_m (s ⁻¹)	0.01	0.015	0.01	0.01
$k_0 \cdot 10^{-3}$ (s ⁻¹)	0.002	0.015	0.03	0.15

TAB. 4.2 – Valeurs des paramètres utilisés dans la relation 4.11 pour faire correspondre le modèle aux données expérimentales.

sans site actif varie quant à lui de 298 à 222. Étonnamment, le taux de nucléation des sites actifs reste à peu près constant avec la sursaturation. Nous essaierons d'expliquer cela ultérieurement. Le fait que la fréquence de nucléation homogène k_0 augmente avec la sursaturation semble cohérent avec la théorie classique de la nucléation.

Cinétique aux temps longs

D'après l'expression théorique du taux de nucléation, k_0 doit pouvoir s'écrire :

$$k_0 = AVS \exp\left(\frac{-B}{\ln^2 S}\right), \quad (4.12)$$

avec V le volume des gouttes et

$$B = \frac{16\pi\nu_0^2\sigma^3}{3(kT)^3}. \quad (4.13)$$

Ainsi, connaissant l'évolution de k_0 en fonction de S , il est possible de déterminer la tension de surface σ et le préfacteur A . Pour cela, sur la figure 4.13, nous avons tracé $\ln(k_0/SV)$ en fonction $1/\ln^2 S$. Le préfacteur cinétique $A^{\text{exp}} \approx 10^9 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ est obtenu à partir de l'ordonnée à l'origine de la régression linéaire des données expérimentales, et la pente B de cette dernière donne accès à la tension de surface $\sigma = 26 \text{ mJ m}^{-2}$. Pour déterminer σ , nous avons pris $\nu_0 = 8 \cdot 10^{-29} \text{ m}^{-3}$, et $T = 276 \text{ K}$ constante. Nous négligeons les variations de la température qui sont de l'ordre de 1% sur toute la gamme étudiée.

La valeur du préfacteur mesuré (A^{exp}) est très faible par rapport à celle du préfacteur théorique $A^{\text{théo}}$ attendu pour la nucléation homogène, qui doit être compris entre 10^{26} et $10^{30} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$. Le taux de nucléation étant proportionnel à la concentration en sites de nucléation en solution, une telle différence suggère que k_0 doit correspondre à une fréquence de nucléation hétérogène et non homogène. Ainsi, d'après la théorie classique de la nucléation, nous trouvons que contrairement aux hypothèses du modèle, la nucléation aux temps longs est toujours hétérogène. A priori, nous n'observons donc jamais de nucléation homogène. Suivant la théorie, nous avons vu dans le chapitre 1 que le préfacteur cinétique peut s'écrire :

$$A \approx c_n Z f^*, \quad (4.14)$$

avec c_n les concentrations en sites de nucléation, Z le facteur de Zeldovich et f^* la fréquence d'attachement des molécules sur le nucléus. Dans le cas de la nucléation homogène, c_n est

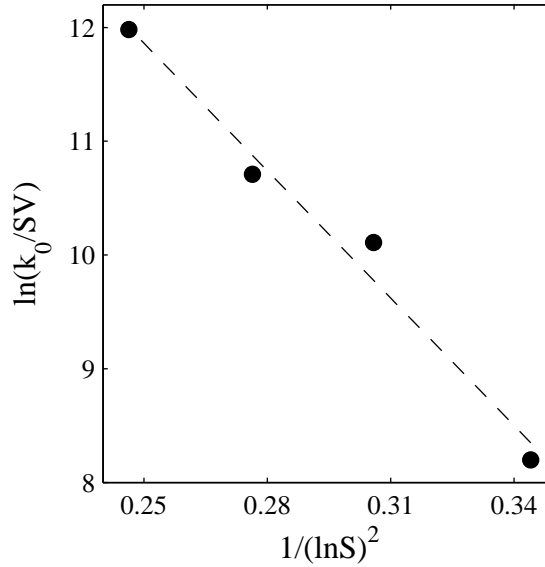


FIG. 4.13 – $\ln(k_0/SV)$ en fonction de $1/\ln^2 S$ à partir des valeurs de k_0 et S présentées dans le tableau 4.2. La droite en tirets est la régression linéaire des données.

égale à la concentration C_0 en molécules dans la solution, et dans le cas hétérogène, c_n peut être assimilée à la concentration en impuretés C_i . A priori Z et f^* varient peu (à des facteurs géométriques près) entre les mécanismes homogène et hétérogène. Ainsi, nous devons pouvoir écrire :

$$\frac{A^{\text{théo}}}{A^{\text{exp}}} = \alpha \frac{C_0}{C_i}, \quad (4.15)$$

avec α est un facteur de l'ordre de 1 [54], ce qui permet de déduire la concentration en impuretés dans le cas d'une expérience :

$$C_i \approx C_0 \frac{A^{\text{exp}}}{A^{\text{théo}}}. \quad (4.16)$$

Avec $A^{\text{théo}} = 10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, $C_0 = 10^{28} \text{ m}^{-3}$ et $A^{\text{exp}} = 10^9 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, nous trouvons $C_i = 10^{11} \text{ m}^{-3}$, soit 10 impuretés par goutte de 100 nL, ce qui peut paraître raisonnable. En revanche, pour $A^{\text{théo}} = 10^{30} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, nous avons $C_i = 10^7 \text{ m}^{-3}$, correspondant à 1 impureté pour 1000 gouttes. Cette deuxième valeur est incohérente avec les expériences puisqu'une telle concentration signifierait que statistiquement sur 300 gouttes, il devrait y avoir au maximum un événement de nucléation aux temps longs dû à ces impuretés alors que nous en observons plusieurs. Le modèle ne peut donc être cohérent avec la théorie que si le préfacteur $A^{\text{théo}}$ est inférieur à $10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$. Bien que cette valeur puisse paraître faible, il est important de rappeler ici que les valeurs théoriques A^{exp} (supérieures à $10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$) ont uniquement été vérifiées dans le cas de la condensation de vapeur [124], de la solidification [117], et de la précipitation (sursaturations très élevées) [83], mais jamais à notre connaissance dans le cas de la cristallisation en solution (sursaturations faibles).

Par ailleurs, il existe aujourd'hui des doutes sur la validité de la théorie dans ce dernier cas (cf. chapitre 1 page 20). Il semblerait en effet que les hypothèses soient trop simplificatrices puisque la théorie ne prend pas en compte des phénomènes tels que la désolvation du soluté ou l'organisation moléculaire lors de la formation d'un cristal. En résumé, il est probable que la valeur du préfacteur dans le cas homogène soit en réalité plus faible que celle attendue par la théorie ($\ll 10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$). Dans ce cas, nous pouvons considérer que le taux de nucléation aux temps longs déduit du modèle est bien lié à un mécanisme hétérogène, car le nombre d'impuretés serait alors important.

Distribution des impuretés

Le nombre moyen d'impuretés par goutte m déterminé à partir du modèle suppose que le nombre total d'impuretés mis en jeu est relativement faible et que toutes les gouttes ne possèdent pas d'impuretés très actives. En fait, une telle distribution en impuretés très actives est imposée par la non linéarité des courbes $\ln P$. En effet, si chaque goutte contenait un grand nombre d'impuretés actives, les gouttes seraient globalement toutes semblables et finalement la fréquence de nucléation devrait être constante. Pour expliquer l'évolution de la cinétique, il faut qu'il existe forcément une grande dispersion de la quantité d'impuretés dans les gouttes.

L'augmentation de m avec la sursaturation signifie qu'il existe également une distribution de l'activité des impuretés. Aux faibles sursaturations, seules les impuretés les plus actives induisent la nucléation et au fur et à mesure que la sursaturation augmente, de plus en plus d'impuretés deviennent fortement actives. Aussi, à une sursaturation donnée, les impuretés les plus actives induisent la nucléation aux temps courts et les moins actives aux temps longs.

Activité moyenne des impuretés

Le fait que k_m varie très peu avec la sursaturation signifie que les taux de nucléation k_i des différents sites actifs doivent rester constants. D'après la théorie classique de la nucléation, le taux de nucléation sur un site actif est de la forme $k_i = aS \exp(-B/\ln^2 S)$, où a est le préfacteur traduisant la fréquence d'attachement des molécules sur le germe cristallin. Il est indépendant de la concentration en sites de nucléation. Ainsi, a priori, a ne dépend pas, ou très peu (à cause des facteurs géométriques), de la nature de l'impureté. Tous les k_i des différentes impuretés tendent donc vers la même asymptote aS . Pour que k_m varie peu avec S , les k_i doivent passer rapidement d'une valeur extrêmement faible (pas de nucléation) à une valeur proche de l'asymptote, sur une petite variation de S . Ce comportement peut être vérifié si B est petit devant $\ln^2 S$, c'est-à-dire si les tensions de surface nucléus / site de nucléation sont faibles.

En conclusion, le modèle de Pound et La Mer et la comparaison des résultats avec la théorie classique de la nucléation permettent d'expliquer en partie les cinétiques de nucléation observées expérimentalement et le rôle des impuretés. Ils suggèrent qu'il existe une distribution de la quantité et de l'activité des impuretés dans les gouttes. Pour que la

fréquence de nucléation dépende du temps, il faut que la dispersion du nombre d'impuretés par goutte soit très importante. Dans les premiers instants la cinétique de nucléation est gouvernée par les impuretés les plus actives et les plus nombreuses, et aux temps plus longs, contrairement aux hypothèses du modèle, la nucléation reste a priori hétérogène et l'activité des impuretés intervenant dans ce processus est plus faible. Un modèle de la cinétique de nucléation prenant en compte les distributions des impuretés dans les gouttes et de leurs activités est cependant difficile à réaliser précisément puisque ces distributions sont inconnues et peuvent être très complexes.

4.3.4 Rôle de la phase continue

Une question importante liée à la méthode des gouttes concerne le rôle de l'huile sur la cinétique de nucléation. Peut-elle induire des événements de nucléation ? En 1952, Turnbull [116] a montré que dans certaines conditions expérimentales, la cinétique de solidification de gouttelettes de mercure dépendait de la surface des gouttes et non de leur volume. Pour que la phase continue puisse induire la nucléation de cristaux, il faut que la formation d'un nucléus à l'interface de la goutte soit énergétiquement favorable au système. Un calcul de bilan d'énergie permet de montrer que lorsqu'un des deux liquides ne mouille absolument pas le corps étranger, la position de ce dernier à l'interface entre deux liquides non miscibles est thermodynamiquement défavorable. Par conséquent, si le nucléus n'est pas mouillé par l'huile, cette dernière ne devrait pas favoriser la nucléation. Dans le cas de cristaux de nitrate de potassium, un test simple permet de montrer qu'ils ne sont pas du tout mouillés par l'huile silicone. En effet, si des cristaux sont ajoutés dans un vial contenant de l'eau et de l'huile silicone, aucun cristal ne reste à l'interface, ils sédimentent tous au fond du vial dans la phase aqueuse. Si l'huile mouillait les cristaux, certains resteraient à l'interface. Dans le cas d'une huile fluorée, cela est plus difficile à voir puisqu'elle est plus dense que l'eau et que les cristaux de KNO_3 sédimentent jusqu'à l'interface eau / huile dans un vial. Cependant, il semble tout de même que les cristaux ne pénètrent pas du tout dans l'huile, ce qui signifie que cette dernière ne mouille pas non plus le nitrate de potassium. Suivant ces résultats, il ne devrait donc pas y avoir d'effet de la phase continue sur la cinétique de nucléation du nitrate de potassium.

Deux séries de mesures de cinétique ont toutefois été réalisées avec le dispositif, l'une avec de l'huile silicone, l'autre avec de l'huile fluorée comme phase continue. Dans chaque série, les mesures sont effectuées à trois températures différentes : 0.9, 1.8 et 2.8 °C, et pour une concentration en KNO_3 de 40 g / 100 g. Le volume des gouttes de solution est de 100 nL dans l'huile silicone et de 30 nL dans l'huile fluorée. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 4.14.a. Les courbes montrent que pour chaque température, l'augmentation de la cinétique de nucléation est plus rapide dans le cas où l'huile fluorée est la phase continue. Et cela, bien que le volume des gouttes dans l'huile fluorée soit trois fois plus petit (30 nL). Ainsi, malgré l'absence de mouillage des cristaux par les deux huiles, la nature de ces dernières influence fortement la cinétique de nucléation. La non linéarité des courbes présentées sur la figure 4.14.b indique que la fréquence de nucléation n'est pas constante dans le temps et par conséquent que la nucléation est induite par la présence d'impuretés

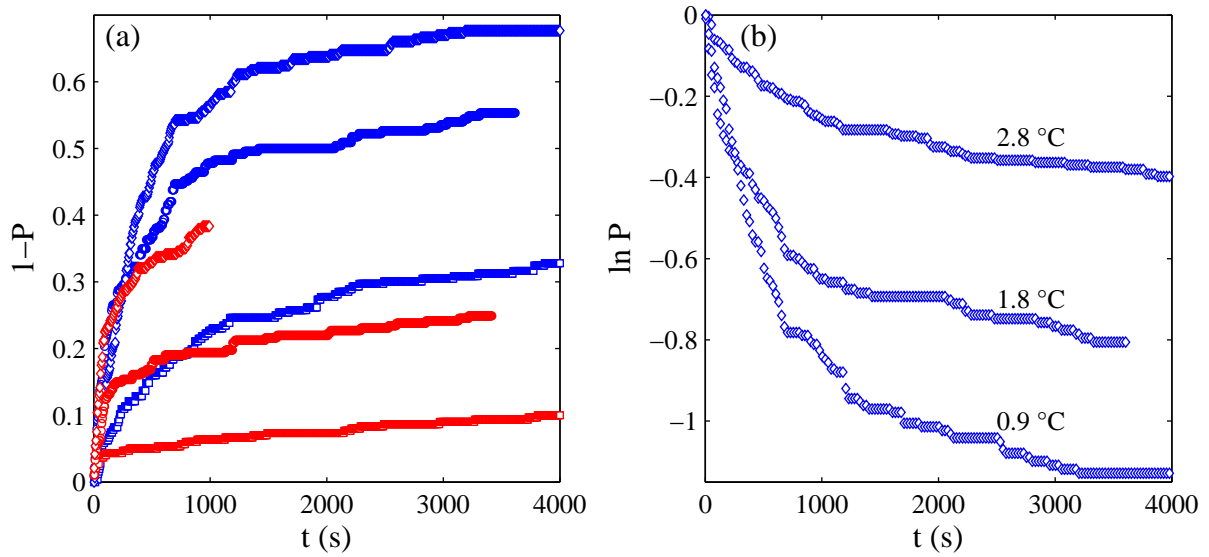


FIG. 4.14 – (a) Mesures réalisées avec le dispositif microfluidique de la probabilité $1 - P$ en fonction du temps pour deux phases continues différentes. Courbes rouges : gouttes de la solution dans l’huile silicone. Courbes bleues : gouttes dans l’huile fluorée. Chaque série de mesure est effectuée à trois températures différentes : 0.9, 1.8 et 2.8 °C. Plus la température est basse, plus la cinétique de nucléation est rapide. (b) $\ln P$ en fonction du temps correspondant aux séries de mesures réalisées avec l’huile fluorée présentées en (a) ($C = 40$ g / 100 g).

autres que la phase continue. En effet, si l’huile provoquait la nucléation, chaque goutte serait identique et donc le taux de nucléation devrait rester constant. Les fortes variations de la cinétique entre les expériences avec l’huile silicone et celle avec l’huile fluorée peut cependant s’expliquer par la présence d’impuretés de natures très différentes dans les huiles qui ont tendance à se positionner sur la surface des gouttes. Si leurs activités vis-à-vis de la nucléation ne sont pas les mêmes, les cinétiques de nucléation induites peuvent être très différentes.

Pour comparer l’influence des impuretés sur la cinétique d’apparition des cristaux dans le cas de l’huile silicone et de l’huile fluorée, nous avons également appliqué le modèle de Pound et La Mer aux mesures de P lorsque l’huile fluorée compose la phase continue. Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 4.15 et le tableau 4.3. Encore une fois, le nombre moyen de sites de nucléation augmente avec la sursaturation et k varie peu. Il s’avère toutefois que m est beaucoup plus grand dans le cas de l’huile fluorée. Il y a donc en moyenne plus d’impuretés très actives par goutte. Le fait que les valeurs de k_0 soient peu différentes de celles du tableau 4.2 confirme tout d’abord que k_0 ne peut pas être la fréquence de nucléation homogène dans une goutte. En effet, supposons encore que la fréquence de nucléation est proportionnelle au volume des gouttes V . Nous pouvons alors écrire $k_0 = J_0 V$ avec J_0 le taux de nucléation. Si la nucléation était homogène, comme J_0 doit rester constant pour une température et une sursaturation donnée, et que le volume

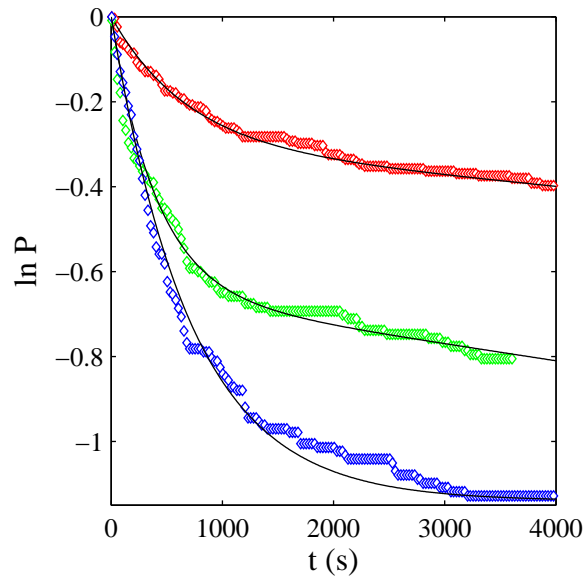


FIG. 4.15 – Séries de mesures identiques à celles présentées sur la figure 4.14. Les courbes en trait plein correspondent aux courbes prédites par le modèle de Pound et La Mer après optimisation des paramètres.

	rouge	vert	bleu
S	6.1	6.7	7.5
m	0.3	0.65	0.96
k (s^{-1})	0.0015	0.0025	0.002
$k_0 \cdot 10^{-3}$ (s^{-1})	0.025	0.04	0.06

TAB. 4.3 – Valeurs des paramètres utilisés dans la relation 4.11 pour faire correspondre le modèle aux données expérimentales.

des gouttes dans l'huile fluorée est environ trois fois plus petit que celui des gouttes dans l'huile silicone, les valeurs de k_0 devraient être 3 fois plus faibles dans le cas de l'huile fluorée. Notons que si la nucléation avait lieu à la surface des gouttes, k_0 devrait être plus de 2 fois plus faible dans le cas de l'huile fluorée.

En traçant la courbe $\ln(k_0/SV)$ en fonction de $1/\ln^2 S$ et en appliquant la théorie de la nucléation, nous trouvons un préfacteur cinétique $A^{\text{exp}} = 10^6 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ et une tension de surface $\sigma = 18 \text{ mJ m}^{-2}$. Le fait que cette dernière soit beaucoup plus faible que la tension de surface obtenue dans le cas de l'huile silicone suggère que les impuretés dans l'huile fluorée sont donc beaucoup plus actives. D'après la relation 4.16, la valeur du préfacteur A^{exp} conduit à une concentration en impuretés correspondant au maximum à $C_i = 10^8 \text{ m}^{-3}$, c'est-à-dire moins de une impureté pour cent gouttes de 30 nL.

En résumé, cette étude suppose que dans le cas de l'huile fluorée, il y a plus d'impuretés

très actives qui induisent la nucléation dans les premiers instants des expériences, et une plus petite quantité d'impuretés activant la nucléation aux temps longs mais qui réduisent plus fortement la tension de surface des nucléi.

4.4 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre, un nouvel outil microfluidique développé pour mesurer rapidement des cinétiques de nucléation en solution. Le principe du système consiste à utiliser les avantages de la microfluidique pour rendre la méthode des gouttes facile et rapide à réaliser. Ces avantages concernent la possibilité de générer des gouttes extrêmement monodisperses, le contrôle précis et rapide des températures et l'observation directe des événements de cristallisation. Nous avons montré que le dispositif permet d'observer simultanément l'apparition de cristaux dans plus de 300 gouttes identiques auxquelles peuvent être appliquées des variations de températures atteignant $0.5 \text{ }^\circ\text{C s}^{-1}$. Les études de l'apparition des cristaux dans les gouttes, effectuées dans le cas de solution de nitrate de potassium dans l'eau à différentes concentrations, nous ont permis de caractériser la cinétique et le mécanisme de nucléation à l'intérieur des gouttes. Ainsi, tout d'abord, nous avons pu montrer qu'en peu de temps, le dispositif donne accès à la limite de métastabilité d'une solution. Cette limite permet de connaître le domaine de sursaturation où la cinétique devient rapide. Par ailleurs, à partir d'une expérience de reproductibilité originale, nous avons pu clairement mettre en évidence la présence d'impuretés dans certaines gouttes qui induisent une nucléation rapide des cristaux. Le rôle majeur joué par les impuretés a été confirmé par les études de la cinétique d'apparition de cristaux. En effet, la comparaison entre les résultats obtenus et la théorie classique de la nucléation semble indiquer que la nucléation observée est toujours hétérogène et qu'il existe une distribution d'impuretés, d'activités variées vis-à-vis de la nucléation, dans l'ensemble des gouttes stockées. L'influence de la phase continue sur la cinétique de nucléation a également été abordée. Bien qu'a priori l'huile silicone et l'huile fluorée ne devraient pas agir sur l'apparition des cristaux, les résultats montrent un écart important entre les cinétiques mesurées dans les deux huiles. Nous supposons que cet écart est dû à la présence d'impuretés de différentes natures apportées par les huiles. Cependant, pour confirmer cette hypothèse, des mesures supplémentaires devraient être effectuées avec les mêmes huiles mais filtrées.

Le domaine de sursaturations accessibles avec le dispositif microfluidique présenté dans ce chapitre est limité par le fait que lorsque la cinétique de nucléation devient trop rapide, des cristaux apparaissent dans toutes les gouttes avant même que la température du plateau ait été atteinte. Pour étudier les cinétiques à des sursaturations élevées une première solution consiste à augmenter le temps moyen de nucléation en réduisant la taille des gouttes. Cela est difficile à réaliser avec des dispositifs en PDMS puisque plus les canaux sont petits, plus il est difficile de stopper les gouttes. Une deuxième solution est d'imposer des trempes en température beaucoup plus rapides, de façon à atteindre la température d'étude avant la nucléation des cristaux. Dans le chapitre suivant, nous allons présenter un autre système microfluidique, également développé pour étudier les cinétiques de nucléation en solution,

mais qui permet d'imposer des trempes en température extrêmement rapides. Nous verrons que ce dispositif permet aussi d'étudier l'influence de l'agitation hydrodynamique sur les cinétiques de nucléation.

Chapitre 5

Étude de cinétique de nucléation rapide

Dans ce chapitre, nous présentons un deuxième dispositif microfluidique mis au point pour étudier les cinétiques de nucléation en solution. Comme pour le système présenté dans le chapitre précédent, le principe de la mesure est basé sur la méthode des gouttes. Cependant, à la différence des autres dispositifs présentés dans ce manuscrit, les gouttes ne sont pas stockées dans les canaux, elles s'écoulent en continu. Nous verrons que cette particularité permet d'atteindre des vitesses de trempe très rapides avec un mélange permanent à l'intérieur des gouttes. Après une description détaillée du principe et des caractéristiques expérimentales du système, nous présenterons les mesures de cinétiques de nucléation effectuées à partir d'une solution de nitrate de potassium dans l'eau. Ces mesures seront discutées puis comparées aux résultats obtenus avec le dispositif précédent. Une partie de ces résultats ont été publiés dans la référence [67].

5.1 Le dispositif microfluidique

5.1.1 Principe

Le système microfluidique permet de produire sans tensioactifs, des gouttes monodisperses d'une solution donnée, d'appliquer des variations rapides de la température pour atteindre des sursaturations élevées, et de mesurer directement et en continu la proportion de gouttes qui contiennent des cristaux. Plus précisément, dans la puce, des gouttes de la solution à étudier sont générées en continu dans de l'huile et convectées le long d'un microcanal. Lors de l'écoulement, les gouttes sont rapidement refroidies, typiquement en une dizaine de secondes, jusqu'à une température inférieure à la température de solubilité de la solution de façon à ce que des cristaux puissent nucléer. Le long du microcanal, le temps d'écoulement t des gouttes est relié à la distance d qu'elles parcourent dans le canal par la relation $t = d/U$, avec U la vitesse des gouttes. Cette équivalence entre temps et espace, abordée dans le chapitre 1, page 39, rend possible l'étude de la cinétique d'un processus en effectuant des mesures stationnaires le long de l'écoulement. Pour déterminer la cinétique de nucléation de cristaux, il suffit ainsi de mesurer à différentes positions le long

du canal, la probabilité P qu'une goutte ne possède pas de cristaux, et cela en réalisant une statistique sur un grand nombre de gouttes pour atteindre une bonne précision. Rappelons que la mesure de $P(t)$ permet de déterminer le taux de nucléation des cristaux et, en se basant sur la théorie classique de la nucléation, de remonter à la tension de surface σ entre un nucléus et la solution.

5.1.2 Dispositif expérimental

Microfabrication

La puce microfluidique, comme toutes celles présentées dans ce manuscrit, est fabriquée en PDMS à partir des techniques de lithographie molle. Les canaux font également $500\ \mu\text{m}$ de hauteur et de largeur. Cependant, contrairement aux autres dispositifs, la couche de PDMS n'est pas directement collée sur un support en silicium, mais sur une fine couche de PDMS, d'environ $50\ \mu\text{m}$ d'épaisseur, préalablement déposée sur celui-ci. Cette couche a pour but d'éviter l'adhésion des cristaux sur le support. Pour réaliser un tel collage, un mélange constitué de 1 g d'agent réticulant pour 5 g de PDMS, est coulé sur le moule des canaux puis chauffé à $65\ ^\circ\text{C}$ pendant 25 min. En même temps, un mélange de 1 g d'agent réticulant pour 20 g de PDMS est déposé sur un support en silicium par spin-coating, puis cuit à $65\ ^\circ\text{C}$ pendant 40 min. La matrice de PDMS est ensuite démoulée, les trous pour les entrées sont percés, puis elle est exposée avec le support recouvert de PDMS à une irradiation UV pendant 2 min dans un appareil à UV-ozone (UVO Cleaner, Jelight). Les deux parties sont finalement collées ensemble et placée à $65\ ^\circ\text{C}$ pendant une journée au minimum.

Injection des liquides et formation des gouttes

Le schéma du dispositif est présenté sur la figure 5.1. Il est constitué de trois entrées, d'un long canal en forme de serpent et d'une sortie. Dans les entrées 1 et 3, de l'huile silicone visqueuse (Rhodorsil 500 cSt) est injectée à débit constant compris entre 1 et $4\ \text{mL h}^{-1}$. La solution aqueuse utilisée pour l'étude est injectée dans l'entrée 2 à un débit Q d'environ $500\ \mu\text{L h}^{-1}$. La solution, préparée au préalable, est composée de 83.6 g de KNO_3 dans 100 g d'eau déminéralisée. La température de solubilité de la solution pour la forme stable de KNO_3 est de $50\ ^\circ\text{C}$. Nous ne connaissons pas la température limite de solubilité du polymorphe métastable III à cette concentration. Comme le montre l'insert du haut sur la figure 5.1, les gouttes se forment à l'intersection des écoulements des deux phases liquides. Le volume des gouttes est contrôlé à partir du rapport des débits d'huile, injectée dans l'entrée 1, et de la solution. Il est déduit de la relation $V = Q/f$, où f est la fréquence de formation des gouttes mesurée manuellement. f est typiquement de l'ordre de 0.3 goutte par seconde. Avec la géométrie des canaux utilisés, le volume des gouttes produites peut être varié de 70 à 200 nL. Au-delà de 200 nL, le transport des cristaux apparus dans les gouttes devient difficile, il y a risque de bouchage du canal en particulier au niveau des virages.

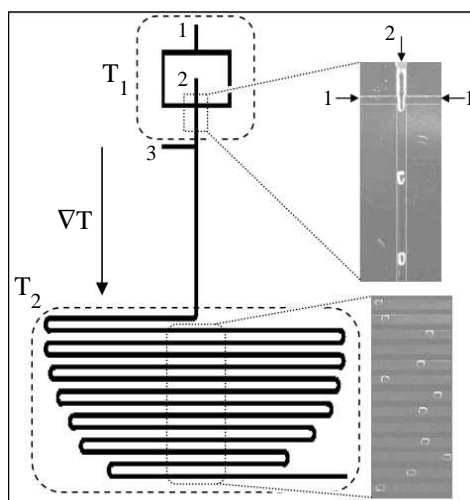


FIG. 5.1 – Schéma du dispositif microfluidique. De l’huile silicone est injectée dans les entrées 1 et 3 et la solution est injectée dans l’entrée 2. L’insert en haut à droite est une photo de zone de formation des gouttes de la solution. Le contour en tirets au niveau de la zone d’injection délimite l’emplacement de la résistance chauffante utilisée pour maintenir cette dernière à la température T_1 . Le contour également en tirets entourant la partie en serpentin indique la zone refroidie à la température T_2 . ∇T indique le gradient de température entre les deux parties thermostatées. L’insert en bas à droite est une photo de la zone d’observation du serpentin.

Une étude de la monodispersité des gouttes a été réalisée en mesurant le temps t_d séparant deux gouttes successives. Pour mesurer t_d , un film d’une centaine de gouttes est pris juste après la zone de formation. Le traitement et l’analyse des images successives du film permet de mesurer à la fois la vitesse des gouttes et le temps t_d entre chaque goutte. Comme $Q = V/t_d$, et que le débit Q est considéré constant, les variations du volume V sont directement reliées aux variations de t_d . Les résultats de cette étude montrent que les fluctuations du volume des gouttes sont de l’ordre de quelques pourcents.

Lorsque les débits sont modifiés pour changer le volume des gouttes, il se peut que le débit total de liquide et donc la vitesse des gouttes, changent également. Afin de maintenir une vitesse constante, de l’huile silicone est injectée dans l’entrée 3 pour compenser les variations du débit total.

Observation

Pour étudier les cinétiques d’apparition des cristaux, la zone entourée en pointillés sur la figure 5.1 est observée à l’aide d’un microscope binoculaire (Olympus) et d’une caméra CCD (Hamamatsu). Une image type de cette zone, prise pendant que des gouttes circulent dans le canal, est présentée sur la figure 5.2. Chaque section de canal observée correspond à un temps d’écoulement différent. La forme du canal, en serpentin, permet ainsi de visualiser simultanément, sur une même image, une large gamme de temps, de 10 à 150 s.

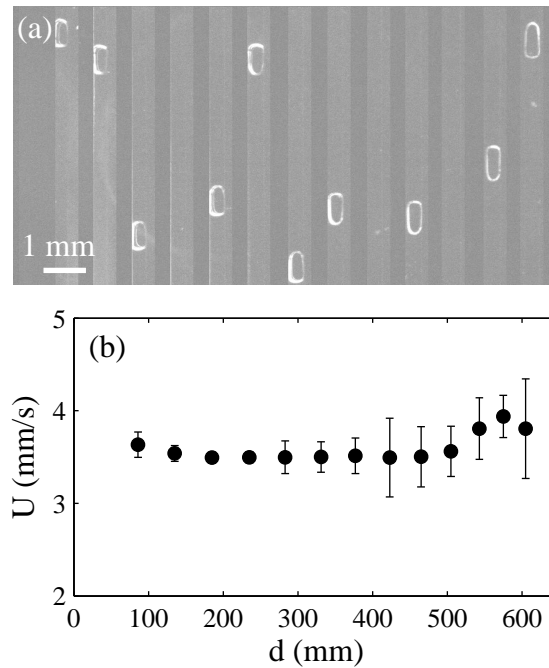


FIG. 5.2 – (a) Image typique de la zone d’observation du canal en forme de serpentin. Chaque section de canal correspond à un temps d’écoulement différent. Les temps les plus courts sont à gauche, les plus longs à droite. (b) Profil de vitesse des gouttes mesuré au niveau des différentes sections du canal. Chaque mesure correspond à une moyenne sur environ 30 gouttes. Les barres d’erreur correspondent à la déviation standard des mesures.

Pour avoir une estimation précise du temps d’écoulement des gouttes le long du canal, leur profil de vitesse dans le canal doit être mesuré à chaque fois que le débit total est modifié. Pour cela, nous réalisons un film de la zone d’observation pendant le temps nécessaire au passage d’environ 30 gouttes au niveau de chaque section du canal. Une analyse d’images, basée sur la recherche du maximum de corrélation entre deux images successives du film, permet de mesurer automatiquement la vitesse de chaque goutte. La vitesse moyenne U est ensuite calculée pour les différentes positions du canal, c’est-à-dire pour différents temps d’écoulement. Un exemple de profil de vitesse mesuré est reporté sur la figure 5.2.b. Les variations, inférieures à 10 %, sont attribuées à une légère non uniformité de la hauteur du canal.

Lorsque la partie du canal en serpentin est refroidie en-dessous de la température de solubilité de la solution, des cristaux apparaissent dans les gouttes. Pour mesurer la proportion de gouttes qui contiennent des cristaux en fonction du temps, un deuxième film de la zone d’observation est pris durant le passage d’environ 150 gouttes. Comme les cristaux de KNO_3 sont biréfringents, le film est réalisé sous polariseur / analyseur croisés pour faciliter la détection des cristaux dans les gouttes. Une image typique du film, présentée sur la figure 5.3, montre que dans cette configuration, seuls les cristaux sont visibles. Le

nombre N de gouttes qui passent dans les différentes sections pendant le film est déterminé à partir de la fréquence de formation des gouttes f et de la durée du film t_m par la relation $N = ft_m$. Une analyse par traitement d'images permet de compter automatiquement le

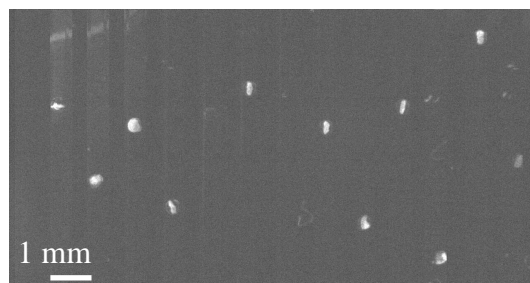


FIG. 5.3 – Image de la zone d'observation prise sous polariseur / analyseur croisés. Les objets biréfringents tels que les cristaux de KNO_3 ressortent sous forme de points lumineux.

nombre N_c de cristaux qui sont passés à travers chaque section du canal pendant t_m . À la suite de cette analyse, la probabilité P qu'une goutte ne possède pas de cristaux au niveau de chaque section observée est déterminée par $P = 1 - N_c/N$. Comme pour les mesures de P dans le chapitre précédent, l'erreur sur la probabilité est donnée par la déviation standard de la distribution binomiale de P dans le cas d'événements indépendants.

Il est important de noter que la présence d'un cristal dans une goutte ralentit légèrement sa vitesse d'écoulement, et que cet effet est d'autant plus marqué que le cristal est gros. Les gouttes vides ont donc tendance à rattraper les gouttes contenant un cristal ce qui se traduit par des phénomènes de coalescence. Dès qu'il y a coalescence entre deux gouttes, la relation $N = ft_m$ n'est plus valide pour les positions situées en aval du canal et par conséquent, la probabilité P ne peut plus être calculée. Toutefois, les événements de coalescence engendrant la formation de cristaux singulièrement longs, sont faciles à détecter. Ainsi, dès que la coalescence entre deux gouttes est observée sur un film au niveau d'une section du canal, les probabilités P correspondant à tous les points du canal situés en aval de cette section ne sont pas calculées. Par ailleurs, le ralentissement des gouttes par les cristaux engendre également une incertitude sur le temps d'écoulement. Cependant, comme le temps initial entre deux gouttes successives est typiquement de 3 s environ, tant qu'il n'y a pas eu coalescence, cela signifie que l'erreur sur le temps d'écoulement est inférieure à 3 s. Ce temps étant très faible comparé au temps de résidence des gouttes dans le canal (150 s), cette erreur sera négligée par la suite.

Contrôle des températures

La seringue et le tube de la solution de nitrate de potassium à 83.6 g / 100 g sont maintenus à une température supérieure à la température de solubilité ($T_s = 50\text{ °C}$) grâce au système de chauffage décrit dans le chapitre 2, page 57. Pour éviter toute cristallisation au niveau des entrées de la puce avant la formation des gouttes, la zone d'injection est

chauffée à la température $T_1 = 60\text{ °C}$ (supérieure à T_s) à l'aide d'une résistance chauffante (Minco) collée sous le support en silicium, à l'emplacement indiqué sur la figure 5.1. La température de la résistance est contrôlée par un régulateur (Minco) et une sonde Pt100. La partie du canal en forme de serpentín est maintenue à une température T_2 par un support thermostaté situé en-dessous de la puce. La température du support est imposée par une circulation d'eau thermostatée par un cryostat. De la graisse thermique est déposée entre le support et la puce microfluidique pour optimiser les transferts de chaleur. La température de la puce est mesurée par des thermocouples insérés à travers la couche de PDMS. La figure 5.4.a présente une cartographie de la température de la puce mesurée avec les thermocouples. Elle permet de visualiser le chauffage localisé de la zone d'injection et l'homogénéité de la température sur la zone du serpentín. Les profils de température le long

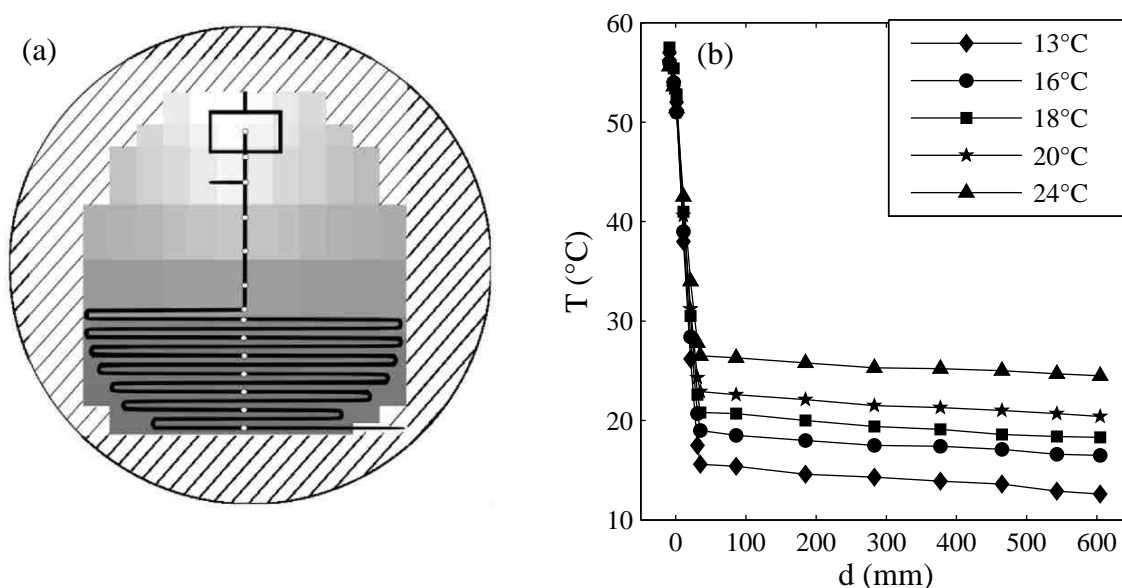


FIG. 5.4 – (a) Profil de température de la puce microfluidique mesuré à l'aide de thermocouples insérés à travers le PDMS. Les parties blanches sont les zones chaudes et les parties gris foncé sont les zones froides. Le disque hachuré correspond au support en silicium. (b) Températures le long du canal pour 5 différentes températures de refroidissement T_2 . Les mesures ont été réalisées au niveau des points blancs sur (a). L'origine de d correspond à la formation des gouttes.

du canal pour différentes températures de refroidissement T_2 sont tracés sur la figure 5.4.b. L'origine de la distance d est prise au niveau de la formation des gouttes. Pour effectuer ces mesures, les thermocouples sont insérés à travers le PDMS jusque dans le canal aux différentes positions marquées par un point blanc sur la figure 5.4.a. Les profils montrent que le dispositif permet d'appliquer des gradients de température importants entre la zone d'injection et le début du serpentín (jusqu'à 50 °C sur 4 cm) et de maintenir en même temps une température pratiquement uniforme le long du serpentín. Les variations de température entre le début et la fin du serpentín sont au maximum de l'ordre de $1\text{ à }2\text{ °C}$.

Pour minimiser ces variations, la puissance dégagée par la résistance chauffant l'entrée du canal doit être aussi faible que possible pour être rapidement évacuée par le support thermostaté. Un moyen de réduire la puissance dégagée tout en maintenant la température de l'entrée à une température supérieure à T_s est de diminuer sa taille pour focaliser la puissance uniquement au niveau du canal d'injection.

Transferts thermiques

Une question importante liée au dispositif concerne le temps de thermalisation du liquide circulant dans le canal. Dans le domaine de la microfluidique, il est habituel de considérer que les transferts thermiques sont extrêmement rapides en raison du fort rapport surface / volume et par conséquent, que le temps de thermalisation peut toujours être négligé. Cependant, est-ce vraiment toujours le cas ? Poussées par le développement de systèmes de dissipation de chaleur des microprocesseurs, un grand nombre d'études de transferts thermiques dans des systèmes microfluidiques ont été réalisées. Les résultats majeurs de ces études sont rapportés par Kandlikar *et al.* [53]. Il en résulte que les transferts dépendent fortement de la géométrie des canaux ainsi que des conditions aux limites. Un problème équivalent à celui posé par le dispositif présenté dans ce chapitre concerne le temps de thermalisation d'un liquide initialement à une température T_0 , pénétrant dans un microcanal de section carrée constitué d'une matrice en PDMS et d'un support dont la partie inférieure est thermostatée à la température T_c . Une section de ce canal est représentée sur la figure 5.5.a. Pour déterminer parfaitement le temps de thermalisation du liquide, il faut résoudre l'équation classique de la chaleur. En régime permanent et en supposant que les échanges de chaleur se font uniquement par conduction thermique, l'équation s'écrit :

$$\rho C_p (\mathbf{u} \cdot \nabla) T = \lambda_c \Delta T, \quad (5.1)$$

avec \mathbf{u} le profil de vitesse du liquide dans le canal, T la température du liquide, λ_c sa conductivité thermique, ρ sa densité et C_p sa capacité calorifique. Le problème étant très complexe, pour le résoudre nous avons fait les hypothèses suivantes : l'énergie dégagée par les forces visqueuses est négligeable par rapport à la dissipation globale de chaleur, et sur la gamme de température les paramètres ρ , C_p et λ , ainsi que la viscosité sont constants.

Lorsque le liquide s'écoule, la chaleur se dissipe à travers les différentes parois du canal. Le rapport entre les flux thermiques à travers le PDMS et le support est égal au rapport entre les résistances thermiques des deux couches. La résistance d'une couche de PDMS d'épaisseur $e_p = 5$ mm a pour valeur $R_p = e_p / \lambda_p = 25 \cdot 10^{-3} \text{ K m}^2 \text{ W}^{-1}$, et celle d'un support en silicium d'épaisseur $e_s = 0.5$ mm est égale à $R_s = 5 \cdot 10^{-6} \text{ K m}^2 \text{ W}^{-1}$. Dans le cas d'un support en verre de 1 mm, $R_s = 10^{-3} \text{ K m}^2 \text{ W}^{-1}$. Ainsi, la résistance thermique de la couche de PDMS est très grande devant celle du support, que ce dernier soit en silicium ou en verre. On peut supposer par conséquent que le PDMS est parfaitement isolant et que toute la chaleur est dissipée à travers le support. À partir de ce résultat, et en supposant que la température sur la section du canal est homogène, que le transfert thermique se fait dans une seule direction à travers le support, et que la diffusion thermique dans le sens de

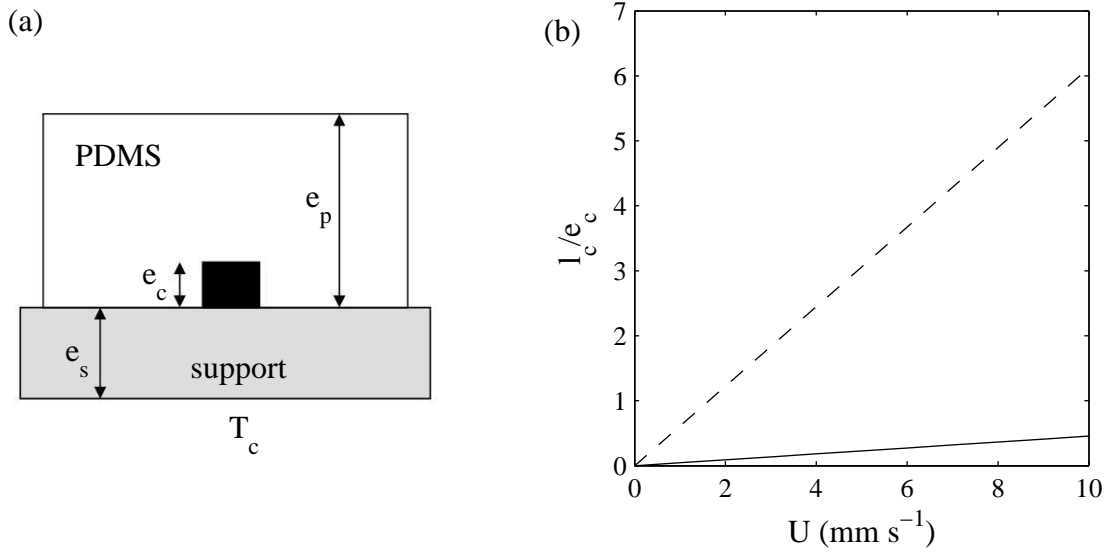


FIG. 5.5 – (a) Section du canal dans lequel s'écoule le liquide. La base du support est maintenue à la température T_c . e_p est l'épaisseur de la couche de PDMS, e_s l'épaisseur du support et e_c est la hauteur du canal. (b) Rapport l_c/e_c en fonction de la vitesse U du liquide dans le canal d'une circulation d'eau. La courbe en tirets correspond à un support en quartz cristallin ($\lambda = 7 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$), celle en trait plein correspond à un support en silicium ($\lambda = 94 \text{ W m}^{-1} \text{ K}^{-1}$). L'épaisseur du support est de $e_s = 1 \text{ mm}$.

l'écoulement est négligeable devant la vitesse d'écoulement, l'équation de la chaleur peut s'écrire de la manière suivante :

$$e_c \rho C_p U \frac{\partial T}{\partial x} = -\lambda_s \frac{T - T_c}{e_s}, \quad (5.2)$$

avec U la vitesse moyenne du liquide et λ_s la conductivité thermique du support. La résolution de cette équation différentielle permet de déterminer la longueur caractéristique de thermalisation l_c du liquide dans le canal. La longueur l_c obtenue s'écrit :

$$l_c = \frac{R_s}{R_c} \text{Pe } e_c, \quad (5.3)$$

où $R_c = e_c/\lambda_c$ est la résistance thermique du liquide sur l'épaisseur du canal, et $\text{Pe} = U e_c/\kappa$ est le nombre de Péclet thermique, $\kappa = \lambda/\rho C_p$ étant le coefficient de diffusion thermique du liquide. Le rapport l_c/e_c en fonction de U est tracé sur la figure 5.5.b. On constate que lorsque le support est en silicium, la longueur de thermalisation est inférieure à la hauteur du canal pour des vitesses inférieures à 1 cm s^{-1} . Cependant, pour $U = 5 \text{ mm s}^{-1}$, le liquide se thermalise sur une distance égale à 3 fois la hauteur du canal pour un support en quartz et sur une distance 23 fois supérieure à la hauteur du canal pour un support en

verre. De façon plus explicite, pour une épaisseur de canal de $500 \mu\text{m}$, $l_c = 12 \text{ mm}$ pour un support en verre, $l_c = 2.5 \text{ mm}$ pour un support en quartz cristallin et $l_c = 110 \mu\text{m}$ pour un support en silicium. Ces exemples montrent que le support joue un rôle très important sur la distance l_c . Plus il est bon conducteur thermique, plus l_c est petite.

Ces résultats sont obtenus à la suite d'hypothèses importantes et par conséquent, ils ne donnent qu'une estimation approximative de la longueur de thermalisation. Il se trouve même que ces résultats sont incohérents dans certains cas. En effet, en réalité la température du liquide n'est pas uniforme sur la hauteur du canal et le temps caractéristique τ_c de thermalisation du liquide sur cette hauteur peut être rapidement estimé à partir de la relation $\tau = e_c^2/\kappa$. Il varie donc de 1 ms pour un canal de hauteur $10 \mu\text{m}$ jusqu'à 2 s pour une hauteur de $500 \mu\text{m}$. Dans le cas précédent, nous avons vu que pour un support en silicium et un canal de hauteur $500 \mu\text{m}$ à travers lequel s'écoule de l'eau à la vitesse $U = 5 \text{ mm s}^{-1}$, la longueur l_c calculée est de $110 \mu\text{m}$ ce qui correspond à un temps de thermalisation de 20 ms . Ceci est contradictoire avec le fait que le temps caractéristique de diffusion sur la hauteur du canal est de 2 s . Le modèle développé ne peut donc être appliqué que pour des temps de thermalisation très grands par rapport au temps de diffusion puisque c'est uniquement dans ces conditions que l'hypothèse de la température uniforme sur la section du canal est valide.

Le calcul présenté ici a été réalisé dans le cas d'un liquide monophasique. Pour un écoulement diphasique, la détermination du profil de température est encore plus complexe à cause des recirculations et des échanges entre les deux phases liquides. Il est toutefois raisonnable de penser que les recirculations à l'intérieur des gouttes favorisent les échanges de chaleur entre le support et le liquide. Par conséquent le temps de diffusion sur la hauteur du canal dans le cas diphasique doit être plus court que pour un liquide monophasique.

Dans le but d'avoir une estimation précise du temps de thermalisation, une étude expérimentale a été réalisée au laboratoire à l'aide d'une caméra infrarouge [64]. L'expérience consiste à suivre l'évolution de la température d'un liquide injecté à température ambiante et circulant dans un tube chauffé de diamètre interne 0.8 mm . Les résultats montrent que pour un écoulement de gouttes, le temps de thermalisation est constant quelque soit la vitesse du liquide et qu'il est de l'ordre de 2 s . Pour un canal de $500 \mu\text{m}$, comme la longueur est au carré dans l'expression du temps de diffusion, on peut donc estimer que le temps de thermalisation est divisé par un facteur d'environ 2.6 .

En résumé, le temps de thermalisation d'un liquide pénétrant dans un canal thermostaté dépend à la fois des dimensions du canal et du support du dispositif. Dans le cas d'un canal de hauteur $500 \mu\text{m}$ et d'un support en silicium, il semble raisonnable de considérer qu'un écoulement de gouttes se thermalise en environ 1 s . Pour une vitesse de l'ordre de 4 mm s^{-1} nous pouvons donc assimiler la température du liquide à celle de la puce. La rapidité de la thermalisation est confirmée par des mesures de la température du liquide circulant dans le canal obtenues en introduisant directement les thermocouples dans le canal. Ces mesures indiquent en effet qu'en tout point, le liquide est bien à la même température que la puce.

Par conséquent, dans le cas du dispositif microfluidique présenté dans ce chapitre, entre le moment où les gouttes sont générées et le moment où elles pénètrent dans le serpentin, elles subissent une trempe rapide en température, typiquement de $40 \text{ }^\circ\text{C}$ en 10 s . Il est ainsi

possible de mesurer des cinétiques de nucléation entre 10 et 150 s, 150 s étant le temps de résidence des gouttes dans le canal pour $U = 4 \text{ mm s}^{-1}$.

5.2 Expériences et résultats

Le dispositif microfluidique a été utilisé pour étudier la cinétique d'apparition de cristaux de KNO_3 dans le cas d'une solution de concentration $83.6 \text{ g} / 100 \text{ g}$ et pour différentes températures de refroidissement T_2 . Les expériences montrent tout d'abord que pour des températures T_2 supérieures à $25 \text{ }^\circ\text{C}$, aucun cristal n'apparaît dans les gouttes pendant qu'elles s'écoulent dans le canal et pour $T_2 < 10 \text{ }^\circ\text{C}$, les cristaux nucléent dans toutes les gouttes durant la trempe en température. À cause des recirculations dans les gouttes, la croissance des cristaux après nucléation est beaucoup plus rapide que dans le cas où les gouttes sont stockées dans un canal. En typiquement 2 ou 3 s, les cristaux atteignent leur taille maximale. Ce phénomène permet d'appliquer des sursaturations plus grandes sans risquer d'avoir des événements de nucléation polynucléaires dans les gouttes.

Trois mesures de $P(t)$ parmi plusieurs dizaines, effectuées à différentes températures intermédiaires, sont présentées sur la figure 5.6.a. L'origine du temps correspond à l'entrée des gouttes dans le serpentin. Comme attendu, la probabilité qu'une goutte ne possède pas de cristaux diminue au cours du temps, et la cinétique d'apparition de ces derniers est d'autant plus rapide que la température T_2 est basse. Le fait que les courbes ne commencent

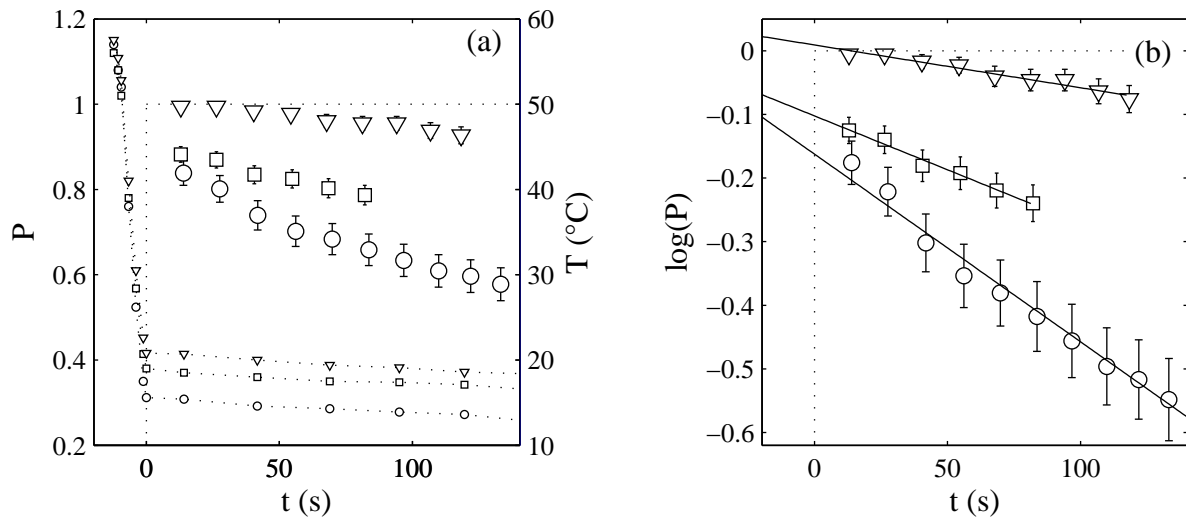


FIG. 5.6 – (a) Grands symboles : probabilité P qu'une goutte ne possède pas de cristaux en fonction de t pour 3 températures T_2 différentes. Petits symboles : profils de température vus par les gouttes correspondants aux trois températures T_2 . (b) $\ln P$ en fonction du temps. Les droites en traits pleins sont les régressions linéaires de chaque série de mesure. L'origine des temps est pris à l'entrée des gouttes dans le serpentin.

pas à la probabilité $P = 1$ en $t = 0$ s est dû à la nucléation de cristaux dans certaines gouttes avant qu'elles arrivent au niveau de la première mesure. D'autre part, avec ce dispositif, étant donné que ce ne sont pas toutes les mêmes gouttes qui sont observées aux différentes positions du canal pour mesurer $P(t)$, il n'est pas possible d'éliminer les cristaux apparus avant la fin de la trempe en température. La présence de ces cristaux a pour conséquence de modifier sensiblement les profils $P(t)$. Pour comprendre ces modifications, reprenons l'équation 1.15 introduite dans le chapitre 1 pour démontrer l'expression théorique de P :

$$P(t + dt) = P(t)(1 - wdt), \quad (5.4)$$

avec w la fréquence de nucléation des cristaux. L'intégration de cette équation doit donner :

$$P(t) = \exp(-wt), \quad (5.5)$$

lorsque la fréquence de nucléation est constante et qu'aucune goutte ne possède de cristaux à $t < 0$. Maintenant, si sur un total de N gouttes, n_c possèdent déjà des cristaux à $t = 0$ s, alors $P(t = 0) = 1 - n_c/N$, et l'intégration de l'équation 1.15 donne :

$$P(t) = \frac{N - n_c}{N} \exp(-wt). \quad (5.6)$$

Lors des expériences, à part dans le cas de sursaturations très importantes, nous n'observons cependant que très peu de cristaux avant l'entrée des gouttes dans le serpentin. Sur 150 gouttes, n_c est généralement inférieur à 3 ou 4. L'erreur sur la probabilité reste donc faible, de l'ordre de 3 %.

D'après l'équation 5.5, la probabilité P doit donc suivre une loi exponentielle caractérisée par une fréquence de nucléation w . Cependant, les courbes $\ln P(t)$ tracées sur la figure 5.6.b présentent un décalage par rapport à l'origine. Les probabilités P ne suivent donc pas une simple loi exponentielle mais plutôt une loi du type $P = \exp(-wt + \epsilon)$, avec ϵ une constante. Ce décalage ne peut pas être uniquement dû à l'apparition de cristaux dans les gouttes avant qu'elles pénètrent dans le serpentin ($t < 0$ s), puisque pour $n_c = 4$ il serait seulement de -0.03. Comme pour les résultats présentés dans le chapitre précédent, la non linéarité de $\ln P$ est en fait attribuée à la présence d'impuretés dans certaines gouttes qui induisent une nucléation particulièrement rapide des cristaux, notamment avant le premier point de mesure à $t = 10$ s. Au-delà, la cinétique semble faire intervenir une fréquence de nucléation constante.

Les décalages mesurés pour $T < 20$ °C indiquent qu'environ 10 % des gouttes contiennent des impuretés « rapides ». Lorsque la température T_2 est supérieure à 20 °C, un décalage vers les valeurs positives, traduisant un retard de la cinétique de nucléation, est systématiquement observé. À ces températures, la probabilité reste toujours inférieure à 5 % à $t = 150$ s. Nous pensons que ce décalage est dû aux légères variations de la température le long du serpentin. La température diminuant progressivement, la cinétique de nucléation est plus lente au début du canal qu'à la fin. Dans le chapitre précédent, nous avons vu que plus la sursaturation est élevée plus le nombre d'impuretés très actives, provoquant la nucléation dans les premiers instants, est important. Nous pensons que ce phénomène

explique que le décalage vers les valeurs positives est particulièrement visible aux faibles sursaturations.

Malgré les différents décalages, les pentes des courbes, c'est-à-dire les fréquences de nucléation, sont pratiquement constantes sur la gamme de temps étudié. Des mesures de w effectuées pour différents volumes de gouttes et différentes températures, nous ont permis de tracer la fréquence de nucléation en fonction du volume des gouttes V sur la figure 5.7. Pour toutes les expériences, la vitesse moyenne des gouttes est quasiment la même. Ces résultats

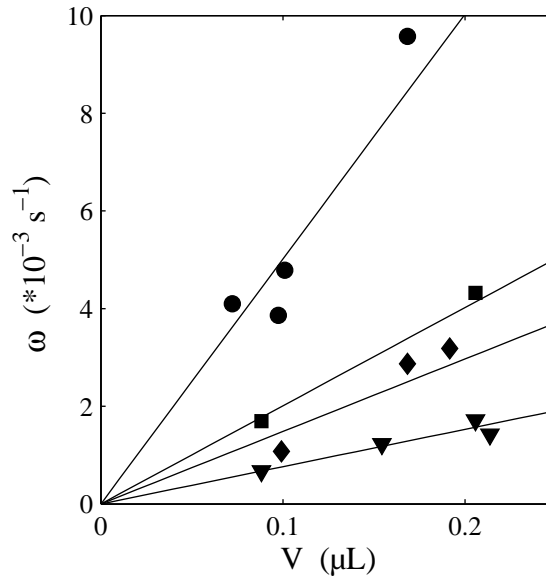


FIG. 5.7 – Fréquence de nucléation w en fonction du volume des gouttes pour 4 températures T_2 . ● : 13°C ; ■ : 16°C ; ◇ : 18°C ; ▼ : 20°C . Le volume des gouttes varie de 70 nL à 220 nL.

suggèrent que la fréquence de nucléation est proportionnelle au volume des gouttes. Nous avons donc conclu dans la référence [67], que la nucléation était probablement volumique.

Cependant, l'influence de la phase continue sur la cinétique de nucléation démontrée dans le chapitre 4, montre au contraire que la nature de l'huile influence les événements de nucléation. On peut se demander alors si la nucléation est surfacique. Dans la géométrie des canaux, le diamètre minimal des gouttes est égal à la hauteur et à la largeur des canaux H . Ainsi, comme cela est illustrée sur la figure 5.8, le volume des gouttes est de la forme $V = 4\pi R^3/3 + \pi R^2 L$, avec $R = H/2$. Connaissant le volume des gouttes, il est possible de déterminer le paramètre L et d'en déduire l'aire des gouttes $S_g = 4\pi R^2 + 2\pi RL$. Pour déterminer les expressions de V et S_g , nous avons supposé que les gouttes sont des cylindres de longueur L avec un demi-hémisphère de rayon R à chaque extrémité. À partir du calcul de la surface des gouttes, nous avons tracé sur la figure 5.9 les fréquences de nucléation en fonction de S_g . Il s'avère finalement que w peut également être considérée comme proportionnelle à S_g . Les figures 5.7 et 5.9 ne permettent donc pas de conclure que la nucléation est volumique. Par la suite, nous considérerons à chaque fois les deux cas : la

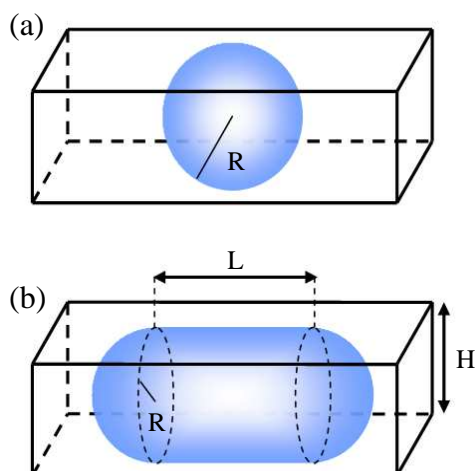


FIG. 5.8 – Schéma de la forme des gouttes dans un canal de hauteur et de largeur H . (a) Plus petite goutte produite avec la géométrie utilisée. Son diamètre est de $R = H/2$. (b) Nous faisons l'hypothèse que les gouttes de taille supérieure ont une forme de cylindre de longueur L avec deux demi-hémisphères de rayon R aux extrémités.

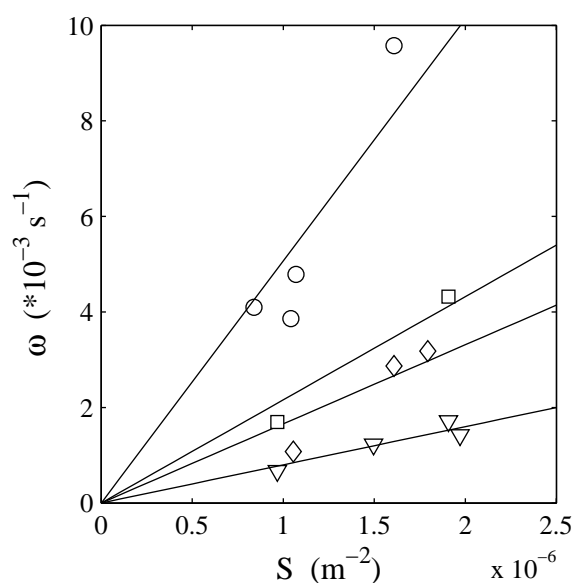


FIG. 5.9 – Fréquence de nucléation w en fonction de l'aire S_g des gouttes pour 4 températures T_2 . \circ : 13 °C; \square : 16 °C; \diamond : 18 °C; ∇ : 20 °C. S_g est calculée à partir du volume des gouttes par $S_g = 2(2 + L/R)V/(4R + L)$, avec R le rayon des gouttes et L leur longueur.

nucléation volumique et la nucléation surfacique.

Indépendance des événements de nucléation

L'indépendance des événements de cristallisation est un point important à vérifier au cours des expériences réalisées avec le dispositif microfluidique. Il faut contrôler que la présence d'un cristal dans une goutte n'influence pas la nucléation de cristaux dans les autres gouttes, par exemple par contamination du canal. Lorsque la nucléation dans les gouttes est parfaitement aléatoire, si P est la probabilité qu'une goutte ne contienne pas de cristaux, la probabilité p d'avoir n gouttes consécutives sans cristaux entre deux gouttes avec des cristaux, doit suivre la loi géométrique :

$$p(n) = P^n(1 - P) \quad (5.7)$$

Nous avons mesuré p pour différentes probabilités P et différentes expériences. Sur la figure 5.10 sont représentés les résultats d'une expérience réalisée à 16 °C et pour $P = 0.41$, ainsi que les valeurs correspondantes obtenues avec la loi géométrique. Les résultats

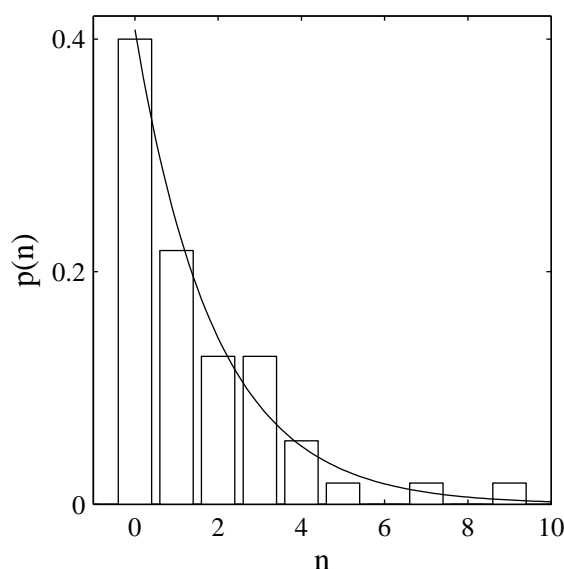


FIG. 5.10 – Probabilité p que n gouttes ne contiennent pas de cristaux entre deux gouttes avec des cristaux, pour une probabilité $P = 0.41$. Les barres correspondent aux résultats expérimentaux obtenus sur 200 gouttes et la courbe en trait plein correspond à la loi géométrique 5.7.

sont toujours en bon accord avec la loi géométrique, et plus particulièrement lorsque les statistiques sont réalisées sur un grand nombre de gouttes. Cela démontre que l'apparition des cristaux dans les gouttes est bien aléatoire au cours des expériences.

5.2.1 Discussion des résultats

Mécanisme de nucléation

Des mesures de la fréquence de nucléation w ont été réalisées pour différentes températures de refroidissement T_2 . Les sursaturations correspondantes sont calculées à partir de la courbe de solubilité du polymorphe III (métastable) du KNO_3 . Les expériences ont été effectuées pour des sursaturations variant de 1 à 10.3. Cependant, en-dessous de $S = 3.4$, trop peu de cristaux apparaissent dans les gouttes pour pouvoir mesurer les probabilités. Au-delà de $S = 10.3$, une grande partie des cristaux nucléent avant l'entrée dans le serpentin.

En fonction du mécanisme de nucléation, volumique ou surfacique, le taux de nucléation est calculé en divisant w par le volume ou la surface des gouttes. Rappelons que la fréquence de nucléation w est obtenue par ajustement des données de la figure 5.6. Ainsi, le taux de nucléation volumique est donné par $J_v = w/V$ et le taux de nucléation surfacique par $J_s = w/S_g$. La figure 5.11 présente $\ln J/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$ dans les cas volumique et surfacique. Les barres d'erreur prennent en compte les variations de la température le long du serpentin et l'incertitude sur le volume ou la surface des gouttes. D'après l'expression

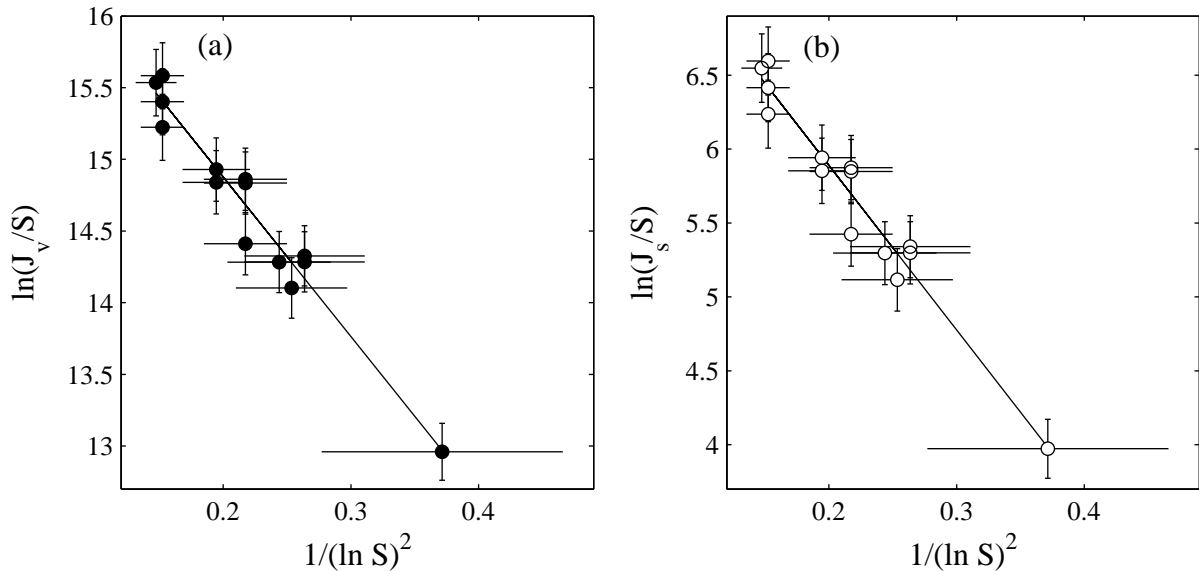


FIG. 5.11 – (a) $\ln J_v/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$. (b) $\ln J_s/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$. J_v et J_s sont respectivement les taux de nucléation volumique et surfacique.

théorique du taux de nucléation (cf. équation 1.10), les pentes des régressions linéaires des deux séries de données tracées sur les figures 5.11.a et 5.11.b permettent de déterminer la tension de surface σ entre un nucléus et la solution. D'après les expressions du volume et de la surface en fonction de la longueur des gouttes L et de leur rayon R , $\ln(w/(VS))$ et

$\ln(Jw/(S_g S))$ sont liés par la relation :

$$\ln \frac{w}{VS} = \ln \frac{w}{S_g S} - \ln \left(\frac{R}{2} \left(\frac{4 + L/R}{2 + L/R} \right) \right). \quad (5.8)$$

Comme l'ensemble des mesures présentées ont été effectuées pour un même volume de gouttes (L et R constants), les pentes des deux droites sont identiques. Pour $\nu_0 = 8 \cdot 10^{-29} \text{ m}^{-3}$ et en négligeant les variations de température sur la gamme étudiée, nous trouvons $\sigma \approx 19 \text{ mJ m}^{-2}$.

Dans les cas volumique et surfacique, les ordonnées à l'origine des régressions linéaires donnent respectivement les préfacteurs cinétiques $A_v^{\text{exp}} \approx 10^7 \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ et $A_s^{\text{exp}} \approx 10^3 \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. La faible valeur de A_v^{exp} par rapport au préfacteur théorique, supposé être compris entre 10^{26} et $10^{30} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, indique que même si la nucléation avait lieu en volume, elle serait hétérogène. Dans le chapitre 4 page 112, nous avons vu qu'à partir du préfacteur cinétique il était possible de remonter à la concentration en sites de nucléation grâce à l'expression :

$$C_i \approx C_0 \frac{A^{\text{exp}}}{A^{\text{théo}}}. \quad (5.9)$$

En prenant $A^{\text{théo}} = 10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$ et $C_0 = 10^{28} \text{ m}^{-3}$, nous trouvons une concentration en impuretés $C_i \approx 10^9 \text{ m}^{-3}$. Le volume des gouttes étant de l'ordre de 100 nL, ce résultat suggère qu'il y a en moyenne moins d'une impureté active par goutte. Cela s'avère cohérent avec la concentration en sites de nucléation calculée pour les premières parties des cinétiques présentées dans le chapitre 4, page 109. C_i était alors de l'ordre de $4 \cdot 10^8 \text{ m}^{-3}$. Cependant, en prenant $A^{\text{théo}} = 10^{26} \text{ m}^{-3} \text{ s}^{-1}$, nous trouvons $C_i \approx 10^7 \text{ m}^{-3}$, soit moins d'une impureté pour 100 gouttes, ce qui est incohérent avec le nombre de gouttes qui cristallisent.

En considérant maintenant le préfacteur cinétique dans le cas de la nucléation surfacique, il est également possible de mesurer la concentration en impuretés actives à la l'interface goutte/huile. Pour cela, il faut comparer le préfacteur A_s^{exp} à un préfacteur surfacique théorique $A_s^{\text{théo}}$ qui traduirait une nucléation possible sur chaque molécule située à la surface des gouttes. D'après les expressions 1.9 et 1.10 dans le chapitre 1, $A_s^{\text{théo}}$ devrait être proportionnel à la concentration en molécules C_s à la surface des gouttes. Si la concentration volumique en molécules est $C_0 = 10^{28} \text{ m}^{-3}$, la concentration sur une surface peut être estimée à $C_s = C_0^{2/3} \approx 3 \cdot 10^{18} \text{ m}^{-2}$. En gardant les autres facteurs intervenant dans l'expression de $A^{\text{théo}}$ identiques pour $A_s^{\text{théo}}$ (seuls les facteurs géométriques devraient être modifiés), le préfacteur surfacique théorique devrait être compris entre 10^{16} et $10^{20} \text{ m}^{-2} \text{ s}^{-1}$. En appliquant la relation 5.9, cela donne au plus une concentration en impuretés à la surface des gouttes $C_{is} \approx 10^5 \text{ m}^{-2}$. La surface d'une goutte de 100 nL étant d'environ $S_g \approx 10^{-5} \text{ m}^2$, le nombre moyen d'impuretés à l'interface des gouttes pourrait donc être de 0.2, soit une impureté pour 5 gouttes. Ce résultat n'est pas cohérent avec les mesures de $P(t)$ (cf. figure 5.6) puisque pour des sursaturations suffisamment élevées, plus de 50 % de gouttes possèdent des cristaux à la fin du serpent. La théorie classique de la nucléation ne permet donc pas d'expliquer directement les résultats obtenus à partir des expériences présentées dans ce chapitre. Encore une fois, comme dans le chapitre précédent,

nous retrouvons que le préfacteur cinétique de la nucléation homogène doit être inférieur à celui prédit par la théorie pour que les expériences soient cohérentes avec cette dernière. Cependant, il faudrait peut être en réalité considérer encore une fois une distribution des impuretés et de leur activité dans les gouttes mais cela devient rapidement complexe.

Reproductibilité des mesures

La série de mesures présentée sur la figure 5.11 a été effectuée sur une même journée avec une même solution. Il est cependant important de préciser que lorsque les expériences sont répétées avec un volume de solution différent, mais issu d'une même solution initiale, ou sur plusieurs jours, il apparait une forte dispersion des résultats. Les courbes $\ln J/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$ sont décalées de plusieurs unités mais pour chaque série de mesure, la pente reste approximativement toujours la même. Cela révèle des variations importantes du facteur cinétique A qui peuvent s'expliquer par des fluctuations de la concentration en impuretés. Ce phénomène supporte le fait que le mécanisme de nucléation observé est hétérogène.

Effet de l'agitation

Les recirculations à l'intérieur des gouttes, provoquées par leur écoulement permanent le long du canal, font que la solution est agitée en continu. Pour compenser la vitesse nulle sur les bord des gouttes, la vitesse du liquide au centre est égale à environ deux fois la vitesse moyenne U . Dans un canal de hauteur $500 \mu\text{m}$, et pour $U = 4 \text{ mm s}^{-1}$, le taux de cisaillement dans les gouttes peut donc être estimé à $4U/h = 30 \text{ s}^{-1}$. Afin de vérifier l'effet de l'agitation sur la cinétique de nucléation, il est intéressant de comparer les mesures présentées dans ce chapitre à celles obtenues lors des 150 premières secondes des expériences présentées dans le chapitre 4, page 109. Nous rappelons que ces dernières expériences ont été réalisées dans le cas de gouttes stockées dans un microcanal, donc sans agitation, pour une concentration en KNO_3 de $40 \text{ g} / 100 \text{ g}$. Les deux séries de mesure sont représentées sur la figure 5.12. Les mesures sont très proches. Bien que les valeurs dans le cas non agité sont légèrement plus élevées, elles sont incluses dans les barres d'erreur liées à dispersion des résultats décrits précédemment. La comparaison entre les deux séries de mesure ne permet donc pas d'observer une influence nette de l'agitation dans les gouttes sur la cinétique de nucléation.

Au cours des expériences effectuées avec le dispositif du chapitre précédent, il se trouve cependant que lorsque la cinétique de nucléation est lente, faire bouger les gouttes permet parfois d'accélérer la cinétique. Ce phénomène n'a pas été étudié de façon approfondie mais il laisse un doute sur l'effet de l'agitation. Dans le cas de la cristallisation en solution, les échelles mises en jeu étant de l'ordre du nanomètre le cisaillement ne joue a priori aucun rôle sur la nucléation. En revanche, il est possible que le cisaillement joue rôle sur l'organisation des impuretés aux interfaces, et agisse donc indirectement sur la cristallisation.

Même à l'échelle colloïdale, la question de l'influence de l'agitation hydrodynamique sur la nucléation n'est aujourd'hui pas claire dans la littérature [89]. De nombreuses études ont

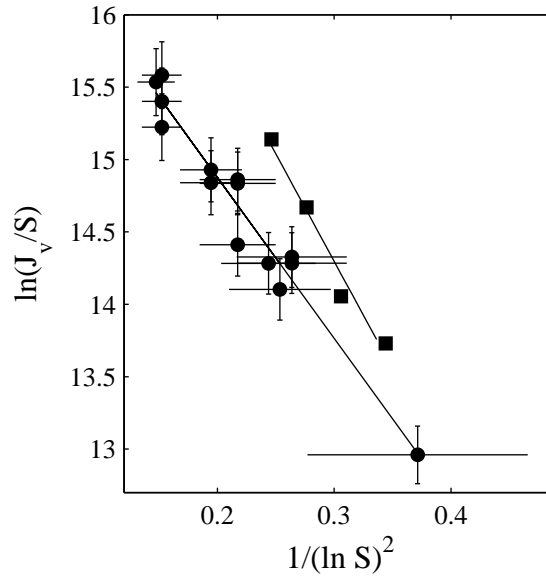


FIG. 5.12 – Comparaison de $\ln J_v/S$ en fonction de $1/\ln^2 S$ dans le cas de la solution agitée et non agitée. ● : données dans le cas agité obtenues avec la puce microfluidique présentée dans ce chapitre. ■ : données mesurées aux temps courts avec le dispositif présenté dans le chapitre précédent. Les gouttes étant stockées, il n’y a pas d’agitation hydrodynamique.

été réalisées pour comprendre le rôle de l’agitation sur la nucléation de cristaux colloïdaux. Les conclusions de ces études sont contradictoires. Dans certain cas, l’agitation ralentit la cinétique à cause a priori de l’attrition des germes cristallins en train de se former [87], dans d’autres, elle est accélérée semble-t-il par une structuration de la phase liquide [49].

5.2.2 Perspectives

Pour mieux maîtriser et mieux comprendre les mécanismes de nucléation à partir du dispositif microfluidique, des études supplémentaires et des améliorations techniques doivent encore être effectuées. Il est en effet important de résoudre tout d’abord la question liée à l’influence de l’huile sur la cinétique de nucléation. Pour cela, des mesures réalisées avec différentes qualités de filtration de la phase continue et de la solution devraient permettre de confirmer que ce sont les impuretés présentes dans l’huile qui provoquent la nucléation des cristaux. Il peut également être intéressant de faire varier plus fortement le volume des gouttes pour déterminer sans ambiguïté si la nucléation a lieu en volume ou à la surface des gouttes. Étant donné, qu’avec la géométrie des canaux utilisés, le volume des gouttes est limité à 70 nL au minimum, pour diminuer la taille des gouttes il faut utiliser des canaux plus petits. Par exemple, en réduisant la largeur et la hauteur d’un facteur 2, le volume minimum est divisé par 8. Il n’est pas recommandé d’augmenter la taille des gouttes à cause des temps de thermalisation qui deviendraient rapidement excessivement longs. La diminution du temps de thermalisation dans des canaux plus petits permet aussi de faire

varier la vitesse d'écoulement des gouttes sur une gamme plus importante et ainsi d'étudier l'influence du mélange à des taux de cisaillement plus élevés. Dans des canaux 2 fois plus petits, le temps de thermalisation étant divisé par 4, la vitesse des gouttes, et par conséquent le cisaillement, peuvent être multipliés par 4. Par ailleurs, le dispositif actuel étant limité à l'étude de sursaturations inférieures à 10 dans le cas du nitrate de potassium, des gouttes plus petites offriraient la possibilité de sonder des sursaturations plus élevées et en théorie de s'approcher de la nucléation homogène. Dans des canaux de 10 μm de hauteur et de largeur, le volume des gouttes est de l'ordre de 1 pL, ce qui devrait être suffisant pour qu'il y ait moins d'une impureté par goutte, si la concentration en impuretés est bien de l'ordre de 10^8 mL^{-1} comme le suggère Zettlemoyer [134]. Cependant, pour faire apparaître des cristaux dans des gouttes de 1 pL, il faudrait appliquer des refroidissements très importants.

Sur le plan technique, il est sans doute nécessaire d'améliorer le contrôle de la température de la puce puisque nous avons vu que le gradient de température le long du serpentin pouvait perturber les mesures. Pour réduire ce gradient, une solution consiste tout d'abord à diminuer la puissance de la résistance chauffante utilisée pour maintenir le canal d'injection de la solution à $T > T_s$. Cela peut être assez facilement réalisé en diminuant la taille de la résistance de façon à focaliser la puissance dégagée au niveau de la zone d'injection. Un autre moyen de réduire le gradient de température est d'utiliser un support en silicium plus fin, ce qui augmenterait la résistance thermique le long du support et ainsi diminuerait les transferts thermiques.

Enfin, pour éviter la coalescence entre les gouttes ralenties par la présence de cristaux et les gouttes sans cristaux, il serait intéressant d'introduire une goutte d'huile fluorée entre chaque goutte de solution comme pour les dispositifs présentés dans les chapitres 3 et 4.

5.3 Conclusion

En conclusion, le dispositif microfluidique est un système efficace pour mesurer rapidement des taux de nucléation de cristaux en solution. Il permet de résoudre un grand nombre des problèmes expérimentaux classiquement rencontrés lors des mesures de taux de nucléation par la méthode des gouttes. Il permet en effet de produire sans tensioactif des gouttes extrêmement monodisperses, d'appliquer des trempes de température rapides et importantes, et de contrôler en continu et grâce à une observation directe, la proportion de gouttes contenant des cristaux en fonction du temps. Nous avons montré par ailleurs que chaque événement de nucléation dans les gouttes était indépendant des autres. Les expériences réalisées avec le système à partir d'une solution de nitrate de potassium, donnent rapidement accès à une mesure statistique du taux de nucléation sur une gamme de sursaturation relativement large et en ne consommant qu'une faible quantité de solution (200 gouttes $\approx 20 \mu\text{L}$).

À partir des mesures de la fréquence de nucléation, nous n'avons pas pu déterminer si la nucléation avait lieu dans le volume des gouttes ou à leur surface. Cependant, dans les deux cas, en comparant les résultats à la théorie de la nucléation et à cause de la dispersion

des mesures, il semble que le mécanisme de nucléation soit hétérogène. Le comportement non exponentiel de $P(t)$ dans les premiers instants des mesures montre qu'il doit exister une distribution de la quantité d'impuretés actives dans les gouttes. Sans doute cette distribution joue un rôle non négligeable sur la cinétique sur toute la gamme de temps étudiée mais cette dernière n'est a priori pas suffisante pour en comprendre davantage. En comparant les fréquences de nucléation présentées dans ce chapitre avec les fréquences de nucléation obtenues aux temps courts dans le chapitre précédent, nous trouvons qu'elles sont très similaires. Comme dans un cas la solution est fortement agitée et que dans l'autre elle ne l'est pas du tout, cela suggère que l'agitation hydrodynamique n'influence pas de manière significative la nucléation.

Des études supplémentaires doivent encore être réalisées pour mieux comprendre les mécanismes de nucléation à l'intérieur des gouttes dans le dispositif. Une question importante reste l'influence de l'huile. Nous avons vu qu'a priori l'huile elle-même ne devait pas induire la nucléation mais qu'elle était susceptible d'apporter des impuretés actives différentes de celles présentes dans la solution. Pour résoudre ce problème il est nécessaire de réaliser des expériences en filtrant finement la phase continue et en diminuant encore la taille des gouttes pour réduire la probabilité qu'une impureté soit présente à l'interface de ces dernières. Sans influence de l'huile, le dispositif deviendrait un outil efficace pour estimer dans des réacteurs beaucoup plus gros la quantité de cristaux susceptibles de se former à partir d'événements de nucléation primaire.

Conclusion et perspectives

Au cours de cette thèse, nous avons développé quatre nouveaux outils microfluidiques pour étudier plusieurs aspects des processus de cristallisation : la solubilité, le polymorphisme et la cinétique de nucléation. L'objectif est de rendre plus rapide et plus simple l'acquisition de données expérimentales sur la cristallisation. L'ensemble des systèmes est basé sur la production et la manipulation de gouttes de solution d'environ 100 nL jouant le rôle de microréacteurs indépendants, ainsi que sur le contrôle précis des températures. L'utilisation de centaines de gouttes dans les puces microfluidiques permet d'une part d'effectuer rapidement un grand nombre de tests dans des conditions opératoires variées, et d'autre part de réaliser des mesures statistiques essentielles pour l'étude des phénomènes stochastiques tels que la nucléation des cristaux. Le faible volume des gouttes est un des éléments majeurs des dispositifs. En effet, comme les événements de nucléation de cristaux sont généralement mononucléaires dans de tels volumes, il est possible d'observer indépendamment chaque cristal formé.

Le premier dispositif présenté dans ce manuscrit permet de réaliser des criblages de diagrammes de solubilité d'un soluté dans un solvant. Le principe est de pouvoir lire directement sur la puce microfluidique la courbe de solubilité. Pour arriver ce résultat, le diagramme concentration *vs.* température est reproduit en stockant des gouttes de différentes concentrations dans des microcanaux parallèles (une concentration par canal) et en appliquant un gradient de température le long de ces canaux. Ainsi, chaque canal donne une mesure de la limite de solubilité. Une série de mesures s'effectue en plusieurs étapes : une étape de stockage des gouttes (à chaud pour éviter toute apparition de cristaux), une étape de cristallisation par refroidissement de la puce, et enfin une étape de dissolution partielle en appliquant le gradient de température. Des expériences réalisées avec une solution d'acide adipique dans l'eau ont montré que le dispositif permet de mesurer 10 points de la courbe de solubilité avec 250 μL de solution en environ une heure. L'étape de cristallisation limite cependant l'utilisation de la puce à des systèmes qui dépendent suffisamment de la température pour que l'apparition des cristaux puissent être induite par refroidissement.

Dans le troisième chapitre, nous avons présenté un dispositif permettant de détecter et d'étudier les formes polymorphiques susceptibles d'apparaître lors d'un processus de cristallisation d'un soluté. La détection des formes polymorphiques est un enjeu majeur pour l'industrie pharmaceutique puisque l'efficacité d'un principe actif peut dépendre de sa structure cristalline. Le principe du dispositif est basé sur la nucléation mononucléaire de cristaux à l'intérieur de 150 à 300 gouttes d'une solution donnée stockées dans un long

canal refroidi. Chaque cristal formé dans les gouttes est indépendant des autres. Ainsi, si différents polymorphes nucléent, il ne peut pas y avoir de transformation polymorphique par dissolution, contrairement à ce qui se passe dans un bécher classique. Par conséquent, chaque forme cristalline, qu'elle soit stable ou métastable, peut être étudiée séparément. Deux techniques permettent de détecter la présence de polymorphes différents. La première est la mesure des limites de solubilité des cristaux dans les gouttes : plusieurs limites de solubilité sont observées lorsque la puce est progressivement chauffée. La deuxième technique est la mesure *in situ* des spectres Raman des cristaux. Dans le cas d'une étude réalisée à partir d'une solution de nitrate de potassium dans l'eau, nous avons pu observer la présence de deux formes polymorphiques distinctes : la forme II (stable) et la forme III (métastable). Grâce au dispositif, pour la première fois il a été possible de déterminer la courbe de solubilité de la forme III. L'utilisation d'un grand nombre de gouttes permet de plus d'effectuer des mesures statistiques sur la nucléation des différentes formes polymorphiques et ainsi de déterminer les conditions opératoires optimales pour favoriser la nucléation d'un polymorphe particulier.

Avec ce même dispositif, en observant le mode d'apparition des cristaux il est également possible de mesurer les cinétiques de nucléation de cristaux. Ces données sont essentielles pour maîtriser les procédés de cristallisation puisque la cinétique de nucléation est en partie responsable de la taille et de la distribution de taille des cristaux produits. Dans le chapitre quatre nous avons détaillé comment les mesures de cinétique de nucléation sont effectuées. En quelques mots, une fois que les gouttes de la solution à étudier sont stockées dans le long canal, la puce microfluidique est refroidie progressivement jusqu'à une température plateau suffisamment basse pour que les cristaux apparaissent. Dès que cette dernière est atteinte il suffit de mesurer la probabilité qu'une goutte possède un cristal au cours du temps pour pouvoir en déduire la fréquence de nucléation. Les mesures réalisées dans le cas d'une solution de nitrate de potassium montrent que dans les gouttes, toute la dynamique de la cinétique a lieu sur une gamme étroite de sursaturation, qui dépend peu de la concentration initiale de la solution. L'existence de cette gamme de sursaturation fait que le dispositif se révèle efficace pour déterminer rapidement la limite de la zone de métastabilité de la solution. Une étude plus détaillée de la cinétique d'apparition des cristaux a montré que la fréquence de nucléation n'est pas constante au cours de temps. En comparant les résultats avec la théorie classique de la nucléation, nous avons vu que cette évolution est sans doute due à un mécanisme de nucléation hétérogène, et qu'il doit exister dans les gouttes une distribution de la quantité et de l'activité des impuretés qui induisent la nucléation. Sur ces mesures, le rôle de la phase porteuse (l'huile) reste une question majeure. Bien qu'*a priori* il semblerait que l'huile elle-même n'influence pas la nucléation, cela doit encore être démontré à partir d'expériences supplémentaires (répétabilité, huile filtrée, volume de goutte différent...).

Le dernier système microfluidique que nous avons développé permet de mesurer des cinétiques rapides de nucléation, de temps caractéristiques compris entre 10 et 150 s. Pour cela des gouttes de la solution à étudier sont produites en permanence et s'écoulent en continu le long d'un canal. Cet écoulement permet de faire subir des trempes en température très importantes et ainsi d'atteindre des sursaturations élevées avant que les premiers

cristaux nucléent. Grâce à l'équivalence espace/temps et à la mesure de la proportion de gouttes qui contiennent un cristal au niveau de plusieurs parties le long du canal, il est possible de remonter à la cinétique de nucléation. En peu de temps, le système donne accès au taux de nucléation des cristaux pour différentes conditions expérimentales. Une nouvelle fois, la comparaison des résultats à la théorie classique de la nucléation suggère que le mécanisme de nucléation est hétérogène, avec une distribution de la quantité d'impureté dans les gouttes. Par ailleurs, le faible écart entre les mesures réalisées avec ce système et celles réalisées avec le dispositif précédent dans les mêmes conditions de concentration et de température ne permet pas de constater d'effet de l'agitation hydrodynamique sur la cinétique de nucléation.

Pour le moment, les dispositifs présentés ici sont encore des prototypes de laboratoire qui ont permis de montrer les avantages de la microfluidique pour étudier les processus de cristallisation. De façon générale, pour améliorer les performances et la facilité d'utilisation des différents outils de nombreux développements doivent être réalisés. Le plus important concerne l'utilisation de matériaux rigides tels que le verre ou des résines pour s'affranchir de l'élasticité du PDMS, qui est responsable de nombreuses difficultés expérimentales. Dans un matériau rigide, il serait possible par exemple de diminuer fortement la taille des canaux, et par conséquent de diminuer le volume des gouttes, ce qui est particulièrement important pour l'étude des cinétiques de nucléation. L'utilisation de puce en verre permettrait également d'étudier des systèmes dans des solvants organiques. Cette possibilité s'avère fondamentale puisque la plupart des procédés de cristallisation sont réalisés avec ce type de solvants. D'un point de vue plus fondamental il pourrait être intéressant de diminuer drastiquement la taille des gouttes pour espérer observer des événements de nucléation homogène. Il serait aussi utile d'appliquer ces outils à d'autres systèmes modèles tels que la cristallisation de protéines ou de colloïdes. Il semble en effet qu'à ces plus grandes échelles il est possible d'observer les premières étapes de nucléation et de vérifier les nouvelles théories émergentes telles que la nucléation à deux étapes.

Annexe A

Protocole de fabrication d'un dispositif microfluidique par lithographie molle

Nous allons présenter le protocole utilisé pour la fabrication d'un dispositif microfluidique en PDMS dont la hauteur des canaux est de $500\ \mu\text{m}$. Il est divisé en deux phases, la première dédiée à la fabrication du moule et la seconde dédiée à la fabrication des canaux en PDMS. L'ensemble des étapes du protocole est schématisé sur la figure A.1.

Fabrication du moule

Le moule est réalisé à partir d'une résine photosensible, la SU-82100 de la société Microchem, et d'un support en silicium (« wafer »). Sa fabrication se déroule selon les étapes suivantes :

- Une déshydratation du wafer à $200\ ^\circ\text{C}$ pendant 20 min sur une plaque chauffante.
- Une première étape de dépôt d'une couche de résine sur le wafer à l'aide d'une tournette. L'épaisseur finale de la couche de résine est liée à la vitesse de rotation de la tournette et à la viscosité de la résine. Pour obtenir une première épaisseur de $250\ \mu\text{m}$, la vitesse de rotation doit être fixée à environ 1200 tours par minute.
- La résine est ensuite chauffée à $65\ ^\circ\text{C}$ pendant 10 min et $95\ ^\circ\text{C}$ pendant 60 min. Cette étape, appelée « Soft Bake », permet d'éliminer le solvant présent dans la résine et de durcir cette dernière.
- Une seconde couche de résine de $250\ \mu\text{m}$ d'épaisseur est déposée au-dessus de la première à l'aide de la tournette. La même vitesse de rotation est utilisée.
- La résine est une seconde fois chauffée à $65\ ^\circ\text{C}$ pendant 10 min et à $95\ ^\circ\text{C}$ pendant 60 min pour faire durcir la seconde couche de résine.
- La résine est insolée dans le proche UV ($365\ \text{nm}$) à travers un masque fin sur lequel est dessiné en négatif la géométrie désirée des canaux. Une réaction de réticulation de la résine est amorcée au niveau des zones insolées.
- Une dernière étape de chauffage, le « Post Exposure Bake », permet d'accélérer la réticulation de la résine par une réaction de polymérisation.
- Le développement est la dernière étape. Il correspond à l'élimination de la résine non

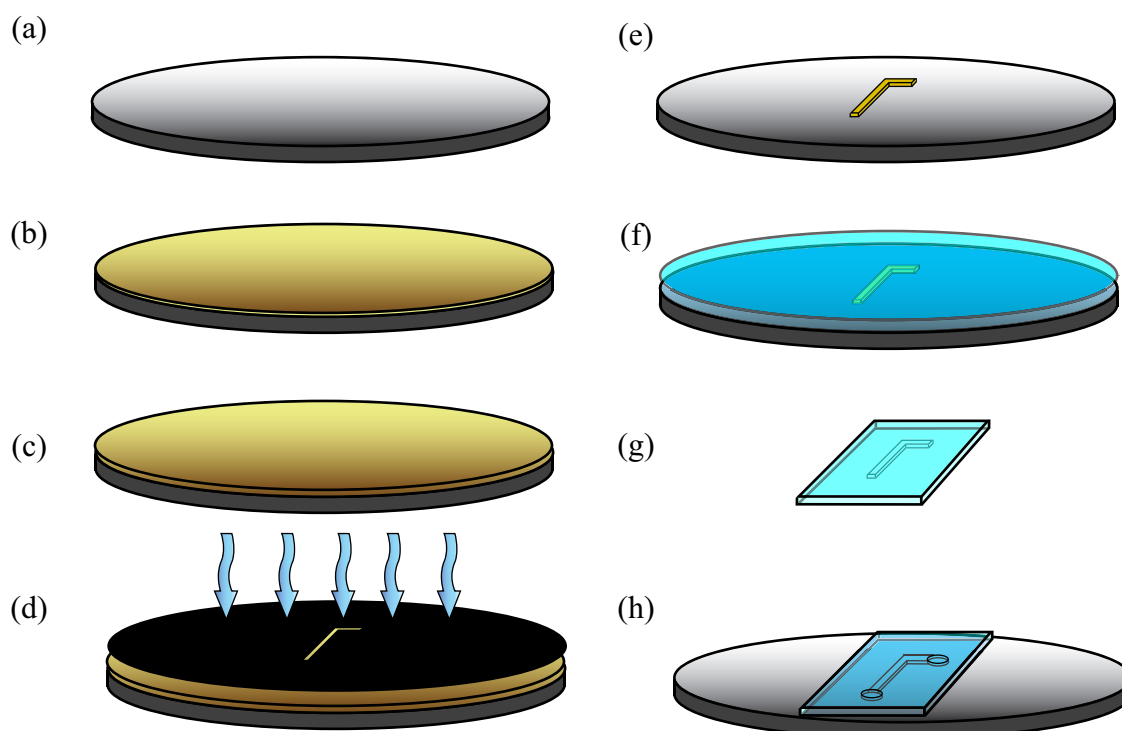


FIG. A.1 – Étapes de fabrication d'une puce microfluidique en PDMS. (a) Support en silicium (« wafer ») de diamètre 3 p. (b) Première couche de résine déposée sur le wafer par spin-coating. (c) Dépôt par spin-coating de la seconde couche de résine sur le wafer. (d) Insolation de la résine à travers un masque. (e) Motif en relief du canal désiré (moule) après développement de la résine. (f) Mélange de PDMS et d'agent réticulant coulé sur le moule. (g) Démoulage de l'élastomère après réticulation. (h) Collage de la matrice en PDMS sur un substrat en silicium.

réticulée. Le wafer est plongé dans un cristalliseur contenant un solvant spécifique de la résine. Le solvant est agité intensément jusqu'à ce que toute la résine non réticulée ait disparu. Cela dure typiquement de 30 à 40 min. Une fois la résine développée, le substrat est rincé à l'isopropanol puis séché sous flux d'azote.

L'ensemble de ces étapes est réalisé en salle blanche. La durée de fabrication de 2 à 4 moules simultanément est de l'ordre de 6 heures. Deux photos d'un moule obtenu à la suite des étapes précédentes sont présentées sur la figure A.2

Fabrication du dispositif en PDMS

À partir du moule en résine, un dispositif en PDMS sur silicium est réalisé selon les étapes suivantes :

- Un mélange de 10 g de PDMS (Sylgard 184 ; Dow Corning) pour 1 g de son agent réticulant est préparé manuellement puis placé dans une cloche à vide pour enlever les bulles.

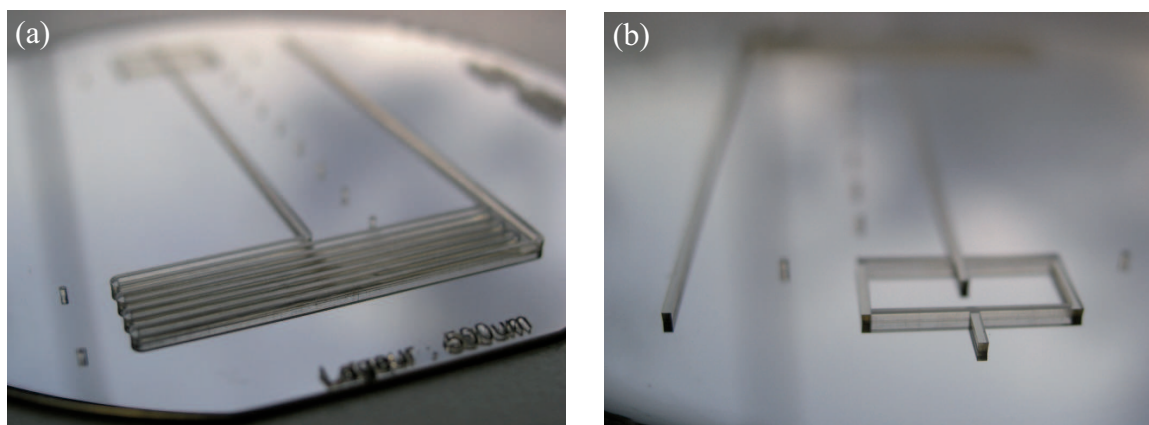


FIG. A.2 – Deux photos d'un moule réalisé en résine photosensible SU-82100. L'épaisseur et la largeur des canaux font $500 \mu\text{m}$.

- Le mélange est versé sur le moule de façon à obtenir une épaisseur de quelques millimètres. Si des bulles sont apparues, l'ensemble est replacé dans la cloche à vide.
- Pour faire réticuler le PDMS, il est cuit pendant 60 min à $65 \text{ }^\circ\text{C}$.
- L'élastomère est découpé avec un scalpel puis démoulé. Les trous pour les entrées et les sorties des liquides sont ensuite percés à l'aide de poinçons spécifiques.
- Un support en silicium de diamètre 3 pouces est d'abord placé seul dans un "UV-Cleaner" (Jelight) pendant 15 min puis avec la matrice en PDMS démoulée et percée pendant 1 min. Cette étape permet d'activer les surfaces avant collage. Une fois collé, le dispositif est chauffé à $65 \text{ }^\circ\text{C}$ pendant plusieurs heures.

Bibliographie

- [1] V. J. ANDERSON et H. N. LEKKERKERKER. « Insights into phase transition kinetics from colloid science ». *Nature*, 416 :811, 2002.
- [2] S. L. ANNA, N BOUTOUX et H. A. STONE. « Formation of dispersions using "flow focusing" in microchannels ». *Appl. Phys. Lett.*, 82 :364, 2003.
- [3] P. A. ANQUETIL, C. J. BRENNAN, C. MARCOLLI et I. W. HUNTER. « Laser Raman spectroscopic analysis of polymorphic forms in microliter fluid volumes ». *J. Pharm. Sci.*, 92 :149, 2003.
- [4] A. APELBLAT et E. MANZUROLA. « Solubility of oxalic, malonic, succinic, adipic, maleic, malic, citric, and tartaric acids in water from 278.15 to 338.15 K ». *J. Chem. Thermodynamics*, 19 :317, 1986.
- [5] M. BALKANSKI, M. K. TENG et M. NUSIMOVICI. « Raman scattering in KNO₃ phases I, II, and III ». *Phys. Rev.*, 176 :1098, 1968.
- [6] V. BARBIER, M. TATOULIAN, H. LI, F. refi KHONSARI, A. AJDARI et P. TABELING. « Stable modification of PDMS surface properties by plasma polymerization : application to the formation of double emulsions in microfluidic systems ». *Langmuir*, 22 :5230, 2006.
- [7] R. BARRETT, M. FAUCON, J. LOPEZ, G. CRISTOBAL, F. DESTREMAUT, A. DODGE, P. GUILLOT, P. LAVAL, C. MASSELMON et J.-B. SALMON. « X-ray microfocussing combined with microfluidics for on-chip X-ray scattering measurements ». *Lab Chip*, 6 :494, 2006.
- [8] B. J. BATTERSBY et M. TRAU. « Novel miniaturized systems in high-throughput screening ». *Trends Biotechnol.*, 20 :167, 2002.
- [9] M. BAVIN. « Polymorphism in process development ». *Chem. Ind.*, 21 :527, 1989.
- [10] R. BECKER et W. DÖRING. « Kinetsche Behandlung der Keimbildung in übersättigten Dämpfen ». *Ann. Phys.*, 24 :719, 1935.
- [11] Y BERDICHEVSKY, J. KHANDURINA, A. GUTTMAN et Y.-H. LO. « UV/ozone modification of poly(dimethylsiloxane) microfluidic channels ». *Sensor and Actuators B*, 97 :402, 2007.
- [12] J. BERNSTEIN, R. J. DAVEY et J. O. HENCK. « Concomitant Polymorphs ». *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 38 :3440, 1999.

- [13] D. N. BRESLAUER, P. J. LEE et L. P. LEE. « Microfluidics-based systems biology ». *Mol. Biosyst.*, 2 :97, 2006.
- [14] M. H. BROOKER. « Raman spectroscopic investigations of structural aspects of the different phases lithium sodium and potassium nitrate ». *J. Phys. Chem. Solids*, 39 :657, 1978.
- [15] E. R. BUCKLE et A. R. UBBELOHDE. « Studies on the Freezing of Pure Liquids. III. Homogeneous Nucleation in Molten Alkali Halides ». In *Proc. R. Soc. London*, volume 261, page 197, 1961.
- [16] M. A. BURNS, B. N. JOHNSON, S. N. BRAHMASANDRA, K. HANDIQUE, J. R. WEBSTER, M. KRISHNAN, T. S. SAMMARCO, P. M. MAN, D. JONES, D. HELDSINGER, C. H. MASTRANGELO et D. T. BURKE. « An integrated nanoliter DNA analysis device ». *Science*, 282 :484, 1998.
- [17] A. CACCIUTO et D. FRENKEL. « Stresses inside critical nuclei ». *J. Phys. Chem. B*, 109 :6587, 2005.
- [18] P. T. CARDEW et R. J. DAVEY. « The kinetics of solvent-mediated phase transformations ». In *Proc. R. Soc. London*, page 415, 1985.
- [19] M. CHABERT, K. D. DORFMAN, P. de CREMOUX, J. ROERADE et J.-L. VIOVY. « Automated microdroplet platform for sample manipulation and polymerase chain reaction ». *Anal. Chem.*, 78 :7722, 2006.
- [20] E. M. CHAN, A. P. ALIVISATOS et R. A. MATHIES. « High-temperature microfluidic synthesis of CdSe nanocrystals in nanoliter droplets ». *J. Am. Chem. Soc.*, 127 :13854, 2005.
- [21] D. L. CHEN et R. F. ISMAGILOV. « Microfluidic cartridges preloaded with nanoliter plugs of reagents : an alternative to 96-well plates for screening ». *Curr. Opin. Chem. Biol.*, 10 :226, 2006.
- [22] H. P. CHOU, M. A. UNGER et S. R. QUAKE. « A microfabricated rotary pump ». *Biomed. Microdevices*, 3 :323, 2001.
- [23] G. CRISTOBAL, L. ARBOUET, F. SARRAZIN, D. TALAGA, J.-L. BRUNEEL, M. JOANICOT et L. SERVANT. « On-line laser Raman spectroscopic probing of droplets engineered in microfluidic devices ». *Lab Chip*, 6 :1140, 2006.
- [24] Z. T. CYGAN, J. T. CABRAL, K. L. BEERS et E. J. AMIS. « Microfluidic platform for the generation of organic-phase microreactors ». *Langmuir*, 21 :3629, 2005.
- [25] R. J. DAVEY. « Pizzas, polymorphs and pills ». *Chem. Commun.*, page 1463, 2003.
- [26] R. J. DAVEY, P. T. CARDEW, D. MCEVAN et D. E. SADLER. « Rate controlling processes in solvent-mediated phase transformations ». *J. Crystal Growth*, 79 :648, 1986.
- [27] P. S. DITTRICH et A. MANZ. « Lab-on-a-chip : microfluidics in drug discovery ». *Nat. Rev. Drug Discov.*, 5 :210, 2006.

- [28] P. S. DOYLE, J. BIBETTE, A. BANCAUD et J.-L. VIOVY. « Self-assembled magnetic matrices for DNA separation chips ». *Science*, 295 :2237, 2002.
- [29] D. C. DUFFY, J. C. McDONALD, O. J. SCHUELLER et G. M. WHITESIDES. « Rapid Prototyping of Microfluidic Systems in Poly(dimethylsiloxane) ». *Anal. Chem.*, 70 :4974, 1998.
- [30] J. D. DUNITZ et J. BERNSTEIN. « Disappearing polymorphs ». *Acc. Chem. Res.*, 28 :193, 1995.
- [31] M. S. ELLIOT et W. C. POON. « Conventional optical microscopy of colloidal suspensions ». *Adv. Colloid Interface Sci.*, 92 :133, 2001.
- [32] FLUIDIGM, 2007.
- [33] J. FONT et J. MUNTASELL. « Thermobarometric study of KNO₃ phase transitions ». *Thermochimica Acta*, 293 :167, 1997.
- [34] D. FRENKEL. « How "Classical" is Nucleation? A Computer-Simulation Study, <http://online.kitp.ucsb.edu/online/cfluids02/frenkel/> », 2002.
- [35] P. GARSTECKI, M. J. FUERSTMAN, H. A. STONE et G. M. WHITESIDES. « Formation of droplets and bubbles in a microfluidic T-junction-scaling and mechanism of break-up ». *Lab Chip*, 6 :437, 2006.
- [36] U. GASSER, E. R. WEEKS, A. SCHOFIELD, P. N. PUSEY et D. A. WEITZ. « Real-Space Imaging of Nucleation and Growth in Colloidal Crystallization ». *Science*, 292 :258, 2001.
- [37] J. W. GIBBS. « On the Equilibrium of Heterogeneous Substances ». *Trans. Connect. Acad. Sci.*, 3 :108, 1876.
- [38] T. GONG, J. SHEN, Z. HU, M. MARQUEZ et Z. CHENG. « Nucleation Rate Measurement of Colloidal Crystallization Using Microfluidic Emulsion Droplets ». *Langmuir*, 23 :2919, 2007.
- [39] F. GORNICK et J. D. HOFFMAN. « Nucleation in polymers ». *Ind. Eng. Chem.*, 58 :41, 1966.
- [40] P. GUILLOT. « *Ecoulement de fluides immiscibles dans un canal submillimétrique : Stabilité et application à la rhéologie* ». Thèse de l'université, Bordeaux 1, 2006.
- [41] P. GUILLOT et A. COLIN. « Stability of parallel flows in a microchannel after a T junction ». *Phys. Rev. E*, 72 :066301, 2005.
- [42] P. GUILLOT, P. PANIZZA, J.-B. SALMON, M. JOANICOT, A. COLIN, C. H. BRUNEAU et T. COLIN. « Viscosimeter on a microfluidic chip ». *Langmuir*, 22 :6438, 2006.
- [43] A. GÜNTHER et K. F. JENSEN. « Multiphase microfluidics : from flow characteristics to chemical and materials synthesis ». *Lab Chip*, 6 :1487, 2006.
- [44] A. GÜNTHER, S. A. KHAN, M. THALMANN, F. TRACHSEL et K. F. JENSEN. « Transport and reaction in microscale segmented gas-liquid flow ». *Lab Chip*, 4 :278, 2004.
- [45] J. HALEBLIAN et W. MCCRONE. « Pharmaceutical applications of polymorphism ». *J. Pharm. Sci.*, 58 :911, 1969.

- [46] C. L. HANSEN, S. CLASSEN, J. M. BERGER et S. R. QUAKE. « A microfluidic device for kinetic optimization of protein crystallization and in situ structure determination ». *J. Am. Chem. Soc.*, 128 :3142, 2006.
- [47] C. L. HANSEN, E. SKORDALAKES, J. M. BERGER et S. R. QUAKE. « A robust and scalable microfluidic metering method that allows protein crystal growth by free interface diffusion ». *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 99 :16531, 2002.
- [48] C. HANY et B. PAVAGEAU. non publié, 2006.
- [49] M. D. HAW, W. C. K. POON et P. N. PUSEY. « Direct observation of oscillatory-shear-induced order in colloidal suspensions ». *Phys. Rev. E*, 57 :6859, 1998.
- [50] M. HE, J. S. EDGAR, G. D. JEFFRIES, R. M. LORENZ, J. P. SHELBY et D. T. CHIU. « Selective encapsulation of single cells and subcellular organelles into picoliter- and femtoliter-volume droplets ». *Anal. Chem.*, 77 :1539, 2005.
- [51] A. B. HERHOLD, D. ERTAS, A. J. LEVINE et Jr. H. E. KING. « Impurity mediated nucleation in hexadecane-in-water emulsions ». *Phys. Rev. E*, 59 :6946, 1999.
- [52] M. JOANICOT et A. AJDARI. « Droplet control for microfluidics ». *Science*, 309 :887, 2005.
- [53] S. G. KANDLIKAR, S. GARIMELLA, D. LI, S. COLIN et M. R. KING. *Heat transfer and fluid flow in minichannels and microchannels*. Elsevier, 1 edition, 2006.
- [54] D. KASHCHIEV. « Thermodynamically consistent description of the work to form a nucleus of any size ». *J. Chem. Phys.*, 118 :1837, 2003.
- [55] D. KASHCHIEV, D. CLAUSSE et C. JOLIVET-DALMAZZONE. « Crystallization and critical supercooling of disperse liquids ». *J. Colloid Interface Sci.*, 165 :148, 1994.
- [56] D. KASHCHIEV, N. KANEKO et K. SATO. « Kinetics of Crystallization in Polydisperse Emulsions ». *J. Colloid Interface Sci.*, 208 :167, 1998.
- [57] D. KASHCHIEV et G. M. ROSMALEN. « Nucleation in solutions revisited ». *Cryst. Res. Technol.*, 38 :555, 2003.
- [58] D. KASHCHIEV, P. G. VEKILOV et A. B. KOLOMEISKY. « Kinetics of two-step nucleation of crystals ». *J. Chem. Phys.*, 122 :244706, 2005.
- [59] D. KASHCHIEV, D. VERDOES et G. M. van ROSMALEN. « Induction time and metastability limit in new phase formation ». *J. Crystal Growth*, 110 :373, 1991.
- [60] S. W. KENNEDY. « Metastable KNO₃ III from solution ». *J. Crystal Growth*, 16 :274, 1972.
- [61] J. KHANDURINA et A. GUTTMAN. « Bioanalysis in microfluidic devices ». *J. Chromatogr. A*, 943 :159, 2002.
- [62] H. KRAACK, E. B. SIROTA et M. DEUTSCH. « Measurements of homogeneous nucleation in normal-alkanes ». *J. Chem. Phys.*, 112 :6873, 2000.
- [63] F. C. KRACEK. « The polymorphism of potassium nitrate ». *J. Phys. Chem.*, 34 :225, 1930.

- [64] D. LANSON, B. PAVAGEAU et C. PRADÈRE. non publié, 2006.
- [65] B. T. LAU, C. A. BAITZ, X. P. DONG et C. L. HANSEN. « A complete microfluidic screening platform for rational protein crystallization ». *J. Am. Chem. Soc.*, 129 :454, 2007.
- [66] P. LAVAL, N. LISAI, J.-B. SALMON et M. JOANICOT. « A microfluidic device based on droplet storage for screening solubility diagrams ». *Lab Chip*, 7 :829, 2007.
- [67] P. LAVAL, J.-B. SALMON et M. JOANICOT. « A microfluidic device for investigating crystal nucleation kinetics ». *J. Crystal Growth*, 303 :622, 2007.
- [68] J. LENG, B. LONETTI, P. TABELING, M. JOANICOT et A. AJDARI. « Microevaporators for kinetic exploration of phase diagrams ». *Phys. Rev. Lett.*, 96 :084503, 2006.
- [69] D. R. LIDE, editor. *Handbook of Chemistry and Physics*. CRC Press, 85 edition, 2004.
- [70] X. Y. LIU. « A new kinetic model for three-dimensional heterogeneous nucleation ». *J. Chem. Phys.*, 111 :1628, 1999.
- [71] J. R. LUFT, J. WOLFLEY, I. JURISICA, J. GLASGOW, S. FORTIER et G. T. DETITTA. « Macromolecular crystallization in a high throughput laboratory - the search phase ». *J. Crystal Growth*, 232 :591, 2001.
- [72] A. MANZ, D. J. HARRISON, E. M. J. VERPOORTE, J. C. FETTINGER, A. PAULUS, H. LÜDI et H. M. WIDMER. « Planar chips technology for miniaturization and integration of separation techniques into monitoring systems ». *J. Chromatogr.*, 593 :253, 1992.
- [73] J. C. McDONALD et G. M. WHITESIDES. « Poly(dimethylsiloxane) as a material for fabricating microfluidic devices ». *Acc. Chem. Res.*, 35 :491, 2002.
- [74] T. P. MELIA et W. P. MOFFIT. « Crystallization from aqueous solution ». *J. Colloid Sci.*, 19 :433, 1964.
- [75] N. MINC, C. FUTTERER, K. D. DORFMAN, A. BANCAUD, C. GOSSE, C. GOUBAULT et J.-L. VIOVY. « Quantitative microfluidic separation of DNA in self-assembled magnetic matrixes ». *Anal. Chem.*, 76 :3770, 2004.
- [76] J. W. MULLIN. *Crystallization*. Butterworth-Heinemann, Oxford, 4 edition, 2001.
- [77] J. W. MULLIN et K. D. RAVEN. « Influence of mechanical agitation on the nucleation of some aqueous salt solutions ». *Nature*, 195 :35, 1962.
- [78] R. MURUGAN, A. GHULE et H. CHANG. « Raman studies on ferroelectric phase. Phase III of KNO₃ ». *J. Appl. Phys.*, 86 :6779, 1999.
- [79] A. S. MYERSON. *Handbook of Industrial Crystallization*. Butterworth-Heinemann, second edition, 2002.
- [80] Y. V. MYNUKH et N. V. PETROPAVLOV. « Polymorphic transitions in molecular crystals-I. Orientations of lattices and interfaces ». *J. Phys. Chem. Solids*, 33 :2079, 1972.

- [81] K. K. NASS. « Process implications of polymorphism in organic compounds ». *AIChE*, 87 :72, 1991.
- [82] A. NIELSEN. *Kinetics of precipitation*. Macmillan, New York, pergamon press edition, 1964.
- [83] A. E. NIELSEN. « Nucleation and growth of crystals at high supersaturation ». *Kristall Technik*, 4 :17, 1969.
- [84] A. F. NIEVES, G. CRISTOBAL, V. G. CHAVEZ, G. C. SPALDING, K. DHOLAKIA et D. A. WEITZ. « Optically anisotropic colloids of controllable shape ». *Adv. Mater.*, 17 :680, 2005.
- [85] J. NYVLT et J. W. MULLIN. « Design of batch agitated crystallizers ». *Kristall Technik*, 12 :1243, 1977.
- [86] W. OSTWALD. « Studien über die Bildung und Umwandlung fester Körper ». *Z. Phys. Chem.*, 22 :289, 1897.
- [87] T. PALBERG, W. MONCH, J. SCHWARZ et P. LEIDERER. « Grain size control in polycrystalline colloidal solids ». *J. Chem. Phys.*, 102 :5082, 1995.
- [88] D. PAN, Z. GANIM, J. E. KIM, M. A. VERHOEVEN, J. LUGTENBURG et R. A. MATHIES. « Time-Resolved Resonance Raman Analysis of Chromophore Structural Changes in the Formation and Decay of Rhodopsin's BSI Intermediate ». *J. Am. Chem. Soc.*, 124 :4857, 2002.
- [89] A. PENKOVA, W. PAN, F. HODJAOGLU et P. G. VEKILOV. « Nucleation of protein crystals under the influence of solution shear flow ». *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 1077 :214, 2006.
- [90] L. POLLACK, M. W. TATE, D. C. DARNTON, J. B. KNIGHT, S. M. GRUNER, W. A. EATON et R. H. AUSTIN. « Compactness of the denatured state of a fast-folding protein measured by submillisecond small-angle x-ray scattering ». *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 96 :10115, 1999.
- [91] G. M. POUND et V. K. La MER. « Kinetics of crystalline nucleus formation in supercooled liquid tin ». *J. Am. Chem. Soc.*, 74 :2323, 1952.
- [92] RAINDANCETECHNOLOGIES, 2007.
- [93] C. N. R. RAO, B. PRAKASH et M. NATARAJAN. « Crystal structure transformations in inorganic nitrites, nitrates, and carbonates ». *Nat. Stand. Ref. Data Ser. , Nat. Bur. Stand (U. S.)*, 53 :1, 1975.
- [94] N. RODRIGUEZ-HORNEDO et D. MURPHY. « Significance of controlling crystallization mechanisms and kinetics in pharmaceutical systems ». *J. Pharm. Sci.*, 88 :651, 1999.
- [95] J.-B. SALMON, C. DUBROCQ, P. TABELING, S. CHARIER, D. ALCOR, L. JULLIEN et F. FERRAGE. « An approach to extract rate constants from reaction–diffusion dynamics in a microchannel ». *Anal. Chem.*, 77 :3417, 2005.

- [96] G. H. W. SANDERS et A. MANZ. « Chip-based microsystems for genomic and proteomic analysis ». *Trends Anal. Chem.*, 19 :364, 2000.
- [97] K. SANGWAL. « On the estimation of surface entropy factor, interfacial tension, dissolution enthalpy and metastable zone-width for substances crystallizing from solution ». *J. Crystal Growth*, 97 :393, 1989.
- [98] F. SARRAZIN. « *Microréacteurs diphasiques pour le développement rapide des procédés* ». Thèse de l'université, Bordeaux 1, 2006.
- [99] K. SATO. « Polymorphic transformations in crystal growth ». *J. Phys. D : Appl. Phys.*, 26 :B77, 1993.
- [100] K. C. SAUNDERS. « Automation and robotics in ADME screening ». *Drug Discovery Today : Technologies*, 1 :373, 2004.
- [101] R. P. SEAR. « Nucleation : theory and applications to protein solutions and colloidal suspensions ». *J. Phys. Condens. Matter*, 19 :1, 2007.
- [102] J. SHIM, G. CRISTOBAL, D. R. LINK, T. THORSEN, Y. JIA, K. PIATTELLI et S. FRADEN. « Control and measurement of the phase behavior of aqueous solutions using microfluidics ». *J. Am. Chem. Soc.*, 2007.
- [103] O. SÖHNEL. « Electrolyte crystal-aqueous solution interfacial tensions from crystallization data ». *J. Crystal Growth*, 57 :101, 1982.
- [104] H. SONG, D. L. CHEN et R. F. ISMAGILOV. « Reactions in droplets in microfluidic channels ». *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 45 :7336, 2006.
- [105] H. SONG et R. F. ISMAGILOV. « Millisecond kinetics on a microfluidic chip using nanoliters of reagents ». *J. Am. Chem. Soc.*, 125 :14613, 2003.
- [106] H. SONG, J. D. TICE et R. F. ISMAGILOV. « A microfluidic system for controlling reaction networks in time ». *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 42 :768, 2003.
- [107] S. SUGIURA, T. ODA, Y. IZUMIDA, Y. AOYAGI, M. SATAKE, A. OCHIARI, N. OHKOHCHI et M. NAKAJIMA. « Size control of calcium alginate beads containing living cells using micro-nozzle array ». *Biomaterials*, 26 :3327, 2005.
- [108] P. TABELING. *Introduction à la microfluidique*. Belin, 1 édition, 2003.
- [109] V. TALANQUER et D. W. OXTOBY. « Crystal Nucleation in the presence of a Metastable critical point ». *J. Chem. Phys.*, 109 :223, 1998.
- [110] G. TAYLOR. « Dispersion of soluble matter in solvent flowing slowly through a tube ». In *Proc. R. Soc. London*, page 186, 1953.
- [111] S. K. THANAWALA et M. K. CHAUDHURY. « Surface Modification of Silicone Elastomer Using Perfluorinated Ether ». *Langmuir*, 16 :1256, 2000.
- [112] T. THORSEN, S. J. MAERKL et S. R. QUAKE. « Microfluidic large-scale integration ». *Science*, 298 :580, 2002.
- [113] T. THORSEN, R. W. ROBERTS, F. H. ARNOLD et S. R. QUAKE. « Dynamic pattern formation in a vesicle-generating microfluidic device ». *Phys. Rev. Lett.*, 86 :4163, 2001.

- [114] J. D. TICE, A. D. LYON et R. F. ISMAGILOV. « Effects of viscosity on droplet formation and mixing in microfluidic channels ». *Anal. Chim. Acta*, 507 :73, 2004.
- [115] D. TSOI, K. HATTON et T. A. DOYLE. « Controlled Synthesis of Nonspherical Microparticles Using Microfluidics ». *Langmuir*, 21 :2113, 2005.
- [116] D. TURNBULL. « Kinetics of solidification of supercooled liquid mercury droplets ». *J. Chem. Phys.*, 20 :411, 1952.
- [117] D. TURNBULL. « Kinetics of crystal nucleation in some normal alkane liquids ». *J. Chem. Phys.*, 34 :820, 1961.
- [118] M. A. UNGER, H. P. CHOU, T. THORSEN, A. SCHERER et S. R. QUAKE. « Monolithic microfabricated valves and pumps by multilayer soft lithography ». *Science*, 288 :113, 2000.
- [119] A. S. UTADA, E. LORENCEAU, D. R. LINK, P. D. KAPLAN, H. A. STONE et D. A. WEITZ. « Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device ». *Science*, 308 :537, 2005.
- [120] S. VEESLER, N. FERTÉ, M.-S. COSTES, M. CZJZEK et J.-P. ASTIER. « Temperature and pH effect on the polymorphism of aprotinin (BPTI) in sodium bromide solutions ». *Crystal Growth and Design*, 4 :1137, 2004.
- [121] S. VEESLER, F. PUEL et G. FEVOTTE. « Polymorphism in processes of crystallization in solution ». *STP Pharma Pratiques*, 13 :1, 2003.
- [122] P. G. VEKILOV. « Two-step mechanism for the nucleation of crystals from solution ». *J. Crystal Growth*, 275 :65, 2005.
- [123] E. VERNEUIL, A. BUGUIN et P. SILBERZAN. « Permeation induced flows : consequences for silicone based microfluidics ». *Europhys. Lett.*, 68 :412, 2004.
- [124] Y. VIISANEN et R. STREY. « Homogeneous nucleation rates for n-butanol ». *J. Chem. Phys.*, 101 :7835, 1994.
- [125] M. VOLMER et A. WEBER. « Keimbildung in übersättigen Gebilden ». *Z. Phys. Chem.*, 119 :227, 1926.
- [126] B. VONNEGUT. « Variation with temperature of the nucleation rate of supercooled liquid tin and water drops ». *J. Colloid Sci.*, 3 :563, 1948.
- [127] A. R. WHEELER, W. R. THRONSET, R. J. WHELAN, A. M. LEACH, R. N. ZARE, Y. H. LIAO, K. FARRELL, I. D. MANGER et A. DARIDON. « Microfluidic device for single-cell analysis ». *Anal. Chem.*, 75 :3581, 2003.
- [128] M. L. WHITE et A. A. FROST. « The rate of nucleation of supersaturated potassium nitrate solutions ». *J. Colloid Sci.*, 14 :247, 1959.
- [129] G. M. WHITESIDES. « The origins and the future of microfluidics ». *Nature*, 442 :368, 2006.
- [130] P. R. WOLDE et D. FRENKEL. « Enhancement of Protein Crystal Nucleation By Critical Density Fluctuations ». *Science*, 277 :1975, 1997.

- [131] C. D. WOOD, U. MICHEL, J. P. ROLLAND et J. M. DESIMONE. « New fluoropolymer materials ». *J. Fluo. Chem.*, 125 :1671, 2004.
- [132] G. R. WOOD et A. G. WALTON. « Homogenous nucleation kinetics of ice water ». *J. Appl. Phys.*, 41 :3027, 1970.
- [133] S. XU, Z. NIE, M. SEO, P. LEWIS, E. KUMACHEVA, H. A. STONE, P. GARSTECKI, D. B. WEIBEL, I. GITLIN et G. M. WHITESIDES. « Generation of monodisperse particles by using microfluidics : control over size, shape, and composition ». *Angew. Chem. Int. Ed Engl.*, 44 :724, 2005.
- [134] A. C. ZETTMEOYER. *Nucleation*. Marcel Dekker, New York, 1969.
- [135] B. ZHENG et R. F. ISMAGILOV. « A microfluidic approach for screening submicroliter volumes against multiple reagents by using preformed arrays of nanoliter plugs in a three-phase liquid/liquid/gas flow ». *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 44 :2520, 2005.
- [136] B. ZHENG, L. S. ROACH et R. F. ISMAGILOV. « Screening of protein crystallization conditions on a microfluidic chip using nanoliter-size droplets ». *J. Am. Chem. Soc.*, 125 :11170, 2003.
- [137] B. ZHENG, J. D. TICE et R. F. ISMAGILOV. « Formation of droplets of alternating composition in microfluidic channels and applications to indexing of concentrations in droplet-based assays ». *Anal. Chem.*, 76 :4977, 2004.