THÈSE

En vue de l'obtention du

DOCTORAT DE L'UNIVERSITÉ DE TOULOUSE

Délivré par :

Institut National Polytechnique de Toulouse (Toulouse INP)

Discipline ou spécialité :

Dynamique des Fluides

Présentée et soutenue par :

M. TERENCE DESCLAUX

le vendredi 17 novembre 2023

Titre :

Levures et microfluidique : étude du biocolmatage avec des objets modèles

---

Ecole doctorale :

Mécanique, Energétique, Génie civil, Procédés (MEGeP)

Unité de recherche :

Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse (IMFT)

Directeurs de Thèse :

M. PAUL DURU

M. OLIVIER LIOT

Rapporteurs :

M. HUGUES BODIGUEL, INP GRENOBLE

M. YOEL FORTERRE, CNRS

Membre(s) du jury :

MME MARTINE MEIRELES-MASBERNAT, UNIVERSITE TOULOUSE 3, Présidente

MME CATHERINE BARENTIN, UNIVERSITE LYON 1, Membre

MME CHARLOTTE RIVIERE, UNIVERSITE LYON 1, Membre

M. MORGAN DELARUE, CNRS TOULOUSE, Membre

M. OLIVIER LIOT, TOULOUSE INP, Membre

M. PAUL DURU, TOULOUSE INP, Membre

M. PIERRE JOSEPH, CNRS TOULOUSE, Invité

Remerciements

La réalisation de cette thèse est loin d'avoir été une aventure personnelle : je suis convaincu d'avoir eu la chance d'être particulièrement bien entouré tout au long de cette aventure. Il y a donc beaucoup de monde à remercier ici !

J'ai eu la chance de disposer d'un encadrement bienveillant et stimulant, grâce à l'investissement constant de mes encadrants : Olivier Liot, Morgan Delarue, Paul Duru et Pierre Joseph. Merci pour toute l'aide que vous m'avez apporté.

Olivier, tu as été constamment à mes côtés, de Toulouse à Spetses, me soutenant à chaque étape de cette thèse. Sous ta direction, j'ai énormément appris. Je me suis toujours senti écouté et en confiance, même quand je te montrais des choses dont j'étais peu fier. Quand tu quittais mon bureau, après 5 minutes ou 1 heure de discussion, je me sentais re-motivé et j'attaquais le reste de la journée avec une certitude : c'est possible.

Morgan, ta passion pour la recherche et ton dévouement ont été une source d'inspiration pour moi. Tu as toujours pris le temps de répondre à mes questions et de m'orienter patiemment. Grâce à toi j'ai l'impression de tout connaître des levures, cet organisme si complexe, mais qui parait si simple en discutant avec toi.

Paul, tu m'as accompagné en proposant toujours des solutions pour avancer. Ton expérience, ta précision intellectuelle et tes remarques constructives m'ont permis de progresser.

Pierre, tes remarques judicieuses m'ont fait avancer rapidement sur de nombreux sujets. Ta maîtrise de la microfluidique et de la microfabrication a simplifié la conception et la réalisation de microfabrications complexes. Enfin, ton enthousiasme dans et en dehors du travail a apporté du dynamisme tout au long de cette thèse.

J'aimerais également adresser un grand merci à Yoël Forterre et Hugues Bodiguel, pour avoir accepté de rapporter cette thèse. Merci également à Martine Meireles-Masbernat d'avoir accepté de présider le jury, à Catherine Barentin et Charlotte Rivière d'avoir accepté d'examiner ce travail.

Par ailleurs, cette thèse aurait eu une toute autre allure sans la collaboration de l'équipe de Chris MacMinn, le Poromechanics Lab de l'Université d'Oxford. Chris, tu as accepté de participer à mon encadrement pendant les 2 mois de ma visite. Les meetings que nous avions régulièrement, ta disponibilité, ta bienveillance et tes conseils m'ont permis d'avancer et de mieux appréhender de nombreux phénomènes dont je parle dans cette thèse. Callum, ta présence au quotidien a été une source de motivation. Les expériences (numériques et de laboratoire) que tu as mené ont été très enrichissantes et m'ont permis d'énormément avancer. Liam, ton expérience en résolution numérique et dans la modélisation de la friction a été précieuse pour les résultats que je présente.

J'ai pu bénéficier de l'expertise de Pauline Assemat et Pascal Swider, qui ont réussi à m'expliquer simplement les bases de la poromécanique au début de ma thèse, lors de l'école « d'automne » MECABIO. Au moment d'écrire ce manuscrit, je prend du recul et réalise cette expérience a probablement été déterminante. Merci particulièrement à Pauline d'avoir pris du temps, plus tard, pour regarder mes données expérimentales, et proposer des pistes d'interprétations.

Tout au long de cette thèse, de manière régulière, j'ai également pu compter sur les conseils de Laurent Lacaze, dont la contribution a été cruciale pour approfondir la description des milieux granulaires. Je tiens également à exprimer ma gratitude envers Cyril Gadal, qui a pris part à certaines de ces discussions avec enthousiasme.

De plus, j'ai pu bénéficier de l'aide directe de nombreuses personnes que j'ai eu la chance de co-encadrer. Iels fpuont parfois essuyé les plâtres de protocoles expérimentaux (ou numériques) pas très bien écrits. Malo Sajous a réalisé un stage de M1, qui a permis de mettre en place de nombreux segments du code DEM présenté au chapitre 5. Léonardo Santana a réalisé un stage de M2 où il a réalisé les premières expériences de mesure de la perméabilité de bouchons de levures, présentés au chapitre 2. Inès Verdeille a réalisé un stage de M1, qui a permis notamment de mettre en place l'algorithme de traitement d'images présenté au chapitre 2. Enfin, Mathieu Ghenni a réalisé un stage de M2, où sa persévérance a permis de mettre en place le protocole qui a servi à l'établissement des résultats appelés « de référence » dans le chapitre 3. De plus, ses résultats ouvrent des perspectives très intéressantes pour la suite de cette thèse.

Par ailleurs, le travail des étudiants de l'option projet recherche de l'ENSEEIHT a amélioré la

compréhension que nous avions des résultats présentés ici. Merci à Tristan Marty, Anouk Cartry, Mathieu Moreau, Lucas Moreaud, et Romain Legendre.

Merci au personnel technique de soutien à la recherche : Julien Lefort pour son aide et ses solutions à tous mes petits traquas expérimentaux, Maëlle Ogier et Yara Abidine pour leur expertise en microscopie. Merci à vous trois pour avoir pris le temps de m'aider. Merci également au personnel du LAAS, Charline Blatche pour tenir la salle PF-CARAC aussi impeccablement, et à tout le personnel du service TEAMS, notamment Jean Baptiste Doucet et Laurent Mazenq : avec votre aide j'ai eu l'impression que la microfabrication était quelque chose de facile (ce qui est loin d'être évident). Lors de cette étape de microfabrication, j'ai également pu compter sur l'aide de Jeffrey Teillet de l'équipe MILE, et de Xavier Dollat à l'atelier.

Je tiens aussi à adresser des remerciements au personnel administratif de soutien à la recherche, Karine Defretin et Suzy Bernard. Suzy, sans toi, je crois que je n'aurais jamais pu partir à Oxford. Tu as investi du temps et de l'énergie pour m'aider à arranger ces 4 ordres de mission, et le règlement des frais qui ont suivi, le paiement de mes frais d'hébergement. . . Merci beaucoup. Karine, sans ton aide, je ne sais pas comment on aurait pu organiser cette journée d'équipe MPB ? Si cette journée n'a pas donné lieu à des résultats scientifiques marquants (en dehors d'un petit mal de crâne), elle fait partie des bons moments de cette thèse, qui m'ont aidé à me sentir bien dans mon travail au quotidien.

Enfin, au cours de cette thèse, mon quotidien a été égayé par l'ensemble des équipes MPB et MILE. En particulier, Sarah tu as été d'une aide très précieuse à de nombreux moments clés de cette thèse. Klervia tu as ramené de l'énergie dans mon quotidien. Merci enfin à Lucie pour les discussions passionnantes sur ces levures bizarres qui changent de forme. Merci à Baptiste pour son soutien et son aide. Merci également à Gabriel, Clara, Isaac, Julie (et la nouvelle déco de mon bureau), Tristan, Despoina, Simon, Emma, Sylvie, Baptiste, Elisa, Marion, David, Nicolas, Xavier, Anthony, et Perrine à l'IMFT ; et à Julien, Hyojun, Tiphaine, Zac, Mohammad, Lucas, et Sylvain pour votre bonne humeur quotidienne.

En dehors de l'équipe MPB, j'ai pu compter sur le soutien de Benjamin, et ses blagues nulles, Corentin et sa bonne humeur, Cyril et ses conseils de vie, Dylan et ses blagues (souvent meilleures que celles de Benjamin), Victor et les apéros Doct'eau, et l'énergie de Abi.

A Oxford, j'ai pu compter sur Oliver et Matilde. Merci pour votre bonne humeur quotidienne qui a rendu mon séjour là-bas très agréable.

Enfin, merci à mes proches pour le soutien tout au long de cette aventure. Merci aux copains, de Toulouse et d'ailleurs. Merci à ma famille. Merci à ma petite copine Alix (la meilleure) d'avoir été si chouette pendant toutes ces années et pendant la rédaction du manuscrit.

Table des matières

1 Introduction générale et état de l'art **11**
1.1 Contexte général . . . 11
1.2 La filtration de particules inertes et indéformables . . . 13
1.2.1 Préambule : terminologie employée, questions d'échelle(s) . . . 13
1.2.2 L'écoulement à travers des milieux inertes et indéformables . . . 14
1.2.3 L'encrassement et le colmatage par des particules inertes et indéformables . . . 17
1.3 La filtration de particules inertes et déformables . . . 19
1.3.1 L'écoulement à travers un milieu poreux inerte et déformable . . . 20
1.3.2 L'encrassement et le colmatage avec des particules déformables et inertes . . . 25
1.4 La filtration de particules biologiques . . . 25
1.4.1 L'écoulement à travers des milieux poreux formés de cellules vivantes . . . 25
1.4.2 Le bioencrassement et le biocolmatage . . . 28
1.5 Objectifs scientifiques, approche modèle et plan du manuscrit . . . 31
1.5.1 Motivations et objectifs . . . 31
1.5.2 L'approche modèle . . . 31
1.5.3 Plan du manuscrit . . . 33

2 Résistance hydrodynamique d'un bouchon de levures **35**
2.1 Introduction - contexte et objectifs . . . 35
2.2 Article : Hydrodynamic resistance of a yeast clog . . . 37
2.3 Résumé étendu de l'article . . . 59
2.3.1 Une méthode de mesure originale . . . 59
2.3.2 Mesures de la perméabilité et de la densité de cellules . . . 60
2.3.3 Modélisation de la relation entre perméabilité et pression hydrodynamique . . . 61
2.4 Résultats complémentaires . . . 62
2.4.1 Simulation de l'arrangement de particules polydisperses dans une géométrie confinée. . . . 62
2.4.2 Mesure de débit pendant la compression . . . 65
2.4.3 Effets de la prolifération . . . 66
2.5 Conclusions et perspectives . . . 67

3 Étude expérimentale du comportement mécanique d'un bouchon de levures **69**
3.1 Introduction . . . 69
3.2 Matériel et méthodes . . . 70
3.2.1 Protocole expérimental . . . 70
3.2.2 Traitement d'images . . . 73
3.3 Compression du bouchon par un écoulement fluide . . . 77
3.3.1 Une première représentation des résultats . . . 77
3.3.2 Résultats principaux : variabilité du déplacement pour les expériences à longueur contrôlée . . . 79
3.3.3 Expériences complémentaires : comparaison entre premier et second cycle . . . 82
3.3.4 Résultats complémentaires : effet de la hauteur des paliers et inter-comparaison des expériences . . . 84

3.4 Compression avec un « piston » . . . 88
3.4.1 Dynamique de déplacement à une altitude donnée, pour une expérience donnée 88
3.4.2 Profils de déplacements et de réarrangements . . . 88
3.5 Vers une compréhension du comportement mécanique observé . . . 93
3.5.1 Rappels théoriques . . . 93
3.5.2 Densité de cellules . . . 95
3.5.3 Mesures des contraintes locales grâce à des billes déformables fluorescentes . . . 97
3.5.4 Mesures de l'encombrement interne des cellules . . . 103
3.6 Poromécanique et prolifération cellulaire . . . 106
3.7 Discussion et conclusions . . . 111

4 Frictional poromechanics of a yeast clog 113
4.1 Introduction, state of the art, and objectives of this study . . . 115
4.1.1 Friction of dry granular media against confining walls . . . 115
4.1.2 Friction between a deformable porous medium and a confining geometry . . . 116
4.1.3 Objectives of this chapter . . . 118
4.2 Modelling . . . 118
4.2.1 Preamble : main simplifications, system of coordinates . . . 118
4.2.2 Basic equations . . . 120
4.2.3 Influence of tangential forces . . . 121
4.2.4 Friction modelling . . . 121
4.2.5 Boundary conditions, initial values . . . 122
4.3 Resolution of the equations . . . 123
4.3.1 Analytical solution during the compression . . . 123
4.3.2 Numerical resolution . . . 126
4.3.3 Validation of the numerical resolution : comparison with analytical solution . . . 129
4.4 Results and Discussion . . . 133
4.4.1 Calibration of the model . . . 133
4.4.2 Comparison with experiments : fluid-driven compression . . . 135
4.4.3 Comparison with experiments : piston compression . . . 138
4.5 Conclusion and perspectives . . . 139

5 Simulations à l'échelle de la cellule unique 143
5.1 Introduction . . . 143
5.1.1 Etat de l'art . . . 144
5.1.2 Objectifs et plan du chapitre . . . 145
5.2 Matériel et méthodes . . . 146
5.2.1 Géométrie expérimentale . . . 146
5.2.2 La méthode DEM . . . 146
5.2.3 Etat initial et polydispersité . . . 150
5.3 Résultats et discussion . . . 151
5.3.1 Cycles de compression/décompression . . . 151
5.3.2 Mesure des déplacements . . . 151
5.3.3 Comparaison aux données expérimentales . . . 153
5.3.4 Estimation des contraintes à l'intérieur du bouchon . . . 154
5.4 Conclusions et perspectives . . . 158

6 Conclusions et perspectives 161
6.1 Conclusions . . . 161
6.2 Ouvertures . . . 163
6.2.1 La filtration . . . 163
6.2.2 Les milieux poreux déformables et confinés . . . 163
6.2.3 La prolifération cellulaire . . . 163

A Expériences complémentaires lors d'un forçage par un écoulement fluide 177
A.1 Effets de l'augmentation de la longueur du bouchon au cours des cycles 179
A.2 Effets de l'histoire de construction : précontrainte 179
A.3 Effets de l'histoire de construction : décompression du bouchon 179

Table des symboles du Chapitre 1

Symbole	Unité	Description
α	$\mathrm{m.kg^{-1}}$	Résistance spécifique d'un gâteau de filtration
α_0	$\mathrm{m.kg^{-1}}$	Résistance spécifique à 1 Pa
α_c	$\mathrm{kg.s^{-1}}$	Vitesse de consommation des nutriments, par cellule
C	$\mathrm{kg.m^{-3}}$	Concentration en nutriments, mesurée en masse de nutriments par unité de volume fluide
C_c^f	$\mathrm{m^{-3}}$	Nombre de cellule par unité de volume de filtrat
C_c	$\mathrm{m^{-3}}$	Nombre de cellule déposé dans un bouchon, par unité de volume de bouchon
C	$\mathrm{kg.m^{-3}}$	Concentration en nutriments (par unité de volume fluide)
D'	$\mathrm{m^2.s^{-1}}$	Coefficient de dispersion hydrodynamique
Da	-	Nombre de Damkhöler (nombre adimensionnel)
E	Pa	Module d'Young
$\boldsymbol{\varepsilon}, \varepsilon_{ij}$	-	Tenseur des déformations, élément (i,j) du tenseur des déformations.
η	Pa.s	Viscosité dynamique d'un fluide
J	$\mathrm{m.s^{-1}}$	Vitesse de filtration
J_0	$\mathrm{m^{-1}.Pa^{-1}}$	Flux à travers la membrane à 1 Pa, en l'absence de particule déposée
k	$\mathrm{m^2}$	Perméabilité intrinsèque
k'	$\mathrm{m^2.Pa^{-1}.s^{-1}}$	Conductivité hydrodynamique
K_k	-	Constante de Kozeny
K_R	$\mathrm{m^2.s^{-1}}$	Constante de Ruth
K_c	$\mathrm{s^{-1}}$	Taux de prolifération
K_0	$\mathrm{s^{-1}}$	Taux de prolifération en l'absence de contraintes mécaniques
λ	Pa	Premier coefficient de Lamé
L	m	Longueur du milieu poreux
$\mathcal{M}$	Pa	Module œdométrique
m	kg	Masse de filtrat déposée
ν	-	Coefficient de Poisson
n	-	Indice de compressibilité
N_c	-	Nombre de cellules
N_m	$\mathrm{m^{-2}}$	Nombre de pores de la membrane, par unité de surface
ϕ	-	Porosité du milieu poreux
P	Pa	Pression hydrodynamique dans la phase fluide
Q	$\mathrm{m^3.s^{-1}}$	Débit de liquide à travers un milieu poreux
r	m	Rayon des particules sphériques
r_c	m	Rayon d'une constriction circulaire
$\tilde{R}_m$	$\mathrm{m^{-1}}$	Terme de l'équation (1.9) représentant la contribution de la résistance hydrodynamique de la membrane sur la résistance hydrodynamique totale

Symbole	Unité	Description
$\boldsymbol{\sigma}$	Pa	Tenseur des contraintes totales
$\boldsymbol{\sigma'}, \sigma'_{ij}$	Pa	Tenseur des contraintes effectives, élément (i,j) du tenseur
S_t	m^2	Surface transverse du milieu poreux
S_p	m^{-1}	Surface spécifique
t	s	Temps
$\overrightarrow{u_s}$	m	Déplacement de la matrice solide
$\overrightarrow{v_{f_{loc}}}$	$m.s^{-1}$	Vitesse du fluide dans l'espace interstitiel à la position $\overrightarrow{x}$
$\overrightarrow{v_f}$	$m.s^{-1}$	Vitesse moyenne du fluide dans l'espace interstitiel
$\overrightarrow{v_s}$	$m.s^{-1}$	Vitesse moyenne de la matrice solide
V_e	m	Volume de filtrat écoulé par unité de surface de membrane
V	m^3	Volume total du milieu poreux (comprenant la matrice solide et l'espace interstitiel)
V_f	m^3	Volume que le fluide occupe dans une matrice poreuse
V_m	m	Terme utilisé dans l'équation de Ruth (1.8), qui représente la contribution de la résistance hydrodynamique de la membrane sur la résistance hydrodynamique totale
$\overrightarrow{x}$	m	Position

Chapitre 1

Introduction générale et état de l'art

Sommaire

1.1 Contexte général 11
1.2 La filtration de particules inertes et indéformables 13
1.2.1 Préambule : terminologie employée, questions d'échelle(s) 13
1.2.2 L'écoulement à travers des milieux inertes et indéformables 14
1.2.3 L'encrassement et le colmatage par des particules inertes et indéformables . . . 17
1.3 La filtration de particules inertes et déformables 19
1.3.1 L'écoulement à travers un milieu poreux inerte et déformable 20
1.3.2 L'encrassement et le colmatage avec des particules déformables et inertes . . . 25
1.4 La filtration de particules biologiques 25
1.4.1 L'écoulement à travers des milieux poreux formés de cellules vivantes 25
1.4.2 Le bioencrassement et le biocolmatage 28
1.5 Objectifs scientifiques, approche modèle et plan du manuscrit 31
1.5.1 Motivations et objectifs 31
1.5.2 L'approche modèle 31
1.5.3 Plan du manuscrit 33

1.1 Contexte général

Le traitement de l'eau potable (Van Der Bruggen *et al.*, 2003), la détection de cellules cancereuses en circulation dans le sang (Tang *et al.*, 2015), la production de biomasse à partir d'algues (Zhang *et al.*, 2010), ou la clarification de la bière (Olajire, 2020) reposent sur la collecte de particules biologiques en suspension dans un liquide. Pour cela, la suspension de particules est poussée à travers des filtres, qui retiennent les particules et laissent passer le fluide. Les particules arrêtées forment un résidu (appelé *rétentat*), qui ralentit l'écoulement, jusqu'à conduire à l'*encrassement* du filtre. Les flux de particules et de liquide sont alors sévèrement réduits, voire bloqués. Le filtre est alors bouché, et il doit être nettoyé ou changé. La compréhension des mécanismes qui ont lieu pendant l'opération de filtration est donc essentielle pour dimensionner les filtres, prédire l'encrassement, et optimiser les conditions opératoires.

D'un point de vue technique, la filtration d'objets biologiques est un procédé qui a évolué dans le temps. D'un côté, les approches « historiques » consistent à faire passer la suspension à travers un filtre épais, par exemple plusieurs dizaines de centimètres de sable (Darcy, 1856) ou de perlite (Uluatam, 1991). De manière analogue, la suspension peut traverser une fine couche de particules déposées sur un tissu filtrant, comme de la terre de diatomée par exemple (Olajire, 2020). Ce type de technique permet de capturer une large gamme de taille de particules, jusqu'à 0.5 μm pour la terre de diatomée (Reed, 1986), mais la limite précise de rétention dépend du type de particules employées et peut difficilement être modifiée. D'un autre côté, le développement des membranes synthétiques a connu un essor important lors de la deuxième moitié du XXe siècle (Judd et Judd, 2011). Ces membranes remplacent le lit de particules et sont formés de pores dont la dimension est contrôlée. Comme les particules

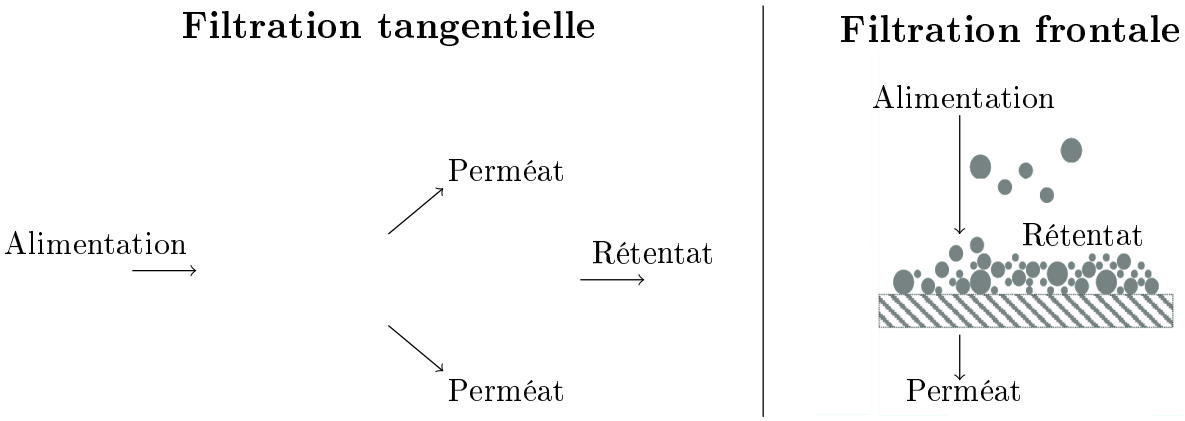

FIGURE 1.1 – À droite et au centre : Figure reprise de Karabelas et Plakas (2011), qui schématise les différences entre filtration tangentielle (gauche) et frontale (droite). Dans le premier cas, le rétentat est retenu par la membrane de filtration, tandis que dans le second cas, il peut être arraché par l'écoulement tangentiel à la membrane.

biologiques ont la capacité de se déformer et de perdre du volume lorsqu'elles sont comprimées, elles peuvent traverser des pores plus petits qu'elles (Mohandas et Gallagher, 2008; Lebleu *et al.*, 2009; Kuo *et al.*, 2010), si bien que les pores des membranes sont généralement de dimensions inférieures à la dimension des particules biologiques à filtrer. Elles retiennent alors préférentiellement les particules à leur surface, et non plus dans leur profondeur (Fillaudeau et Carrère, 2002; Yazdanshenas *et al.*, 2010).

Ces membranes peuvent être positionnées de deux manières par rapport au flux d'alimentation, comme illustré figure 1.1. Dans la première configuration, la membrane est alignée parallèlement à la direction du flux d'alimentation, on parle alors de filtration tangentielle (*cross-flow* en anglais). Dans cette disposition, un léger gradient de pression permet d'aspirer le perméat à travers la membrane tandis que l'écoulement principal est dirigé tangentiellement à la membrane. Cet écoulement tangentiel génère alors des effets de portance inertielle et de cisaillement qui limitent l'accumulation de particules sur la membrane, ce qui augmente la vitesse de filtration (Van Reis et Zydney, 2007). Dans la seconde configuration, la membrane est positionnée perpendiculairement à l'écoulement, en filtration frontale (*dead-end* en anglais). Lorsque la membrane est placée ainsi, tout le rétentat est bloqué au dessus (en amont) de la membrane, ce qui limite généralement les performances de la filtration frontale, comparée à la filtration tangentielle (Shamsuddin *et al.*, 2015, 2016). Cependant, l'absence d'écoulement tangentiel simplifie la description et l'étude des processus dirigeant le colmatage des pores et l'encrassement des membranes. Dans la suite de cette thèse, on s'intéressera donc à la filtration frontale, tout en notant que les processus (bio)physiques en jeu lors de la filtration frontale sont également présents lors de la filtration tangentielle, même si leur description est simplifiée, du fait de l'absence d'un écoulement parallèle à la membrane.

Dans la littérature, on rapporte que l'encrassement des membranes par des objets biologiques est associé à la présence d'un rétentat déposé au dessus (en amont) de la membrane : un *gâteau de filtration* (Katagiri *et al.*, 2021), comme illustré sur la figure 1.2. Les observations de ce gâteau, réalisées grâce à un microscope électronique à balayage, montrent qu'il est composé d'un grand nombre de cellules vivantes (voir figure 1.2, droite). Ces cellules forment alors un milieu poreux : la matrice solide présente des ouvertures interconnectées, des pores. De plus, ce milieu poreux est perméable : un fluide peut y circuler. Étudier l'encrassement par des particules biologiques revient alors à étudier la formation du gâteau de filtration et quantifier l'écoulement à travers celui-ci, et à l'interface entre le gâteau et la membrane. Cela nécessite alors d'étudier des nombreux phénomènes couplés, c'est à dire qui interagissent les uns sur les autres. Par exemple, l'écoulement traverse l'espace interstitiel formé par l'ensemble des pores, et applique des contraintes mécaniques [1], sur la matrice solide. Mais ces

1. Une contrainte mécanique est une force par unité de surface.

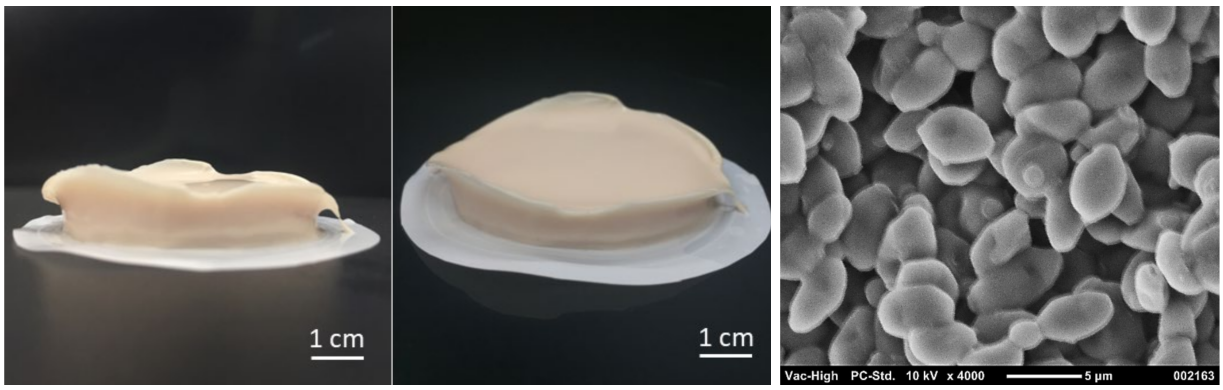

FIGURE 1.2 – À gauche et au centre : photographies d'une membrane de filtration (disque blanc) et d'un gâteau de filtration (couleur beige / écru), après la filtration frontale d'une suspension de levures *Saccharomyces cerevisiae*. À droite : micrographie du gâteau de filtration, acquises par microscopique électronique à balayage. Toutes ces figures sont reprises de Katagiri *et al.* (2021). Les objets visibles sont des cellules de levure. Ces cellules sont ovoïdes et se reproduisent par bourgeonnement d'une cellule fille à la surface d'une cellule mère.

contraintes peuvent provoquer la déformation de la matrice solide, ce qui modifie la microstructure de l'espace interstitiel, et donc l'écoulement fluide. D'autre part, il est nécessaire d'étudier des phénomènes qui occupent une large gamme d'échelles spatio-temporelles. Par exemple, le forçage mécanique est rapide, quasi-instantané, alors que la prolifération cellulaire se déroule sur plusieurs heures, voire plusieurs jours. La cellule et le pore occupent eux des échelles micrométriques, quand le gâteau de filtration et la membrane mesurent plusieurs centimètres, au moins.

L'état de l'art présenté dans la suite de ce chapitre s'intéresse donc à l'encrassement des membranes et au colmatage des pores qui la composent par des particules biologiques, en s'appuyant sur des descriptions de phénomènes de complexité croissante. Il est divisé en trois parties, en présentant successivement : (i) la filtration d'objets inertes et indéformables, où les couplages fluide-structure sont négligés et où les comportements propres au vivant sont absents, (ii) la filtration d'objets inertes et déformables, où le couplage entre la déformation de la matrice solide et l'écoulement fluide est pris en compte, et (iii) la filtration d'objets biologiques, où des particules vivantes sont utilisées. Par ailleurs, comme les gâteaux de filtration sont des milieux poreux, chacune de ces parties est présentée en deux temps. D'abord, les études portant sur l'écoulement à travers des milieux poreux inertes, déformables, ou vivants sont présentées dans un cadre plus général que celui d'une opération de filtration. Ensuite, les spécificités de l'encrassement et du colmatage sont détaillées.

1.2 La filtration de particules inertes et indéformables

1.2.1 Préambule : terminologie employée, questions d'échelle(s)

Étudier l'écoulement à travers un milieu poreux implique de présenter des processus qui se produisent sur une grande gamme d'échelles spatiales. Le lien doit être fait entre ce qui se produit à la microéchelle (à l'intérieur d'un pore par exemple) et la macroéchelle (l'ensemble du milieu, ou une partie de celui-ci). Ce lien peut être source de confusions, parce que le volume occupé par un milieu poreux (V) contient à la fois le volume occupé par le fluide (V_f) (le volume de l'espace interstitiel, représenté schématiquement sur la figure 1.3), et le volume occupé par la matrice solide. Les propriétés macroscopiques de ce milieu poreux peuvent être moyennées selon différentes conventions.

Dans la suite, la vitesse locale du fluide, en un point de l'espace interstitiel, sera nommée $\overrightarrow{v_{f_{loc}}}$. Cette vitesse de fluide peut alors être moyennée sur l'ensemble du volume considéré V, ce qui définit alors la *vitesse superficielle*, ou la *vitesse de filtration*, que l'on nommera $\overrightarrow{J}$ et qui se définit comme :

$$\overrightarrow{J} = \frac{1}{V} \int_{V_f} \overrightarrow{v_{f_{loc}}} dV. \tag{1.1}$$

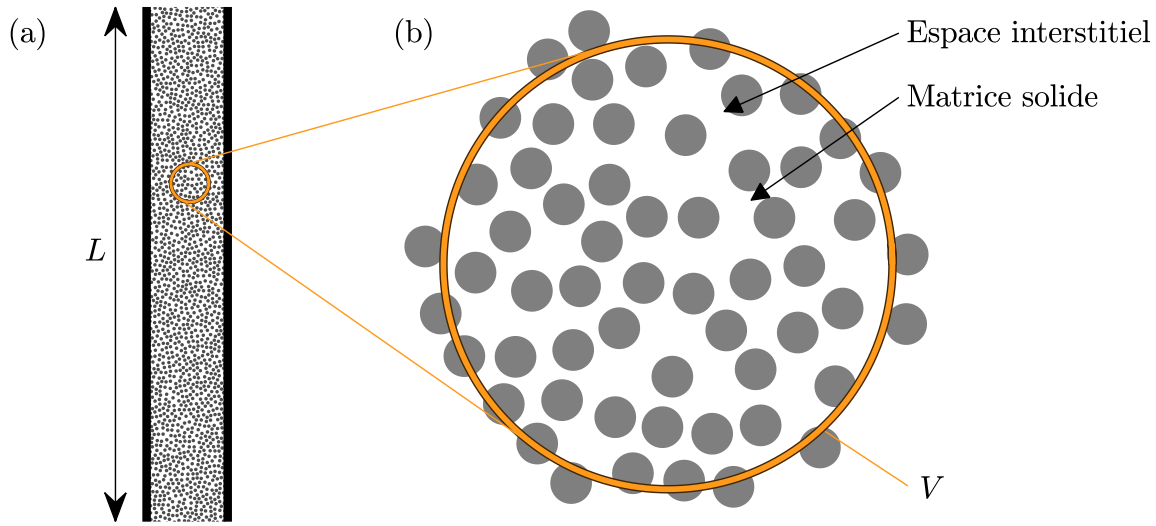

FIGURE 1.3 – Représentation schématique d'un milieu poreux, formé d'une matrice solide et d'un espace interstitiel.

La vitesse de fluide peut également être moyennée uniquement sur le volume de fluide, ce qui définit la *vitesse intrinsèque*, et qui sera notée simplement $\overrightarrow{v_f}$ dans la suite :

$$\overrightarrow{v_f} = \frac{1}{V_f} \int_{V_f} \overrightarrow{v_{f_{loc}}} dV. \tag{1.2}$$

Le lien entre vitesse intrinsèque et vitesse superficielle s'écrit alors simplement :

$$\overrightarrow{J} = \frac{V_f}{V} \times \overrightarrow{v_f} = \phi \overrightarrow{v_f}, \tag{1.3}$$

avec $\phi = V_f/V$ la porosité du milieu.

Numériquement, ces quantités peuvent être calculées sur n'importe quelle portion du milieu poreux. Cependant, pour qu'elles aient un sens physique, il existe une dimension caractéristique pour laquelle les équations du mouvement sont valides : l'échelle du volume élémentaire représentatif, qui représente le volume minimum à l'intérieur duquel les caractéristiques mesurables du milieu poreux deviennent des quantités continues (Vafai, 2005).

Ce travail de thèse traite des phénomènes qui conduisent à l'encrassement des membranes. Mais ces phénomènes peuvent être étudiés soit à l'échelle macroscopique (l'échelle du gâteau de filtration, de la membrane) soit à l'échelle microscopique (l'échelle d'un seul pore, de la particule unique). La terminologie utilisée dans cette thèse est donc adaptée, comme c'est le cas dans la littérature. En particulier, le terme d'*encrassement* (*fouling* en anglais) est fortement associé aux échelles macroscopiques, alors que le *colmatage* (*clogging* en anglais) réfère à des processus microscopiques : une membrane s'encrasse, et un pore se colmate. De même, on distinguera les gâteaux de filtration (*filter cake* en anglais) qui sont des objets macroscopiques qui se forment à la surface des membranes, des *bouchons* (*clog* en anglais) qui se forment dans ou à l'entrée d'un pore : un gâteau est donc en fait formé de nombreux bouchons.

1.2.2 L'écoulement à travers des milieux inertes et indéformables

Lors de la filtration d'objets biologiques (microscopiques) l'écoulement de liquide à travers le gâteau de filtration est rampant. Cela signifie que, dans l'équation de conservation de la quantité de mouvement, les termes liés à l'inertie du fluide sont négligeables devant ceux de la viscosité : le

nombre de Reynolds (qui compare ces deux quantités) est très faible ($Re \ll 1$). Si le liquide est newtonien [2] alors, dans l'espace interstitiel, l'équation de Stokes permet de décrire l'écoulement, en régime stationnaire [3]. En l'absence de forces volumiques, comme la gravité par exemple, cette équation s'écrit, en un point de l'espace interstitiel :

$$\eta \nabla^2 \overrightarrow{v_{f_{loc}}} = \overrightarrow{\nabla} P, \tag{1.4}$$

avec η la viscosité dynamique (exprimée en Pa.s), $\overrightarrow{v_{f_{loc}}}$ la vitesse locale du fluide (exprimée en m.s^{-1}), P (exprimée en Pa) la pression hydrodynamique, et où on a noté ∇^2 l'opérateur Laplacien et $\overrightarrow{\nabla}$ l'opérateur gradient. Cette équation, locale, peut être moyennée sur l'ensemble d'un volume élémentaire représentatif, localisé dans le milieu poreux (Whitaker, 1986). Dans ce cas, l'équation de Darcy (Darcy, 1856) permet de relier la vitesse de filtration à la différence de pression entre l'entrée et la sortie d'un tel milieu (ΔP, exprimé en Pa). Dans le cas unidimensionnel, l'équation de Darcy s'écrit [4] :

$$\Delta P = \frac{\eta L}{k S_t} Q = \frac{\eta L}{k} J, \tag{1.5}$$

avec Q [m^3.s^{-1}] le débit de liquide à travers le milieu poreux, J [m.s^{-1}] la vitesse de filtration, L [m] la longueur du milieu poreux (mesurée dans la direction de l'écoulement moyen), S_t [m^2] sa surface transverse (mesurée dans le plan transverse à l'écoulement), et k [m^2] une grandeur caractéristique du milieu considéré, appelée *perméabilité intrinsèque* [5]. L'équation de Darcy représente le fait que, pour un milieu de longueur donné, pour un fluide de viscosité donnée, et pour un débit donné, la différence de pression aux bornes de ce milieu est inversement proportionnelle à sa perméabilité : on rapporte par exemple $k \sim 10^{-19}$ m^2 pour le granite (Kranzz *et al.*, 1979), et $k \sim 10^{-7}$m^2 pour un tas de billes de 10 mm de diamètre (Ferreira *et al.*, 2010). Par ailleurs, une telle relation linéaire entre ΔP et Q permet de réaliser une analogie entre les écoulements fluides et les courants électriques. En particulier, la loi de Darcy est analogue à la loi d'Ohm, si la pression est analogue au potentiel électrique, et le débit analogue à l'intensité de courant électrique. Le terme $\frac{\eta L}{k S_t}$ est alors appelé résistance hydrodynamique, car il est analogue à une résistance électrique.

Les valeurs de perméabilité sont généralement déterminées de manière empirique, au moins jusqu'aux travaux de J. Kozeny et P. Carman (Carman, 1937) qui formulent une loi, appelée loi de Kozeny-Carman, permettant de prédire la perméabilité d'un empilement ordonné de sphères :

$$k = \frac{\phi^3 r^2}{9 K_k (1-\phi)^2}, \tag{1.6}$$

avec r [m] le rayon des sphères, K_k [-] un coefficient empirique, appelé « constante de Kozeny ». La valeur de ce coefficient empirique dépend de l'arrangement des sphères et de leur forme, il vaut par exemple environ 5 pour un arrangement ordonné de sphères monodisperses [6] (Carman, 1937). Cette loi peut également être écrite en fonction de la surface spécifique (S_p [m^{-1}]) du milieu poreux, définie comme le rapport entre la surface de contact fluide/solide du milieu poreux et le volume du milieu poreux [7] :

$$k = \frac{\phi^3}{K_k S_p^2}. \tag{1.7}$$

2. Un fluide est dit newtonien lorsque ses contraintes de cisaillement visqueuses sont linéairement proportionnelles au taux de cisaillement. L'eau liquide est un fluide Newtonien, alors que le miel, la mayonnaise, et la maïzena sont non-Newtoniens.

3. Le régime stationnaire est atteint lorsque les quantités d'intérêt sont constantes dans le temps.

4. Cette équation peut également s'écrire en 3D, à l'échelle d'un volume élémentaire représentatif. Dans ce cas, $\Delta P/L$ devient $\overrightarrow{\nabla} P$, J devient une quantité vectorielle et k une quantité tensorielle.

5. Certains auteurs préfèrent écrire l'équation de Darcy avec la conductivité hydrodynamique : k' [m^2.Pa^{-1}.s^{-1}]), définie comme $k' = k/\eta$. Dans ce cas $\Delta P = L/(S_t k') \times Q$.

6. Système monodisperse : système dont les particules ont toutes des dimensions égales, différent d'un système bidisperse, où l'ensemble des particules est composé de deux ensembles monodisperses, caractérisé par deux tailles distinctes. Aussi différent d'un système polydisperse, où les particules ont plusieurs dimensions caractéristiques.

7. En effet, on peut noter que, pour un empilement de sphères $S_p = (1-\phi)\frac{3}{r}$.

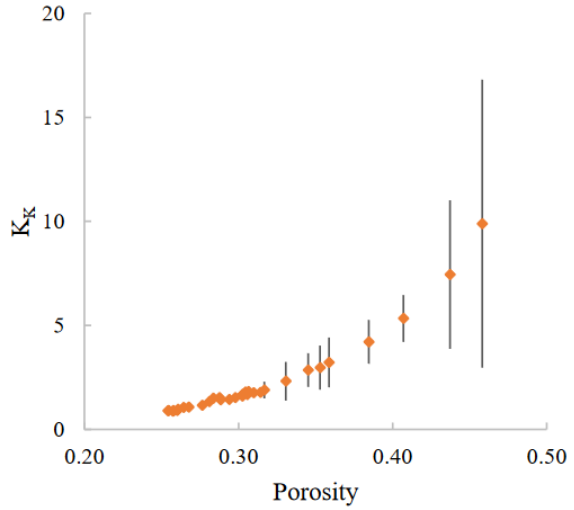

FIGURE 1.4 – Variation du coefficient de Kozeny en fonction de la porosité d'un gâteau de filtration formé de particules inertes, rigides et polydisperses. Figure reprise de Valencia Navarro (2020).

La loi de Kozeny-Carman a été appliquée à l'écoulement dans de nombreux milieux poreux inertes et indéformables. En particulier, elle permet de prédire la valeur de la perméabilité intrinsèque. Elle a été appliquée à l'écoulement autour d'agrégats de sphères dures, et son usage a été étendu à des particules non-sphériques, comme des cubes, des cylindres, ou des tiges de section carrée (Nakayama *et al.*, 2007). La différence de perméabilité due aux différentes formes de particules est prise en compte grâce à des valeurs différentes du coefficient K_k. Ozgumus *et al.* (2014) ont ainsi réalisé une étude numérique et ont montré que, pour différentes formes de pores, différents coefficients de Kozeny peuvent être obtenus. La loi de Kozeny-Carman a également été utilisée pour représenter l'écoulement à travers des agrégats de particules polydisperses (Carrier, 2003). La définition d'un diamètre moyen effectif des sphères devient alors une étape critique de la modélisation. De même, le calcul adéquat de la surface spécifique effective des sphères est lui aussi essentiel pour prendre en compte la polydispersité dans l'équation de Kozeny-Carman (Aubertin *et al.*, 2005).

D'autres auteurs critiquent l'usage de l'équation de Kozeny-Carman en dehors de milieux formés de sphères monodisperses. C'est le cas par exemple de Xu et Yu (2008), qui font un état de l'art bibliographique de l'usage de cette équation, et qui constatent que dans de très nombreux cas la « constante de Kozeny » (K_k) n'est en fait pas une constante, et que les valeurs de ce coefficient sont difficilement explicables par la microstructure du milieu poreux. Cette « constante » dépend alors de la porosité quand l'assemblée de particules devient polydisperse (Ozgumus *et al.*, 2014; Valencia Navarro, 2020), ce qui questionne la formulation employée couramment. Valencia Navarro (2020) rapporte notamment que, dans le cas de d'une assemblée de particules polydisperses, rigides et inertes, K_k augmente brutalement et exponentiellement avec la porosité. Ces résultats sont représentés sur la figure 1.4, et mettent en évidence que la constante de Kozeny augmente de près d'un ordre de grandeur lorsque la porosité augmente de 0.25 à 0.45. De même, Ozgumus *et al.* (2014) montrent que K_k dépend de la porosité et du rapport entre la taille des pores et la taille des gorges du milieu poreux (les gorges étant définies comme des canaux très étroits présents régulièrement dans le milieu poreux). Cette variable s'exprime alors grâce à 20 nouveaux coefficients déterminés de manière empirique en se basant sur des simulations d'écoulement dans une géométrie simplifiée.

Ces limitations ont conduit différents auteurs à raffiner le type de modélisation mis en place. Un raffinement de ce type d'équation a été proposé par Xu et Yu (2008), qui proposent un formalisme permettant de détailler des équations analytiques pour la perméabilité d'un milieu poreux quelconque. En supposant que le milieu poreux consiste en une série de capillaires tortueux dont les caractéristiques géométriques suivent une loi fractale, ils arrivent à une nouvelle formulation pour la modélisation de la perméabilité d'un milieu poreux inerte et rigide, à condition d'estimer correctement la paramétrisation fractale du milieu.

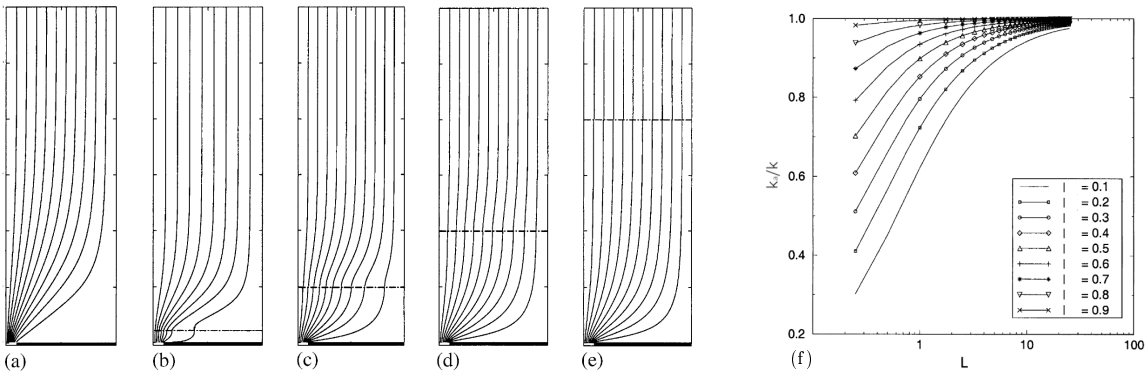

FIGURE 1.5 – Écoulement à travers une couche poreuse soutenue par une plaque perforée, pour différentes longueurs de couches poreuse. (a) - (e) : représentation des lignes de courant (lignes courbes) et de la plaque perforée (trait plein). La limite entre milieu poreux et zone sans milieu poreux est représentée à l'aide d'une ligne pointillée, et l'écoulement est dirigé de haut en bas. (f) Perméabilité apparente (k_a) normalisée par la perméabilité intrinsèque du milieu poreux (k), pour différentes tailles de perforation (l), fonction de la longueur du milieu poreux (L). l et L sont adimensionnalisées par L_x, la distance entre perforations successives. Figure reprise de Dufreche (2000).

D'autres auteurs proposent d'utiliser des simulations numériques pour prédire la perméabilité. Une méthode très adaptée à l'écoulement à travers un milieu poreux indéformable est la méthode des éléments frontière (*Boundary Element Method*). Elle exploite le fait que l'écoulement est régi par les équations de Stokes, qui sont des équations linéaires, si bien que la discrétisation de ces équations est conduite non pas à l'intérieur du domaine fluide, mais à la frontière de celui-ci, directement sur la matrice solide (Liu *et al.*, 2011). L'avantage de ces méthodes est que l'étape de discrétisation est simplifiée. Ce formalisme a notamment été utilisé pour simuler l'écoulement dans des systèmes de filtration rigides formés d'une plaque perforée de manière périodique (Dufrêche *et al.*, 2003). Ces travaux ont mis en évidence que ce problème peut être simplifié, en représentant tout ou partie du domaine à l'aide des équations de Darcy (cette simplification étant valide lorsqu'on une séparation d'échelles existe entre la taille des pores et la géométrie du domaine, la dimension des pores devant être plus petite que celle du volume élémentaire représentatif). Dans le cas où le problème est représenté simplement par une couche poreuse (où les équations de Darcy sont valides) soutenue par une plaque perforée, Dufrêche *et al.* (2002) mettent en évidence que la perméabilité apparente de la couche est inférieure à la perméabilité intrinsèque du milieu poreux. En particulier, les résultats, représentés sur la figure 1.5, montrent que cette différence entre perméabilité apparente et perméabilité intrinsèque dépend du rapport entre taille de la perforation et la distance entre les différentes perforations périodiques. La différence s'explique par la déformation et le rallongement des lignes de courant provoquée par la présence du milieu poreux (voir illustration figure 1.5).

D'autres méthodes de simulation numérique ont été développées, et permettent notamment de simuler l'écoulement dans une matrice solide déformable, et elles seront donc abordés dans la section 1.3.

1.2.3 L'encrassement et le colmatage par des particules inertes et indéformables

Historiquement, l'encrassement et le colmatage ont été étudiés à l'échelle macroscopique : l'échelle de la membrane, du gâteau de filtration. L'enjeu était alors de mesurer le débit de liquide en fonction du temps, et d'essayer ensuite de relier cette évolution du débit à différentes propriétés des particules filtrées. À cette échelle, la description des processus physiques est relativement sommaire, mais différentes lois permettent de prédire l'évolution de la vitesse de filtration. Ces lois ont été revues et décrites en détail par Duclos-Orsello *et al.* (2006), Grenier *et al.* (2008) et Iritani (2013). Dans le cas où les particules forment un gâteau de filtration, dans un dispositif à pression imposée, la relation établie par Ruth (1935) permet de relier la vitesse de filtration au volume de filtrat écoulé par unité

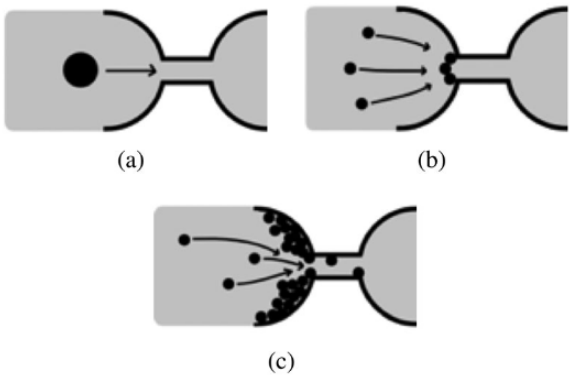

FIGURE 1.6 – Différents mécanismes responsables de l'initiation du colmatage au niveau d'une constriction : (a) tamisage, (b) formation d'arches et (c) agrégation des particules. Figure reprise de Dressaire et Sauret (2017).

de surface de membrane (V_e [m]) :

$$\frac{1}{J} = \frac{2}{K_R}(V_e + V_m), \tag{1.8}$$

avec K_R [$m^2.s^{-1}$] un coefficient mesuré empiriquement, appelé « coefficient de filtration de Ruth », et V_m [m] un terme qui représente la contribution de la résistance hydrodynamique de la membrane. Le coefficient de Ruth dépend alors de nombreuses caractéristiques expérimentales, dont la différence de pression imposée aux bornes du dispositif ΔP ou la viscosité du liquide par exemple.

Si l'intérêt de l'étude est de caractériser le gâteau de filtration, une autre relation est alors utilisée :

$$\frac{1}{J} = \frac{\eta}{\Delta P}(\frac{m}{S_t}\alpha + \tilde{R}_m), \tag{1.9}$$

avec m [kg] la masse du gâteau de filtration, $\tilde{R}_m$ [m^{-1}] un terme constant représentant la contribution de la résistance hydrodynamique de la membrane, et α [$m.kg^{-1}$] la résistance hydrodynamique spécifique du gâteau de filtration. [8]

Ces résultats à la macroéchelle permettent rarement d'observer directement le colmatage des pores et d'appréhender les processus dirigeant l'encrassement des membranes. Cette limitation a été levée grâce à l'utilisation d'outils de microfluidique, initiée par (Wyss *et al.*, 2006), qui permet alors d'observer la capture et l'accumulation des particules à la surface de membranes modèles aux géométries contrôlées. De nombreuses études ont été conduites à cette échelle, ce qui a révélé que l'initiation du colmatage peut être expliqué par trois différents mécanismes (Dressaire et Sauret, 2017), illustrés sur la figure 1.6 : (i) le tamisage (*sieving* en anglais), lorsque les particules plus grandes que les pores ne peuvent pas les traverser, (ii) l'agrégation, lorsque les particules adhèrent à la surface des canaux et entre elles, ce qui réduit le volume de l'espace interstitiel, jusqu'à le combler presque entièrement, et (iii) la formation d'arches (*jamming* ou *arching* en anglais), lorsque la suspension est concentrée en particules, si bien que les interactions répulsives entre particules les empêchent de passer à travers le pore, en formant des arches de particules.

Par ailleurs, ces études à la microéchelle permettent d'éclairer sur l'ensemble du processus de colmatage, et pas seulement son initiation. Ainsi, dans le cas où les particules sont polydisperses, comme dans le cas de suspensions biologiques, le colmatage par tamisage peut être déclenché par les particules plus grandes que la taille de la constriction (Sauret *et al.*, 2014). Tant que les grandes particules n'ont pas été retenues par la constriction, les particules plus petites que la constrictions peuvent passer. Mais une fois le colmatage initié, ces petites particules sont également retenues, et forment alors un bouchon, comme illustré sur la figure 1.7 (a), (b), et (c).

Enfin, certaines études récentes rapportent des observations de la chute de débit associée à l'accumulation des particules. Un des résultats de Delouche *et al.* (2022) est présenté sur la figure 1.7 (d).

8. La relation entre la résistance spécifique et la perméabilité s'écrit alors : $k = \frac{V}{m\alpha}$.

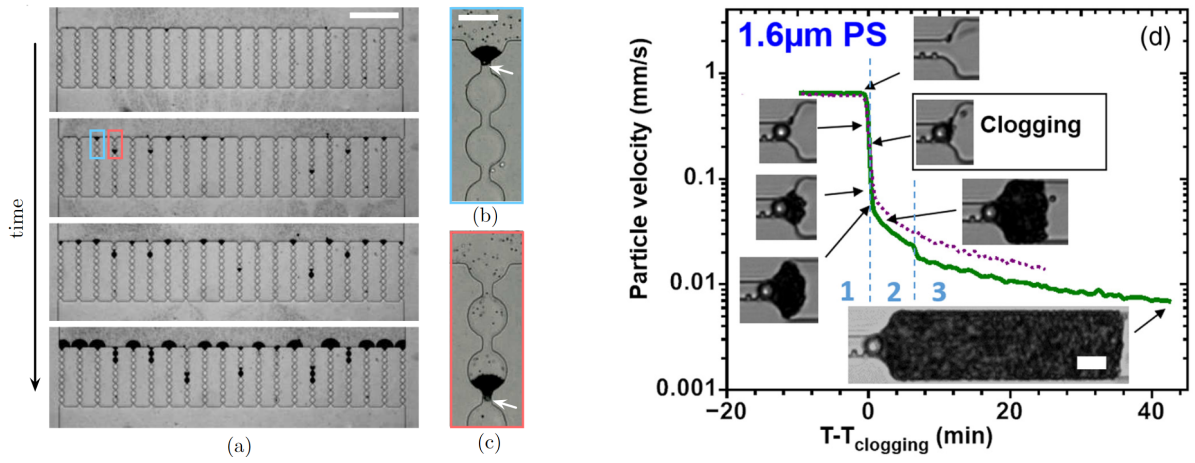

FIGURE 1.7 – Observations des premiers instants du colmatage. (a) Évolution temporelle d'une expérience de colmatage par tamisage avec des particules polydisperses dans un dipositif microfluidique consistant en 20 microcanaux en parallèle. La suspension s'écoule de haut en bas, les particules sont noires et la barre d'échelle est de 500 μm. (b) et (c) : deux agrandissements représentant la particule déclenchant le colmatage (indiquée par une flèche blanche), et les particules suivantes qui s'accumulent et forment un bouchon. La barre d'échelle est de 50 μm. La particule qui initie le colmatage peut être retenue soit (b) à l'entrée du microcanal, soit (c) à l'intérieur du microcanal. (d) Mesure de la vitesse des particules solides advectées à travers un microcanal unique, qui se colmate au cours du temps (voir images correspondantes). Les particules mesurent 1.6 μm en moyenne, avec certaines particules plus grandes que 1.6 μm. La barre d'échelle mesure 10 μm. (a)-(c) Figures reprises de Sauret *et al.* (2014). (d) Figure reprise de Delouche *et al.* (2022).

Ces résultats montrent qu'après l'initiation du colmatage par une grosse particule, toutes les particules sont retenues, y compris les plus petites. Cela diminue grandement le débit à travers le dispositif, car à mesure que les plus petites particules s'accumulent, elles ferment progressivement les chemins préférentiels d'écoulement. Lorsque suffisamment de particules se sont accumulées, le débit devient inversement proportionnel à la longueur du bouchon formé, ce qui est caractéristique d'un milieu poreux de perméabilité constante.

1.3 La filtration de particules inertes et déformables

Préambule : système de coordonnées et tenseur des déformations

Dans la suite de cet état de l'art, on considère un système formé d'une matrice solide déformable, à travers laquelle s'écoule un fluide. Pour décrire la déformation de la matrice solide, on utilise habituellement un système de coordonnées Lagrangiennes (fixe par rapport à l'élément en mouvement), tandis que le mouvement fluide est classiquement décrit dans un système de coordonnées Eulériennes (fixe par rapport à l'observateur extérieur). Dans la suite, par souci de simplification, les deux types de mouvements sont décrits à l'aide des coordonnées Eulériennes, parce qu'elles permettent des expressions analytiques plus simples et intuitives pour le déplacement et le transport du fluide à travers la matrice poreuse (MacMinn *et al.*, 2016). Pour une discussion détaillée sur la différence entre les deux systèmes, le lecteur intéressé peut se référer à Coussy (2004), ou à l'annexe A de MacMinn *et al.* (2016), qui fournit des expressions Lagrangiennes de certaines expressions analytiques développées dans la suite.

De même, par soucis de simplicité, les expressions analytiques sont données dans un repère cartésien $(\overrightarrow{e_x}, \overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z})$. Par exemple, le gradient spatial d'une quantité scalaire X s'écrit :

$$\overrightarrow{\nabla} X = \partial_x X \, \overrightarrow{e_x} + \partial_y X \, \overrightarrow{e_y} + \partial_z X \, \overrightarrow{e_z}, \tag{1.10}$$

avec ∂_i la dérivée partielle par rapport à la coordonnée $\overrightarrow{e_i}$.

Dans la suite, on considère les déformations d'un matériau solide, dans le cadre dit des petites déformations [9]. Dans ce cas, on peut définir le tenseur des déformations de la matrice solide directement à partir du champ de déplacement local ($\overrightarrow{u_s}$) :

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \frac{1}{2}(\boldsymbol{\nabla}\overrightarrow{u_s} + \boldsymbol{\nabla}\overrightarrow{u_s}^{\intercal}), \tag{1.11}$$

avec le signe $^{\intercal}$ représentant l'opérateur transposée. Enfin, les contraintes mécaniques compressives seront comptées négativement alors que la tension sera représentée par des contraintes mécaniques positives (comme en mécanique du solide).

1.3.1 L'écoulement à travers un milieu poreux inerte et déformable

L'écoulement à travers des milieux poreux déformables est caractérisé par le couplage entre la déformation de la matrice solide et l'écoulement fluide. Suivant Terzaghi (1943), la contrainte mécanique de l'ensemble du milieu poreux est décomposé en deux contributions, aux effets bien distincts. Pour une matrice solide dont le volume est fixe (par exemple, une éponge de cuisine), et pour un fluide incompressible (par exemple de l'eau) le tenseur des contraintes mécaniques subie par l'ensemble du milieu poreux ($\boldsymbol{\sigma}$) s'écrit alors :

$$\boldsymbol{\sigma} = \boldsymbol{\sigma'} - P\,\mathbf{I}, \tag{1.12}$$

avec P la pression hydrodynamique du fluide, $\mathbf{I}$ le tenseur identité, $\boldsymbol{\sigma'}$ le tenseur des contraintes effectives. Ce tenseur correspond à la contrainte vécue par la matrice solide, alors que le terme $-P\,\mathbf{I}$ représente les effets de la pression hydrodynamique du liquide. Cela permet alors d'écrire l'équation de conservation de la quantité de mouvement, pour l'ensemble du milieu poreux. En l'absence de force volumique à l'intérieur du milieu poreux (comme la gravité par exemple), et en l'absence d'inertie, cette équation s'écrit :

$$\overrightarrow{\nabla} \cdot \boldsymbol{\sigma} = 0 \Leftrightarrow \overrightarrow{\nabla} \cdot \boldsymbol{\sigma'} = \overrightarrow{\nabla} P. \tag{1.13}$$

Par ailleurs, la loi de Darcy est modifiée du fait de la déformation de la matrice solide. En effet, cette déformation modifie la structure de l'espace interstitiel, et donc la perméabilité locale du milieu. De plus, la vitesse du fluide doit être mesurée par rapport à la vitesse de la matrice poreuse. Localement, la loi de Darcy devient donc :

$$\overrightarrow{\nabla} P = \frac{\eta}{k|_{\overrightarrow{x}}}\phi(\overrightarrow{v_f} - \overrightarrow{v_s}), \tag{1.14}$$

où ($\overrightarrow{v_f} - \overrightarrow{v_s}$), représente la vitesse relative moyenne du fluide [10], $\overrightarrow{\nabla} P$, le gradient de pression local, $k|_{\overrightarrow{x}}$, la perméabilité intrinsèque dans un volume élémentaire représentatif centré en $\overrightarrow{x}$.

Ces deux dernières équations permettent de décrire plus précisément la nature du couplage entre le fluide et la structure solide. Lorsque le fluide s'écoule, un gradient de pression fluide apparait, ce qui modifie les contraintes mécaniques subies par la matrice solide, selon la conservation de la quantité de mouvement (1.13). Sous l'effet de ces contraintes, la matrice se déforme, ce qui modifie $k|_{\overrightarrow{x}}$, et ainsi le gradient de pression hydrodynamique, selon la loi de Darcy (1.14). Cela fait apparaître deux éléments comme critiques pour décrire le problème : (i) le lien entre contrainte et déformation dans la matrice solide et (ii) l'estimation précise de $k|_{\overrightarrow{x}}$. Ces deux points sont maintenant abordés successivement.

La relation entre contrainte et déformation, dans la matrice solide

Lorsqu'un matériau est soumis à des petites déformations, son comportement est souvent considéré comme élastique, c'est à dire que lorsque les contraintes sont relâchées, le matériau revient à sa position d'origine (en d'autres termes, la déformation est réversible). Dans le cas où le matériau est isotrope, et que la relation entre contraintes et déformation est linéaire, alors le comportement du matériau est entièrement déterminé à partir de deux coefficients, par exemple le module d'Young (E) et le coefficient

9. Pour une discussion précise sur ce qu'on entend par petites déformations, et les éléments qui sont négligés, se référer à un livre de mécanique des solides déformables, par exemple François *et al.* (1995)

10. Attention $\overrightarrow{v_f}$ est différent de $\overrightarrow{v_{floc}}$ et de $\overrightarrow{J}$. La différence entre ces quantités est détaillée en section 1.2.1.

de Poisson (ν) [11]. Dans la suite, le comportement mécanique de ce matériau est présenté dans le cas où il est comprimé par un piston dans une seule direction, sans être confiné latéralement, puis dans le cas d'une compression uniaxiale confinée, avant de présenter le cas où les contraintes proviennent d'un écoulement fluide.

Dans le cas où le matériau n'est pas confiné latéralement et où les contraintes mécaniques sont appliquées dans une seule direction (par exemple la direction $\overrightarrow{e_y}$), la relation suivante est bien adaptée pour relier le tenseur des contraintes ($\boldsymbol{\sigma'}$) et le tenseur des déformations ($\boldsymbol{\varepsilon}$) :

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \frac{1+\nu}{E}\boldsymbol{\sigma'} - \frac{\nu}{E}Tr(\boldsymbol{\sigma'})\boldsymbol{I}, \tag{1.15}$$

avec $Tr(\boldsymbol{\sigma'})$ la trace du tenseur des contraintes. Cette relation est très utile car, dans le cas d'une compression uniaxiale non-confinée, comme dans les essais de tractions réalisés en mécanique des matériaux continus, le tenseur des contraintes est uniforme dans le matériau et n'a plus qu'une valeur non nulle (σ'_{yy}) [12] égale à la contrainte extérieure imposée (σ'^{*}). Et le tenseur des déformations devient alors :

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \begin{pmatrix} -\nu\dfrac{\sigma'_{yy}}{E} & 0 & 0 \\ 0 & \dfrac{\sigma'_{yy}}{E} & 0 \\ 0 & 0 & -\nu\dfrac{\sigma'_{yy}}{E} \end{pmatrix}, \tag{1.16}$$

ce qui signifie que le matériau se comprime selon la direction $\overrightarrow{e_y}$, et se dilate dans les autres directions, d'une quantité qui dépend du coefficient de Poisson ν. La relation $\sigma'_{yy} = E\varepsilon_{yy}$ explique pourquoi E est parfois considéré comme équivalent à la raideur d'un ressort.

Dans le cas où le matériau est placé dans une géométrie confinée, et en l'absence de friction avec les parois, le déplacement du matériau est nul dans toutes les directions, sauf dans la direction de chargement. La relation 1.15 s'écrit alors sous une autre forme, plus adaptée :

$$\boldsymbol{\sigma'} = (\mathcal{M} - \lambda)\boldsymbol{\varepsilon} + \lambda Tr(\boldsymbol{\varepsilon})\boldsymbol{I}, \tag{1.17}$$

avec $\mathcal{M}$ le module œdométrique, et λ le premier coefficient de Lamé [13]. Cette relation est utile car, dans le cas d'un essai de compression confinée, comme dans les essais œdométriques en mécanique des sols, le tenseur des déformations est uniforme et n'a qu'une composante non-nulle ε_{yy}, et le tenseur des contraintes est uniforme et vaut :

$$\boldsymbol{\sigma'} = \begin{pmatrix} \lambda\varepsilon_{yy} & 0 & 0 \\ 0 & \mathcal{M}\varepsilon_{yy} & 0 \\ 0 & 0 & \lambda\varepsilon_{yy} \end{pmatrix}, \tag{1.18}$$

ce qui permet de déterminer directement les coefficients $\mathcal{M}$ et λ à partir d'un essai œdométrique.

Dans le cas où le matériau est confiné latéralement, et où les contraintes sont imposées par un écoulement fluide, alors les équations (1.13) et (1.14) doivent être résolues en même temps. Mais, en régime stationnaire, si la perméabilité est uniforme, alors le gradient de pression est uniforme. Dans ce cas, l'équation (1.13) implique que le gradient de contraintes mécaniques effectives est uniforme. Les contraintes mécaniques varient alors linéairement dans le milieu. Comme le lien entre contraintes et déformation est linéaire, cela implique que les déformations varient également de manière linéaire dans le milieu. Ce profil de déformation est donc radicalement différent du profil de déformation obtenu dans le cas d'une compression mécanique, par exemple à l'aide d'un piston perméable. Ce cas est illustré par les expériences réalisées par Parker *et al.* (1987) et présentées figure 1.8. Dans ces expériences, une éponge de cuisine est placée dans une géométrie confinée et est comprimée soit à l'aide d'un piston perméable, soit à l'aide d'un écoulement d'eau dirigé de haut en bas. Dans le cas

11. Pour une démonstration, voir par exemple François *et al.* (1995).

12. Cela requiert que la section transverse à $\overrightarrow{e_y}$ soit constante, sinon, le tenseur de contraintes n'est plus constant et peut avoir d'autres termes non-nuls.

13. Ces grandeurs peuvent être exprimées en fonction de E et ν, par exemple $\mathcal{M} = \frac{E(1-\nu)}{(1+\nu)(1-2\nu)}$.

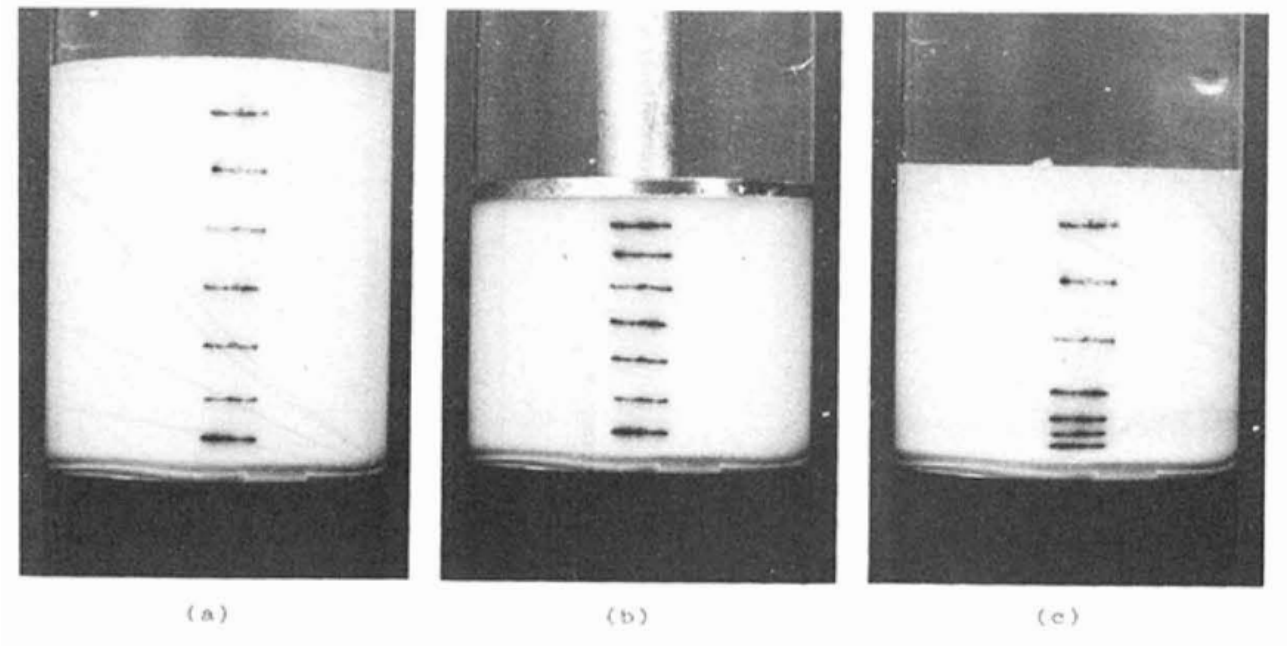

FIGURE 1.8 – Une éponge de cuisine se déforme suite à l'application de deux différents forçages. (a) Aucune contrainte solide, aucun gradient de pression hydrodynamique, l'éponge est dans son état de référence, non déformé. (b) Compression mécanique de la matrice solide à l'aide d'un piston, en l'absence de gradient de pression hydrodynamique montrant une déformation uniforme. (c) Compression à l'aide d'un flux de liquide, dirigé du haut vers le bas, un gradient de pression hydrodynamique est imposé et la matrice solide se déforme de manière non-uniforme. Figure reprise de Parker *et al.* (1987).

où l'éponge est comprimée à l'aide d'un piston, les déformations sont uniformes sur toute la hauteur, alors que lorsqu'un écoulement liquide la traverse, la déformation est non-uniforme, maximale en bas de l'éponge et minimale en haut de l'éponge. Ces éléments expliquent pourquoi une interprétation physique pratique (mais peu rigoureuse) de l'équation (1.13), est que le gradient de pression fluide agit à la manière d'une force volumique qui s'exercerait à l'intérieur de la matrice solide (MacMinn *et al.*, 2016).

Pour finir, ces éléments représentent une simplification des milieux rencontrés lors des opérations de filtration. En particulier, la friction entre le matériau comprimé et les parois qui le confinent peuvent modifier significativement le comportement effectif du matériau, en dissipant l'énergie fournie, et en retenant le matériau dans certains déplacements. Le comportement mécanique de la matrice solide a été approximée par un comportement élastique linéaire, alors que le matériau est formé de particules individuelles, qui peuvent se réarranger et donner lieu à des déformatiFons plastiques. Ces deux simplifications sont abordées en détail dans les chapitres 4 et 5 de ce manuscrit, respectivement. L'état de l'art précis associé à chacune de ces simplifications sera donc détaillé en introduction de ces chapitres.

La perméabilité dans un milieu déformable

La manière la plus simple de prédire la perméabilité d'un milieu déformable est de la calculer en se basant sur des corrélations empiriques, dérivées de l'équation de Kozeny-Carman, détaillée précédemment, ou la modélisation fractale de Xu et Yu (2008). L'avantage de ces méthodes est leur relative simplicité de mise en oeuvre, et leur rapidité d'exécution. À partir de quelques équations analytiques, des coefficients peuvent être calibrés à partir des données expérimentale, et une valeur de perméabilité peut être donnée. Certains auteurs proposent par exemple de faire varier la « constante » de Kozeny à mesure que le milieu se déforme, et proposent une loi empirique pour représenter cette variation en fonction de la porosité (Valencia *et al.*, 2022). L'inconvénient de ces méthodes est leur faible robustesse : les coefficients calibrés sont valides pour une étude donnée mais peuvent être difficiles

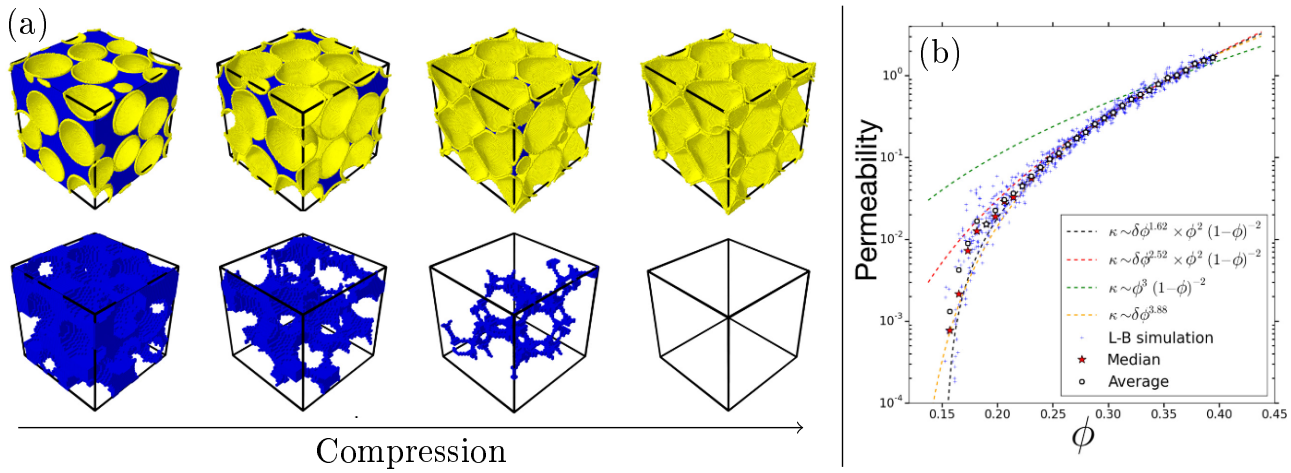

FIGURE 1.9 – Simulations de l'écoulement dans un milieu poreux déformable, formé de sphères déformables polydisperses. (a) : évolution de la déformation de la matrice solide (jaune) et de l'espace interstitiel permettant la percolation (bleu). À mesure que la contrainte compressive augmente (images de gauche à droite), les pores permettant la percolation se ferment. (b) : perméabilité en fonction de la porosité. Simulations avec méthode de lattice Boltzmann (points bleu), moyenne glissante (ronds noirs vides), et médiane glissante (étoiles rouges). Différentes relations analytiques sont proposées pour représenter la variation de la perméabilité en fonction de la porosité, dont la relation de Kozeny-Carman (pointillés vert). Figure reprise de Gniewek et Hallatschek (2019).

à reproduire dans des situations légèrement différentes de la situation initiale. De plus, ce type de loi représente de manière approximée les milieux poreux déformables. En particulier, lorsque la porosité diminue, il arrive un moment où les pores ne sont plus connectés : les gorges qui les relient se ferment complètement. Si bien que l'on peut aboutir à des configurations où la perméabilité du milieu est nulle et la porosité n'est pas nulle (Meireles *et al.*, 2004; Churakov et Prasianakis, 2018; Gniewek et Hallatschek, 2019). De même, dans l'équation de Kozeny-Carman et dans les modélisations fractales, le rapport entre la longueur parcourue par une particule fluide et la longueur du milieu poreux (la *tortuosité*) est constant. Mais lorsque des canaux se ferment, la tortuosité augmente, ce qui diminue la perméabilité (Gniewek et Hallatschek, 2019). Ainsi, dans sa revue sur la modélisation fractale de la perméabilité, Xu (2015) ne mentionne aucune étude réalisée sur un milieu déformable. À notre connaissance, même si certaines études ont utilisé des équations dérivées empiriquement de l'équation de Kozeny-Carman (Meireles *et al.*, 2002, 2004), l'utilisation de ce type d'équation est en général problématique pour les milieux poreux déformables.

Ces limitations ont poussé les chercheurs à développer une grande variété de manières de résoudre l'écoulement dans un milieu poreux déformable. La description fine et exhaustive de toutes ces méthodes serait longue et n'apporterait pas d'informations utiles pour la suite du manuscrit. Dans la suite, ces méthodes sont regroupées en trois groupes. Une description plus détaillée et complète des méthodes utilisées dans la littérature peut être trouvé dans Ladd et Verberg (2001), van der Sman (2009), et Xiong *et al.* (2016).

Dans le premier groupe de méthodes, la phase fluide est résolue de manière la plus exacte possible : ce sont les méthodes résolues, ou de simulation numérique directe. Celui-ci regroupe notamment les méthodes dites de lattice Boltzman (van der Sman, 2009), où les équations de Bolztman sont résolues sur un réseau, et la méthode de frontière immergée (*Immersed Boundary Method*) (Dillon *et al.*, 1996), où la phase liquide est discrétisée sur un maillage fixe et la phase solide est représentée dans un domaine fictif, dit « immergé », où une seule vitesse et un champ de pression existent pour les deux phases (Dillon *et al.*, 1996). L'avantage des méthodes appartenant à ce groupe est qu'elles résolvent directement les équations de la phase fluide, et que le lien avec la phase solide est direct, si bien qu'aucune équation de fermeture n'est nécessaire pour bien prendre en compte le transfert d'énergie entre les différentes phases. La méthode de lattice Boltzman est maintenant largement utilisée, et

de nombreux auteurs ont décrit le couplage de ces méthodes avec des mouvements de la matrice solide (Han et Cundall, 2013; Gniewek et Hallatschek, 2019). L'inconvénient de ce type de méthodes est le coût de calcul relativement élevé qu'elle impose. Typiquement la méthode Immersed Boundary Method requiert un maillage dont la taille est au moins 10 fois plus fin que la plus petite des particules, d'après Kloss *et al.* (2012). D'autre part, l'écoulement n'est pas résolu dans les endroits où la taille de la grille/réseau est plus grande que l'espace entre particules, ce qui emmène les auteurs à devoir rajouter des termes correctifs pour bien représenter le couplage fluide-solide lorsque les particules sont proches (van der Sman, 2009), ou à conduire des études simplifiées, avec un faible nombre de particules et à définir un seuil où la percolation est complètement interdite (Gniewek et Hallatschek, 2019). Ainsi, la différence entre les données expérimentales et l'approche de Kozeny-Carman peut être expliquée à l'aide d'une modélisation type lattice Bolztman, lorsqu'une assemblée de 50 particules polydisperses est comprimée (Gniewek et Hallatschek, 2019).

Le second groupe de méthodes consiste à discrétiser les équations de Navier-Stokes sur un maillage dont la taille est du même ordre de grandeur, ou supérieure à la taille des particules, comme dans la méthode appelée « Volume Of Fluid » (VOF) (Raeini *et al.*, 2012). Cette approche permet de discrétiser les équations sur un maillage fixe, chaque maille étant remplie d'une proportion donnée de solide et de fluide. La phase solide et la phase liquide sont alors reliées à l'aide d'équations de fermeture. Ce type de méthode est dit non résolu, car tout le couplage repose sur ces équations de fermeture, qui approximent les termes de transfert d'énergie d'une phase à l'autre. L'avantage de ces méthodes est leur relative simplicité de mise en œuvre. En effet, il existe déjà de nombreux logiciels qui résolvent les équations de Navier-Stokes en les discrétisant, si bien que certains auteurs ont adapté ces programmes à la simulation de l'écoulement dans une matrice déformable (Kloss *et al.*, 2012; Li *et al.*, 2019). L'inconvénient de ce type de méthodes est qu'elles reposent sur des équations de fermeture. Ces équations sont alors un point sensible de la modélisation [14], et elles doivent faire l'objet d'une validation précise et circonstanciée, à l'aide d'expériences dédiées ou d'autres simulations conduites avec une simulation numérique directe. Les études de ce groupe de méthodes ont notamment réussi à simuler la filtration d'un gâteau entier de filtration, contenant jusqu'à 10^5 particules (Li *et al.*, 2019). Dans le cas d'assemblées monodisperses, les résultats montrent que la résistance hydrodynamique dépend du rayon des particules à la puissance -4 (elle dépend de l'inverse du rayon à la puissance 4). Dans le cas de particules polydisperses, la présence de particules plus petites que la moyenne augmente fortement la résistance hydrodynamique, surtout lorsque les petites particules peuvent remplir les vides entre les grosses particules. Enfin, diminuer le module d'Young des particules augmente la résistance hydrodynamique (Li *et al.*, 2019).

Le troisième et dernier groupe de méthodes regroupe les méthodes appelées réseaux de pores (*Pore-Network*) (Chareyre *et al.*, 2012; Xiong *et al.*, 2016; Caulk *et al.*, 2020). Ce type de méthode est en plein essor, et est particulièrement adapté aux configurations où les particules sont très proches les unes des autres, où la porosité du milieu solide est faible. Dans ce cas, le milieu poreux peut être représenté par un réseau de pores, connectés entre eux par des gorges. Les modèles Pore-Network proposent de résoudre analytiquement les équations de Stockes dans chaque gorge, puis de construire un modèle de réseaux de résistances hydrodynamiques, qui peut être résolu analytiquement. La résolution des équations est alors grandement simplifiée et demande très peu de temps de calcul et de mémoire, comparé aux deux premiers groupes de méthodes. Cependant, si certains articles rapportent des résultats concernant la sédimentation de particules déformables (Catalano *et al.*, 2014), ou sur la capture de particules à l'intérieur d'une membrane épaisse de filtration (Shabani *et al.*, 2020), ce type de méthode n'a encore pas été appliquée pour étudier l'écoulement à travers un gâteau de filtration, à notre connaissance.

En résumé, il existe une grande variété de méthodes permettant de simuler l'écoulement à travers les milieux poreux déformables, le choix final étant dicté par les spécificités de l'étude et les ressources numériques disponibles. Les méthodes résolues offrent une précision élevée mais nécessitent des temps de calcul importants. Les méthodes non résolues sont moins demandeuses en terme de ressources, mais la qualité des résultats dépend de la précision des équations de fermeture. Enfin, les méthodes de

14. C'est à dire qu'une petite erreur dans les équations de fermeture peut avoir des grands impacts sur les résultats obtenus.

réseaux de pores sont simples et économiques, mais leur application à la filtration est encore limitée.

1.3.2 L'encrassement et le colmatage avec des particules déformables et inertes

Dans cette partie, les particules étudiées sont des particules déformables dont le comportement *biologiquement actif* est absent. Rentrent alors dans cette catégorie des particules synthétiques, comme des hydrogels, et des particules d'origine biologique mais qui ne produisent aucune réponse active, comme des micelles formées de caséines de lait par exemple.

Le suite de cet état de l'art se focalise sur l'encrassement et le colmatage initié par tamisage. Dans ce cas, il existe un niveau théorique de contraintes minimum à fournir pour faire passer une particule formée d'un matériau élastique à travers un pore (Dressaire et Sauret, 2017). Ce seuil de force est rapporté comme proportionnel à $E(r/r_c)^{14/3}$, avec E le module d'Young de la particule, r son rayon et r_c le rayon de la constriction, le facteur de proportionnalité dépendant de la géométrie exacte du pore (Dressaire et Sauret, 2017). C'est ce qui explique que, lorsque ces particules sont utilisées dans des systèmes de filtration aux pores légèrement plus petits qu'elles, elles peuvent parvenir à les traverser grâce à leur capacité soit à se déformer (changer de forme), soit à se comprimer (changer de volume) (Dressaire et Sauret, 2017; Li *et al.*, 2015; Bouhid de Aguiar *et al.*, 2019), le mode précis de déformation/compression dépendant alors principalement du niveau de contraintes appliquées (Bouhid de Aguiar *et al.*, 2018).

Lorsque des particules sont retenues par le dispositif de filtration, le colmatage est initié et on observe la formation de gâteaux de filtration ou de bouchons, comme illustré sur la figure 1.10. Mais, contrairement aux résultats obtenus avec des particules indéformables, les agrégats de particules sont compressibles. Ainsi, les résultats rapportés par Bouhid De Aguiar et Schroën (2020), à la microéchelle, sont reportés sur la figure 1.10 et montrent que l'aire relative du gâteau dépend de la pression appliquée : plus la pression augmente et plus le gâteau se comprime. De plus, cette compression est irréversible : après un cycle de compression/décompression, le gâteau ne retourne pas exactement dans sa position initiale. Les analyses à la microéchelle ont alors révélé que cette irréversibilité était provoquée par des avalanches à l'intérieur des gâteaux de particules. Ces avalanches sont provoquées par le changement de conformation de quelques cellules individuelles. Ces cellules se réarrangent, en comblant les vides dans la structure initiale, et en créant ainsi des assemblées de particules plus compactes qu'initialement (Lüken *et al.*, 2020).

Par ailleurs, comme détaillé plus haut pour les milieux poreux, la perméabilité d'un agrégat de particules molles dépend de l'état des contraintes mécaniques compressives, qui déforment les particules et l'espace interstitiel. Dans le cas des micelles de caséine de lait, Bouchoux *et al.* (2014) rapportent ainsi que la perméabilité d'un agrégat dépend de la concentration en caséine dans cet agrégat. Les résultats sont présentés sur la figure 1.11, et montrent que la perméabilité diminue de près de 10^{-16} m^2 à moins de 10^{-20} m^2 lorsque la concentration en caséine augmente, sous l'effet de contraintes mécaniques. Dans ce cas, une loi empirique est proposée, pour relier la perméabilité à la concentration en caséine. Cette loi suggère que dans des configurations non-comprimées, la perméabilité est inversement proportionnelle à la concentration en caséine, alors que pour les grandes concentrations, la perméabilité varie comme la concentration à la puissance -6. Cependant, si cette modélisation semble bien adaptée pour la perméabilité des micelles de caséine de lait, les auteurs ne fournissent pas d'explication physique sur ce qui pourrait expliquer un tel comportement, si bien qu'un consensus n'existe pas encore sur ce qui contrôle la perméabilité d'un milieu formé de particules déformables et inertes.

1.4 La filtration de particules biologiques

1.4.1 L'écoulement à travers des milieux poreux formés de cellules vivantes

L'écoulement à travers des milieux poreux formés de cellules vivantes révèle plusieurs niveaux de complexité supplémentaires. En effet, les cellules vivantes ont la capacité de proliférer (elles changent de volume et peuvent se dupliquer), consommer des nutriments, produire différentes molécules ou particules, comme des substances polymériques extracellulaires (Corsino *et al.*, 2022), et forment en général des assemblées de particules polydisperses. De plus, lorsque le milieu est formé de plusieurs

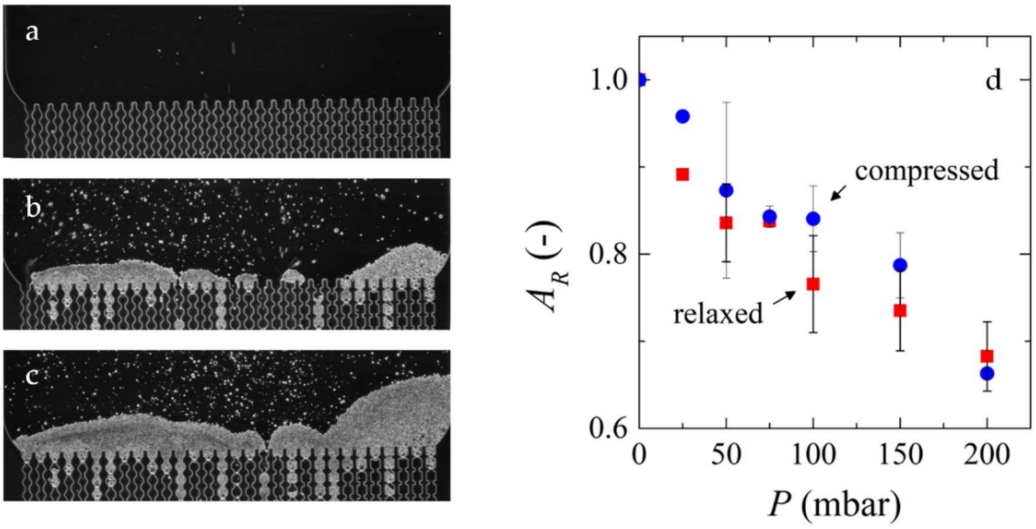

FIGURE 1.10 – (a)-(c) Micrographies du dépot de particules au dessus d'un dispositif microfluidique mimant une membrane de filtration (a) avant le colmatage (b) au milieu de l'opération de filtration, après l'initiation du colmatage et (c) à la fin de l'opération de filtration. (d) Changement de l'aire relative du gâteau de filtration lorsqu'il est comprimé, à la fin de l'opération de filtration, en augmentant la pression (cercles bleus), puis en la diminuant (carrés rouges). Figure reproduite de Bouhid De Aguiar et Schroën (2020).

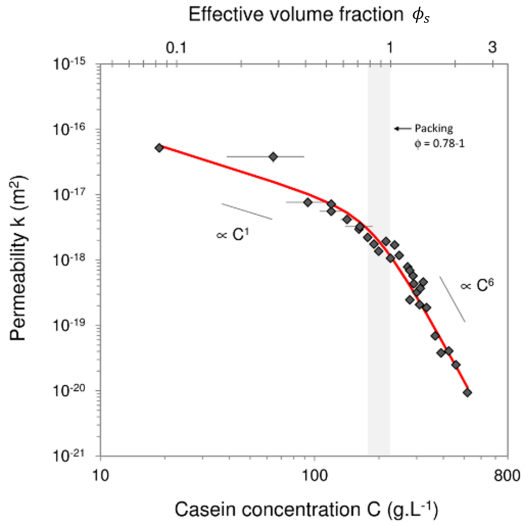

FIGURE 1.11 – Perméabilité d'un agrégat de micelles de caséine de lait, en fonction de la concentration en caséine : données expérimentales (points noirs) et modélisation empirique (courbe rouge). La fraction volumique solide est présentée sur l'axe des abscisses haut, et peut présenter des valeurs supérieures à 1, dans le cas où les micelles sont comprimés fortement, car elles peuvent se comprimer pour avoir un volume inférieur à leur volume initial, utilisé pour calculer la fraction volumique solide. Figure reprise de (Bouchoux *et al.*, 2014).

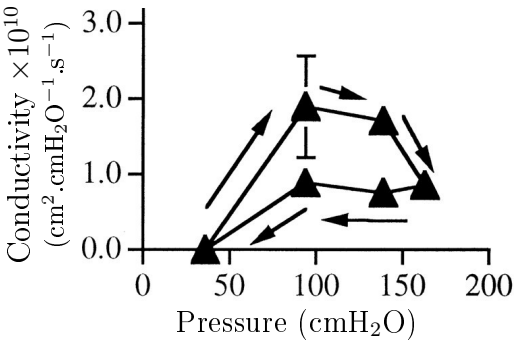

FIGURE 1.12 – Mesure de la conductivé hydrodynamique d'une tumeur de fibrosarcome de rat, en fonction de la différence de pression fluide imposée. Les résultats repris de (Zhang *et al.*, 2000) montrent une tendance non-monotone entre la conductivité hydrodynamique et la pression d'entrée. Les flèches représentent l'ordre dans lequel la pression est modifiée. Les barres d'erreur représentent l'écart type de toutes les expériences (n=5). Pour rappel : 1 cmH_2O = 98.1 Pa.

types de cellules vivantes (par exemple plusieurs espèces), on peut également assister à des compétitions entre espèces (Coyte *et al.*, 2017). La réponse biologique des cellules peut alors modifier la perméabilité de l'assemblée, du tissu (un tissu étant constitué de cellules vivantes connectées entre elles et à une matrice extracellulaire). Par exemple, il a été rapporté que lorsqu'un tissu s'inflamme, sa perméabilité augmente (Swartz et Fleury, 2007).

Ces couplages sont complexes à étudier. Si bien que les études se placent généralement dans des configurations simplifiées, dans lesquelles certains d'entre eux sont négligés. Dans les cas les plus simplifiés, des études rapportent des valeurs de perméabilité ou des caractéristiques mécaniques pour un tissu donné, en supposant que le comportement biologiquement actif de cellules du tissu n'a pas impacté l'expérience, et l'expérience n'a pas modifié ces grandeurs. Il est notamment supposé que dans les expériences ex-vivo la transplantation du tissu n'affecte pas la perméabilité mesurée (Swartz et Fleury, 2007). Selon le tissu utilisé et les études réalisées, les valeurs rapportées occupent alors une gamme de valeurs plus ou moins large. Par exemple, les valeurs de conductivité hydrodynamique rapportées pour le cartilage condyle fémoral varient entre 2.25×10^{-15} $m^2.Pa^{-1}.s^{-1}$ et 5.25×10^{-15} $m^2.Pa^{-1}.s^{-1}$ (Levick, 1987), alors que les valeurs rapportées pour une tumeur de fibrosarcome de rat varient entre 1.02×10^{-14} $m^2.Pa^{-1}.s^{-1}$ et 1.02×10^{-11} $m^2.Pa^{-1}.s^{-1}$, soit trois ordres de grandeur de différence. (Zhang *et al.*, 2000; Swartz et Fleury, 2007). Par ailleurs, de nombreuses études précisent que les valeurs de perméabilité rapportées dépendent de la gamme de pression hydrodynamique utilisée pour la mesurer (Swartz et Fleury, 2007). Certaines études rapportent ainsi des variations non-triviales de la conductivité hydrodynamique (pour rappel $k' = k/\eta$). Par exemple lors d'une infusion intratumorale, la perméabilité croit initialement avec la pression avant de diminuer (résultats figure 1.12). Ce comportement est interprété comme le fait qu'à basse pression, l'écoulement ne peut pas être mesuré. Par ailleurs, aux pressions intermédiaires, une hystérésis est visible sur le signal de conductivité, ce qui suggère que le tissu s'est déformé de manière irréversible sous l'action de l'écoulement (Zhang *et al.*, 2000).

Interactions entre écoulement fluide, prolifération et contraintes mécaniques

Dans de nombreux cas, le transport et la consommation de nutriments ne peuvent pas être négligés. Ce cas a été étudié par Noura Eddaoui (ATER dans l'équipe Milieu Poreux et Biologiques de l'IMFT en 2021-2022) dans un cadre relativement simplifié, où un seul nutriment dirige la prolifération (par exemple, un nutriment présent dans des conditions chimiques limitantes), dans un milieu composé d'une seule espèce, et où les cellules peuvent uniquement proliférer : le système comporte très peu de cellules mortes, et les cellules ne relâchent aucune substance ou composé d'intérêt dans les espaces interstitiels.

Dans le cas le plus simple, qui peut se réduire à un problème unidirectionnel, sans adsorption des

nutriments à la surface des cellules, et sans mouvement de la matrice solide, la masse de nutriment présents par unité de volume fluide (C [kg.m$^-3$]) suit une équation d'advection-diffusion-réaction (Steefel et MacQuarrie, 1996; Cassou, 1999) :

$$\phi\partial_t C + \phi v_f \partial_x C - \phi\partial_x(D'\partial_x C) = -\alpha_c N_c, \tag{1.19}$$

avec ∂_t la dérivée partielle par rapport au temps, N_c [m^{-3}] le nombre de cellules présentes par unité de volume total, qui consomment des nutriments à la vitesse moyenne α_c [kg.s^{-1}], D' [m^2.s^{-1}] un coefficient de dispersion hydrodynamique, provoquée par la diffusion moléculaire et la dispersion mécanique. Lorsque les effets de cette dispersion ($\partial_x(\phi D'\partial_x C)$), sont négligeables devant les autres termes de l'équation, et lorsque la concentration ne varie plus dans le temps, elle fait apparaître un nombre adimensionnel :

$$\partial_{\tilde{x}}\tilde{C} = -\alpha_c N_c \frac{L}{C_0\phi v_f} = -Da, \tag{1.20}$$

avec $\tilde{C} = C/C_0, \tilde{x} = x/L$, et Da le nombre de Damkhöler, qui compare la vitesse de réaction à la vitesse de transport advectif de nutriments, et qui est un nombre adimensionnel essentiel pour modéliser la consommation de nutriments par un milieu poreux réactif (Baqer et Chen, 2022). Lorsque $Da \ll 1$, la consommation de nutriments est faible par rapport au débit de nutriments entrant dans le milieu poreux. Lorsque $Da \gg 1$, les nutriments sont consommés plus rapidement qu'ils ne sont advectés.

Les contraintes mécaniques peuvent également limiter la prolifération cellulaire. En effet, lorsqu'on confine les cellules dans une chambre faiblement déformable et alimentée par une grande quantité de nutriments, celles-ci ont la capacité de proliférer, jusqu'à remplir toute la chambre. La prolifération augmente alors les contraintes mécaniques compressives entre les cellules et les murs de la chambre et entre les cellules elles-mêmes. Dans ce cas, il a été montré que le taux de prolifération K_c diminue avec les contraintes mécaniques, sous l'effet de l'encombrement intra-cellulaire (Alric *et al.*, 2022). Par exemple, le taux de prolifération des levures *Saccharomyces cerevisiae* peut être décrit à l'aide d'une loi exponentielle des contraintes mécaniques compressives :

$$K_c = K_0 e^{-\sigma'/\sigma'_0}, \tag{1.21}$$

avec K_0 [s^{-1}] le taux de prolifération en l'absence de contraintes mécaniques, σ' [Pa] la contrainte mesurée sur les bords de la chambre, et $\sigma'_0 = 2.8 \times 10^5$ Pa (Delarue *et al.*, 2016).

Enfin, lorsque le métabolisme cellulaire est impacté à la fois par les contraintes mécaniques et la concentration en nutriments, des comportements biologiquements intéressants peuvent apparaître, qui ouvrent la voie à des applications médicales. Ce cas a notamment été étudié par Lucie Albert (2022), qui a étudié la transition de forme chez *Candida albicans*. Cette levure est ovoïde en l'absence de stress compressif, mais peut prendre une forme hyphale sous certaines conditions. Cette forme hyphale lui permet alors d'envahir des tissus humains, ce qui est la cause de certaines pathologies humaines (les *candidoses*). Les travaux de Albert (2022) ont montré notamment que cette transition de forme s'explique par la concordance de deux éléments : le fait que les contraintes mécaniques soient supérieures à un certain seuil, et l'absence d'une molécule produite par les cellules et dissoutes dans la phase liquide, le farnésol (cette production de molécule pouvant être également modélisée par l'équation (1.19), le terme réactif devenant un terme de production, positif).

1.4.2 Le bioencrassement et le biocolmatage

Dans cette partie, les particules étudiées sont des particules biologiques, c'est à dire des cellules vivantes capables de produire différentes réponses actives avant ou pendant les opérations de filtration, et on parlera donc de bioencrassement, et de biocolmatage. Ces réponses actives des cellules peuvent consister en la production d'une matrice de polymères extracellulaires, en la modification de la forme des objets, de leur comportement mécanique pendant une compression, ou de leurs propriétés d'adhésion et/ou friction. Les cellules sont également capables de proliférer (et donc de changer de volume et de se diviser) ou de mourir (ce qui peut modifier leur comportement mécanique).

Cette réponse active complexifie grandement l'étude du biocolmatage, car les propriétés des particules filtrées ne sont plus constantes au cours de l'opération de filtration, ce qui modifie en retour la

physique du biocolmatage (Foley, 2006). Ainsi, la production de matrice extracellulaire augmente la résistance hydrodynamique (Capodici *et al.*, 2015), et provoque l'adhésion irréversible du gâteau de filtration à la membrane (Corsino *et al.*, 2022), alors que la réponse active de bactéries peut conduire au détachement de parties substantielles du milieu, ce qui facilite le passage de liquide à travers lui (Hassanpourfard *et al.*, 2016). De plus, la résistance spécifique d'un gâteau formé de particules biologiques dépend de la morphologie des cellules, de leurs propriétés de surface ou de l'environnement ionique (Foley, 2006).

De nombreuses études ont donc été conduites dans des conditions qui limitent la réponse active des cellules. En particulier, les cellules sont généralement mises en suspension dans un milieu liquide salin, en l'absence de nutriments. Un résumé des valeurs de résistance spécifique obtenues dans ces conditions, pour des cellules de levure, est présenté figure 1.13 (a). Ces valeurs occupent plus de 2 ordres de grandeur, de 0.9×10^{11} m.kg^{-1} à 2.7×10^{13} m.kg^{-1}, selon les études. Ils montrent également que lors d'une seule expérience, la résistance spécifique dépend de la pression à laquelle le gâteau est formé. Une modélisation empirique répandue de cette dépendance est alors une loi de puissance (Foley, 2006) :

$$\alpha = \alpha_0 (\Delta P)^n, \tag{1.22}$$

avec α la résistance hydrodynamique spécifique, α_0 la résistance hydrodynamique spécifique à 1 Pa, et n l'indice de compressibilité, qui est supérieur à 0 pour un gâteau compressible. Mais les expériences présentées sur la figure 1.13 montrent que la dépendance entre α et ΔP ne suit pas toujours une loi de puissance : si les données de Nakanishi *et al.* (1987) semblent bien suivre une telle loi, les études de Rushton et Khoo (1977), Valencia *et al.* (2020) et Katagiri *et al.* (2021) s'en écartent. Par ailleurs, l'indice de compressibilité obtenu dépend des études, et varie entre 0.4 et 1.1 (Valencia *et al.*, 2022). Enfin, la manière de corriger la relation (1.22) diverge selon les auteurs. Katagiri *et al.* (2021) proposent d'appliquer la loi (1.22) à partir d'une pression donnée, définie de manière arbitraire, alors que Foley (2006) recommande d'utiliser une relation linéaire entre α et ΔP en première intention, et d'utiliser une loi de puissance dans le cas où les résultats ne sont pas d'assez bonne qualité. L'ensemble de ces résultats démontre un manque de consensus sur la compressibilité d'un gâteau de levures, que ce soit sur les quantités observées, ou sur la compréhension des processus sous-jacents.

Ce manque de consensus peut s'expliquer par le manque d'études de filtration réalisées à la microéchelle pour des objets biologiques. En effet, si l'état de l'art des sections 1.2 et 1.3 a démontré différents processus physiques qui sont relativement bien compris, très peu d'études microfluidiques existent pour des particules biologiques. Ainsi, la compressibilité du gâteau de levures est interprétée comme le résultat d'une déformation et/ou de réarrangements des particules, comme observé avec des hydrogels par exemple (Lüken *et al.*, 2021a; Bouhid de Aguiar *et al.*, 2017, 2018). Des indices de ces réarrangements existent à l'échelle du gâtaeu entier (Sørensen et Sørensen, 1997; Cabane *et al.*, 2002), et la conséquence des réarrangements a pu être observée à la fin de la filtration, pour des systèmes de filtration tangentielle (Tarabara, 2004). Mais, à notre connaissance, ces réarrangements n'ont pas encore été observés pour des particules biologiques.

La première étude réalisée à la microéchelle a été menée avec des expériences numériques (Meireles *et al.*, 2004). Elle rapporte que la valeur élevée de la résistance hydrodynamique est probablement provoquée par les interactions entre le pore et la première rangée de particules (la rangée de particules au contact avec la membrane). La raison invoquée repose principalement sur le fait que le modèle numérique mis en place ne permet pas de reproduire les résultats expérimentaux. Ce modèle représente l'agrégat de cellules comme une assemblée monodisperse et ordonnée selon une structure régulière, cubique à face centrée. Il ne simule pas l'écoulement à proximité de la membrane, et en particulier, l'interaction pore-particule. Mais, les auteurs notent qu'il serait possible de corriger leur modèle en supposant qu'une partie de la membrane devient imperméable - à cause de la première rangée de particules.

Théoriquement, dans le cas où les particules bloquent totalement l'écoulement à travers un pore de dimensions plus petites qu'elles, on peut formuler une loi gouvernant la filtration représentant ce phénomène (Iritani, 2013) :

$$J = (N_m - \frac{C_c^f}{S_t} V_f) J_0 \Delta P, \tag{1.23}$$

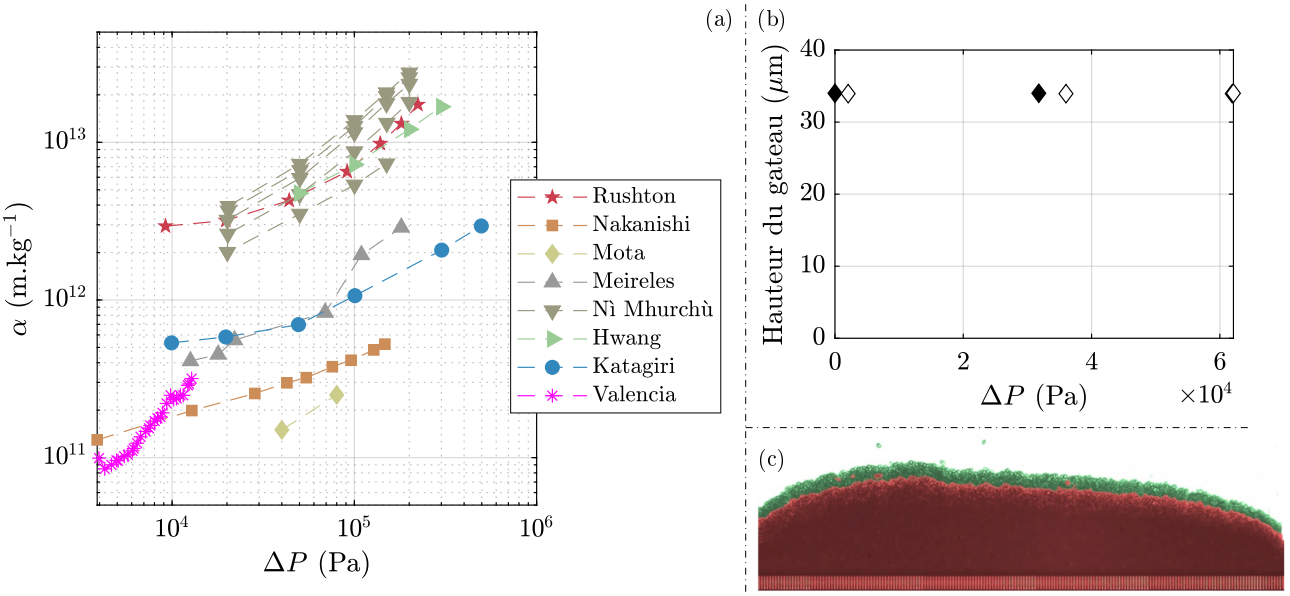

FIGURE 1.13 – Résultats de la littérature traitant de la compressibilité d'un gâteau de levures *Saccharomyces cerevisiae*. (a) : résistance spécifique d'un gâteau en fonction de la pression hydrodynamique appliquée. Résultats repris de Rushton et Khoo (1977); Nakanishi *et al.* (1987); Mota *et al.* (2004); Meireles *et al.* (2004); Nì Mhurchù et Foley (2006); Hwang *et al.* (2016); Katagiri *et al.* (2021); Valencia *et al.* (2022). L'étude de Rushton et Khoo (1977) est réalisée avec des levures *Saccharomyces carlsbergensis*. (b) Observations de Ben Hassan *et al.* (2014), qui rapportent que la hauteur du gâteau de filtration ne change pas lorsque la pression change. (c) Observations de Valencia *et al.* (2022), qui imagent le gâteau de filtration au dessus d'une membrane, et qui rapportent que le gâteau change de volume entre le moment où la pression est égale à 1.2×10^4 Pa (rouge) et où la pression est relâchée (vert).

avec N_m [m^{-2}] le nombre de pores par unité de surface de membrane, C_c^f [m^{-3}] le nombre de particules par unité de volume de filtrat, S_t la surface transverse de membrane [m^2], et J_0 [m.$^{-1}$.Pa^{-1}] le flux à travers la membrane à 1 Pa, en l'absence de particules. Cependant, ce cas impliquerait que le flux s'arrête complètement une fois que les N_m premières particules se seraient déposés, ce qui n'est pas ce que les auteurs rapportent (voir par exemple la figure 1.2). Valencia *et al.* (2020) mettent en évidence que si les pores sont suffisamment rapprochés, on peut observer un phénomène que les auteurs nomment *pore shielding* : lorsqu'une particule bouche un pore, elle bloque l'accès aux pores situés juste à côté d'elle, si bien que l'écoulement n'est que partiellement arrêté par cette rangée de particules. Mais, à notre connaissance, il n'existe pas de modélisation qui permettent de prendre en compte ce phénomène avec des particules déformables.

Seules deux études rapportent des observations de la compressibilité à la microéchelle. Ben Hassan *et al.* (2014) ont réalisé des expériences où la pression hydrodynamique est modifiée une fois le gâteau construit. Leur protocole mentionne que le gâteau est rincé avec de l'eau distillée avant les cycles de compression/décompression. Dans ces conditions, la hauteur du gâteau est indépendante de la pression hydrodynamique (voir résultats reportés figure 1.13 b). Valencia *et al.* (2022) ont réalisé des observations à la fin de l'opération de filtration, et relâché brutalement la pression, ce qui a provoqué l'augmentation du volume occupé par le gâteau de filtration (voir figure 1.13 c). Toutefois, ces résultats restent parcellaires, l'observation fine des déformations d'un gâteau de filtration soumis à différents forçages mécanique reste à documenter, tout comme le lien entre le comportement mécanique global et le comportement mécanique des cellules individuelles.

1.5 Objectifs scientifiques, approche modèle et plan du manuscrit

1.5.1 Motivations et objectifs

L'état de l'art réalisé dans ce chapitre met en évidence les relativement bonnes descriptions des processus physiques ayant lieu lors de l'encrassement et du colmatage de membranes par des particules inertes, déformables ou non. Il met aussi en lumière un manque de consensus scientifique autour de la compressibilité d'un gâteau de filtration formé de particules vivantes. Ce manque de consensus est associé à un manque d'études conduites à la microéchelle, y compris à l'échelle du pore unique, du bouchon. L'objectif de cette thèse est donc d'étudier les propriétés mécaniques des bouchons formés de particules biologiques, en étudiant d'abord la variabilité de la perméabilité de l'agrégat cellulaire lorsque le forçage fluide change, mais également en étudiant le comportement mécanique de l'agrégat cellulaire dans différentes conditions de forçage mécanique.

Mieux comprendre la compressibilité des gâteaux de filtration (et des bouchons individuels) permettrait alors d'améliorer les procédés de filtration industriels, pour pouvoir prédire le moment où les membranes de filtration doivent être nettoyées, mieux les dimensionner, et optimiser les protocoles de filtration. Aujourd'hui, ces procédés industriels sont améliorés à l'aide d'adjuvants de filtration qui sont ajoutées à la suspension filtrée - des *filter aids* en anglais. Mais l'utilisation de telles particules n'est pas sans conséquence pour l'environnement, la santé des opérateurs et le coût des opérations de filtration (Olajire, 2020). Par exemple, la terre de diatomée (kieselguhr) est utilisée dans l'industrie de la bière depuis plus de 100 ans (Olajire, 2020). Mais, d'un point de vue environnemental, le kieselguhr est obtenu dans des mines à ciel ouvert et constitue une ressource limitée, tandis qu'une grande quantité est nécessaire pour la filtration (1-2 g/L de bière clarifiée). D'un point de vue sanitaire, en France, le produit est classé comme nocif pour la santé. Il présente des risques avérés d'atteintes graves aux organes à la suite d'expositions répétées ou d'expositions prolongées en cas d'inhalation, et il est recommandé - entre autre - de ne pas respirer ses poussières. D'un point de vue économique, après la filtration de la bière, le poids du gâteau a plus que triplé par rapport à une filtration sans kieselguhr. La récupération, le recyclage et l'élimination de ce gâteau constituent alors une préoccupation majeure pour l'industrie, en raison de ses effets polluants.

Par ailleurs, étudier ces questions permettrait de mieux comprendre le comportement mécanique d'assemblées cellulaires confinées. De telles assemblées sont omniprésentes dans l'environnement, et dans les organismes vivants. Par exemple, les tumeurs cancéreuses, les bactéries évoluant dans des sols durs, ou les racines des arbres prolifèrent dans des milieux confinés. Un autre enjeu est alors de mieux comprendre la perméabilité de certains tissus, comme les tissus tumoraux, pour lesquels il apparait essentiel de bien appréhender comment différentes substances, comme des médicaments, les pénètrent. Enfin, les propriétés mécaniques des cellules vivantes sont parfois difficiles à décrire, à cause de leurs dimensions microscopiques et de la variabilité entre individus. On peut alors imaginer que sonder le comportement *mésoscopique* [15]d'une assemblée de cellules pourrait permettre de remonter aux propriétés mécaniques moyennes des cellules individuelles.

1.5.2 L'approche modèle

Les objectifs abordés traitent de phénomènes complexes : de nombreux processus interagissent les uns avec les autres. Si bien que l'approche « modèle » a été choisie pour les étudier. Cette approche consiste à se placer dans des configurations les plus contrôlées possibles. La manière de construire un tel système modèle est abordée de manière générale ici. Le protocole expérimental précis sera détaillé dans les chapitres 2 et 3. Les outils de modélisation et de simulation numérique seront détaillées dans les chapitres 4 et 5.

Dispositif expérimental

Les expériences sont réalisées dans des dispositifs de microfluidique, car ceux-ci permettent d'observer la formation des gâteaux de filtration (Valencia Navarro, 2020) et des bouchons individuels (De-

15. C'est à dire observé à l'échelle mésoscopique : entre l'échelle microscopique, l'échelle de la cellule unique et l'échelle macroscopique, l'échelle de l'ensemble de l'assemblée cellulaire.

louche *et al.*, 2022), et ont largement permis d'améliorer les connaissances sur le colmatage (Dressaire et Sauret, 2017). Comme les particules biologiques sont déformables, nos dispositifs seront fabriqués à partir de silicium, indéformable (dans nos gammes de contraintes), plutôt qu'en PDMS, plus classique mais moins rigide que le silicium. Cela permet également de négliger la variation de résistance hydrodynamique du dispositif au cours des expériences. Dans ces puces, les cellules sont retenues par un seul pore, car le colmatage peut être affecté par la multiplicité des pores (Liot *et al.*, 2018; Valencia *et al.*, 2020). Pour éviter l'arrêt total du flux lorsque la première particule est capturée par le pore, celui-ci est dimensionné légèrement plus grand que la taille moyenne des particules. Un tel pore n'est pas représentatif des pores utilisés dans les membranes de filtration : il laisse passer la plupart des particules. Cependant, comme les particules biologiques sont polydisperses et anisotropes, cette constriction est capable de retenir les particules les plus grandes. La taille du pore est alors comparable à la taille de la particule, ce qui minimise la résistance hydrodynamique associée à la première rangée de cellules (van der Sman, 2017). Enfin, pour simplifier les analyses, le dispositif consiste en un canal unique très large et très fin, afin de former des bouchons (quasi) 2D.

Saccharomyces cerevivisiae, la levure du boulanger

Les cellules vivantes utilisées sont des cellules de levure du boulanger (*Saccharomyces cerevisiae*). En effet, en plus d'être largement utilisées dans les études de filtration, mentionnées plus haut dans l'état de l'art, ces cellules sont considérées comme des « cellules modèles », pour étudier de nombreuses questions de biologie et de médecine. En particulier, les propriétés biologiques et mécaniques de *Saccharomyces cerevisiae* sont bien connues. Par exemple, cette espèce est le premier organisme à noyau (eucaryote) à avoir eu son génome séquencé entièrement, et cet organisme a été utilisé avec succès pour étudier le contrôle du cycle cellulaire, la réparation de l'ADN, le vieillissement, l'expression des gènes, l'autophagie, et les chemins moléculaires et cellulaires pour différentes pathologies humaines, comme le cancer (Matuo *et al.*, 2012). Par ailleurs, cet organisme présente de nombreux avantages pratiques pour la réalisation des protocoles expérimentaux : elles se reproduisent rapidement (la population double toutes les 2h45 à température ambiante), leur culture cellulaire est relativement peu sensible aux contaminations externes, et peut se réaliser à température ambiante, ne présente pas de risque pour l'environnement ou pour la santé des opérateurs, et est peu onéreuse.

Cela explique que cette cellule a été largement utilisée en médecine, par exemple pour étudier le diabète de type 2, le cancer du côlon héréditaire sans polypose, la neurofibromatose de type 1, l'ataxie télangiectasie et le syndrome de Werner, mais aussi pour l'étude et la production de nouvelles drogues et cibles thérapeutiques, comme l'insuline, l'hydrocortisone, l'artemisinine (un antipaludique), l'hirudin (un anti-coagulant), et pour des vaccins contre l'hépatite B et en prévention du cancer (Matuo *et al.*, 2012).

Dans cette thèse, un prérequis important est que le comportement mécanique d'une cellule de levure *Saccharomyces cerevisiae* est aujourd'hui bien documenté. La cellule peut être considérée comme une sphère pressurisée, dans laquelle la pression osmotique est régulée par une relation de van't Hoff (Smith *et al.*, 1998, 2000; Meireles *et al.*, 2004). La pression osmotique est définie comme la pression minimale qu'il faut exercer pour empêcher le passage d'un solvant d'une solution moins concentrée vers une solution plus concentrée au travers d'une membrane semi-perméable. Le fait que les cellules suivent une loi de van't Hoff signifie que leur membrane agit comme un osmoliseur (perméable à l'eau mais pas aux autres molécules), ce qui aboutit à l'apparition d'une pression interne supérieure à la pression externe. La pression de turgescence, définie comme la différence entre ces pressions interne et externe, module alors la rigidité des cellules (Vella *et al.*, 2012).

Les forces d'adhésion et de friction qui s'exercent entre deux cellules ont aussi fait l'objet de recherches, ce qui a mis en évidence le rôle clé de la floculine (El-Kirat-Chatel *et al.*, 2015). Cette protéine décore la surface des levures *Saccharomyces cerevisiae*. Ces molécules interagissent entre elles à la manière d'un velcro : il faut exercer une force très faible pour les lier et une force élevée pour les décrocher.

Modélisation et simulation numérique

De même, l'approche de modélisation et de simulation numérique ne vise pas à reproduire simultanément tous les processus qui ont lieu au sein d'un bouchon, ils sont trop nombreux et une telle modélisation demanderait une quantité trop importante d'expériences pour être paramétrée correctement, c'est à dire sans faire de sur-paramétrage [16]. Au contraire, l'approche de modélisation et de simulation numérique est réalisée en partant d'une approche simpliste. Elle est ensuite raffinée progressivement, jusqu'à aboutir à la représentation la plus simple possible qui reproduit les résultats expérimentaux. Ainsi, une première modélisation est réalisée en supposant que le bouchon est un milieu continu, en commençant par supposer que le bouchon n'interagit pas avec les parois du dispositif expérimental, puis en implémentant le plus simplement possible les effets des interactions entre cellules et parois. De même, dans un second temps, le bouchon de filtration est représenté à l'aide d'une modélisation granulaire : les particules sont représentées de manière individuelle, et le comportement mécanique des cellules individuelles sont codés directement en partant des résultats de la littérature, tandis que les comportements collectifs émergents sont simulés.

1.5.3 Plan du manuscrit

Le chapitre 2 de cette thèse vise à mieux comprendre ce qui dirige la perméabilité d'un agrégat de cellules, en réalisant des observations à la microéchelle et dans des configurations contrôlées. Pour cela, une méthodologie de mesure des faibles débits (jusqu'à quelques nL/min) a été développée. Elle s'est révélée être précise, robuste et rapide. Elle permet alors de mesurer la perméabilité d'un bouchon qui se construit sous différentes pressions fluides, et d'observer la variation de perméabilité lorsque ce bouchon est déconstruit puis reconstruit brutalement et rapidement, en associant ces observations à des observations de la microstructure. Enfin, un modèle analytique simple est formulé à partir de considérations physiques et permet de reproduire la relation entre la perméabilité et la pression fluide appliquée lors de la construction du bouchon.

Les chapitres 3, 4, et 5 ont pour objectif de mieux caractériser les propriétés mécaniques du bouchon formé. En effet, comprendre cette réponse mécanique est critique pour l'évolution de la perméabilité avec les contraintes mécaniques. De plus, les différents types de forçages employés permettent de faire apparaître des comportements non-triviaux, différents de ceux obtenus avec la théorie poroélastique simple.

En détail, le chapitre trois présente les résultats expérimentaux du comportement mécanique d'un bouchon de filtration, lorsqu'il est sollicité par un forçage hydrodynamique (avec un fluide qui le traverse) ou solide (avec une bulle d'air qui agit à la manière d'un piston imperméable). Le chapitre quatre met en évidence les effets non-triviaux que la friction exerce dans le cas où un milieu poroélastique est confiné, ce qui explique une partie des résultats expérimentaux obtenus, à partir d'une modélisation représentant le bouchon comme un matériau continu. Le chapitre cinq met en évidence le lien entre propriétés mécaniques de l'assemblée cellulaire et propriétés individuelles des particules, à partir de simulations numériques représentant le comportement mécanique individuel et le déplacement de chaque cellule.

16. Le surparamétrage apparait lorsque le nombre de paramètres de modélisation est si grand que le modèle présente des résultats très proches des expériences, sans forcément reproduire les processus physiques sous-jacents aux expériences, ce qui empêche d'utiliser le modèle dans des configurations expérimentales légèrement différentes. Pour plus de détails voir par exemple : Samaniego *et al.* (2010).

Chapitre 2

Résistance hydrodynamique d'un bouchon de levures

Sommaire

2.1 Introduction - contexte et objectifs 35
2.2 Article : Hydrodynamic resistance of a yeast clog 37
2.3 Résumé étendu de l'article 59
2.3.1 Une méthode de mesure originale 59
2.3.2 Mesures de la perméabilité et de la densité de cellules 60
2.3.3 Modélisation de la relation entre perméabilité et pression hydrodynamique . . 61
2.4 Résultats complémentaires 62
2.4.1 Simulation de l'arrangement de particules polydisperses dans une géométrie confinée. 62
2.4.2 Mesure de débit pendant la compression 65
2.4.3 Effets de la prolifération 66
2.5 Conclusions et perspectives 67

2.1 Introduction - contexte et objectifs

Comme mentionné en introduction générale, le consensus est difficile à trouver quant à la prédiction et la compréhension de la résistance hydrodynamique d'un gâteau formé de cellules vivantes. Bien que renormalisées, les valeurs rapportées occupent plusieurs ordres de grandeur et la résistance hydrodynamique dépend de la pression hydrodynamique appliquée pour réaliser l'opération de filtration. D'un autre côté, les études à la microéchelle manquent pour mieux comprendre les processus ayant lieu lors du biocolmatage et de la sollicitation mécanique d'un agrégat d'objets biologiques. Cependant, du fait des dimensions microscopiques des dispositifs expérimentaux mis en oeuvre dans ce genre d'étude, la gamme de débit à quantifier est très faible (< 100 nL), si bien que les appareils de mesure disponibles dans le commerce ne permettent pas sa mesure. Ce chapitre présente donc dans un premier temps le développement une méthode originale afin de pouvoir mesurer de très faibles débits avec précision, robustesse et rapidité.

L'objectif principal de chapitre est ensuite d'utiliser cette méthode pour quantifier la résistance hydrodynamique et la perméabilité d'un bouchon de levures sous différentes conditions de pression hydrodynamique, et de relier ces observations à la microstructure des bouchons, observée grâce à la microscopie de fluorescence.

Par ailleurs, il a été rapporté que, pendant la formation d'un gâteau de filtration, les particules peuvent adhérer les unes aux autres (Lohaus *et al.*, 2018) et former des amas de particules qui se déplacent ensuite de manière collective lorsque la direction de l'écoulement est inversée (Ando *et al.*, 2012; Lohaus *et al.*, 2018). De plus, les études menées à la macroéchelle rapportent que cette adhésion entre particules améliore largement les performances de filtration (Wickramasinghe *et al.*, 2002;

Tarleton et Wakeman, 2007). À noter, dans ces dernières études, l'adhésion entre particules est déclenchée par l'addition d'une molécule (dite *coagulante*) dans la suspension avant la filtration. Dans ce chapitre, nous quantifierons donc également la résistance hydrodynamique d'un gâteau ayant été soumis à une inversion brusque du sens de l'écoulement (on parlera de *backflush*) puis reconstruit en rétablissant le sens de l'écoulement, mais sans coagulant. Ce type d'expérience permettra d'étudier l'impact des mécanismes d'adhésion à l'œuvre au sein du gâteau, qui induisent la formation d'agrégats de particules après *backflush* (Ando *et al.*, 2012; Lohaus *et al.*, 2018), agrégats qui vont participer à la reconstruction du gâteau. Comme précédemment, ces mesures de résistance seront reliées à des observations de la microstructure.

Enfin, dans la littérature, l'interprétation des mesures de résistance hydrodynamique se limite à l'utilisation d'une loi empirique pour relier la résistance hydrodynamique mesurée à la pression hydrodynamique appliquée (Nakanishi *et al.*, 1987; Foley, 2006; Katagiri *et al.*, 2021). Cependant, les fondements physiques de cette loi ne sont pas discutés, et de nombreux auteurs rapportent qu'elle n'est valide que dans une certaine gamme de pression, ce qui questionne son origine physique. Le dernier objectif de ce chapitre est donc de proposer un modèle basé sur des arguments physiques qui permette de (i) reproduire la variabilité de la résistance hydrodynamique mesurée dans les cas où le bouchon est construit à pression constante et (ii) proposer une explication des observations rapportées dans la littérature, où la validité de la loi empirique usuelle semble être limitée à une certaine gamme de pression.

La suite de ce chapitre est présenté sous forme d'un article, soumis pour publication à *Physical Review Fluids*. Un résumé étendu en français est présenté en suivant, avant de détailler différents compléments qui enrichissent les résultats présentés dans l'article. Enfin, une synthèse concise de nos conclusions est fournie, avant de détailler les perspectives de recherche ouvertes par ce chapitre.

Hydrodynamic resistance of a yeast clog

T. Desclaux,[1,2] L. Santana,[1] I. Verdeille,[1] P. Duru,[1] P. Joseph,[2] M. Delarue,[2] and O. Liot[1,2,*]

[1] *Institut de Mécanique des Fluides de Toulouse, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France.*
[2] *LAAS-CNRS, Université de Toulouse, CNRS, Toulouse, France.*

(Dated: October 4, 2023)

Bioclogging, the clogging of pores with living particles, is a complex process that involves various coupled mechanisms such as hydrodynamics and particle properties. The lack of sensitive methods to simultaneously measure the hydraulic resistance of a clog and the position of particles at high enough resolutions limits our understanding of this tight fluid-structure interplay. In this article, we explored bioclogging at the microscale level, where flow rates are typically extremely low (< 100 nL/min). We developed a highly sensitive method to precisely measure small flow rates ($< 6.7\%$ error) with a low response time (< 0.2 s) while retaining the capability to image the structure of a fluorescently-labeled yeast clog at high resolution. This method employed a microfluidic device with two identical channels: a first one for a yeast suspension and a second one for a colored culture medium. These channels merged into a single wide outlet channel, where the interface of the colored medium and the medium coming from the yeast clog could be monitored. As a yeast clog formed in the first channel, the displacement of the interface between the two media was imaged and compared to a pre-calibrated image database, quantifying the flow through the clog. We carried out two kinds of experiments to explore the fluid-clog interaction: filtration under constant operating pressure and filtration under oscillating operating pressure (backflush cycles). We found that in both scenarios, the resistance increased with clog length. On the one hand, experiments at constant imposed pressure showed that the clog's permeability decreased with increased operating pressure, with no detectable changes in cell density as assessed through fluorescence imaging. In contrast, backflush cycles resulted in an approximately four times higher permeability, associated with a significant non-monotonic decrease in cell density with the operating pressure. Leveraging on our unique dual measurement of fluid flow and clog microstructure, our study offered enhanced insights into the intricate relationships between clog microstructure, permeability, and construction history. The better understanding of the fluid-structure interplay allowed us to develop a novel physical modeling of the flow in a soft and confined porous medium that challenged the empirical power-law description used in bioclogging theory by accurately replicating the measured permeability-pressure variations.

I. INTRODUCTION

Liquid chromatography, separation of cells from fermentation broths in many industrial processes [1, 2], or quantification of the abundance of oceanic plankton [3] all rely on the separation of solid biological particles suspended in a liquid. A filtration process classically accomplishes this separation: the suspension flows through a porous membrane, which retains the particles and lets the fluid pass through. However, this process has a major disadvantage: the membranes can foul due to pore clogging, and the amount of accumulated material can become so large that the liquid flow rate becomes very low, almost null. According to the situation, this clogging can be desired, for example, to isolate specific objects such as cancer cells with diagnostic purpose [4, 5], or to be avoided, for example to treat wastewater [6, 7].

Understanding the processes involved in pore clogging is complex, as it is governed by several coupled mechanisms: hydrodynamics, Brownian diffusion, surface interactions, the mechanical properties of the (living) particles, and aging. It is only recently that the general framework of clogging at the microscale with inert and rigid particles has begun to be well described [8, 9], thanks to microfluidic studies reporting processes occurring at the scale of a single pore [10–15], or of a single particle [16–21]. These different studies detail the mechanism of capture of particles by pore surface and highlight how the competition between Brownian motion, drag forces and physicochemical surface interactions affect particle capture, clog initiation and growth dynamics.

Recently, several studies documented the use of microfluidic devices to analyze clogging with soft materials such as oil droplets [22] or hydrogels [23, 24]. Nevertheless, the study of bioclogging - clogging by biological objects - remains a current research challenge. Indeed, living cells are deformable, polydisperse, endowed with specific adhesion mechanisms [25], sensitive to mechanical forcing [26], and are alive (i.e., consume nutrients, can be mobile, divide, differentiate, die). In particular, predicting the hydrodynamic resistance of a living clog is notoriously difficult. Theoretical predictions are still out of reach, while experimental values obtained with clogs made of living cells may vary by several orders of magnitude from one study to the other [2]. In particular, the specific resistance - defined as the hydrodynamic resistance divided by the mass of the cake per unit membrane area – depends on the operating pressure pushing the suspension through the membrane [2]. For example,

* Corresponding author: olivier.liot@imft.fr

the specific resistance of a filtration cake made of *Saccharomyces cerevisiae* ranges from $0.9.10^{11}\,\mathrm{m.kg^{-1}}$ at 4 kPa to $3.10^{11}\,\mathrm{m.kg^{-1}}$ at 12.8 kPa in Valencia et al. [27]. This variation of hydrodynamic resistance with hydrodynamic pressure is interpreted to be a consequence of the compressibility of biological clogs, a combined effect of particle rearrangements and deformation [2]. However, no scientific consensus exists on this subject. The study by Ben Hassan et al., with observations at the microscale, [28] reported no compression of the clog: the clog height was constant, whatever the hydrodynamic pressure imposed. Another study [29], based on numerical simulations, reported that taking into account the clog compressibility is not sufficient to explain the high hydrodynamic resistance observed with living clogs, but that the interactions between the first cells and the membrane contribute to a large part of the hydrodynamic resistance. Finally, a very recent study [27] showed that yeast clogs are indeed compressible and that this compressibility is important to explain the hydrodynamic resistance of the clog. These studies highlight the importance of the mechanical and biological interactions at play within a clog of deformable yeast cells. This is also evidenced when a backflush of the clog is performed. During a backflush, the direction of the flux throughout the membrane is reversed in order to remove the clogged particles and to recover a high enough permeate flux [30–34]. At the microscale, Lohaus et al. [35] recently provided a precise understanding of the mechanisms that drive backflushes. They highlighted that, for rigid colloids, three different phenomena occur during a backflush: (i) resuspension of individual particles, (ii) resuspension and re-orientation of clusters of particles, and (iii) fragmentation of clusters of particles. Another study reported the occurrence of both the resuspension of clusters and further fragmentation of clusters with soft microgels [36]. Finally, the resuspension of particle clusters was confirmed, as these clusters may accelerate the clogging of parallel channels [37]. Backflushes can then be seen as a way to test the mechanical/cohesive properties of a clog and also to modify the microstructure of the suspension to be filtered (aggregates vs. isolated particles) when the direction of the flow is restored to its original direction.

In this paper, we present observations of bioclogging at the microscale, to better understand the variability of the hydrodynamic resistance with the operating pressure in relation to direct visualizations of the clog. A microfluidic device is used to mimic a single-pore filtration membrane. Yeast *S. cerevisiae* is chosen as a model biological object whose biology [26] and mechanics [38] are well described, while the experimental protocol is designed to avoid any osmotic shock for the yeasts susceptible to alter the cells mechanical behavior during the experiment. As a pre-requisite, we have developed and validated a method to measure low microfluidic flow rates, inspired by Choi et al. [39] and relying on a specific design of the microfluidic chip. Indeed, because of the micrometric scales involved and the high hydrodynamic resistance of clogs, the flow rate inside microfluidic devices rapidly reaches very low values (< 100 nL/min), well below the range of available commercial flowmeters. We present experiments focussing on the formation and properties of yeast clogs, conducted at fixed pressure, complemented with backflush experiments designed to investigate the effect of the yeast suspension microstructure on the clog properties. The paper is organized as follows. The experimental device and methods are presented in the section II with a highlight on our homemade flow rate measurement method. Section III presents results of hydrodynamic resistance and permeability during the yeast clog construction at fixed pressure and during backflush cycles. Section IV details a model to represent the variability of the permeability as the operating pressure increases. Section V presents a discussion of the main results of this article, and section VI the conclusions and some perspectives opened by the present work.

II. MATERIAL AND METHODS

A. Experimental methods

1. Yeast suspension and colored solution

Saccharomyces cerevisiae yeasts are used as a biological model. These single-celled organisms are ellipsoidal and have an average radius of around $2.65\,\mu$m. The "HTB2-mCherry" strain used is genetically modified to display a fluorescent nucleus. The yeast culture is done at room temperature, and the cell population doubles every 2h30 to 2h45.

A liquid culture solution is prepared so that the mass density of the solution is equal to the mass density of yeast cells, and so that the osmolarity of the medium is equal to the osmolarity of classical culture medium: 13% of distilled water (percentage given by volume), 39% iodixanol solution concentrated at 60% (w/v) (*Optiprep*), 48% solution of Synthetic Complete Dextrose Medium (SCD) concentrated at 2 % in dextrose (D-glucose). The dynamic viscosity of this culture media is $\eta = 2 \times 10^{-3}$ Pa.s. A colored solution is prepared with the same protocol as the isodense culture medium but replacing pure distilled water with an already colored solution (*AQUAcouleur™, Ocean color*).

The cells are grown in a Petri dish on a 0.5 cm thick layer of agarose (agar-agar mixed with Synthetic Complete Dextrose medium). The day before experiments, the cells are resuspended: they are extracted from their box and mixed with the liquid culture medium, and a series of dilutions is carried out. The cells are left in culture in the laboratory overnight. The next day, the tube containing a concentration typically in the range $[5 \times 10^5 - 10^6]$ cells/mL is used. The yeast concentration in the suspension is checked using a spectrophotometer. The device used measures the absorbance of the solution at a wavelength of 600 nm. The cell concentration is cal-

culated according to [40]: $C_{cell} \approx 10^7 \times OD_{600}$ cells/mL, where C_{cell} is the number of cells per mL in the suspension and OD_{600} is the absorbance value.

In our experiments, the proliferation of yeasts is stopped by using an antibiotic (cycloheximide - CHX). The antibiotic is added to the yeast suspension at 10 μM one hour before flowing the suspension through the microfluidic device. It blocks the synthesis of proteins[41], and thus cell proliferation. However, cells are still alive, as when the antibiotic is rinsed, cells proliferate again.

It is important to note that great care was taken in avoiding any osmotic shock that could be experienced by the cells and which would modify their mechanical properties (e.g. elasticity [38]). Indeed, living cells maintain turgor thanks to osmotic differences with the surrounding medium: these differences in osmolarity create a difference in chemical potential that draws water inside the cells. They are then swollen, and the excess interior pressure is called the turgor pressure. If the osmolite concentration outside the cell increases, then the difference in chemical potential decreases, and so does the turgor pressure inside the cell: the cell deflates.

2. *Microfluidic chips and flow control*

The micromodel is shown schematically in Fig. 1. The chip is etched in silicon using standard photolithography and plasma etching in a clean room. The etching depth is precisely characterized by a mechanical profilometer with about 1% uncertainty. Two groups of chips are used in this study. The first group is etched at depth of $H \in [6.05, 6.15]\,\mu$m, while the other has a depth of $H \in [6.3, 6.4]\,\mu$m. Two identical side-by-side inlet microchannels of width $W = 140\,\mu$m and 6.6 mm long are designed on each chip. At the end of each microchannel, a constriction of $w = 6\,\mu$m wide and $L = 6\,\mu$m long acts as a pore to allow yeast clogging. After the constrictions, the microchannels are merged in a unique 315 μm wide and 3.35 mm long outlet microchannel. The chip is bonded using a 170-μm thick borosilicate layer by anodic bonding.

Each inlet and outlet of the microfluidic chip is connected directly to a reservoir by microfluidic tubing of 0.5 mm inside diameter and 40 cm in length. Pressure controllers (*Fluigent Flow EZ™*) then apply the required hydrodynamic pressure into these reservoirs.

3. *Clog observation*

The clog formation and geometrical characteristics are captured using a *Zeiss A.1* microscope. It is equipped with a monochromatic light source (*Spectra X Lumencor*). The microsystem is illuminated using a red wavelength (640 ± 30 nm) known to have low photo-toxicity [43]. Yeasts have a very similar refractive index as the culture medium we use. To enhance the contrast of the clogs, Hoffman contrast modulation [44] is used with a *Zeiss EC Plan Neofluar* objective (20× magnification). An example of an acquired image is shown in Fig. 1, where a clog is visible in the left-hand microchannel - in this example, a 5× magnification was used.

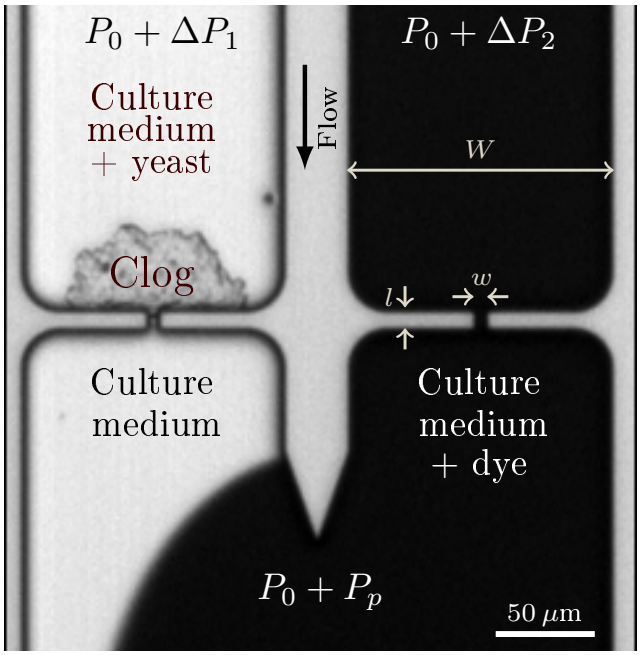

FIG. 1. Micrography of the microsystem (5× magnification). The yeast suspension is pushed in the left-hand microchannel at pressure $P_0 + \Delta P_1$, with P_0 the atmospheric pressure. The constriction retains the yeast particles, so a clog is constructed on the left-hand microchannel. Colored culture medium flows in the right-hand microchannel at pressure $P_0 + \Delta P_2$. An interface between clear and colored liquids appears downstream of the merging region, where the pressure equals $P_0 + P_p$. The location of this interface is used to measure the flow rate ratio between the two microchannels [42]. Each microchannel has a width $W = 140\,\mu$m. The constriction has a width $w = 6\,\mu$m and a length $L = 10\,\mu$m, and the merging region has a width equal to 315 μm.

A *LaVision's Imager sCMOS CLHS* camera is used for image acquisition, with a detector size of $2560 \times 2160\,\text{px}^2$ leading to a 0.33 microns pixel size (at 20 × magnification). For clog growth, we use a framerate of 1 frame per second. Exposure time is set to 2000 μs. Note that illumination is synchronized with camera acquisition to reduce the light dose experienced by the yeasts and phototoxicity.

4. *Image analysis*

A dedicated algorithm has been set to measure the clog length. This algorithm consists of edge detection followed by several morphological operations. The shape of the clog interface is quasi-hemicircular at the begin-

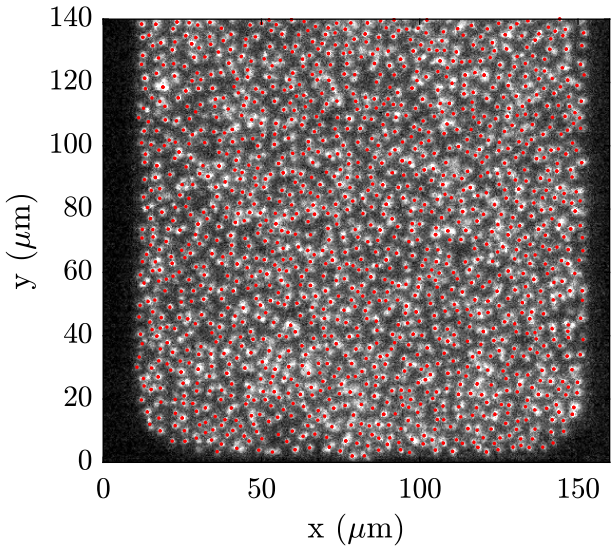

FIG. 2. Raw fluorescence pictures and detected particles. The raw fluorescence image is displayed in black and white. A red dot represents the position of a detected cell. For visualization, only the first 140 μm of the clog are represented. This clog has been constructed at constant pressure, with an operating pressure of 400 mbar.

ning of the experiments (see Fig. 1). Once the clog radius has reached the lateral limit of the channels, it adopts a quasi-rectangular shape (see Fig. 6). The clog length (L_c) is defined as the minimal distance between the pore and the top border of the clog (see a good example in Fig. 6 F). In the worst-case scenario, this algorithm is estimated to be precise by one or two cell diameters (see inset in Fig 6 A). Therefore, in the following, the uncertainty in the clog length is estimated to be 10 μm.

Besides, because the HT2B-mCherry yeast cells produce fluorescent histones, it is possible to image their nuclei by fluorescence microscopy (one example image is presented in Fig. 2). A dedicated algorithm has been adapted from a previous study [14] to automatically detect the position of these fluorescent nuclei that appear as white dots. The result is a list of positions, shown as red dots in Fig. 2. We finally compute the clog area by computing the polygon area that includes all these points (plus an external layer of 2.5 μm of width). The cell density (C_c) is then defined as the number of cells in a clog divided by its area times the height of the device. We estimate the uncertainty of this measurement to be 5% (see Supplementary Information 1).

B. On-chip flow rate measurement

1. *Motivations*

Numerous methods have been developed to measure flow rates in micro- and nanosystems, see e.g. the recent and exhaustive review by Cavaniol et al. [45]. A distinction is usually made between *active* and *passive* methods. The first type of method is based on adding external energy to the system to retrieve information about the flow rate. Most commercial flow rate sensors are based on an active calorimetric detection [45, 46]. They can measure small flow rates (under 100 nL/min) but with a limited measurement range and more than 10 % uncertainty for the lowest flow rates. Numerous passive methods, including seeding of particles, are commonly used in microfluidics. Nevertheless, this is not always adapted to applications that cannot accept contaminations with foreign objects. This is especially the case for the clogging process, where adding probe tracers could affect the clog's structure and the clogging dynamics. Furthermore, some methods based on particle seeding may need long acquisitions to get enough statistics to estimate the flow rate [47]. Consequently, recent studies about clogging have used either commercial flow rate sensors when the flow rates are large enough [37], or have measured directly the velocity of the particles flowing towards the clog [21].

In 2010, Choi et al. [39] presented a microfluidic design allowing to compare, through direct visualizations, the hydrodynamic resistance of a test channel with the known resistance of a reference channel. The design is such that the two channels merge downstream the region of interest (e.g. a constriction in the test channel, where flow-driven particles accumulate), and is similar to the one presented in Fig. 1. The fluid in the reference channel is colored so that the streamline separating the flow coming from each channel is easily observable. The position of this streamline, relative to the side walls and far enough from the merging region, can be calibrated against the ratio of the flow rates in each channels. A similar method, with further theoretical developments, was used by Coyte et al. [42] to study microbial competition in two connected microchannels.

We have elaborated from these works to fit the specificities of the clogging process: very important flow rate decline and the need for a large field of view to track the clog growth. In particular, due to molecular diffusion of the coloring agent (see Fig. 1), the location of the interface between the colored and no-colored fluids can lack precision, and when the interface is close to the wall, the difficulty is enhanced [42]. Moreover, in our configuration, having the whole clog in the field of view is compulsory. It may reach several hundreds of micrometers and even millimeters in length. In this case, it is impossible to have both the clog and the region where the interface is parallel to the microchannel walls on the same picture. We propose below an adaptation of the interface detection method based on image recognition, using the interface shape in the merging zone instead of its position relative to the walls.

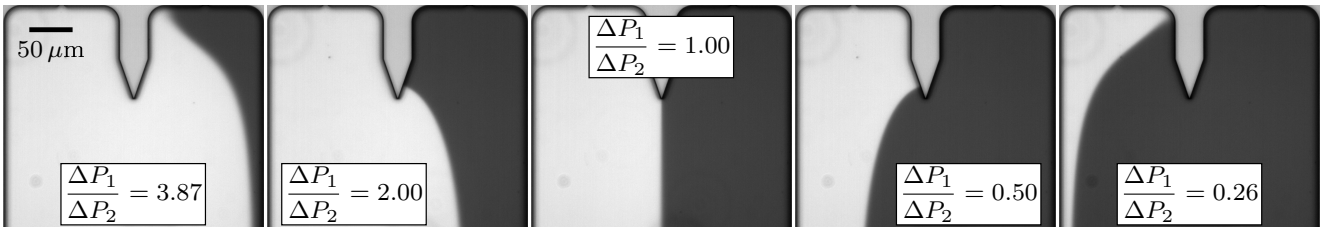

FIG. 3. Examples of pictures extracted from the data bank. The pressure drop ratio is indicated in each picture. The corresponding Q_1/Q_2 ratios are, from left to right: 43.05, 3.35, 1.0, 0.30, 0.025.

	R_i [Pa.s/m^3]	R_o [Pa.s/m^3]
$H = 6.1\,\mu$m	5.55×10^{15}	1.72×10^{15}
$H = 6.35\,\mu$m	4.94×10^{15}	1.52×10^{15}

TABLE I. Table of values of the hydrodynamic resistances of each segment of the microfluidic system, for the two etching depth used in this study.

2. *Method calibration*

This method needs precise calibration to relate the shape of the interface to a flow rate ratio. A data bank of pictures is generated. The left-hand microchannel is filled with a transparent culture medium without yeast, and the right-hand one is filled with a colored culture medium, so the viscosities are identical. The pressure drops ΔP_1 and ΔP_2 applied in the left-hand and the right-hand microchannels, respectively, are varied to have a wide range of pressure ratio. The data bank comprises 191 pictures with a range of pressure drop ratios in $[0.25 - 3.74]$. This range cannot be extended much because, out of it, one observes a bypass flow from one of the two inlet microchannels to the second one, which is irrelevant for the calibration and clogging experiments. Fig. 3 shows five pictures extracted from the data bank with respective pressure drop ratios. One database was created with an objective magnification of 20×, as this magnification is used in this article. But note that, if needed, this database can be rescaled to treat images taken at other magnifications.

Since we know the geometrical characteristic of the microfluidic system, we can deduce the hydrodynamic resistance of each segment of the microchannels. We define Q_1 and Q_2 as the flow rate in the left-hand and right-hand microchannels, respectively. Q is the flow rate in the merged microchannel. R_i is the hydrodynamic resistance of an inlet microchannel including the constriction, and R_o is the hydrodynamic resistance of the merged microchannel. The resistance of the microfluidic tubing is negligible compared to the device's resistance. P_p is the pressure at the merging point. The equivalent electrical circuit is displayed in Fig. 4, and the hydrodynamic resistance values are detailed in Table I. Using the electrical-hydrodynamic analogy, we can compute the flow rate ratio Q_1/Q_2 as a function of $\Delta P_1/\Delta P_2$.

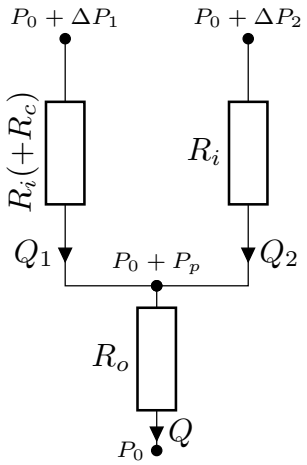

FIG. 4. Equivalent electrical circuit of the microfluidic system in absence of clog. Q_1 and Q_2 are the flow rate in the left-hand and right-hand microchannels, respectively. Q is the flow rate in the merged microchannel. R_i is the hydrodynamic resistance of an inlet microchannel plus a constriction and R_o is the hydrodynamic resistance of the unique outlet microchannel. P_p is the pressure at the merging point and $P = 0$ the atmospheric pressure.

Using Kirchhoff's laws we show that:

$$\frac{Q_1}{Q_2} = \frac{(\gamma+1)\dfrac{\Delta P_1}{\Delta P_2} - 1}{(\gamma+1) - \dfrac{\Delta P_1}{\Delta P_2}}, \tag{1}$$

with $\gamma = \dfrac{R_i}{R_o}$. Finally, the data bank corresponds to flow rate ratios in the range $[0.018 - 27.8]$.

3. *Image recognition*

To extract the flow rate ratio from an image taken during a clogging experiment, we first need to pre-process it. The experimental picture and the image data bank are cropped to have the same dimensions in pixels. A standard contour detection algorithm based on Radon

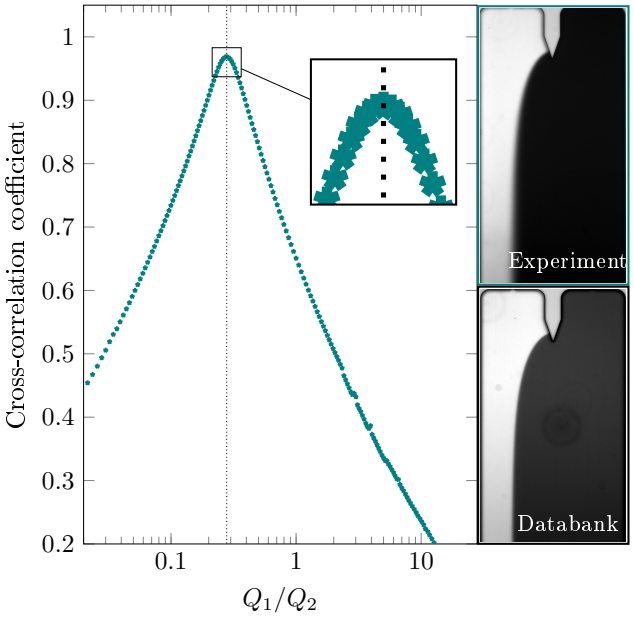

FIG. 5. (left) Cross-correlation coefficient versus flow rate ratio of the pictures from the data bank. (top-right) Experimental picture. (bottom-right) Picture from the data bank corresponding to the cross-correlation peak.

transform is used to accurately detect the microchannels' walls.

A standard two-dimensional cross-correlation algorithm is applied between the experimental picture and each data bank picture. This leads to a correlation coefficient associated with each flow rate ratio of the database. The cross-correlation coefficient presents a maximum for a given flow rate ratio, which we consider as the corresponding flow rate ratio. Fig. 5 (left) provides an example of cross-correlation coefficients versus flow rate ratio. Fig. 5 (top-right) shows the experimental picture, and Fig. 5 (bottom-right) shows the image from the data bank corresponding to the maximal cross-correlation coefficient.

4. *Clog resistance, method validation, and sensitivity*

In presence of a yeast clog at the left-hand constriction, the clog's resistance R_c is added to R_i, on the left-hand branch of Fig. 4, and we deduce the following expressions for the clog's hydrodynamic resistance R_c, pressure at the merging point P_p, and flow rate through the clogged channel Q_1:

$$R_c = (R_i + R_o)\left[\frac{\Delta P_1}{\Delta P_2}\frac{Q_2}{Q_1} - 1\right] + R_o\left[\frac{\Delta P_1}{\Delta P_2} - \frac{Q_2}{Q_1}\right], \quad (2)$$

Variable	Uncertainty sources	Magnitude
L_c	Detection	10 μm
C_c	Detection	5%
$\Delta P_1, \Delta P_2,$ $\Delta P^\star$, P_p^∞,	Pressure controllers	$< 0.5\%$
H	Fabrication	1%
$\frac{Q_1}{Q_2}$	Database discretisation	6%
Q_1, R_c	3% due to uncertainty on H + 6% due to database discretization	6.7%
k	3% due to uncertainty on H + experiment-dependent uncertainty due to database discretization	$\gtrsim 3\%$

TABLE II. Uncertainty sources and magnitudes associated with each variable introduced in this article. For more details, see Supplementary Information 1. The definition of k is introduced in section III B.

$$P_p = \frac{\Delta P_1 \dfrac{R_o}{R_i + R_c} + \Delta P_2 \dfrac{R_o}{R_i}}{1 + \dfrac{R_o}{R_i + R_c} + \dfrac{R_o}{R_i}}, \quad (3)$$

$$Q_1 = \frac{P_1 - P_p}{R_i + R_c}. \quad (4)$$

Here, one can note that, when R_c increases, it may become very large as compared to R_o and R_i. Then:

$$P_p(R_c \gg R_o, R_i) \approx \Delta P_2 \frac{R_o}{R_i + R_o} \equiv P_p^\infty. \quad (5)$$

where P_p^∞ represents the limit value of P_p, for large values of R_c. In that case, the difference of hydrodynamic pressure experienced by the clog is $\Delta P^\star = \Delta P_1 - P_p^\infty$.

The method was tested and validated by randomly picking one picture from the data bank and applying the algorithm to this picture. By doing that, the expected result is known, and sensitivity tests can be done, as detailed in Supplementary Information 1. Different tests have been performed to estimate the sensitivity of the method. The influence of blurring (corresponding to a loss of focus, for example), added noise (corresponding to noise induced by the camera, or defaults on the picture), interface zone length used for image recognition (with a centered or shifted interface in the microchannel) have no significant effect on the picture correspondence.

The uncertainty magnitudes associated with each of the variables introduced in this article are also quantified, see Table II. A detailed discussion on that point is given in Supplementary Information 1.

The response time of the present flow measurement technique can be approximated using the advection time necessary to change the interface shape when a variation of flow rate Q_1 is detected. For $Q_1 \approx 100\,\mathrm{nL/min}$ and an interface's region of interest of about $300\,\mu$m, we estimate the response time between 0.1 and 0.2 s, which is

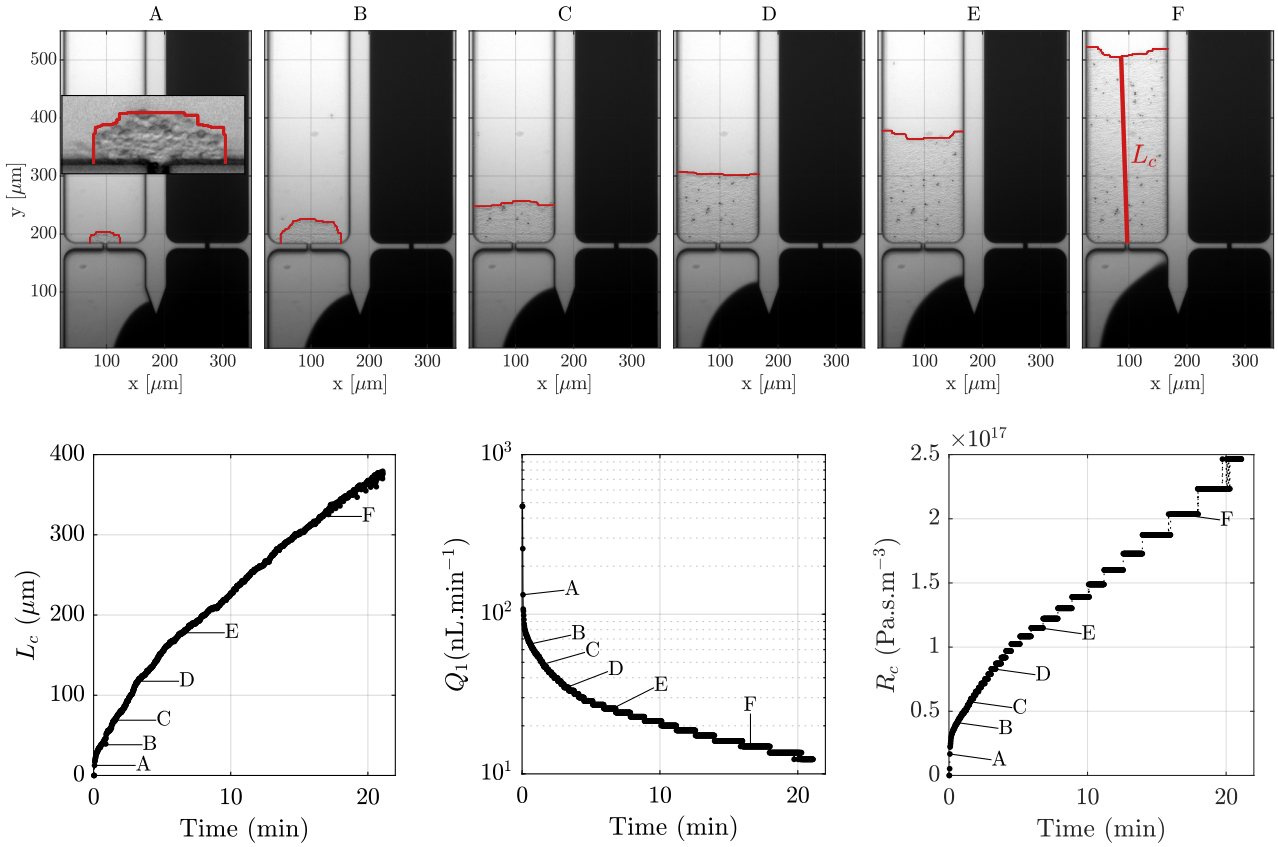

FIG. 6. Top row: Simultaneous observation of the clog growth and of the flow rate reduction. From A to F: different images taken during a typical experiment. In the top part of each picture, the clog area is computed from clog segmentation (red lines). The inset of picture A represents a zoom on the clog. The clog length of image F is displayed with a dark-red line. Bottom row: clog length (L_c), flow rate (Q_1), and clog hydrodynamic resistance (R_c) evolution as a function of time after the beginning of clogging. Experience realized with $\Delta P_1 = \Delta P_2 = 700$ mbar.

lower than the response time of commercial flow rate sensors. The main limitations of this method are (i) the need for specific calibration and (ii) a design-specific method, as the measurement microchannel must be implemented during chip microfabrication.

There is no apparent limitation on the minimal measured flow rate, except the pressure controller's ability to generate such very low flow rates. Our study's main experimental challenge was to avoid air bubbles in the microfluidic tubing. As the flow rate of our device is very low, it is possible to observe contact line pinning, which degrades the pressure control of the system from 0.1 mbar to several mbar. To avoid this problem, a dedicated experimental protocol was set up. It was based on the direct connection of the reservoirs to the chips (without any switch, as it was noted that closing/opening them released tiny air bubbles), starting with a dry system and pushing the liquids slowly inside the device. This method could be easily implemented in other microfluidic studies, especially the ones involving filtration phenomena.

C. Experimental protocol

In this subsection, we shortly present the two different kinds of experiments carried out in this article (constant pressure experiments and backflush experiments) before turning to the results in Section III.

1. *Experiments at constant pressure*

During constant pressure experiments, the pressure ΔP_1 is fixed at a constant value, while the clog and the interface are imaged at the same time, as illustrated in Fig. 6 (top row). The flow rate ratio is measured as presented in section II B.

The flow rate through the clog, its hydrodynamic resistance, and its length are computed for every picture recorded. The values associated with the example experiment presented in Fig. 6 (top) are presented in Fig. 6 (bottom). The clog length (L_c) increases with time and reaches 380 μm 20 min after the beginning of clogging.

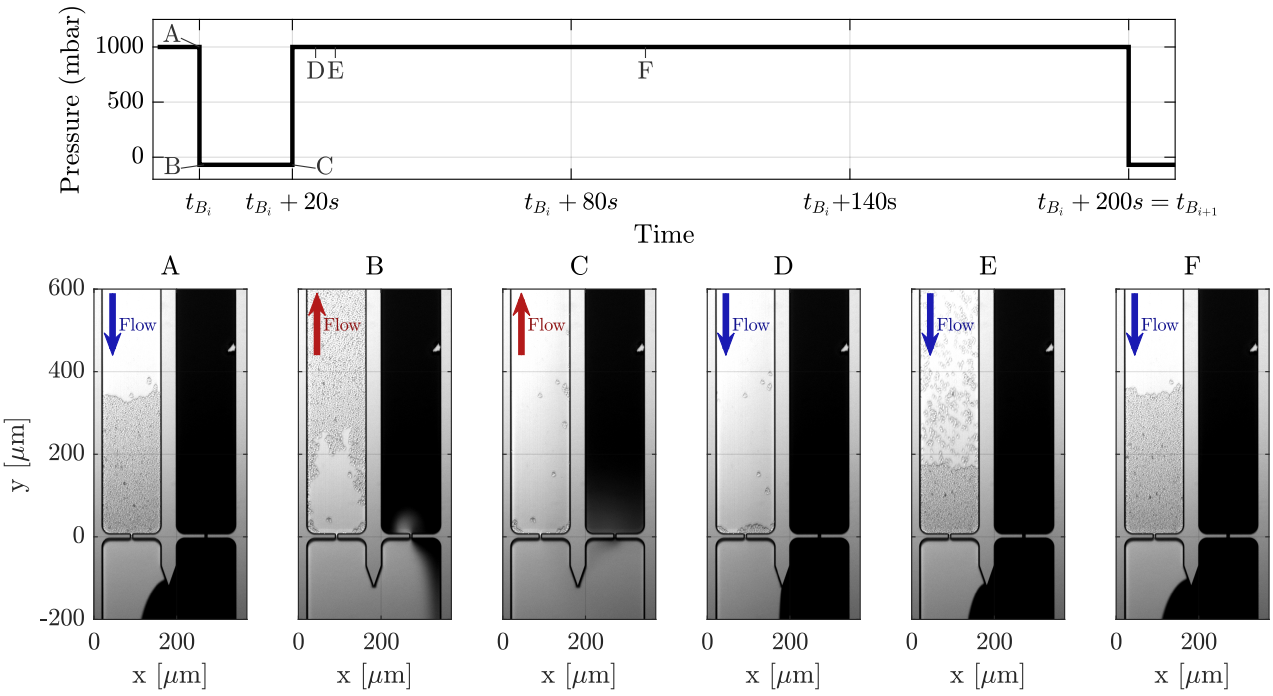

FIG. 7. Presentation of the backflush experiments. One backflush starts at time t_{B_i} (image A), at the moment when the flux is rapidly reverted, by setting the pressure ΔP_1 at -69 mbar (image B) for 20 s (C). The pressure is finally reset to its initial value of 1000 mbar, and the clog rapidly returns to its initial position (D-F). Experience realized with $\Delta P_1 = 1000$ mbar and $\Delta P_2 = 300$ mbar.

More precisely, the speed of growth of the clog (i.e. the derivative of the clog length) decreases with time, as the clog reaches 100 μm in less than 3 min but needs more than 14 min to reach 300 μm. The flow rate (Q_1) rapidly decreases from 474 nL/min at the beginning of the experiment, where no clog is present in the device, to less than 100 nL/min after 8 s. It continues to decrease with time, but more slowly, and reaches around 12.3 nL/min at the end of the experiment. In the same way, the hydrodynamic resistance of the clog (R_c) rapidly increases and exceeds the hydrodynamic resistance of the empty chip after only 2 seconds (picture A) and reaches a final value of 24.7×10^{16} Pa.s.m^{-3}.

2. *Backflush cycles*

The second kind of experiments consists in backflush cycles. For 3 min, the pressure ΔP_1 is kept fixed at a given value (generally at 1000 mbar) before being rapidly reverted at -69 mbar for 20 seconds, as illustrated in Fig. 7. When the flow is reverted, the clog is abruptly destroyed, and, as the channel is ≈ 7 mm long, the backflushed yeasts remain inside the device. After 20 seconds, the pressure returns to its initial value, and a new clog is rapidly constructed again.

Theoretically, the clog length and hydrodynamic resistance could be measured throughout the process. However the suspended cell density can be very high during the re-construction phase (see Fig. 7 panel E). Therefore, the values of hydrodynamic resistance obtained during this process are impacted by both (i) the hydrodynamic resistance of the clog and (ii) the hydrodynamic resistance of the dense yeast suspension being pushed in a confined channel. Therefore, in this article, the values of clog length and hydrodynamic resistance will be presented only at the *final* state of the backflushes cycles when the clog is fully stabilized.

III. EXPERIMENTAL RESULTS

This section is divided into two parts. First, the relationship between the hydrodynamic resistance and the length of the clog is detailed under different pressure conditions. Next, the number of cells per unit volume is measured, and the results are detailed for different experimental conditions.

A. Relationship between hydrodynamic resistance and clog length

As the solid volume fraction of the yeast suspension is not precisely the same from one experiment to another (cell density varies in the range $[5 \times 10^5 - 10^6]$

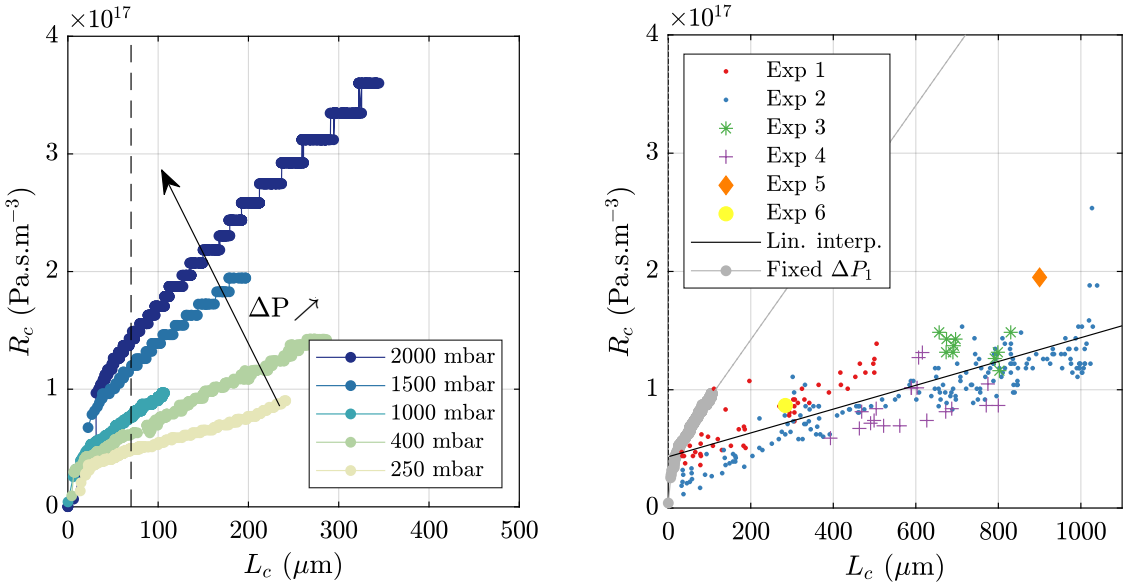

FIG. 8. Hydrodynamic resistance of different clogs (R_c) constructed under different conditions, computed as a function of clog length (L_c). Results obtained during constant pressure experiments (left) and backflush cycles (right). For constant pressure experiments, different operating pressures are used, see legend. A vertical dashed line is placed at 70μm. Only a representative fraction of all the experiments are presented, as explained in the text. The operating pressure is kept at 1000 mbar during the reconstruction phase of the clog for backflush experiments. The hydrodynamic resistance of backflushed clogs and the clog length are measured at the end of the backflush cycle, and a solid line represents a linear fit of all experimental data. With backflushes, experiments 4 and 6 were conducted in 6.35 μm-deep chips; the others were conducted in 6.1μm -deep chips. The data from the constant pressure experiment conducted at 1000 mbar are reported in gray for easier comparison (with extrapolated data from a linear fit presented with a gray straight line).

cells/mL, see section II), the experimental variability is assessed by studying the evolution of the hydrodynamic resistance with the clog length rather than time, as presented in Fig. 8 (right panel). During the initial phase of the clog construction, while it does not reach the inlet channel lateral walls ($L_c < 70\,\mu$m), the hydrodynamic resistance increases rapidly, from zero to more than 5.10^{16} Pa.s.m^{-3}. As the clog length increases ($L_c > 70\,\mu$m), the hydrodynamic resistance increases linearly with length, as is expected if the clog behaves like a porous medium of constant permeability. The experiments are repeated at different ΔP_1. All the clogs behave qualitatively as described before. However, the slope of the linear trend depends on ΔP_1, especially from 250 mbar to 1000 mbar. On the other hand, no general conclusions could be drawn for the value of hydrodynamic resistance observed at 70 μm (here we highlight that even if the experiments presented in Fig. 8 suggest that this value increases with ΔP_1, our complete data set shows that this is not a general trend).

In the same way, we realized 284 backflush cycles during six independent experiments. Each independent experiment is conducted with a different yeast suspension, and in a different chip. For a given experiment, the final length (and hydrodynamic resistance) is not always constant between 2 cycles. Indeed, the consecutive backflush cycles are non-symmetrical: more flow goes from the inlet to the outlet than vice versa. Some yeasts may accumulate on the top of a backflushed clog between two successive backflush cycles. Therefore, for a given experiment, several points are obtained (except for experiments 5 and 6, where only one data point has been obtained). The results are presented in Fig. 8, (right) where the clog hydrodynamic resistance is shown as a function of its length. As with constant pressure experiments, the hydrodynamic resistance is found to increase with clog length, while can be noticed that the resistance values are much smaller than during constant-pressure experiments: after backflushes, for $L_c = 1000\,\mu$m, the hydrodynamic resistance is around 1.5×10^{17} Pa.s.m^{-3}, while this value is reached at constant-pressure for $L_c \approx 300\,\mu$m, with $\Delta P_1 = 400$ mbar (see Fig. 8).

B. Permeability

The Darcy formalism is adopted to characterize the hydrodynamic resistance of a clog. The permeability is then computed from the slope of the hydrodynamic resistance following the equation:

$$R_c = R_{c_0} + \frac{\eta L_c}{k S_t}, \tag{6}$$

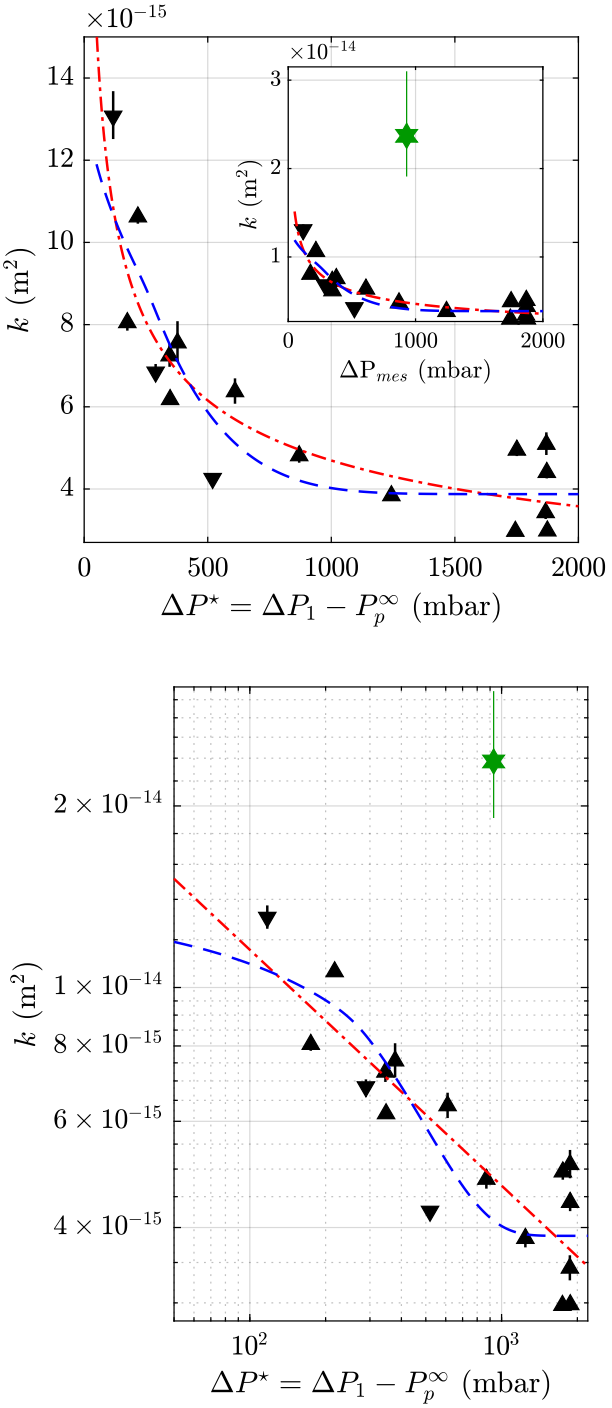

FIG. 9. Permeability at constant pressure (triangles pointing upwards for experiments on a 6.1 μm deep chip and downwards for experiments on a 6.35 μm chip), and during backflush cycles (green hexagram), with uncertainty bars representing the confidence interval at 99%, computed during the linear fit. Linear representation at the top and log-log representation at the bottom. Dashed-dotted red line: fit from power law, equation 8. Dashed blue line: fit from the model developed in this article (equation 12). In the top panel, the figure presents the dataset obtained in the range $[0.3 \times 10^{-14} - 1.5 \times 10^{-14}]$ m^2, excluding the permeability after backflushes. The inset presents the full dataset in the range $[0.3 \times 10^{-14} - 3.15 \times 10^{-14}]$ m^2.

with R_{c_0}, a hydrodynamic resistance offset, that we interpret as a consequence of effects that occur randomly between 0 and 70 μm, η the dynamic viscosity of the solution, L_c the clog length, S_t the transverse surface of our device (here $\approx 6\,\mu\text{m} \times 140\,\mu\text{m}$) and k the clog permeability. The data obtained before 70 μm are not taken into account for the linear fit.

Fig. 9 presents the values of permeability obtained during constant pressure experiments as a function of the difference of hydrodynamic pressure experienced by the clog ($\Delta P^\star$), together with the permeability value extracted from all the backflush experiments conducted with $\Delta P_1 = 1000$ mbar. When the clog is constructed at constant pressure, the permeability is maximum under 250 mbar, reaching more than 10×10^{-15} m^2, and is severely decreased as operating pressure reaches more than 1000 mbar, where the permeability is lower than 6×10^{-15} m^2. No significant change in permeability is observed between 1000 mbar and 2000 mbar.

The permeability of clogs constructed during backflush cycles reaches 2.37×10^{-14} m^2, with a 99% confidence interval of $[1.91 \times 10^{-14}, 3.10 \times 10^{-14}]$ m^2, see green hexagram data point in Fig. 9. These values are about four times higher than the permeability of a clog constructed by yeast accumulation at a constant pressure of 1000 mbar and higher than all the previously measured permeability values.

C. Cell density measurements

The cell density is computed for clogs obtained during constant-pressure experiments or after backflush, for different $\Delta P^\star$. The results are presented in Fig. 10. During constant pressure filtration, the cell density is between 10.5 $\times 10^{-3}$ and 12.0 $\times 10^{-3}$ cell/μm^3, and no apparent impact of $\Delta P^\star$ can be observed. After backflushes, the cell density is lower than before backflushes. This time, the operating pressure seems to have an impact, but this impact is non-monotonic, as the cell density is around 10.3×10^{-3} cell/μm^3 at 250 mbar, 8.3×10^{-3} cell/μm^3 at 1000 mbar and 10.7×10^{-3} cell/μm^3 at 2000 mbar.

IV. MODELING PERMEABILITY IN CONSTANT PRESSURE EXPERIMENTS

We propose now to model the constant-pressure experiments presented above. First, we apply the classical scaling used in previous bioclogging studies performed at membrane scale. Then we develop a model based on physical considerations which challenges the classical (bio)filtration theory.

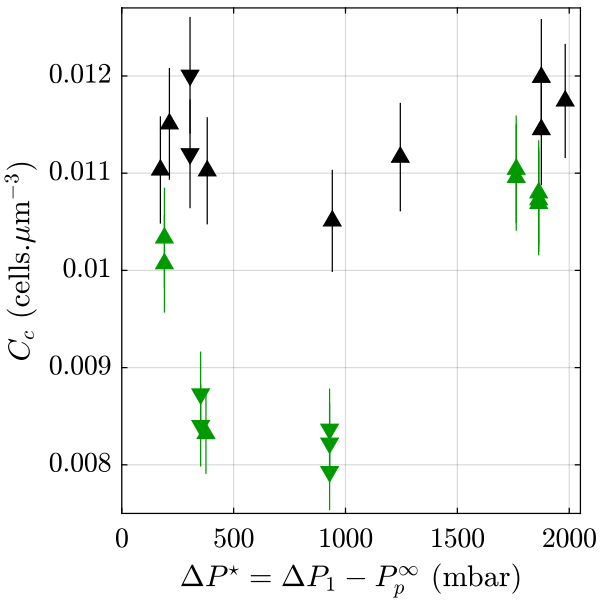

FIG. 10. Cell density as a function of $\Delta P^\star$, for the two different kinds of experiments: constant pressure in black and backflush cycles green. Experiments conducted on a 6.1 μm chip are noted with upwards pointing triangles and those conducted on a 6.35 μm chip are noted with downwards pointing triangles. Error bars represent errors of 5% of the mean value.

A. Classical (bio)filtration theory

The dependence of permeability with operating pressure is a widely reported phenomenon in the scientific literature related to filtration. The permeability is usually not computed in these studies, but the specific hydrodynamic resistance is preferred for practical reasons. This variable is defined as follow :

$$\alpha = \frac{R_c S_t^2}{m\eta}, \tag{7}$$

where m is the total mass of the deposited yeasts, S_t the transverse surface of the device, and η the liquid dynamic viscosity. The use of this metric is due to the experimental protocol of these studies, where the filtration cake is hardly observable, but the deposited mass on the filter can easily be weighted. With this variable, the effect of pressure on α is often expressed following an empirical power law [2, 48]:

$$\alpha = \alpha_0 (\Delta P^\star)^n, \tag{8}$$

where α_0 and n are fitting parameters. α_0 represents the specific resistance at 1 Pa, whose value is rarely discussed, and n is the "compressibility index", whose value is of interest. When n=0, the cake is incompressible (α does not depend on $\Delta P^\star$), and when $n > 0$, the cake is said to be compressible. Reported values [27, 29, 49–51] of n, associated with dead end filtration of *Saccharomyces cerevisiae* range from 0.25 to 1.10. As the cell density is not significantly affected by the operating pressure (see section III C), the mass of a given clog of a given length should not be impacted either. The following relationship allows the conversion of k to α:

$$k = \frac{V}{\alpha m}, \tag{9}$$

where V is the volume occupied by the clog (defined by the transverse section of the device S_t multiplied by the clog length L_c). It follows that equation 8 can be rewritten as:

$$k = k_0 (\Delta P^\star)^{-n}, \tag{10}$$

with k_0 the permeability at 1 Pa.

Finally, after fitting the experimental points obtained in this study, we compute a compressibility index of 0.39, with confidence bounds at 95% of [0.28−0.50] (see the fitted curve in Fig. 9), which is in the literature range. The quality of the fit can be quantified with the coefficient of determination: $R^2 = 0.816$ and the root mean square error $RMSE = 1.134 \times 10^{-15}\,\mathrm{m}^2$. One may note that the confidence interval at 95% is relatively large. We believe this is because the compressibility index is not constant over our entire dataset. If the points between 0 and 750 mbar are used (and the others are ignored), the fitted index equals 0.52. When only the points obtained between 750 and 2000 mbar are used, the index equals 0.23. The fact that the compressibility index may itself depend on $\Delta P^\star$ is largely reported in the literature of microbial filtration [2, 50, 52]. Some authors recommend the use of the equation 8 only above a certain pressure [52], but without discussing the choice of this pressure, taken as an *ad hoc* value.

B. Another model, based on physical considerations

1. *Model presentation*

The increase of resistance with pressure is widely accepted to be a consequence of interstitial space contraction. But, there are no physical reasons or scientific consensus about the quantitative relationship between the hydrodynamic resistance and the operating pressure [2].

More generally, two kinds of modeling are reported in the literature to relate the microstructure of a particle packing to the permeability. The most simple one is the Kozeny-Carman equation [53]. To establish this equation, the authors first assume that the pore network throughout the packing can be approximated by a series of microchannels of given radius and length. An analytical relationship is then derived, in the case of rigid and monodisperse packing of spheres, to express the permeability as a function of porosity (ϕ) and particle diameter

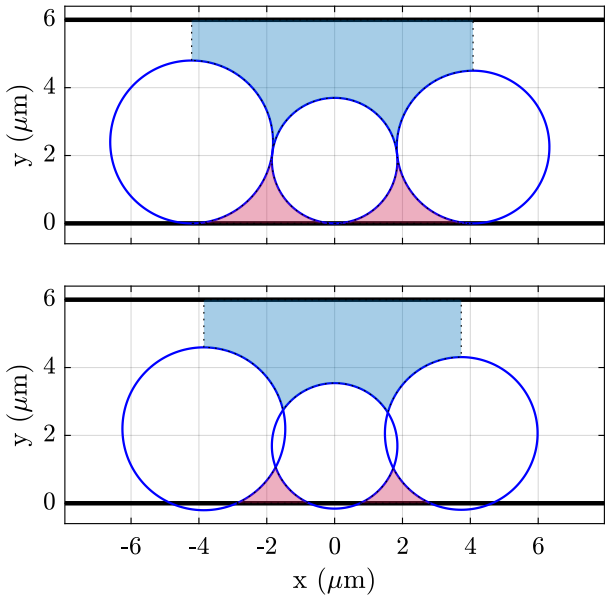

FIG. 11. Representation of the two different kinds of pore openings in the yeast clog: small pores, located between pairs of cells and the wall (orange/yellow), and large defects (blue).

(d):

$$k = \frac{\phi^3 d^2}{36 K_k (1-\phi)^2}, \tag{11}$$

with K_k an empirical coefficient. This equation has been widely used to model the permeability of yeast clogs, even if there is no consensus on the correct value of K_k. Some authors [29, 54] have modified this equation to take into the fact that the permeability can tend toward zero while the porosity is still higher than zero. The second kind of modeling is pore network modeling [55, 56]. In that case, the interstitial space is modeled as a collection of inter-connected pores, and the full topology of the pore network is simulated. Each channel is characterized by a given hydrodynamic conductivity [57] and a given length and is connected to its neighbors. In the case of polydisperse spheres [56, 58, 59], this kind of modeling gives very satisfactory results, as long as the definition of the effective pore throat radius (r_e) and the pore connectivity is properly estimated. In that case, the individual hydrodynamic conductivity of each pore is proportional to r_e^4.

In this article, we describe an intermediate model using arguments from both the Kozeny-Carman relationship and the pore network modeling. The experimental system of this article is highly confined (the height of the device is around 6 μm, slightly larger than the diameter of a particle). Therefore, the walls of the device create two important effects, illustrated in Fig. 11. First, since the particles are in contact with the channel's walls, the clog presents bigger pores than they would have inside a non-confined packing. In particular, we assume that most of the pores are located between a pair of particles and the confining wall. Therefore, we will only analyze the contribution of the cells in contact with the walls and neglect the contribution of the pores located away from the top/bottom walls. Besides, we will also neglect the influence of the lateral walls - as they are located 140 μm away from each other. We also assume that the effective radius r_e is equal to the radius of the pore throat located between each pair of cells and the wall (r_t). Second, the confinement produces geometrical exclusion: two cells of diameter larger than 3 μm cannot be aligned in the vertical direction, as the depth of the device is only equal to $\approx 6\,\mu$m. This geometrical exclusion creates large voids in the packing. The analytical resolution of the typical length scale of these voids is far from trivial (one needs to consider the wide variety of random 3D arrangements that such packing may create), and we do not attempt to model them here. However, one can estimate that their typical length scale is large compared to the individual deformation of one yeast cell, so it should not depend on $\Delta P^\star$. For example, in the case where one cell of 5 μm of diameter is in contact with a wall, on the top of it, there is a void of $\approx 1\,\mu$m in height and of several μm in width. These large voids constitute a pore network whose permeability is not affected by the clog compression induced by a pressure increase. To summarize, it is assumed that there are two independent systems of pores: one whose dimensions can be affected by the compression of the clog, and one with large pores, insensitive to compression. The permeability is therefore modeled by the equation:

$$k = A \times r_t^4 + B, \tag{12}$$

where A and B are parameters, fitted against all the experimental points available (Fig. 9). Physically, the term $A \times r_t^4$ represents the compressible system of pores, and B represents the large pores, unaffected by mechanical compression. The precise relationship between r_t and $\Delta P^\star$ is given in Supplementary Information 2. The main assumptions needed to analytically derive this relationship are:

- Yeast cells are approximated by spheres that deform locally, with no deformation away from the contact zone, so that their deformation is represented by intersecting spheres.
- Yeast cells are polydisperse, and their size distribution is based on experimental data.
- The effective pore radius is assumed to be equal to the radius of the pore throat.
- At low deformation, yeast cells behave as Hertzian balls [60], where the deformation is proportional to the applied force at the power $\frac{2}{3}$. And at high deformation, cell behave as pressurized elastic shells, as in Vella et al. (2012) [38], where the deformation is proportional to the applied force.

- The contact forces are assumed to be homogeneous in the packing (in other words, the contact forces are the same for all the particles subjected to a given compressive stress).

- The compressive stress is assumed to follow the predictions of the linear poroelasticity theory (see [61], [62] or [63] for example), where the compressive stress is linearly distributed in the packing.

2. *Comparison with experimental data*

The coefficients obtained when fitting our experimental data against equation (12) are $A = 1.12\times10^{11}\,\mathrm{m}^{-2}$ with a 95% confidence interval of $[8.11\times10^{10} - 1.43\times10^{11}]\,m^{-2}$ and $B = 3.88\times10^{-15}\,\mathrm{m}^2$ with a confidence interval of $[3.00\times10^{-15} - 4.76\times10^{-15}]\,m^2$. With these values, $R^2 = 0.80$ and $RMSE = 1.19\times10^{-16}\mathrm{m}^2$. The quality of this fit is similar to the one obtained with the power law (see curves in Fig. 9). When only the data points between 0 and 750 mbar are considered, the fitted parameters are $A = 1.29\times10^{11}\,\mathrm{m}^{-2}$ and $B = 3.12\times10^{-15}\,\mathrm{m}^2$, close to the previously determined parameters. When only the points between 750 mbar and 2000 mbar are used, then the value of A is badly determined – which is related to the fact that for this pressure range the compressible pores are completely closed (this will be further discussed in the next section), and $B = 3.94\times10^{-15}\,\mathrm{m}^2$, again very close to the previous values.

A rough value of A can be estimated as $N\frac{2\pi}{S_t\tau}$ (see Chareyre et al. [56]), with τ the tortuosity of the flow channels connecting the pores present between neighboring cells and the microchannel top / bottom walls and N the total number of such channels. Taking $\tau = \frac{\pi}{2}$ (the tortuosity value for a porous medium consisting of monodisperse spheres) and $N = 32.5$ (that is the 140 μm channel width divided by the mean yeast cell diameter 4.3 μm, one gets $A = 1.55\times10^{11}\ \mathrm{m}^{-2}$ which is relatively close to the fitted value. The value of B can also be estimated using some scaling arguments, although in a less satisfactory manner. The hydraulic resistance of a rectangular flow channel that would connect the large defects in the packing is roughly equal to $R^r = \frac{12\mu L\tau}{h^3 w}$, with L the length of the channel, h its height, and w its width. Because of the term h^3, a wide range of values of B can be reproduced by small changes of h. Therefore, the physical significance of the w and h values is questionable. But we note that the fitted value of B can be reproduced, for instance, by considering 28 straight channels with $h = 0.8\,\mu$m and $w = 3\,\mu$m , or 6 channels of width dimensions $h = 1.1\,\mu$m and $w = 4\,\mu$m. All these numbers are realistic values, whether the number of channels or height or width.

V. DISCUSSION

A. Permeability and hydrodynamic resistance of a yeast clog constructed at constant pressure

When the yeast clog is constructed under constant pressure, the permeability of a yeast cake is found to be strongly impacted by the operating pressure (Fig. 9), a result already largely reported at the macroscale. Interestingly, no change in cell density could be observed (see Fig. 10). It is likely due to slight differences in the microstructure that we are unable to measure. For example, the closing of a pore throat significantly decreases the permeability but is very difficult to detect in the density signal because of the yeast polydispersity.

The permeability values measured in the present study correspond to specific resistances (see equation 9) in the lower range of what is reported in the literature. Between 1000 mbar and 2000 mbar, we observe a specific resistance between 2×10^{11} m/kg and 3×10^{11} m/kg, where Nakanishi et al. (1987) observed a specific resistance of $\approx 5.2\times10^{11}$ m/kg at 1400 mbar [50], and Mota et al. [64] observed a specific resistance of $\approx 4.2\times10^{11}$ m/kg, while other studies report higher values (see Meireles et al. [29]). This can be explained by the fact that, in the filtration literature, studies are usually carried out in a non-confined geometry so that the wall effects are negligible (a point clearly stated in the theoretical development of Tien and Romaro (2013) [65]). In that case, the parameter B decreases, which means the overall permeability decreases, and consequently, the specific resistance increases. The compressibility index (n) obtained by adjusting our data with a power law is also in the range of what is observed in literature for dead-end filtration of *Saccharomyces cerevisiae* [27, 29, 49–51] but it depends on the range of data used for the fit (see subsection IV.A).

To further explore this point, the model presented in subsecion IV.B.1 is used to simulate the permeability of a yeast clog over an extended range of pressures (i.e. from 0 mbar to 10^5 mbar). The results are presented in Fig. 12. Between 0 and approximately 200 mbar, our model predicts that the deformations of the cells are negligible (permeability is constant). Between 200 and 1000 mbar, the model predicts that the pore throats close significantly, while after 1000 mbar, the pores' throats are completely closed. At this point, the permeability equals B, the residual permeability due to the poorly compressible large defects in the packing, which is independent of $\Delta P^\star$.

This behavior of the model is consistent with two observations made in the literature, to which we have already alluded. First, over a limited pressure range, the results from the model can be adjusted locally by a power law (i.e. a straight line on the log-log graph shown in Fig. 12), with a compressibility index (slope of the straight line) that clearly depends on the data range used for the fit. Second, the fact that some authors report that the

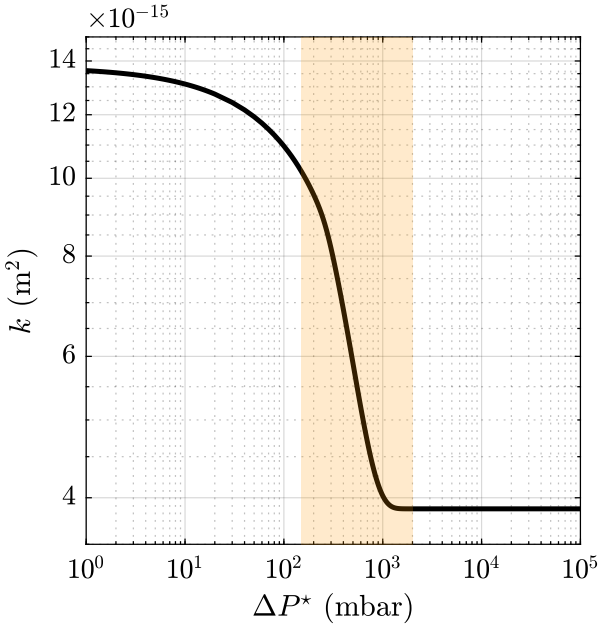

FIG. 12. Permeability predicted by the fitted model, presented in section IV. The operating pressure varies in the range [0 - 10^5] mbar, and the permeability is simulated over the full range of operating pressure. The shaded area represents the pressure range explored during experiments.

classical power law is applicable only after a certain pressure [50, 52], traduces the fact that the pressure need to reach a certain value before the deformation of cells becomes significant. This is provoked by a combination of (i) the geometry of the pore space and (ii) the mechanical behavior of the yeast cells. In turn, that mechanical behavior is controlled by the osmotic pressure at the moment of filtration, which implies taking care of this point when designing the experimental protocol, as it was done in the present study.

Finally, for a clog length between 0 and 70 μm, the hydrodynamic resistance increases rapidly and non-linearly, see Fig. 8 (left panel) . As a consequence, the linear fit reveals an offset: $R_c = \frac{\mu L_c}{k S_t} + R_0$, with R_0 taking random values, generally between 0 and 0.5×10^{17} Pa.s.m^{-3}. Several hypotheses could explain this offset. First, it has been reported that the interaction of the first particles and the membrane pore can have a strong impact on the final hydrodynamic resistance of a yeast clog [29]. Second, it has been reported that the presence of a porous medium can alter the curvature of the flow paths in the channel so that the apparent permeability of a thin deposit layer is increased [66]. Besides, the randomness of R_0 could be a consequence of the polydisperse nature of the yeast cells, interplaying with these two processes. A better characterization of the mechanisms that control the value of R_0 is beyond the scope of the present study.

B. Impact of construction history - backflush cycles

The construction history has a very important impact on the permeability of the clog. The results of this article show that the permeability is greatly enhanced by imposing backflush cycles. To give statistical significance to this result, many experiments and backflush cycles were realized at a fixed $\Delta P^\star$ ($\approx$ 1000 mbar), see Fig. 8, right panel. However, to assess the impact of the construction pressure on the clog microstructure and therefore on the permeability, some cell density measurements were also carried out after backflushes conducted at different $\Delta P^\star$, see green data points on Fig. 10.

The cell density after a backflush is found to depend on $\Delta P^\star$ in a non-monotonic manner, with the cell density being the lowest at intermediate pressure ($\approx$ 1000 mbar). Therefore, in this later case, the increase in permeability is likely related to this decrease in cell density. This is consistent with the physical interpretation we proposed in section IV. A smaller cell density suggests that the packing is looser, involving larger size for the pores located in between the particles and walls, and for the larger defects as well. The decrease in cell density may originate from the fact that the clog is made of a loose packing of cell aggregates rather than individual cells, these aggregates being formed during the backflush. This idea is consistent with what is reported in literature, as it is documented that pre-aggregating yeast cells, with the help of a flocculation molecule, can significantly reduce the hydrodynamic resistance during dead-end filtration [67] or cross-flow filtration [68]. Presence of aggregates cannot be assessed with certainty on the images recorded after backflush (see Fig. 7, panel B or E) as it is impossible to distinguish aggregated cells and cells only in close contact on such images. However, a literature review supports the hypothesis of aggregate formation/fragmentation, see Introduction.

To explain why the cell density after backflush for high and low pressure is close to the one measured in constant pressure experiment, we propose the following interpretation. The yeast-yeast adhesion mechanism has been described at the protein scale [25], and it is reported to work like a Velcro. It requires no energy to stick two adhesive proteins, but much energy is necessary to unbind two adherent proteins. Besides, the adhesion forces are proportional to the area of the contact surface, as each cell is surrounded by a relatively uniform layer of these adhesive proteins. Therefore, the adhesion force scales as $\sqrt{\delta}$, with δ the deformation of a cell. These adhesive forces compete against repulsive forces (described precisely in section IV). These forces scale as $\delta^{3/2}$ at low deformation and as δ at high deformation. At low pressure ($<$ 400 mbar), two cells are put in contact together with a very low force, so that the number of proteins that have been bound is low : it is easy to separate the cells from each other. This is going to limit the formation of lasting aggregates during the backflush. At very high pressure ($\approx$ 2000 mbar), when cells are pushed very

firmly against each other, the repulsion forces between pair of cells become larger than the adhesion forces (as $\delta^{3/2} \gg \delta^{1/2}$ and $\delta \gg \delta^{1/2}$ when $\delta \to \infty$). This will weaken the aggregates which may fragment during the clog re-construction stage, at high pressure. Finally, cells aggregates are present with a significant impact on the clog density only in the intermediate pressure range.

VI. CONCLUSIONS AND PERSPECTIVES

In this article, we presented a study of bioclogging by yeast cells in a microfluidic chip. Experimental developments allowed us to measure the hydrodynamic resistance and thus the permeability of a confined yeast clog in a precise and robust way. Our method is based on flow comparison and image recognition – where the images of a colored interface are compared to a precalibrated image database - and this method can measure flow rates under 10 nL/min with good accuracy and response time. The clog permeability, deduced from the clog's hydrodynamic resistance and length, first decreases sharply as the operating pressure increases, before reaching a plateau. The experimental data points can be fitted by a power law, as it is usually done in the literature without any physical basis, but the exponent of the power law is very sensitive to the data range used, in terms of operating pressure. A model based on physical arguments from the physics of granular media, fluid mechanics, yeast cell mechanical behavior, and geometry is presented and gives similar results as the power law in terms of adjustment to the experimental data. It assumes the co-existence of two pore networks in the yeast clog. The first one represents the pores between neighboring cells and the microchannel top/bottom walls. Radii of these pores are very sensitive to the operating pressure. The second one connects the large defects in the yeast cell packing resulting from the polydispersity of the yeast suspension and the strong confinement. Radii of these pores are much less affected by the operating pressure: its contribution to the clog permeability is supposed to be constant. Our results also emphasized that the "history" of the clog construction is a crucial parameter, as clogs constructed following a backflush have a much larger permeability. We believe this is because, in this case, the clog is made of a loose packing of cell aggregates rather than individual cells, and this is supported by the measurement of the cell density in the clog.

The work presented in this article opens many perspectives. From a modeling point of view, achieving a description of the whole pore network existing in the present 3D and highly confined yeast cell packing could support the picture of the two-pore networks above, on which our interpretation of the data is based. Also, we assumed that the permeability of the clog was constant once its extent in the flow direction was large enough, typically larger than 70 μm. However, the permeability might be spatially non-uniform as the layers of cells near the membrane are expected to experience higher mechanical constraints [29, 63], and this may offer some directions to refine the present modeling.

From an experimental point of view, one may tune the microfluidic experimental design to vary the confinement, e.g. to check that less confined clogs experience larger permeability variations as is expected from the present modeling. Indeed, the contribution to the permeability of the pore network based on the large packing defects close to the top/bottom wall is expected to decrease when the confinement is relaxed. More details about the clog microstructure could be obtained using cells with fluorescent cytoplasm or an exclusion fluorescence technique [69, 70]. Also, a more systematic study of the clog reconstruction after a backflush is needed, focusing on the impact of the backflush characteristics (pressure, duration) on the clog hydrodynamic resistance in relation to the properties of the resuspended clusters of cells.

Our results were obtained using a microfluidic filtration cell with a unique constriction, whose size is larger than the average particle size. It is the first time such a geometry is used to study the filtration of a biological suspension. Indeed, pores are usually much smaller than the cell size, because filtration aims to actually *retain* biological particles and because these particles may deform to a certain extent and pass through some constrictions that would be not small enough. The generalization of our result to a more realistic multipore membrane is not straightforward as one can expect a strong influence of the membrane geometry (pore size and density) from situations where a single yeast cell completely blocks an isolated pore [29] to situations where a given cell deposited close to a given pore impairs the clogging of neighboring pores by steric exclusion (a mechanism known as "pore protection phenomenon" [71]). Depending on the situation, the effect of the first layer of deposited cells on the total hydrodynamic resistance of the clog may be more or less predominant.

Finally, it should be remembered that all these results were obtained with non-proliferating cells and may be extended to situations where the effects of proliferation are negligible (for example, if filtration spans shorter time scales than the proliferation time scale). However, generalizing these results for proliferating cells might be challenging, as cell proliferation is complex, affecting cell properties and interacting with the other processes involved in clogging. Indeed, to proliferate, cells need nutrients that are diluted in the liquid phase flowing through the clog. This flow depends on the clog microstructure, which in turn may be significantly altered by proliferation, as it has been reported that proliferation provides energy to mix the clog locally [72]. This coupling and its impact on the clog permeability is important to decipher as some filtration processes involving living, proliferating cells can extend over timescales comparable to or longer than the proliferation timescales.

[1] M. Meireles, E. Lavoute, and P. Bacchin, Bioprocess and Biosystems Engineering **25**, 309 (2003).
[2] G. Foley, Journal of Membrane Science **274**, 38 (2006).
[3] B. P. V. Hunt and G. W. Hosie, Journal of Plankton Research **28**, 847 (2006).
[4] Y. Tang, J. Shi, S. Li, L. Wang, Y. E. Cayre, and Y. Chen, Scientific Reports **4**, 6052 (2015).
[5] L. Pang, S. Shen, C. Ma, T. Ma, R. Zhang, C. Tian, L. Zhao, W. Liu, and J. Wang, The Analyst **140**, 7335 (2015).
[6] C. In-Soung, L. C. Pierre, J. Bruce, and J. Simon, Journal of Environmental Engineering **128**, 1018 (2002).
[7] V. K. Thuy, K. He, S. Echigo, Y. Asada, and S. Itoh, Water Cycle **3**, 35 (2022).
[8] E. Dressaire and A. Sauret, Soft Matter **13**, 37 (2017).
[9] I. Bouhid De Aguiar and K. Schroën, Membranes **10**, 316 (2020).
[10] H. M. Wyss, D. L. Blair, J. F. Morris, H. A. Stone, and D. A. Weitz, Physical Review E **74**, 061402 (2006).
[11] P. Bacchin, A. Marty, P. Duru, M. Meireles, and P. Aimar, Advances in Colloid and Interface Science **164**, 2 (2011).
[12] B. Dersoir, M. R. de Saint Vincent, M. Abkarian, and H. Tabuteau, Microfluidics and Nanofluidics **19**, 953 (2015).
[13] A. Sauret, K. Somszor, E. Villermaux, and E. Dressaire, Physical Review Fluids **3**, 104301 (2018).
[14] M. L. Mokrane, T. Desclaux, J. F. Morris, P. Joseph, and O. Liot, Soft Matter **16**, 9726 (2020).
[15] N. Vani, Soft Matter , 11 (2022).
[16] J. Lin, D. Bourrier, M. Dilhan, and P. Duru, Physics of Fluids **21**, 073301 (2009).
[17] P. Duru and Y. Hallez, Langmuir **31**, 8310 (2015).
[18] C. M. Cejas, F. Monti, M. Truchet, J.-P. Burnouf, and P. Tabeling, Langmuir **33**, 6471 (2017).
[19] C. M. Cejas, F. Monti, M. Truchet, J.-P. Burnouf, and P. Tabeling, Physical Review E **98**, 062606 (2018).
[20] B. Dersoir, A. B. Schofield, and H. Tabuteau, Soft Matter **13**, 2054 (2017).
[21] N. Delouche, B. Dersoir, A. B. Schofield, and H. Tabuteau, Physical Review Fluids **7**, 034304 (2022).
[22] X. Hong, M. Kohne, M. Morrell, H. Wang, and E. R. Weeks, Physical Review E **96**, 062605 (2017).
[23] J. Linkhorst, J. Rabe, L. T. Hirschwald, A. J. C. Kuehne, and M. Wessling, Scientific Reports **9**, 18998 (2019).
[24] A. Lüken, L. Stüwe, J. Lohaus, J. Linkhorst, and M. Wessling, en*Particle Movements Provoke Avalanche-like Compaction in Soft Colloid Filter Cakes*, preprint (In Review, 2021).
[25] S. El-Kirat-Chatel, A. Beaussart, S. P. Vincent, M. Abellán Flos, P. Hols, P. N. Lipke, and Y. F. Dufrêne, Nanoscale **7**, 1760 (2015).
[26] B. Alric, C. Formosa-Dague, E. Dague, L. J. Holt, and M. Delarue, Nature Physics 10.1038/s41567-022-01506-1 (2022).
[27] A. Valencia, C. LeMen, C. Ellero, C. Lafforgue-Baldas, J. F. Morris, and P. Schmitz, Separation and Purification Technology **298**, 121614 (2022).
[28] I. Ben Hassan, C. Lafforgue, A. Ayadi, and P. Schmitz, Food and Bioproducts Processing **92**, 178 (2014).
[29] M. Meireles, C. Molle, M. Clifton, and P. Aimar, Chemical Engineering Science **59**, 5819 (2004).
[30] B. G. Park, W. G. Lee, Y. K. Chang, and H. N. Chang, Bioprocess Engineering **16**, 253 (1997).
[31] Matsumoto, KATSUYAMA., and OHYA, Journal Ferment. Technol. **65** (1987).
[32] P. J. Smith, S. Vigneswaran, H. H. Ngo, R. Ben-Aim, and H. Nguyen, Journal of Membrane Science **278**, 381 (2006).
[33] P. Smith, S. Vigneswaran, H. Ngo, R. Benaim, and H. Nguyen, Journal of Membrane Science **255**, 99 (2005).
[34] N. Mugnier, J. Howell, and M. Ruf, Journal of Membrane Science **175**, 149 (2000).
[35] J. Lohaus, F. Stockmeier, P. Surray, J. Lölsberg, and M. Wessling, Journal of Membrane Science **602**, 117886 (2020).
[36] A. Lüken, J. Linkhorst, R. Fröhlingsdorf, L. Lippert, D. Rommel, L. De Laporte, and M. Wessling, Scientific Reports **10**, 20043 (2020).
[37] B. Dincau, C. Tang, E. Dressaire, and A. Sauret, Soft Matter **18**, 1767 (2022).
[38] D. Vella, A. Ajdari, A. Vaziri, and A. Boudaoud, Journal of The Royal Society Interface **9**, 448 (2012).
[39] S. Choi, M. G. Lee, and J.-K. Park, Biomicrofluidics **4**, 034110 (2010).
[40] N. Fukuda, Scientific Reports **13**, 1513 (2023).
[41] M. Delarue, G. Brittingham, S. Pfeffer, I. Surovtsev, S. Pinglay, K. Kennedy, M. Schaffer, J. Gutierrez, D. Sang, G. Poterewicz, J. Chung, J. Plitzko, J. Groves, C. Jacobs-Wagner, B. Engel, and L. Holt, Cell **174**, 338 (2018).
[42] K. Z. Coyte, H. Tabuteau, E. A. Gaffney, K. R. Foster, and W. M. Durham, Proceedings of the National Academy of Sciences **114**, 10.1073/pnas.1525228113 (2017).
[43] G. W. Schmidt, A. P. Cuny, and F. Rudolf, G3 Genes|Genomes|Genetics **10**, 4373 (2020).
[44] R. Hoffman and L. Gross, Applied Optics **14**, 1169 (1975).
[45] C. Cavaniol, W. Cesar, S. Descroix, and J.-L. Viovy, Lab on a Chip **22**, 3603 (2022).
[46] F. Ejeian, S. Azadi, A. Razmjou, Y. Orooji, A. Kottapalli, M. Ebrahimi Warkiani, and M. Asadnia, Sensors and Actuators A: Physical **295**, 483 (2019).
[47] H. Ranchon, V. Picot, and A. Bancaud, Scientific Reports **5**, 10.1038/srep10128 (2015).
[48] A. Rushton, A. S. Ward, and R. G. Holdich, en*Solid-Liquid Filtration and Separation Technology*, 1st ed. (Wiley, 1996).
[49] A. Rushton and H. E. Khoo, Journal of Applied Chemistry and Biotechnology **27**, 99 (1977).
[50] K. Nakanishi, T. Tadokoro, and R. Matsuno, Chemical Engineering Communications **62**, 187 (1987).
[51] T. Tanaka, R. Kamimura, K. Itoh, K. Nakanishi, and R. Matsuno, Biotechnology and Bioengineering **41**, 617 (1993).
[52] N. Katagiri, K. Tomimatsu, K. Date, and E. Iritani, Membranes **11**, 89 (2021).
[53] P. Carman, Chemical Engineering Research and Design **75**, S32 (1937).
[54] M. Meireles, M. Clifton, and P. Aimar, Desalination **147**, 19 (2002).

[55] Q. Xiong, T. G. Baychev, and A. P. Jivkov, Journal of Contaminant Hydrology **192**, 101 (2016).

[56] B. Chareyre, A. Cortis, E. Catalano, and E. Barthélemy, Transport in Porous Media **92**, 473 (2012).

[57] Reminder: the permeability is a large-scale quantity that can be computed as soon as the porous medium can be seen as a homogeneous medium. The permeability of a porous medium made of several parallel channels is proportional to the sum of the hydrodynamic conductivity of each of these parallel channels.

[58] L.-E. Øren and S. Bakke, Transport in Porous Media **46** (2002).

[59] E. Catalano, B. Chareyre, and E. Barthélémy, International Journal for Numerical and Analytical Methods in Geomechanics **38**, 51 (2014).

[60] D. Chang, T. Hirate, C. Uehara, H. Maruyama, N. Uozumi, and F. Arai, Microscopy and Microanalysis **27**, 392 (2021).

[61] M. A. Biot, Journal of Applied Physics **12**, 155 (1941).

[62] H. F. Wang, *Theory of Linear Poroelasticity with Applications to Geomechanics and Hydrogeology* (Princeton University Press, 2001).

[63] C. W. MacMinn, E. R. Dufresne, and J. S. Wettlaufer, Physical Review Applied **5**, 044020 (2016).

[64] M. Mota and M. C. Flickinger, Biotechnology Progress **28**, 1534 (2012).

[65] C. Tien and B. V. Ramarao, Powder Technology **237**, 233 (2013).

[66] J. Dufrêche, M. Prat, P. Schmitz, and J. Sherwood, Chemical Engineering Science **57**, 2933 (2002).

[67] M. Chandler, Journal of Membrane Science **237**, 181 (2004).

[68] S. Wickramasinghe, Y. Wu, and B. Han, Desalination **147**, 25 (2002).

[69] M. Delarue, J. Hartung, C. Schreck, P. Gniewek, L. Hu, S. Herminghaus, and O. Hallatschek, Nature Physics **12**, 762 (2016).

[70] C. Bottier, C. Gabella, B. Vianay, L. Buscemi, I. F. Sbalzarini, J.-J. Meister, and A. B. Verkhovsky, Lab on a Chip **11**, 3855 (2011).

[71] A. Valencia, C. Le Men, C. Ellero, C. Lafforgue-Baldas, P. Schmitz, and J. F. Morris, Journal of Membrane Science **599**, 117823 (2020).

[72] J. Ranft, M. Basan, J. Elgeti, J.-F. Joanny, J. Prost, and F. Julicher, Proceedings of the National Academy of Sciences **107**, 20863 (2010).

[73] A. Smith, K. Moxham, and A. Middelberg, Chemical Engineering Science **53**, 3913 (1998).

[74] Yeast cells reproduce by budding. That is to say that a daughter cell grows from the surface of a mother cell. The radius of the mother cell remains (almost) constant during that process. In contrast, the radius of the daughter cell increases rapidly until a point where the daughter cell separates from the mother cell.

[75] M. Latzel, S. Luding, and H. J. Herrmann, Granular Matter , 13 (2000).

[76] J.-F. Louf, N. B. Lu, M. G. O'Connell, H. J. Cho, and S. S. Datta, Science Advances **7**, eabd2711 (2021).

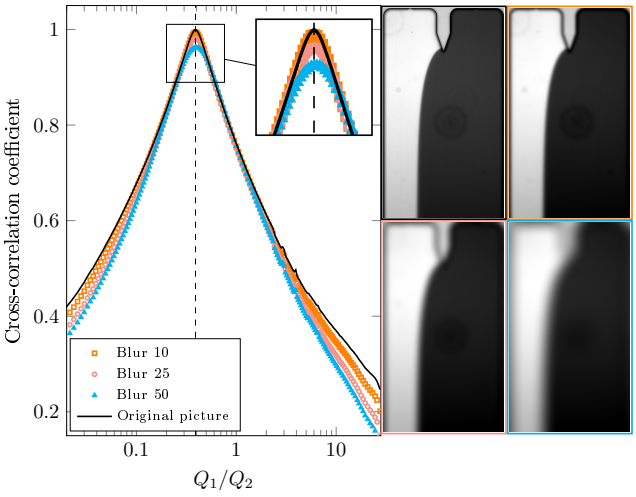

Fig. SI 1. Influence of a blur. The dashed line represents the expected Q_1/Q_2 ratio.

SUPPLEMENTARY INFORMATION 1 : SENSITIVITY ANALYSIS OF THE METHOD

In these Supplementary Information, we detail some sensitivity tests about our on-chip flow rate measurement method, before precisely quantifying uncertainty magnitudes for the different measurements that are presented in this article.

A. Sensitivity analysis

Fig. SI 1 shows that adding an artificial blur to the image has almost no effect on the cross-correlation vs flow rate ratio graph. Blur is added using a gaussian filter with standard deviation of 10, 25 and 50 pixels.

Fig. SI 2 shows that adding an artificial white noise to the image has no effect the flow rate detection as the peak remains sharp. Nevertheless, the cross-coefficient value of this peak decreases when adding noise. White noise of amplitude 1000, 5000 and 10000 is added to 16-bit encoded pixels intensity.

Fig. SI 3 shows that cropping the bottom part of the picture, when the colored fluid-non colored fluid interface is close to the center of the microchannel, has no effect on the flow rate detection as the peak remains sharp and its value is still close to 1. We observe some deviations for the most important crop but far from the peak. The bottom part of the picture is cropped of 500 px, 900 px and 1200 px.

Fig. SI 4 shows that cropping the bottom part of the picture, when the colored fluid-non colored fluid interface is close to the right-hand wall of the microchannel, has no effect on the flow rate detection as the peak remains sharp and its value is still close to 1. We observe some deviations for the most important crop but far from

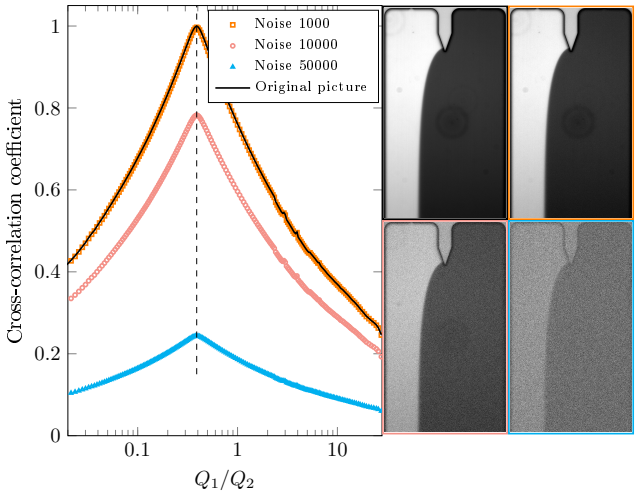

Fig. SI 2. Influence of white noise. The dashed line represents the expected Q_1/Q_2 ratio.

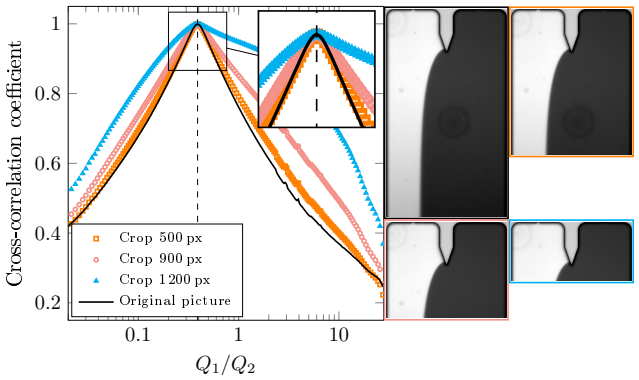

Fig. SI 3. Influence of cropping the image, for a flow rate ratio close to 1. The dashed line represents the expected Q_1/Q_2 ratio.

the peak. The bottom part of the picture is cropped of 500 px, 900 px and 1200 px.

These different sensitivity tests show the robustness of our image recognition method.

B. Uncertainties

In terms of uncertainty, an error in the geometrical characteristics of the microchannels can lead to an error in the hydrodynamic resistance. The uncertainty on H is estimated to be about 1%. A quick analysis of uncertainty propagation shows that a 1% uncertainty in H leads to a 3% uncertainty in the hydrodynamic resistance of the device. This uncertainty affects R_i and R_p in the same way (i.e. an overestimation of H will lead to an underestimation of *both* R_i and R_p). So the resulting uncertainty on γ, and therefore Q_1/Q_2, is very low. For instance, between $H = 6.1\,\mu$m and $H = 6.35\,\mu$m, there

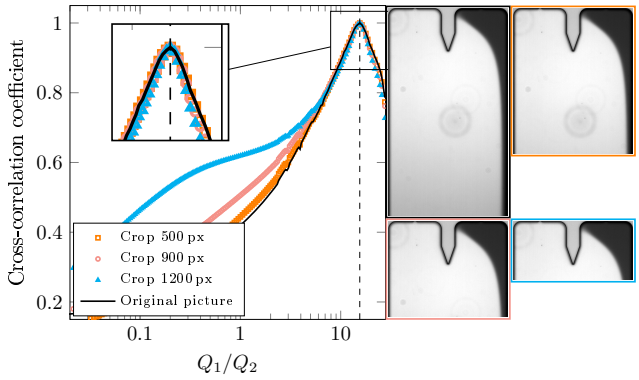

Fig. SI 4. Influence of cropping the image, for a flow rate ratio far from 1. The dashed line represents the expected Q_1/Q_2 ratio.

is a difference of 4%, but the difference on the values of γ is 0.31%. In the same way, the uncertainty associated with P_p^∞ is very low, below 0.5%.

Uncertainties on applied pressure are 0.1 mbar according to the data sheet of the pressure controller. For ΔP_1 and ΔP_2 around 500 mbar, the induced uncertainty on Q_1/Q_2 is negligible (0.04%).

Besides, the discretization induced by a finite-size data bank gives an uncertainty on the actual flow rate ratio, as it could be between two pictures in the data bank. The flow rate ratio separation between two successive images gives an estimate of the uncertainty. We estimate that it corresponds to a uncertainty between 3% and 6% on Q_1/Q_2, depending on the flow rate ratio (with the highest uncertainty at low/high Q_1/Q_2). This could easily be reduced by increasing the number of pictures in the database, at a higher computational cost.

That database discretization is thus directly responsible for an uncertainty up to 6% on the clog hydrodynamic resistance. But this uncertainty is not systematic, as the clog resistance increases with time, so the effects of discretization on the uncertainty on the permeability k are much lower than 6%. This can be observed in Fig. 8. In the curve obtained at 2000 mbar, the values are *quantified* to certain levels, which is a consequence of the database discretization. To quantify the uncertainty associated with this phenomenon, we compute the confidence interval at 99% during the linear fit. The associated values are represented as error bars in Fig. 9. Note that, in addition to these error bars, values of permeability reported in this article are precise at ±3%, because of a potential error on the height of the device, that create a systematic bias of 3% on the value of R_c.

Regarding the cell detection algorithm, used to compute the yeast cell density (C_c), the uncertainty is estimated by comparing two images of the same clog: one taken slightly out of focus and the other perfectly focused. In this case, the algorithm gave two different values of density separated by 5%. Therefore, for the sake of robustness, we estimate that the precision of the cell

density is 5%.

Finally, a precise summary of these quantities is listed in table II, for each variable presented in this article. When two uncertainty sources are independent (for example H and the database discretization), the following formula is used to compute the final magnitude:

$$U_m = \sqrt{U_1^2 + U_2^2} \tag{13}$$

with U_m the"final" uncertainty magnitude, U_1 and U_2 the uncertainty magnitudes associated with independent variables. For example, the uncertainty of R_c is equal to $\sqrt{6^2 + 3^2} \approx 6.7\%$. These final uncertainty magnitudes are also listed in table II.

SUPPLEMENTARY INFORMATION 2: PERMEABILITY MODELING

The modeling of the variation of k as a function of $\Delta P^\star$ is done in four steps. Firstly, the effective radius is expressed as a function of the pore throat radius (r_t) in a particular configuration, representative of our system, so that a relationship between k and r_t is obtained. Secondly, the pore throat radius is expressed as a function of cell deformation (δ). Thirdly, the variation of cell deformation with contact forces (F^c) is derived. Fourthly, the magnitude of contact forces is linked to the operating pressure ($\Delta P^\star$). Altogether, this workflow allows to relate the permeability of a confined packing and the operating pressure and can be summarized as follow:

$$k \longleftrightarrow r_t \longleftrightarrow \delta \longleftrightarrow F^c \longleftrightarrow \Delta P^\star$$

with the symbol $\longleftrightarrow$ representing functions that will be detailed successively in the folowing. The final expression $k \longleftrightarrow \Delta P^\star$ is cumbersome and provides no interesting information for this article, but a Matlab script that computes the relationship is provided as supplementary material.

a. $\boldsymbol{r_t \longleftrightarrow \delta}$ Yeast are ovoid objects with a low aspect ratio ($\approx$ 1.1), so their geometry can be approximated by spheres. As the particles are in contact with the walls, the general equation governing the radius of the pore throat is derived as follows. If two spherical particles of radius r_1 and r_2 are in contact with each other and with a wall, then, in the plane of contact, their position can be fully determined by two pairs of coordinates: (x_1, y_1) and (x_2, y_2), respectively (see illustration on Fig. SI 5). The largest sphere that can be inserted between these two spheres and the wall has coordinates (x_t, y_t) and radius r_t that are solutions of the following system of equations:

$$\begin{cases} (x_1 - x_t)^2 + (y_1 - y_t)^2 = (r_1 + r_t)^2 \\ (x_2 - x_t)^2 + (y_2 - y_t)^2 = (r_2 + r_t)^2 \end{cases}, \tag{14}$$

where the wall is assumed to be a line of equation $y = 0$.

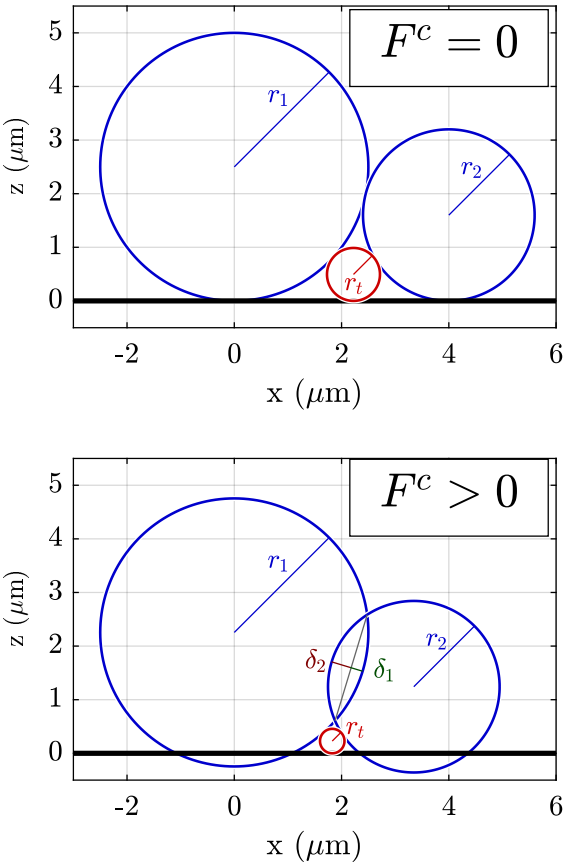

Fig. SI 5. Geometrical representation of the pore throat, for two cells of different radius r_1 and r_2.

In the literature, it is reported that when two yeasts are pushed slowly against each other, they deform like a pressurized elastic shell [38]. At relatively low applied forces, it has been observed that yeasts behave like Hertzian balls [60] so that the deformation is negligible away from the contact zone. At higher forces, it has been reported that the volume of yeasts decreases when they are compressed, as water flows *out* of the cytoplasm [38, 73]. In that case, Vella et al. [38] showed that the deformation of a yeast cell is negligible far away from the indentation zone. Therefore, we represent the deformation of neighboring yeasts as overlapping spheres that do not change their shape/radius as they are compressed: when two cells of radius r_1 and r_2 are compressed against each other and against the walls, they may overlap their neighbor by an amount δ_1 and δ_2, respectively (see Fig. SI 5, bottom panel for an example). In that case, $y_1 = r_1 - \delta_1$, $y_2 = r_2 - \delta_2$, and $y_t = r_t$. Without loss of generality, one can fix $x_1 = 0$, so that x_2 is fully determined from r_1, r_2, δ_1 and δ_2 :

$$x_2 = \sqrt{(r_1 + r_2 - \delta_1 - \delta_2)^2 - (r_1 - r_2)^2}. \tag{15}$$

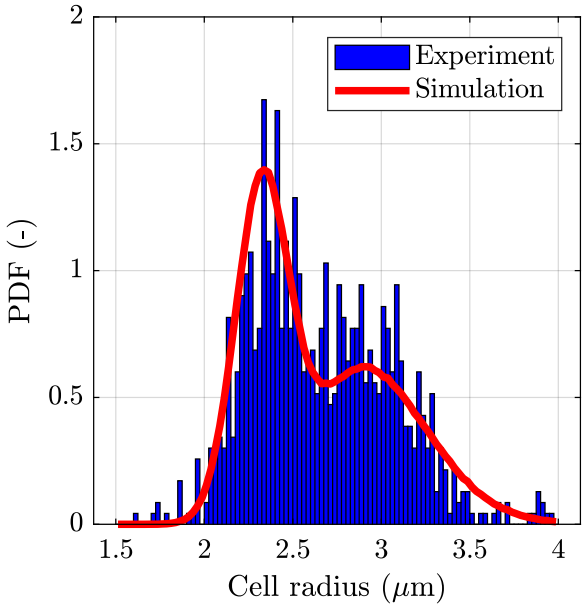

Fig. SI 6. Size distribution of yeast cells: experimental data (blue bars) and modeling of the size distribution as a sum a two normal distributions (red line).

With these elements, the system (14) can be analytically solved, so that r_t is known for every possible configuration $(r_1, r_2, \delta_1, \delta_2)$:

$$r_t = \frac{1}{(2r_1 - \delta_1)} \left(\frac{x_2 - \sqrt{\lambda}}{(2 - 2\frac{2r_2 - \delta_2}{2r_1 - \delta_1})} \right)^2 - \frac{\delta_1}{2}, \tag{16}$$

with

$$\lambda = x_2^2 - 4(1 - \frac{2r_2 - \delta_2}{2r_1 - \delta_1})((r_1 - \delta_1)(r_2 - \delta_2) + (2r_2 - \delta_2)(\delta_1 - \delta_2)). \tag{17}$$

Yeast cells are polydisperse, so the combination of r_1 and r_2 is random. Experimentally, a simple experiment is conducted to estimate polydispersity. A drop of yeast suspension is put between a microscope glass slide and its coverslip, and the yeast cells are observed under a microscope. The cell size distribution has been measured thanks to a simple segmentation algorithm, where the area of each cell is computed. The equivalent radius is then given by $r = \sqrt{\mathcal{A}/\pi}$, with $\mathcal{A}$ the segmented area. The results are presented in Fig. SI 6. They show that the size distribution of yeast cells is indeed polydisperse and presents two local maxima: one around 2.33 μm, the other around 2.93 μm. This allowed us to conclude that, in our experiment, half of the yeast cells were budding [74]. The size distribution of mother cells and non-budding cells is assumed to follow a bimodal distribution, well described by two gaussian: one gaussian is representing cells with no buds, while the other is representing cells with one bud. The distribution of cells without buds is first fitted and described by a normal law with a mean of 2.35 μm and a standard deviation of 0.15 μm. In the same time, the other part of the bimodal distribution represents the pairs of particles, whose area are equal to $\mathcal{A} = \pi(r_m^2 + r_b^2)$, with r_m and r_b the radius of a mother cell and of a bud, respectively. From that observation, the size distribution of daughter cells is simulated as a normal law of mean equal to 1.8 μm and of standard deviation of 0.5 μm. Finally, these two normal law reproduce well the observed size distribution - if one assumes that there are as much cells without buds than there are cells with buds. In other words, one third of the cells are actually daughter cells.

Finally, to take into account the cell size distribution, every result is averaged over 10^4 simulated combinations of (r_1, r_2). More precisely, the permeability is equal to

$$k = A \times \langle r_t(\delta_1, \delta_2)^4 \rangle_{(r_1, r_2)} + B \tag{18}$$

with $\langle r_t(\delta_1, \delta_2)^4 \rangle_{(r_1, r_2)}$ the mean of the throat radius given by formula 16, computed over all the combinations of (r_1, r_2). With no deformation ($\delta_1 = \delta_2 = 0$), this mean is equal to $8.864 \times 10^{-2}\,\mu\text{m}^4$, which corresponds to what would be obtained with a (monodisperse) pore throat radius of 0.55 μm. This radius "at rest" is relatively close to what would be obtained without considering the polydispersity. Indeed, in the monodisperse case, the pore throat radius is equal to:

$$r_t = \frac{r_1^2 + 2\delta_1^2 - 4r_1\delta_1}{4r_1 - 2\delta_1} \tag{19}$$

Thus, at rest, $r_t = 0.25 r_1$. Therefore, $\langle r_t^4 \rangle = \langle (0.25 r_1)^4 \rangle = 8.864 \times 10^{-2}\,\mu\text{m}^4$, which gives an equivalent pore throat radius of 0.54 μm.

b. $\boldsymbol{\delta \longleftrightarrow F^c}$ The relationship between the deformation of a cell and the compressive force is extracted directly from literature. As already mentioned earlier, at low forces, Chang et al. [60] provide experimental data on the flat indentation of yeast cells. From their paper, it can be derived that the deformation is given by:

$$\delta(F^c | F^c \leq F^c_{lim}) = \left(\frac{3F^c(1 - \nu^2)}{2E\sqrt{r}} \right)^{2/3} \tag{20}$$

with E the Young modulus of the cell at low deformation (that they estimated to be around 4.5 MPa), and ν the Poisson coefficient (that they estimated to be equal to 0.5), F^c_{lim} the limit between low forces and high forces, and r_i the radius of the cell. At large deformations, Vella et al. [38] provide analytical relationships for the indentation of a yeast cell with a punctual geometry. From their paper, we derive that, at large deformations:

$$\delta(F^c | F^c \geq F^c_{lim}) = \frac{F^c}{2\pi P_t r} + \delta_0 \tag{21}$$

with P_t the turgor pressure of a yeast cell (that is estimated around 0.1 MPa, based on published results [38],

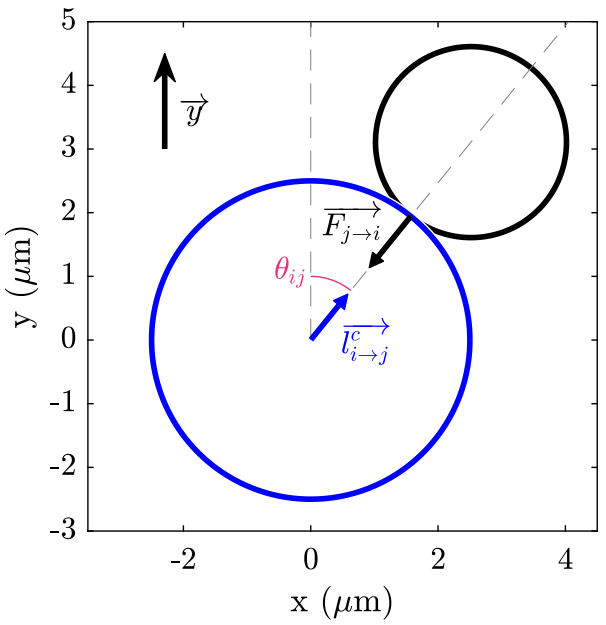

Fig. SI 7. Schematic representation of the branch vector and the contact force between a pair of particles i (in blue) and j (in black).

[26]), and δ_0 an unknown constant. The δ_0 constant is estimated from equation 20 and 21, assuming that the force-deformation law is continuous:

$$\delta_0 = \left(\frac{3F^c_{lim}(1-\nu^2)}{2E\sqrt{r}}\right)^{2/3} - \frac{F^c_{lim}}{2\pi P_t r} \tag{22}$$

Following Vella et al., (2012) [38], the limit between small deformations and large deformations is defined at $\approx 100\,\text{nm} = \delta_{lim}$. This corresponds to a limit between small forces and high forces equal to:

$$F^c_{lim} = \frac{2E\sqrt{r}}{3(1-\nu^2)}\delta^{3/2}_{lim} \tag{23}$$

c. $\boldsymbol{F^c \longleftrightarrow \Delta P^\star}$ The relationship between the contact forces exerted on each pair of particles and the mean stress is known to follow the relationship [75]:

$$\langle \boldsymbol{\sigma} \rangle = \frac{1}{V}\sum_{i\in V} w_i^V \sum_{j=1}^{Z_i} \overrightarrow{F^c_{j\to i}} \otimes \overrightarrow{l^c_{i\to j}} \tag{24}$$

with $\otimes$ the diyadic product, $\langle \boldsymbol{\sigma} \rangle$ the mean stress tensor computed over the volume V, w_i^V the weight corresponding to the fraction of the volume of particle i which lies inside the averaging volume V, Z_i the number of contacts for particle i, $\overrightarrow{F^c_{j\to i}}$ the contact force between particles j and i (see example presented Fig. SI 7) and $\overrightarrow{l^c_{i\to j}}$ the "branch vector", which is defined from the center of particle i with radius r_i to the contact point between particle j and i, see Fig. SI 7. It is often assumed that $\overrightarrow{l^c_{i\to j}} \approx r_i \overrightarrow{n^c_{i\to j}}$, with $\overrightarrow{n^c_{i\to j}}$ the contact normal vector from particle i to particle j [75]. In our case, the packing is compressed by uniaxial compression (say $\vec{y}$ direction) carried out by a fluid. Therefore, the stress component of interest is $< \sigma_{yy} >$, and, in the absence of friction, $\overrightarrow{F_{j\to i}}^c$ is colinear to $\overrightarrow{l^c_{i\to j}}$, and both vectors have the same angle (θ_{ij}) with respect to the $\vec{y}$ direction. Therefore, the former equation reduces to :

$$\langle \sigma_{yy} \rangle = \frac{1}{V}\sum_{i\in V} w_i^V \sum_{j=1}^{Z_i} F^c_{j\to i}\, r_i\, cos^2(\theta_{ij}) \tag{25}$$

The outcomes of this modeling effort demonstrated a favorable level of quantitative agreement when compared to empirical observations. Consequently, in the present work, we have chosen to draw inspiration from their approach and make the assumption that forces are uniformly distributed throughout the packing.

The forces in disordered granular media are known to be heterogeneous. But previous work [76], investigating the swelling of hydrogel beads in a packing of glass beads, has developed a model to better understand this swelling, simplifying the stress field following a mean-field approximation. This modeling has shown good quantitative results when compared to experimental data. Consequently, we have decided to adopt their approach and assume that forces are evenly distributed throughout the packing (with our notations, this implies that $F^c_{j\to i} \approx F^c$, with F^c the mean contact force). By defining the volume properly so that $w_i^V = 1$ for all particles considered in the volume V, the former equation then becomes :

$$\langle \sigma_{yy} \rangle = \frac{1}{V}\sum_{i\in V} F^c r_i \sum_{j=1}^{Z_i} \cos^2(\theta_{ij}) \tag{26}$$

The last part of the sum is then approximated by:

$$\sum_{j=1}^{Z_i} \cos^2(\theta_{ij}) \approx Z_i \langle cos^2(\theta_{ij}) \rangle_{\theta_{ij}\in[0-2\pi]} = \frac{Z_i}{2} \tag{27}$$

So that equation 26 becomes:

$$\langle \sigma_{yy} \rangle \approx \frac{F^c}{2V}\sum_{i\in V} r_i Z_i \tag{28}$$

r_i and Z_i are then assumed to be two independent random variables, so that $\langle r_i Z_i \rangle_{i\in V} = \langle r_i \rangle_{i\in V} \langle Z_i \rangle_{i\in V}$, where $\langle r_i \rangle_{i\in V}$ and $\langle Z_i \rangle_{i\in V}$ are the mean radius and coordination number, respectively (noted simply $\bar{r}$ and $\bar{Z}$ after). With these assumptions, the final relationship between the force exerted between each pair of particles and the ambient compressive stress is :

$$F^c \approx \frac{2\langle \sigma_{yy} \rangle}{\bar{r}\bar{Z}} \frac{V}{n_{i\in V}} = \frac{2\langle \sigma_{yy} \rangle}{\bar{r}\bar{Z}C_c} \tag{29}$$

where C_c is the number of cell per unit volume (estimated from measurements presented in Fig. 2).

Finally, the stress field distribution inside the clog is not known at this point. Therefore, we follow one of the main assumptions of linear poroelasticity: the stress field is assumed to be linearly distributed through the porous medium, with $\sigma_{yy} = 0$ at the top of the clog and $\sigma_{yy} = \Delta P^\star$ close to the membrane so that $\sigma_{yy} \approx \Delta P^\star(1 - y/L)$ (see for example MacMinn et al. [63]). Therefore $\langle \sigma_{yy} \rangle \approx \Delta P^\star/2$ and the relationship between F^c and $\Delta P^\star$ is:

$$F^c \approx \frac{\Delta P^\star}{\bar{r}\bar{Z}C_c} \tag{30}$$

This closes the system of equations and provides an analytical relationship between k and $\Delta P^\star$. However, because of equations (16) and (17), that relationship is cumbersome to write. The final (numerical) relationship between k and $\Delta P^\star$ is shown in Fig. 12, where the values of the parameters A and B are those obtained by adjustment to the experimental data.

2.3 Résumé étendu de l'article

2.3.1 Une méthode de mesure originale

Un pré-requis à l'étude du biocolmatage à la microéchelle est le développement d'une méthode de mesure fiable pour quantifier de très faibles débits en microfluidique (< 10 nL/min). En effet, l'état de l'art détaillé dans la section II.B.1 souligne les défis pratiques liés à la détection de tels débits. La stratégie adoptée repose sur une approche déjà publiée, notamment par Choi *et al.* (2010). Elle consiste à utiliser une paire de microcanaux rigoureusement identiques qui se rejoignent en un canal unique très large (voir illustration figure 2.1). Ces deux canaux débouchent sur un pore de section carrée capable de retenir les cellules de levure (voir figure 2.1). Dans un des canaux, la suspension diluée de levures s'écoule et les cellules retenues en amont du pore forment progressivement un bouchon. Dans l'autre canal, la solution de culture s'écoule en absence de levures, mais en présence d'un colorant. Ces deux canaux sont alors connectés à un canal plus large. Dans ce canal, une interface colorée est visible, et sa position dépend de la résistance hydrodynamique du bouchon de levures (voir illustration sur la figure 2.1 ci-dessous, et la figure 6 de l'article, où la construction d'un bouchon provoque le déplacement de l'interface).

Du fait de la grande résistance hydrodynamique induite par le bouchon de levure, il est commun que l'interface se positionne proche des murs du dispositif. Un algorithme dédié a donc été mis en place, pour détecter de manière automatique la position de l'interface, y compris dans le cas où le rapport de débit entre les deux canaux est très grand ou très petit. Une banque d'image a été constituée en travaillant en l'absence de levures (voir figure 3 de l'article). Le rapport $\Delta P_1/\Delta P_2$ est alors modifié, et la position de l'interface est enregistrée. Les images expérimentales sont alors comparées à cette banque d'image, et une analogie hydraulique-électrique permet de déterminer analytiquement le débit à travers le bouchon de levures et donc sa résistance hydrodynamique (équation 2 de l'article).

Les résultats présentés dans l'article montrent que cette technique permet de mesurer des débits très faibles (< 10 nL), avec une erreur faible ($< 6.7\%$), un temps de réponse rapide ($< 0.2s$). De plus, elle est peu sensible aux aléas expérimentaux (perte de focus, bruit sur l'image...).

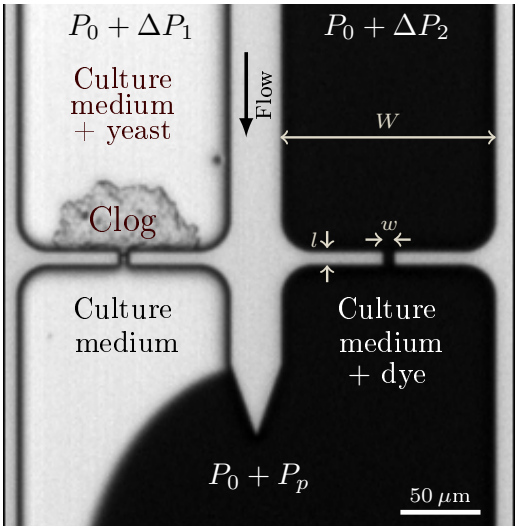

FIGURE 2.1 – Micrographie du microsystème (grossissement 5×). La suspension de levures est poussée dans le canal de gauche à une pression $P_0 + \Delta P_1$, avec P_0 la pression atmosphérique. Les cellules de levures sont retenues en amont du pore, si bien qu'un bouchon se forme dans le canal de gauche. Une solution de culture colorée coule dans le canal de droite, en étant poussée à la pression $P_0 + \Delta P_2$. Une interface entre liquide coloré et liquide transparent apparaît au niveau de la confluence, où la pression vaut $P_0 + P_p$. La position de cette interface est utilisée pour mesurer le débit à travers le bouchon. Chaque microcanal a une largeur de $W = 140\,\mu$m. La constriction a une largeur de $w = 6\,\mu$m et une longueur de $l = 10\,\mu$m. La zone de confluence a une largeur de $315\,\mu$m. Les puces sont gravées sur une profondeur constante H qui vaut $6.1\,\mu$m ou $6.35\,\mu$m, selon la puce utilisée.

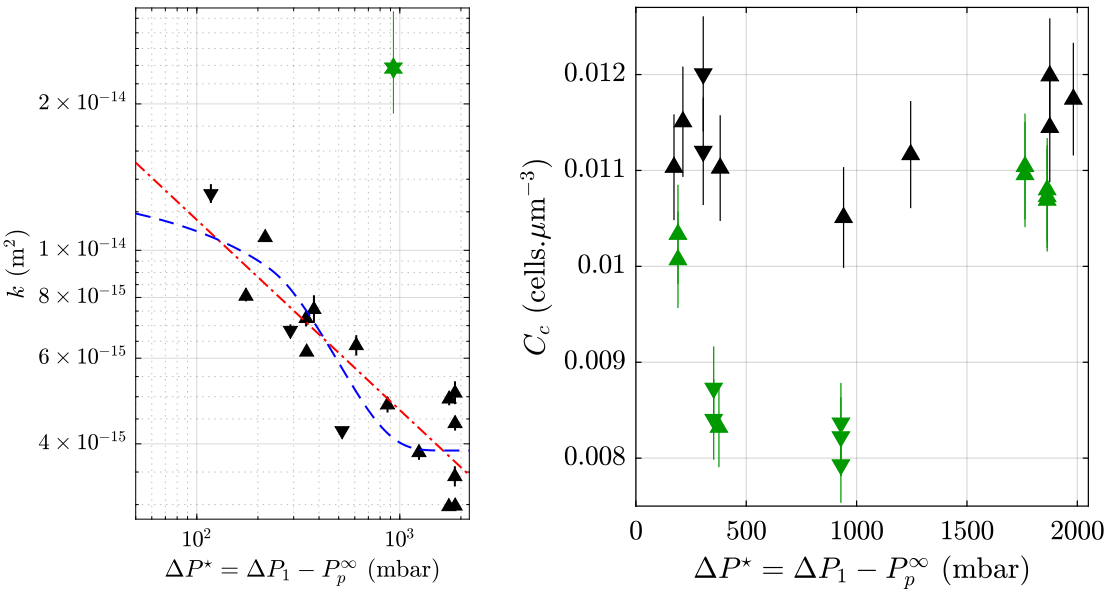

FIGURE 2.2 – À gauche : perméabilité pour les expériences menées à pression constante (noir), et durant les expériences de backflushes (vert). La direction des triangles dépend de la profondeur exacte des puces utilisées (6.1 μm pour les triangles pointant vers le haut, 6.35 μm pour les triangles pointant vers le bas). La courbe pointillée rouge représente le meilleur ajustement obtenu avec la loi empirique usuelle (loi de puissance), et la courbe en tiret bleu représente les prédictions du modèle présenté plus bas. À droite : densité cellulaire à l'intérieur du bouchon en fonction de $\Delta P^\star$, pour les deux types d'expériences conduites. Les barres d'erreurs sur la densité représentent 5% de la valeur affichée.

2.3.2 Mesures de la perméabilité et de la densité de cellules

Grâce à cette méthode de mesure, la résistance hydrodynamique est quantifiée au cours de la construction de bouchons pour lequel la prolifération cellulaire est bloquée à l'aide d'un antibiotique. Deux types d'expériences sont conduites : des constructions à pression constante et des expériences avec backflush, durant lesquelles la pression varie de manière à ce que la direction de l'écoulement soit inversée de manière cyclique et brusque.

Dans tous les cas, les résultats montrent que la résistance hydrodynamique augmente linéairement avec la longueur du bouchon, si bien que le bouchon se comporte comme un milieu poreux de perméabilité constante. Le formalisme de la loi de Darcy est alors utilisé et permet de quantifier la perméabilité des bouchons formés dans les différentes conditions opératoires. D'un autre côté, l'utilisation d'une souche de levures possédant des noyaux fluorescents permet de quantifier la densité en cellules à l'intérieur du bouchon.

Ces résultats, représentés sur la figure 2.2, montrent que pour les expériences réalisées à pression constante, la perméabilité diminue à mesure que la pression augmente, jusqu'à atteindre un plateau visible à partir de 750 mbar. D'un autre côté, la densité en cellules à l'intérieur du bouchon ne semble pas changer de manière importante lorsque la pression utilisée lors de la construction varie, les variations observées ne dépassant pas l'incertitude de mesure, quantifiée précisément dans le Supplementary Information I de l'article. Ces résultats illustrent le fait que des modifications très fines de la microstructure peuvent impacter significativement la perméabilité des bouchons formés.

D'un autre côté, la perméabilité mesurée lors des expériences de backflushes (point vert sur la figure 2.2), est plus de 4 fois supérieure à la perméabilité mesurée pour un bouchon construit à la même pression lorsque celle-ci est maintenue constante. Afin de donner un poids statistique suffisant à ce résultat, 6 expériences de backflushes ont été conduites, en fixant la pression de reconstruction à 1000 mbar, ce qui donne lieu au total à l'observation de 284 bouchons. Quelques expériences de backflushes ont également été conduites en faisant varier la pression de reconstruction, et en caractérisant la microstructure des bouchons formés. La mesure de la densité cellulaire révèle alors des variations

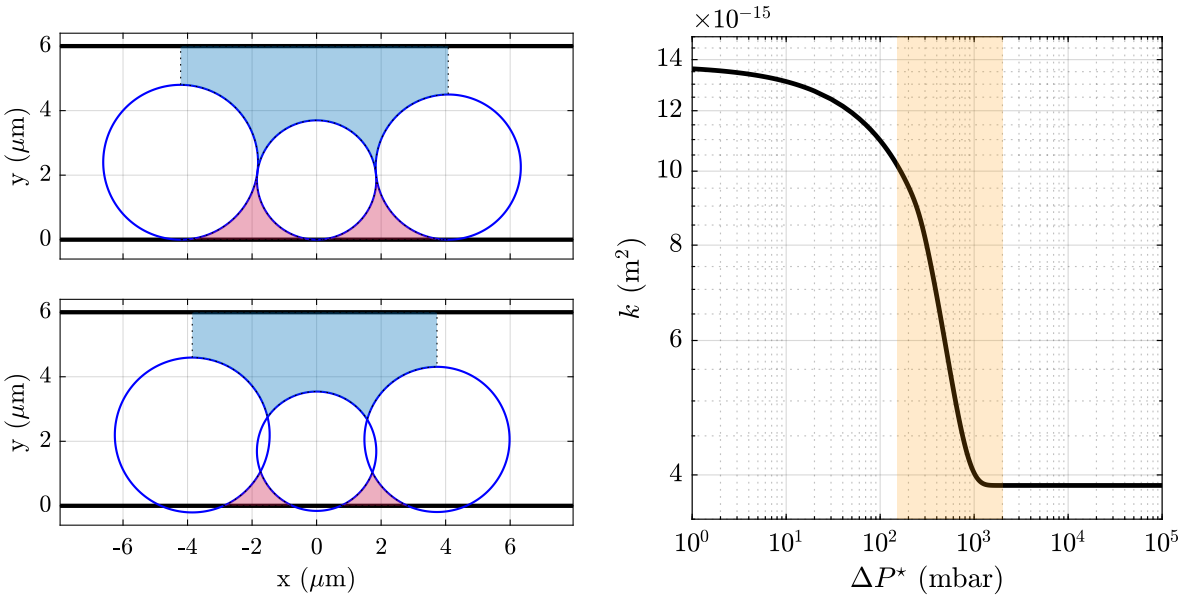

FIGURE 2.3 – À gauche : représentation des deux types de pores présents dans le bouchon de levures. Des petits pores (en rouge) sont présents entre chaque paire de cellules voisines et les parois hautes ($z = H$) et basses ($z = 0$) du dispositif, et des gros pores ont pour origine les défauts dans l'organisation des cellules au sein du gâteau, provoqués par le confinement (en bleu). À droite : perméabilité prédite par le modèle développé dans la partie Supplementary Information 2 de l'article. Afin d'illustrer le comportement du modèle, la pression est variée dans une large gamme, [0 - 10^5] mbar, et la perméabilité est simulée à partir des coefficients calibrés dans la section IV.B.2. La zone colorée représente la gamme de pression explorée lors des expériences.

significatives de densité lorsque la pression hydrodynamique varie, ce qui est interprété comme une conséquence des mécanismes d'adhésion entre particules (la discussion détaillée est présentée dans la section V.B de l'article).

2.3.3 Modélisation de la relation entre perméabilité et pression hydrodynamique

Le dispositif expérimental présente un confinement relativement élevé : il mesure environ 6 μm de profondeur alors que les cellules mesurent en moyenne 4.3 μm de diamètre. On peut alors raisonnablement supposer que ce fort confinement génère des effets d'exclusion géométrique très forts. Nous faisons l'hypothèse que le réseau de pores formé au sein du bouchon présente une distribution bimodale. D'un côté, des pores de petite taille se trouvent entre chaque paire de cellules en contact entre elles et avec une des parois du dispositif. D'un autre côté, des pores de plus grande taille sont présents de par les défauts dans l'organisation des cellules au sein du gâteau, provoqués par le confinement (voir illustration figure 2.3).

Le modèle reposant sur cette hypothèse se base sur la loi de Kozeny-Carman et les modèles de réseaux de pores, dont l'état de l'art a été détaillé dans le chapitre 1. En particulier, ce modèle suppose que la contribution des petits pores est proportionnelle à r_t^4, avec r_t le rayon des gorges des pores, c'est à dire le rayon des pores à l'endroit le plus resséré, tandis que la contribution des pores de plus grande taille est indépendante de $\Delta P^\star$, et est représentée par une constante. Un modèle analytique, détaillé dans la partie Supplementary Information 2 de l'article, permet alors de préciser la dépendance entre r_t et $\Delta P^\star$. Finalement, la perméabilité totale est la somme des contributions des deux groupes de pores. Deux coefficients (notés A et B dans l'article) représentent leur importance relative et sont ajustés aux données expérimentales (voir équation 12 de l'article).

Les résultats du modèle sont présentés sur les figures 2.2 (gauche) et 2.3 (droite). Il reproduit les résultats expérimentaux avec une qualité similaire à celle du modèle empirique « classique ». De plus, les coefficients ajustés (A et B) sont proches de valeurs que l'on aurait pu estimer théoriquement « à la main ». Enfin, il explique le fait que la loi empirique ne permette pas de reproduire la variation

de perméabilité sur l'ensemble de la gamme de mesure (voir figure 2.3, droite). En effet, il existe une pression seuil à partir de laquelle la déformation des cellules devient non-négligeable. En dessous, la perméabilité est quasi-constante (dans notre cas, pour $\Delta P^\star < 50$ mbar). Au delà, la perméabilité diminue avec la pression avant de se stabiliser à nouveau pour les hautes pressions (dans notre cas, pour $\Delta P^\star > 1000$ mbar), lorsque seul le réseau de pores formé par les défauts subsiste. Par ailleurs, le modèle développé indique que cette pression seuil dépend de la géométrie des pores présents dans le bouchon, et du comportement mécanique individuel des cellules.

2.4 Résultats complémentaires

Cette partie contient des résultats complémentaires à ceux présentés dans l'article. Dans un premier temps, une approche numérique simulant l'arrangement d'une assemblée de particules sphériques polydisperses dans une géométrie confinée est présentée. Cette simulation numérique vient étayer les hypothèses faites lors de la modélisation de la variation de perméabilité avec la pression. Dans un deuxième temps, on présente l'évolution de la résistance hydrodynamique lorsque le bouchon subit un cycle de compression/décompression, avant de décrire l'impact de la prolifération cellulaire sur la perméabilité.

2.4.1 Simulation de l'arrangement de particules polydisperses dans une géométrie confinée.

Si les expériences présentées plus haut permettent d'accéder à la densité de cellules, elles ne renseignent pas sur la manière dont celles-ci sont arrangées dans les 3 dimensions spatiales. Ainsi, une hypothèse forte de la modélisation mise en place est qu'il existe en fait deux réseaux de pores distincts. Afin de préciser cette hypothèse, une simulation numérique a été mise en place pour représenter les arrangements qui pourraient se produire dans notre géométrie confinée.

Méthode

Cette simulation numérique reprend la distribution de taille des cellules mesurée expérimentalement et donnée dans l'article (voir figure SI 6 de l'article). Elle simule la position (3D) de 1000 particules confinées entre deux parois espacées de 6.10 μm. Dans le détail, tant que le nombre de 1000 cellules n'a pas été atteint, la simulation est réalisée ainsi :

- Définir une nouvelle cellule en choisissant son rayon de manière aléatoire depuis la distribution de taille théorique détaillée dans la partie Supplementary Information 2 de l'article, reproduisant la distribution mesurée. Dans le détail :
  - Un tirage aléatoire détermine dans un premier temps si la cellule est une cellule fille (dont le rayon moyen vaut 1.8 μm) ou une cellule mère (dont le rayon moyen vaut 2.35 μm). Dans un tiers des cas, la cellule est une cellule fille, dans deux tiers des cas, c'est une cellule mère.
  - Le rayon de la cellule est alors déterminé par un nouveau tirage aléatoire suivant une loi normale de moyenne et d'écart type qui diffèrent selon que la cellule est mère ou fille (par exemple, pour les cellules mères, la moyenne est de 2.35 μm et l'écart type de 0.15 μm, voir détails dans le Supplementary Information 2). On a alors défini une nouvelle cellule, de rayon donné (r).
- Déterminer aléatoirement la position de la cellule dans l'épaisseur (z) du dispositif. Dans la moitié des cas, la cellule est collée à la paroi haute du dispositif (dans ce cas la position de son centre de masse vaut $z = H - r$), dans l'autre moitié des cas, elle est collée à la paroi basse ($z = r$). On a alors défini un plan dans lequel le centre de la cellule doit être placé.
- Pour chaque jeu de position possible (x, y), calculer la distance de la nouvelle cellule avec l'ensemble des autres cellules déjà présentes dans le dispositif, et avec les parois latérales (situées à $x = \pm 70\,\mu$m) et avec la paroi du bas (située à $y = 0\,\mu$m).
- La cellule est déposée à l'endroit tel que la hauteur (y) est minimale mais où elle ne touche aucune cellule déjà présente dans le dispositif. Si deux positions répondent à ce critère, la position avec la coordonnée x la moins grande est choisie par défaut.

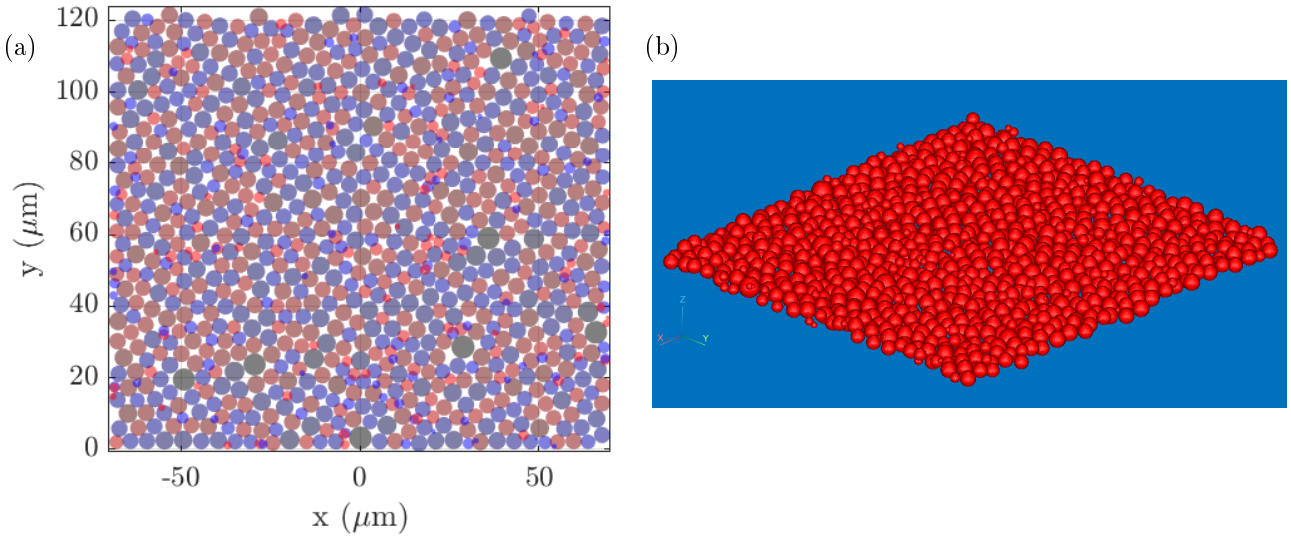

FIGURE 2.4 – Position simulée des particules. À gauche : vue de dessus, la couleur des particules représente leur profondeur. En rouge, les particules sont positionnées au niveau de la paroi basse du dispositif et de petite taille. En bleu, les particules sont positionnées au niveau de la paroi haute (et de petite taille). En noir, on a les plus grosses particules, à une position intermédiaire dans l'épaisseur du dispositif. À droite : vue 3D, les particules étant représentées en rouge et les parois du dispositif masquées.

Résultats

Les positions obtenues sont représentées sur la figure 2.4. Cet ensemble occupe environ 120 μm de haut, si bien que la densité cellulaire de ce bouchon fictif est d'environ 0.098, légèrement inférieure à la densité cellulaire mesurée. Les principales différences entre cet empilement synthétique et les bouchons expérimentaux sont d'une part que les cellules de levures sont ovoïdes et pas purement sphériques, et d'autre part qu'elles sont contraintes mécaniquement (alors que les cellules simulées ne se touchent pas).

À partir de cette simulation on peut calculer en tout point du domaine la distance de ce point à la particule la plus proche. Ce calcul est représenté pour $z = 0$ (le paroi basse du dispositif) et $z = H/2$ (le milieu du dispositif) sur la figure 2.5. Ces résultats montrent que les pores situés au milieu du bouchon sont de dimensions très petites comparées à celles des pores situés proche de la paroi basse. Ce résultat explique pourquoi le modèle présenté section IV.B de l'article parvient à simuler l'écoulement dans l'assemblée de cellules en se focalisant sur les pores situés entre les particules et les parois du dispositif : les pores localisés au centre du dispositif ($z = H/2$) ont vraisemblablement une contribution négligeable sur la perméabilité totale de l'assemblée.

Par ailleurs, à l'œil, il semble que coexistent bien deux réseaux de pores dans l'assemblée cellulaire : des pores de petite taille (autour de 1 μm), localisés entre des paires de cellules, et des défauts, plus grands que les petits pores ($> 1\,\mu$m). Cette impression visuelle est confirmée par l'analyse de la distribution statistique des résultats présentés sur la figure 2.5 (dans le détail : la distribution des distances à la plus proche particule, calculées depuis la paroi basse du dispositif). Cette distribution statistique est présentée sur la figure 2.6. Cette figure révèle que les distances présentées sur la figure 2.5 sont bien bimodales. Il est donc raisonnable de penser qu'il existe deux réseaux de pores interconnectés : un réseau de pores de moins de $1\,\mu$m de diamètre et un réseau de pores dont le diamètre est d'environ 1.5 μm. Ces grandeurs sont de plus cohérentes avec les estimations qui sont fournies en Supplementary Information 2, page 20 de l'article. En effet, le diamètre « au repos » des gorges des pores situés entre les cellules a été estimé autour de 1.1 μm, proche des 1 μm détectés ici.

Enfin, même si cette impression n'a pas encore été proprement quantifié, il semble que le réseau de petits pores visibles sur la figure 2.5 permette de connecter le réseau de gros défauts, ce qui

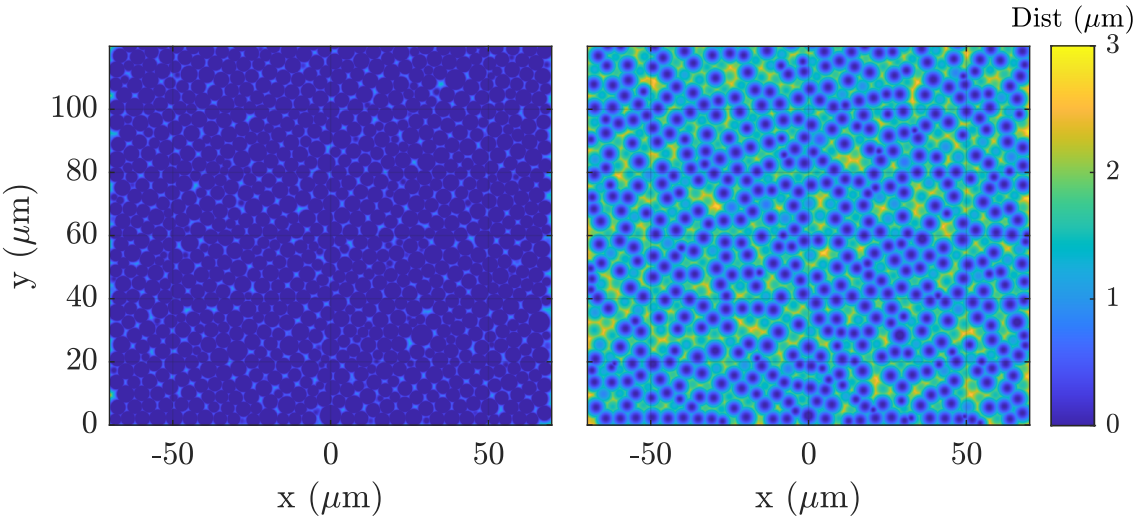

FIGURE 2.5 – À l'intérieur du bouchon, distance à la particule la plus proche, pour tous les point situés au milieu du dispositif ($z = H/2$) à gauche et pour tous les points situés en bas du dispositif ($z = 0$) à droite. Lorsqu'un point est situé à l'intérieur d'une particule, on considère qu'il est situé à une distance nulle de celle-ci.

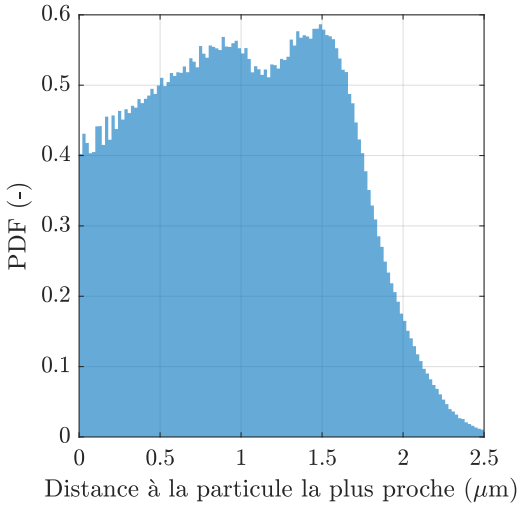

FIGURE 2.6 – Distribution statistique des distances à la plus proche particule, calculées depuis la paroi basse du dispositif.

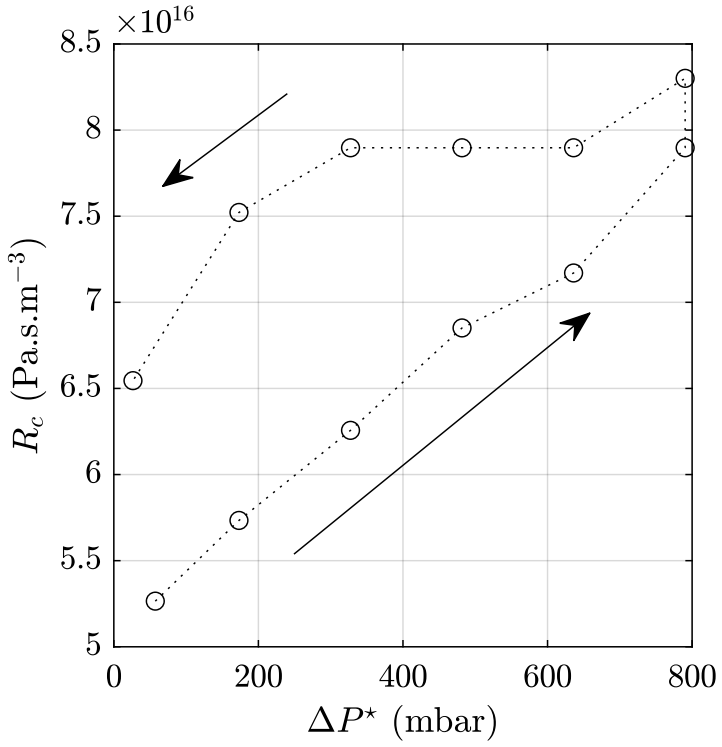

FIGURE 2.7 – Mesure de la résistance hydrodynamique pour un bouchon soumis à un cycle de compression/décompression. Les flèches indiquent le sens de variation de la pression lors du cycle.

expliquerait alors pourquoi leur influence est si grande, alors même que leur taille est plus petite que celle des défauts.

2.4.2 Mesure de débit pendant la compression

Les expériences présentées plus haut ont été conduites soit avec une pression fixe soit dans une situation de backflush. Cependant, il est intéressant d'explorer, pour un bouchon donné, la variation de la résistance hydrodynamique à mesure que la pression hydrodynamique évolue par paliers. Dans ce cas, vu les résultats présentés plus haut, on s'attend à ce que le bouchon se comprime, ce qui réduirait alors la taille des pores, et donc diminuerait la perméabilité de l'amas cellulaire.

Afin de mieux caractériser ce point, une expérience a été conduite en suivant un protocole proche de celui décrit dans la section II.A de l'article. Toutes les procédures sont identiques à celles décrites section II.A sauf que le bouchon est formé dans une puce pour laquelle le canal où se forme le bouchon est alimenté par deux entrées (le schéma de la puce est présenté figure 3.1 dans le chapitre suivant). Un des canal d'entrée est alimenté en suspension ce levures quand l'autre est alimenté en solution de culture (sans cellules). Lorsque le bouchon a atteint une taille jugée satisfaisante, une légère surpession est imposée sur le canal alimenté en solution de culture, ce qui bloque totalement le flux de cellules (voir le détail du protocole P2 décrit dans la section 3.2.1 du chapitre suivant). On réalise alors un cycle de compression/décompression du bouchon en faisant varier la pression imposée entre 22.9 mbar et 774.9 mbar (le protocole précis est détaillé dans le chapitre suivant, section 3.2.1) par paliers d'environ 156 mbar. La résistance hydrodynamique est mesurée en même temps que le bouchon se comprime.

Les données issues d'une expérience ont été analysées grâce au protocole décrit dans la section II de l'article, et sont présentés sur la figure 2.7. Lors de chaque palier de compression/décompression, des mouvements sont observables à l'intérieur du bouchon. Les données de résistance hydrodynamique présentés sur la figure 2.7 correspondent, pour chaque palier, à un état d'équilibre du bouchon, pour lequel les mouvements sont quasi-nuls à l'intérieur du bouchon.

Les résultats obtenus montrent que la résistance hydrodynamique augmente à mesure que la pression augmente. La valeur finale de la résistance est ainsi 60% plus grande que la valeur initiale. Lorsque la pression diminue, la résistance hydrodynamique reste à une valeur élevée, au moins entre 775 mbar

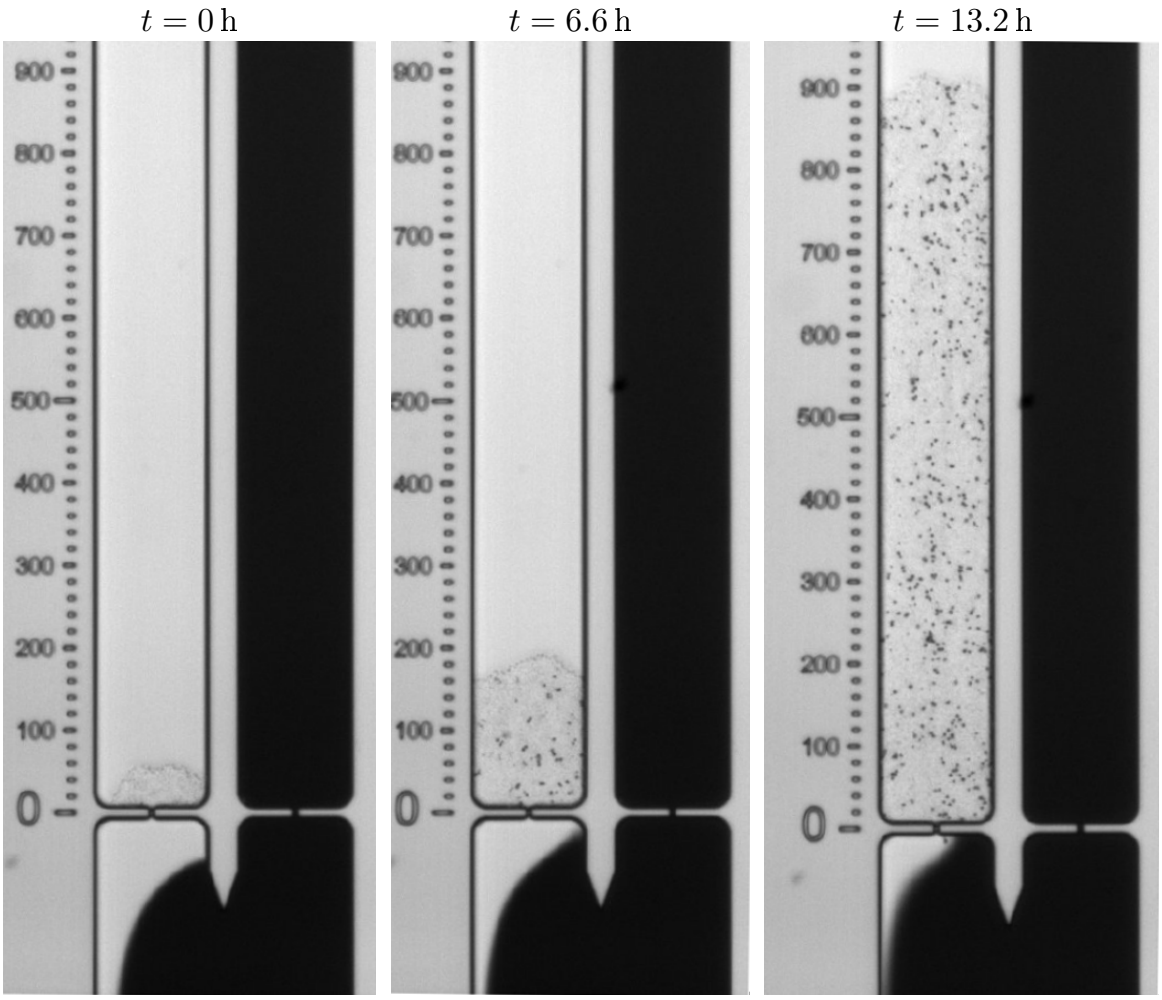

FIGURE 2.8 – Images acquises lors d'une expérience où les levures à l'intérieur du bouchon peuvent proliférer. Le temps $t = 0\,h$ correspond au moment où le flux de cellules est complètement bloqué. Pour chaque image, deux canaux identiques sont visibles, et les graduations sur le côté indiquent des distances en μm. Expérience conduite à $\Delta P^\star = 382$ mbar.

et 300 mbar, puis diminue mais ne retrouve pas sa valeur initiale. Ces résultats sont la signature de mouvements fins à l'intérieur du bouchon, qui n'ont pas été caractérisés à ce stade. Il est possible que ceux-ci se composent de déplacements globaux et de réarrangements à l'intérieur du bouchon. À ce stade, il est cependant notable qu'une hystérésis est visible sur la figure 2.7.

2.4.3 Effets de la prolifération

Les effets de la prolifération cellulaire sur la perméabilité des bouchons ont été étudiés par Mathieu Ghenni qui a réalisé un stage de M2 que j'ai co-encadré. Les résultats qui suivent sont directement repris de son travail.

L'impact de la prolifération cellulaire sur la résistance hydrodynamique est analysé en réalisant des expériences dédiées. Lors de ces expériences, aucun antibiotique n'est ajouté à la suspension de levures, si bien que les levures sont libres de proliférer. Un bouchon de levures est construit suivant le protocole P2 présenté rapidement dans la section 2.4.2 et en détail dans le chapitre suivant, section 3.2.1. Un fois qu'un petit bouchon (d'environ 50 μm de longueur) est construit, le flux de cellules est complètement stoppé. Dans ce cas, les images successives des expériences révèlent que la taille du bouchon augmente au cours du temps (voir figure 2.8). Cette augmentation est provoquée seulement par la prolifération.

Les images sont alors acquises tout au long de la prolifération du bouchon, ce qui permet de calculer, comme précédemment, la résistance hydrodynamique du bouchon pour différentes longueur.

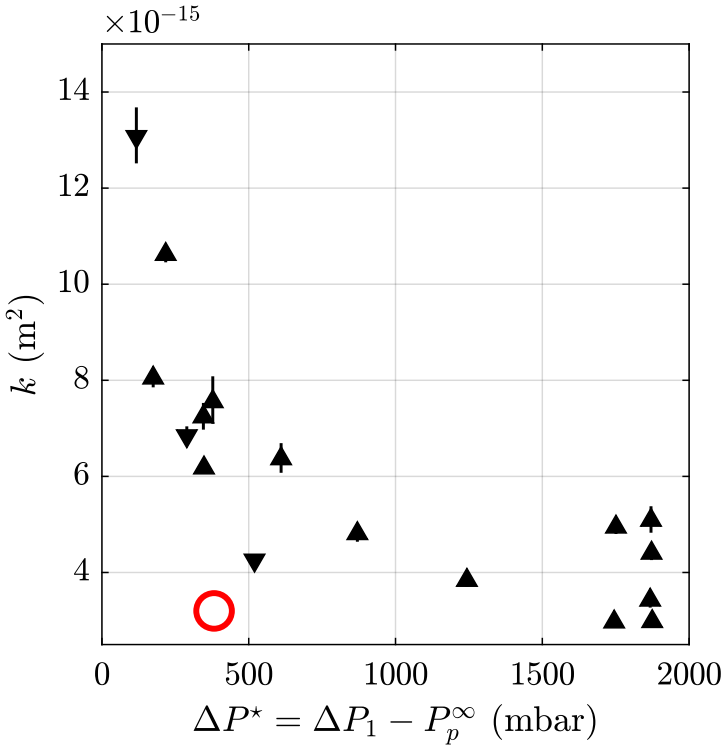

FIGURE 2.9 – Perméabilité des bouchons de levures construits à $\Delta P^\star$ constant (noir), et avec prolifération (rouge).

Les résultats, présentés en détail dans Ghenni (2023) montrent que la résistance hydrodynamique varie quasi-linéairement en fonction de la longueur du bouchon, au moins tant que la longueur du bouchon est inférieure à 250 μm. Au delà de 250 μm, la discrétisation de la banque de données n'est pas suffisante pour réussir à mesurer les rapports de débit observés.

L'analyse présentée précédemment est reproduite, et une valeur de perméabilité est déduite des données acquises tant que la longueur du bouchon est inférieure à 250 μm. La valeur de perméabilité corresponde est évaluée à 3.2×10^{-15} m^2. Cette valeur est présentée sur la figure 2.9, en même temps que l'ensemble des valeurs présentées précédemment en l'absence de prolifération.

Cette comparaison révèle que les valeurs de perméabilité obtenues sont inférieures à celles en l'absence de prolifération pour la même valeur de pression, même si elle est comparable à celle obtenue à $\Delta P^\star = 2000$ mbar en l'absence de prolifération. Il est donc possible que, pour des bouchons de moins de 250 μm, la microstructure obtenue avec prolifération soit plus compacte que celle obtenue par accumulation de particules.

2.5 Conclusions et perspectives

En conclusion, les résultats présentés dans ce chapitre ont mis en évidence le lien non-trivial qui existe entre perméabilité d'un gâteau de filtration, microstructure et histoire de sa construction (sans backflush ou après backflush). Par ailleurs, les analyses numériques d'arrangements 3D présentés section 2.4.1 ont donné des résultats proches des résultats expérimentaux, que ce soit en terme de taille des pores ou de densité en particules. Ces simulations 3D renforcent l'idée qu'il existe bien deux réseaux de pores : un présent entre les cellules et les parois et un dû aux défauts provoqués par le fort confinement imposé. Cela met en évidence l'importance de considérer le confinement dans de tels dispositifs. Ainsi, les analyses complémentaires présentées dans ce chapitre appuient les hypothèses réalisées pour écrire le modèle présenté dans l'article.

Enfin, deux expériences exploratoires ont été présentées. Elles ont montré (i) que la résistance hydrodynamique d'un bouchon donné dépendait du forçage mécanique imposé et que (ii) la prolifération cellulaire permet aux bouchons de grandir en l'absence d'arrivée de nouvelles cellules. Le bouchon

formé ainsi a une perméabilité inférieure aux bouchon formés en l'absence de prolifération.

L'ensemble des résultats obtenus dans ce chapitre ouvre de nombreuses perspectives de recherche :

— Lors des simulations d'arrangements 3D de particules, le fait de mesurer, pour tous les points, la distance entre la paroi basse du dispositif et la particule la plus proche n'est pas strictement équivalent à mettre en évidence un réseau de pore. Pour cela, on pourrait imaginer utiliser une triangulation de Delaunay et des graphes de Voronoï pour déterminer le réseau de pores, à la manière de Chareyre *et al.* (2012), par exemple.

— Cette détermination du réseau de pores permettrait alors de déterminer des grandeurs statistiques sur la bimodalité qui semble exister dans ce réseau. En particulier, on pourrait espérer pouvoir estimer de manière complètement théorique les valeurs des coefficients A et B de l'article, qui sont actuellement simplement ajustés aux données expérimentales.

— On pourrait alors imaginer faire subir différentes compressions à l'amas de billes simulé, par exemple en modifiant leurs coordonnées de manière arbitraire. Il serait alors intéressant d'observer comment les grandeurs statistiques obtenues précédemment évoluent avec la compression fictive de l'assemblée de particules.

— Les données de résistance hydrodynamique au cours de la compression du bouchon ont été traitées uniquement à partir des images d'une seule expérience. D'autres expériences doivent être analysées, pour pouvoir estimer la reproductibilité expérimentale des résultats présentés ici, et pouvoir comparer les expériences entre elles. Il est alors possible qu'il faille renormaliser les valeurs de résistances hydrodynamiques, par exemple en divisant les valeurs obtenues par la longueur du bouchon.

— La banque d'images devrait être étendue pour pouvoir mesurer les rapports de débits encore plus faibles que ceux mesurés dans cette partie. Cela permettrait alors de pouvoir facilement mesurer les débits à l'intérieur d'un bouchon qui prolifère, dont la taille peut atteindre plusieurs millimètres. De plus, raffiner la discrétisation de la banque d'image améliorerait la précision des résultats obtenus.

— Les résultats de perméabilité d'un bouchon proliférant doivent être confirmés par de nouvelles expériences. La variabilité de cette perméabilité lorsque la pression change n'a pas été étudiée, et pourrait faire l'objet d'une étude dédiée.

Finalement, les données présentées dans ce chapitre suggèrent que la microstructure du bouchon est altérée par le changement de pression hydrodynamique. Mais cette éventuelle altération n'a pas été caractérisée finement. Les données de densité cellulaire n'ont pas révélé de différences lorsqu'on fait varier $\Delta P^\star$. Cependant, les résultats complémentaires présentés figure 2.7, ainsi que le modèle présenté dans l'article suggèrent que le bouchon est *compressible*, c'est à dire qu'il pourrait se déformer lorsque le forçage hydrodynamique change. La caractérisation fine de cette déformation est l'objet du chapitre suivant.

Chapitre 3

Étude expérimentale du comportement mécanique d'un bouchon de levures

Sommaire

3.1 Introduction 69
3.2 Matériel et méthodes 70
3.2.1 Protocole expérimental 70
3.2.2 Traitement d'images 73
3.3 Compression du bouchon par un écoulement fluide 77
3.3.1 Une première représentation des résultats 77
3.3.2 Résultats principaux : variabilité du déplacement pour les expériences à longueur contrôlée 79
3.3.3 Expériences complémentaires : comparaison entre premier et second cycle . . . 82
3.3.4 Résultats complémentaires : effet de la hauteur des paliers et inter-comparaison des expériences 84
3.4 Compression avec un « piston » 88
3.4.1 Dynamique de déplacement à une altitude donnée, pour une expérience donnée 88
3.4.2 Profils de déplacements et de réarrangements 88
3.5 Vers une compréhension du comportement mécanique observé 93
3.5.1 Rappels théoriques 93
3.5.2 Densité de cellules 95
3.5.3 Mesures des contraintes locales grâce à des billes déformables fluorescentes . . 97
3.5.4 Mesures de l'encombrement interne des cellules 103
3.6 Poromécanique et prolifération cellulaire 106
3.7 Discussion et conclusions 111

3.1 Introduction

Le chapitre précédent a mis en évidence la relation entre la perméabilité, la microstructure et la pression à laquelle le gâteau est construit. La modélisation mise en place suggère alors que la microstructure pourrait être impactée par des modifications de pression. Cependant, les mesures réalisées ne permettent pas de détecter cette modification de microstructure, et donc encore moins de la caractériser. Par ailleurs, une hystérésis a été observée dans l'évolution de la résistance hydrodynamique en fonction de la pression. Mais l'origine de cette hystérésis n'a pas été élucidée à ce stade, alors que la littérature suggère qu'elle pourrait être causée par des réarrangements se produisant lorsque la pression hydrodynamique appliquée varie. L'objectif de cette partie est de caractériser le comportement mécanique d'un bouchon de levures lorsqu'il est soumis à différents forçages mécaniques.

Pour cela, le protocole expérimental est légèrement adapté. Un gâteau de levure est construit à pression constante, puis nous faisons varier le forçage mécanique pendant que la réponse du bouchon

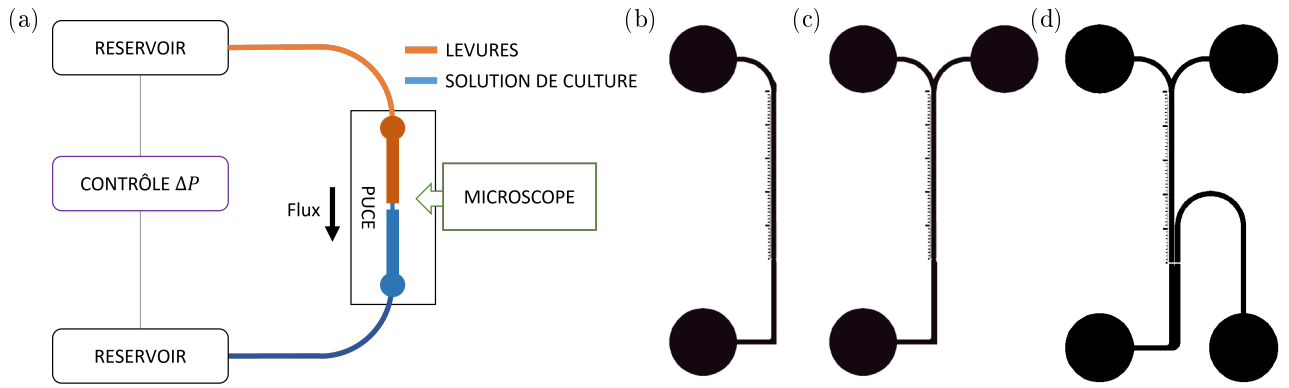

FIGURE 3.1 – Montage microfluidique (a) et schéma des trois types de puces utilisées : (b) une seule entrée, un seul canal, (c) deux entrées un seul canal et (d) deux entrées, un canal de lecture de débit, et un canal où le colmatage a lieu. Les dimensions du canal d'alimentation et du pore sont les mêmes que dans le chapitre 2.

est observée au microscope optique. L'algorithme de traitement d'images utilisé et le protocole expérimental sont détaillés dans la section 3.2. Dans le premier groupe d'expériences, présentées section 3.3, le forçage reste un écoulement fluide, et son intensité varie pour réaliser des cycles de compression/décompression. Puis, dans la section 3.4, la nature du forçage change : une bulle d'air est déposée sur le gâteau de filtration, ce qui permet de solliciter mécaniquement le gâteau à la manière d'un piston imperméable. La section 3.5 cherche alors à interpréter physiquement les observations réalisées, à l'aide d'expériences dédiées qui visent à mesurer la perte de volume des cellules de levure et les contraintes mécaniques à l'intérieur du gâteau de filtration. La section 3.6 explore alors la réponse du bouchon en présence de prolifération, tandis qu'il est forcé par un écoulement fluide. Enfin, la section 3.7 discute les principaux résultats et dresse les conclusions et perspectives de ce chapitre.

Ce chapitre est relativement long. Pour faciliter la lecture, les résultats sont résumés à la fin de chaque section. La dernière section permet alors de discuter des résultats obtenus au cours du chapitre.

3.2 Matériel et méthodes

3.2.1 Protocole expérimental

Points communs avec le chapitre précédent

Le protocole expérimental utilisé dans cette partie a de nombreux points communs avec le protocole utilisé dans la partie précédente :

- Le protocole de préparation de la suspension de cellules, et l'ajout d'un antibiotique avant les expériences suivent exactement le même protocole que celui décrit dans le chapitre 2.
- Le montage microfluidique est schématisé sur la figure 3.1 et consiste en un (ou plusieurs) contrôleur(s) de pression *Fluigent Flow EZ™* qui pressurise(nt) un (ou plusieurs) réservoirs connectés directement à une (ou plusieurs) entrées. Trois différents contrôleurs sont utilisés, selon la gamme de pression désirée (0-69 mbar, 0-1000 mbar et 0-2000 mbar).
- La puce est gravée dans le silicium par photolithographie standard et gravure au plasma dans une salle blanche. Le protocole de fabrication et le design des puces microfluidiques sont généralement identiques à ce qui a été décrit dans le chapitre 2, et par Mokrane *et al.* (2020). Trois types de puces, illustrées sur la figure 3.1, sont utilisées. Le premier type de puce consiste en un canal simple, alimenté par une seule entrée. Le second type de puce comporte également un canal simple mais alimenté par 2 entrées. Le troisième type de puce comporte deux canaux en parallèle (pour la lecture de débit) tandis que le canal où le colmatage est réalisé est alimenté par deux entrées. Ce canal de lecture de débit n'est pas utilisé dans ce chapitre. Cependant, il est important de noter que sa présence peut avoir un impact notable sur la pression à la sortie

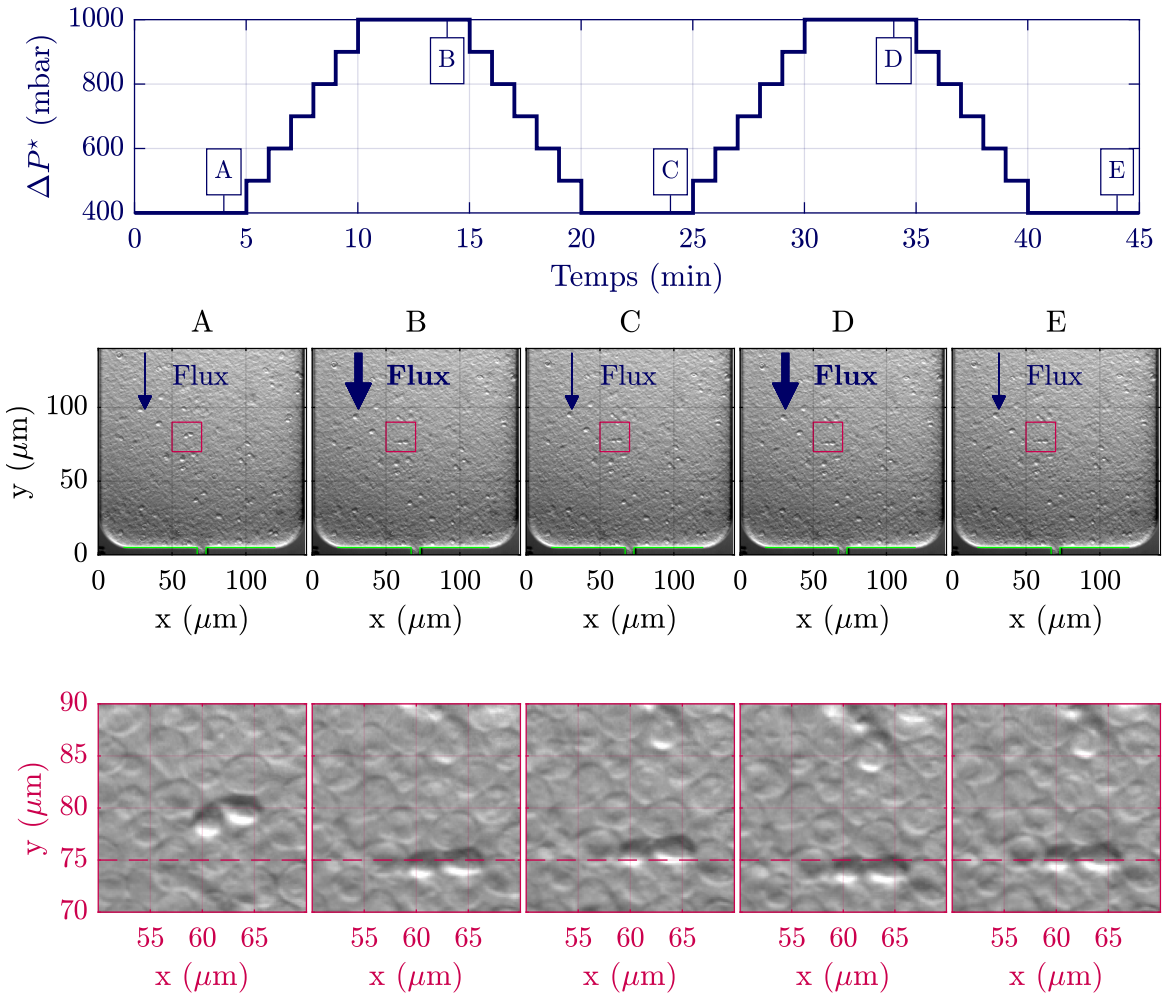

FIGURE 3.2 – Protocole de compression/décompression du bouchon de levures. Haut : Évolution de la pression au cours du temps. Milieu et bas : observations de la réponse du bouchon pendant le changement de forçage hydrodynamique. Le pore est mis en évidence avec des traits verts. Pour faciliter la visualisation, seuls les premiers 140 μm sont représentés. Rangée du bas : zoom sur une partie du bouchon (encadré en rouge sur la rangée du milieu). Le déplacement des cellules est visible à l'œil (une ligne en pointillée rouge est rajoutée sur la dernière rangée de graphiques, pour faciliter la lecture), et certaines cellules se réarrangent (par exemple, le duo de cellules situé à $x \approx 63\,\mu$m, $y \approx 80\,\mu$m sur l'image A). Grossissement utilisé : 40×.

---

du pore. Nous signalerons spécifiquement son utilisation lorsque cela se produira.

— Les observations du bouchon sont réalisées avec le même protocole que précédemment (contraste de Hoffman, fluorescence). L'objectif utilisé est souvent le même que précédemment (*Zeiss EC Plan Neofluar*, grossissement 20×), certaines expériences ayant été conduites avec un objectif de grossissement de 40× à immersion (*Zeiss EC Plan-Neofluar* 40× */1.30 Oil M27*), et lorsque la longueur du bouchon est supérieure à 500 μm, les expériences sont conduites avec un objectif de grossissement de 10× (EC Plan Neofluar Ph1)

Cycles de compression/décompression

Les cycles de compression/décompression sont réalisés une fois le bouchon formé, c'est-à-dire à partir du moment où le bouchon a atteint une taille souhaitée (plus de 180 μm) et qu'au moins 30 minutes se sont écoulées depuis le début du colmatage. La pression hydrodynamique à l'entrée de la puce (ΔP_1) change, si bien que la différence de pression subie par le bouchon ($\Delta P^\star$) change également. Ces changements de pression sont réalisés par paliers successifs de hauteur donnée (par

exemple 100 mbar), pour réaliser deux cycles de compression/décompression, comme illustré sur la figure 3.2. Les paliers durent 1 minutes et entre chaque phase des cycles, une pause de 5 minutes est réalisée.

Dans le même temps, le bouchon de levures est imagé au microscope, à une fréquence de 0.1 Hz. Les images acquises, présentées sur la figure 3.2 mettent en évidence des mouvements visibles à l'intérieur du bouchon. Ainsi, lorsque l'intensité du forçage hydrodynamique augmente, les cellules se déplacent dans le sens de l'écoulement : le bouchon se comprime. Lorsque le forçage est relâché, les cellules se déplacent dans le sens opposé à celui de l'écoulement : le bouchon de se décomprime, se dilate.

Un autre type de compression peut être réalisé en positionnant une bulle d'air en amont de de la suspension de levures. Cette bulle d'air ne parvient pas à traverser le bouchon de levures et est imperméable à tout écoulement de liquide. En effet, les dimensions des pores situés entre les levures sont micrométriques, si bien que la pression capilaire à développer pour réussir à envahir le milieu est très élevée (typiquement, pour une goutte d'eau passant dans un tube cylindrique de 1 μm de diamètre, la pression de Laplace est supérieure à 2.8 bar). En l'absence d'écoulement fluide, la pression dans le gaz est alors égale aux contraintes mécaniques appliquées sur les levures, au niveau de l'interface. Ainsi, en modifiant la pression dans la bulle d'air, on modifie les contraintes mécaniques que les levures subissent à la surface du bouchon, tout en bloquant l'écoulement de liquide.

Contrôle de l'arrivée des cellules

Dans la suite, différentes expériences sont présentées comme étant « de référence » parce qu'elles sont réalisés en construisant un bouchon avec une suspension de cellules, puis, juste avant les cycles de compression/décompression, le flux de cellules est complètement stoppé, en alimentant le bouchon avec la solution de culture seule.

Même si ce type d'expérience peut paraitre simple à réaliser, elle représente un défi expérimental. Les premiers essais consistaient à introduire une quantité donnée de suspension dans un tube de microfluidique, en aval d'une solution de culture sans levures. Dans ce cas, une fois que la suspension est entièrement passée dans la puce, on devrait obtenir un écoulement de solution sans levures. Cependant, les résultats expérimentaux montrent que, même si la concentration en levure finit par décroitre, cette décroissance est lente, si bien que le flux de cellules n'est jamais *rigoureusement* nul. Ce résultat a été interprété comme un effet de la dispersion de Taylor-Aris : du fait de la non-uniformité du profil de vitesse dans l'installation microfluidique, les particules situées proche du bord du tube sont advectées moins vite que celles situées au centre du tube. Ce protocole fournit tout de même des résultats intéressants, et il est nommé dans la suite protocole P1. Avec ce protocole la taille du bouchon peut augmenter au cours d'un cycle de compression/décompression, jusqu'à $\approx 16\%$ d'augmentation.

Des puces microfluidiques au design spécifique (illustré sur la figure 3.3) ont été conçues pour mieux contrôler le flux de cellules. Ces puces contiennent deux canaux d'entrée distincts qui sont reliés au canal où le bouchon se forme. Le premier canal est alors alimenté par une suspension de cellules tandis que le second est alimenté par la solution de culture dépourvue de cellules (voir illustration du protocole figure 3.3). Imposer la condition théorique de flux nul est en fait complexe. En effet, grâce au travail de Léonardo Santana, qui a réalisé un stage de M2 que j'ai co-encadré, il a été montré que les vannes microfluidiques disponibles introduisaient des bulles d'air dans les tubes de microfluidique. Quand la vanne est fermée, ces bulles introduisent un effet capacitif, ce qui dégrade le contrôle de l'écoulement (en provoquant des écoulements non-contrôlés dûs à la compression/décompression des bulles). De plus, les débits sont tellement faibles à travers la puce microfluidique que ce problème ne peut pas être résolu en plaçant un dispositif d'élimination des bulles d'air entre les vannes et la puce.

Le protocole expérimental le mieux contrôlé, permettant de construire des bouchons de longueur donnée a été mis en place grâce au travail de Mathieu Ghenni, qui a également réalisé un stage de M2 que j'ai co-encadré. Il consiste à construire un bouchon en appliquant la même pression hydrodynamique aux deux entrées du dispositif, typiquement 400 mbar. De la sorte, la solution de culture sans levures et la suspension de levures coulent en même temps dans le canal principal. Puis, juste avant et pendant les cycles de compression/décompression, une légère différence de pression est appliquée entre les deux entrées. Typiquement, la solution sans levures et poussée à 404 mbar tandis que la suspension de levures est poussée à 400 mbar. Dans ce cas, le sens de l'écoulement s'inverse

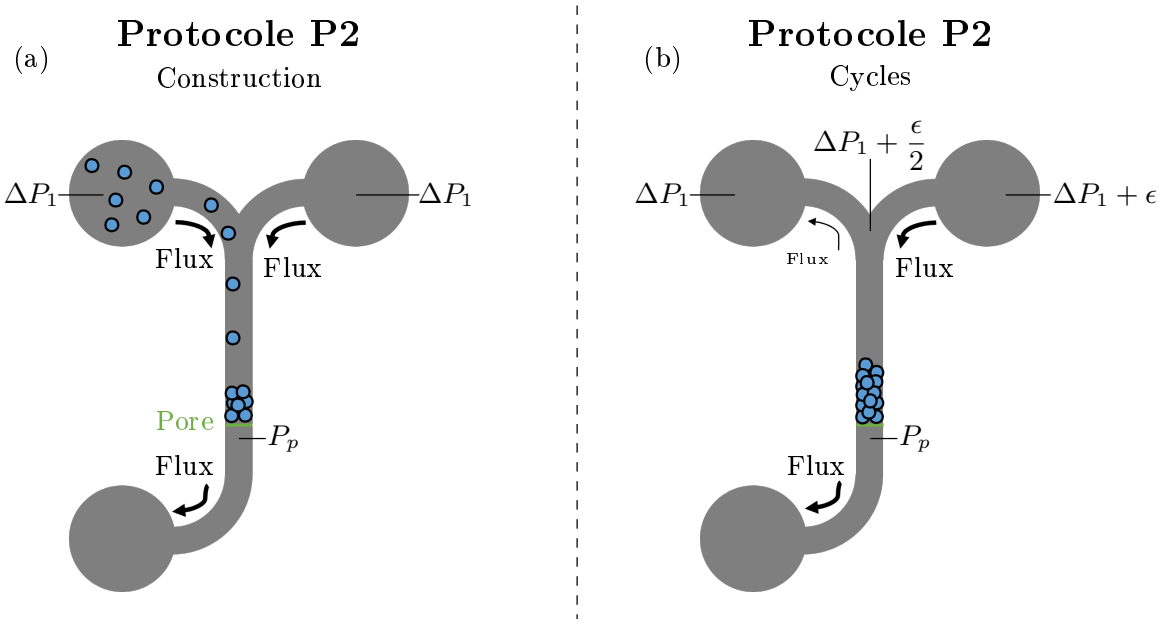

FIGURE 3.3 – Protocole utilisé pour les expériences avec taille de bouchon précisément contrôlée (protocole P2). Au début de l'expérience, pendant la construction du bouchon (a), la pression hydrodynamique aux deux entrées du dispositif est exactement la même (égale à ΔP_1). La pression a la sortie du pore est notée P_p, comme dans le chapitre 2. Une entrée est alimentée en suspension de cellules et l'autre entrée est alimentée en solution de culture seule. Ces deux entrées alimentent le canal où se forme le bouchon. Au moment de réaliser les cycles de compression/décompression (b), la pression à l'entrée alimentée en solution de culture est légèrement augmentée, (d'une quantité ϵ). Ce léger différentiel de pression inverse la direction de l'écoulement au niveau de l'entrée alimentée en suspension de levures : le flux de cellules est arrêté.

au niveau de l'entrée alimentée en cellules, si bien qu'aucune nouvelle cellule ne peut rentrer dans la puce. Lorsque la résistance du bouchon est largement supérieure à celle du dispositif, la pression en amont du bouchon est alors égale à la moyenne des deux pressions d'entrée - typiquement 402 mbar. Les cycles de compression/décompression sont alors réalisés en conservant cette différence de pression (la pression à l'entrée du canal sans levures étant 1% plus élevée que la pression à l'entrée du canal avec levures). Dans la suite ce protocole est nommé protocole P2.

3.2.2 Traitement d'images

Comme mentionné dans l'état de l'art, il a été rapporté qu'on pouvait observer à la fois des déplacements collectifs et des réarrangements lorsque le forçage hydrodynamique fluctue, aux bornes d'un bouchon formé de particules d'hydrogel (Lüken *et al.*, 2021a). Une chaîne de traitement a donc été développée, basée sur la microscopie dynamique différentielle, pour quantifier à la fois les déplacements collectifs (lorsque des groupes entiers de cellules se déplacent ensemble) et les réarrangements locaux (lorsque des cellules individuelles ne se déplacent pas comme leurs voisines).

Prétraitement

La première étape de l'analyse d'image consiste à repérer automatiquement toute rotation de l'échantillon par rapport à la caméra. Dans l'image, les bords du microcanal ont une intensité très différente de celle du fond du microcanal. La transformée de Radon permet donc de connaître l'orientation du dispositif de manière précise et robuste. Cette transformée est une projection de l'intensité de l'image le long de lignes radiales orientées selon différents angles. L'analyse est effectuée pour la première image de la série temporelle, puis la rotation détectée est appliquée à toutes les images, par interpolation bilinéaire.

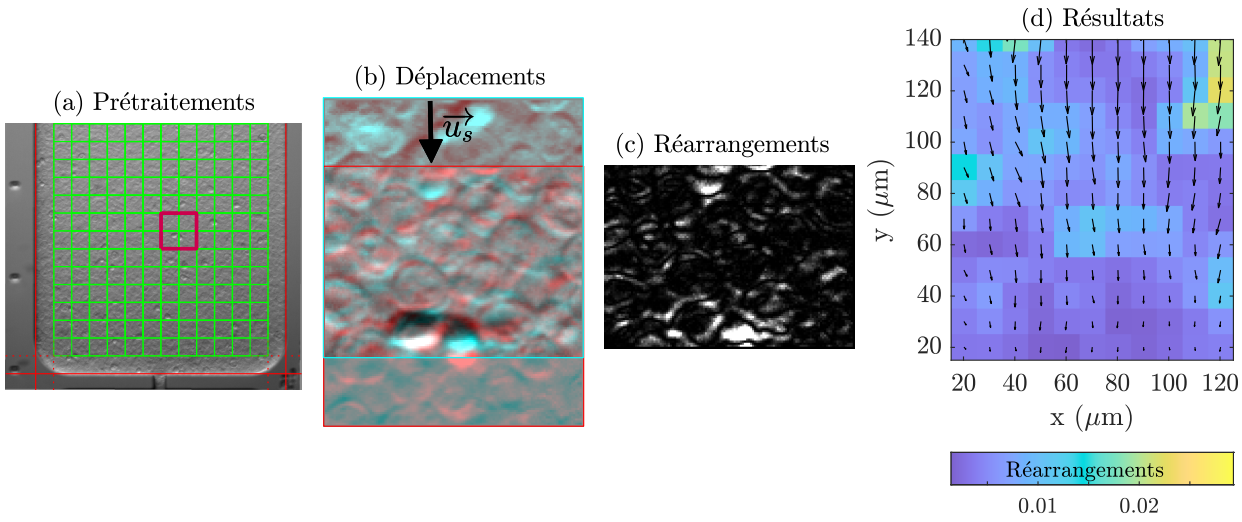

FIGURE 3.4 – (a) Exemple d'une image prétraitée. L'image A de la figure 3.2 a été utilisée. Les bords du microcanal sont représentés par des lignes rouges. La découpe finale en morceaux de 20 μm × 20 μm est représentée par des carrés verts. Un de ces morceaux est représenté par un carré rouge. (b) Deux morceaux d'images sont recalés, ce qui donne une mesure du déplacement collectif des cellules imagées. (c) La différence d'intensité entre les morceaux d'images recalés est calculée, ce qui donne une mesure des réarrangements qui ont eu lieu. (d) Les résultats obtenus concernent à la fois la somme des déplacements (représentés par des flèches noires) et la moyenne des réarrangements (en couleur), entre le début et la fin de la première compression représentée sur la figure 3.2 (images A et B).

La deuxième étape consiste à détecter la position des bords. En effet, lors de certaines expériences, la platine du microscope se déplace latéralement de quelques micromètres. Cette dérive est corrigée en analysant chaque image. Les bords du dispositif représentent des motifs très rectilignes dans l'image. Ils sont détectés en suivant la procédure suivante : (i) Lisser l'image à l'aide d'un filtre gaussien. (ii) Soustraire l'image lissée de l'image originale. Cette opération ne met en évidence que les motifs « abrupts » (représentés par des variations rapides d'intensité, de longueur d'onde courte si on représente l'image dans l'espace de Fourier). (iii) Additionner l'intensité de ces motifs dans les directions $\overrightarrow{e_x}$ et $\overrightarrow{e_y}$. On obtient des profils, où les bords du microcanal sont facilement repérables à l'aide d'un simple algorithme de détection de pics.

La troisième étape consiste à détecter l'extrémité supérieure du bouchon. Pour ce faire, une première coupe est effectuée pour ne conserver que l'intérieur du microcanal, et cette coupe est binarisée à partir d'un seuil défini automatiquement. Ensuite, la position verticale maximale du bouchon est détectée à partir de l'image binarisée : la limite du bouchon est fixée à la position L où 75% de l'image est remplie de cellules.

L'étape finale consiste à découper l'image en morceaux de $20 \times 20\,\mu\text{m}^2$. Ces dimensions ayant été optimisées pou ravoir un compromis entre (i) avoir des images suffisamment grandes pour pouvoir calculer des déplacements entre paires d'image (chaque image doit contenir suffisamment de cellules pour obtenir une estimation fiable des déplacements) et (ii) avoir une information qui reste locale. Les centres des morceaux sont séparés les uns des autres par 10 μm, si bien qu'ils se chevauchent. Afin d'éviter d'éventuelles difficultés de calcul des déplacements lorsqu'une partie du mur est présente sur l'image, une marge de 10 μm est conservée par rapport aux limites précédemment détectées, et seules les parties situées à l'intérieur de ces marges sont alors traitées.

Un exemple d'image prétraitée est présenté dans la figure 3.4 (a). Ce type d'image est généré pour chaque expérience et permet à l'opérateur de vérifier que l'étape de prétraitement a été effectuée correctement. De même, si un mouvement du dispositif est détecté, un message est affiché, pour vérifier que ce mouvement détecté correspond bien à un mouvement réél.

Quantification des déplacements et des réarrangements

L'analyse mise en place pour la quantification des déplacements collectifs et des réarrangements locaux est adaptée d'une méthodologie déjà publiée (Cerbino *et al.*, 2021) qui utilisent cette méthode pour mesurer à la fois les déplacements et les réarrangements observés lorsqu'une assemblée de cellules prolifère. Elle est basée sur l'analyse d'images prises successivement au même endroit. Dans notre cas, l'analyse est conduite sur les morceaux de l'image précédemment découpée. Pour chaque paire de morceaux d'images, l'analyse se déroule en deux étapes, illustrées sur la figure 3.4.

La première étape consiste à calculer le déplacement collectif des cellules entre les deux instants imagés. Cette étape consiste à trouver la translation optimale qui permet de rendre compte au mieux des changements survenus entre les deux morceaux d'images. Dans le détail, la covariance est d'abord calculée pour les deux morceaux. Le maximum de cette covariance définit une première translation grossière calculée avec une précision maximale de 1 pixel. Il s'agit d'une translation de base, qui sert de point de départ à un algorithme d'optimisation, qui permet alors d'obtenir une valeur de déplacement collectif avec une résolution inférieure à 1 pixel. Cet algorithme est la descente de gradient régulière, et la fonction minimisée est la somme des carrés des différences pixel à pixel. Le résultat est à la fois le déplacement ($\overrightarrow{u_s}$), mais aussi une éventuelle rotation (d'angle θ) entre les deux morceaux d'images. Ceux-ci sont alors recalés, de telle sorte que les mouvements collectifs ont été corrigés, comme illustré sur la figure 3.4 (b).

La deuxième étape consiste à analyser la différence entre les deux morceaux recalés. Lorsque toutes les cellules se déplacent de la même manière, les deux images sont identiques. En présence de réarrangements, certaines cellules ne se déplacent pas comme leurs voisines. La différence entre ces deux morceaux d'image renseigne alors sur les rérrangements qui ont eu lieu, comme illustré sur la figure 3.4 (c). De manière plus précise, en notant $I(\overrightarrow{x},t)$ l'intensité du morceau d'image, à la position $\overrightarrow{x}$ et au temps t, $I(\overrightarrow{x},t+\delta t)$ l'intensité à la même position et au temps $t+\delta t$, alors la quantité de réarrangements (R) entre les deux images est calculée comme :

$$R(\overrightarrow{x},t,\delta t) = \left\langle \left(I(\overrightarrow{x},t+\delta t) - T^{\theta}_{\overrightarrow{u_s}}(I(\overrightarrow{x},t)) \right)^2 \right\rangle_I, \tag{3.1}$$

où on a noté $\langle . \rangle_I$ la moyenne spatiale réalisée sur l'ensemble des pixels des morceaux d'images recollés (la moyenne de l'image représentée figure 3.4 (c)), et $T^{\theta}_{\overrightarrow{u_s}}(I^{\theta}(\overrightarrow{x},t))$ le morceau d'image acquise à la position $\overrightarrow{x}$ et au temps t, translatée de $\overrightarrow{u_s}$ et tournée de θ. En d'autres termes, $T^{\theta}_{\overrightarrow{u_s}}(I^{\theta}(\overrightarrow{x},t))$ représente l'image $I(\overrightarrow{x},t)$ qui a subi la transformation affine évaluée par l'algorithme.

Comme détaillé par Cerbino *et al.* (2018) et Cerbino *et al.* (2021), cette quantité n'est pas normalisée et dépend notamment de l'intensité de l'éclairage utilisée pour observer le bouchon. Ainsi, pour une situation donnée la quantité R sera plus élevée lorsque l'intensité de l'image est plus élevée que lorsqu'elle est plus faible. Les auteurs proposent notamment de renormaliser cette quantité comme suit :

$$R_n(\overrightarrow{x},t,\delta t) = \frac{R - R_0}{R_\infty}, \tag{3.2}$$

avec R_0 une quantité qui représente le bruit associé à la prise d'image, qui peut être estimée en prenant deux images à des intervalles si proches que le mouvement des particules est quasi-nul. Dans le cadre de cette thèse, cette quantité est estimée pour toutes les positions à partir du minimum de R, calculé sur tout l'intervalle temporel de mesure $[t_0;t_1]$:

$$R_0 = min_{t\in[t_0;t_1]}(R). \tag{3.3}$$

Par ailleurs R_∞ est une quantité qui représente les réarrangements qui sont mesurés lorsque les cellules se sont complètement réarrangés, les deux images prises sont alors complètement différentes. Dans le cadre de cette thèse, cette quantité est estimée en calculant la quantité suivante :

$$R_\infty(\overrightarrow{x},t,\delta t) = \langle \left(I(\overrightarrow{x},t) - T^{\theta=180^\circ}_{\overrightarrow{0}}(I(\overrightarrow{x},t)) \right)^2 \rangle_I, \tag{3.4}$$

cette quantité représentant la moyenne de la différence au carré entre les intensités mesurées sur une image et celles mesurées sur cette même image retournée de 180°. Cette définition de R_∞, n'est pas celle

utilisée par Cerbino *et al.* (2018). Les auteurs préfèrent utiliser $R_\infty = \lim_{\delta t \to \infty} R(\overrightarrow{x}, t, \delta t)$, c'est-à-dire définir R_∞ comme les réarrangements qui sont observés entre deux images séparées d'un temps très long. Cependant, cette métrique ne permet de renormaliser les données acquises dans le cadre de cette thèse. En effet, à la différence de Cerbino *et al.* (2021), les expériences réalisées ici peuvent parfois être conduites en l'absence de prolifération. Dans ce cas, il peut arriver que l'image initiale et l'image finale soient (relativement) identiques au cours d'une expérience de compression/décompression. L'utilisation de l'équation (3.4) a donc été préférée, car elle permet de renormaliser les réarrangements sans faire d'hypothèse sur le futur mouvement des cellules contenues dans un morceau d'images.

3.3 Compression du bouchon par un écoulement fluide

L'objectif de cette partie est de présenter les observations du comportement mécanique d'un bouchon de levures forcé par un fluide. L'analyse présentée section 3.2.2 est réalisée pour toutes les images acquises au cours d'une expérience de compression/décompression. Les résultats obtenus forment des tableaux de dimension trois : deux dimensions spatiales, et une dimension pour le temps. Cela rend relativement complexe la visualisation des résultats.

Dans la suite, on s'intéresse donc d'abord aux résultats obtenus pour une expérience donnée, représentative (qualitativement) des observations que l'on peut faire dans l'ensemble des expériences obtenues. Dans un second temps, on présente la variabilité des déplacements observés lors d'expériences de référence, pour lesquelles le flux de cellules est quasi-nul au moment de réaliser les cycles de compression/décompression. Ensuite, on s'intéresse plus précisément à l'évolution des propriétés mécaniques du bouchon entre deux cycles de compression/décompression successifs. Enfin, des expériences s'intéressant à des bouchons à la longueur variables, précontraints ou d'une relaxation mécanique inter-cycles sont présentées et comparées entre elles et aux expériences de référence.

3.3.1 Une première représentation des résultats

Variabilité spatiale des déplacements et réarrangements

L'observation des images acquises suggère que les déplacements sont variables spatialement (voir par exemple figure 3.2). Les cellules situées proche du pore ne se déplacent pas, ou très peu, alors que les déplacements semblent plus importants dans le haut du bouchon. Afin de mieux caractériser cette observation, les résultats du traitement d'image ont été analysés entre le début et la fin d'une compression (ou d'une décompression) donnée. Les mesures obtenues sont présentées sur la figure 3.5, où l'on représente les résultats obtenus pour le bouchon présenté figure 3.2, lors de la première compression et lors de la première décompression. Pour chacun des deux graphiques présentés, la somme des déplacements est calculée et représentée par des flèches, tandis que la moyenne des réarrangements est représentée en couleur.

Ces résultats mettent en évidence que le déplacement est plus grand dans la direction verticale, la direction tangentielle à l'écoulement, que dans la direction horizontale, la direction transverse à l'écoulement. Ils mettent également en évidence la non-uniformité du déplacement à l'intérieur du bouchon de levures. Les déplacements sont de plus grande amplitude en haut du bouchon, loin du pore, qu'en bas du bouchon, proche du pore. Il existe également une variabilité dans la direction horizontale, les déplacements étant légèrement plus grands au milieu du bouchon que sur les bords de celui-ci.

De plus, ces résultats mettent en évidence le lien qui peut exister entre réarrangements locaux et déplacements collectifs observés en amont de ces réarrangements. Ainsi, sur la figure 3.4 (d), on peut observer une moyenne de réarrangements élevée sur le côté haut et droit de l'image. Ces réarrangements sont associés à des déplacements de relativement grande amplitude, comparés au côté haut et gauche de l'image, où peu de réarrangements sont observés et les déplacements sont de plus faible amplitude.

Ces résultats suggèrent également que les réarrangements sont variables spatialement : très peu de réarrangements sont observés entre 20 μm et 50 μm au dessus du pore, alors que les réarrangements sont plus nombreux au delà de 50 μm au dessus du pore. Par ailleurs il est notable que certaines zones sont caractérisées par des réarrangements très faibles, tout en étant contigües à d'autres secteurs où des réarrangements très importants sont mesurés. Par exemple, autour de $x \approx 90\,\mu$m, $y \approx 120\,\mu$m très peu de réarrangements sont mesurés alors qu'autour de $x \approx 120\,\mu$m, $y \approx 120\,\mu$m, les réarrangements sont de grande amplitude.

Enfin, ces résultats montrent que les déplacements et les réarrangements sont très faibles lors de la phase de décompression. Les déplacements sont cette fois orientés dans le sens opposé à l'écoulement : le bouchon se décomprime.

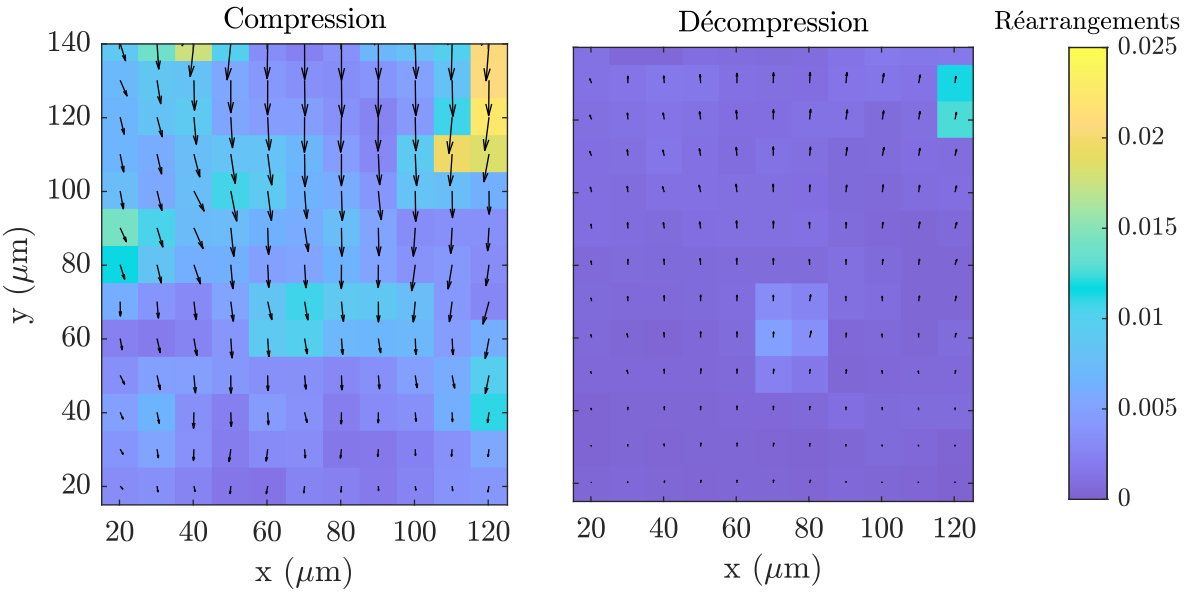

FIGURE 3.5 – Variabilité spatiale des déplacements (représentés par des flèches noires) et des réarrangements (en couleur), entre le début et la fin de la fin de la première compression représentée sur la figure 3.2 (gauche), et entre le début et la fin de la première décompression (droite).

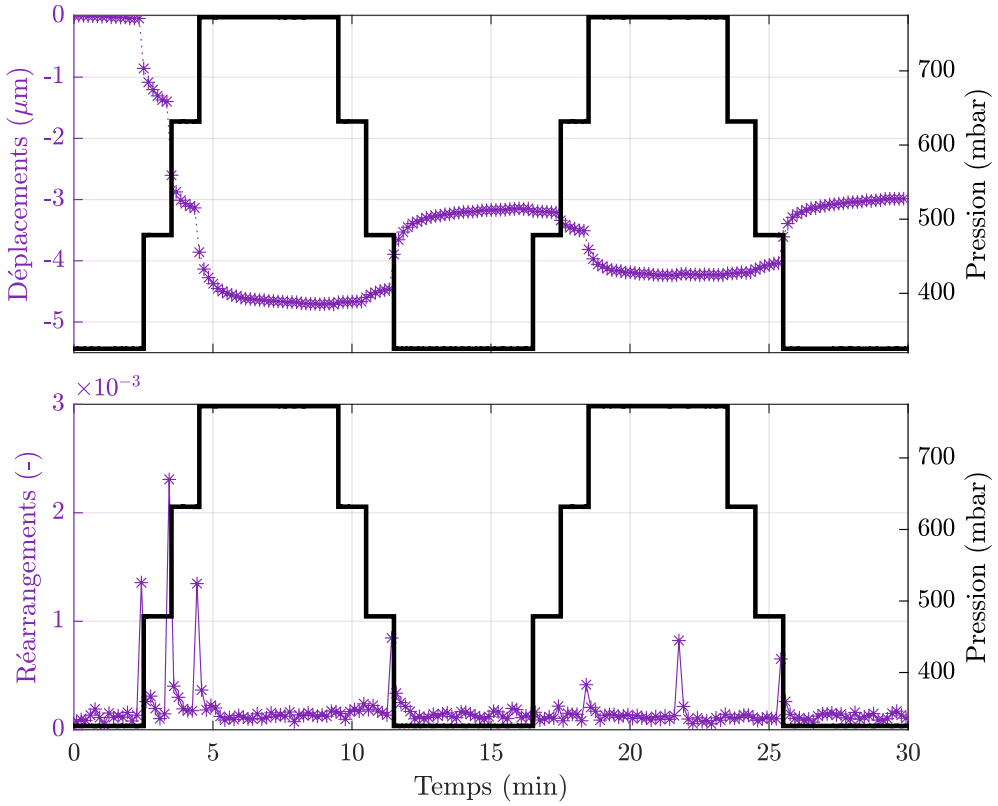

FIGURE 3.6 – Déplacements verticaux (en haut), et réarrangements (en bas) moyennés sur l'horizontale, à une distance du pore donnée ($y = 100\,\mu$m). La différence de pression aux bornes du bouchon est superposée en noir. Pour plus de clarté, sont présentés les déplacements *cumulés* (c'est-à-dire pour chaque temps t, la somme des déplacements entre l'instant initial et t) et les réarrangements *instantanés*, c'est-à-dire entre deux images successives (séparées de 10 secondes).

Variabilité temporelle à une hauteur (y) donnée

La variabilité temporelle des déplacements/réarrangements peut être visualisée en exploitant les résultats obtenus à une hauteur (y) donnée pour calculer, à chaque instant, la moyenne sur toutes les positions horizontales (x) des déplacements verticaux et des réarrangements. La figure 3.6 représente ainsi l'évolution temporelle de la somme cumulative des déplacements et de la valeur instantanée des réarrangements observés à cette hauteur fixe ($y = 100\,\mu$m dans ce cas).

Les déplacements et les réarrangements observés sont quasi-nuls tant que le forçage hydrodynamique est constant. Puis, lors de la première compression, le déplacement observé est négatif : les cellules se déplacent vers le bas du dispositif, dans le sens de l'écoulement. Il atteint $-4.7\,\mu m$, et est associé à des réarrangements importants, qui atteignent 2.3×10^{-3}. Lors de la décompression, les cellules se déplacent vers le haut, dans le sens opposé à l'écoulement. Elles remontent à une altitude inférieure à celle qu'elles occupaient au départ, à $-3.1\,\mu m$, et moins de réarrangements sont observés, seulement 8.5×10^{-4} au maximum. Lors de la seconde compression, les déplacements sont moins importants que lors de la première compression, si bien que le déplacement entre le début et la fin de la seconde compression n'est que de -1.1 μm. De plus, ce déplacement est réversible : lors de la seconde décompression, le bouchon se déplace de nouveau de 1.1 μm. De même, de très faibles réarrangements sont observés lors de la seconde étape de compression, inférieurs à 8.2×10^{-4}.

Par ailleurs, après chaque palier une réponse élastique rapide est observée, puis un déplacement visqueux lent a lieu jusqu'à la stabilisation du bouchon à sa nouvelle position d'équilibre, en un peu plus d'une minute. L'échelle de temps typique de ces réponses semble être indépendante de la pression hydrodynamique appliquée. De même, l'amplitude du mouvement semble être la même pour chaque palier de compression, où le bouchon se déplace d'environ $-1.5\,\mu$m, sauf dans certains cas où l'amplitude du mouvement est quasi-nulle. Ainsi, lors de la seconde décompression, les déplacements associés aux deux premiers paliers sont quasi-nuls, alors que les déplacements pendant le dernier palier sont plus importants.

3.3.2 Résultats principaux : variabilité du déplacement pour les expériences à longueur contrôlée

L'objectif de cette sous-partie est de présenter la variabilité des déplacements en fonction de $\Delta P^\star$ et de la position relative. Pour cela, on ne traite que des résultats acquis lors d'expériences de référence. Celles-ci ont été conduites selon le protocole P2, présenté dans la section 3.2.1, et sont caractérisées par un flux de cellules quasi-nul lors des cycles de compression/décompression.

L'évolution de la différence de pression au cours du temps pour ces expériences est illustré sur la figure 3.7. Ces expériences de référence ont été réalisées en présence d'un canal de lecture de débit, pressurisé avec la même pression que le canal sans solution de culture. En conséquence, la différence de pression subie par le bouchon est inférieure à la pression appliquée. Les résultats présentés au chapitre 2 indiquent ainsi que la différence de pression subie est égale à 76.3% de la pression appliquée. Par ailleurs, ces expériences ont été réalisées en commençant les cycles à une différence de pression de 22.9 mbar, une pression faible mais non-nulle, afin d'éviter toute inversion de la direction de l'écoulement fluide, et donc éviter toute destruction, même partielle, ou temporaire du bouchon. La différence de pression augmente ensuite toutes les minutes jusqu'à 328.3 mbar. À ce moment là, une pause de 5 minutes est observée avant de réaliser deux cycles de compression/décompression entre 328.3 mbar et 774.9 mbar (voir figure 3.7). Deux expériences ont été réalisées avec des sauts de pression de 156.7 mbar, deux expériences avec des paliers de 76.3 mbar et une expérience avec des paliers de 38.2 mbar. La différence de pression décroit finalement, après les cycles, jusqu'à une pression d'environ 22.9 mbar.

Profils verticaux de déplacements relatifs, à différents $\Delta P^\star$

Pour les 5 expériences de références, au moins 5 paliers ont été réalisées exactement à la même valeur de $\Delta P^\star$ (en plus du palier réalisé à 22.9 mbar) : 173 mbar, 327 mbar, 480 mbar, 634 mbar, et 775 mbar. Pour chacune des expériences, les déplacements sont quantifiés pour chacun des 5 paliers réalisés en commun, en séparant deux phases des cycles : lors de la première compression, en prenant le palier de 22.9 mbar comme référence, et lors de la dernière décompression, en prenant le palier de 775 mbar

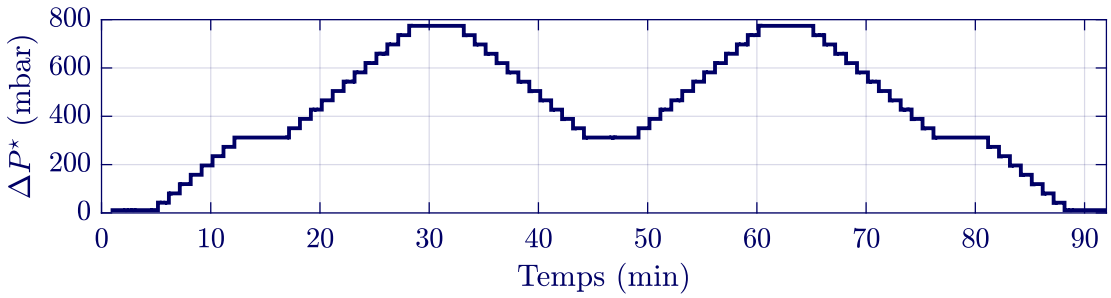

FIGURE 3.7 – Évolution de la pression au cours du temps pour les expériences de référence : deux cycles de compression/décompression sont réalisés en démarrant et en finissant à $\Delta P^\star = 22.9$ mbar. Remarque : cette courbe représente un exemple de l'évolution de la pression au cours des expériences de référence. En particulier, dans tous les cas, la pression diminue jusqu'à 22.9 mbar avant et après les cycles. Les paliers réalisés sont de 38 mbar, 78 mbar ou 157 mbar, selon l'expérience (voir table A.1 en annexe pour le détail).

comme référence. Pour chaque palier en commun, la somme des déplacements est calculée, entre le palier de référence et le palier considéré. Cette somme est ensuite moyennée sur l'horizontale (direction x), ce qui fournit un profil vertical de déplacement (u_s). Chaque profil est ensuite renormalisé par la longueur du bouchon (on calcule u_s/L), la longueur du bouchon valant entre 270 μm et 410 μm, selon les expériences (voir la table A.1, en annexe, pour le détail). Ces profils sont alors tracés en fonction de la position relative dans le bouchon (y/L), sur la figure 3.8.

Les résultats sont présentés sur la figure 3.8. Pour les 5 expériences considérées, les déplacements relatifs ont des amplitudes comparables, d'expérience en expérience, si bien que la courbe est simplifiée en traçant la moyenne en gras et en représentant l'écart-type divisé par la racine carrée du nombre d'expériences disponibles (ici 5) par une zone colorée. Les déplacements relatifs sont systématiquement plus importants en haut du bouchon ($y/L = 1$) que proche du pore ($y/L = 0$), où ils tendent vers 0. Par ailleurs, les profils présentés sur la figure 3.8 montrent que lors des phases de compression, les déplacements augmentent à mesure que $\Delta P^\star$ augmente, et ce, quelque soit la position relative. De plus, les déplacements entre 23 mbar et 173 mbar et entre 173 mbar et 327 mbar sont plus grands que les déplacements mesurés dans la suite de la compression. Les résultats montrent également que pour les premiers paliers de décompression, les déplacements sont très faibles. Par ailleurs, lors de ces premiers paliers de décompression, le bouchon se dilate (se déplace selon $+\overrightarrow{e_y}$) de manière plus importante dans la partie la plus éloignée du pore (pour $y/L > 0.5$), avant de se dilater dans la partie basse ($y/L < 0.5$) lors des paliers suivants. Il est également notable que les déplacements observés lors de l'ensemble de la décompression (de 775 mbar à 22.9 mbar) sont du même ordre de grandeur que ceux observés lors de la compression (autour de 0.05-0.06).

Relation entre le déplacement et $\Delta P^\star$, à différentes hauteurs (y/L)

Le lien entre la pression hydrodynamique appliquée et le déplacement mesuré peut être analysé en se plaçant à différentes positions relatives dans le bouchon, par exemple à la moitié du bouchon ($y/L = 0.5$). À cette position, le déplacement est moyenné à une hauteur donnée et est mesuré pour chaque expérience et pour chaque palier réalisé, entre 22.9 et 775 mbar, lors de la compression et lors de la décompression. Afin de présenter les résultats de manière lisible, les déplacements sont mesurés à partir l'état comprimé du bouchon ($\Delta P^\star = 775$ mbar). Cette convention permet de rendre continues les courbes présentées dans cette partie, au moins à $\Delta P = 775$ mbar. Les données obtenues sont présentées sur la figure 3.9, pour les positions $y = 0.15L$, $y = 0.5L$ et $y = 0.85L$.

Les résultats montrent une nouvelle fois que le déplacement est quasi-nul pendant le début de la décompression, entre 775 mbar et 400 mbar. À partir de 400 mbar, les déplacements varient de manière non-linéaire avec la pression imposée. Les déplacements sont relativement faibles entre 400 mbar et 300 mbar, puis très grands entre 200 mbar et 22.9 mbar. À l'inverse, la compression est caractérisée par une relation quasi-linéaire entre les déplacements et la pression.

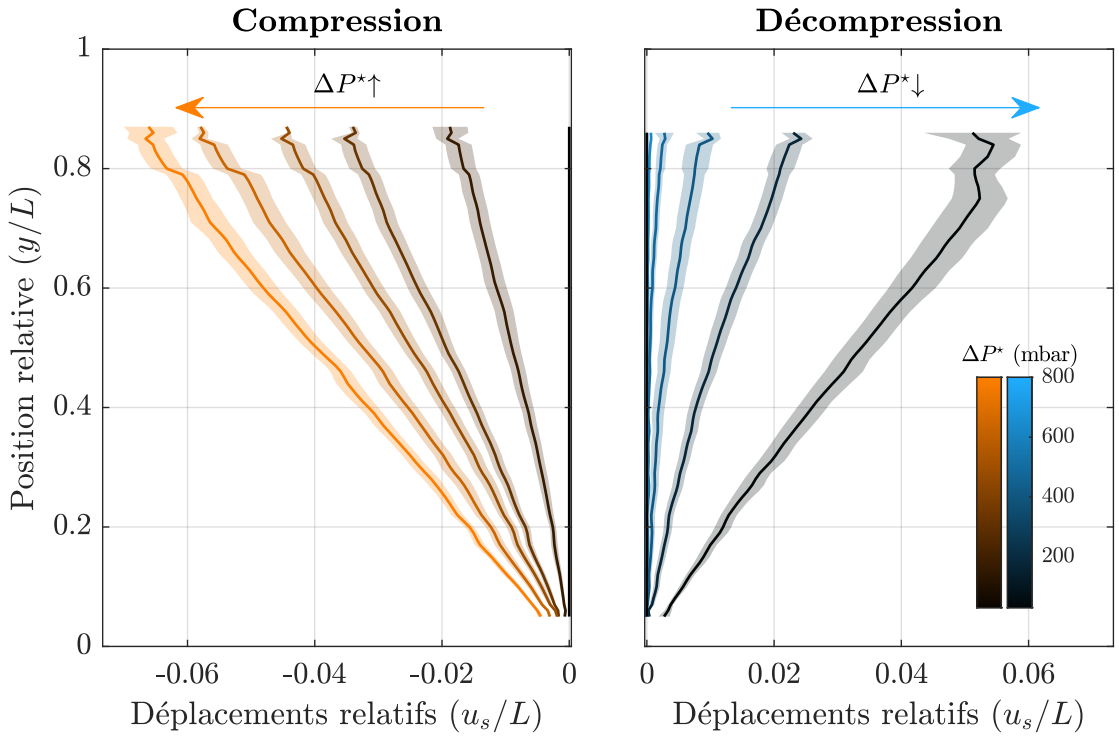

FIGURE 3.8 – Profils de déplacements mesurés à partir de 22.9 mbar, sur des paliers séparés de 157 mbar, lors de la compression (à gauche) et de la décompression (à droite). Le niveau de pression ($\Delta P^\star$) associé à chaque courbe est représenté en couleur, de plus en plus claire à mesure que $\Delta P^\star$ augmente (voir légende). Les cinq expériences de référence ont été moyennées, pour faciliter la lecture du graphique. La moyenne est représentée par un trait plein. La largeur des surfaces colorées représentent l'écart-type divisé par la racine carée de 5. Les flèches indiquent le sens dans lequel la pression évolue au cours du temps.

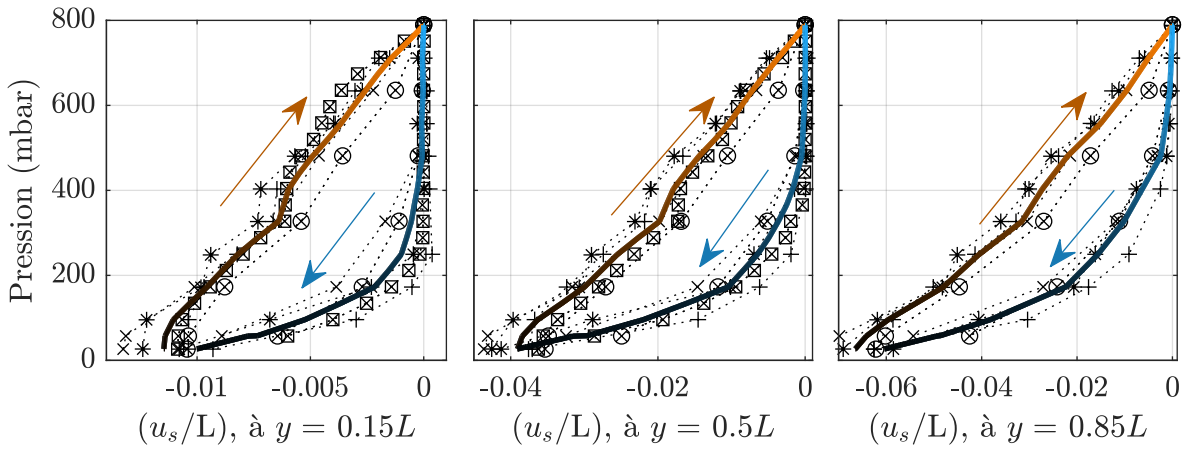

FIGURE 3.9 – Pression hydrodynamique appliquée et déplacements relatifs observés à différents endroits du bouchon, lors de la première compression et lors de la dernière décompression pour les expériences à longueur contrôlée. Les données acquises lors des expériences individuelles sont représentées par des symboles, rappelés dans la table A.1 en annexe, et la courbe moyenne est présentée en gras coloré. La couleur de la courbe moyenne correspondant à celles de la figure 3.8. Résultats acquis dans la partie basse du bouchon ($y/L = 0.15$, à gauche), au milieu du bouchon ($y/L = 0.5$, centre) et dans le haut ($y/L = 0.85$, à droite).

Enfin, ces courbes mettent en évidence une hystérésis : le déplacement mesuré dépend de l'histoire de compression. Cela signifie que de l'énergie est dissipée lors de la sollicitation mécanique du bouchon. Lors de la phase de compression, des forces sont appliquées sur le système, qui se déplace : on a donc fourni du travail mécanique. Mais, au début du cycle de décompression, le système reste immobile : l'énergie injectée n'est pas retrouvée. Il faut attendre la fin du cycle de décompression pour retrouver un déplacement. Mais le travail récupéré (égal au produit de la force et du déplacement) est cette fois plus faible, si bien que l'énergie récupérée est plus faible : de l'énergie a été dissipée. La comparaison entre les déplacements obtenus aux différents endroits du bouchon suggère que le rapport entre énergie perdue (proportionnelle à l'aire sous la courbe) et énergie injectée (proportionnelle au déplacement observé) est plus important en bas du bouchon qu'en haut du bouchon. En effet, l'aire entre les courbes de déplacements est de moins en moins importante, relativement au déplacement final observé.

3.3.3 Expériences complémentaires : comparaison entre premier et second cycle

Les résultats précédents mettent en évidence que les déplacements mesurés lors de la première compression de la dernière décompression sont de grande amplitude, et montrent une hystérésis lorsqu'ils sont tracés en fonction de la différence de pression appliquée. Afin de mieux décrire la variabilité de ces déplacements et de cette hystérésis au cours des cycles de compression, deux expériences légèrement différentes des expériences de référence ont été conduites. Lors de celles-ci, la pression retourne à 30 mbar entre les cycles, tandis que le protocole C1 est utilisé, ce qui permet d'explorer toute la gamme de pression disponible, entre 30 et 1000 mbar, au prix d'une légère augmentation de la longueur du bouchon entre les deux cycles (voir table A.1 en annexe).

Pour fixer les idées et présenter ces expériences en détail, la variabilité temporelle mesurée à $y = 100\,\mu$m du pore est présentée sur la figure 3.10 pour une de ces expériences. Les déplacements et les réarrangements sont très grands lors de la première compression, entre 30 mbar et 1000 mbar. Comme précédemment, au début de la décompression, entre 1000 et 400 mbar, les déplacements sont très faibles et les réarrangement sont quasi-inexistants. Lors de la seconde partie de la décompression, entre 400 mbar et 30 mbar, les déplacements sont importants, la zone du bouchon considérée revient dans une position proche de sa position initiale, tandis que les réarrangements sont également de grande amplitude. Par ailleurs, les déplacements et les réarrangements associés à la seconde compression sont inférieurs à ceux observés lors de la première compression. Le bouchon se comprime, et les déplacements sont d'environ 20 μm lors de la première compression, alors que cette compression n'est que d'environ 16 μm lors de la seconde compression. Enfin, lors de la seconde décompression, les déplacements et les réarrangements sont à nouveau très faibles entre 1000 mbar et 400 mbar, puis sont très importants entre 400 mbar et 30 mbar, si bien que la portion de bouchon considérée revient à une position proche de sa position initiale.

Relation entre le déplacement et $\Delta P^\star$, à différentes hauteurs (y/L)

Comme mentionné plus haut, ces expériences ont été conduites sans canal de lecture de débit, les cycles ont été effectués entre 30 mbar et 1000 mbar (et non pas 775 mbar), si bien que les déplacements sont calculés en les prenant nuls à 1000 mbar. Les résultats sont présentés sur la figures 3.11. Comme précédemment, une hystérésis est observé et son aire relative décroit à mesure que la position pour laquelle elle est tracée augmente. Cependant, on peut maintenant dissocier les déplacements observés lors du premier cycle de compression et lors du second cycle de compression. On constate que pour des positions relatives proches du pore ($y/L \leq 0.5$), l'aire de l'hystérésis décroit entre le premier et le second cycle. Pour y/L=0.85, cette observation n'est pus valable. Cela suggère que l'énergie est dissipée de manière plus importante lors de la première compression. Ceci peut être mis en regard des réarrangements (Figure 3.10) qui sont moindre lors du second cycle que lors du premier. Toutefois, cette perte d'énergie semble en partie réversible puisque lorsque la pression diminue à 30 mbar, le système retrouve un état proche de son état initial.

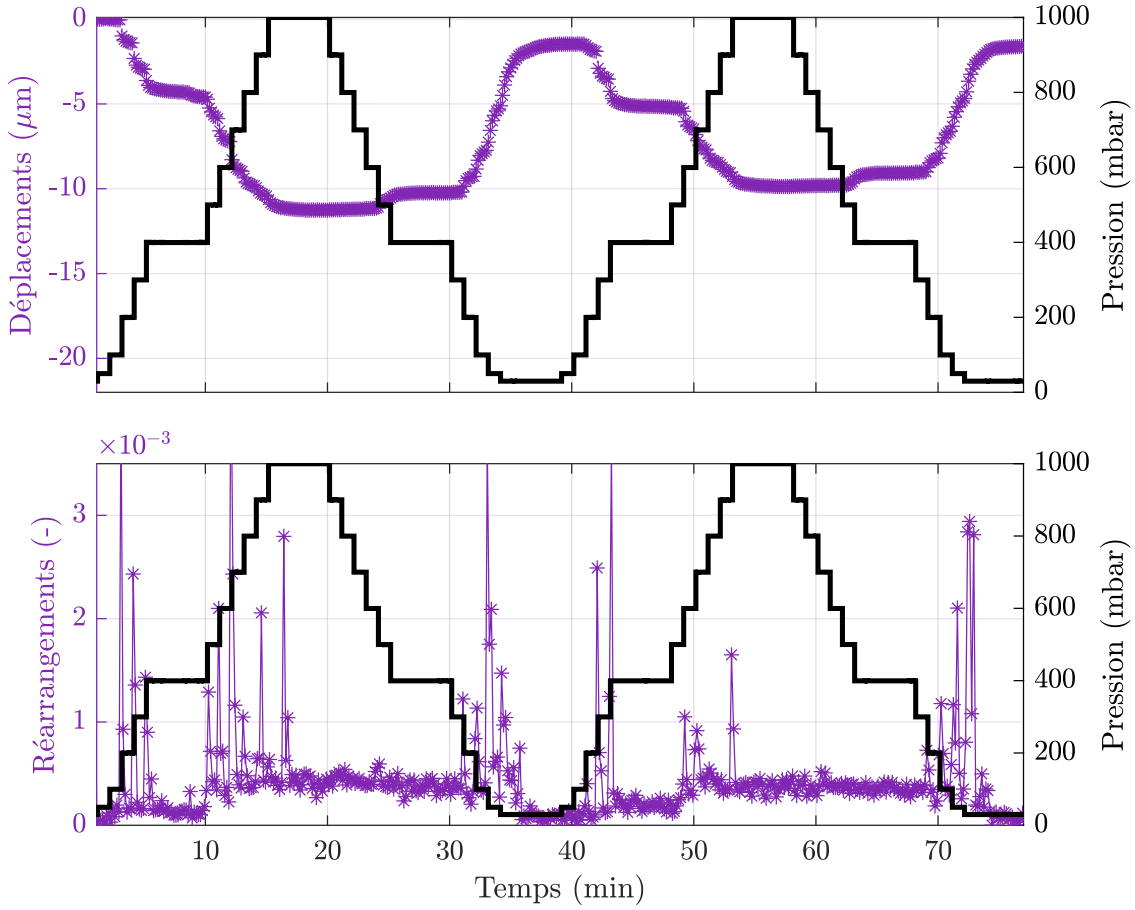

FIGURE 3.10 – Déplacements verticaux (en haut), et réarrangements (en bas) moyennés sur l'horizontale, à une distance du pore donnée ($y = 100\,\mu$m) pour des expériences réalisées suivant le protocole P1, pour lesquelles un retour à 30 mbar est imposé entre les cycles. La différence de pression aux bornes du bouchon est superposée en noir. Pour plus de clarté, sont présentés les déplacements *cumulés* (c'est-à-dire pour chaque temps t, la somme des déplacements entre l'instant initial et t) et les réarrangements *instantanés*.

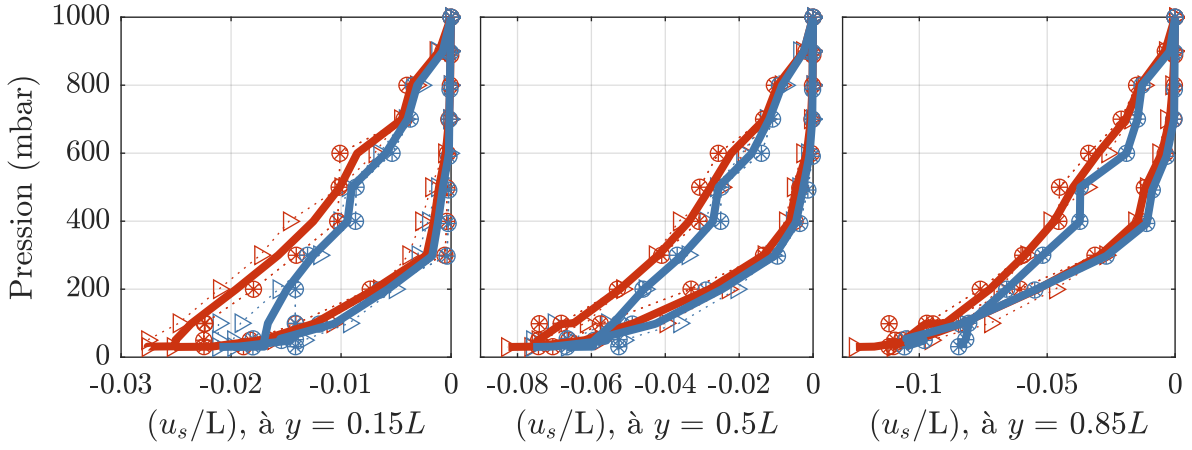

FIGURE 3.11 – Pression hydrodynamique appliquée et déplacements relatifs observés à différents endroits d'un bouchon formé suivant le protocole P1 et pour lequel un retour à une pression de 30 mbar est imposé entre les cycles. Données obtenues lors du premier cycle (bleu) et lors du second cycle (rouge). Les données acquises lors des expériences individuelles sont représentées par des symboles et la courbe moyenne est présentée en gras. Résultats acquis dans la partie basse du bouchon ($y/L = 0.15$, à gauche), au milieu du bouchon ($y/L = 0.5$, centre) et dans le haut ($y/L = 0.85$, à droite).

3.3.4 Résultats complémentaires : effet de la hauteur des paliers et inter-comparaison des expériences

Les résultats précédents proviennent seulement d'une partie des expériences qui ont été menées. L'objectif de cette partie est maintenant de comparer les résultats obtenus lors des expériences de référence avec ceux obtenus lors de l'ensemble des autres expériences menées dans cette thèse, qui ont en général suivi le protocole P1 (présenté section 3.2.1), pour lesquelles l'arrivée de cellules n'est pas complètement stoppée. Le détail exhaustif des conditions opératoires associées à chaque expérience est présenté en annexe sur le tableau A.1.

Un point important est que la plupart de ces expériences ont été conduites en réalisant des cycles de compression/décompression à partir d'une pression intermédiaire (400 mbar). Afin de pouvoir comparer ces expériences « non-standards » avec les autres expériences, les résultats des expériences de référence sont présentés en se focalisant uniquement sur les cycles conduits entre 328.3 mbar (et non 22.9 mbar), et jusqu'à 774.9 mbar. Comme elles ont été conduites avec 3 tailles de paliers différents, cette présentation permet d'explorer l'impact de la hauteur des paliers sur le comportement mécanique du bouchon, tout en posant le cadre qui permet de comparer quantitativement l'ensemble des expériences entre elles. Comme cette comparaison est longue, elle est détaillée en annexe A et résumée notamment sous forme d'un tableau qui est discuté dans la seconde partie de cette section.

Expériences de référence : influence de la hauteur des paliers

Ici, les expériences sont divisées en 4 phases : la première compression (de l'étape A à B sur la figure 3.2, entre 400 mbar et 800 mbar), la première décompression (de B à C, entre 800 mbar et 400 mbar), la seconde compression et la seconde décompression. Comme précédemment, les profils de déplacements relatifs associés à chacune de ces phases sont tracés en fonction de la position relative dans le bouchon (y/L), sur la figure 3.12 (rangée du haut). Par ailleurs les profils de réarrangements sont mesurés en calculant la moyenne des réarrangements entre le début et la fin de chaque phase des cycles, puis en calculant la moyenne de cette grandeur sur toute la dimension horizontale. À la différence des déplacements, les profils de réarrangements sont normalisés selon l'équation (3.2), qui ne tient pas compte de la longueur du bouchon, mais sont bien tracés en fonction de la position relative.

Ces profils montrent que les déplacements relatifs sont systématiquement plus de deux fois plus grands lors de la première compression que lors de la seconde compression. De plus, les déplacements observés lors des décompressions ont des valeurs proches de ceux observés lors de la seconde compression. Par ailleurs, lors de la première compression, la variation des déplacements avec la position est plus importante en bas du bouchon qu'en haut du bouchon avec une transition autour de $y/L = 0.8$. Au contraire, lors des phases suivantes, les déplacements augmentent moins rapidement dans la première moitié du bouchon que dans la seconde moitié du bouchon.

Enfin, peu d'effets de la hauteur des paliers utilisés pour réaliser les cycles sont observés. On observe uniquement que lors de la seconde phase de compression, le déplacement final semble être corrélé à la hauteur des paliers, les expériences avec des paliers de 156.7 mbar étant caractérisées par des plus grands déplacements que celles réalisées avec des paliers de 76.4 mbar, elles-mêmes caractérisées par des déplacements plus grands, ou égaux aux déplacements observés avec des paliers de 38.2 mbar.

Les réarrangements mesurés dans ces expériences sont présentés sur la figure 3.12 (rangée du bas). Ils mettent en évidence que ceux-ci sont plus importants lors de la première compression que lors des phases suivantes. Lors de cette première compression, ils sont également plus importants dans le haut du bouchon ($y/L \in [0.4; 1]$) que dans le bas du bouchon. Lors des phases suivantes, les réarrangements sont généralement faibles, et semblent être uniformément répartis sur la hauteur du bouchon.

Inter-comparaison des expériences : effets de l'augmentation de la taille du bouchon

Lors des expériences réalisées avec le protocole P1, la taille du bouchon peut augmenter de manière non-négligeable au cours des cycles : la longueur finale du bouchon est jusqu'à 32% plus grande que la longueur initiale. La comparaison précise et quantitative des résultats obtenus dans ce cas avec les résultats de référence est présentée en annexe, section A.1 et figure A.1. Ces résultats montrent que les profils décrits sur la figure 3.12 sont inchangés lorsque le protocole varie légèrement. De cette

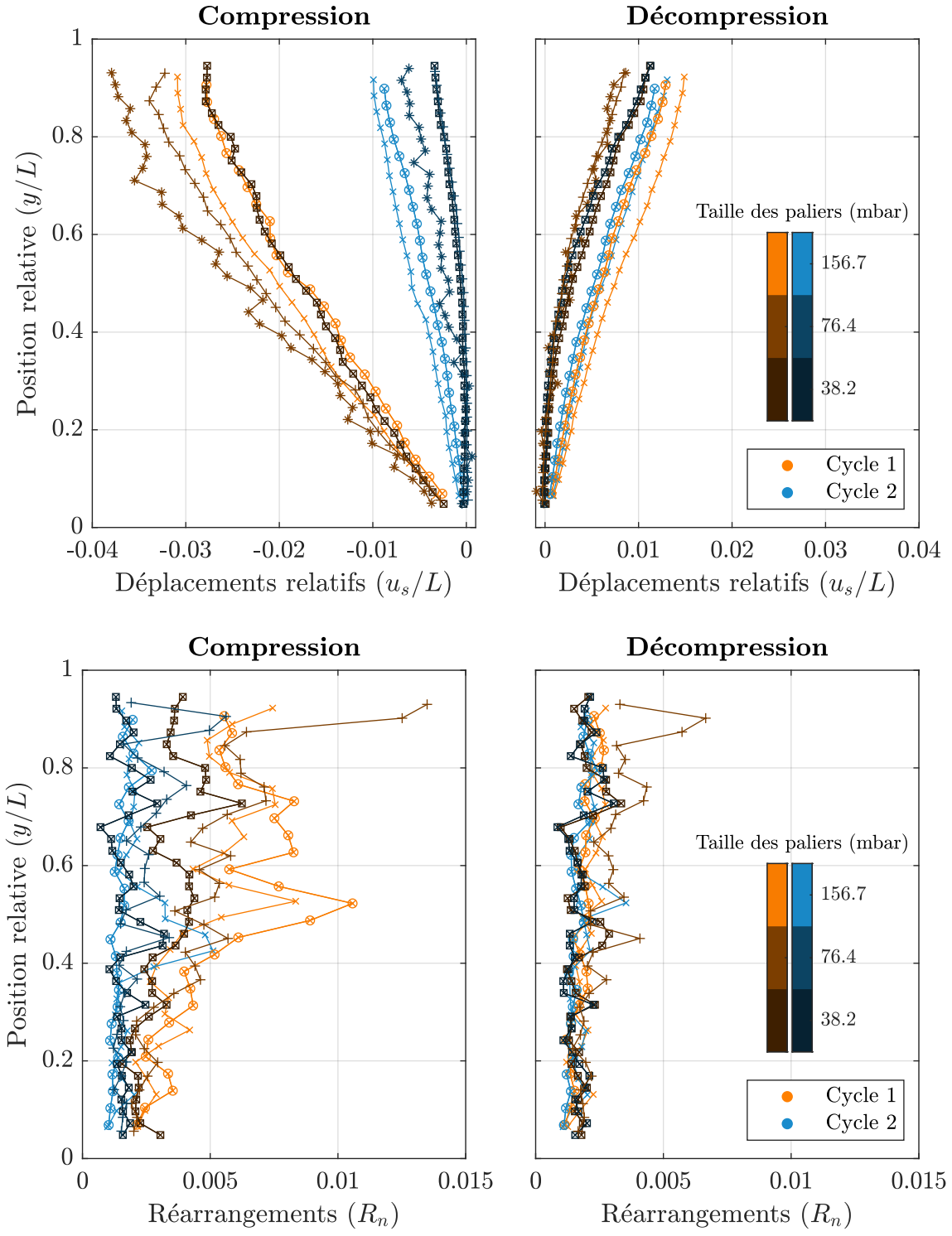

FIGURE 3.12 – Profils de déplacements relatifs et de réarrangements pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale. L'axe des abscisses représente le déplacement, quand l'axe des ordonnées représente la position relative ($y/L = 0$ correspondant à la position du pore, $y/L = 1$ au haut du bouchon). Cinq expériences indépendantes sont représentées, chacune par un symbole différent. La couleur des courbes représente l'amplitude des paliers de pression, de 156.7 mbar (couleurs claires), jusqu'à 38.2 mbar (couleur foncée). Voir le tableau A.1 en annexe pour le détail des conditions expérimentales.

		Référence	L non-contrôlée	Pré-compression	Relaxation
$(u_s/L)\|_{y/L=0.8}$	C1	2.96×10^{-2}	2.87×10^{-2}	5.45×10^{-3}	3.36×10^{-2}
	D1	9.12×10^{-3}	1.37×10^{-2}	8.50×10^{-3}	1.22×10^{-2}
	C2	5.20×10^{-3}	9.53×10^{-3}	4.15×10^{-3}	2.54×10^{-2}
	D2	9.67×10^{-3}	1.32×10^{-2}	8.40×10^{-3}	1.04×10^{-2}
$\mathrm{med}(R_n)_{y/L\in[0;1]}$	C1	4.37×10^{-3}	1.05×10^{-2}	4.20×10^{-3}	7.15×10^{-3}
	D1	1.90×10^{-3}	2.00×10^{-3}	3.75×10^{-3}	2.75×10^{-3}
	C2	1.60×10^{-3}	1.83×10^{-3}	3.55×10^{-3}	5.75×10^{-3}
	D2	1.73×10^{-3}	2.03×10^{-3}	3.60×10^{-3}	2.50×10^{-3}

TABLE 3.1 – Résumé des comparaisons entre expériences, présentées en détail en annexe A. Les déplacements relatifs en haut du bouchon ($y/L = 0.8$) et la médiane des réarrangements observés sur l'ensemble du bouchon ($y/L \in [0; 1]$) sont présentés lors de la première compression (C1), de la première décompression (D1), et lors de la seconde compression et décompression (C2 et D2). Pour faciliter la lecture, les déplacements sont présentés en couleur lorsque leur amplitude dépasse 2×10^{-2}, ainsi que les réarrangements lorsque leur amplitude dépasse 4.3×10^{-2} afin de mettre en évidence les grands déplacements et réarrangements. Pour chaque case, la valeur affichée représente la moyenne des valeurs associées aux expériences présentées en annexe A. Les expériences sont divisées en 4 groupes : expériences de référence, expériences à longueur non contrôlée, expériences où le bouchon est construit à une pression élevée avant de réaliser les cycles (Pré-compression), et expériences où une chute de pression est imposée lors des cycles (Relaxation).

comparaison détaillée, deux métriques apparaissent naturellement pour décrire les différences dans les résultats obtenus selon différents protocole : les amplitudes des déplacements observés à $y/L = 0.8$ et la médiane des réarrangements observés sur l'ensemble du bouchon ($y/L \in [0; 1]$). Les valeurs de ces métriques sont présentées sur le tableau 3.1.

Ces résultats montrent que lors de la première compression l'augmentation de la longueur du bouchon provoque des déplacements de même amplitude que ceux observés lors des expériences de référence. Cependant, lors des phases suivantes, les déplacements et les réarrangements sont systématiquement d'amplitude légèrement plus importantes que lors des expériences de référence. Une hypothèse permettrait d'expliquer ces résultats : l'arrivée de nouvelles cellules au cours de la compression augmente la contrainte mécanique subie localement par les cellules déjà présentes dans le bouchon, si bien que le bouchon se comprime de manière plus importante que précédemment.

Inter-comparaison des expériences : effets d'une construction à une pression élevée

Certaines expériences sont réalisées avec un bouchon construit à $\Delta P^\star = 1500$ mbar, avant de réaliser les cycles, toujours sur la même gamme de pression. L'ensemble des résultats obtenus est présenté en annexe, section A.2 et figure A.2. Dans ce cas, les déplacements et les réarrangements mesurés lors de la première compression sont d'amplitude plus faibles que ceux mesurés lors des expériences de référence (voir tableau 3.1), alors que, pendant le reste des cycles, ces grandeurs sont comparables à celles mesurées lors des expériences de référence. La construction à une pression élevée modifie donc le comportement mécanique du bouchon, à la manière du premier cycle de compression : les déplacements et réarrangements observés lors de cette phase sont quantitativement similaires à ceux observés lors la seconde compression des expériences de référence.

Inter-comparaison des expériences : effets d'un retour à une pression faible entre les cycles

Enfin, certaines expériences sont conduites en imposant un retour à une pression faible (30 mbar) entre les cycles. L'ensemble des résultats obtenus est présenté en annexe, section A.3 et figure A.3. Dans ce cas, les déplacements et les réarrangements observés lors de la première et seconde compression sont de grande amplitude - d'amplitude comparable aux amplitudes observées lors de la première

compression des expériences de référence (voir tableau 3.1). Par ailleurs, comme déjà mentionné, les déplacements relatifs et les réarrangements sont systématiquement plus faibles lors de la première compression que lors de la seconde compression. Le retour à une pression faible entre les cycles a donc permis au bouchon de se décomprimer, pour retourner à une position proche de sa position initiale, alors que cette décompression est impossible lorsque la pression est maintenue à une valeur relativement élevée (400 mbar) entre les cycles.

Résumé et interprétations des résultats

De grands déplacements relatifs et de grands réarrangements ont été observés lors la première compression d'un bouchon de levures par un écoulement fluide. Ces déplacements et ces réarrangements ont systématiquement été plus importants dans la partie haute du bouchon que dans la partie proche du pore, et les déplacements relatifs semblent dépendre de manière linéaire de la position relative, notamment dans la partie située à $y/L < 0.8$.

D'un autre côté, l'analyse de l'ensemble des cycles de compression a montré que le mouvement à l'intérieur du bouchon suivait une hystérésis lorsque la pression hydrodynamique varie : la valeur des déplacements dépend de l'histoire de la sollicitation mécanique. Ces résultats suggèrent alors que l'énergie mécanique fournie lors de la compression est dissipée, principalement dans le bas du bouchon. Par ailleurs, des expériences complémentaires ont montré que cette dissipation d'énergie était partiellement irréversible : lorsque les cycles sont répétés, l'aire de l'hystérésis est moins grande lors de la seconde compression que lors de la première compression.

Ces résultats sont en accord avec la littérature traitant de la filtration de particules inertes et déformables, qui rapporte que les particules peuvent se rérranger, de manière irréversible ou réversible (MacMinn *et al.*, 2015; Hewitt *et al.*, 2016). Les réarrangements facilitent alors le mouvement, au moins dans la première phase de compression (Lüken *et al.*, 2021b).

Pourtant, les résultats présentés dans cette section révèlent un paradoxe : alors que les réarrangements sont les plus importants dans le haut du bouchon, la perte d'énergie est la plus importante dans le bas du bouchon. À cette étape de la présentation des résultats, aucune interprétation de ce paradoxe ne peut être fournie, sauf à supposer que les réarrangements observés dans le bas du bouchon sont plus dissipatifs que ceux observés dans le haut du bouchon.

Une autre interprétation est fournie par le travail de Lutz (2021), qui a montré des hystérésis similaires à celles présentées ici, avec des éponges de latex confinées dans une géométrie cylindrique et forcées par un écoulement fluide. Dans leur cas, le matériau ne permet pas de réarrangements, mais frotte contre les parois du dispositif, ce qui dissipe l'énergie.

3.4 Compression avec un « piston »

Lorsqu'une bulle d'air est positionnée en amont d'un bouchon de levure, elle ne parvient pas à envahir le milieu poreux qu'il constitue. Ainsi, lorsqu'une bulle est placée en amont d'un bouchon de levures, et que la pression augmente dans l'air de la bulle, l'interface se déplace et comprime le bouchon, comme illustré sur la figure 3.13 : la bulle agit à la manière un piston imperméable à l'écoulement. Grâce à cette bulle d'air, le forçage appliqué sur le bouchon change complètement de nature, et permet d'explorer un autre type de sollicitations.

Lorsque la pression est relâchée, l'interface recule, et le bouchon se décomprime. Au vu des résultats présentés dans la section précédente, le protocole spécifique utilisé pour la compression par une bulle d'air consistait à réaliser un seul cycle de compression/décompression, une fois le bouchon formé. Dans certaines expériences, la bulle est emmenée au contact du bouchon à une pression faible, inférieure à 400 mbar, ce qui permet d'imager un premier cycle de compression. Dans d'autres expériences, la bulle est emmenée au contact du bouchon à une pression égale à 1000 mbar, et comprime donc le bouchon, avant que les cycles ne soient réalisés, toujours entre 400 mbar et 1000 mbar.

3.4.1 Dynamique de déplacement à une altitude donnée, pour une expérience donnée

L'analyse temporelle des déplacements et réarrangements pour une expérience où la bulle a été emmenée au contact à une pression de moins de 400 mbar est présentée sur la figure 3.14, où les observations sont réalisées à $y = 210\,\mu$m. Cette analyse révèle que les déplacements sont très importants lors de la première compression (près de -26.4 μm), et ces déplacements sont associés à de très grands réarrangements, supérieurs à 2.5×10^{-3}. Une fois cette première compression terminée, les déplacements sont d'amplitude faible, environ 2.6 μm.

3.4.2 Profils de déplacements et de réarrangements

Les profils de déplacements et de réarrangements calculés pour l'ensemble des expériences réalisées à l'aide d'une bulle d'air est présentée sur la figure 3.15. Comme avec un forçage fluide, les déplacements sont les plus grands lors de la première compression. Dans deux expériences sur trois, les déplacements relatifs dépassent -0.1, et dans une expérience, ils dépassent -0.05. De même, dans une expérience sur trois, les réarrangements sont largement supérieurs à ceux observés dans la suite des cycles de compression. Les réarrangements obtenus lors des deux autres compressions n'ont pas été présentés, car les images expérimentales ne permettent pas la comparaison avec les autres expériences (une des expérience présente des images avec des niveaux très élevés de bruits, qui provoquent des réarrangements largement supérieurs à ceux présentés sur la figure 3.15, l'autre a été conduite en microscopie de fluorescence, en prenant une image toutes les 30 secondes). Lors des phases suivantes des cycles de compression, les déplacements et les réarrangements sont très faibles. Les déplacements sont même quasi-nuls dans toute une partie du bouchon (jusqu'à $y/L = 0.4$ au moins, pour toutes les expériences). Pour analyser ces déplacements, l'échelle horizontale de la figure 3.15 est adaptée, sur les inserts présentés.

Ces inserts révèlent que les déplacements relatifs mesurés lors d'une compression d'un bouchon pré-contraint sont quasi-nuls entre $y/L = 0$ et $y/L = 0.4$, puis évoluent de manière non-linéaire avec la position relative et atteignent alors des valeurs maximales en haut du bouchon. Ces valeurs maximales dépendent de l'expérience et varient entre -5×10^{-3} et -0.018. Les déplacements observés lors des décompressions sont parfois négatifs sur le bas du bouchon entre $y/L = 0$ et $y/L \approx 0.75$. Ces déplacements relatifs sont cependant très faibles en amplitude, entre 0 et -2.3×10^{-3}. Cela signifie que, lorsque le forçage mécanique diminue, la zone basse du bouchon se déplace très légèrement dans le sens de l'écoulement, elle se comprime. L'analyse visuelle des images expérimentales révèle qu'effectivement, dans cette zone, un mouvement de très faible amplitude peut être observé. Par ailleurs, les valeurs finales de déplacements relatifs obtenus lors de la décompression d'un bouchon précontraint sont toutes autour de 2.9×10^{-3}.

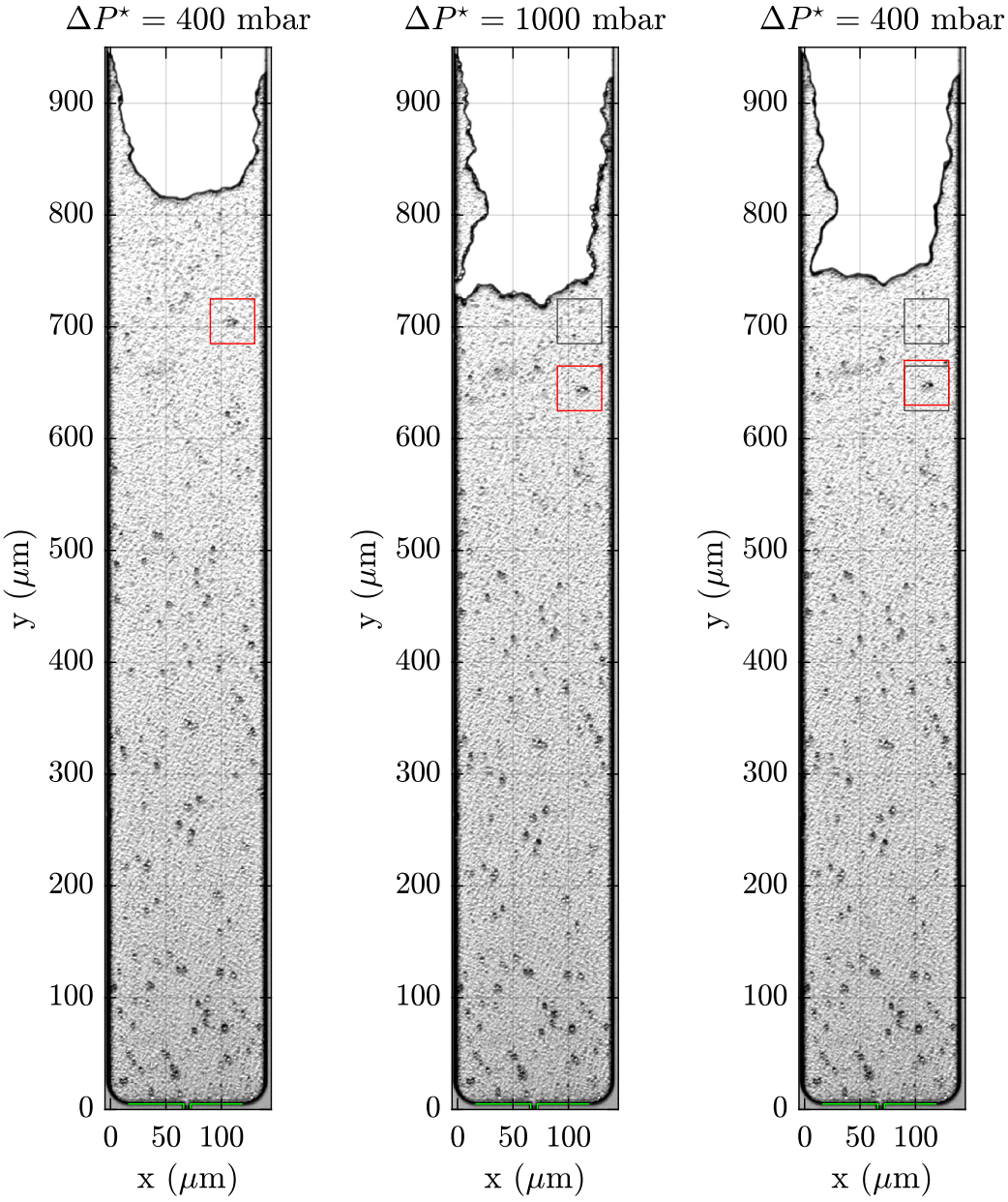

FIGURE 3.13 – Observations de la réponse du bouchon pendant le changement d'intensité d'un forçage mécanique de type piston imperméable, où la pression dans la bulle d'air évolue pendant un cycle de compression. Images prises avec un objectifs de grossissement 10×, à 400 mbar (gauche), à 1000 mbar (centre), puis de nouveau 400 mbar (droite). Le pore est mis en évidence avec des traits verts. La bulle apparaît très claire à l'image, alors que les levures apparaissent en gris/noir. Pour faciliter la lecture, un carré rouge suit les déplacements d'un morceau du bouchon. Sur chaque image, les positions antérieures de ce carré rouge sont rappelées par un carré noir.

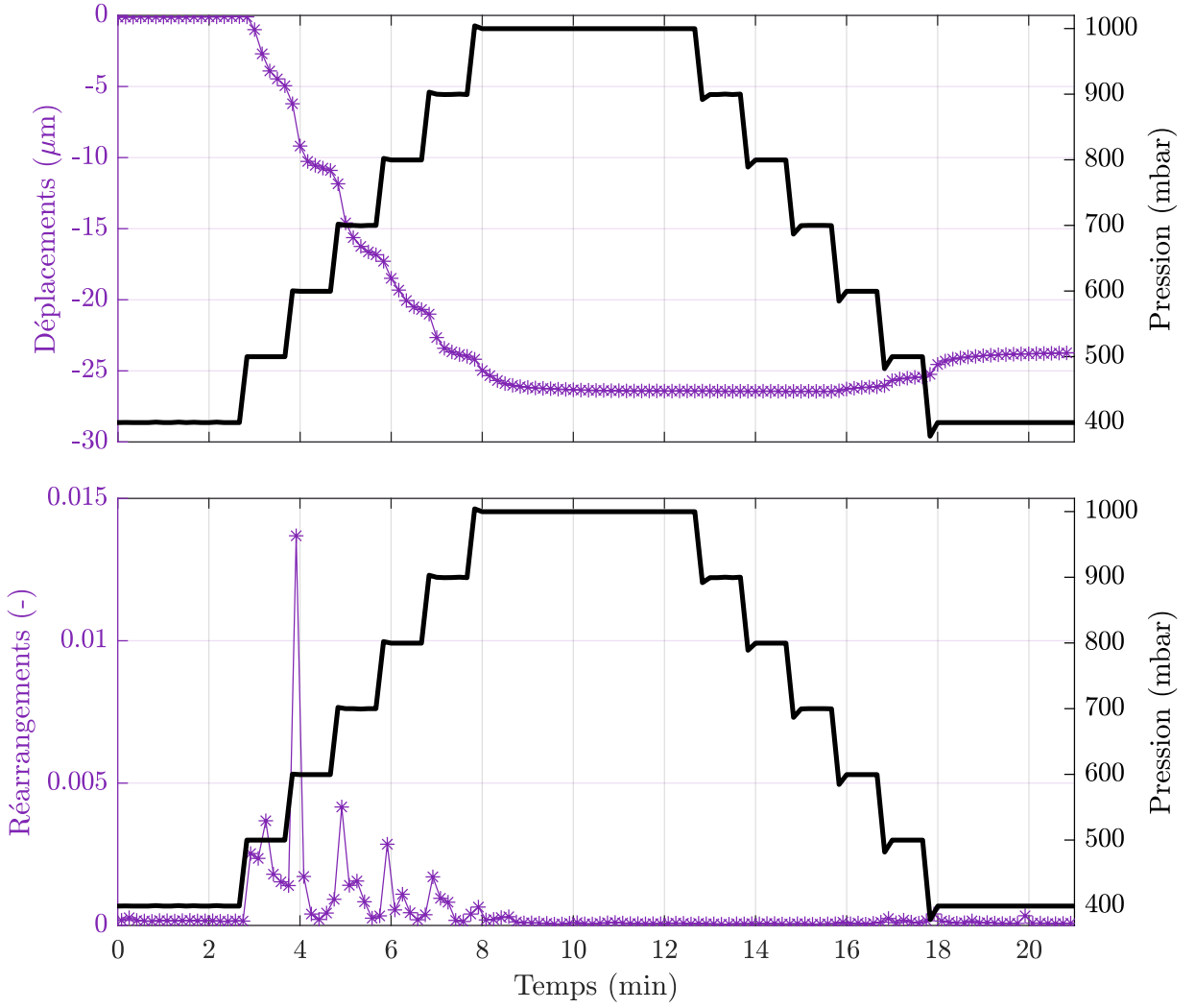

FIGURE 3.14 – Déplacements verticaux (en haut), et réarrangements (en bas) moyennés sur l'horizontale, à une distance du pore donnée ($y = 210\,\mu$m). La différence de pression mesurée au moment de la prise de vue est superposée en noir. Lors de la décompression, la pression mesurée peut atteindre des valeurs inférieures à la pression demandée au contrôleur de pression. Comme précédemment, pour plus de clarté, sont présentés les déplacements *cumulés* (c'est-à-dire pour chaque temps t, la somme des déplacements entre l'instant initial et t) et les réarrangements *instantanés*.

Lien contrainte-déplacement, à différentes hauteurs (y/L)

Comme pour les expériences réalisées en comprimant le bouchon avec un écoulement de liquide, les déplacements relatifs sont tracés en fonction de la pression appliquée pour différentes positions relatives sur la figure 3.16. Les résultats sont similaires à ceux présentés sur la figure 3.15 : le comportement est très différent lors de la compression et lors de la décompression. Lors de la compression, les déplacements sont quantitativement importants, jusqu'à environ -0.1, alors que lors de la décompression, les déplacements observés sont quasi-nuls, surtout dans la partie basse du bouchon ($y/L \leq 0.5$). Cette observation est cohérente avec les profils de déplacements présentés sur la figure 3.15, qui montrent que les déplacements se produisent uniquement dans la partie située proche de la bulle (pour $y/L \approx 1$). Par ailleurs, les résultats présentés à $y/L = 0.85$ montrent que la pression minimale à atteindre avant d'observer ces déplacements semble être relativement peu reproductible : lors d'une expérience le mouvement commence alors que la pression vaut environ 700 mbar, alors que lors de deux autres expériences, cette décompression commence à partir de 200 mbar.

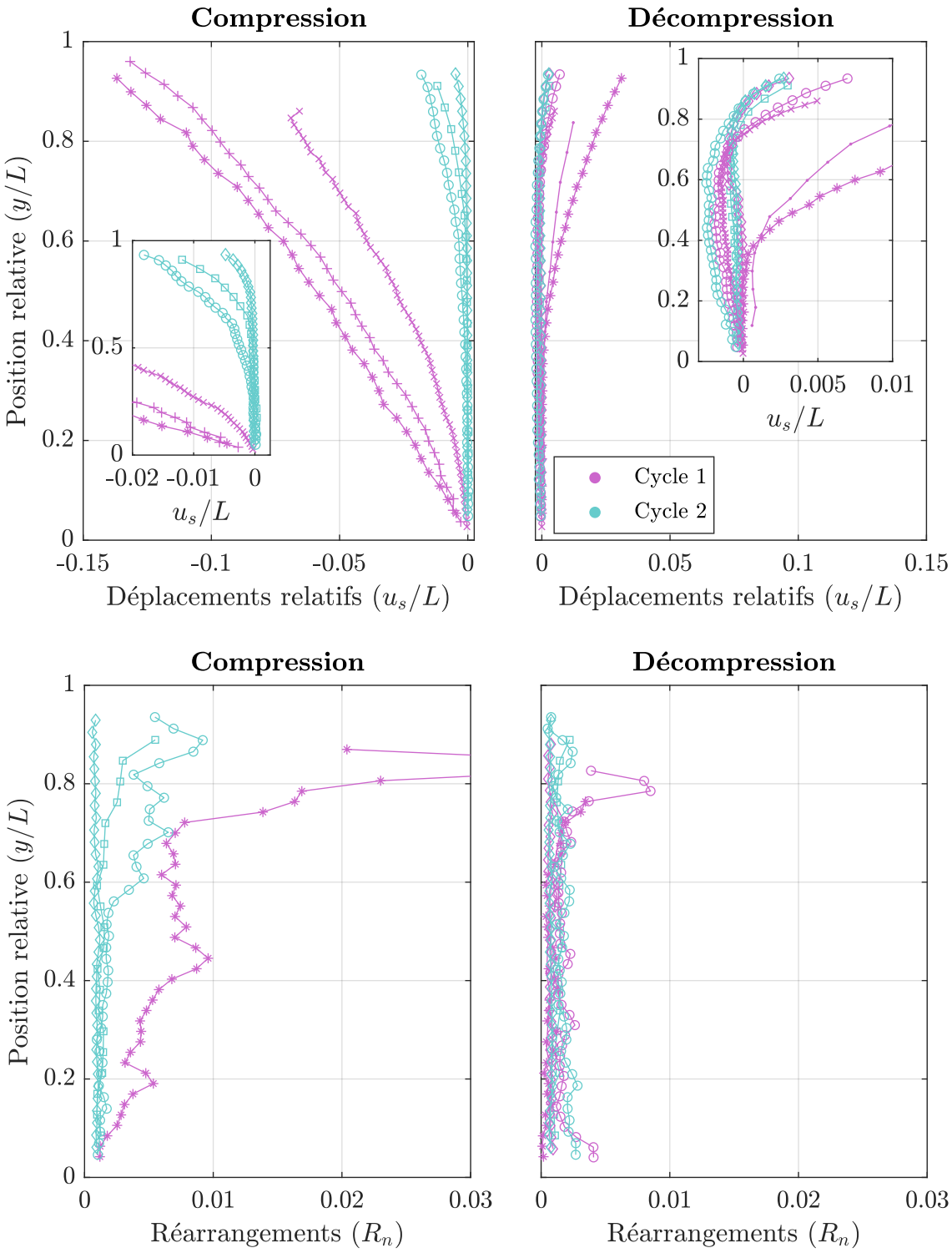

FIGURE 3.15 – Profils de déplacements verticaux (rangée haute) et de réarrangements (rangée basse) pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale. Chaque symbole correspond à une expérience indépendante. L'expérience représentée par des « + » ne présente pas de décompression exploitable. De même, les expériences représentées par des « . » et des « ◇ » ne sont pas exploitables lors de la première compression. Enfin, les expériences représentées par des « × » et des « + » ont été acquises dans des configurations qui ne permettent pas la comparaison quantitative des réarrangements avec le reste des expériences. Les inserts correspondent aux mêmes données que les graphiques sur lesquels ils sont insérés, mais l'échelle des abscisses a été adaptée pour mieux observer les petites déformations.

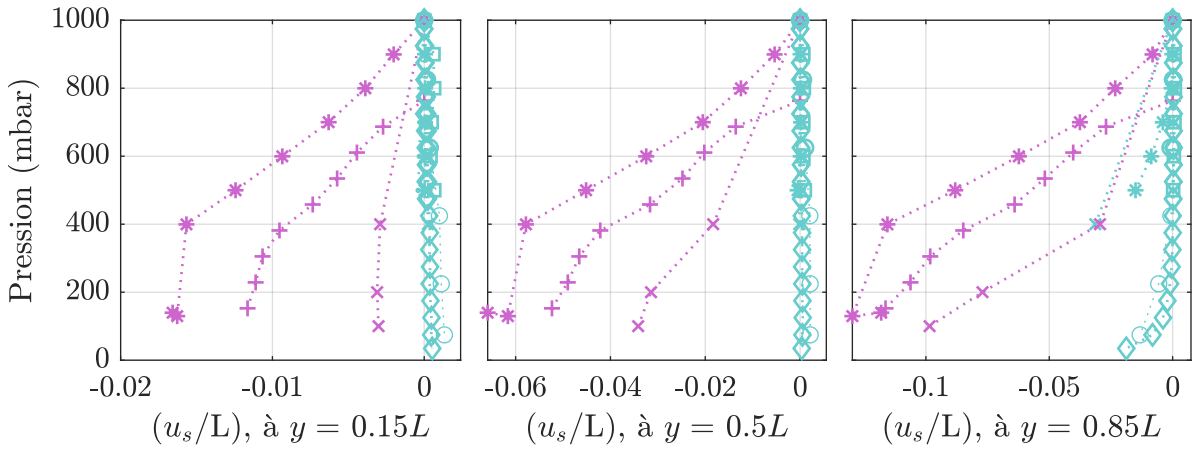

FIGURE 3.16 – Pression hydrodynamique appliquée et déplacements relatifs observés au milieu du bouchon, lors de la première compression (rose) et lors de la dernière décompression (cyan) pour les expériences réalisées avec une bulle d'air. Résultats acquis dans la partie basse du bouchon ($y/L = 0.15$, à gauche), au milieu du bouchon ($y/L = 0.5$, centre) et dans la partie haute ($y/L = 0.85$, à droite).

Résumé et interprétations des résultats

Dans cette section, le forçage mécanique appliqué au bouchon de levure a changé de nature. Le passage à un forçage de type piston a mis en évidence des grands déplacements et des grands réarrangements lors de la première compression, puis des déplacements et réarrangements quasi-nuls dans les phases suivantes des cycles. Lors de la première compression, les déplacements observés sont d'amplitude 3.5 fois plus grandes que les déplacements mesurés lors de la compression par un écoulement fluide. Puis, lors des phases suivantes, alors que la partie haute du bouchon, en contact avec la bulle d'air, se décomprime légèrement lorsque la pression de l'air diminue, une grande partie du bouchon reste figée dans sa position comprimée. De même, quand la pression de l'air augmente, le haut du bouchon se comprime alors que le bas du bouchon reste immobile.

Ces résultats suggèrent, comme dans la section précédente, que l'énergie mécanique fournie au système lors de la première compression a été dissipée, soit par des réarrangements entre particules soit par de la friction entre les particules et les parois du dispositif ou entre particules.

Par ailleurs, lorsque la pression diminue de nouveau, des mouvements de compression sont observés dans le bas du bouchon. Cette observation n'a pas non plus été rapportée dans la littérature. Deux hypothèses peuvent expliquer ce résultat. Il est possible que la dissipation d'énergie mise en évidence lors des compressions induise un délai dans la transmission de l'information au bas du bouchon. Ainsi, les décompressions ont été réalisées à partir d'un état hors d'équilibre, où la partie basse du bouchon peut continuer à se comprimer légèrement. Il est également possible que l'énergie qui a été stockée dans le haut du bouchon puisse être libérée lors de la décompression, vers le bas du bouchon.

Enfin, les déplacements relatifs présentés dans cette section ont montré une reproductibilité plus faible, comparativement aux résultats de la section précédente, peut être parce que la renormalisation utilisée (présenter les déplacements relatifs en fonction de la position relative) n'est pas celle à employer, et qu'une renormalisation plus fine devrait être trouvée.

3.5 Vers une compréhension du comportement mécanique observé

3.5.1 Rappels théoriques

Pour faciliter l'interprétation des résultats expérimentaux, différents résultats théoriques sont maintenant rappelés, dans une configuration simplifiée, où le matériau poreux suit une loi de déformation élastique linéaire, et est de perméabilité uniforme à l'intérieur du bouchon. Le cadre théorique précis d'établissement de ces résultats est décrit notamment par MacMinn *et al.* (2016). Dans la suite, on rapporte uniquement les prédictions à propos des profils de déplacements et de porosité, dans le cas où le milieu est contraint par un écoulement fluide, et dans le cas où le milieu poreux est contraint par un piston imperméable.

Dans le cas où le milieu poreux est contraint mécaniquement à l'aide d'un fluide qui le traverse, un gradient de pression apparaît aux bornes de celui-ci. Lorsque la matrice solide a atteint une position d'équilibre, comme la perméabilité est constante dans le milieu, le gradient de pression est lui-aussi constant (d'après la loi de Darcy), si bien que la pression varie de manière linéaire dans le bouchon.

Sans perdre en généralité, on peut alors prendre $P(y = 0) = 0$ si bien que $P(y = L) = \Delta P^\star$.

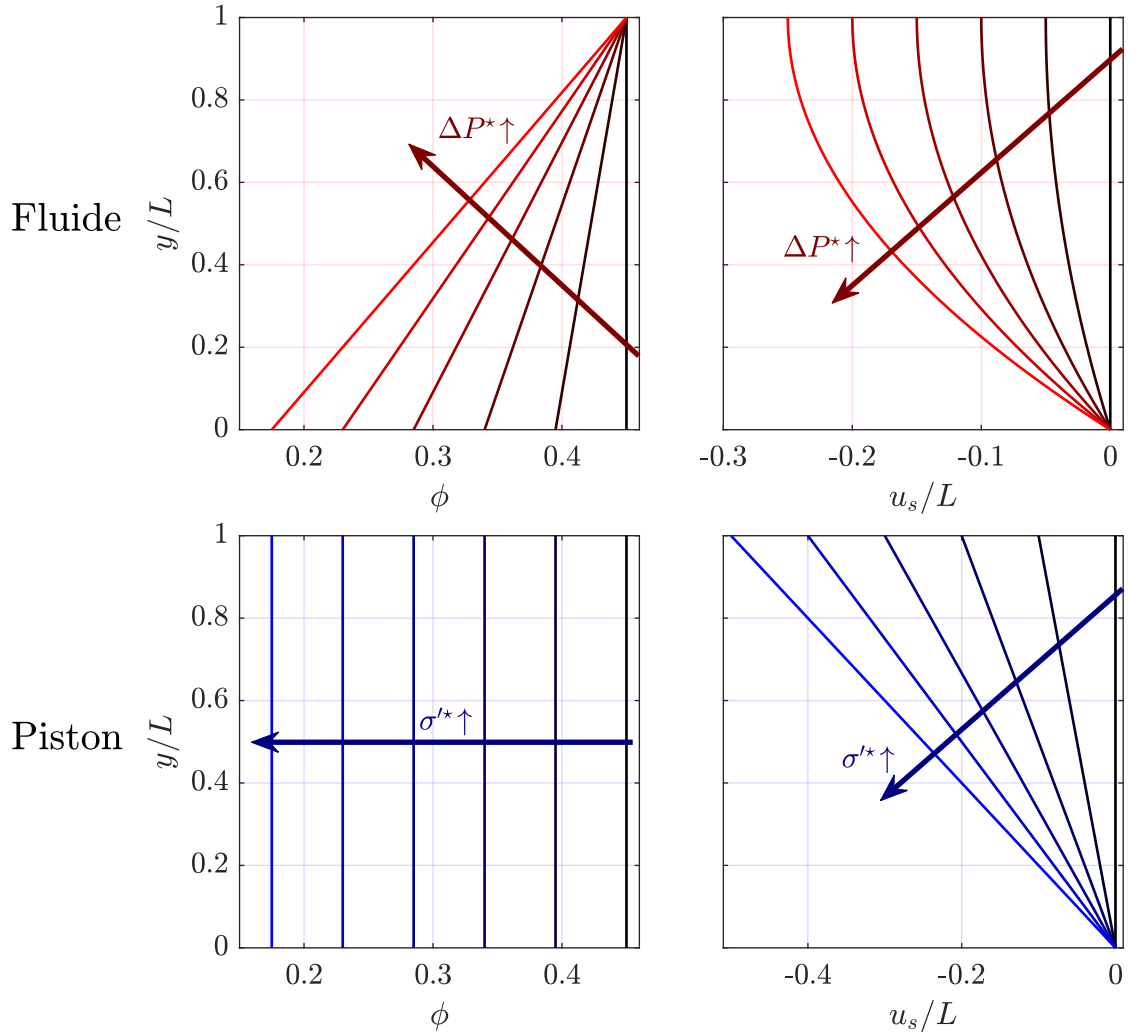

FIGURE 3.17 – Résultats issus de la théorie poroélastique, représentant la porosité locale (ϕ, rangeé de gauche) et les déplacements relatifs (u_s/L, rangée de droite) en fonction de la position relative (y/L), lorsque le milieu poreux déformable est forcé par un écoulement fluide (rangée du haut, orange) ou par un piston imperméable (rangée du bas, bleu). Sur chaque graphique, 6 niveaux d'intensité de forçage sont représentés, de l'état au repos (en noir) jusqu'au forçage le plus intense (couleurs claires).

Les contraintes mécaniques varient alors également de manière linéaire : $\sigma'_{yy}(y = L) = 0$, et $\sigma'_{yy}(y = 0) = \Delta P^\star$, d'après la décomposition de Terzaghi (1943). Dans le cas le plus simple, les équations du mouvement sont linéarisées, si bien que les coordonnées Eulériennes sont bien adaptées pour décrire le mouvement (dans le cas de petites déformations par exemple). Dans ce cas, la porosité varie dans le milieu selon :

$$\phi = \frac{\Delta P^\star}{\mathcal{M}} \left(\frac{y}{L} - 1 \right) (1 - \phi_0) + \phi_0. \tag{3.5}$$

avec ϕ_0 la porosité du milieu au repos, en l'absence de contrainte mécanique extérieure et $\mathcal{M}$ le module œdométrique du matériau [1]. Et le déplacement à la position y s'obtient en intégrant la déformation, entre 0 et y (en imposant un déplacement nul au niveau du pore) :

$$\frac{u_s}{L} = \frac{\Delta P^\star}{\mathcal{M}} \left(\frac{1}{2} \left(\frac{y}{L} \right)^2 - \frac{y}{L} \right). \tag{3.6}$$

Une illustration de ces équations est proposée sur la figure 3.17. Cette figure est obtenue en évaluant numériquement les dernières équations, et en faisant varier $\Delta P^\star/\mathcal{M}$ de 0 à 0.5 par pas de 0.1, et en prenant $\phi_0 = 0.45$ - ces valeurs étant choisies arbitrairement. Les résultats présentés sur la figure 3.17 mettent en évidence que le forçage fluide provoque des déformations relatives qui varient de manière *quadratique* avec la position relative, une conséquence de la compression plus importante que le bouchon subit dans sa partie la plus basse, proche de la constriction ($y/L = 0$).

Dans le cas où le forçage mécanique est appliqué à l'aide d'un piston, en l'absence de forçage fluide, lorsque le milieu atteint un état d'équilibre, l'écoulement de fluide est nul à travers le milieu poreux, si bien que la pression hydrodynamique y est constante. Dans ce cas, les contraintes mécaniques deviennent également constantes dans le milieu, égales à la contrainte extérieure appliquée $\sigma'^\star$. Dans le cas où les non-linéarités sont négligés, comme précédemment, alors la porosité est constante dans le milieu et égale à :

$$\phi = -\frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}}(1 - \phi_0) + \phi_0. \tag{3.7}$$

Et le champ de déplacement vaut alors simplement :

$$\frac{u_s}{L} = -\frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}} \frac{y}{L}. \tag{3.8}$$

Comme précédemment, ces équations sont illustrées sur la figure 3.17, en faisant varier $\sigma'^\star/\mathcal{M}$ de -0.5 à 0 par pas de 0.1 et en fixant $\phi_0 = 0.45$. Cette figure illustre que lorsque le forçage est imposé par un piston, les déplacements varient linéairement à l'intérieur du bouchon. Par ailleurs, l'équation 3.8 indique que les déplacements devraient être bien renormalisés en traçant les déplacements relatifs en fonction de la position relative

Les résultats expérimentaux présentés plus haut sont donc contradictoires avec ces prédictions théoriques. D'abord, aucune dissipation d'énergie n'est attendue dans le cas où un milieu poreux élastique est comprimé à l'aide d'un fluide ou d'un piston. Si bien que les figures 3.9, 3.11, et 3.16 ne devraient pas présenter d'hystérésis. De même, les profils de déplacement obtenus en présence d'un écoulement fluide présentent une tendance quasi-linéaire en fonction de la position, alors qu'ils devraient en dépendre de manière quadratique.

Par ailleurs, dans le cas d'une compression avec un piston, le fait que le bouchon reste bloqué dans sa position comprimé est un paradoxe : alors que les contraintes mécaniques sont relachées, le bouchon semble ne pas se décomprimer. De plus, les compressions réalisées dans un état précontraint sont localisées dans le haut du bouchon, comme si les contraintes mécaniques subies par le haut du bouchon n'étaient pas transmises à l'ensemble du bouchon - comme si l'énergie fournie pour déformer le bouchon était dissipée à l'intérieur de celui-ci. Des expériences complémentaires ont donc été réalisées afin de mieux caractériser les contraintes mécaniques subies par les cellules à l'intérieur du bouchon et tenter d'expliquer les résultats expérimentaux.

1. Ce module œdométrique, introduit dans le chapitre d'introduction générale, relie les contraintes mécaniques à l'intérieur d'un milieu élastique et la déformation de ce milieu, dans le cas d'une compression uniaxiale (confinée dans toutes les directions sauf une, la direction de sollicitation). Par exemple, si la compression se fait dans la direction $\vec{e_y}$, alors le tenseur de déformation a une seule composante non nulle ε_{yy} et la composante (yy) du tenseur des contraintes vaut $\sigma'_{yy} = \mathcal{M}\varepsilon_{yy}$.

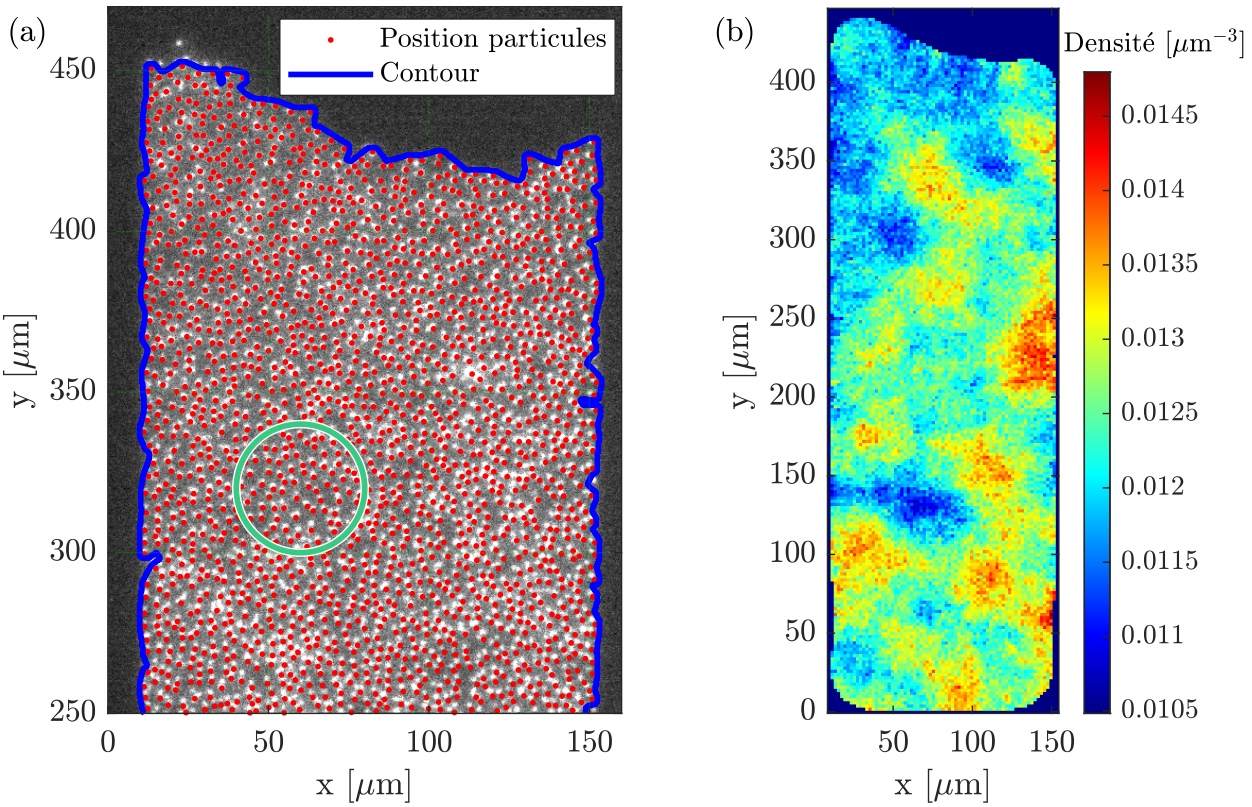

FIGURE 3.18 – Principales étapes pour la détermination de la densité locale de cellules (a) Après avoir détecté les noyaux des cellules (points rouges), le contour du bouchon est déterminé (trait bleu), et la densité locale est déterminé sur des fenêtres circulaires de 20 μm de rayon (cercle vert). Pour plus de clarté, seul le haut du bouchon considéré est représenté ici. (b) La densité locale est alors déterminée pour l'ensemble du bouchon.

3.5.2 Densité de cellules

Les résultats théoriques mentionnés plus haut suggèrent l'existence d'un gradient de porosité à l'intérieur du bouchon lorsque celui-ci est forcé par un fluide (voir équation 3.5). Il devrait donc exister un gradient de densité de cellules à l'intérieur du bouchon de levures.

Comme pour le chapitre 2, des cellules de levure HT2B-mCherry ont été utilisées. Ces cellules produisent des histones fluorescentes, et il est donc possible d'imager leur noyau par microscopie à fluorescence (un exemple d'image est présenté à la figure 3.18). Un algorithme spécialisé a ensuite été adapté à partir d'une étude antérieure pour détecter automatiquement la position de ces noyaux fluorescents qui apparaissent comme des points blancs. L'étude précédente comptait des particules fluorescentes monodisperses (Mokrane *et al.*, 2020). Les noyaux des cellules de levures sont polydisperses en taille si bien que la taille des points blancs à détecter est variable. L'algorithme repose sur deux convolutions gaussiennes successives, qui sont réalisées à deux échelles de longueur différentes (1 μm et 0.4 μm). Cela peut entraîner une double détection de certaines cellules. Celles-ci sont automatiquement repérées et résolues à l'aide d'un simple argument géométrique. Lorsque deux cellules détectées sont distantes de moins de 1 μm, nous calculons leur emplacement moyen et les remplaçons par une seule cellule située à l'emplacement moyen. Le résultat est une liste de positions, représentées par des points rouges sur la figure 3.18.

Une fois cette détection réalisée, la densité *locale* est calculée à l'aide d'un algorithme dédié, dont les principales étapes sont illustrées sur la figure 3.18 :

— Le contour du bouchon est déterminé à partir des positions des cellules et de la fonction *boundary* de MATLAB.

— Ce contour est étendu d'environ 2 μm, pour prendre en compte le fait que le bord du bouchon n'arrive pas exactement au niveau des noyaux. On a alors défini un polygone représentant le

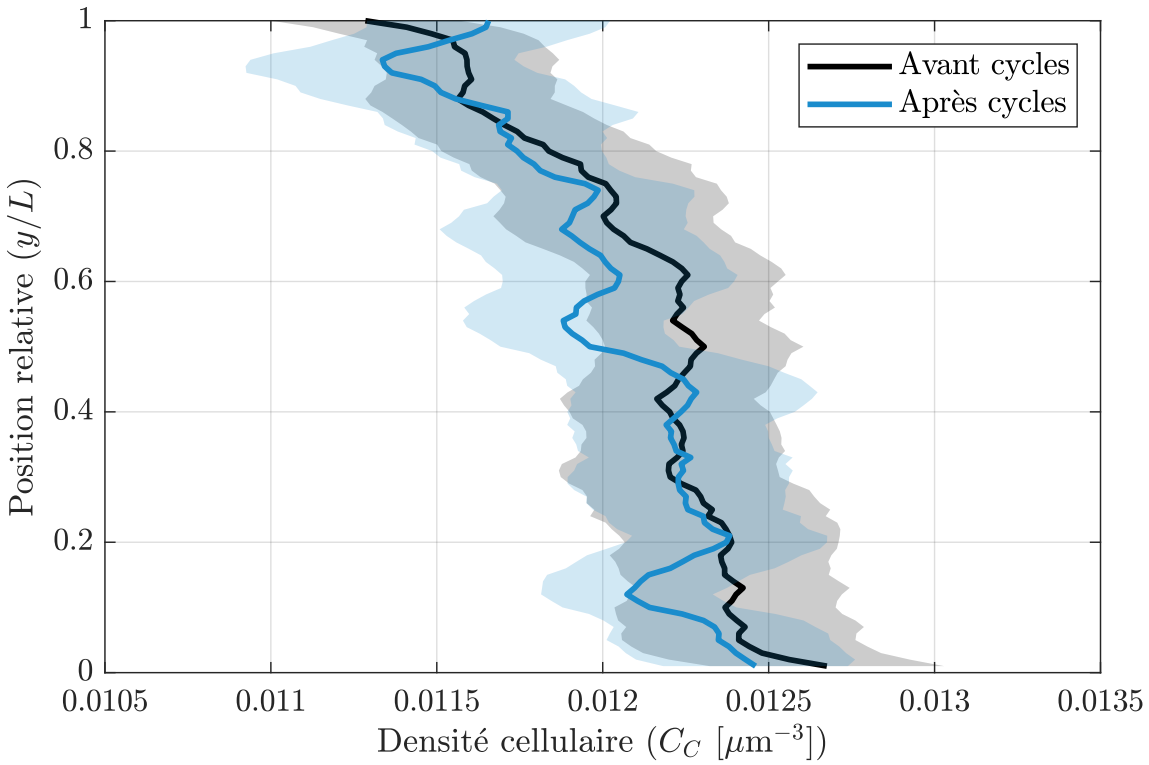

FIGURE 3.19 – Profils de densité cellulaire, moyennés sur l'horizontale. Les valeurs moyennes issues de 6 expériences indépendantes sont présentées par des traits pleins. La taille de chaque zone colorée est égale à l'écart-type divisé par la racine carrée de 6. Les données de porosité ont été acquises à $\Delta P^\star = 400$ mbar, avant de réaliser des cycles de compression/décompression (noir) et après les cycles (bleu).

bouchon ($\mathcal{B}$).

- Un maillage est fabriqué, qui couvre l'ensemble de l'image, avec un pas de 2μm.
- Pour chaque point de ce maillage, on compte tous les noyaux qui ont été détectés à l'intérieur d'un cercle ($\mathcal{C}$) de rayon de 20 μm et centré en ce point.
- La densité de cellules (C_c) est alors calculée en divisant le nombre de noyaux détectés (n_n) par la surface $\mathcal{S}_\mathcal{C}$ du disque formé par $\mathcal{C}$, corrigée des éventuels effets de bords et par la hauteur (H) de la puce microfluidique : $C_c = n_n/(\mathcal{S}_\mathcal{C} \times H)$.
- Les effets de bords sont corrigés en divisant le nombre de noyaux par la surface de l'aire formée par l'ensemble $\mathcal{B} \cap \mathcal{C}$ (la surfaces des points qui appartiennent à la fois au bouchon et au disque), et par H.
- Enfin, on ne calcule la densité que pour des points qui appartiennent au bouchon. Si la surface de $\mathcal{B} \cap \mathcal{C}$ mesure moins que la moitié de la surface du disque, alors la densité n'est pas calculée.

Les résultats permettent d'estimer l'évolution de la densité à l'intérieur d'un bouchon de levures. Ils montrent que la densité locale est variable. Dans l'exemple illustratif de la figure 3.18, la densité varie ainsi entre $1.05\times10^{-3}\,\mu$m^2 et $1.45\times10^{-3}\,\mu$m^2. Cette variabilité est associée à une hétérogénéité spatiale relativement élevée : il est possible de trouver des zones relativement denses (ou peu denses) à n'importe quel endroit du bouchon. Enfin, la variabilité spatiale dans la direction y est plus importante que la variabilité dans la direction x.

Cette variabilité est alors quantifiée en détail, en moyennant les valeurs de densité obtenues sur la direction horizontale (x), et en normalisant la position par la longueur du bouchon, mesurée à l'instant de la prise d'image. Les profils de densité obtenus sont présentés sur la figure 3.19, où les résultats issus de 6 expériences indépendantes ont été moyennées, et où l'écart type est représenté par une zone colorée. De plus, lors de ces 6 expériences, les images de noyaux ont été acquises avant et après les cycles de compression/décompression.

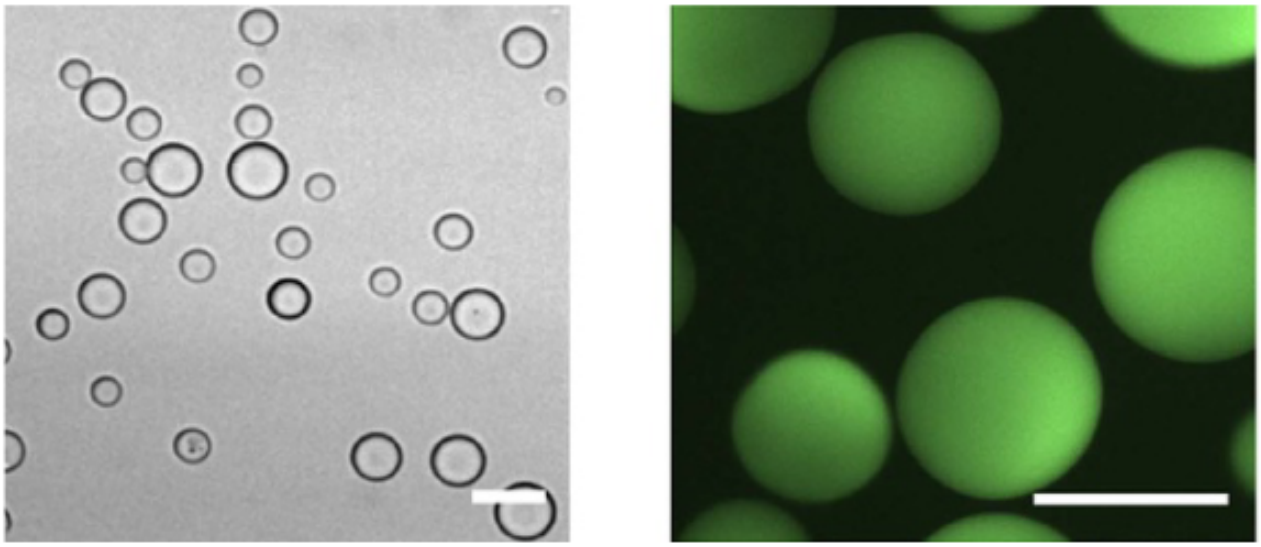

FIGURE 3.20 – Images des hydrogels prises au microscope à champ large (à gauche), et en microscopie de fluorescence (à droite). Dans les deux cas, la barre d'échelle représente 50 μm. Figures reprises de Dolega *et al.* (2017).

Comme prédit par la théorie poroélastique, la porosité locale varie à l'intérieur du bouchon et est plus importante en bas du bouchon, où elle vaut environ 0.0125 cell.μm^{-3}, qu'en haut du bouchon, où elle vaut environ 0.0115 cell.μm^{-3}. Par ailleurs, après les cycles de compression/décompression, les valeurs de densité sont très proches de celles mesurées avant les cycles. La différence est inférieure à l'écart-type inter-expériences, et également inférieure à la limite de détection, estimée précédemment à 5% (voir résultats du chapitre 2).

3.5.3 Mesures des contraintes locales grâce à des billes déformables fluorescentes

Afin de mesurer les contraintes mécaniques à l'intérieur du bouchon, des billes d'hydrogel fluorescent ont été mélangées à la suspension de levures. Ces hydrogels ont été préparés par Giovanni Cappello, du Laboratoire Interdisciplinaire de PHYsique (Université Grenoble Alpes - CNRS), suivant le protocole décrit par Dolega *et al.* (2017), qui consiste à réaliser une suspension d'acrylamide, en phase aqueuse, dans de l'huile (HFE-7500 mélangée avec un surfactant, le PFPE-PEG). Une fois la suspension réalisée, l'acrylamide est polymérisée, en ajoutant une molécule fluorescente (du dextran FITC) de taille très grande (500 kDa), si bien que ces molécules sont piégées dans la matrice polymérique et ne peuvent pas s'en échapper. Les particules obtenues, sont de forme sphériques et sont fluorescentes, comme illustré sur la figure 3.20. De plus, elles sont bio-compatibles, d'après les résultats de Dolega *et al.* (2017), et leurs propriétés mécaniques sont bien contrôlées (le module d'Young des hydrogels utilisés est ainsi connu $E = 40$ kPa). Les hydrogels sont remis en suspension dans de l'eau distillée, et conservés à 4°C.

Comme les molécules fluorescentes sont plus grandes que la taille des mailles du réseau polymérique, elles ne peuvent pas s'échapper de l'hydrogel lorsqu'il est comprimé. L'eau, en revanche, peut s'échapper lorsque les hydrogels sont comprimés et changent de volume, un processus déjà observé à la microéchelle (Bouhid de Aguiar *et al.*, 2017) lorsque des hydrogels sont fortement comprimés. Cette compression provoque l'augmentation de la concentration en fluorophores, si bien que l'intensité de fluorescence qu'ils émettent dépend de l'état de compression dans lequel les hydrogels sont placés.

Deux protocoles ont alors donné des résultats satisfaisants. Le premier protocole (nommé protocole A) consiste à réaliser une solution de culture sans levures, en utilisant le protocole décrit dans le chapitre 2, mais en remplaçant l'eau distillée par la suspension d'hydrogels. Cette solution de culture vierge de levures mais présentant des hydrogels est alors connectée à un dispositif présentant deux entrées. L'autre entrée est reliée à une suspension de levures. En modulant les pressions d'entrée, on

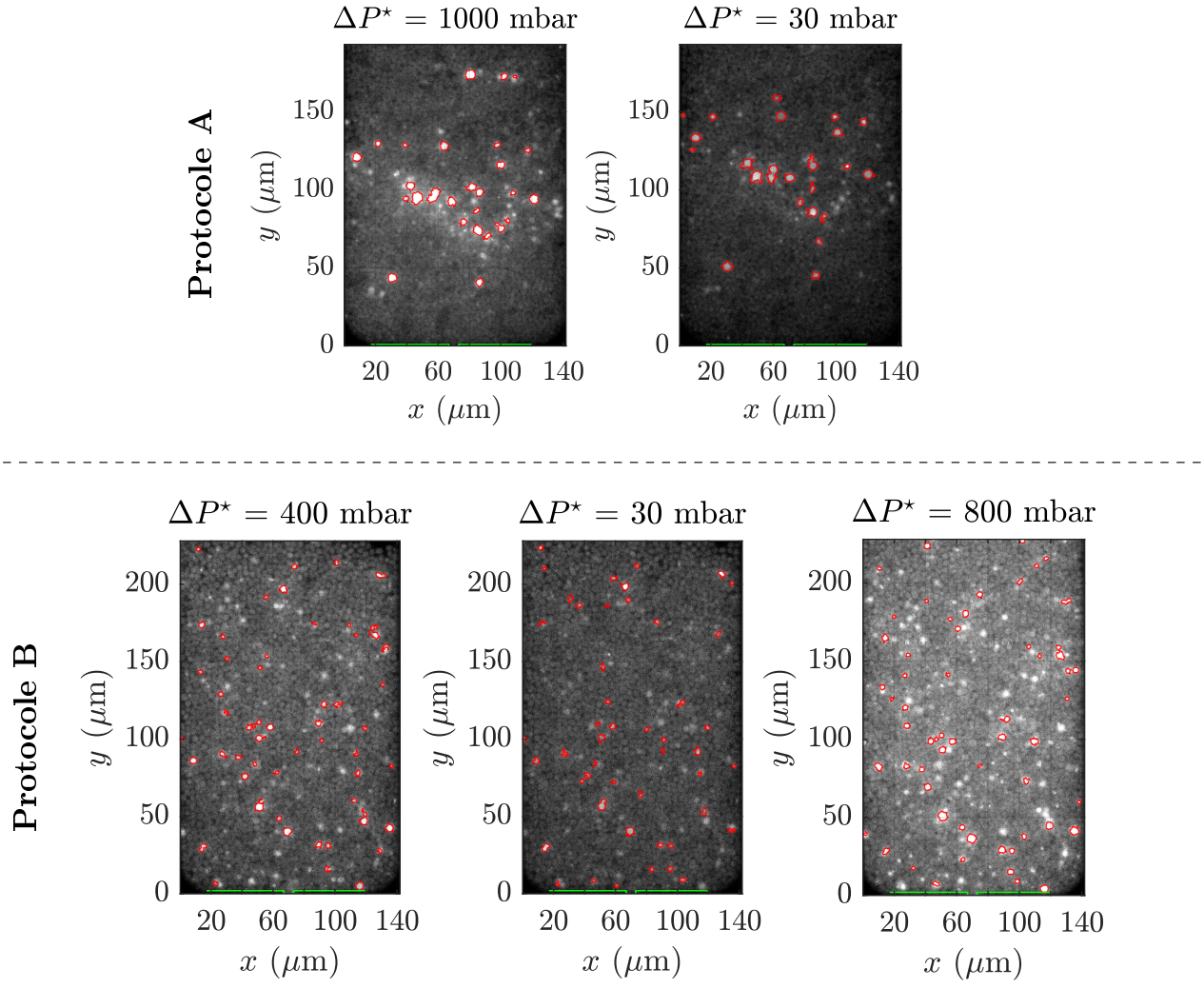

FIGURE 3.21 – Intensité lumineuse à l'intérieur d'un bouchon formé de levures et d'hydrogels fluorescents à l'aide du protocole A (rangée du haut) et B (rangée du bas). Les images présentées correspondent à des pressions imposées qui sont rappelées en haut de chaque image. Plus l'intensité de l'image est élevée, plus elle est claire. Pour les trois images présentées, la table de correspondance (*look-up table* en anglais) intensité-couleur est la même. Les images de la rangée du haut correspondent aux courbes (1) et (2) présentées sur le panneau haut de la figure 3.23. Les images de la rangée du bas correspondent aux courbes (1), (2) et (3) présentées sur le panneau bas de la figure 3.23. Les zones segmentées sont représentées en contour rouge. Le pore est mis en évidence en vert.

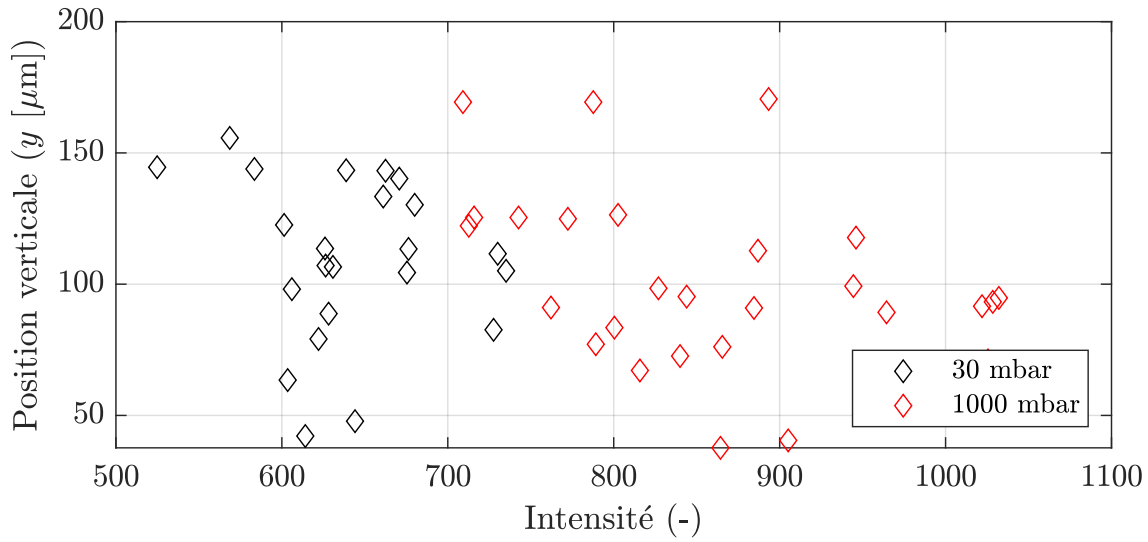

FIGURE 3.22 – Intensité des hydrogels, en fonction de la hauteur dans le bouchon, pour l'expérience présentée sur la rangée du haut de la figure 3.21, à différents niveaux de pression. Chaque point représente l'intensité moyenne des pixels appartement à chaque zone segmentées.

peut alors faire passer dans la puce soit une suspension de levures soit une suspension d'hydrogels. Des images typiques obtenues avec ce protocole sont présentées sur la figure 3.21 (rangée du bas).

Un autre protocole (protocole B) consiste à centrifuger la suspension d'hydrogels à 500 g pendant 5 minutes, puis à pipeter 7 μL à partir du fond du tube centrifugé. Juste avant l'expérience, ces 7 μL sont mélangés à 500μL de la solution de levures pour créer une suspension contenant à la fois des hydrogels et des levures. Des images typiques obtenues avec ce protocole sont présentées sur la figure 3.21 (rangée du haut). Elles présentent des zones plus claires disposées à l'intérieur du bouchon. Ces zones représentent la fluorescence des hydrogels.

Une fois les images acquises, elles sont post-traitées à l'aide d'un algorithme dédié. Cet algorithme commence par segmenter les morceaux de l'image qui sont plus intenses que le reste de l'image (car les hydrogels sont censés être plus fluorescents que les cellules). Cette segmentation est nécessaire parce que les cellules sont légèrement autofluorescente, et le niveau d'autofluorescence des cellules de levure semble dépendre du niveau de contrainte mécanique exercée sur elles : lorsque les cellules sont comprimées, les niveaux de lumière qu'elles renvoient sont plus importants (voir exemples figure 3.21). Cette segmentation est réalisée à l'aide des algorithmes publiés par Vicar *et al.* (2019). L'algorithme utilisé est basé sur un seuil empirique appliqué sur la norme du gradient de l'intensité de l'image (*Empirical Gradient Threshold* en anglais). Cet algorithme utilise un filtre de Sobel pour calculer la valeur absolue du gradient de l'image. Dans un second temps, l'histogramme des valeurs obtenues après filtre de Sobel est utilisé pour déterminer le seuil à fixer à partir d'un modèle empirique. Cet algorithme utilise un paramètre libre, qui permet d'augmenter ou diminuer légèrement le gradient déterminé de manière automatique. Ce paramètre est utilisé afin de segmenter un nombre constant de régions pour les différentes images d'une expérience.

Pour chaque morceau d'image segmenté, l'intensité moyenne du morceau est calculée en même temps que la position du centroïde de la région considérée. On obtient alors une collection de valeurs qui sont variables dans l'espace. L'intensité de chaque région peut être tracée en fonction de la hauteur y, comme illustré sur la figure 3.22. Cependant les données sont relativement bruitées, si bien que la présentation des résultats devient complexe lorsque plus de deux images doivent être comparées. Ce bruit provient de deux sources : les données sont situés à des positions discrètes irrégulièrement disposées dans le bouchon, et occupent une grande gamme de valeurs. Ainsi, à 1000 mbar, l'intensité des pixels [2] associés à certains hydrogels dépasse 1000, tandis que d'autres points ont des intensités

2. Cette grandeur représenté l'intensité des pixels lue à l'endroit où se trouvent les hydrogels, sur des images acquises

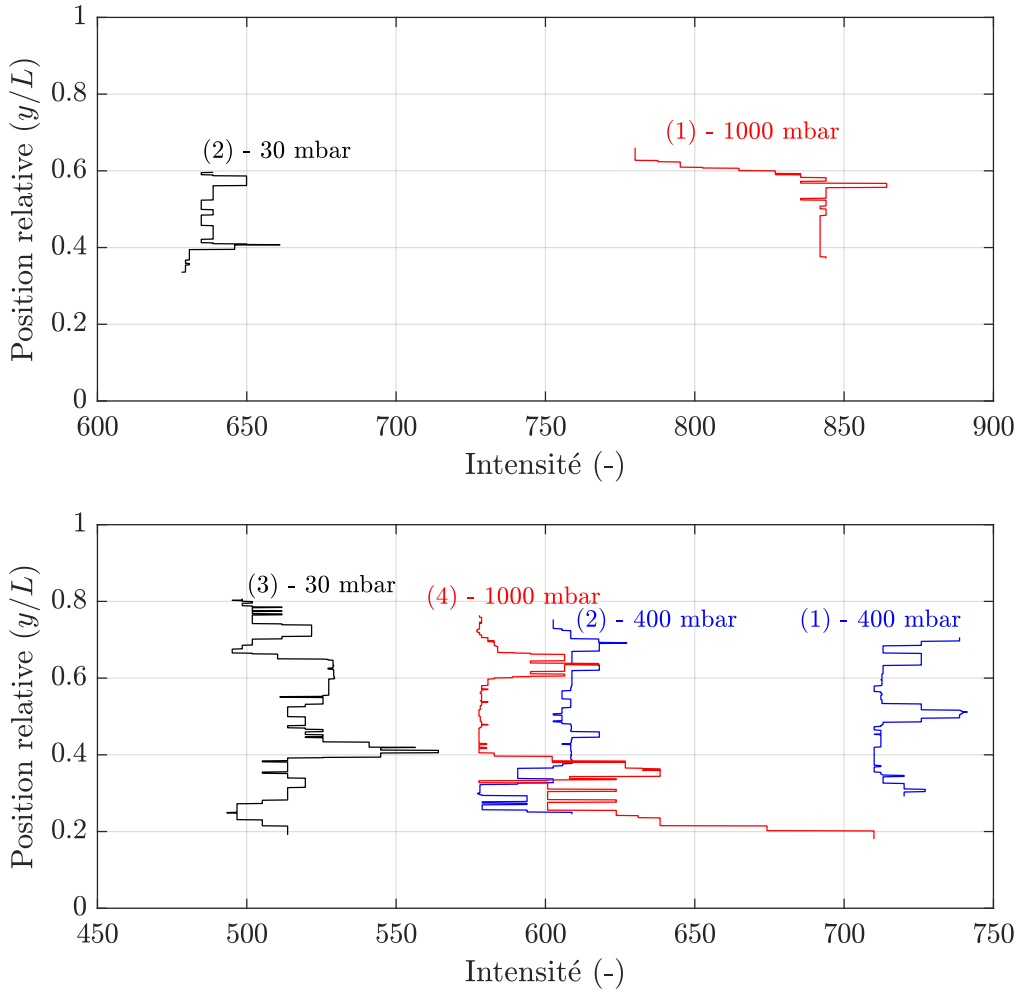

FIGURE 3.23 – Intensité des hydrogels, en fonction de la hauteur dans le bouchon, pour deux différentes expériences obtenues avec le protocole A, à différents niveaux de pression. Pour chaque expérience, le numéro situé au dessus des courbes indique l'ordre de prise de vue. Pour une discussion sur l'unité donnée à l'intensité des pixels, voir la note 2 en bas de page.

inférieures à 750. Pour simplifier la présentation des résultats, ces données brutes sont donc lissées sur une fenêtre glissante de 82.5 μm : à partir d'une position y_0 donnée, une fenêtre est définie, entre $y_0 - 41.25\,\mu$m et $y_0 + 41.25\,\mu$m, et la médiane des intensités des hydrogels situés dans cette fenêtre est calculée. Les résultats obtenus sont finalement normalisés par la longueur du bouchon, pour présenter l'intensité de fluorescence moyenne en fonction de la position relative, sur la figure 3.23.

Les deux premières expériences ont été réalisées avec le protocole A. Les résultats issus de la premières expérience, présentée sur la rangée haute de la figure 3.23, montrent que l'intensité décroit après une décompression de 1000 mbar à 30 mbar, en passant d'environ 850 à environ 650. Les résultats obtenus lors de la seconde expérience, présentés sur la rangée basse de la figure 3.23 montrent qu'on peut obtenir une décroissance de l'intensité de fluorescence en imageant deux fois successivement le même bouchon à la même pression, l'intensité moyenne de fluorescence diminuant d'environ 800 à environ 650. Lors de la troisième prise de vue, associée à un chute de pression, l'intensité de fluorescence diminue jusqu'à 550, et lors de la quatrième prise de vue, alors que la pression augmente jusqu'à 1000 mbar, cette intensité augmente de nouveau.

en microscopie de fluorescence, avec un objectif de grossissement de 40×, avec l'intensité de l'éclairage réglée à 100 % pendant 10 ms. Ces intensités sont lues sur des images enregistrés sur 16 bits, et ne présentent pas d'unité au sens physique du terme, une calibration devant être faite pour convertir cette intensité de pixels en une grandeur ayant une unité physique. Dans la suite, les intensités des hydrogels sont données dans cette unité arbitraire.

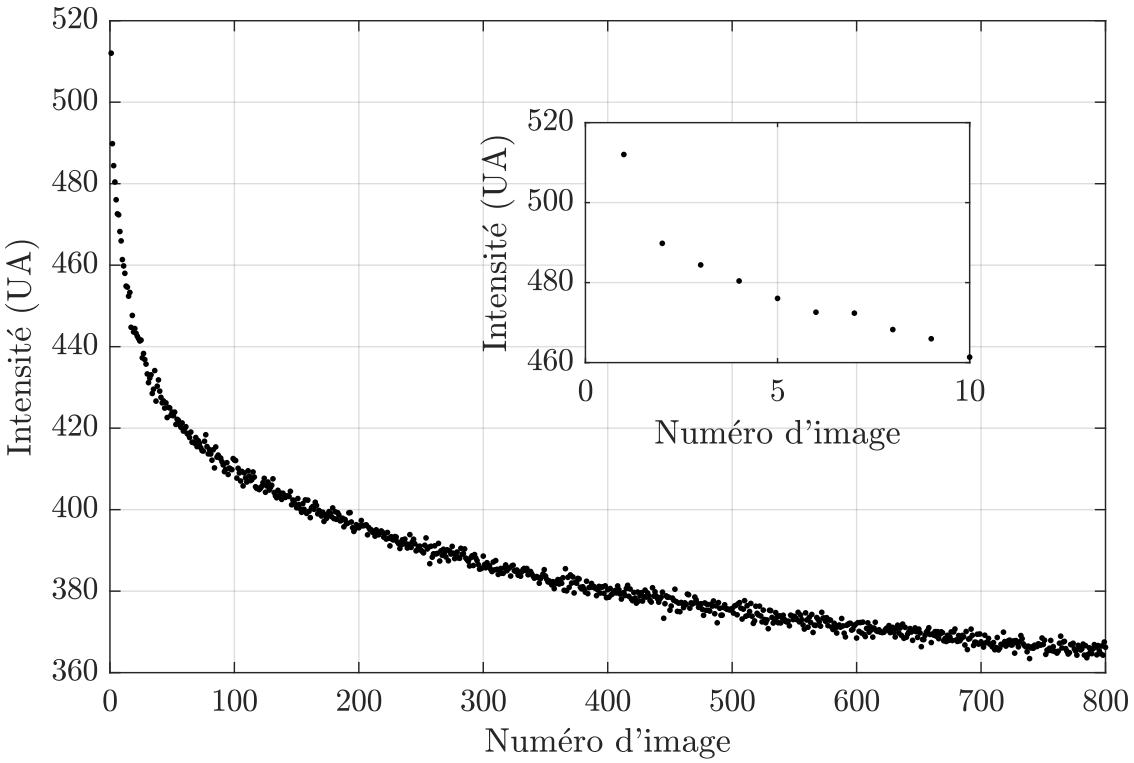

FIGURE 3.24 – Intensité lumineuse moyenne des hydrogels pour sur une expérience où la pression est maintenue à 30 mbar, et où les hydrogels sont imagés 800 fois successivement, à la fréquence de 10 Hz.

Le fait que l'intensité de fluorescence change au cours d'une expérience pourrait être expliqué par le photoblanchiement (*photobleaching* en anglais) des hydrogels, un résultat déjà rapporté dans la littérature (Linkhorst *et al.*, 2019). Mais le fait que l'augmentation de la pression hydrodynamique s'accompagne d'une augmentation de l'intensité lumineuse suggère que les contraintes mécaniques ont augmenté à l'intérieur du bouchon.

Par ailleurs, il est difficile de conclure quant à la variation d'intensité à l'intérieur d'un bouchon donné. Certains profils semblent indiquer que l'intensité est plus élevée proche du pore, comme lors des paliers à 1000 mbar (courbe (1) sur la rangée haute de la figure 3.23), mais les courbes sont relativement bruitées, et ce résultat n'est pas généralisable aux données acquises à 400 mbar. Il est probable que le protocole A implique de déposer les hydrogels successivement, ce qui empêche une bonne répartition dans l'ensemble du bouchon.

Une expérience dédiée a donc été réalisée, au cours de laquelle un bouchon de levures et d'hydrogels a été construit. Cette expérience a été réalisée 11 mois après les deux premières expériences, suivant le protocole B. La pression aux bornes de ce bouchon a été fixée à 30 mbar, et 800 images successives ont été prises, pour pouvoir mieux caractériser et quantifier le photoblanchiement. Les hydrogels sont alors segmentés sur la première image uniquement. En effet, les dernières images sont particulièrement difficiles à segmenter, et le bouchon ne subit aucune déformation. L'intensité des hydrogels est calculée comme précédemment, et la moyenne des intensités des hydrogels est suivie au cours de l'expérience. Les résultats sont présentés sur la figure 3.24. Ils montrent que l'intensité diminue avec le nombre d'image acquises. L'intensité de la première image est 4% plus importante que l'intensité de la seconde image. Puis, la perte d'intensité est de l'ordre de 2%. Si bien qu'entre la première et la $6^{\text{ème}}$ prise de vue, l'intensité est censée avoir diminué de $\approx 11.5\%$.

Une nouvelle expérience est alors conduite, toujours en suivant le protocole B, qui permet d'obtenir un bouchon avec des hydrogels répartis plus uniformément que dans le cas du protocole A. Les résultats sont présentés sur la figure 3.25. Au vu des résultats précédents, pour corriger les effets du photoblanchiement, l'intensité moyenne des hydrogels est multipliée par un facteur dont l'amplitude dépend du

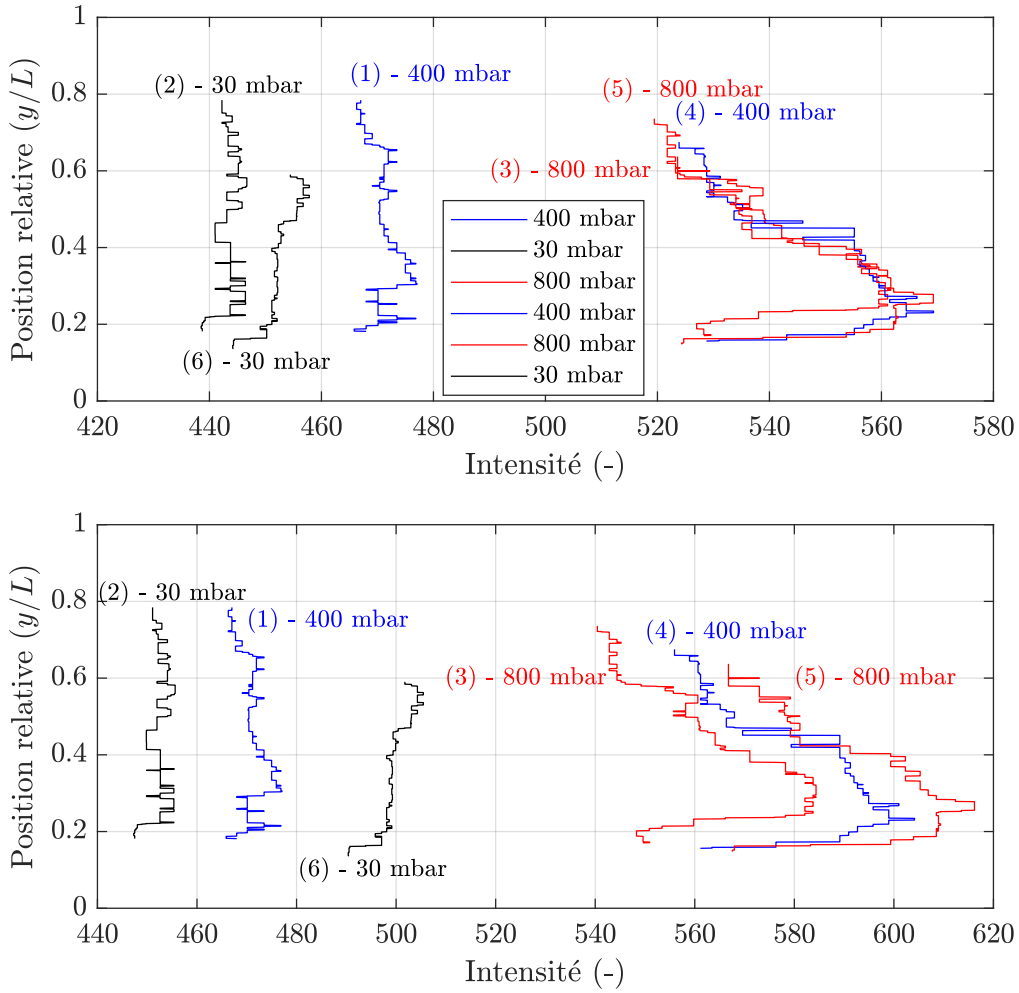

FIGURE 3.25 – Intensité médiane des hydrogels, en fonction de la position relative dans le bouchon, pour l'expérience réalisée avec le protocole B. La couleur indique la pression à laquelle l'agrégat est soumis, et le numéro situé au dessus des courbes indique l'ordre de prise de vue. La rangée du haut correspond aux données brutes. La rangée du bas, aux données corrigées du photoblanchiement en appliquant un facteur multiplicatif de 1.02 à chaque nouvelle prise de vue (plus précisément, l'intensité de la première image n'est pas corrigée, l'intensité de la deuxième multipliée par 1.02, celle de la troisième par $(1.02)^2$, celle de la quatrième par $(1.02)^3$ etc...).

nombre de fois où les hydrogels ont été illuminés. Les résultats bruts sont également présentés sur la figure 3.25. L'expérience consiste à construire un bouchon à 400 mbar, à le décomprimer jusqu'à 30 mbar, puis à réaliser deux cycles de compression/décompression entre 400 mbar et 1000 mbar, en prenant des images à 800 mbar et à 400 mbar. Les résultats non corrigés du photoblanchiement montrent que l'intensité de fluorescence des hydrogels diminue lorsque la pression diminue à 30 mbar. Lorsque la pression augmente jusqu'à 800 mbar, l'intensité des hydrogels devient importante, jusqu'à dépasser 560. Puis, alors que la pression diminue jusqu'à 400 mbar, l'intensité de fluorescence reste quasiment identique à celle mesurée précédemment. De même, l'intensite ne varie que très peu lorsqu'une nouvelle image est prise alors que la pression hydrodynamique vaut 800 mbar. Enfin, lorsque la pression hydrodynamique diminue à 30 mbar, l'intensité de fluorescence diminue fortement, à moins de 460. Les résultats corrigés du photoblanchiement sont qualitativement similaires aux résultats bruts, même si l'intensité de fluorescence semble être plus importante à la fin des cycles, alors que la pression est retournée à 30 mbar, qu'au début des cycles, alors que la pression y est de 400 mbar. Il est possible que la correction appliquée pour le photoblanchiement ait été trop forte. En particulier, le photoblanchiement a été estimé pour un bouchon au repos, en réalisant des prises de vues très rapprochées. Il

est possible que le fait de comprimer le bouchon, ou l'espacement entre les prises de vues ralentisse le photoblanchiement, plus d'expériences restant nécessaires pour confirmer ou non ces deux hypothèses.

Par ailleurs, lorsque l'intensité de fluorescence est élevée (entre les instants 3 et 5), un gradient d'intensité semble exister, entre $y/L = 0.25$ et $y/L = 0.8$: les hydrogels sont plus lumineux en bas du bouchon qu'en haut du bouchon. Par ailleurs, dans la partie la plus basse située à moins de $y/L = 0.25$ l'intensité de fluorescence diminue fortement. Cependant, les résultats obtenus en modifiant la taille de la fenêtre de recherche à moins de 82.5 μm (non montrés ici) suggèrent que cette décroissance soudaine et brusque est principalement provoquée par les hydrogels situés proche du mur bas du dispositif.

L'ensemble de ces résultats suggère que les contraintes à l'intérieur du bouchon augmentent lorsque la pression augmente, alors qu'un gradient de contraintes semble apparaître. Puis ces contraintes restent à un niveau relativement élevé - lorsque la pression diminue jusqu'à 400 mbar. Ces contraintes sont finalement en partie relâchées lorsque la pression diminue à 30 mbar.

Cependant, l'intensité des hydrogels obtenue lors de cette expérience est largement inférieure à l'intensité obtenue lors des deux premières expériences. Ainsi, lorsque la pression vaut 30 mbar, l'intensité varie autour de 440-460, alors qu'elle valait environ 640 lors de la première expérience et 500 lors de la seconde expérience. De même, l'intensité maximale observée lors de cette expérience est largement inférieure à celle observée précédemment : l'intensité est toujours légèrement inférieure à 570 alors qu'elle pouvait dépasser 850 et 700 lors de la première et deuxième expérience, respectivement. À ce jour, cette observation reste inexpliquée. Il est possible qu'en passant 11 mois dans le frigidaire, les molécules fluorescentes aient été dégradées, ou soient parvenues à quitter les hydrogels, tout comme il est possible que les billes d'hydrogel aient été dégradées au cours de ces 11 mois, mais ces deux points n'ont pas été caractérisés avec rigueur.

3.5.4 Mesures de l'encombrement interne des cellules

Les expériences précédentes ont mis en évidence qu'il pourrait exister un gradient de contraintes mécaniques à l'intérieur du bouchon de levures. Dans ce cadre une information importante est de connaître le mode de déformation des cellules de levures. Les cellules perdent-elles du volume ? Ou se déforment-elles à volume constant ? En effet, des résultats récents ont mis en évidence que l'encombrement cellulaire des levures augmente avec les contraintes compressives s'exerçant sur les cellules (Alric *et al.*, 2022). De plus, cet encombrement cellulaire est bien mesuré à l'aide de nanoparticules multimériques encodées génétiquement (GEMs, pour *genetically encoded multimeric nanoparticles* en anglais). Ces nanoparticules sont produites par les cellules de levures elles-mêmes et sont fluorescentes. Elles mesurent quelques dizaines de nanomètres (40 nm dans notre cas) et diffusent dans le cytoplasme des levures. Lorsque les cellules sont soumises à des contraintes mécaniques compressives, la diffusion de cette nanoparticule ralentit, à cause de l'augmentation de l'encombrement à l'intérieur des cellules.

Pour réaliser ces expériences, une souche de levures génétiquement modifiée est utilisée, où on a inséré le code génétique nécessaire à la production de GEMs de 40 nm. Ces cellules sont cultivées suivant le protocole usuel. Un bouchon est formé puis observé au microscope confocal (grossissement 63×, à immersion). Une fois le bouchon construit, les GEMs sont imagés par fluorescence, en illuminant le bouchon avec une longueur d'onde de 488 nm et en utilisant un filtre FITC. Lors de chaque prise de vue, 200 images sont prises avec un temps d'exposition de 20 ms.

Les images acquises sont alors traitées en suivant une procédure déjà établie et largement utilisée par ailleurs (Delarue *et al.*, 2018; Alric *et al.*, 2022). Cette procédure repose sur l'utilisation du plug-in Mozaic du logiciel de traitement d'image Fiji, qui permet de déterminer les trajectoires des GEMs, associée à un ensemble de routines MATLAB qui permettent de calculer un coefficient de diffusion médian, pour l'ensemble des trajectoires fournies. Ce plugin est paramétré comme suit : le rayon recherché vaut 3 px, le cutoff est fixé à 0.1%, la profondeur de recherche à 1 slide, la dynamique de mouvement est supposée Brownienne, le déplacement maximum est fixé à 10 px.

Cependant, un paramètre reste libre, d'après les données de la littérature. Ce paramètre, nommé « Per/Abs » est un seuil qui permet de déterminer quelle portion des pixels détectés comme lumineux sont en fait des particules - voir Sbalzarini et Koumoutsakos (2005) pour plus de précisions sur l'algorithme. Les différents tests ont montré que plus ce paramètre est faible et moins le nombre de particules détecté est important. Par exemple, sur les images acquises pendant cette thèse, pour

Per/Abs = 50%, de nombreux faux-positifs sont détectés (des points sont détectés, qui ne correspondent pas à un GEM). Pour Per/Abs = 1%, très peu de particules sont détectées, si bien que très peu de trajectoires peuvent être reconstruites par la suite. Il serait possible théoriquement de passer du temps sur chaque jeu de données aquis pour trouver la valeur optimale de Per/Abs : la valeur qui présente un minimum de fausses trajectoires et un maximum de vraie trajectoires. Il est fort possible que cet optimum dépende des caractéristiques de l'image traitée (typiquement le rapport signal/bruit du jeu de données), et on pourrait imaginer l'adapter à chaque jeu de données. Cependant, les différents tests réalisés ont montré que la valeur utilisée pour Per/Abs avait un impact important sur la valeur finale du coefficient de diffusion utilisé : plus Per/Abs est faible et plus le coefficient de diffusion est faible. De plus, déterminer à priori la bonne valeur de Per/Abs demanderait de passer un temps important pour vérifier que les trajectoires déterminées correspondent bien à des trajectoires de GEMs (typiquement, on peut obtenir plus de 10000 trajectoires lors du traitement d'un jeu de 200 images). Enfin, on pourrait imaginer réaliser des corrections ad-hoc de ce paramètre, en se basant sur les valeurs de coefficient de diffusion obtenues. Mais la validité des résultats obtenus ainsi poserait alors question. Dans la suite, il a donc été décidé de présenter les résultats en se basant sur deux valeurs pour ce paramètre : Per/Abs = 10% et Per/Abs = 5%.

Les résultats expérimentaux sont présentés sur la figure 3.26, pour deux expériences qui ont été conduites dans des conditions légèrement différentes. Lors de la première, un cycle de compression/décompression est réalisé directement après la construction du bouchon, à 400 mbar, avant de décomprimer le bouchon à $\Delta P^\star = 30$ mbar, alors que la seconde a été conduite en commençant par décomprimer le bouchon à $\Delta P^\star = 30$ mbar avant de réaliser les cycles de compression/décompression. Dans les deux expériences, le coefficient de diffusion lors de la première prise de vue, à 400 mbar, varie entre 0.14 et 0.18. Lors de la seconde prise de vue, qui correspond à $\Delta P^\star = 1000$ mbar et $\Delta P^\star = 30$ mbar pour la première et la seconde expérience, respectivement, le coefficient de diffusion est compris entre 0.11 et 0.14. Lors de la suite de l'expérience, le coefficient de diffusion continue de fluctuer, entre 0.096 et 0.15.

Il est donc peu probable que les valeurs obtenues soient le marqueur d'un phénoèmène physique. En effet, les variations du coefficient de diffusion semblent erratiques. La raison la plus probable semble être que le bruit reste important sur les trajectoires détectées, ce qui rend l'analyse des résultats obtenus complexe. De plus, il est possible que les GEMs aient légèrement photoblanchi entre les différentes prises de vues, ce qui pourrait alors modifier le rapport signal sur bruit et donc les niveaux attendus pour le coefficient Per/Abs. Enfin, ces expériences (comme toutes les expériences de cette thèse) ont été conduites à température ambiante. Mais celle-ci n'était pas contrôlée de manière précise, si bien qu'elle a pu fluctuer de un ou deux degrés au cours d'une expérience. Et ces changements de température peuvent avoir un impact très important sur la diffusion des GEMs. En conclusion, il serait donc intéressant de reproduire ces expériences se plaçant dans des configurations qui évitent le photblanchiement et dans un environnement contrôlé en température.

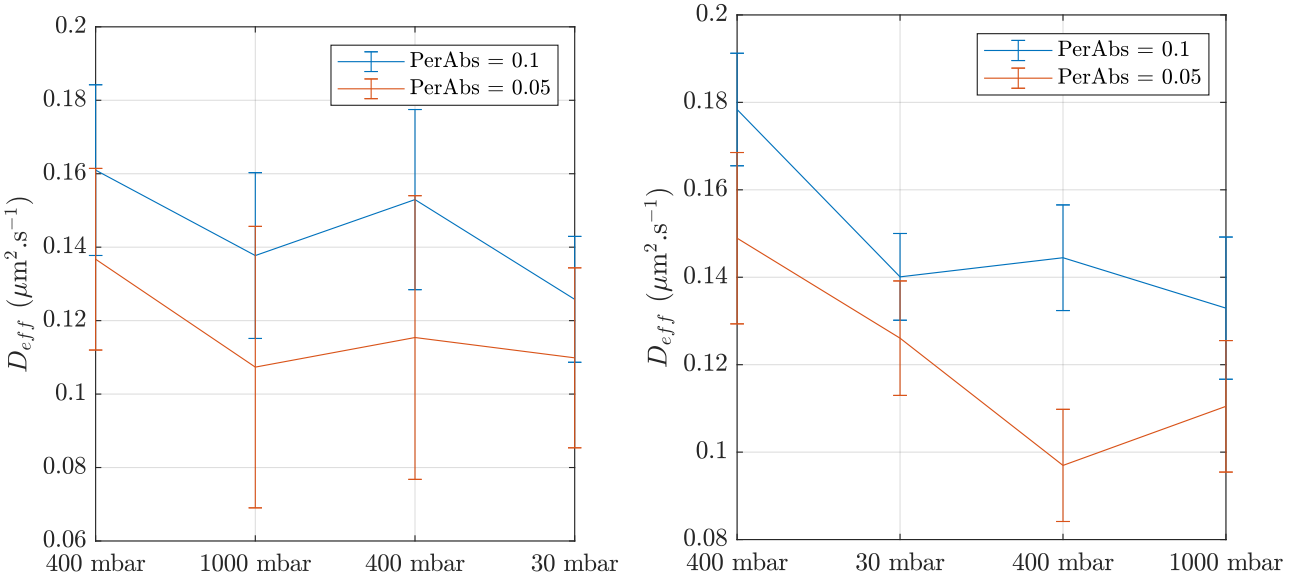

FIGURE 3.26 – Coefficient de diffusion calculé à partir du tracking des GEMs et différents niveaux de Per/Abs utilisés pour réaliser le tracking de particules, lors de deux expériences distinctes. À gauche l'expérience commence par un cycle de compression/décompression avant de relacher la pression. À droite, l'expérience commence par une décompression, avant de réaliser les cycles de compression/décompression. Les barres d'erreur représentent l'intervalle de confiance à 95%.

Résumé et interprétations des résultats

Un gradient de densité cellulaire a été mesuré pour des bouchons formés sous écoulement fluide, la densité étant plus importante en bas du bouchon qu'en haut du bouchon. Cette variation de densité est expliquée par la théorie poroélastique linéaire. Dans ce cas, le gradient de pression agit à la manière d'une force volumique, si bien que la contrainte mécanique subie par les cellules proches du pore est maximale, alors qu'elle est nulle en haut du bouchon.

D'un autre côté, les résultats obtenus avec des hydrogels fluorescents suggèrent que les contraintes mécaniques augmentent bien à l'intérieur du bouchon, certaines expériences suggérant même l'existance d'un gradient de contraintes de même orientation que le gradient de porosité. De plus, une expérience a révélé que les contraintes mécaniques restaient élevés lors des phases intermédiaires des cycles de compression/décompression.

Enfin, la mesure de l'encombrement cellulaire n'a pas révélé de variation mesurable du coefficient de diffusion de GEMs à l'intérieur des cellules, probablement car l'effet à mesurer était trop faible par rapport au bruit associé aux expériences réalisées.

3.6 Poromécanique et prolifération cellulaire

Afin d'estimer l'impact de la prolifération cellulaire, sur le comportement mécanique effectif du bouchon, les expériences précédemment décrites sont reproduites avec des suspensions de levure auxquelles on n'a pas rajouté d'antibiotique. Ces expériences sont donc conduites en présence de prolifération, avec des cellules de levure en phase de croissance exponentielle. Deux cycles de compression/décompression sont réalisés à l'issue de la construction du bouchon, entre 400 mbar et 1000 mbar, dans une situation où le flux de cellules est faible mais non nul (protocole P1 présenté plus haut).

L'évolution temporelle des déplacements et des réarrangements à une hauteur donnée ($y = 100\,\mu$m) est présentée sur la figure 3.27. Elle met en évidence un comportement radicalement différent de celui présenté plus haut, en présence d'antibiotique. Avant la première compression, alors que le forçage hydrodynamique est maintenu constant, les déplacements sont positifs : la partie du bouchon observée se déplace vers le haut, sous l'effet de la prolifération cellulaire des cellules situées entre $y = 0\,\mu$m et $y = 100\,\mu$m. Lors de la première compression, les déplacements et les réarrangements sont relativement faibles, moins de 2 μm et 0.01, respectivement. Puis, lors de la décompression, les déplacements et les réarrangements sont plus grands. Les déplacements sont de 6 μm et les réarrangements dépassent

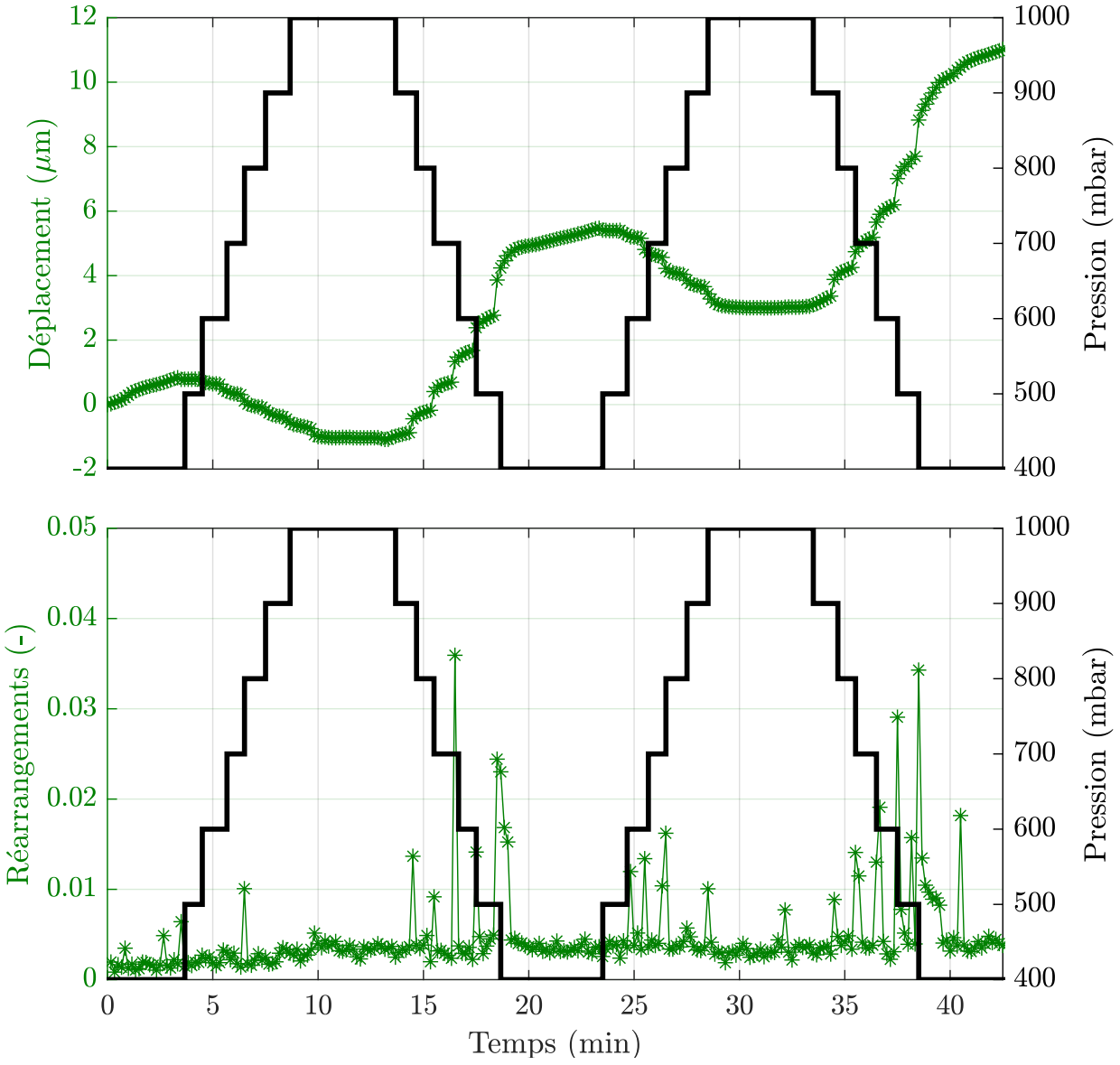

FIGURE 3.27 – Déplacements verticaux (en haut), et réarrangements (en bas) moyennés sur l'horizontale, à une distance du pore donnée ($y = 100\,\mu$m) pour des expériences conduites en laissant les cellules proliférer. La différence de pression aux bornes du bouchon est superposée en noir.

régulièrement 0.015. Lors de la seconde compression, les déplacements et les réarrangements sont légèrement plus importants que lors de la première compression mais sont de nouveaux relativement faibles. Les déplacements sont inférieurs à 2.5 μm et les réarrangements atteignent seulement 0.016. Enfin, lors de la seconde décompression, les déplacements et les réarrangements sont de nouveaux élevés. Les déplacements sont de près de 8 μm et les réarrangements atteignent 0.034.

Les profils de déplacements et de réarrangements obtenus entre 400 mbar et 1000 mbar pour trois expériences conduites en l'absence d'antibiotique sont présentés sur la figure 3.28. Les déplacements sont systématiquement plus importants lors de la phase de décompression que lors de la phase de compression. En haut du bouchon, les déplacements relatifs mesurés en décompression sont compris entre 0.025 et 0.061, et alors qu'ils sont inférieurs à 0.022 lors de la compression. Par ailleurs, pour une expérience donnée, les déplacements obtenus lors du premier et du second cycle de compression sont quantitativement proches. Dans le pire des cas, les déplacements relatifs mesurés en haut du bouchon lors de la seconde décompression sont de 0.061 alors qu'ils valaient 0.048 lors de la première décompression.

De même, les réarrangements sont systématiquement plus élevés lors de la décompression que lors de la compression, avec des valeurs qui atteignent 0.168 au maximum lors d'une décompression alors que les valeurs mesurées pendant les compressions varient généralement entre 0.001 et 0.006, une seule compression étant caractérisée par des réarrangements qui atteignent 0.01 en haut du bouchon. Enfin, lors des décompressions les réarrangements sont généralement plus importants dans le haut du bouchon que dans le bas du bouchon.

Une dernière observation notable est que les déplacements relatifs mesurés pendant la compression en présence de prolifération sont légèrement inférieurs à ceux mesurés en l'absence de prolifération. Ainsi, en l'absence de prolifération, les déplacements mesurés dans le haut du bouchon sont inférieurs à 0.2, alors qu'ils sont compris entre 0.27 et 0.38 en l'absence de prolifération, alors même que la gamme de pression considérée dans cette partie (400 mbar - 1000 mbar) est plus grande que celle considérée précédemment (378 mbar - 775 mbar).

Enfin, les mesures de densité cellulaire présentées dans la partie 3.5.2 ont été reproduites pour trois expériences réalisées sans antibiotique, et les profils verticaux de densité sont présentés sur la figure 3.29. La densité de cellules est en moyenne plus importante que celle mesurée précédemment, en l'absence de prolifération. Avant les cycles de compression, cette densité est supérieure à 0.013 cellules/μm^3, jusqu'à $y/L = 0.8$, puis comprise entre 0.013 cellules/μm^3 et 0.0125 cellules/μm^3 pour $y/L > 0.8$. Après les cycles de compression/décompression, la densité est systématiquement inférieure à celle mesurée avant les cycles.

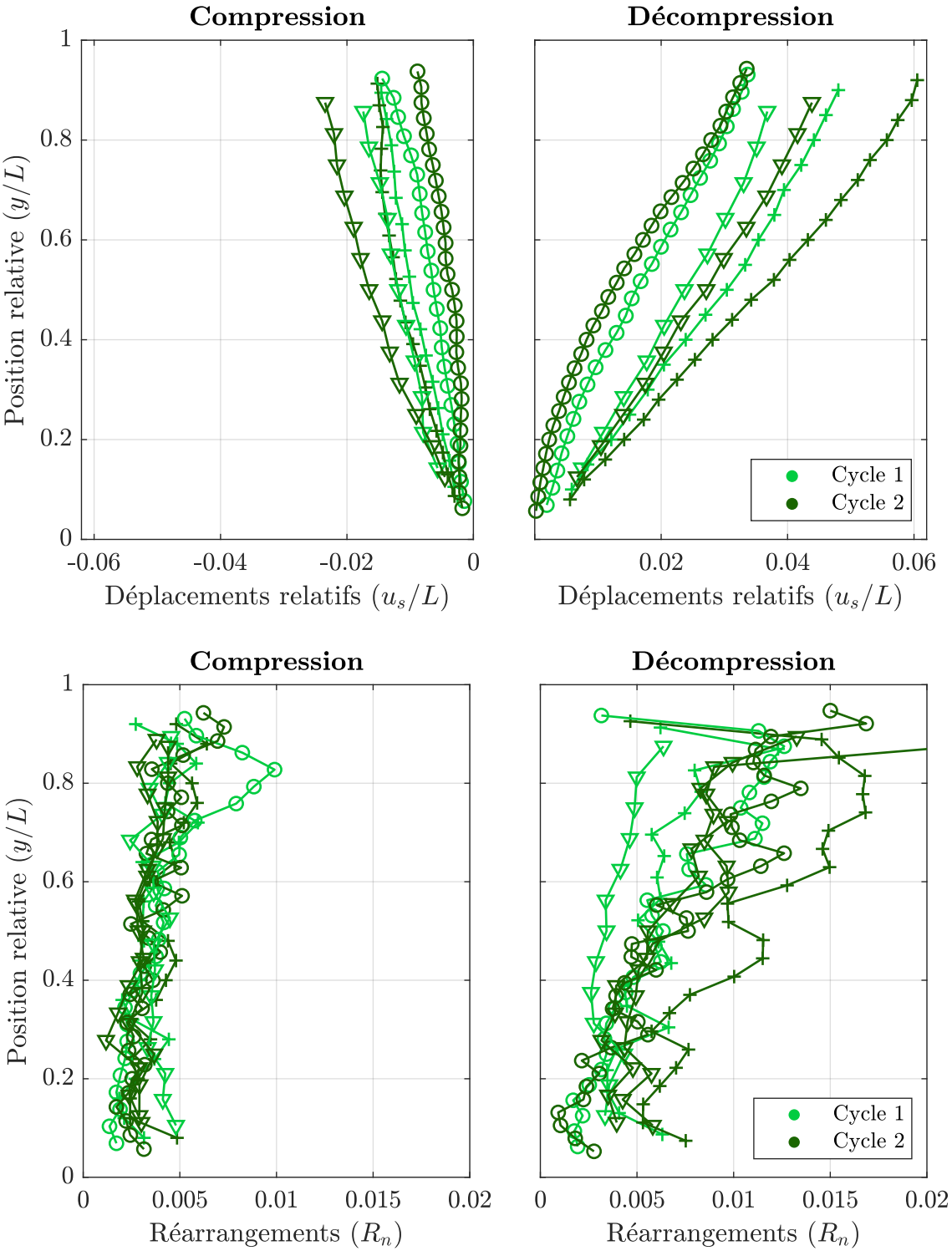

FIGURE 3.28 – Pour les expériences en l'absence d'antibiotique : profils de déplacements verticaux (rangée haute) et de réarrangements (rangée basse) pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale. Les données issues du premier cycle sont représentées en vert clair, alors que celles issues du second cycles sont représentées en vert foncé.

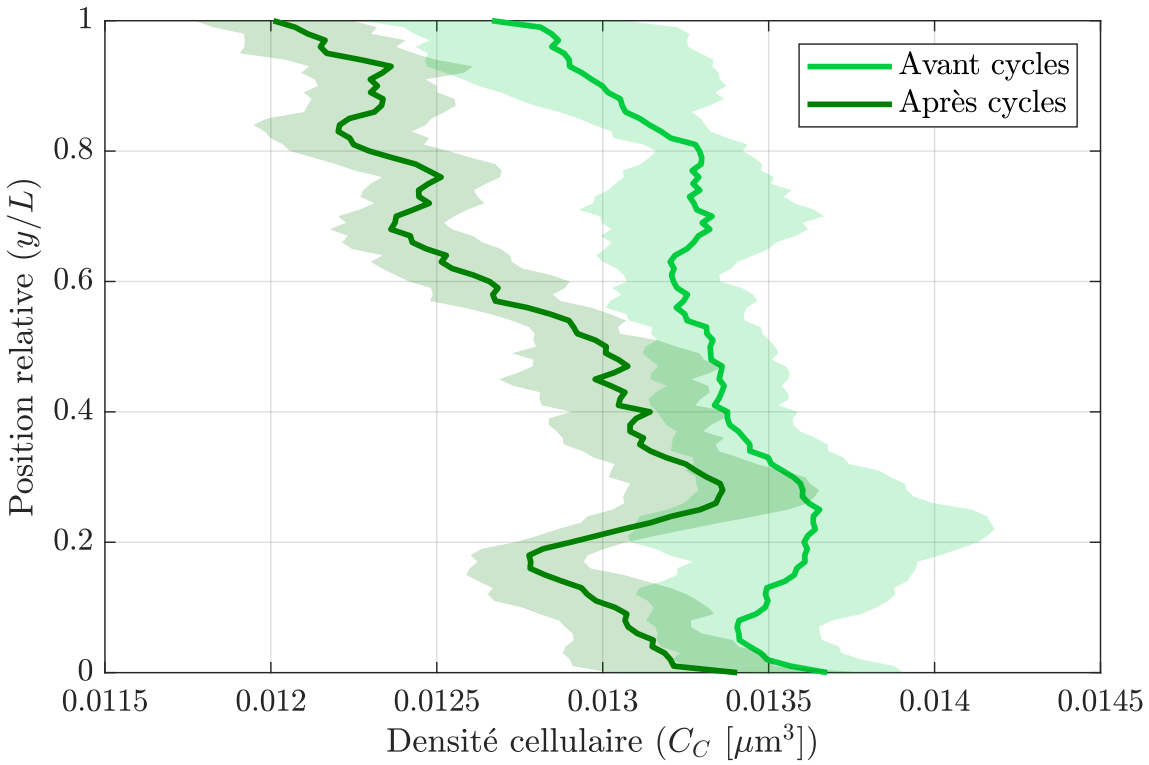

FIGURE 3.29 – Profils de densité cellulaire, moyennés sur l'horizontale. Les valeurs moyennes issues de 6 expériences indépendantes sont présentés par des traits pleins. Les écarts types sont représentés par des zones colorées. La taille de chaque zone colorée est égale à l'écart-type divisé par la racine carrée de 6. Les données de porosité ont été acquises à $\Delta P^\star = 400$ mbar, avant de réaliser des cycles de compression/décompression (vert clair) et après les cycles (vert foncé).

Résumé et interprétations des résultats

Le comportement mécanique observé en présence de prolifération est radicalement différent de celui observé avec antibiotique. D'abord, lorsque le forçage ne change pas d'intensité, des mouvements sont observés à l'intérieur du bouchon. Observés à une altitude donnée (comme dans un cadre *eulérien*), ces déplacements suivent une tendance linéaire en fonction du temps. Cela peut s'expliquer par la prolifération des cellules situées sous la position où les déplacements sont mesurés (plus précisément, entre le pore et la position considérée). Ces cellules, prolifèrent alors toutes à la même vitesse, et le nombre de cellules situées sous la position considérée est constant dans le temps, ce qui dirige la tendance de la relation linéaire.

Par ailleurs, les déplacements et les réarrangements sont les plus importants lors des phases de décompression, si bien que les compressions sont purement réversibles : l'état final atteint est proche de celui qu'aurait atteint le système en l'absence de sollicitations mécaniques. Cette observation explique pourquoi la littérature associée à la filtration de levures proliférantes rapporte que la compressibilité des gâteaux de filtration est réversible (McCarthy *et al.*, 1999), alors que cette compression est irréversible pour des particules inertes (Lüken *et al.*, 2021b) ou des levures mises en suspension dans une solution saline, et qui ne peuvent donc pas proliférer (McCarthy *et al.*, 1999).

Cette observation pourrait être expliqué par des résultats de la littérature, obtenus en réalisant des chocs osmotiques sur des levures *Saccharomyces pombe*. En effet, dans ce cadre, Knapp *et al.* (2019) ont mis en évidence qu'après une compression rapide, les levures pouvaient proliférer plus rapidement qu'avant le choc osmotique, un régime de croissance que les auteurs nomment « supergrowth ». Ce résultat s'expliquerait par le fait que pendant la compression, les levures continuent de métaboliser différentes molécules, dont des osmolites - molécules de petite taille responsables de la pression osmotique. Mais, pendant la compression, la croissance (augmentation de volume) de la cellule est bloquée. Si bien que les osmolites s'accumulent à l'intérieur de la cellule. Lorsque la compression se termine, la croissance est accélérée, du fait de la grande pression osmotique à l'intérieur de la cellule. Les résultats présentés sur la figure 3.27 sont alors en accord avec cette étude. En effet, lorsque la cellule est comprimée ($\Delta P = 1000$ mbar), la croissance est complètement arrêtée : aucun déplacement n'est visible. Puis, lorsque les contraintes mécaniques sont relâchées ($\Delta P = 400$ mbar), la décompression est très importante, si bien que le déplacement atteint des valeurs proches de celles qui auraient pu être observées en prolongeant la tendance linéaire observée avant les cycles (entre 0 et 4 min). En d'autres termes, le bouchon a atteint la taille qu'il aurait pu atteindre si les cycles n'avaient pas été réalisés.

3.7 Discussion et conclusions

Dans ce chapitre, deux types de forçages ont été utilisés pour contraindre un bouchon de levures : un écoulement fluide et un piston imperméable. Dans les deux cas, les déplacements et les réarrangements observés ont révélé une différence importante entre la première phase de la compression et les phases suivantes. L'analyse des résultats a montré que cette différence s'explique par une dissipation d'énergie. Celle-ci pourrait être la raison pour laquelle le comportement du bouchon s'éloigne du comportement théorique attendu pour un milieu poreux déformable, étudié dans le cadre de la poroélasticité linéaire, comme présenté section 3.5, ou dans le cadre plus général de la poromécanique, où la loi de comportement du matériau considéré n'est pas linéaire (MacMinn *et al.*, 2016).

Dans le cas où le forçage consiste en un écoulement fluide, la dissipation d'énergie est localisée dans la partie la plus proche du pore. Dans cette zone, relativement peu de réarrangements ont été mesurés - lorsque la longueur du bouchon est bien contrôlée - comparée au reste du bouchon. De même, des expériences complémentaires ont montré que cette partie est celle où la densité en cellule est la plus importante - ce qui explique sûrement pourquoi relativement peu de réarrangements sont observés. En effet, comme les réarrangements consistent en des restructurations du milieu poreux, la probabilité d'occurrence de ces réarrangements devrait dépendre de la place disponible pour réaliser lesdits réarrangements.

D'un autre côté, une expérience obtenue avec des hydrogels suggère que l'hystérésis observée est provoquée par un stockage des contraintes mécaniques à l'intérieur du bouchon : alors que le forçage est relaché, les contraintes mécaniques restent grandes à l'intérieur du bouchon. Ces résultats, doivent être confirmés par des expériences complémentaires, pour s'assurer de leur reproductibilité. Mais, remis dans le contexte de l'ensemble des résultats présentés dans ce chapitre, ces résultats suggèrent que lors des hystérésis observées, les contraintes mécaniques sont stockées. Si bien que la dissipation d'énergie se traduit par un blocage du mouvement. En d'autres termes, lorsqu'on applique des contraintes mécaniques au bouchon, il se comprime. Mais lorsqu'on relache ces contraintes, il ne se décomprime pas car son mouvement est bloqué - une observation cohérente avec le fait que lorsque la pression diminue jusqu'à 30 mbar, le bouchon se décomprime presque complètement.

Les expériences réalisées en présence de prolifération ont montré un comportement radicalement différent de celles où un antibiotique l'a stoppée. En particulier, les déplacements observés lors de la décompression (entre 1000 et 400 mbar) étaient plus importants que ceux observés lors de la compression. Si un retour à une pression de 30 mbar avait été imposée, on aurait alors pu tracer la contrainte mécanique appliquée en fonction du déplacement mesuré - pour réaliser les mêmes courbes que sur la figure 3.9, où une hystérésis était visible. Ces courbes auraient sûrement montré que l'hystérésis a changé de sens : de l'énergie a été fournie au système. Cette énergie serait, très vraisemblablement, issue de la prolifération cellulaire.

Ce travail présente certaines limitations, qui pourraient être surmontées grâce à différentes améliorations.

- Il serait intéressant de raffiner la métrique nommée « Réarrangements ». En effet, celle-ci, calculée à partir de la différence entre deux images translatées, peut être vue comme assez peu fine. Une même valeur de R_n (par exemple $R_n = 0.1$) peut être provoquée par deux situations très différentes : (i) une cellule, très contrastée, qui se déplace de manière anarchique dans un endroit localisé de l'image, et (ii) l'ensemble des cellules qui se déplacent de manière non-affine, par exemple qui se déplacent chacune de manière relativement aléatoire.
- Différents essais ont montré que cette métrique pouvait être affectée par une mauvaise détection des déplacements. De même, la quantification de l'incertitude associée à la mesure des déplacements n'a pas été réalisée. L'inspection visuelle de nombreux cas typiques (par exemple ceux décrits sur la figure 3.15) fournit une bonne confiance quant à la précision et à la robustesse de la méthode mise en place. Cependant, déterminer de manière quantitative l'erreur de mesure permettrait d'améliorer la fiabilité des résultats présentés dans cette partie, et de fournir un critère objectif pour déterminer si certains réarrangements élevés sont dûs à une mauvaise détection du déplacement.
- Comme discuté rapidement dans le chapitre 1, le lien entre densité cellulaire et porosité locale n'est pas évident à réaliser. En effet, les cellules sont polydisperses, si bien que le calcul de la

porosité depuis les données de densité est entâché d'une erreur importante. Ainsi, une même valeur de densité locale peut correspondre à deux situations distinctes : des cellules de petite taille qui ne sont pas du tout comprimées, et des cellules de grande taille très comprimées, si bien que l'espace interstitiel est très restreint. Une piste d'amélioration serait de changer de méthode de mesure et d'utiliser des cellules qui présentent un cytoplasme fluorescent (même si la visualisation de ces cytoplasmes pourrait s'avérer complexe, au vu du confinement imposé des cellules).

— Une autre limitation des résultats présentés ici est que les hydrogels fluorescents ont montré différents niveaux d'intensité, pour différents niveaux de contraintes mécaniques. Ceci dit, il serait intéressant de calibrer ces résultats pour obtenir une estimation des contraintes à l'intérieur de l'agrégat, même si l'intensité de fluorescence des hydrogels a l'air d'avoir changé sur les temps longs.

Pour finir, les résultats présentés dans ce chapitre ouvrent de nouvelles pistes de travail. D'abord, il pourrait être intéressant de mesurer l'impact d'une destruction/reconstruction brutale du bouchon sur son comportement mécanique. Il est probable que, dans ce cas, de plus grands réarrangements soient observés, ce qui pourrait augmenter les déplacements mesurés - au moins pendant la première compression du bouchon. Par ailleurs, la cause de la dissipation d'énergie observée lors des cycles de compression/décompression n'est pas identifiée à ce stade. Il pourrait être intéressant de discriminer si l'hystérésis observée est provoquée par la nature granulaire du milieu, et donc les réarrangements qui y ont lieu, comme le suggèrent Hewitt *et al.* (2016); Lüken *et al.* (2021b) et MacMinn *et al.* (2015) ou par les interactions frictionnelles entre les particules et les parois du dispositif, comme le suggèrent différentes contributions, encore non publiées sous forme d'article à ce jour (voir par exemple Lutz (2021)). Ce point sera donc abordé en détail dans le chapitre suivant. Ensuite, il serait intéressant de pouvoir relier les propriétés rhéologiques de l'agrégat cellulaire aux propriétés mécaniques des cellules individuelles, ce qui est l'objectif du chapitre 5.

Chapter 4

Frictional poromechanics of a yeast clog

Contents

4.1 Introduction, state of the art, and objectives of this study 115
4.1.1 Friction of dry granular media against confining walls 115
4.1.2 Friction between a deformable porous medium and a confining geometry 116
4.1.3 Objectives of this chapter 118
4.2 Modelling 118
4.2.1 Preamble: main simplifications, system of coordinates 118
4.2.2 Basic equations 120
4.2.3 Influence of tangential forces 121
4.2.4 Friction modelling 121
4.2.5 Boundary conditions, initial values 122
4.3 Resolution of the equations 123
4.3.1 Analytical solution during the compression 123
4.3.2 Numerical resolution 126
4.3.3 Validation of the numerical resolution: comparison with analytical solution . . 129
4.4 Results and Discussion 133
4.4.1 Calibration of the model 133
4.4.2 Comparison with experiments: fluid-driven compression 135
4.4.3 Comparison with experiments: piston compression 138
4.5 Conclusion and perspectives 139

Symbols of Chapter 4

Symbole	Unit	Description
$\boldsymbol{\varepsilon}, \varepsilon_{ij}$	-	Strain tensor, (i,j) element of the strain tensor
β	-	Dimensionless numb. representing the importance of friction, neglecting ℓ
$\boldsymbol{C}, C_{ijkl}$	Pa	Forth order stiffness tensor, and the (i,j,k,l) element of the stiffness tensor
η	Pa.s	Dynamic viscosity of the fluid phase
$\overrightarrow{e_x}, \overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z}$	-	Unit vectors defining the direction of the coordinates (see 4.4)
γ	-	Dimensionless number representing the importance of friction
H	m	Height of the experimental device
k	m^2	Permeability
k_0	m^2	Average permeability of the medium
λ	Pa	Lamé's first parameter
K	-	Janssen parameter
ℓ	m	Displacement of the top of the porous medium
L	m	Length of the porous medium
μ	-	Coefficient of friction
$\mathcal{M}$	Pa	Oedometric modulus of the solid matrix
ϕ	-	Porosity - liquid volume fraction
ϕ_0	-	Porosity at rest (zero stress)
P	Pa	Hydrodynamic pressure in the fluid phase
$\Delta P^\star$	Pa	Applied hydrodynamic pressure
q	$\mathrm{m.s}^{-1}$	Total flow rate through the porous medium
$\boldsymbol{\sigma}$	Pa	Total stress tensor
$\boldsymbol{\sigma'}, \sigma'_{ij}$	Pa	Effective stress tensor, (i,j) element of the stress tensor
$\sigma'^\star$	Pa	Applied mechanical stress on the solid phase
σ'_F	Pa	Tangential stress applied by one of the walls on the elastic medium
t	s	Time
T_{pe}	s	Poroelastic time scale
$\overrightarrow{u_s}$	m	Displacement of the solid matrix
$u_s^{\mathrm{exp}}, u_s^{\mathrm{th}}$	m	Experimental and theoretical solid displacement
$\overrightarrow{v_f}$	$\mathrm{m.s}^{-1}$	Intrinsic fluid velocity
$\overrightarrow{v_s}$	$\mathrm{m.s}^{-1}$	Intrinsic solid velocity
W	m	Width of the experimental device
x, y, z	m	Coordinate along the $\overrightarrow{e_x}, \overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z}$ direction (see figure 4.4)

Avant propos : Collaboration avec le Poromechanics Lab, de Christopher MacMinn

Les résultats de ce chapitre ont grandement bénéficié d'une collaboration avec le Poromechanics Lab, l'équipe de Christopher MacMinn, de l'Université d'Oxford. Au sein de cette équipe, des outils de résolution numérique préexistaient à notre collaboration pour résoudre les équations de la poroméca-nique. J'ai pu m'inspirer de ces outils pour réaliser le travail présenté dans ce chapitre. De plus, j'ai eu la chance de travailler avec Callum Cuttle, qui a mis en place des expériences à des échelles spatiales supérieures à celles présentées dans le chapitre 3, en utilisant des hydrogels millimétriques plutôt que des levures. Callum a également développé une modélisation analogue à la mienne, en adaptant les outils existants quand je décidais de développer mon propre code de résolution numérique, et il a obtenu des résultats similaires à ceux présentés dans ce chapitre, ce qui a conforté l'approche que j'ai utilisée. J'ai également pu bénéficier de l'aide de Liam Morrow, dont les connaissances m'ont aidé à mettre en place les outils de simulation présentés ici. Enfin, Christopher MacMinn a encadré ce travail pendant et après une visite de 2 mois que j'ai réalisée à l'Université d'Oxford. Sa disponibilité, ses conseils et sa bienveillance m'ont grandement aidé dans la réalisation de ce travail. Afin de faciliter la poursuite de cette collaboration, ce chapitre a été rédigé en anglais.

4.1 Introduction, state of the art, and objectives of this study

Chapters 2 and 3 have revealed hysteresis between relative displacements and hydraulic resistance and suggest that friction may play a crucial role in these phenomena. However, the existing literature on the subject is limited and fragmented, and few studies have directly investigated the effects of friction on confined porous media. Therefore, in the following, we propose a short reminder of the state of the art, focusing on the mechanical behaviour of a confined deformable porous medium in the presence of friction. First, we will detail articles related to dry granular assemblies in confining geometries. This will be followed by a presentation of the litterature supporting the hypothesis that friction may alter the mechanical behaviour of confined porous medium.

4.1.1 Friction of dry granular media against confining walls

The literature on dry granular media reports that particle-particle and particle-wall friction have major consequences on the mechanical behaviour of the packing. One of the most classical results is known as the Janssen effect. This effect states that for a long granular column, the friction redirects the weight of the particles towards the walls of the column. Therefore, the weight measured at the bottom of the column is much smaller than the total weight of the particles.

Boutreux *et al.* (1997) refined the seminal work of Janssen and modelled the dynamical propagation of a compressive step applied on the top of a dry granular column. Through continuum modelling, they showed that the compressive front was exponentially dampened, with a typical length scale of $R/(2\mu K)$ where R is the radius of their cylinder, μ the Coulomb coefficient, and K a constant (we introduce these quantities in detail in section 4.2.4).

Ovarlez et Clément (2005) represented a granular medium as a continuous elastic medium and refined the Janssen effect description to take potential 2D effects into account. Their modelling was equivalent to the Janssen predictions when such 2D processes were absent. However, they focused on the compaction of the granular column, and they did not study the behaviour of the medium when it was solicited by compression/decompression cycles.

Finally, He *et al.* (2018) carried out a numerical study of the mechanical behaviour of the compaction of a granular medium confined in a cylinder and compressed by a rigid piston. The authors based their results on the discrete modelling of particles. They implemented friction both between particles and between particles and the walls in their numerical device. Their results, illustrated in figure 4.1, showed an irreversible compaction of the medium. This result is qualitatively very similar to our results in chapter 3 with an impermeable piston. Besides, the authors mention two regimes for the mechanical behaviour of the assembly: rearrangements explain a significant part of the deformation

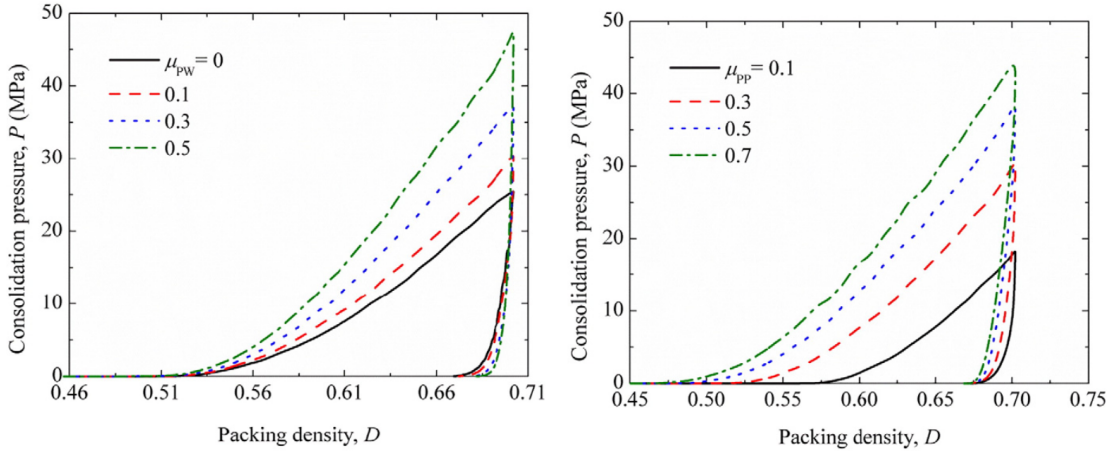

FIGURE 4.1 – Evolution of compaction pressure as a function of packing density for (a) various friction coefficients between the particles and the walls μ_{PW}, with a fixed friction coefficient between particles ($\mu_{PP} = 0.3$) ; and (b) various μ_{PP} with a fixed $\mu_{PW} = 0.1$, during the simulation of the compaction of a powder. Figure reproduced from He *et al.* (2018).

of the medium when the stress is low, while it is controlled by particle deformation at high stress. In this context, their results showed that the particle-wall friction had a minimum effect on the initial particle rearrangement stage and mainly affected the particle deformation stage. On the contrary, inter-particle friction reduced the particle rearrangement in the initial stage but had no significant effect on the deformation stage.

4.1.2 Friction between a deformable porous medium and a confining geometry

Lutz (2021) conducted a diligent and comprehensive bibliographic review concerning the complex interplay between friction and poroelasticity. In particular, the first four studies mentioned in the following (Beavers *et al.*, 1975; Parker *et al.*, 1987; Lanir *et al.*, 1990; Hewitt *et al.*, 2016) have also been analysed in detail by Lutz (2021), where the interested reader may find additional information, especially concerning the modelling of permeability, that we do not describe in this chapter.

The studies of Beavers *et al.* (1975) and Parker *et al.* (1987) report the earliest studies of the compression of soft sponges under the influence of uniaxial flow. Beavers *et al.* (1975) document an experiment where a polyurethane sponge is confined in a square geometry and compressed by a fluid flow (or a permeable piston). They model their experimental results by neglecting the friction of the foam with the device. In the discussion, they mention that friction could significantly affect their theoretical predictions and explain why they hardly find a good agreement with experimental data. Still, they did not measure nor model this friction. Parker *et al.* (1987) conducted a series of experiments closely mirroring those undertaken by Beavers *et al.* (1975), employing a polyurethane foam analogous to their predecessor's, confining it within a transparent cylindrical vessel. A deliberate design choice in Parker's work involved crafting the foam sample with a slightly diminished width in comparison with the dimensions of the experimental chamber, thus strategically mitigating the influence of wall friction on the compression dynamics. However, as mentioned by Lutz (2021), the fluid could likely flow around the foam faster than through it because they undersized the foam. Therefore, it is unsurprising that Parker *et al.* (1987) cannot simultaneously fit the volume flux and the deformation using a theoretical model that assumes uniaxial flow.

Lanir *et al.* (1990) conducted analogous experiments, with three types of experiments: one to measure the permeability when a given strain is applied, one where the stress-strain relationship was measured with a permeable piston, and one where a liquid flow compressed the sponge. In contrast to the earlier work, the authors used slightly larger pieces of sponges during the permeability-strain experiments to ensure that the liquid did not escape around the edges of the foam and to keep the foam firmly in place, preventing any deformation that might complicate the permeability measurement.

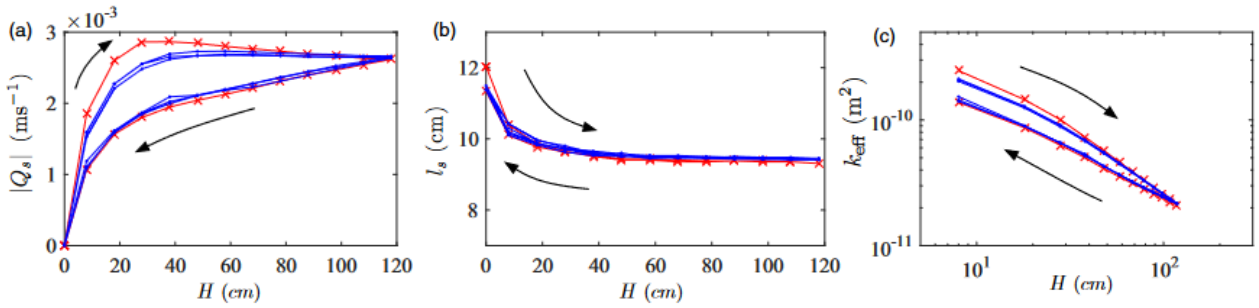

FIGURE 4.2 – Experimental results from Hewitt *et al.* (2016) representing: (a) the flux per unit cross-sectional area (Q_s), (b) the depth (l_s), and (c) the effective permeability (k_{eff}). The first sweep up and down is shown in red with crosses. Arrows show the direction of increasing and decreasing H. After the first sweep, the flux and effective permeability measurements collapse onto reproducible hysteresis loops.

However, for both the stress-strain measurements and flow compression experiments, the authors work with an undersized foam because the strain measurements would have been affected by the friction with the walls of the container. The authors acknowledge that smaller foam samples made their flow measurements less accurate. They also recognise that finding the ideal foam size - that does not touch the walls but stops fluid from flowing between the foam and the device's borders - is practically impossible. Due to these limitations, they focused on modelling the steady-state strain measurements in the flow compaction experiments. The authors use an analytic model based on the same ingredients as Parker *et al.* (1987) and Beavers *et al.* (1975): incompressibility of both the solid and fluid phases, Darcy's law, and force balance between the pressure and strain gradients at steady state. This results in the successful replication of strain profiles, at least when the viscosity of the liquid (a glycerol solution) is sufficiently high.

More recently, Hewitt *et al.* (2016) conducted experiments on an assembly of hydrogel beads stressed by a permeable piston or a fluid flow. As previously, the authors built a model to explain their experimental results, assuming incompressibility of the two phases, a local Darcy's law, and stress balance between the solid and fluid phases. The predictions agree with the compressive phase of their experiments (when the applied pressure head is sequentially increased). However, the authors report a hysteresis that appears during the decompression phase. That hysteresis was observed in their stress-strain measurements, flow rate, and top boundary displacement (see figure 4.2) and was not predicted by their model. The authors interpreted these discrepancies not as a consequence of friction between the beads and the container walls - probably because hydrogel beads are known to be particularly slippery (Cuccia *et al.*, 2020). Instead, they were attributed to the distinct behaviours exhibited by the packing material when subjected to varying levels of strain, whether increasing or decreasing, probably provoked by rearrangements among the beads, leading to plastic deformations. This statement agreed with previous studies, where rearrangements were observed in hydrogel packings (MacMinn *et al.*, 2015).

Lutz (2021) has also reported the appearance of such hysteresis. The author conducted experiments with a latex foam inserted into a cylindrical pipe. The foam is carefully cut to the size of the cylinder when at rest. The authors then conducted various compression/decompression experiments with a fluid or piston. The authors then highlighted an hysteresis when they plot the relative displacement as a function of the pressure. This is explained not by rearrangements within the material (as the foam does not allow such rearrangements) but by friction between the foam and the device's wall. Lutz (2021) then set up discrete modelling of his medium, which considers this friction and reproduces the hysteresis observed in displacement. However, Lutz (2021) tried to implement them as a body force in a continuum model. Still, this exercise was inconclusive, as the friction magnitude depends on the local stress, which complexifies the continuum modelling (with a body force). Therefore, no literature exists about the interplay of friction, fluid flow and deformable porous medium from a continuum mechanics approach. Lu *et al.* (1998) was the only article we found that modelled friction

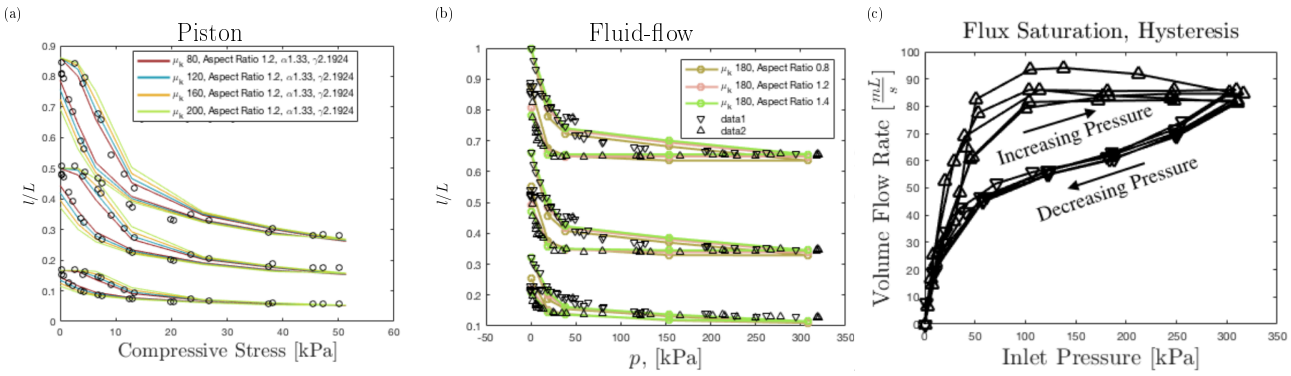

FIGURE 4.3 – Results from Lutz (2021) representing the relative displacement of 3 distinct layers during (a) piston-driven compression, (b) fluid-driven compression, together with measurements of the flow rate as a function of the applied pressure (c). Their modelling results are presented on graphs (a) and (b) with colour lines.

in a continuum framework. However, their study aimed to correct predictions made during filtration experiments. They found that one can make up to 10% of error in the filtration performance by neglecting friction. Still, they did not report on fundamental changes in the mechanical behaviour of the clog in the presence of friction, nor any hysteresis curves.

4.1.3 Objectives of this chapter

In summary, the friction between a deformable porous medium and the confining walls can significantly impact its mechanical behaviour. However, the coupling between (i) deformation of the solid matrix, (ii) fluid flow, and (iii) friction between the solid matrix and the confining walls still needs to be documented. Indeed, the studies carried out on dry granular media have focused on points (i) and (iii), neglecting the impact of a fluid flow, while the studies focusing on porous media have mainly described the coupling between points (i) and (ii), but have neglected the impact of friction.

4.2 Modelling

4.2.1 Preamble: main simplifications, system of coordinates

Linear poroelasticity

This chapter aims to highlight the interplay of friction and poromechanics so that few subtleties of large deformation poromechanics will be neglected and left for future work. Therefore, the framework of linear poroelasticity will be adopted. This framework is based on the assumption that the deformations of the solid matrix are small. In detail, if one slice of the clog located at position y experiences a typical displacement of u_s, then the characteristic scale of the strain is of $\varepsilon \approx u_s/y$. We will assume that $\varepsilon \ll 1$. In particular, the mechanical behaviour of the solid matrix is derived by neglecting all terms of orders ε^2 and higher. Under this assumption, we recall that the strain can be related to the solid displacement (see chapter 1):

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \frac{1}{2}(\boldsymbol{\nabla} \cdot \overrightarrow{u_s} + \boldsymbol{\nabla} \cdot \overrightarrow{u_s}^T). \tag{4.1}$$

The (yy) component of the strain tensor can be expressed directly from the porosity of the medium (Lutz, 2021; MacMinn *et al.*, 2016):

$$\varepsilon_{yy} = \frac{\phi - \phi_0}{1 - \phi_0}. \tag{4.2}$$

The stress-strain relationship then also follows a linear relationship:

$$\boldsymbol{\sigma'} = \boldsymbol{C} : \boldsymbol{\varepsilon}\,, \tag{4.3}$$

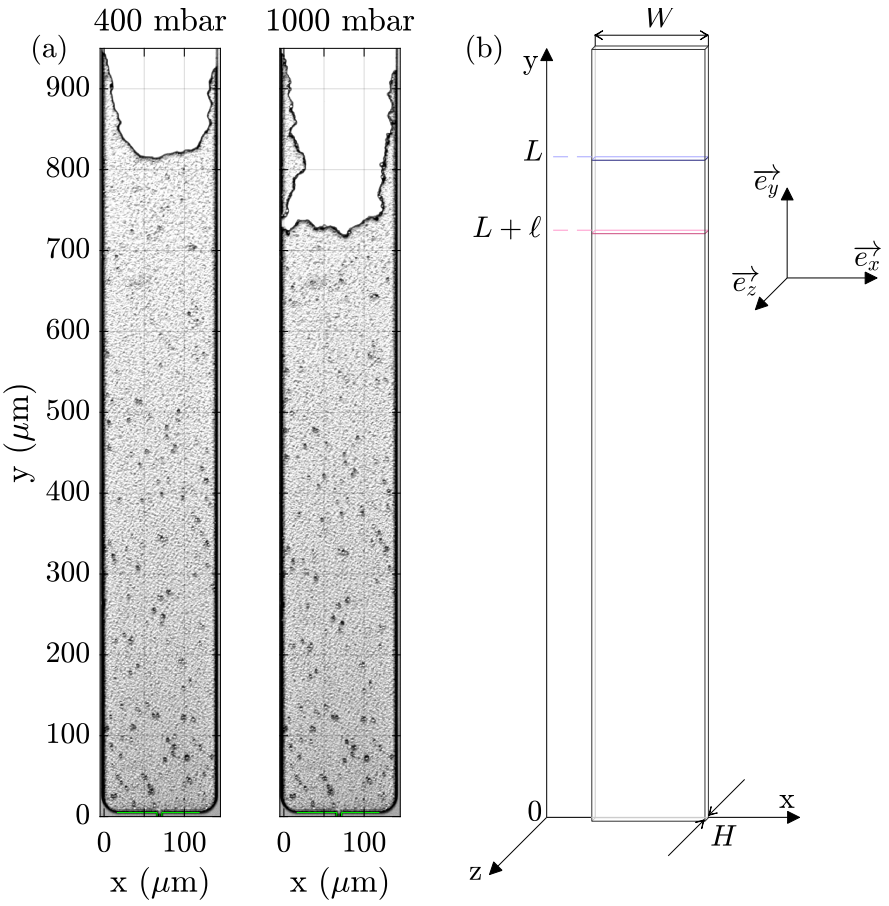

FIGURE 4.4 – (a) Reminder of an experimental image, where an air bubble (white) compresses a yeast clog (grey) that is retained by a constriction (green lines). Two images are shown at $\Delta P = 400$ mbar (left) and $\Delta P = 1000$ mbar (right). The precise experimental protocol is detailed in chapter 3. (b) Schematic representation of the experimental device, in oblique projection. The device is particularly confined and has a width of $W = 140\,\mu$m, and a height of $H = 6\,\mu$m. The reference position of a clog is represented by L (blue), and ℓ represents the deformation of the top boundary when this clog is compressed (whose value is negative, due to the conventions used). The device's walls retain the yeast clog at the bottom of the image ($y = 0$).

with $\boldsymbol{C}$ the stiffness tensor [1], and ":" represents the doubly contracted tensorial product, that may also be written with the Einstein notation: $\sigma'_{ij} = C_{ijkl}\,\varepsilon_{kl}$, with C_{ijkl} the elements of $\boldsymbol{C}$.

At this level of approximation, the variations of permeability are also neglected. Therefore, the permeability is assumed to be uniform in the porous medium and constant throughout any compression/decompression imposed on the medium.

Geometry

The experimental device is very confined: the width of the device (W) is 23 times larger than its height (H). At the same time, movements are mainly observed in the $\overrightarrow{e_y}$ direction (see figure 4.4 for an illustration). Therefore, in the following, we will represent this system as a 2D medium of infinite width but finite length and height. In particular, all quantities are supposed to be constant over the $\overrightarrow{e_x}$ direction. In addition, because of the confinement, the intrinsic velocity of the fluid and solid ($\overrightarrow{v_f}$ and $\overrightarrow{v_s}$) are assumed to be null in the $\overrightarrow{e_x}$ and $\overrightarrow{e_z}$ directions. Therefore, $\overrightarrow{v_f} = v_f\overrightarrow{e_y}$ and $\overrightarrow{v_s} = v_s\overrightarrow{e_y}$, so that in the following we may refer to these quantities as v_f and v_s.

1. This tensor is a forth order tensor. It represents a linear relationship between the stiffness tensor (a second order tensor) and the stress tensor (a second order tensor).

4.2.2 Basic equations

This section gives a quick reminder of the basic equations used in the following. These equations have already been detailed in chapter 1, so the reader is invited to refer to this chapter for more details.

The medium has a liquid phase that can flow through a permeable porous solid medium. Both phases are confined between two infinite walls. Because of this, the volume fraction of the liquid phase is ϕ, while the volume fraction of the solid medium is equal to $1-\phi$. In the interstitial space, the fluid is incompressible (as is often the case with liquids). Therefore, when averaged over one representative element volume, the mass conservation equation (for the liquid phase) gives:

$$\partial_t \phi + \partial_y(\phi v_f) = 0. \tag{4.4}$$

Similarly, the solid phase is also assumed incompressible, so its volume is fixed (one of the assumptions required to apply the Terzaghi stress decomposition). Therefore, the mass conservation equation for the solid phase writes:

$$\partial_t(1-\phi) + \partial_y\left((1-\phi)v_s\right) = 0. \tag{4.5}$$

One can then define the total flux (q) as:

$$q = \phi v_f + (1-\phi)v_s, \tag{4.6}$$

and, because of equations (4.4) and (4.5), q then follows the equation:

$$\partial_y q = 0, \tag{4.7}$$

which means that the total flux is constant in the medium.

As detailed in chapter 1, the fluid flow follows the Darcy equation, projected along the $\overrightarrow{e_y}$ direction:

$$\phi \times (v_f - v_s) = -\frac{k}{\eta}\partial_y P, \tag{4.8}$$

where the permeability has been assumed to be constant.

The Terzaghi decomposition of stress at mechanical equilibrium writes, in its general form:

$$\overrightarrow{\nabla} \cdot \boldsymbol{\sigma'} = \overrightarrow{\nabla} P. \tag{4.9}$$

As the solid velocity is equal to $\overrightarrow{v_s} = v_s\overrightarrow{e_y}$, the solid displacement is equal to $\overrightarrow{u_s} = u_s\overrightarrow{e_y}$, so that the strain tensor is equal to, in the $(\overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z})$ plane:

$$\boldsymbol{\varepsilon} = \begin{pmatrix} 0 & 0 & 0 \\ 0 & \partial_y u_s & \frac{1}{2}\partial_z u_s \\ 0 & \frac{1}{2}\partial_z u_s & 0 \end{pmatrix}. \tag{4.10}$$

Besides, because the plane $z = H/2$ is a plane of symmetry, the fourth-order stiffness tensor simplifies (see François *et al.* (1995) for more details). And, because of the form of the strain tensor, the (yy) and (zz) components of the stress tensor still follow:

$$\sigma'_{yy} = \mathcal{M}\varepsilon_{yy}, \quad \sigma'_{zz} = \lambda\varepsilon_{yy}, \tag{4.11}$$

where $\mathcal{M}$ and λ are elements of the stress tensor, while σ_{yy} and σ_{zz} can be seen as compressive stresses in the $\overrightarrow{e_y}$ and $\overrightarrow{e_z}$ direction, respectively. The other components of the stress tensor are no longer null, proportional to ε_{yz}. For example $\sigma'_{yz} = C_{yzyz}\varepsilon_{yz}$, with C_{yzyz} the $(yzyz)$ element of $\boldsymbol{C}$. Precise expressions of these components do not bring valuable information for the remainder of this chapter and are omitted.

4.2.3 Influence of tangential forces

When the top and bottom walls of the device (the walls located in the planes normal to $\overrightarrow{e_z}$) *retain* the yeast clog in its movements, they exert tangential forces in the $\overrightarrow{e_y}$ direction. In that direction, the Terzaghi relationship at mechanical equilibrium (equation 4.9) writes:

$$\partial_x \sigma'_{xy} + \partial_y \sigma'_{yy} + \partial_z \sigma'_{yz} = \partial_y P, \tag{4.12}$$

which is simplified due to the geometrical arguments presented earlier ($\partial_x \sigma'_{xy} = 0$), and then integrated along the z coordinates, from 0 to H:

$$\int_0^H \partial_y \sigma'_{yy} dz + \int_0^H \partial_z \sigma'_{yz} dz = \int_0^H \partial_y P dz. \tag{4.13}$$

This integral is then simplified as follows. First, because $\overrightarrow{v_f}.\overrightarrow{e_z} = \overrightarrow{v_s}.\overrightarrow{e_z} = 0$, the Darcy equation written in the $\overrightarrow{e_z}$ direction implies that: $\partial_z P = 0$, and therefore $\int_0^H \partial_y P dz = H \partial_y P$. Second, because the height of the device is constant over the y coordinate:

$$\int_0^H \partial_y \sigma'_{yy} dz = \partial_y \int_0^H \sigma'_{yy} dz = H \partial_y \langle \sigma'_{yy} \rangle_z, \tag{4.14}$$

with $\langle \sigma'_{yy} \rangle_z$ the vertical average of the σ'_{yy} stress component:

$$\langle \sigma'_{yy} \rangle_z = \frac{1}{H} \int_0^H \sigma'_{yy} dz. \tag{4.15}$$

The equation (4.13) then reduces to:

$$\partial_y \langle \sigma'_{yy} \rangle_z + \frac{1}{H} \left(\sigma'_{yz}\Big|_H - \sigma'_{yz}\Big|_0 \right) = \partial_y P, \tag{4.16}$$

where the term " $\sigma'_{yz}\Big|_H - \sigma'_{yz}\Big|_0$ " represents the stress applied by the wall in the $\overrightarrow{e_y}$ direction. Because the plane located at $z = H/2$ is a symmetry plane for the experimental device, this term is simplified: $\sigma'_{yz}\Big|_H - \sigma'_{yz}\Big|_0 = 2\sigma'_F$, where σ'_F represents the tangential stress applied by one of the walls on the elastic medium. In the following, this term is non-null, representing a major difference with classical linear poroelasticity. Indeed, supposing its magnitude is comparable to the other terms of equation (4.16), it may modify the coupling between the solid stress and the fluid pressure.

Besides, on the one hand, because of the very high confinement of the system, only one or two rows of cells can hold on the vertical direction, which imposes that the movements are nearly uniform over the axis $\overrightarrow{e_z}$. In the following we will therefore simplify the notation $\langle \varepsilon_{yy} \rangle_z = \varepsilon_{yy}$. On the other hand the stress-strain relationship (4.11) implies that $\langle \sigma'_{yy} \rangle_z = \mathcal{M} \langle \varepsilon_{yy} \rangle_z$, and therefore $\langle \sigma'_{yy} \rangle_z = \mathcal{M} \langle \varepsilon_{yy} \rangle_z = \mathcal{M} \varepsilon_{yy} = \sigma'_{yy}$. In the end, equation (4.16) simplifies as:

$$\partial_y \sigma'_{yy} + \frac{2\sigma'_F}{H} = \partial_y P. \tag{4.17}$$

4.2.4 Friction modelling

The simplest way to model these tangential stresses is to follow the Coulomb's law. That law states that friction exerted by a surface over a body opposes the motion of this body and that the magnitude of the friction depends on the normal load: the maximum stress that friction can produce is proportional to the normal load. The proportionality coefficient is called the coefficient of friction. Coulomb's law further postulates this coefficient of friction is independent of the contact surface area and the relative speed of the body vs. the surface. However, it may depend on the movement of the body - a distinction being made between the *static* friction coefficient when the relative speed is null and the dynamic coefficient when the relative velocity is not zero. In the following, we will make no distinction between these two quantities and write the Coulomb's law as:

$$\begin{cases} \sigma'_F = \mathrm{sgn}(v_s) \mu \, \sigma'_{zz} & \iff |v_s| > 0, \\ |\sigma'_F| \leq \mu \, |\sigma'_{zz}| & \iff v_s = 0, \end{cases} \tag{4.18}$$

with μ the coefficient of friction (measured without physical dimension), and $\mathrm{sgn}(v_s)$ the sign of v_s (the velocity of the solid matrix relative to the walls of the device). This law is restricted to situations where the normal load is *pushing* on the wall $\sigma'_{zz} \leq 0$. The case where a tangential force is not null in the presence of *pulling* forces ($\sigma'_{zz} > 0$) corresponds to an adhesive surface and will not be discussed in this study.

Finally, the link between σ_{zz} and σ_{yy} can be made in two ways. The first way is through continuum mechanics. From the material constitutive law (4.11), it follows that $\sigma'_{zz} = \lambda\varepsilon_{yy} = \frac{\lambda}{\mathcal{M}}\sigma'_{yy}$. Alternatively, we can express λ and $\mathcal{M}$ in terms of the Poisson coefficient ν: $\sigma'_{zz} = \frac{\nu}{1-\nu}\sigma'_{yy}$.

The second way is to rely on the literature of granular media, where a classical assumption is that the vertical stress is redirected in the horizontal direction in a given proportion: $\sigma'_{zz} = K\sigma'_{yy}$, with K a constant (with no physical dimension), sometimes referred to as the Janssen parameter, as in Ovarlez et Clément (2005). Here, one may note that K represents the same quantity as $\frac{\nu}{1-\nu}$. Therefore, the previous equation reduces to:

$$\begin{cases} \sigma'_F = \mathrm{sgn}(v_s)\mu K\sigma'_{yy} & \iff |v_s| > 0, \\ |\sigma'_F| \leq \mu K \left|\sigma'_{yy}\right| & \iff v_s = 0. \end{cases} \tag{4.19}$$

In the case where $v_s = 0$, that last equation does not solve the value of σ'_F. It only bounds its magnitude. But, it does tells us that $v_s = 0$.

Besides, the definition of q (4.6) and the Darcy law (4.8), lead to:

$$v_s = q + \frac{k}{\eta}\partial_y P. \tag{4.20}$$

So that the equation "$v_s = 0$" may me re-written, by using the mechanical equlibrium (4.17):

$$\sigma'_F = -\frac{H\eta}{2k}q - \frac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy}. \tag{4.21}$$

And that equation is valid if and only if $|\sigma'_F| \leq \mu K \left|\sigma'_{yy}\right|$. That inequation is itself equivalent to $\left|\frac{H\eta}{2k}q + \frac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy}\right| \leq \mu K \left|\sigma'_{yy}\right|$.

In the end, Coulomb's law can be written as follows:

$$\begin{cases} \sigma'_F = \mathrm{sgn}(v_s)\mu K\sigma'_{yy} & \iff |v_s| > 0, \\ \sigma'_F = -\dfrac{H\eta}{2k}q - \dfrac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy} & \iff \left|\dfrac{H\eta}{2k}q + \dfrac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy}\right| \leq \mu K \left|\sigma'_{yy}\right|. \end{cases} \tag{4.22}$$

This last pair of equations provides the necessary information to solve the system of equations we have presented (in other words, this system is closed). Because many intermediate equations were detailed here, we provide a recap of the equations to be solved in table 4.1. This shows that these equations form a system of seven independent equations and seven unknown variables (see table 4.1 for the precise list of equations/unknowns).

4.2.5 Boundary conditions, initial values

The system presented in table 4.1 shows several partial derivative equations, some of them including spatial derivatives. Therefore, we need to define boundary conditions to solve this system. Two typical problems are studied, following the experimental results of chapter 3: a fluid-driven compression and a compression driven by an impermeable piston.

In fluid-driven compression, the top boundary is free of movement, so the mechanical stress is null here, while the fluid pressure is equal to the imposed operating pressure $\Delta P^\star$. Besides, the solid displacement and the fluid pressure are null on the bottom boundary. Put in equations, this writes:

$$\begin{cases} \sigma'_{yy}\Big|_{L+\ell} = 0, & \text{and } P|_{L+\ell} = \Delta P^\star \\ u_s|_0 = 0, & \text{and } P|_0 = 0. \end{cases} \tag{4.23}$$

Name	Equation	Eqn. nb.
Mass conserv. (fluid)	$\partial_t \phi + \partial_y(\phi v_f) = 0$	4.4
Definition of q	$q = \phi v_f + (1-\phi) v_s$	4.6
Mass conserv. (solid)	$\partial_y q = 0$	4.7
Darcy	$\phi \times (v_f - v_s) = -\dfrac{k}{\eta}\partial_y P$	4.8
Solid constit. law	$\sigma'_{yy} = \mathcal{M}\dfrac{\phi - \phi_0}{1-\phi_0}$	4.11, 4.2
Mechanical equil.	$\partial_y \sigma'_{yy} + \dfrac{2\sigma'_F}{H} = \partial_y P$	4.17
Coulomb's law	$\begin{cases} \sigma'_F = \mathrm{sgn}(v_s)\mu K \sigma'_{yy} & \iff \lvert v_s\rvert > 0 \\ \sigma'_F = -\dfrac{H\eta}{2k}q - \dfrac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy} & \iff \left\lvert \dfrac{H\eta}{2k}q + \dfrac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy}\right\rvert \leq \mu K \left\lvert \sigma'_{yy}\right\rvert \end{cases}$	4.22

TABLE 4.1 – Summary of the system of equations dictating the movement of the medium. Each independent equation is displayed (middle column) with its number for easier reference in text (right column) and a short name (left). The system comprises 7 independent equations, with 7 unknown variables: $\phi, v_f, q, v_s, P, \sigma'_{yy}$ and σ'_F. The other quantities, k, η, $\mathcal{M}$, ϕ_0, H, μ and K are constant parameters, assumed to be known when the system is solved.

where $P|_{L+\ell}$ represents P evaluated at the top boundary ($y = L + \ell$, with L the length of the porous medium, and ℓ the displacement of the top boundary) and $P|_0$ the pressure at the bottom boundary ($y = 0$).

In piston-driven compression, the top boundary is impermeable so that the gradient of fluid pressure is null, while the total stress is equal to the stress in the gas bubble $\Delta P^\star$. Besides, the solid displacement and the fluid pressure are null on the bottom boundary. Put in equations, this writes:

$$\begin{cases} \partial_y P|_{L+\ell} = 0, & \text{and } \left.(\sigma'_{yy} - P)\right|_{L+\ell} = \Delta P^\star, \\ P|_0 = 0, & \text{and } u_s|_0 = 0. \end{cases} \tag{4.24}$$

Finally, the system in table 4.1 comprises one time derivative (of the porosity field). Therefore, the initial value of porosity needs to be defined. In this study, this initial value is chosen to be equal to the resting porosity ϕ_0.

4.3 Resolution of the equations

4.3.1 Analytical solution during the compression

Main assumptions

The model presented in section 4.2 cannot be solved analytically in the general case. Indeed, the analytical expression of σ'_F depends on the sign of v_s and also changes if the following inequality is respected or not:

$$\left\lvert \frac{H\eta}{2k}q + \frac{H}{2}\partial_y\sigma'_{yy}\right\rvert \leq \mu K \left\lvert \sigma'_{yy}\right\rvert.$$

Therefore, the expression of σ'_F may change in time, but also in space ; for example, if one or several parts of the clog moves with $v_s > 0$ while the remaining is moving in the opposite direction $v_s < 0$, or if the friction holds back one or more parts of the clog and not the rest.

However, the model is solvable by assuming that the sign of v_s is constant in time and space (for example, directed along $-\overrightarrow{e_y}$) and that the magnitude of friction stress is always equal to its maximum value. Put in equations, these two assumptions become:

$$\begin{cases} \overrightarrow{v_s} \cdot \overrightarrow{e_y} \leq 0, \\ \lvert\sigma'_F\rvert = \mu K \left\lvert \sigma'_{yy}\right\rvert. \end{cases} \tag{4.25}$$

These assumptions hold as long as the movements are directed in the same sense, which implies that the friction is fully mobilised (meaning that $|\sigma'_F| = \mu K \left|\sigma'_{yy}\right|$). This is valid, for example, when the medium is compressed from an uncompressed reference state. The compression also needs to be pursued always in the same manner (for example, by increasing the magnitude of $\Delta P^\star$ or $\sigma'^\star$). In that case, the equation (4.22) becomes:

$$\partial_y P = \partial_y \sigma'_{yy} - 2\frac{\mu K}{H}\sigma'_{yy}. \tag{4.26}$$

Finally, one needs to assume that the system moves very slowly. In other words, the fluid has enough time to flow through the medium at every instant: $\partial_t \phi \approx 0$.

These assumptions allow the complete solving of the problem. However, some analytical expressions are still computational, so in the following, further simplifications will be made (however, these simplifications are not "mathematically" required ; one could still solve the problem without them, the expressions of the equations being less straightforward).

Simplifications

The value of $\partial_y P$ depends on the fluid movements. Therefore, to compute this term, the medium will be assumed to move very slowly so that the solid velocity is negligible when compared to the fluid velocity in the Darcy equation (4.8) and in the definition of the total flux (4.6). In that case, these two equations give:

$$\partial_y P = -\frac{q\eta}{k}. \tag{4.27}$$

And, because the permeability is constant, the mass conservation of the fluid phase (4.4) gives:

$$\partial_y \left(\frac{q\eta}{k}\right) = 0. \tag{4.28}$$

Therefore, this term is constant over the y coordinate, and the equation (4.26) can be solved as a differential equation on σ'_{yy} and its spatial derivative along the y coordinate.

Besides, we do not simplify $L + \ell \approx L$ in the following. This choice is dictated by the comparison of the numerical model and the analytical solution we conduct later (see section 4.3.3) because this numerical model does not assume that $L \approx L + \ell$.

Finally, we define a dimensionless number:

$$\gamma = \frac{2\mu K(L+\ell)}{H}. \tag{4.29}$$

That allows us to shorten the analytical expressions provided bellow. The physical meaning of this number is discussed in section 4.3.2.

Piston driven compression

Conceptually, the simplest case is when a piston forces the porous medium very slowly. In that case, our assumptions imply that the fluid has time to exit the porous medium so that the fluid pressure is null everywhere, and the equation (4.26) reduces to:

$$0 = \partial_y \sigma'_{yy} - 2\frac{\mu K}{H}\sigma'_{yy}. \tag{4.30}$$

In that case, as the solid stress at the top is equal to $\sigma'^\star$, the solution of this equation is

$$\frac{\sigma'_{yy}}{\mathcal{M}} = \frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}} \exp\left(\gamma\left(\frac{y}{L+\ell} - 1\right)\right), \tag{4.31}$$

where the dimensionless number γ has been used to simplify the notations (see equation 4.29 for its definition), and where the stress has been normalised by the oedometric modulus.

The displacement field is then obtained by integrating the strain, directly computed from the stress-strain relationship (4.11), over the y coordinate:

$$\frac{u_s}{L+\ell} = \frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}\gamma}\left[\exp\left(\gamma\left(\frac{y}{L+\ell}-1\right)\right)-\exp(-\gamma)\right]. \tag{4.32}$$

These equations show that the γ number and $\sigma'^\star/\mathcal{M}$ are essential quantities to describe the frictional poroelasticity of a medium.

Finally, the value of ℓ can be found by stating that $\ell = u_s|_{L+\ell}$. In that case, equation (4.32) implies:

$$\ell = \frac{\sigma'^\star(L+\ell)}{\mathcal{M}\gamma}\left(1-e^{-\gamma}\right) = \frac{\sigma'^\star H}{\mathcal{M}2\mu K}\left(1-\exp\left(-\frac{2\mu K(L+\ell)}{H}\right)\right). \tag{4.33}$$

An equation that can be symbolically solved and whose solution writes:

$$\ell = \frac{H}{2\mu K}\left[\frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}}+\omega\left(\log\left(-\frac{\sigma'^\star H}{\mathcal{M}2\mu K}\right)-\log\left(\frac{H}{2\mu K}\right)-\frac{\sigma'^\star}{\mathcal{M}}-\frac{2\mu K L}{H}\right)\right], \tag{4.34}$$

with ω the Wright omega function.

Because these equations are relatively computational, they are numerically evaluated to grasp their physical meaning better. This is done by fixing arbitrarily $L = 300\,\mu$m, $H = 6\,\mu$m, $K = 1$, $\sigma'^\star/\mathcal{M} = -0.5$ and by varying μ between 0.01 and 0.04 by steps of 0.01. An additional evaluation is performed with $\mu = 10^{-8}$ to assess the behaviour of the equations in the limit of very low friction (reference case).

The results are presented in figure 4.5 (top row), which shows the stress profiles and the relative displacements. When the friction is high, these results show that the stress profile is no longer constant inside the medium, as it is maximum at $y/(L+\ell) = 1$ and exponentially decreasing towards 0 when $y/(L+\ell)$ decreases: the friction has dissipated the mechanical energy that was provided on the top of the medium, and the bottom is almost uncompressed.

Fluid driven compression

The boundary conditions associated with a fluid-driven compression are applied: the difference of hydrodynamic pressure experienced by the medium $\Delta P^\star$ is imposed, while the effective stress at the top is zero. In that case, the equation (4.26) may be re-written, by replacing $\partial_y P = \Delta P^\star/(L+\ell)$, and using the previous definition of γ (see equation 4.29):

$$\Delta P^\star = (L+\ell)\partial_y \sigma'_{yy} - \gamma\sigma'_{yy}. \tag{4.35}$$

With the boundary condition: $\sigma'_{yy}\Big|_{L+\ell} = 0$, the solution of this equation is:

$$\sigma'_{yy} = \frac{\Delta P^\star}{\gamma}\left[\exp\left(\gamma\left(\frac{y}{L+\ell}-1\right)\right)-1\right]. \tag{4.36}$$

The displacement field is obtained by integrating the strain, directly computed from the stress-strain relationship (4.11), over the y coordinate:

$$\frac{u_s}{L+\ell} = \frac{\Delta P^\star}{\mathcal{M}\gamma^2}\left[\exp\left(\gamma\left(\frac{y}{L+\ell}-1\right)\right)-\exp(-\gamma)\right]-\frac{\Delta P^\star}{\mathcal{M}\gamma}\frac{y}{L+\ell}. \tag{4.37}$$

The value of ℓ is then numerically solved by finding the solution of the equation (4.37) at $y = L+\ell$, with $u_s|_{L+\ell} = \ell$.

Finally, these equations are numerically evaluated to illustrate their "physical behaviour" by fixing arbitrarily $L = 300\,\mu$m, $H = 6\,\mu$m, $K = 1$, $\sigma'^\star/\mathcal{M} = -0.1$ and by varying μ between 0.01 and 0.04 by steps of 0.01. An additional evaluation is performed with $\mu = 10^{-8}$ to assess the behaviour of the equations in the limit of very low friction (reference case).

These results are presented in figure 4.5 (bottom row) and show that the friction can also significatively change the profile of the stress inside the porous medium, as it deviates from a linear shape

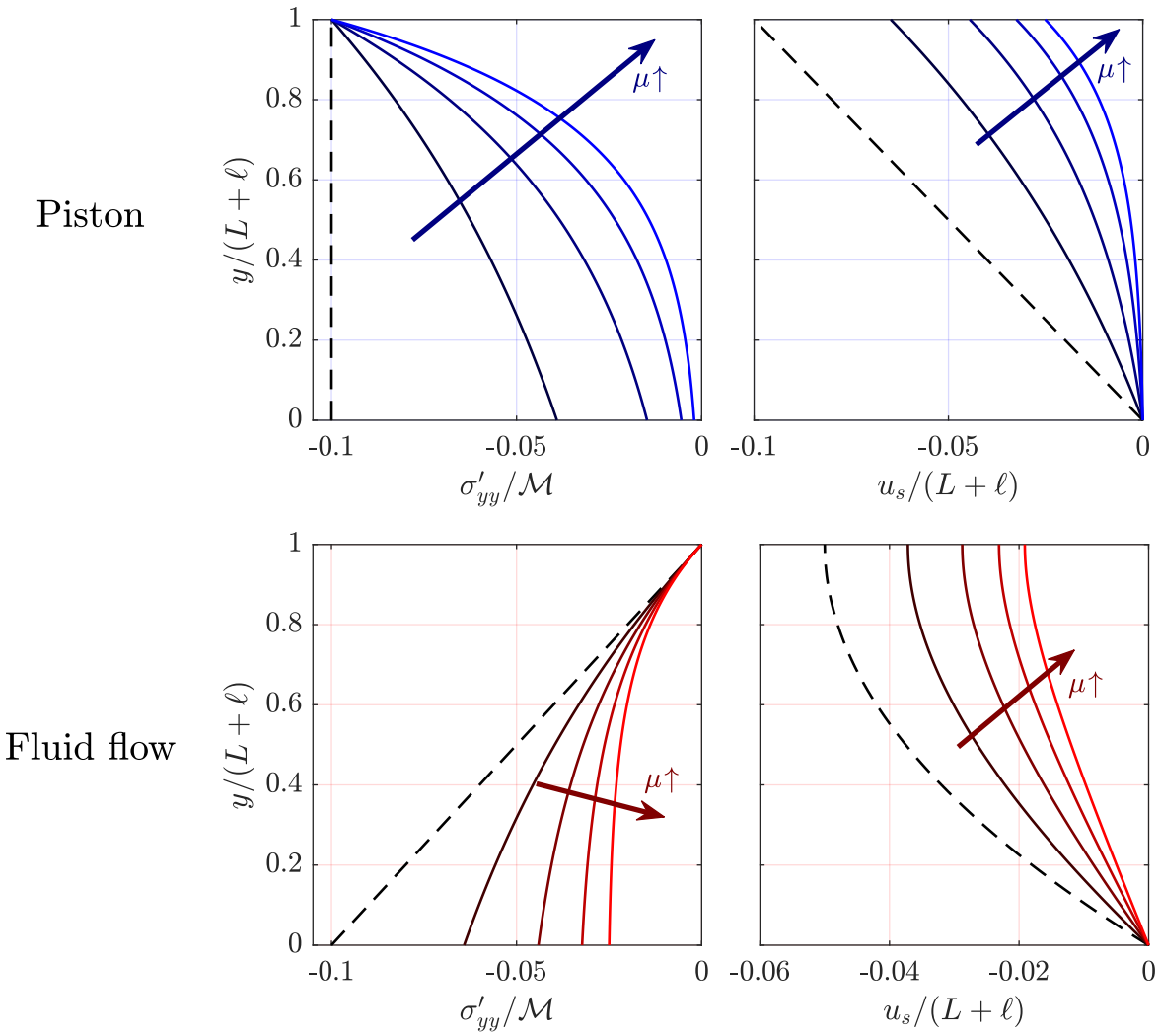

FIGURE 4.5 – Theoretical results from frictional poroelastic theory, representing the local stress (σ'_{yy}) normalised by the oedometric modulus ($\mathcal{M}$) on the left and relative displacements ($u_s/(L+\ell)$) on the right, as a function of relative position ($y/(L+\ell)$). The results correspond to a porous medium that is forced by a piston (top row) or by a fluid flow (bottom row), while the Coulomb coefficient varies from 0.01 to 0.04 (solid curves) or while the friction is negligible (reference case, dotted curve). The imposed stress is fixed at $\sigma'^{\star} = 0.1\mathcal{M}$, and the imposed fluid pressure at $\Delta P^{\star} = 0.1\mathcal{M}$.

(in the absence of friction) to a non-linear profile (at high friction). In the latter case, it gets close to a constant at the bottom of the porous medium (for $y/(L+\ell) < 0.4$) while exponentially increasing towards 0 at the top of the medium. The relative displacement profiles are also affected by the friction, as they deviate from a fully quadratic shape to a quasi-linear profile in the bottom of the porous medium (for $y/(L+\ell) < 0.8$), with still a decrease in the slope at high relative positions (for $y/(L+\ell) > 0.8$). However, the change is less spectacular than in the piston-driven compression, where the behaviour changed from a linear profile to an exponential decay.

4.3.2 Numerical resolution

The system of equations presented in table 4.1 is mathematically closed but revealed to be practically impossible to solve analytically in the general case. Therefore, the numerical resolution of the equations was conducted.

Solving the friction term

The proper expression of σ'_F is derived by testing - everywhere in the medium and at every time step - if the following inequality is verified:

$$\left| q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} \right| \leq \frac{2k\mu K}{H\eta} \left| \sigma'_{yy} \right|. \tag{4.38}$$

If that condition is true, then:

$$\sigma'_F = -\frac{H\eta}{2k} q - \frac{H}{2}\partial_y \sigma'_{yy}, \tag{4.39}$$

and

$$v_s = 0, \tag{4.40}$$

else, equation 4.22 implies that:

$$|\sigma'_F| = \mu K \left| \sigma'_{yy} \right|, \tag{4.41}$$

and therefore, equations (4.20) and (4.17) state that:

$$\mathrm{sgn}(v_s) = \mathrm{sgn}\left(q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} + \frac{2k\mu K}{H\eta}\sigma'_{yy} \right) = \mathrm{sgn}\left(q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} \right), \tag{4.42}$$

and, because the negation of equation (4.38) is verified:

$$\mathrm{sgn}(v_s) = \mathrm{sgn}\left(q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} \right). \tag{4.43}$$

In the end:

$$\sigma'_F = \mathrm{sgn}\left(q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} \right) \mu K \sigma'_{yy}, \tag{4.44}$$

and

$$v_s = q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy} + \mathrm{sgn}(q + \frac{k}{\eta}\partial_y \sigma'_{yy}) \frac{2k}{\eta H} \mu K \sigma'_{yy}. \tag{4.45}$$

Scaling

As stated by MacMinn *et al.* (2016), the set of equations presented in table 4.1 suggests that, in the absence of friction, the problem can be scaled as follows:

$$\tilde{y} = \frac{y}{L}, \quad \tilde{t} = \frac{t}{T_{pe}}, \quad \tilde{P} = \frac{P}{\mathcal{M}}, \quad \tilde{\sigma}'_{\tilde{y}\tilde{y}} = \frac{\sigma'_{yy}}{\mathcal{M}}, \quad \tilde{u_s} = \frac{u_s}{L}, \quad \tilde{k} = \frac{k}{k_0}, \tag{4.46}$$

where k_0 represents the average permeability of the medium, and T_{pe} represents the poroelastic time scale, established in the absence of friction as $T_{pe} = \frac{L^2\eta}{k_0 \mathcal{M}}$ (MacMinn *et al.*, 2016).

Apart from these classic scalings, Coulomb's law suggests the natural scaling for the frictional stress:

$$\tilde{\sigma}'_F = \frac{\sigma'_F}{\mu K \mathcal{M}}. \tag{4.47}$$

If this scaling is adopted, the mechanical equilibrium equation (4.17) indicates that:

$$\partial_{\tilde{y}} \tilde{\sigma}'_{\tilde{y}\tilde{y}} + \frac{2\mu K L}{H} \tilde{\sigma}'_F = \partial_{\tilde{y}} \tilde{P}, \tag{4.48}$$

which makes a dimensionless number appearing:

$$\beta = \frac{2\mu K L}{H}. \tag{4.49}$$

That number is close to γ, where we did not simplify $L + \ell \approx L$. These numbers represent the importance of friction in the mechanical equilibrium, when compared to the other terms of equation

(4.48). It can also be seen as the magnitude of the decoupling between fluid pressure and solid stress. For $\beta \ll 1$, the fluid pressure and the solid stress are coupled:

$$\partial_{\tilde{y}} \tilde{\sigma}'_{\tilde{y}\tilde{y}} = \partial_{\tilde{y}} \tilde{P}. \tag{4.50}$$

So that any variation of fluid pressure is transmitted to the solid stress. However, for $\beta \gg 1$, the solid stress is not directly linked to the fluid pressure, both quantities depend on σ'_F. Finally, it is noteworthy that this number is proportional to the coefficient of friction (μ), the magnitude of stress redirection (K), and also the aspect ratio of the porous medium (L/H). Therefore, even with a relatively low coefficient of friction, the friction may display significant effects if the aspect ratio of the medium is high.

Large strain - change of the reference frame

Before discretising the system of equations, it is usefull to change the reference frame where the equations are written. Indeed, all the equations written in this manuscript are derived following linear poroelasticity, for sake of simplicity. However, it is interesting to build a numerical tool that may be used later, with a more precise modelling. In that case, as the equations are written in an Eulerian framework, that does not follow the movements of the elastic medium, a precise attention needs to be brought on the boundaries. Besides, thanks to the research carried out by the Poromechanics Lab of Christopher MacMinn, the implementation of this point was made easier.

All the equations written in this chapter are valid inside the whole porous medium ($y \in [0, L+\ell]$). In order to follow the boundaries, the movement is described in a new reference frame defined as:

$$\begin{cases} \xi = \dfrac{y}{L+\ell}, \\ \tau = \dfrac{t}{T_{pe}}. \end{cases} \tag{4.51}$$

The equations are still valid when they are expressed in this frame of reference, for $\xi \in [0,1]$ [2]. Besides, the mathematical expression of the partial derivatives are not the same in this frame and in the reference frame. The time derivatives of ϕ (for example) becomes (for the sake of clarity our notations are temporarily expanded $\partial_t \equiv \frac{\partial}{\partial t}$):

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{\partial \phi}{\partial \tau}\frac{\partial \tau}{\partial t} + \frac{\partial \phi}{\partial \xi}\frac{\partial \xi}{\partial t}. \tag{4.52}$$

And so:

$$\frac{\partial \phi}{\partial t} = \frac{\partial \phi}{\partial \tau} - \frac{\partial \ell}{\partial \tau} \times \frac{\xi}{L+\ell} \times \frac{\partial \phi}{\partial \xi}. \tag{4.53}$$

The same way, its spatial derivative writes:

$$\frac{\partial \phi}{\partial y} = \frac{\partial \phi}{\cancel{\partial \tau}}\frac{\cancel{\partial \tau}}{\partial y} + \frac{\partial \phi}{\partial \xi}\frac{\partial \xi}{\partial y} = \frac{1}{L+\ell}\frac{\partial \phi}{\partial \xi}. \tag{4.54}$$

Therefore, in the numerical code, all the equations written in table 4.1 are written in the (ξ, τ) reference frame, that is attached to the boundary of the solid matrix. This way, the handling of the boundary conditions is facilitated, as these boundaries are always located at $\xi = 0$ and $\xi = 1$.

Discretisation To solve this problem, it is discretised, following the finite differences method. First, the ξ coordinate is discretised on N points (ξ_i with $i \in [1, N]$). By convention we name $\xi_1 = 0$ the bottom of the experimental device, while $\xi_N = 1$ is the top of the clog, and the spatial discretisation is constant ($\xi_{i+1} - \xi_i = 1/N, \forall i \in [1, N]$). All the variables of the problem can then be evaluated on these points (for example the porosity at $\xi = \xi_i$ is $\phi|_{\xi_i}$).

2. Note that even if these equations are valid when expressed in this new reference frame, speeds are *always* calculated *relatively to the original reference frame.*

Away from the boundaries, the spatial derivatives are approximated by a central-difference scheme. For example the spatial derivative of ϕ is approximated by:

$$(\partial_\xi \phi)|_{\xi_i} \approx \frac{\phi|_{\xi_{i+1}} - \phi|_{\xi_{i-1}}}{\xi_{i+1} - \xi_{i-1}}. \tag{4.55}$$

This spatial derivative is precise at the second order, but it cannot be computed at the top (and bottom) boundaries. At these points, the spatial derivatives are computed by a backward difference scheme (at the top) and a forward difference scheme (at the bottom). These difference schemes are precise at the first order, but are practically easy to implement. For example, the forward difference scheme writes:

$$(\partial_\xi \phi)|_{\xi_i} \approx \frac{\phi|_{\xi_{i+1}} - \phi|_{\xi_i}}{\xi_{i+1} - \xi_i}. \tag{4.56}$$

The time is also discretised, in order to solve the equation (4.4) and therefore compute the time evolution of the system. The time derivative is approximated by the forward explicit Euler method:

$$(\partial_\tau \phi)|_{\tau_i} \approx \frac{\phi|_{\tau_{i+1}} - \phi|_{\tau_i}}{\tau_{i+1} - \tau_i}, \tag{4.57}$$

where $\phi|_{\tau_i}$ represents the porosity evaluated at time τ_i, and $\tau_{i+1} - \tau_i = \Delta\tau$ is the time step of the system (here assumed to be constant).

Discussion of the discretisation method The time integration method that has been used is not stable (the numerical solution may diverge from the theoretical solution for large time steps) and not precise (large errors may be produced for large time steps) [3]. In the same way, the spatial discretisation method is only precise at the first order in $\xi_{i+1} - \xi_i$. In this context, preliminary tests, not shown here, have been conducted and revealed that the numerical solution is well resolved when the time step is reduced to a very small value, as compared to the typical time scale of the system ($\Delta t = 5 \times 10^{-6} \times T_{pe}$), and if N is fixed to a relatively high value ($N = 300$). It was, therefore, decided to let the implementation of more sophisticated methods for future work. With that implementation, the solving of a compression/decompression cycle requires ≈ 10 min on a desktop computer, which is very satisfactory.

4.3.3 Validation of the numerical resolution: comparison with analytical solution

Time variations of the boundary conditions

The boundary conditions change over time following compression/decompression steps, illustrated in figure 4.6 to reproduce the experimental conditions. For example, in the case of compression directed by a piston, $\Delta P^\star$ evolves from a state at rest to a state of maximum stress $\Delta P^\star_{\max}$, and back to rest in 6 steps mimicking the experimental protocol. The step length is set to $4T_{pe}$ to let the system reach an equilibrium state.

To validate the method of numerical resolution, the numerical solutions were compared to the analytical solutions presented in section 4.3.1. Therefore, we simulated one cycle of compression / decompression of a yeast clog. Since the analytical solutions are established with a porous medium moving very slowly, the simulations are carried out by imposing compression/decompression steps of very long duration: one step lasts $4 \times T_{pe}$.

Two simulations were carried out for each forcing (piston-driven compression or fluid-driven compression). The details of the parameters used for these simulations are provided in table 4.2. One simulation is realised without friction ($\beta \approx 0$), and one simulation with a high amount of friction ($\mu = 0.05$, $\beta > 5$). The medium length is set equal to 300 μm in the fluid-driven compression, and equal to 450 μm in the piston-driven compression, while the height of the device is set at 6 μm, in order to mimic experimental conditions. For each compression step, the final value of stress and displacement are compared to the analytical model.

3. For a proper discussion of this topic see Ferziger et Perić (2002), for example.

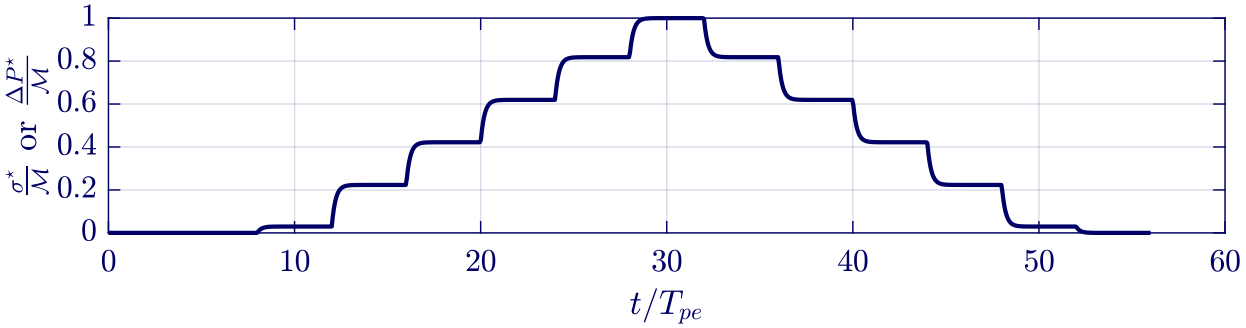

FIGURE 4.6 – Time evolutoin of the boundary conditions, imposed during numerical simulations. The stress at the top of the hydrodynamic pressure varies in steps from a state at rest to a given value $\sigma'^\star_{\max}$ or $\Delta P_{\max}$. Here, for visualisation purposes, we have assumed that $\sigma'^\star_{\max} = \Delta P_{\max} = \mathcal{M}$.

	Sim. 1 (Fluid)	Sim. 1 (Piston)	Sim. 2 (Fluid)	Sim. 2 (Piston)
$\frac{\sigma'^\star_{\max}}{\mathcal{M}}$ or $\frac{\Delta P^\star_{\max}}{\mathcal{M}}$ [-]	0.105	-0.105	0.36	-0.36
ϕ_0	0.45	0.45	0.45	0.45
L [μm]	300	450	300	450
H [μm]	6	6	6	6
μ [-]	10^{-8}	10^{-8}	0.05	0.05
K [-]	1	1	1	1
β [-]	10^{-6}	1.5×10^{-6}	5	7.5

TABLE 4.2 – Parameters of the simulations used to validate the numerical resolution.

The results of the fluid-driven compression are presented in figure 4.7. The numerical results agree quantitatively very well with the analytical predictions. Further investigation reveals that the error is always lower than 0.5 %. This shows that the numerical scheme gives the same results as the analytical solution. In other words, the numerical resolution does what it is supposed to do: it estimates numbers that are close to what they should be, and the error that is introduced by the numerical resolution is lower than 0.5%. Besides, it also means that during the first compression, the friction is fully mobilised (and therefore, the analytical model presented in section 4.3.1 can be used).

The results of the piston-driven compression are presented in figure 4.8. They show excellent results of the frictionless case and reasonably good results in the frictional case, with a slight error being produced at the bottom of the porous medium ($y/L < 0.5$). Further investigations revealed that this error is a physical phenomenon: the first pressure step imposed on the medium is carried out too fast. Hence, the fluid flow impacts the medium's overall response. In other words, this difference is due to a physical difference between the simulation and the analytical model, not a numerical error.

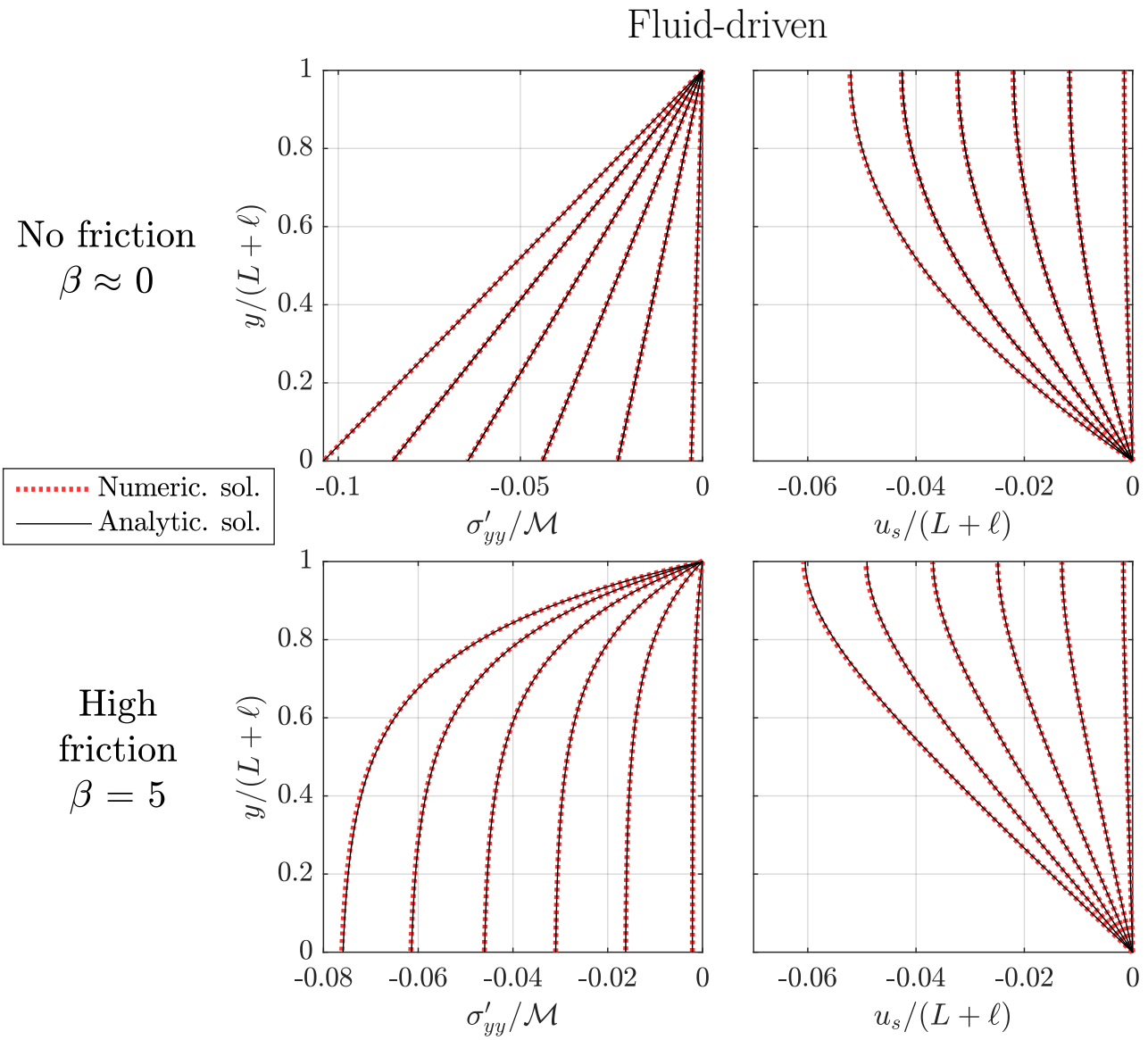

FIGURE 4.7 – Comparison between numerical (black) and analytical solution (dashed red), in the absence of friction (top) and with a high level of friction (bottom) for the solid stress (left) and the displacement of the solid matrix (right).

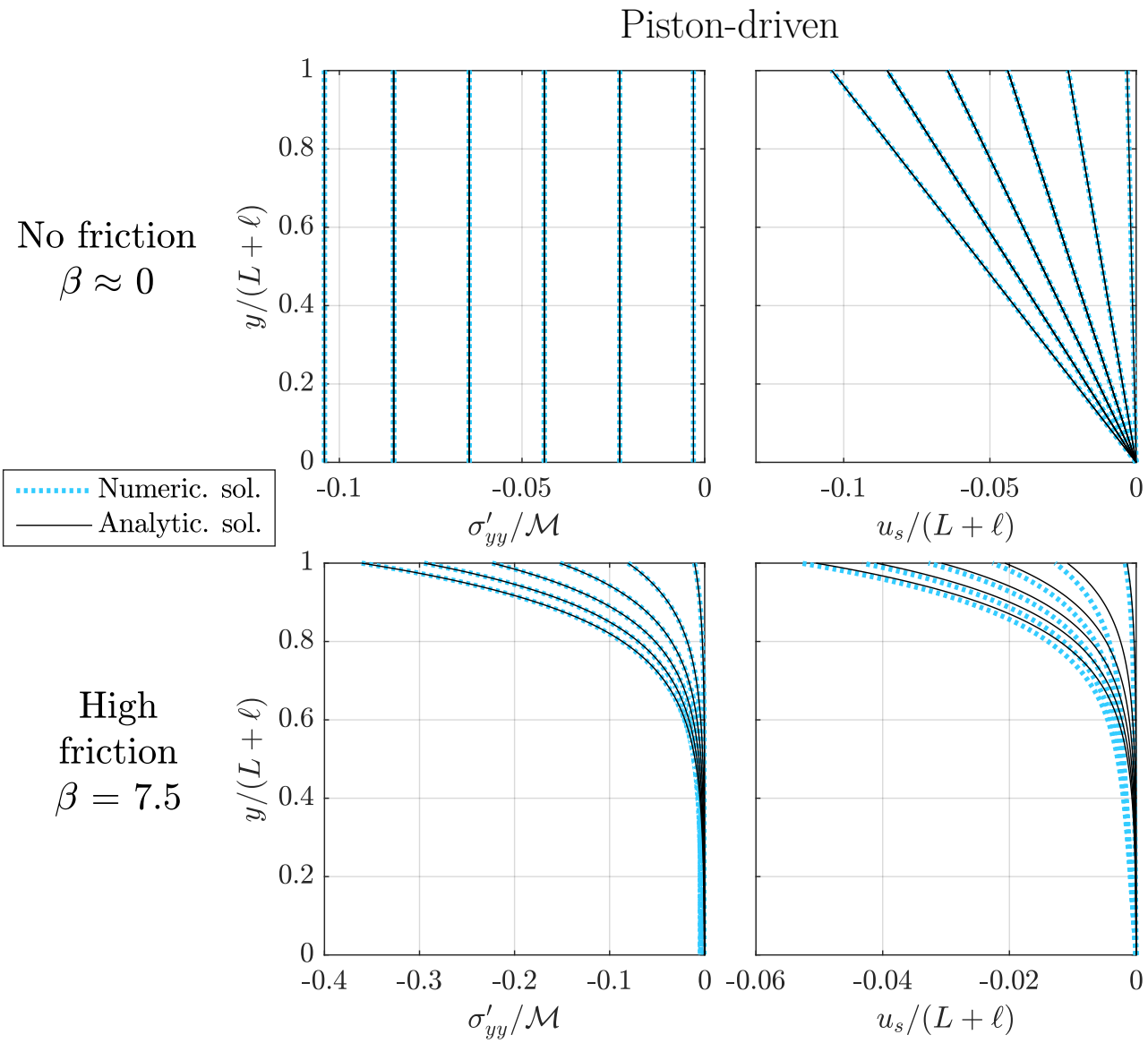

FIGURE 4.8 – Comparison between numerical (black) and analytical solution (dashed blue), in the absence of friction (top) and with a high level of friction (bottom) for the solid stress (left) and the displacement of the solid matrix (right).

4.4 Results and Discussion

In this section, we first present the calibration of the model, or in other words, the way we have chosen the friction coefficient (μ) and the oedometric modulus ($\mathcal{M}$). Secondly, we assess the quality of the model and show that it reproduces qualitatively and quantitatively most of the experimentally observed displacements.

4.4.1 Calibration of the model

In the following, we will assume that $H = 6.15\,\mu$m, $k = 5 \times 10^{-15}$ m^2, $\eta = 2 \times 10^{-3}$ Pa.s, as these values are close to the experimental values (see chapter 2). Besides, we will focus on one single experiment to calibrate the model L, which will be taken directly from the experimental dataset ($L = 300\,\mu$m). In addition, we will use the value of ϕ_0 from the experimental measurements of Valencia *et al.* (2020): $\phi_0 = 0.45$. Finally, we will assume that K is fixed and equal to 1. Indeed, this coefficient always appear in the product $\mu \times K$. Therefore, it cannot be determined precisely in the current exercise. The improvement of this point is discussed shortly in perspectives, section 4.5.

Therefore, only two parameters can be varied: $\mathcal{M}$ and μ, and this section now aims at finding the values that provides the best quantitative fit of the experiments.

Chapter 3 revealed that the fluid-driven compression seems better controlled than the piston-driven compression. Therefore, in this calibration section, we will only treat the former. The calibrated values of μ and $\mathcal{M}$ will then be used to simulate the behaviour of the piston-driven compression.

During the compression

Section 4.3.3 showed that the numerical and the analytical solution provided in section 4.3.1 give the same results during the phase of compression of the clog. As the analytical solution is very rapid to compute, it was used to calibrate the model.

The analytical values of the relative displacements occurring between $\Delta P^\star = 328$ mbar and $\Delta P^\star = 775$ mbar were computed for all values of μ from 10^{-6} to 0.2, by steps of 10^{-4} and $\mathcal{M}$ from 7.75×10^3 Pa to 7.75×10^5 Pa by steps of 7.75×10^3 Pa. These predicted values were then compared to the corresponding experimental profile. For each combination of μ and $\mathcal{M}$, we computed the root mean square error (RMSE) associated with this pair by comparing the predicted profiles to the experimental profiles. In mathematical terms, the formula writes:

$$\mathrm{RMSE}(\mu, \mathcal{M}) = \sqrt{\sum_{y \in [0,L]} \left(\frac{u_s^{\mathrm{th}}(\mu, \mathcal{M})\Big|_y}{L} - \frac{u_s^{\mathrm{exp}}|_y}{L} \right)^2}, \tag{4.58}$$

where $\dfrac{u_s^{\mathrm{exp}}|_y}{L}$ is the experimental relative displacement measured at y, and $\dfrac{u_s^{\mathrm{th}}(\mu, \mathcal{M})\Big|_y}{L}$ the predicted value at y. When the difference between these two terms is high, the theoretical values do not fit well with the experimental dataset, and the RMSE is high. When these values are close to each other, the theoretical values are close to the experimental ones.

The values of RMSE are presented in figure 4.9. The results suggest that several pairs of (μ, $\mathcal{M}$) provide the same quality results. Further investigation revealed that any pair (μ, $\mathcal{M}$) in the blue part of the figure 4.9 will produce (approximately) the same result. More precisely, the (approximately) same displacement profile may be obtained with (i) a low value of μ and a high value of $\mathcal{M}$ (as for a stiff material freely slipping against the confining walls), or (ii) a high value of μ and a low value of $\mathcal{M}$ (as for a soft material "rubbing" against the walls). This result is illustrated by the work presented in section 4.3.3. Here, as the arbitrary values of μ and $\mathcal{M}$ have been chosen in the blue part of figure 4.9, the displacement profiles presented in figure 4.7 lie in the same order of magnitude. The differences between the two final profiles are small. However, one simulated clog sleeps freely on the confining walls (no friction), while the other is experiencing high friction levels.

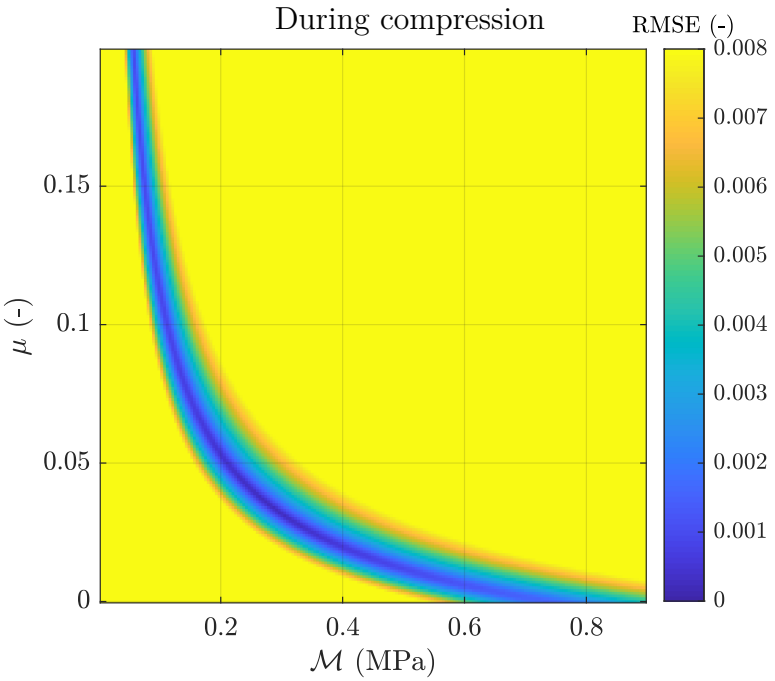

FIGURE 4.9 – Values of the RMSE computed during the compression, from the comparison of experimental values and analytical solution, numerically evaluated from any given value of $\mathcal{M}$ (in abscissa) and μ (in ordinate).

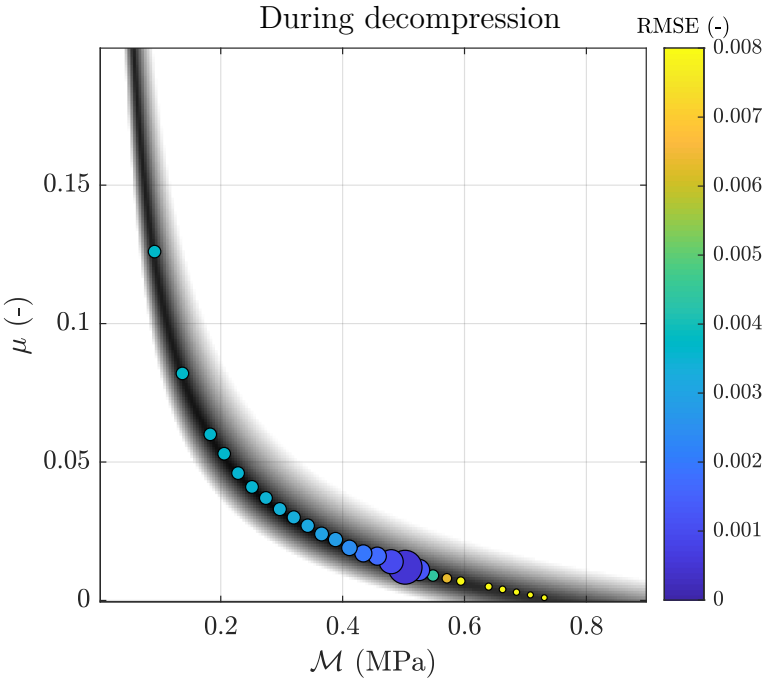

FIGURE 4.10 – Values of the RMSE computed during the decompression, from the comparison of experimental values and numerical solution, evaluated from 20 values of $\mathcal{M}$ (in abscissa) and μ (in ordinate). Each dot correspond to a simulation that has been compared to the experimental dataset. The color of the dot is determined by the RMSE (see colorbar on the right), and the size of each dot is proportional to the inverse of the RMSE. Shaded gray areas: RMSE during the compression, see figure 4.9.

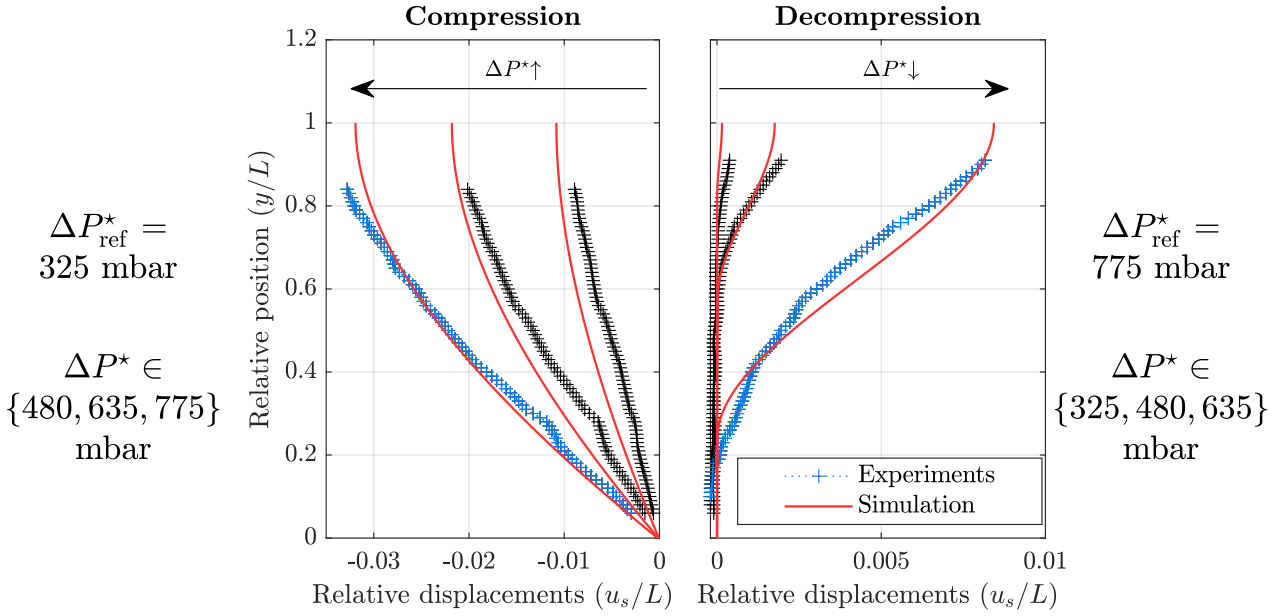

FIGURE 4.11 – Relative displacements measured during the experiments (black and blue) and simulated by the model (red) during the compression phase (left) and decompression phase (right) of a fluid-driven experiment. The displacement are computed as in chapter 3, from a given position where $\Delta P^{\star} = \Delta P^{\star}_{\text{ref}}$, with $\Delta P^{\star}_{\text{ref}} = 325$ mbar during the compression, and $\Delta P^{\star}_{\text{ref}} = 775$ mbar during the decompression. The experimental curves in blue correspond to the curves that were used to perform the calibration ($\Delta P^{\star} = 775$ mbar for compression profiles, $\Delta P^{\star} = 325$ mbar for decompression).

During the decompression

A set of 20 simulations were carried out, each with a different pair of coefficients. In order to ensure that the quality would still be good in compression, the pairs of coefficients tested were restricted to the blue area in Figure 4.9. The displacement values simulated during the decompression phase between 328 mbar and 775 mbar are compared with the experiment used previously. For each pair of $(\mu, \mathcal{M})$, the RMSE can then be calculated, as before.

The results are shown in Figure 4.10. The results show that along the sampled area, the RMSE varies, and that there is only one pair of coefficients such that the RMSE is minimal in both compression and decompression. In the following, we will therefore consider the case where displacements are well simulated between 775 and mbar and 328 mbar, in compression and decompression. For this, we will choose $\mu = 0.012$ and $\mathcal{M} = 0.5$ MPa.

The finding of such coefficients is itself satisfactory as it is close to what could be expected. Indeed, individual yeast cells have a turgor pressure in the order of 0.1 MPa Vella *et al.* (2012). Besides, the calibrated value of the Coulomb's coefficient is coherent to what can be found in the literature, regarding the Coulomb's coefficient of living cells (endothelial cells of human arteries) with glass that has been estimated to be around 0.03-0.06 (Dunn *et al.*, 2007).

4.4.2 Comparison with experiments: fluid-driven compression

The simulated and experimental profiles are compared in figure 4.12, which shows the simulated displacements (red) together with the displacements measured between 328 and 775 mbar (in blue, as it corresponds to curve used for calibration) and also the displacements measured between 328 mbar and 480 mbar and between 328 mbar and 635 bar (black). All the simulated displacement profiles are in qualitative and quantitative agreement with the observations. In particular, the shape of the displacement profiles is well simulated during decompression. This result is interesting because the calibration was only carried out on profiles measured between 328 mbar and 775 mbar. However, a

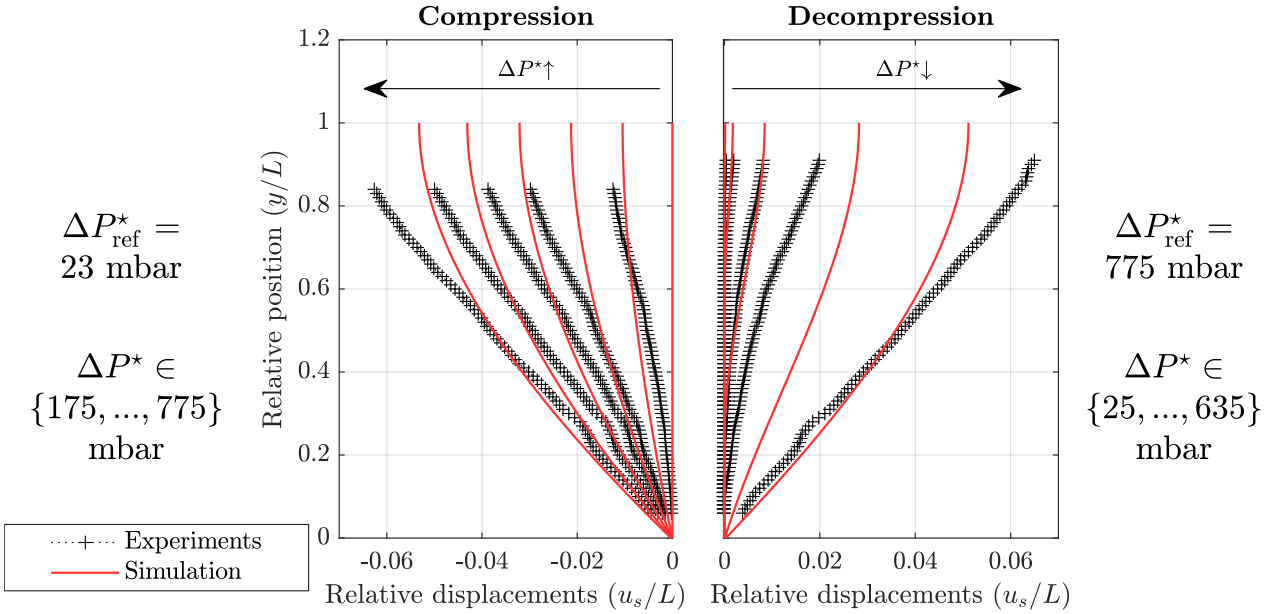

FIGURE 4.12 – Relative displacements measured during the experiments (black) and simulated by the model (red) during the compression phase (left) and decompression phase (right) of a fluid-driven experiment. The displacement are computed as in chapter 3, from a given position where $\Delta P^\star = \Delta P^\star_{\text{ref}}$. During compression, the displacements are measured from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 23$ mbar to 175 mbar, 325 mbar, 480 mbar, 635 mbar and 775 mbar (see arrow in left graph). During decompression, the displacements are measured from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 775$ mbar to 635 mbar, 480 mbar, 325 mbar, 175 mbar and 23 mbar.

slight difference was observed between the simulations and the observations during compression and for the profile measured between 328 mbar and 480 mbar. In this case, the simulation overestimates the displacements.

In order to better understand the source of this difference, the comparison was extended to the entire compression range, between 23 mbar and 775 mbar. The results are shown in Figure 4.11. During compression, the model reproduces poorly the displacements measured for low values of $\Delta P^\star$. In particular, at the top of the clog, the model underestimates the displacements measured at $y/L > 0.5$. This underestimation may be due to poor representation of the mechanical behaviour of the clog. In particular, it is possible that rearrangements occur at the top of the clog, therefore deforming it more strongly than an elastic medium simulated here. This interpretation is consistent with the observations made in chapter 3, where the rearrangements are greater at the top of the clog than at the bottom. It is also consistent with the literature cited in the introduction, where it has been reported that granular rearrangements can impact the mechanical behaviour of the assembly at low stresses.

Displacements are also poorly represented during decompression during low pressure steps. Especially, when $\Delta P^\star = 175$ mbar, the observed relative displacement at $y = 0.9L$ is around 0.02, while the simulated displacement is 0.027. Further analysis of the results shows that this may be due to an experimental measurement problem. Indeed, the results presented in chapter 3 show that during decompression, the clog does not reach a state of equilibrium during the step made at around 175 mbar. During the final step ($\Delta P^\star = 23$ mbar), the displacements are underestimated at the top of the clog, probably because of the rearrangements happening here. As the displacement at high pressure integrates this error, the profiles are less well simulated than previously. However, a detailed analysis of the results shows that the difference between the profiles measured at 328 mbar and 775 mbar is well represented.

We therefore conclude that the model represents the experiment used for calibration well over the high pressure range. At low pressures, deformation is underestimated, particularly in the upper part of the clog.

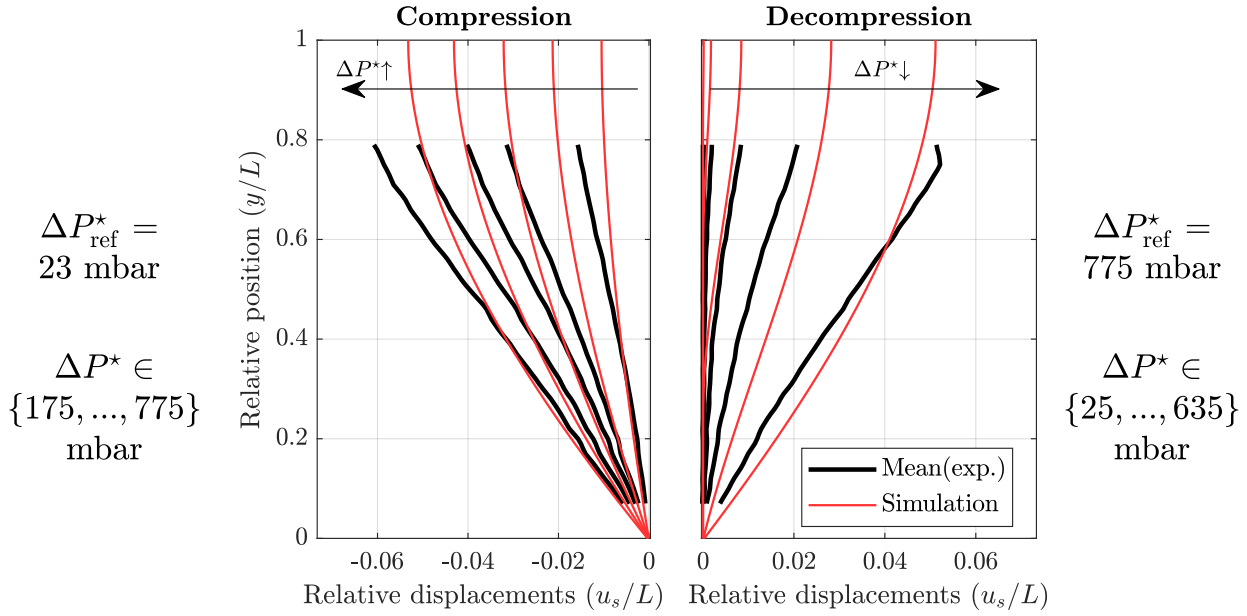

FIGURE 4.13 – Average relative displacements measured during the experiments (black) and simulated by the model (red) during the compression phase (left) and decompression phase (right) of a fluid-driven experiment. The displacement are computed as in chapter 3, from a given position where $\Delta P^\star = \Delta P^\star_{\text{ref}}$. During compression, the displacements are measured from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 23$ mbar to 175 mbar, 325 mbar, 480 mbar, 635 mbar and 775 mbar (see arrow in left graph). During decompression, the displacements are measured from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 775$ mbar to 635 mbar, 480 mbar, 325 mbar, 175 mbar and 23 mbar.

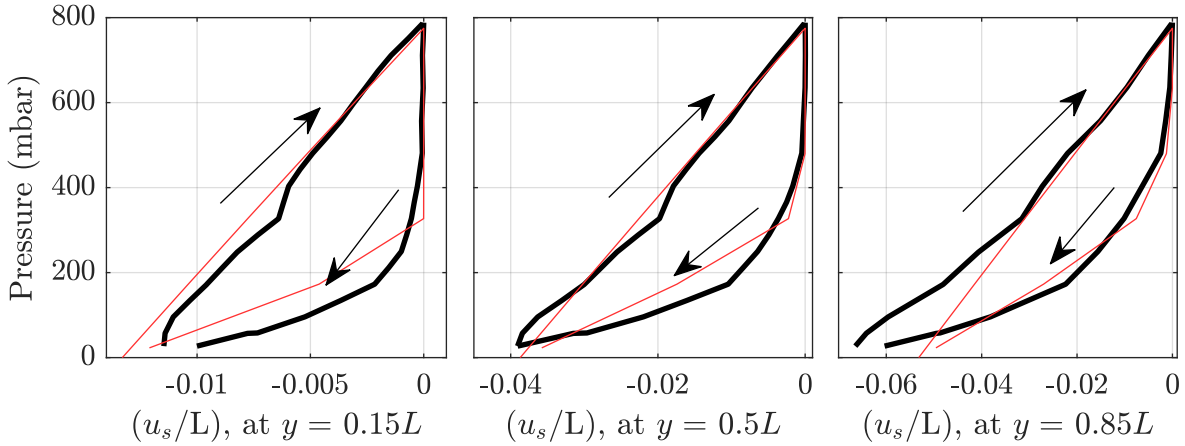

FIGURE 4.14 – Hysteresis observed during fluid-driven experiments (black) and numerical simulations (red). Results obtained in the bottom (left), middle (center) and top (right) of the clog.

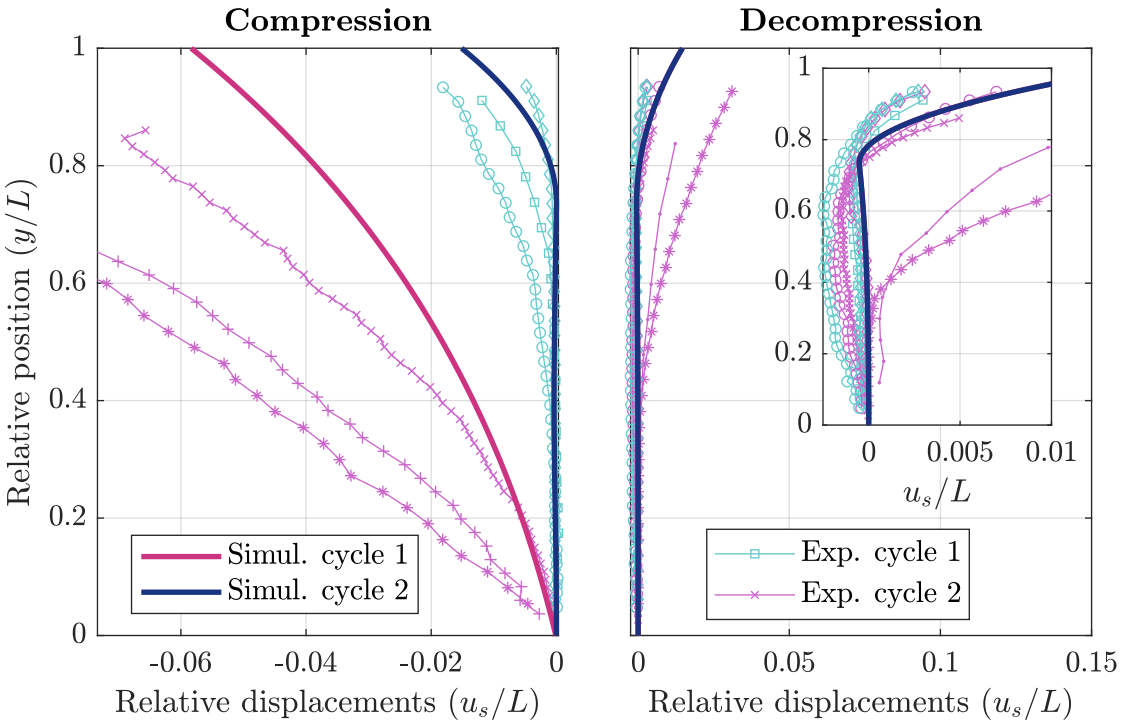

FIGURE 4.15 – Relative displacements measured during the experiments (symbols) and simulated by the model (bold line) during the compression phase (left) and decompression phase (right) of a piston-driven experiment (pink: first cycle, blue: second cycle). The displacements during the first and second decompression are identical. The displacements are computed from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 400$ mbar to $\Delta P^\star = 1000$ mbar during the compression, and from $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 1000$ mbar to $\Delta P^\star = 400$ mbar during the decompression.

Comparison with the whole experimental dataset

In order to better assess the quality of the model, we now compare the simulations to the whole datasets in figure 4.13 and figure 4.14. In figure 4.13 we compare the prediction of the calibrated simulation to the mean of the experiments. This figure is very similar to figure 4.11, which is not surprising, as all experiments behave the same (see chapter 3).

In figure 4.14, we compared the pressure-displacement curves obtained in chapter 3, where the hysteresis is observed. The model reproduces very well the experimental findings, both qualitatively and quantitatively. In particular, the hysteresis loop is well reproduced, and its relative area decreases as the relative position increases (the position where the hysteresis loop is plotted). However, at the top of the clog, the displacement is underestimated at the lowest values of $\Delta P^\star$, a result already mentionned and interpretated.

In conclusion, the model reproduces very well most of the experimental observations made with a fluid driven compression. In particular, the whole hysteresis cycle can be reproduced very well, which highlights the major contribution of friction to explain this phenomenon.

4.4.3 Comparison with experiments: piston compression

The previous calibration was used to represent the behaviour of the clog when forced by a piston. In details, all the parameters are equal to the previously calibrated parameters. The length of the simulated clog is set to 450 μm, as this length is closer to the experimental length of the clogs when compressed by an air bubble.

The results of this comparison are shown in figure 4.15, where we have plotted the relative displacement profiles observed between 400 mbar and 1000 mbar, as in chapter 3. The simulated displacements

during the first compression are qualitatively similar to the experimental displacements, with a non-linear trend characterised by a steeper slope at the top of the clog than at the bottom of the clog. However, the quantitative comparison shows that the model underestimates the displacements measured between 400 mbar and 1000 mbar. At the time of writing this manuscript, the exact cause of this underestimation has not yet been identified.

During the second compression cycle, the model reproduces the observed results quantitatively and qualitatively. In particular, it reproduces the fact that the displacements are almost zero at the bottom of the clog ($y/L < 0.8$), before increasing exponentially at the top of the clog. In addition, it reproduces the fact that, during decompression, negative displacements are observed in the lower part of the clog (under $y/L < 0.75$) whereas the upper part is characterised by positive displacements. Detailed investigations revealed that this result was not due to a delay in the clog's response, as it was hypothesised in chapter 3: the simulated clog did reach a state of equilibrium at the end of each compression/decompression stage. This behaviour is therefore caused by the coupling between the fluid flow, the deformation of the solid matrix and the friction of this matrix with the wall. However, at the time of writing this manuscript, the precise contribution of each of these processes has not been identified.

4.5 Conclusion and perspectives

In this section, a theoretical model is presented that describes the yeast clog as a linear elastic porous medium that is subjected to a fluid flow or an impermeable piston and experiences friction with the walls of the experimental device. That friction was modelled following the classical Coulomb's law, which allowed both analytical and numerical resolution of the equations.

Remarkably, the model was calibrated using only one portion of the experimental dataset and was able to reproduce the whole compression/decompression cycles of the fluid-driven experiments with very good quantitative agreement, especially for $\Delta P^\star > 300$ mbar. Also, it reproduced well the hysteresis that was observed in chapter 3 when plotting the relative displacements observed at a given relative position as a function of $\Delta P^\star$.

Besides, using the same parameters as in the fluid-driven compression, it also reproduced qualitatively well the results obtained during the piston-driven experiments. In particular, it reproduced the strange (small) compression that has been observed in the bottom part of the clogs during the decompression phase of piston-driven experiments. Therefore we conclude that one single value of the couple (μ, $\mathcal{M}$) is able to fit relatively well all the experimental observations.

The results presented in this chapter also open several research perspectives:

— It would be interesting to observe the impact of the clog length on the simulation results. Indeed, the β number (and its more precise version, the γ number) exhibits a strong dependence on L, modulating the importance of friction. With this element in mind, it is therefore surprising that the relative displacements observed during fluid-driven experiments collapse on a single curve, especially during the decompression, where the friction coefficient has a substantial impact on the behaviour of the clog (see RMSE in figure 4.10) Actually, the range of clog length variation (280 μm - 450 μm) was relatively small. One possibility would be to conduct more experiments, with broader changes of L between experiments, and observe if differences appear in the behaviour of the clogs, especially during decompression.

— It is surprising to fit all the experimental datasets with Coulomb's friction law, usually reserved for dry tribology. In particular, lubricating effects may play a role in our immersed case. However, the precise understanding of this role is out of reach of this chapter. Nevertheless, the numerical tools put in place can now be used to make the law of friction more sophisticated. For example, one could change Coulomb's law to a lubricated friction law.

— The modelling results showed that one single experimental displacement curve can be fitted by a wide variety of $(\mu, \mathcal{M})$ values during fluid-driven compression. The general understanding of this phenomenon has been discussed: the behavior of a material can be affected by friction, making it appear stiffer. A material with high friction and low stiffness exhibits the same behaviour as a slippery one with high stiffness. But the quantitative prediction of this interpretation could

be derived from the analytical equations provided in section 4.3.1. In particular, one could try to find the directing equation of the blue area in figure 4.9.

— In this chapter, we did not account for the changes in permeability within the medium. However, chapter 2's experimental results revealed that the permeability of the entire clog varies with the applied pressure during the construction phase. To provide a more detailed explanation, it would be helpful to observe the fluid pressure variation within the porous medium, similar to the approach taken in Lutz (2021). Through such measurements, we could derive a correct local permeability law. However, due to the microscopic scales involved, this point represents an experimental challenge, and has been left for future work.

— In this chapter, as in chapter 3, we neglected the variation of the displacement in the $\overrightarrow{e_x}$ direction. However, the section 3.3.1 have revealed that the displacement is not exactly constant in the $\overrightarrow{e_x}$ direction. It would be therefore interesting to better represent this variation. It is possible that the fitted coefficients of μ and $\mathcal{M}$ are impacted by such variations, and might therefore be dependant on the friction between particles and the lateral walls, and maybe on the particle-particle friction. Indeed, if particles are perfectly slippery the fact that the layer of cells touching the walls should not impact the displacement observed in the middle of the device. On the contrary, if the particle-particle friction is high, the movements of the particles in the middle of the device should be impacted the movements of particles located far away from them, on the border of the device.

— In this chapter, we have chosen $\phi_0 = 0.45$, based on the literature value of (Valencia *et al.*, 2022). However, this value can be considered relatively high compared to other publications (Nakanishi *et al.*, 1987), where the maximum value of porosity is around 0.3. Numerical tests were carried out and revealed that the model is insensitive to this parameter, as long as it is chosen higher than 0.1: the results of the model are the same whatever the value of ϕ_0 chosen. This can be explained by the analytical model presented in section 4.3.1, where the displacements and mechanical stresses are independent of ϕ_0 (see for example, equations (4.32) and (4.31)), a consequence of the assumption of constant permeability (otherwise the permeability would depend on ϕ, and hence on ϕ_0). When $\phi_0 < 0.1$, the porosity may become negative when we apply a high amount of stress. For example, in the absence of friction, with $\phi = 0.1$, the maximum stress that we can apply before reaching the limit $\phi = 0$ is equal to $\sigma'^{\star}/\mathcal{M} = -0.11$. Therefore, we decided to let the ϕ_0 coefficient equal to 0.45.

— With the coefficients that we used in part 4.4, we are able to compute $T_{pe} = 7.2 \times 10^{-2}$ s, which is very small compared to the experimental time scale of the movements, where around 1 minute was need before reaching a stable state. Three hypotheses may explain this difference. First, it is likely that the granular nature of the yeast clog may change its dynamic behaviour. In particular, the rearrangements that have been observed in chapter 3 may need some time to happen. Second, the lubricating effects mentionned earlier may also slow down the dynamics of the yeast clog. It is possible that the liquid film that is entraped between two cells may need some time to flow out of the interstices, a process that might interact with the deformation of yeast cells (Davis *et al.*, 1986; Chan *et al.*, 2011). Third, it is possible that the yeast cells exhibit a viscoelastic behaviour, as the water that is contained inside the yeast cells may need some time to flow out of the cells (Smith *et al.*, 1998).

Finally, the mechanical behaviour of the yeast packing was likely oversimplified by a linear stress-strain relationship for several reasons. The rearrangements inside the yeast clog may significantly impact the clog's behaviour, especially at low stress. In particular, these rearrangements could make the clog much softer at low stresses than at high stresses. Moreover, the mechanical behaviour of individual yeast cells is close to a Hertz behaviour at low stresses (Chang *et al.*, 2021). In other words, the force that one needs to apply to deform a single cell by an amount δ scales as $\delta^{3/2}$, making the yeast cells softer at low stresses than at high stresses. Besides, the value of K, the redirection coefficient of the stresses from the $\overrightarrow{e_y}$ direction to the $\overrightarrow{e_z}$ direction, has been arbitrarily set to 1, while this coefficient might be smaller than 1 and may also depend on the local arrangements of the particles. Also, the fitted oedometric modulus is not linked to microscopic quantities, such as the mechanical behaviour of individual cells. These limitations highlight the need for a discrete modelling approach that can

represent the individual movements of cells to determine the average mechanical behaviour of the clog. This point will now be explored in chapter 5.

Chapitre 5

Simulations à l'échelle de la cellule unique

Sommaire

5.1 Introduction 143
5.1.1 Etat de l'art 144
5.1.2 Objectifs et plan du chapitre 145
5.2 Matériel et méthodes 146
5.2.1 Géométrie expérimentale 146
5.2.2 La méthode DEM 146
5.2.3 Etat initial et polydispersité 150
5.3 Résultats et discussion 151
5.3.1 Cycles de compression/décompression 151
5.3.2 Mesure des déplacements 151
5.3.3 Comparaison aux données expérimentales 153
5.3.4 Estimation des contraintes à l'intérieur du bouchon 154
5.4 Conclusions et perspectives 158

Avant propos : de nombreux résultats préliminaires

Contrairement aux précédents chapitres de ce manuscrit, les résultats présentés ici doivent être considérés comme préliminaires. D'abord, différents choix algorithmiques limitent la rapidité d'exécution du code numérique utilisé. Ceux-ci se sont basés sur des résultats expérimentaux préliminaires que j'ai obtenus juste avant le confinement lié à la pandémie de Covid-19, durant mon stage de Master 2. Le bouchon le plus gros que nous pouvions alors observer était composé d'une vingtaine de cellules. Ces observations ont orienté le choix du langage de programmation vers MATLAB, langage qui est peu efficace pour traiter successivement les différentes opérations (boucles *for*) essentielles à la résolution numérique mise en place, mais dont l'interface humain-machine permet des visualisations faciles et rapides. Les bouchons obtenus après le confinement (et grâce à l'utilisation d'Optiprep) pouvaient contenir plusieurs milliers de cellules. Avec le code MATLAB développé, la simulation numérique des cycles de compression/décompression appliqués à de tels bouchons demande environ un mois de calcul (pour deux cycles de compression/décompression). Par ailleurs, nous verrons qu'une sous-estimation de la résistance hydrodynamique a conduit à une sous-estimation de la pression hydrodynamique appliquée, si bien que la pression appliquée a varié dans la gamme $[10, 430]$ mbar, et non $[10, 750]$ mbar comme dans les expériences.

5.1 Introduction

Les chapitres précédents ont mis en avant que le comportement mécanique d'une assemblée de cellules pourrait être différent de celui d'un matériau élastique idéal, notamment du fait des réarran-

gements qui peuvent se produire entre les cellules. Le problème est complexe à aborder, si bien que nous proposons un rapide état de l'art de cette question, avant de présenter les objectifs et le plan de ce chapitre.

5.1.1 Etat de l'art

A la nano-échelle, tous les matériaux sont constitués d'atomes. On pourrait donc penser qu'une assemblée formée de particules discrètes a les mêmes propriétés qu'un matériau continu. Pourtant, les forces qui s'exercent entre des particules de plus de 1 μm sont bien différentes des forces qui s'exercent à l'échelle atomique. En particulier, les interactions entre grains élastiques peuvent créer des réponses mécaniques non-linéaires, tandis que le milieu a la capacité à se *réarranger*, c'est à dire que les grains qui le composent peuvent changer de voisins, pour atteindre des conformations plus compactes que la conformation initiale. Le lien entre propriétés microscopiques et macroscopiques est alors loin d'être évident.

Un exemple simple consiste à considérer un milieu granulaire composé de sphères constituées d'un matériau élastique linéaire, de module d'Young E et de nombre de Poisson ν. Si on suppose, comme Walton (1987), que l'assemblée granulaire est monodisperse, que les forces sont réparties uniformément dans l'assemblée, que les sphères sont infiniment lisses, arrangées aléatoirement avec un nombre moyen de contacts (Z) constant, alors on peut représenter le comportement mécanique du milieu granulaire de manière analytique. Si on réalise un essai de compression uniaxiale confinée [1] alors, en l'absence de friction avec les parois latérales, le tenseur des contraintes mécaniques suit la relation suivante, exprimée dans les direction $(\overrightarrow{e_x}, \overrightarrow{e_y}, \overrightarrow{e_z})$, en supposant que la compression est réalisée dans la direction $\overrightarrow{e_y}$:

$$\boldsymbol{\sigma'} = \begin{pmatrix} \frac{E}{24\pi(1-\nu^2)}(1-\phi)Z\varepsilon_{yy}^{3/2} & 0 & 0 \\ 0 & \frac{E}{6\pi(1-\nu^2)}(1-\phi)Z\varepsilon_{yy}^{3/2} & 0 \\ 0 & 0 & \frac{E}{24\pi(1-\nu^2)}(1-\phi)Z\varepsilon_{yy}^{3/2} \end{pmatrix} \tag{5.1}$$

Ce comportement est différent du comportement mécanique du matériau élastique linéaire qui constitue les sphères (cf. équation 1.18 du chapitre 1). Premièrement, l'état de contrainte dépend de la déformation de manière non linéaire, ce qui est une conséquence du comportement mécanique d'une sphère individuelle : d'après la théorie du contact de Hertz, le lien entre déformation (δ) et force appliquée (F) s'écrit $F \propto \delta^{3/2}$. Deuxièmement, la contrainte dépend de la fraction volumique solide $(1-\phi)$ et du nombre de coordination Z. Cela est une conséquence de la redistribution des forces entre voisines. Si on représente l'amas granulaire comme un ensemble de ressorts connectés entre eux, alors augmenter Z revient à augmenter le nombre de liens, et donc la raideur effective : deux ressorts placés en parallèle ont une raideur deux fois plus élevée qu'un ressort individuel.

Cet exemple donne une idée de la complexité associée au cas général. En effet, le nombre de contact augmente à mesure que le milieu est comprimé, sous l'effet de réarrangements locaux, ce qui augmente la raideur du milieu. D'un autre côté, les forces sont rarement uniformes dans un milieu granulaire réel, si bien que tous les contacts ne contribuent pas de la même manière au comportement mécanique du milieu. De plus, le raisonnement qui permet l'établissement de l'équation (5.1) peut être reproduit pour des particules très rugueuses (qui ne se réarrangent pas du tout). Mais, dans le cas général, la friction entre particules n'est ni nulle, ni infinie. Tous ces éléments rendent très difficile l'établissement d'une équation constitutive d'un milieu granulaire soumis à une expérience de compression uniaxiale confinée, ce qui explique pourquoi ce problème est toujours ouvert, même si il fait l'objet d'intenses recherches.

Expérimentalement, les relations utilisées pour représenter les essais de compression confinée restent donc généralement empiriques. La loi de Heckel est une loi classiquement utilisée (Andreotti *et al.*,

1. Dans la suite, on parle de compression uniaxiale confinée lorsque le milieu considéré est placé entre des parois latérales et comprimé dans une seule direction. Dans ce cas, la déformation est non-nulle uniquement dans une direction, et nulle dans les autres directions.

2013). Elle prédit que la porosité (ϕ) dépend de manière exponentielle de la contrainte mécanique imposée (σ'^{*}) lors d'un essai de compression uniaxiale dans une géométrie confinée :

$$\phi = e^{-K\sigma'^{\star}-C} \tag{5.2}$$

avec K et C des coefficients empiriques. Cette loi indique qu'il est relativement facile de comprimer l'agrégat lorsque les contraintes sont faibles, alors que la relation contrainte-déformation diverge lorsque les contraintes sont grandes : le matériau devient de plus en plus rigide à mesure qu'il est comprimé. De même, il a été rapporté que, dans un milieu formé d'hydrogels soumis à une compression uniaxiale confinée, la contrainte mécanique diverge lorsque la déformation devient trop importante (Hewitt *et al.*, 2016). Cette relation peut s'écrire en fonction de la porosité du milieu et de la porosité limite ϕ_m, pour laquelle la contrainte mécanique diverge :

$$\sigma'_{xx} = E\frac{\phi_0 - \phi_m}{1-\phi_0} \times \frac{\phi_0 - \phi}{\phi - \phi_m} \tag{5.3}$$

avec ϕ_0 la porosité de l'agrégat au repos, non comprimé.

Si ces lois empiriques mettent en évidence le comportement mécanique non-linéaire des agrégats de particules déformables, elles présentent deux limitations. D'abord, elles ne permettent pas de représenter la composante plastique du mouvement. D'autre part, elles ne permettent pas de faire le lien entre les processus physiques à la microéchelle et les propriétés de l'assemblée. Ces élements expliquent l'essor récent d'outils de simulation numérique. Une méthode classique est la simulation DEM (pour « Discrete Element Method », en anglais), qui a émergé après les travaux de Cundall et Strack (1979). Cette méthode consiste à représenter les contacts entre les particules de l'agrégat, à l'échelle de la particule unique, puis de simuler le comportement de l'ensemble des particules de manière Lagrangienne, dans des configurations qui miment les configurations expérimentales (Zhu *et al.*, 2007). Elle peut être étendue à des particules déformables. Dans ce cas, les particules subissant des déformations s'interpénètrent numériquement. Ce sont ces déformations qui sont utilisées pour calculer les forces de contact entre particules. L'avantage de ce type de modélisation est de pouvoir représenter facilement une grande variété de force de contacts, et d'être relativement facile à mettre en place. Son inconvénient provient du fait que la discrétisation temporelle doit être effectuée avec des pas de temps très faibles, plus faibles que le temps de propagation des chocs entre deux particules. Mais cet inconvénient est contrebalancé par la puissance des moyens de calculs actuels, si bien qu'on rapporte des simulations DEM représentant les mouvements de plusieurs millions de particules (Radeke *et al.*, 2010). L'utilisation de ce type de simulation permet alors de représenter la loi de comportement macroscopique d'une assemblée de particules sphériques placées dans un tambour rotatif (Luding *et al.*, 2001), quand d'autres études rapportent le couplage du mouvement des particules indivuelles et d'un écoulement fluide (Li *et al.*, 2019).

Cependant, si la simulation DEM a bien été appliquée pour prédire le comportement mécanique de la tomate (Diels *et al.*, 2019), les conditions qui permettent le transport de pommes dans un camion (Van Zeebroeck *et al.*, 2008) ou le comportement mécanique d'une assemblée de quelques cellules de plante (Van Liedekerke *et al.*, 2010), à notre connaissance, ces outils de simulation numérique n'ont pas encore été utilisés pour représenter le comportement mécaniques d'une assemblée de levures. En particulier, les forces caractéristiques associées à la floculine, protéine qui décore la surface des cellules (El-Kirat-Chatel *et al.*, 2015), n'ont pas été modélisées, tout comme le comportement typique des cellules de levure en compression, mentionné au chapitre 2.

5.1.2 Objectifs et plan du chapitre

L'objectif de ce chapitre est de caractériser le comportement mécanique d'une assemblée de levures à partir de simulations discrètes des cellules, où les forces d'interactions entre levures sont codées de manière explicite. Dans la suite, on détaille la mise en place du code de calcul DEM, en détaillant l'implémentation des phénomènes spécifiques au comportement mécanique des levures. Dans un second temps, on présente les deux cycles de compression/décompression qui sont simulés, et on compare les résultats des simulations aux données expérimentales. Enfin, les contraintes mécaniques compressives sont quantifiées à l'intérieur du bouchon, ce qui permet d'établir la loi de comportement mécanique du bouchon de levures ainsi modélisé.

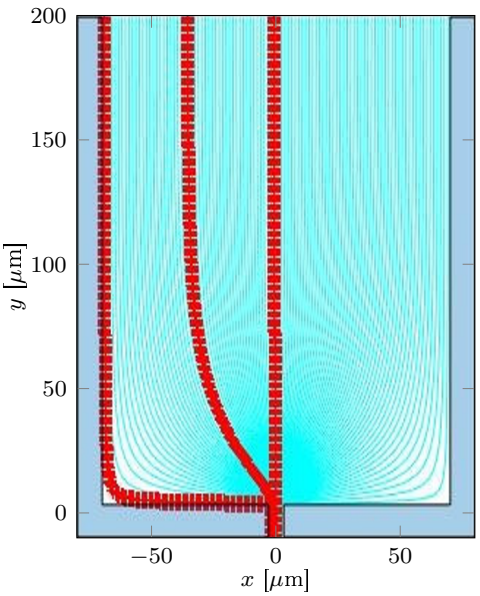

FIGURE 5.1 – Représentation de la géométrie simulée et des lignes de courant (bleu ciel / rouge) simulées à l'intérieur du dispositif (bleu foncé). Pour illustrer plus précisément la forme des lignes de courant, 3 d'entre elles sont représentées en rouge.

5.2 Matériel et méthodes

Les éléments présentés ici ont été mis en place grâce au travail de Malo Sajous, qui a réalisé un stage de M1 que j'ai pu co-encadrer. Malo Sajous a rafiné un premier code de calcul que j'avais mis en place avant le début de son stage. Dans le détail, Malo a participé au développement de la prise en compte de la polydispersité, de la rotation des cellules, des effets de la floculine, de la répulsion entre les cellules, et de l'interaction entre les cellules et le fluide.

5.2.1 Géométrie expérimentale

Comme mentionné dans les chapitres précédents, la géométrie expérimentale consiste en un canal fin et très large (voir figure 5.1). Pour représenter cette géométrie, et pour simplifier les calculs, on se place donc dans l'ensemble de ce chapitre dans un cas purement 2D. C'est à dire que la coordonnée z de toutes les particules, donnant la position de leurs centres de masse dans l'épaisseur du dispositif, est fixée à $z = H/2$, avec H l'épaisseur du dispositif. Les interactions entre les particules et les parois hautes ($z = H$) et basses ($z = 0$) sont alors négligées.

5.2.2 La méthode DEM

La méthode des éléments discrets adopte le formalisme Lagrangien pour simuler le mouvement de particules et correspond ici à celle formulée par Cundall et Strack (1979). L'interaction des particules entre elles et avec les parois du dispositif simulé est prise en compte contact par contact, et le mouvement des particules est modélisé particule par particule. Lorsque les sphères entrent en contact, elles peuvent s'interpénètrer numériquement (voir figure 5.2). Les forces générées par le contact dépendent alors du chevauchement entre particules, ce qui permet donc en pratique de simuler la déformabilité de celles-ci.

Convention de notations

Pour faciliter la description, on considère le cas où seulement deux particules se touchent, comme schématisé sur la figure 5.2, et on se place dans le plan $z = H/2$, où les centres des particules sont tous localisés. Les coordonnées des centres des sphères sont notées O_1 et O_2 et on se réfère à un système

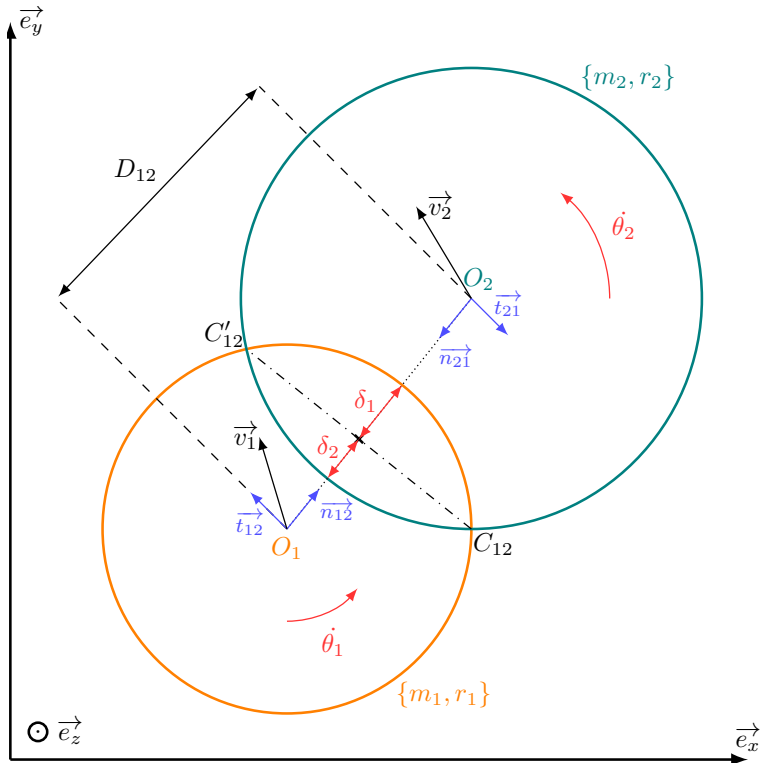

FIGURE 5.2 – Représentation schématique de la géométrie du contact entre deux particules sphériques de rayons r_1 et r_2, leurs centres de masse sont notés O_1 et O_2.

de coordonnée cartésien (x, y). Les vecteurs vitesses instantanées [2] sont notés $\overrightarrow{v}_i$ avec $i \in [1, 2]$, et les vitesses de rotation $\dot{\theta}_i$. Pour chaque contact, on définit un vecteur normal $\overrightarrow{n}$ et un vecteur tangentiel $\overrightarrow{t}$ au contact. Chaque vecteur normal est orienté. On définit par exemple $\overrightarrow{n}_{12}$ comme étant le vecteur normal à la zone de contact orienté du centre de la particule 1 vers le centre de la particule 2. Par convention, les vecteurs tangentiels sont définis afin que $(\overrightarrow{n_{ij}}, \overrightarrow{t_{ij}}, \overrightarrow{e_z})$ définisse une base directe. Les vitesses angulaires sont prises positives dans le sens trigonométrique. Les cellules 1 et 2 sont de rayon et masse r_i et m_i, respectivement. Deux cellules ne sont en contact que si la distance D_{12} entre leurs centres est inférieure à la somme de leur rayon.

Interactions fluide-particules

Simulation de l'écoulement fluide : Afin de représenter l'écoulement fluide à travers la géométrie expérimentale, une simulation numérique a été réalisée par Malo Sajous grâce au logiciel StarCMM+, en l'absence de cellules. Le champ de vitesse est ensuite moyenné sur la coordonnée z. Les lignes de courant correspondantes sont illustrées sur la figure 5.1. Elles sont parallèles loin du pore avant de converger vers celui-ci.

Nous faisons alors l'hypothèse que la direction de l'écoulement moyen (l'écoulement superficiel) n'est pas impacté par la présence des particules. Cependant, la présence des particules ralentit l'amplitude des vitesses fluides. Dans un premier temps, cette résistance à l'écoulement est calculée d'après la relation de Kozeny-Carman, introduite dans le chapitre 1. On a alors :

$$J = \Delta P^\star \frac{1}{S_t R_m + 9\dfrac{\eta L K_k (1-\phi)^2}{\phi^3 \langle r^2 \rangle}} \tag{5.4}$$

avec J [m.s^{-1}] la vitesse superficielle ou vitesse de filtration [3], $\Delta P^\star$ [Pa] la pression hydrodynamique

2. Dans tout ce chapitre les vitesses des particules et leur accélération sont mesurées par rapport à un référentiel Galiléen. De même les théorèmes généraux de la mécanique newtonienne sont appliqués dans des référentiels galiléens.

3. On rappelle que $J = Q/S_t$ avec Q le débit de liquide qui traverse le milieu poreux considéré, et S_t la surface

appliquée à l'écoulement, S_t [m^2] la surface transverse du dispositif, R_m [Pa.s.m^{-3}] la résistance hydrodynamique du dispositif à vide, η [Pa.s] la viscosité du liquide, L [m] la longueur du milieu poreux, $\langle r^2 \rangle$ [m^2] la moyenne des rayons des cellules au carré, ϕ la porosité du milieu calculée directement à partir des positions (et des rayons) des particules simulées, et K_k la constante de Kozeny, fixée à 4.5.

Dans un second temps, la norme de la vitesse en tout point de l'écoulement est multipliée par un facteur correctif, pour que le débit à travers le dispositif soit égal à JS_t.

Forces induites par l'écoulement fluide sur chaque particule La force induite par l'écoulement fluide sur les particules est calculée suivant la formule suivante, issue de Kloss *et al.* (2012) et adaptée d'après les éléments discutés par Beetstra (2005) pour représenter à la fois la portance et la trainée provoquées par le fluide [4], et qui trouve son origine dans la loi de Kozeny-Carman :

$$\overrightarrow{F_{f\to i}} = \frac{9V_iK_k(1-\phi)}{\phi^3 r_i^2}\eta\left(\overrightarrow{J} - \overrightarrow{v_i}\right) \tag{5.5}$$

avec $\overrightarrow{J}$ la vitesse superficielle du fluide mesurée à la position où est située la particule, $\overrightarrow{v_i}$ la vitesse de la particule, r_i son rayon et V_i son volume.

Comme mentionné au chapitre 1, ce type de modélisation est fortement critiquable, parce qu'elle est relativement peu précise. De plus, elle se base sur la mesure de la porosité du bouchon entier. Or, comme montré lors du chapitre 3, la densité en cellule est variable spatialement, si bien que la porosité est également variable à l'intérieur du bouchon. Par ailleurs, les valeurs de porosité sont calculées à partir d'un arrangement 2D de particules situées dans une géométrie 3D. Dans le détail, cette porosité est calculée selon :

$$\phi = 1 - \frac{4\pi \sum_{i\in[1,N]} r_i^3}{3HS_c} \tag{5.6}$$

avec N [-] le nombre de particules, S_c [m^2] la surface occupée du bouchon, H [m] la hauteur du dispositif. Comme on a considéré des empilements purement 2D (les particules sont bloquées en $z = H/2$), la porosité calculée est surestimée par rapport aux expériences, ce qui provoque une sous-estimation de la résistance hydrodynamique du bouchon. Ce point a été confirmé par des investigations numériques supplémentaires, qui ont montré que la résistance hydrodynamique du bouchon simulé a été largement sous-estimée, si bien que la formule 5.4 conduit à une sous-estimation des efforts appliqués sur le bouchon. Dans le détail, ces investigations ont montré qu'environ 42% de la pression appliquée est transmise aux particules du bouchon, le reste étant perdu dans la résistance hydrodynamique du dispositif R_m.

Dans la suite, les données de pression appliquée ont été corrigées de manière *ad-hoc*. C'est à dire que l'on présente une estimation de la pression hydrodynamique effectivement subie (ou transmise) au bouchon, et non pas celle que l'on a appliqué à l'ensemble du dispositif.

Forces normales répulsives - résistance à la compression

La modélisation des forces élastiques se base sur les résultats de deux études menées par Vella *et al.* (2012) et Chang *et al.* (2021). Elle a été précisée en détail dans le chapitre 2 (Supplementary Information 2 de l'article). Nous ne reprenons donc que les résultats les plus importants. Aux petites déformations, la relation entre la force normale exercée par la particule 2 sur la particule 1 suit la loi de contact de Hertz, comme montré expérimentalement par Chang *et al.* (2021) :

$$\overrightarrow{F^r_{2\to1}}(\delta_1 < \delta_{lim}) = \frac{2(\delta_1)^{3/2}(r_1)^{1/2}E}{3(1-\nu^2)}\overrightarrow{n_{21}}, \tag{5.7}$$

avec E le module d'Young d'une cellule aux faibles déformations (estimé autour de 4.5 MPa), ν le coefficient de Poisson (estimé égal à 0.5 aux faibles déformations), et δ_{lim} la limite entre petites

transverse.

4. L'auteur de ce manuscrit montre en particulier que la force totale exercée par le fluide sur les particules est liée à la force de trainée donnée par Kloss *et al.* (2012) grâce à la relation $\overrightarrow{F_{f\to i}} = \overrightarrow{F_d}/\phi$ avec $\overrightarrow{F_d}$ la force de trainée visqueuse.

déformations et grandes déformations. Par ailleurs, de l'étude de Vella *et al.* (2012), on déduit qu'aux grandes déformations, la relation entre force exercée par la particule 2 sur la partie 1 et déformation de la particule 1 s'écrit :

$$\overrightarrow{F^r_{2\to1}}(\delta_1 \geq \delta_{lim}) = (2\pi P_t r_1 \delta_1 + F^r_{lim})\overrightarrow{n_{21}}, \tag{5.8}$$

avec P_t la pression de turgescence d'une cellule de levure (fixée à 0.2 MPa dans les simulations), et F^r_{lim} une constante. Cette constante est estimée à partir des équations 5.7 et 5.8, en supposant que la loi force-déformation est continue :

$$F^c_{lim} = \frac{2E\sqrt{r_1}}{3(1-\nu^2)}\delta^{3/2}_{lim}. \tag{5.9}$$

Enfin, comme dans Vella *et al.* (2012), δ_{lim} est prise égale à 100 nm pour une cellule de 2.5 μm de rayon, soit en fait $\delta_{lim} = r_1/25$.

Ces forces répulsives sont également présentes entre les particules et les parois du dispositif, où elles sont calculées exactement de la même manière.

La troisième loi de Newton

Si la cellule 2 déforme la cellule 1, alors elle applique des forces sur la cellule 1 ($\overrightarrow{F^r_{2\to1}}$). En retour, la troisième loi de Newton établit que la cellule 2 subit une force opposée à la force qu'elle applique sur la particule 1.

Forces adhésives

L'étude de El-Kirat-Chatel *et al.* (2015) explique que la cellule possède en sa surface des brins de protéine (floculine) qui fonctionnent à la manière du velcro. Ces brins s'accrochent entre eux et créent ainsi, une fois attachés, une force résistive aussi bien dans la direction normale que tangentielle. Les auteurs ont ensuite réalisé des expériences pour mesurer la force d'attache et d'arrachement d'un de ces brins de floculine.

El-Kirat-Chatel *et al.* (2015) ont montré que la force nécessaire pour attacher deux brins de floculine ensemble est quasi-nulle. La force d'arrachement d'un brin est d'environ 200 pN. Les auteurs ont également montré que la force nécessaire pour détacher deux cellules est dépendante du temps pendant lequel les cellules sont restées accrochées. De plus, les brins de floculine n'ont pas tous la même longueur. C'est pourquoi, au vu des multiples observations d'El Kirat Chatel, il a fallu faire quelques hypothèses pour simplifier le système tout en restant réaliste. Voici celles émises lors de l'implémentation de ce processus dans le code :

- La force d'arrachement d'un brin f_{floc} est fixée à 200 pN et ne dépend pas du temps de contact préalable.
- Tous les brins de floculine ont une longueur nulle, deux cellules commencent à s'accrocher lorsque les deux cercles qui les représentent commencent à s'entrecroiser.
- La densité surfacique de brins de floculine, appelée c_{floc} par la suite, est un paramètre du modèle dont la valeur est à priori fixée à 400 brins par μm^2, sauf mention contraire.

On considère que la surface ($\mathcal{S}$) de contact des deux cellules est un disque dont le diamètre est représenté par le segment $[C_{12}C'_{12}]$ sur la figure 5.2. La présence de brins de floculine ajoute une force résistive tangentielle et une force résistive d'adhésion normale.

Le calcul des forces associées à ces forces adhésives repose sur une distinction de cas, identique à ce qui est réalisé dans le chapitre 4 au moment de présenter la friction de Coulomb. En effet, ces forces adhésives *s'opposent* au mouvement, car il est rapporté que l'énergie nécessaire à l'accroche des molécules de floculine est très faible, alors qu'il faut une force importante pour les décrocher.

Si l'effort calculé dans la direction tangentielle de la cellule permet d'arracher les brins de floculine, alors la force résistive de la floculine est égale à une valeur maximale F_{seuil}, dont nous détaillons le calcul plus bas. Dans ce cas, les deux cellules peuvent glisser l'une contre l'autre mais subissent une force qui s'oppose au glissement. Dans l'autre cas, si l'effort tangentiel calculé ne permet pas d'arracher les brins, la force résistive de la floculine s'oppose parfaitement aux efforts tangentiels calculés et empêche ainsi les deux cellules de glisser l'une par rapport à l'autre. De même pour la force normale, les effets

de la floculine empêchent le mouvement, tant que la résultante des efforts appliqués est inférieure à une valeur seuil F_{seuil}.

La valeur de F_{seuil} est modélisée à partir de la surface de contact ($\mathcal{S}$) entre les deux cellules, du nombre de brins par unité de surface et de la force que chaque brin exerce, en supposant que chaque brin présent sur la surface $\mathcal{S}$ peut contribuer aux forces normales (adhésion) et tangentielle (friction) :

$$F_{seuil} = f_{floc} \times c_{floc} \times \mathcal{S}, \tag{5.10}$$

où on peut remarquer que $c_{floc} \times \mathcal{S}$ représente un nombre de brins, et f_{floc} la force exercée par brin.

Enfin, les forces tangentielles développées par la friction développent des moments sur les cellules. En nommant $\overrightarrow{F^{\text{fric}}_{2\to1}}$ cette force tangentielle, le moment qu'elle provoque sur une particule de rayon r_1 vaut :

$$\overrightarrow{M_{\text{fric}}} = (r_1 - \delta_1) \times F^{\text{fric}}_{2\to1} \times \overrightarrow{e_z} \tag{5.11}$$

où on a noté simplement $F^{\text{fric}}_{2\to1} = \overrightarrow{F^{\text{fric}}_{2\to1}} \cdot \overrightarrow{t_{12}}$.

Méthode de résolution

A partir de la cinématique des particules en contact, on peut alors déterminer directement les forces ($\overrightarrow{F_i}$) et les moments ($\overrightarrow{M_i}$) qui s'exercent sur chaque particule. Ces forces sont traduites en mouvement grâce aux théorèmes de la mécanique newtonnienne (théorème de la résultante cinétique, théorème du moment cinétique) :

$$\frac{d(m_i \overrightarrow{v_i})}{dt} = \sum \overrightarrow{F_i} \tag{5.12}$$

et

$$\frac{d(\mathcal{I}_{O_i} \dot{\theta}_i)}{dt} \overrightarrow{e_z} = \sum \overrightarrow{M_{O_i}} \tag{5.13}$$

avec $\mathcal{I}_{O_i}$ le moment d'inertie de la particule i exprimé en O_i, et $\sum \overrightarrow{M_{O_i}}$ la somme des moments appliqués à la particules i, exprimés en O_i. Ces équations sont alors intégrées à l'aide d'une méthode d'Euler, comme dans le chapitre 4. Le pas de temps utilisé est très faible : $\Delta t = 5 \times 10^{-8}$s.

5.2.3 Etat initial et polydispersité

Les simulations présentées dans la suite ont été réalisées à partir d'un état initial parfaitement aléatoire. Afin de réaliser ces simulations, le protocole présenté dans la section 2.4.1 (du chapitre 2) est utilisé pour générer l'empilement initial, en forçant les cellules à se positionner sur le plan $z = H/2$. Dans le détail, la simulation numérique reprend la distribution de taille des cellules mesurée expérimentalement et donnée dans l'article présenté au chapitre 2. Tant que le nombre de 1000 cellules n'a pas été atteint, la simulation de l'empilement initial est réalisée ainsi :

- Définir une nouvelle cellule en choisissant son rayon de manière aléatoire depuis la distribution de taille théorique détaillée dans la partie Supplementary Information 2 de l'article, reproduisant la distribution mesurée :
  - Un tirage aléatoire détermine dans un premier temps si la cellule est une cellule fille (dont le rayon moyen vaut 1.8 μm) ou une cellule mère (dont le rayon moyen vaut 2.35 μm). Dans un tiers des cas, la cellule est une cellule fille, dans deux tiers des cas, c'est une cellule mère.
  - Le rayon de la cellule est alors déterminé par un nouveau tirage aléatoire suivant une loi normale de moyenne et d'écart type qui diffèrent selon que la cellule est mère ou fille (par exemple, pour les cellules mères, la moyenne est de 2.35 μm et l'écart type de 0.15 μm, voir détails dans le Supplementary Information 2 de l'article présenté au chapitre 2). On a alors défini une nouvelle cellule, de rayon donné (r).
- Pour chaque jeu de position possible (x, y), calculer la distance de la nouvelle cellule avec l'ensemble des autres cellules déjà présentes dans le dispositif, et avec les parois latérales (situées à $x = \pm 70\,\mu$m) et avec la paroi du bas (située à $y = 0\,\mu$m).
- La cellule est déposée à l'endroit tel que la hauteur (y) est minimale mais où elle ne touche aucune cellule déjà présente dans le dispositif. Si deux positions répondent à ce critère, la position avec la coordonnée x la moins grande est choisie par défaut.

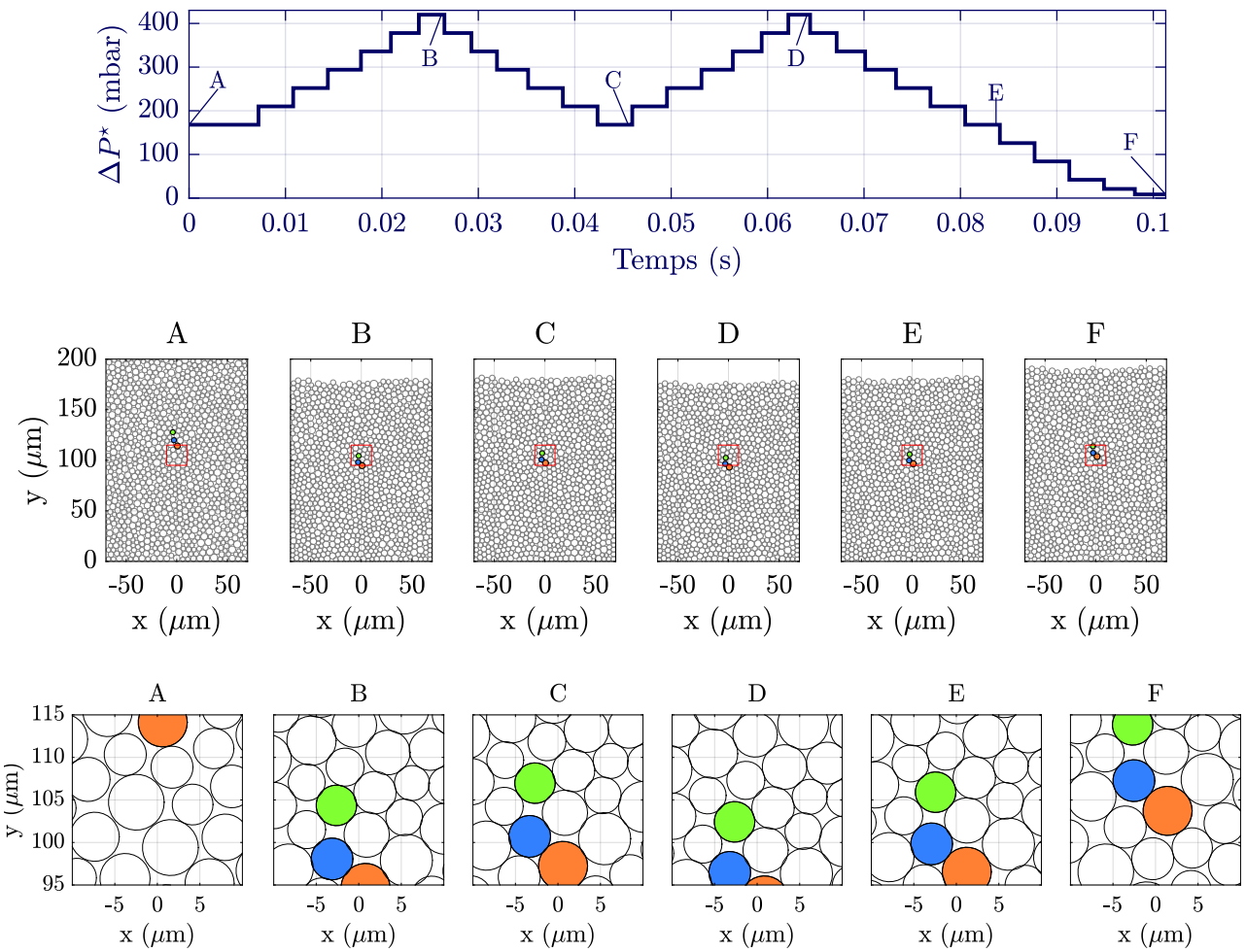

FIGURE 5.3 – Rangée du haut : Cycles de compression/décompression imposés au bouchon formé d'une assemblée aléatoire de particules (A). Rangée du milieu : images représentant les positions des particules aux différents instants des cycles. Certaines particules sont colorées de manière arbitraire. Rangée du bas : Mêmes images que la rangée du milieu mais agrandies sur une zone du bouchon (zone rouge sur la rangée du milieu).

5.3 Résultats et discussion

5.3.1 Cycles de compression/décompression

A partir de l'état initial décrit section 5.2.3, deux cycles de compression/décompression sont imposés au bouchon comme illustré sur la figure 5.3, en démarrant à une pression de 168 mbar, puis en comprimant/décomprimant deux fois le bouchon entre 168 mbar et 420 mbar, avant d'imposer une chute de pression, jusqu'à un peu moins de 10 mbar. Les particules se déplacent alors principalement dans la direction $\overrightarrow{e_y}$: vers le bas lors des compressions, vers le haut lors des décompressions (voir illustration figure 5.3).

5.3.2 Mesure des déplacements

Afin de reproduire les observations expérimentales, la géométrie simulée est divisée en différentes boites carrées, de 20 μm de côté, et espacés entre elles de 10 μm, exactement comme ce qui a été présenté dans le chapitre 3. De la même manière, une marge de 10 μm est prise par rapport aux parois latérales. Mais, à la différence de ce qui est fait dans le chapitre 3, aucune marge n'est fixée en bas du dispositif (la première boite commence à $y = 0\,\mu$m). Les déplacements moyens associés à chaque boite sont alors calculés, comme si les données avaient été acquises par le script présenté au chapitre

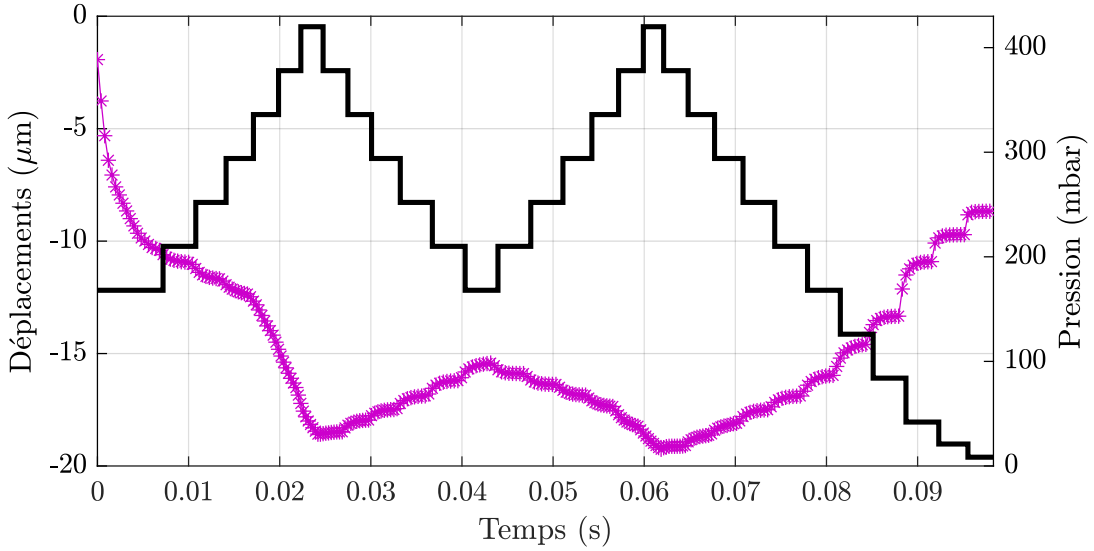

FIGURE 5.4 – Déplacements simulés (en violet) lors de deux cycles successifs de compression. La somme cumulative des déplacements a été calculée, après avoir moyenné les déplacements sur la coordonnée x. Les déplacements sont tracés pour $y = 100\,\mu$m.

3. Par exemple, les déplacements verticaux (selon la direction $\overrightarrow{e_y}$ entre deux instants t et $t + \Delta t$) sont calculés selon la formule suivante :

$$u_s(x, y, t) = \sum_{p \in \mathcal{B}_{x,y}} y_p(t + \Delta t) - y_p(t) \tag{5.14}$$

où on a nommé p les particules qui appartiennent à la boite $\mathcal{B}$ centrée en (x, y) et y_p leur hauteur (coordonnée y). On peut alors, exactement comme au chapitre 3, présenter l'évolution temporelle de ces déplacements, moyennés sur l'horizontale et mesurés à une hauteur donnée ($y = 100\,\mu$m).

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 5.4. Ils mettent en évidence que les déplacements sont importants lors de la première compression, et de moins grande amplitude ensuite. Lors de la dernière décompression, lorsque la pression tend vers 0 mbar, les déplacements sont de grande amplitude, mais le morceau de bouchon considéré ne revient pas dans son état initial. Cela peut s'expliquer par le fait que l'état initial a été construit avec des particules qui sont au contact géométrique, mais pas forcement dans une position d'équilibre mécanique.

Il est possible que les levures n'aient pas atteint une position d'équilibre lors de la première compression (lorsque $\Delta P^\star = 430$ mbar). En effet, l'amplitude du mouvement ne semble pas diminuer lorsque cette pression maximale est atteinte. Ce résultat est probablement une conséquence de réarrangements à l'intérieur du bouchon, qui pourraient demander plus de temps que des déplacements collectifs pour se produire. Cependant, lors de la décompression finale, il apparait que les déplacements atteignent une valeur stable à la fin de chaque palier. Ce résultat est notable parce que le temps associé à chaque palier est de l'ordre de 4×10^{-3} s, une valeur bien inférieure à la minute nécessaire à la stabilisation du bouchon lors des expériences. Ce résultat a déjà été observé dans le chapitre précédent. Cependant, dans ce chapitre, on tient compte de la nature granulaire du milieu. Il est donc possible que ce résultat s'explique (i) par le temps important nécessaire à l'écoulement du liquide contenu entre les cellules ou (ii) un comportement visco-élastique des cellules de levures.

Enfin, il est notable que, lors de la décompression finale, les déplacements sont de faible amplitude au début de la décompression, pour $\Delta P^\star \in [150, 400]$ mbar, et d'amplitude plus importante à la fin de la décompression, pour $\Delta P^\star \in [0, 150]$ mbar. Ce point suggère que la réponse mécanique du bouchon est non-linéaire. C'est à dire que le bouchon serait plus rigide aux fortes pressions qu'aux faibles pressions. Ce point sera abordé dans la suite de ce chapitre.

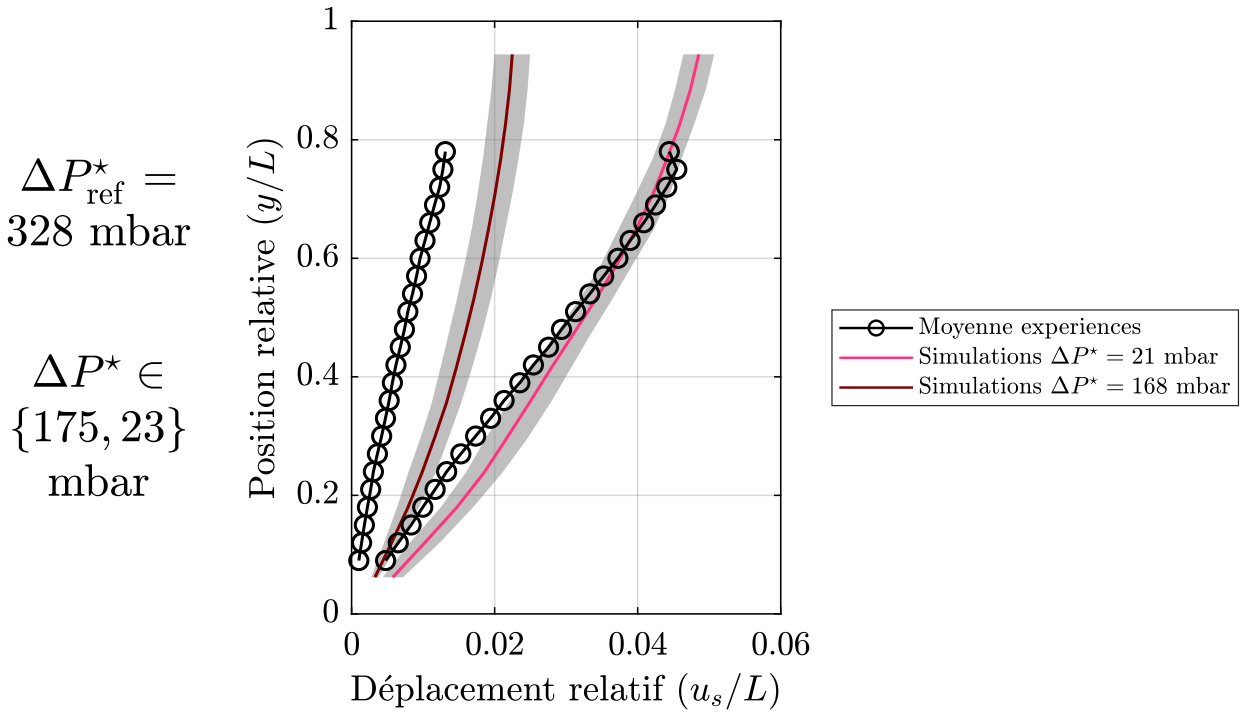

FIGURE 5.5 – Déplacements simulés lors de la dernière phase de décompression (rouge/rose), et comparaison avec les données expérimentales (noir). Les déplacements sont comptabilisés à partir du palier $\Delta P^\star_{\text{ref}} = 328$ mbar (336 mbar pour les simulations numériques) et calculés pour les paliers de 175 mbar (168 mbar pour les simulations) et 23 mbar (21 mbar pour les simulations).

5.3.3 Comparaison aux données expérimentales

Profils de déplacement

Au vu du protocole de simulation numérique utilisé, les seules données expérimentales auxquelles nous pouvons comparer les simulations sont les profils de déplacements relatifs observés lors de la dernière compression. Ces profils ont été observés sur 5 expériences de référence, présentées au chapitre 3. Pour faciliter la comparaison, seuls les profils moyens (c'est-à-dire moyennés sur les 5 expériences de référence) sont présentés, en utilisant le palier de 328 mbar comme palier de référence (c'est à dire que les déplacements sont comptés à partir de la position du bouchon lors de ce palier). Ces profils sont alors présentés pour les paliers de 175 mbar et 23 mbar sur la figure 5.5. Ils sont comparés aux déplacements simulés, où l'on a choisi le palier de 336 mbar comme palier de référence et où les profils sont mesurés pour des pressions de 168 mbar et 21 mbar. Enfin, 3 simulations ont été réalisées, en partant d'état initiaux aléatoires et différents (voir section 5.2.3).

Les résultats montrent une très bonne reproduction de l'amplitude et du profil de déplacement associé à la dernière décompression. Ce résultat est très satisfaisant, dans la mesure où aucune étape de calibration n'a été réalisée : les paramètres du modèle sont ceux pris directement de la littérature. De plus, ce résultat est marquant, parce que c'est cette étape du profil de décompression qui était la plus mal représentée par le modèle continu présenté dans le chapitre précédent. Cela montre que l'erreur qui a été faite dans le chapitre précédent provient de la nature granulaire du milieu (et de la réponse mécanique associée à ce type de milieu).

Les déplacements associés au palier de 175 mbar sont surestimés par les simulations numériques, ce qui était déjà le cas lors du chapitre précédent et qui été interprété comme une conséquence du protocole expérimental, où le bouchon n'a pas atteint un état stable lors de ce palier.

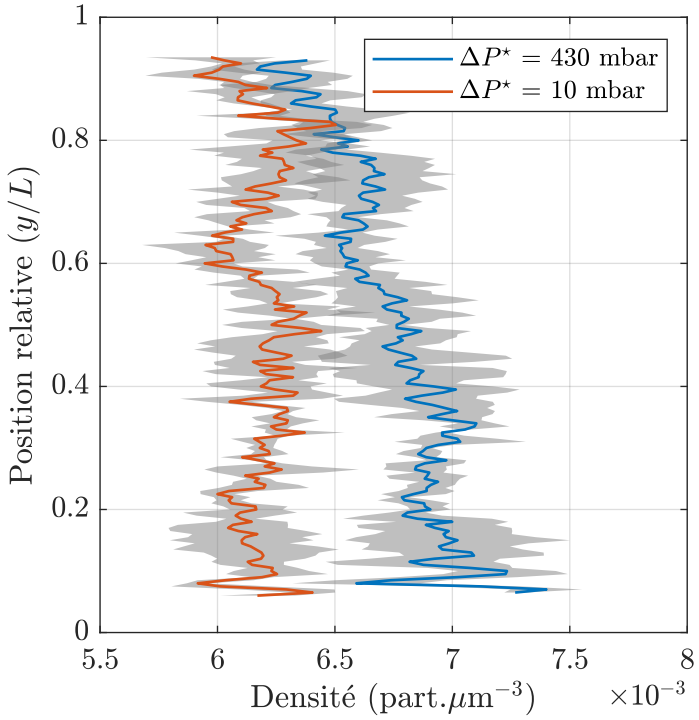

FIGURE 5.6 – Densité de particules à l'intérieur du bouchon lors de la fin de la seconde compression (bleu, instant D sur la figure 5.3), et lors de la fin de la décompression finale (orange, instant F). La courbe colorée correspond à la valeur moyenne mesurée lors des 3 simulations, la zone grisée à l'écart-type.

Densité en cellules

A partir de la position des centres des cellules, la densité locale en cellule peut être calculée, en mimant les méthodes utilisées lors des expériences (tout en simplifiant un peu l'analyse). Des boites de 40 μm de hauteur et 140 μm de largeur sont placées régulièrement dans le bouchon. Les cellules appartenant à ces boites sont comptées et le nombre de cellule est ensuite divisé par la surface de la boite et par la profondeur du dispositif ($H = 6.15\,\mu$m). Cela permet de calculer un profil de densité, à différents instants des cycles de compression. Ces profils sont calculés à la fin de la seconde compression (instant D sur la figure 5.3) et à la fin de la seconde décompression (instant F). Les profils obtenus sont présentés sur la figure 5.6, pour les 3 simulations réalisées.

Quelque soit l'instant des cycles, la valeur de densité simulée est largement inférieure à celle mesurée expérimentalement. Ce résultat peut s'expliquer par la géométrie purement 2D que nous avons employée dans cette étude. Cette géométrie contraint les cellules à occuper plus d'espace que si elles pouvaient s'arranger sur toute la profondeur du dispositif, comme cela a été simulé dans la section 2.4.1 (du chapitre 2).

La densité mesurée lors de la fin de la compression est supérieure à la densité mesurée lors de l'état final. De plus, un gradient de densité est visible : l'assemblée de cellules est plus compacte en bas du bouchon qu'en haut du bouchon, ce qui est en accord avec la théorie poroélastique présentée précédemment, et avec les expériences présentées au chapitre 3.

5.3.4 Estimation des contraintes à l'intérieur du bouchon

Contrairement aux expériences, les simulations numériques permettent d'estimer directement les contraintes à l'intérieur de l'agrégat de cellules. Un premier exercice de visualisation consiste alors à calculer, pour chaque contact, la norme des forces normales répulsives qui s'exercent entre les cellules. Ces résultats sont présentés sur la figure 5.7, pour un bouchon soumis à une pression de $\Delta P^\star = 430\,$mbar.

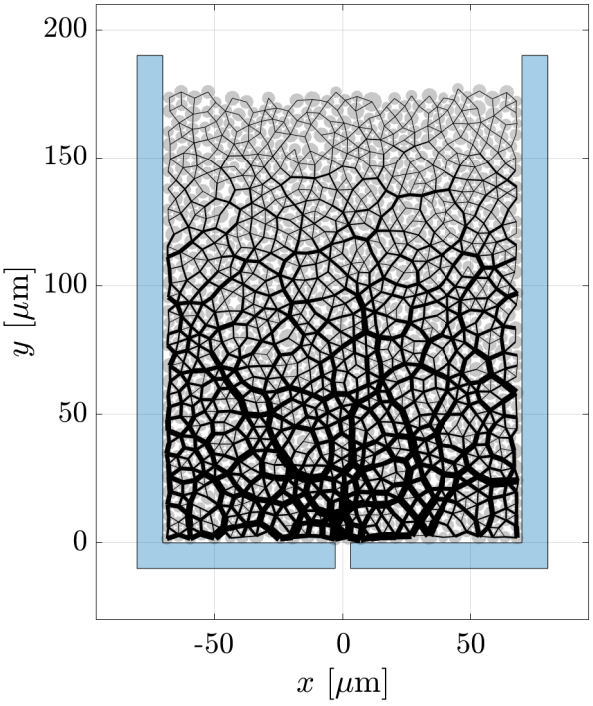

FIGURE 5.7 – Intensité des répulsions élastiques entre cellules. Les cellules sont représentées par des disques gris. Pour chaque paire de cellules en contact, on représente par un trait noir le contact, dont l'épaisseur est proportionnelle à la norme des forces répulsives entre cellules.

Ils montrent que les cellules situées en bas du dispositif subissent des forces compressive d'amplitude importante, notamment à proximité du pore, alors que les cellules situées en haut du bouchon interagissent faiblement entre elles. Ces résultats mettent également en évidence l'hétérogénéité des forces à l'intérieur d'un bouchon. Certaines cellules sont présentes en bas du bouchon mais subissent des contraintes compressive de faible amplitude, comparé à leurs voisines. Cette observation s'explique par l'apparition de chaînes de forces à l'intérieur de l'assemblée granulaire.

Contraintes et déformations du bouchon

Les résultats précédents sont illustrativement intéressant mais leur interprétation quantitative n'est pas directe. D'une part, ils représentent uniquement les forces répulsives entre cellules, et ignorent donc l'effet des forces adhésives et tangentielles provoquées par les brins de floculine. D'autre part, ces résultats sont établis à l'échelle de la cellule unique, alors que la contrainte mécanique du matériau peut être différente de celle des cellules individuelles.

Afin de calculer les contraintes mécaniques à l'intérieur du bouchon, nous reproduisons l'approche de Goldhirsch et Goldenberg (2002). Celle-ci consiste à moyenner les forces de contact entre cellules et les déplacements des cellules pour déterminer les contraintes et les déformations localement dans l'assemblée granulaire. Le bouchon est découpé comme précédemment en boites carrées de 20 μm de côté. A l'intérieur de chaque boite, la contrainte mécanique est alors définie comme :

$$\sigma'_{ij}(x,y,t) = \frac{1}{V_{\mathcal{B}_{x,y}}} \left(\sum_{p_1,p_2 \in \mathcal{B}_{x,y}} \overrightarrow{F_{2\to1}}(t) \cdot \vec{e_i} \times \frac{1}{2} \overrightarrow{O_1O_2}(t) \cdot \vec{e_j} \right) \tag{5.15}$$

avec $V_{\mathcal{B}_{x,y}}$ le volume de la boite $\mathcal{B}_{x,y}$ centrée en (x,y), et où on a simplifié la prise en compte des particules localisées à la frontière de la boite $\mathcal{B}_{x,y}$ (en ne considérant que les particules dont le centre est localisé dans la boite). De même, nous négligeons le deuxième terme de l'équation (5) de Goldhirsch

et Goldenberg (2002) qui représente les « contraintes cinétiques », négligeables dans notre cas parce que nous réalisons l'analyse sur un état stabilisé du bouchon.

Pour calculer la déformation du milieu granulaire, il faut avoir accès au champ de déplacement. Ces déplacements sont d'abord calculés pour toutes les particules individuelles ($\overrightarrow{u_p}(t)$), en calculant pour chaque instant le déplacement de la particule depuis un état au repos. Dans notre cas, cet état au repos est choisi comme étant l'état final, où la pression appliquée est très faible (état F sur la figure 5.3). Le déplacement moyen pour chaque boite est alors calculé en réalisant la moyenne des déplacements des particules individuels, pondérée de la masse des particules :

$$\overrightarrow{u}(x,y,t) = \frac{\sum_{p\in\mathcal{B}_{x,y}} m_p \overrightarrow{u_p}(t)}{\sum_{p\in\mathcal{B}_{x,y}} m_p} \tag{5.16}$$

où on a utilisé les formules de Goldhirsch et Goldenberg (2002) en supposant que le déplacement était bien décrit par une description eulérienne du mouvement, comme dans le chapitre 4 (on a donc utilisé la formule 12 de l'article en question), et en négligeant les effets de bord (c'est à dire, en ne comptant que les particules dont le centre est présent dans la boite).

Le tenseur des déformations est alors calculé comme :

$$\boldsymbol{\varepsilon}(x,y,t) = \frac{1}{2}\left(\boldsymbol{\nabla}\overrightarrow{u}(x,y,t) + \boldsymbol{\nabla}\overrightarrow{u}(x,y,t)^T\right) \tag{5.17}$$

où on note $\cdot^T$ l'opérateur transposée et $\boldsymbol{\nabla}$ l'opérateur gradient. En pratique, ce gradient est calculé par un schéma aux différences finies exactement similaire à celui décrit dans la section 4.3.3 du chapitre 4. Ce schéma est un schéma centré à l'intérieur du domaine à discrétiser, et décentré amont/aval aux bords du domaine (voir chapitre 4 pour plus de détails).

Les valeurs des déformations et des contraintes obtenues sont présentées sur la figure 5.8, où on a représenté uniquement les valeurs diagonales des tenseurs en question ($\varepsilon_{xx}, \varepsilon_{yy}, \sigma_{xx}$, et σ_{yy}), pour un bouchon comprimé à $\Delta P^\star = 430$ mbar. Ces résultats mettent en évidence que les contraintes et les déformations ne sont pas uniformes dans le bouchon forcé par un écoulement fluide. Elles sont maximales (en valeur absolue) en bas du bouchon, proche du pore, et minimales en haut du bouchon. Au niveau du pore, on peut noter que les amplitudes des contraintes sont telles que $\sigma_{yy} \approx -\Delta P^\star$, ce qui est un résultat prédit par la théorie poroélastique (en l'absence de friction). Ce point signifie que les forces transmises aux cellules ont une amplitude cohérente avec ce qui est attendu, et que les forces des cellules individuelles sont transmises jusqu'en bas du bouchon, ce qui est logique en l'absence de friction avec les parois hautes ($z = H$) et basses ($z = 0$) du dispositif.

Par ailleurs, la déformation selon (xx) est quasi-nulle, sauf près du pore, ce qui est un résultat attendu, car l'écoulement est dirigé selon $-\overrightarrow{e_y}$ partout dans le bouchon, sauf près du pore où il converge et peut donc légèrement comprimer les cellules.

Relation contrainte-déformation

Les analyses présentées précédemment ont été reproduites pour les 3 expériences numériques réalisées et pour l'ensemble du dernier cycle de décompression. Ces données brutes sont alors moyennées pour calculer la déformation moyenne, et l'écart type associé à chaque niveau de contrainte. Dans le détail, les données de déformation obtenues à une contrainte égale au niveau de contrainte échantillonné (à $\pm 0.1 \times 10^4$ Pa près) sont moyennées, et l'écart type est calculé.

Les résultats obtenus sont présentés sur la figure 5.9, et montrent que le comportement mécanique du bouchon est fortement non-linéaire aux faibles contraintes ($\sigma'_{yy} < 2 \times 10^4$ Pa) et semble devenir linéaire pour des contraintes plus importantes ($\sigma'_{yy} > 2\times 10^4$ Pa). Ce résultat peut être une conséquence (i) des réarrangements qui pourraient avoir lieu pour des faibles contraintes à l'intérieur du bouchon (même si ce point n'a pas encore été quantifié), et (ii) du comportement mécanique non-linéaire des cellules de levures aux faibles déformations.

De plus, le fait que le bouchon suive une loi de comportement linéaire pour des contraintes supérieures à 2×10^4 Pa, pourrait expliquer pourquoi la loi de comportement élastique linéaire a montré de si bons résultats dans le chapitre précédent. En effet, peut être qu'à partir d'une certaine contrainte,

les réarrangements deviennent faibles à l'intérieur du bouchon, et la loi de comportement des cellules individuelles devient également linéaire.

Enfin, il est notable que, pour ces contraintes supérieures à 2×10^4 Pa, $\sigma'_{yy} \sim 0.5 \times 10^6 \varepsilon_{yy}$ (voir figure 5.9). En d'autres termes, en négligeant la friction avec les parois hautes et basse du dispositif, et en utilisant les lois de comportement issues de la littérature, nous trouvons que pour des contraintes supérieures à 2×10^4 Pa, le bouchon se comporte comme un matériau élastique linéaire, de module œdométrique $\mathcal{M} \approx 0.5$ MPa, ce qui correspond exactement à la loi de comportement linéaire qui est ajustée à partir du modèle développé dans le chapitre précédent. Pour rappel, ce modèle a été ajusté sur des déplacements mesurés dans des gammes de pression relativement élevée ($\Delta P^\star$ entre 328 mbar et 775 mbar), a pris en compte les effets de la friction entre le bouchon et les parois haute ($z = H$) et basse ($z = 0$) du dispositif, et a trouvé un bon accord avec les données expérimentales lorsque le matériau élastique a un module œdométrique $\mathcal{M} = 0.5$ MPa.

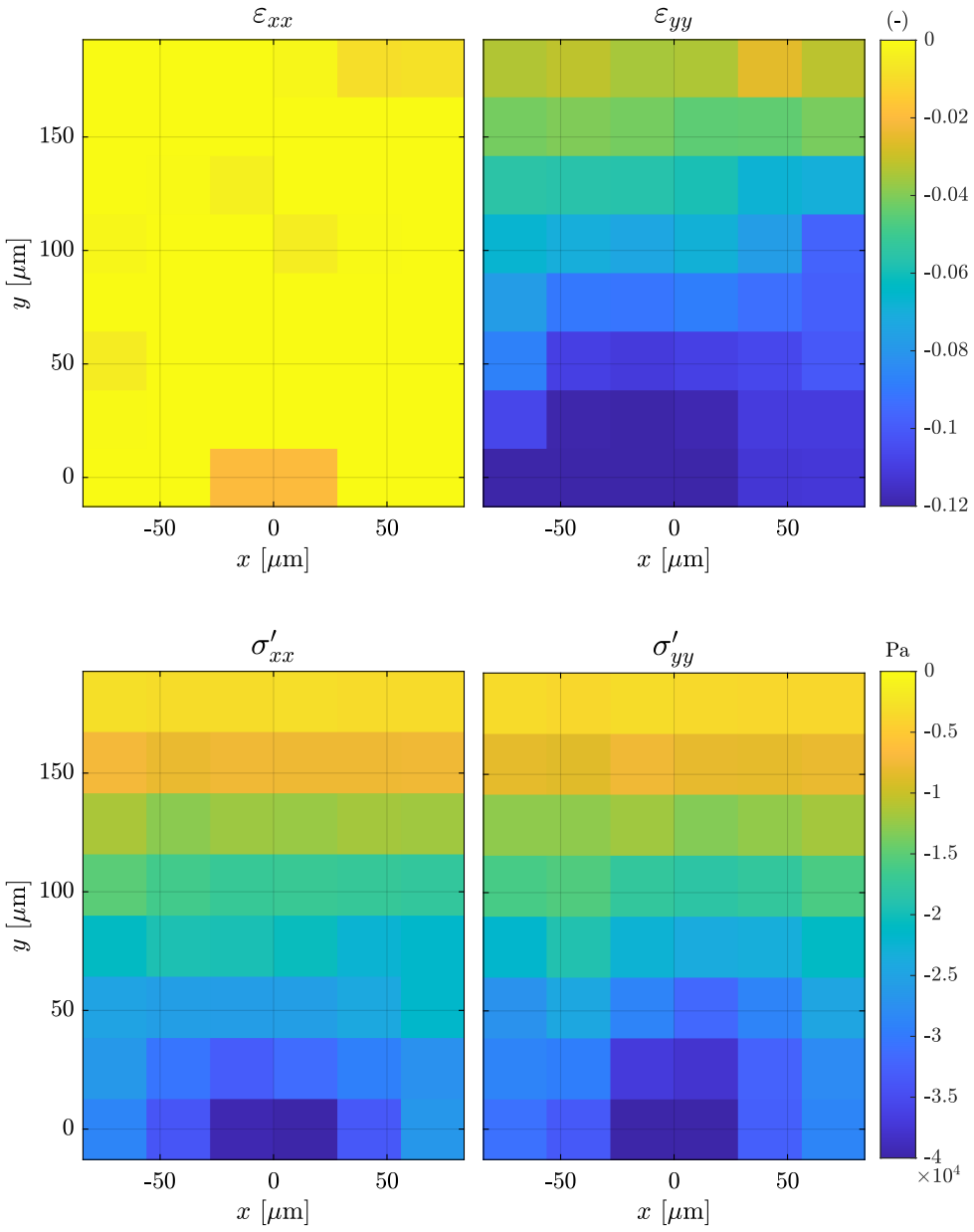

FIGURE 5.8 – Composantes (xx, à droite) et (yy, à gauche) des tenseurs des déformations (haut) et contraintes (bas) à l'intérieur du bouchon simulé. Les valeurs négatives des déformations/contraintes correspondent à un état comprimé du bouchon.

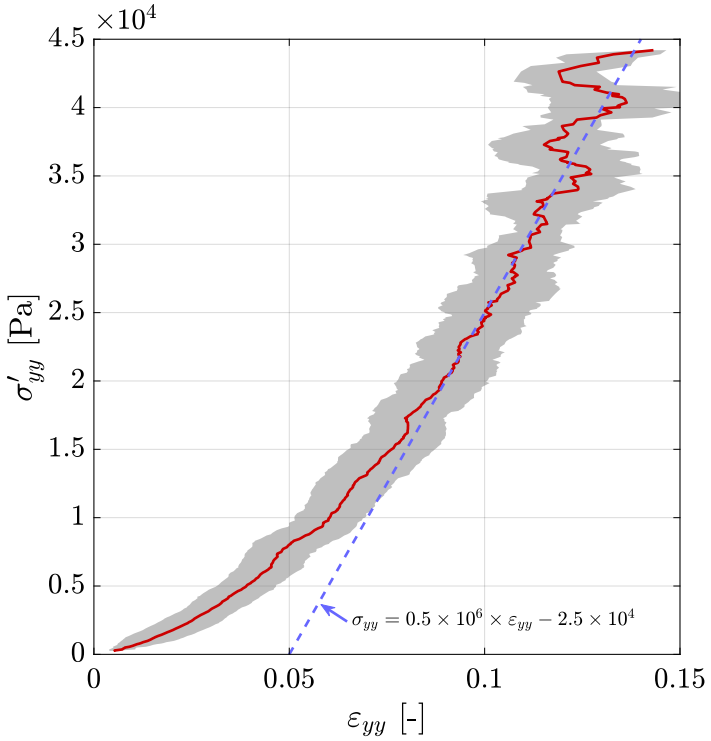

FIGURE 5.9 – Relation entre contraintes et déformations simulées à l'intérieur du bouchon, lors du dernier cycle de décompression. Les valeurs moyennes (trait rouge gras) sont établies à l'aide d'une fenêtre glissante. L'écart-type sur la déformation mesurée, pour une gamme de contrainte donnée, est représentée par une surface colorée en gris. La courbe bleue est une courbe théorique, dont l'équation est indiquée sur la figure.

5.4 Conclusions et perspectives

En conclusion, le comportement mécanique des bouchons de levure a été simulé grâce à des simulations à l'échelle des cellules uniques. Ces simulations ont très bien reproduit certains résultats, tant qualitativement que quantitativement. Les profils de déplacement lors de la dernière décompression, mesurés entre 328 mbar et 23 mbar ont été reproduits avec une qualité supérieure à ce qui avait été fait dans le chapitre précédent, et ce, en l'absence totale de calibration du modèle. De plus, à partir des propriétés des cellules individuelles, les simulations ont mis en évidence un comportement mécanique identique à celui qui été ajusté dans le chapitre précédent, pour des contraintes relativement élevées.

Les résultats de ce chapitre sont cependant différents de ceux présentés précédemment. En particulier, ils ont mis en évidence un comportement mécanique non-linéaire aux faibles contraintes, alors que le modèle présenté au chapitre précédent était basé sur une loi de comportement élastique linéaire. Ce point était une limitation du chapitre précédent, et ce chapitre met en évidence que la réponse non-linéaire est une conséquence du comportement mécanique des levures et de la nature granulaire du bouchon formé.

Par ailleurs, les valeurs de densité sont largement inférieures à celles mesurées expérimentalement, une conséquence probable du choix de représenter l'assemblée granulaire par une assemblée purement 2D. Selon les résultats de la littérature, il est donc étonnant que l'on ait réussi à reproduire des déplacements proches des déplacements mesurés. En effet, un résultat largement rapporté (Luding *et al.*, 2001) est que la raideur effective d'un matériau formé de grains est proportionnelle à la trace du tenseur de fabrique (*fabric tensor*, en anglais) [5], dont la valeur vaut, pour des particules monodisperses, $(1-\phi)Z$ avec $(1-\phi)$ la fraction volumique solide et Z le nombre de contacts moyen par cellule (aussi

5. Ce tenseur caractérise le matériau considéré et l'arrangement géométrique des particules à l'intérieur du matériau. Pour plus de détails voir notamment Cowin (1985).

appelé nombre de coordination). Dans notre cas, il est étonnant que la raideur effective du matériau soit bien approximée par nos simulations, alors que la densité simulée est beaucoup plus faible que la densité observée lors des expériences. L'analyse théorique de ce résultat dépasse le cadre de cette thèse, mais il est possible que l'on ait réussi à simuler correctement le comportement mécanique de l'assemblée parce que, expérimentalement, les cellules se disposent en quinconce (une observation faite lors de l'exercice de modélisation du chapitre 2, section 2.3.2). Il est donc possible que nous ayons correctement estimé le tenseur de fabrique de l'assemblée cellulaire confinée, mais que sa trace soit différente de $(1-\phi)Z$, à cause du confinement (et de la polydispersité des cellules).

Il serait donc intéressant de conduire des simulations 3D. Cela permettrait d'une part de valider la représentation purement 2D réalisée ici. Cela permettrait également de représenter la friction des particules avec les parois du dispositif expérimental, et donc d'estimer dans quelle gamme cette friction devient importante, et donc de comparer l'importance relative des frottements aux parois et des frottements entre levures. Ces simulations permettraient également de mieux estimer la valeur du coefficient K présenté dans le chapitre précédent, qui représente le rapport entre σ'_{zz} et σ'_{yy} et qui avait été fixé à 1.

La portée des résultats présentés dans ce chapitre est cependant limitée par le protocole numérique employé, où la pression hydrodynamique au début des simulations est relativement élevée, et où cette première compression est faite en partant d'un état hors d'équilibre, ce qui rend inexploitable les résultats associés à cette première compression. Par ailleurs, du fait d'une sous-estimation de la résistance hydrodynamique du bouchon, la pression maximale imposée au bouchon n'était que de 430 mbar, si bien que la gamme de pression utilisée expérimentalement a été partiellement explorée. Ainsi, il pourrait être intéressant de réaliser de nouvelles simulations numériques en corrigeant ce point, pour représenter correctement les deux cycles de compression (en démarrant à une pression faible et en comprimant l'agrégat jusqu'à 1000 mbar). Il est possible que, dans ce cas, la friction avec les parois du dispositif rende les résultats différents des résultats expérimentaux (car cette friction est négligée dans le modèle présenté dans ce chapitre).

Enfin, les résultats de ce chapitre ouvrent de nombreuses perspectives de recherche :

— Les effets de la lubrification entre particules n'ont pas été pris en compte. En effet, les particules qui sont dans le bouchon sont déjà au contact les unes des autres, si bien qu'on s'attend à ce que les effets de la lubrification deviennent négligeables sur la réponse mécanique de l'agrégat. Cependant, il a été noté que le bouchon simulé réagissait beaucoup plus rapidement que le bouchon expérimental à un créneau de pression. Il est possible que les effets de lubrification entre particules puissent expliquer ce résultat. Réussir à implémenter les effets de la lubrification permettrait alors d'affirmer ou infirmer cette hypothèse.

— On pourrait utiliser les valeurs de perméabilité mesurées au chapitre 2 pour estimer la résistance hydraulique du bouchon. On pourrait alors adapter l'équation 5.4, en prenant en compte une estimation de la perméabilité mesurée. Dans ce cas, elle deviendrait :

$$J = \Delta P^\star \frac{1}{R_m S_t + \dfrac{\eta L}{k}}, \tag{5.18}$$

avec k la perméabilité mesurée. En reprenant les notations précédentes, l'équation 5.5 deviendrait alors :

$$\overrightarrow{F_{f\to i}} = \frac{V_i}{(1-\phi)} \frac{\eta}{k} \left(\overrightarrow{J^{\text{loc}}} - \overrightarrow{v_i} \right), \tag{5.19}$$

ce qui permettrait de vérifier que, comme mentionné par Brinkman (1949) (en supposant que la résistance à vide du dispositif à vide est quasi-nulle) :

$$\Delta P^\star \times S_t = \sum_i \left| \overrightarrow{F_{f\to i}} \right|, \tag{5.20}$$

avec $\sum_i \left| \overrightarrow{F_{f\to i}} \right|$ l'amplitude des forces transmises par le fluide aux particules.

— La mesure des réarrangements n'a pas été effectuée. Plusieurs pistes existent pour quantifier ces réarrangements. On pourrait par exemple calculer la variance (ou l'écart-type) des déplacements mesurés dans les boites utilisées dans la section 5.3.2. Cette manière de faire serait alors

relativement proche des données obtenues expérimentalement. Quantifier ces réarrangements permettrait de déterminer la source de la non-linéarité de la relation contrainte-déformation, mise en évidence dans ce chapitre.

— Il est possible que tous les brins de floculine ne participent pas à l'adhésion. En effet, même si deux cellules s'écartent l'une de l'autre, il est possible que, localement, à cause de la composition des mouvements et de l'élasticité des cellules, certains brins ne soient pas tendus. Par exemple, si deux cellules sont fixées (elles ont des vitesses instantanées $\overrightarrow{v_1}, \overrightarrow{v_2}$ nulles, voir figure 5.2), et si la cellule 1 tourne dans le sens trigonométrique ($\dot{\theta_1} > 0$), quand la cellule 2 tourne en sens inverse ($\dot{\theta_2} < 0$). Dans ce cas, les brins localisés proche du point C'_{12} (voir figure 5.2) contribuent à l'adhésion entre cellules et résistent au mouvement car, localement, les brins appartenant à la cellule 1 s'écartent de la cellule 2. Inversement, les brins proches du point C_{12} ne sont pas *tendus*, c'est à dire qu'ils ne contribuent pas aux forces adhésives parce que, localement, ils sont comprimés les uns contre les autres. On pourrait donc raffiner la modélisation mise en place pour mieux prendre en compte ce phénomène, par exemple, en calculant la vitesse relative des points appartenant à la zone de contact. De même, comme les cellules sont élastiques, il est possible que les brins localisés au centre de la zone de contact ne soient pas sollicités, alors que les brins localisés à la périphérie de la zone de contact sont, eux, tendus. Ce point pourrait alors être raffiné, en adaptant, par exemple, les résultats théoriques de Johnson *et al.* (1971). Enfin, il est possible que les bons résultats obtenus dans ce chapitre soient dûs au fait que nous avons explorée une gamme relativement faible de contraintes, si bien que l'adhésion entre cellules (qui dépend de leur compression préalable) n'a pas été mobilisée pleinement.

— Des investigations supplémentaires, non présentées ici, ont par ailleurs montré que lors des cycles de compression/décompression, les particules simulées peuvent se réarranger grâce à des mouvements de rotation, ce qui a été rapporté comme étant le mécanisme préférentiel de détachement des cellules de levure sur des plaques planes (Guillemot *et al.*, 2006; Mercier-Bonin *et al.*, 2004), mais qui reste à confirmer expérimentalement pour des bouchons de levure.

Enfin, le code de calcul présenté ici pourrait être utilisé pour réaliser différents tests paramétriques (c'est à dire que l'on pourrait réaliser différentes simulations en faisant varier les paramètres du modèle). Des résultats d'intérêt seraient alors d'estimer la sensibilité du comportement mécanique du bouchon à (i) la densité en brins de floculine à la surface des cellules, (ii) la pression de turgescence des levures individuelles et (iii) la rigidité du mur cellulaire. En effet, ces paramètres sont difficilement modifiables expérimentalement, mais pourraient avoir une influence importante sur le comportement mécanique global du bouchon. Enfin, il est possible que la polydispersité joue un rôle sur le comportement mécanique de l'ensemble de l'agrégat, et il pourrait être intéressant de lancer des simulations avec différents niveaux de polydispersité. Ce code de calcul pourrait également être couplé avec d'autres méthodes numériques pour prendre en compte l'écoulement de manière plus réaliste. On pourrait par exemple interfacer ce code à un modèle type réseau de pore, comme dans Catalano *et al.* (2014), ou en le couplant avec un code de calcul résolvant les équations de Navier-Stokes en les discrétisant, comme dans Kloss *et al.* (2012) [6].

6. Pour une discussion plus précise sur les modèles existants permettant de simuler l'écoulement fluide dans un milieu poreux déformable, voir la section 1.3.1, du chapitre 1.

Chapitre 6

Conclusions et perspectives

6.1 Conclusions

La capture de cellules vivantes est un défi technologique, industriel et scientifique. Les filtres couramment utilisés s'encrassent plus rapidement qu'avec des particules inertes et indéformables, si bien qu'ils doivent être régulièrement nettoyés, ce qui interrompt le procédé de filtration. Parfois, l'encrassement est irréversible et le filtre doit être remplacé. Dans d'autres cas, les procédés reposent sur des adjuvants de filtration, qui limitent l'encrassement mais rendent le retentât dangereux pour l'environnement et empêchent son recyclage. D'un point de vue scientifique, la plupart des études traitant du biocolmatage ont été réalisées à l'échelle de la membrane. Cependant, du fait de la nature vivante des particules à filtrer, le biocolmatage est dirigé par de nombreux processus qui interagissent entre eux : c'est un phénomène complexe. De plus, son étude requiert la description de phénomènes qui occupent une large gamme d'échelles spatio-temporelles. Par conséquent, l'état de l'art ne permet pas de dégager de consensus sur ce qui explique la perméabilité et le comportement mécanique des bouchons formés de cellules vivantes.

Dans cette thèse, nous avons étudié le biocolmatage à partir d'observations faites à la micro-échelle et dans une configuration *modèle*. Nous nous sommes focalisés sur un organisme sphéroïdal aux propriétés biologiques et mécaniques bien connues : *Saccharomyces cerevisiae*. De plus, des dispositifs de microfluidique aux dimensions bien contrôlées ont été développés : un canal très large à la profondeur légèrement supérieure au diamètre moyen des cellules débouche sur un pore unique. Selon l'objectif de l'expérience, ce canal (et ce pore) peuvent être dédoublés, ce qui permet d'observer le rapport de débits entre les deux canaux. Ces observations ont ensuite été analysées grâce à une pluralité d'approches. Des algorithmes de traitement d'images ont été mis au point pour quantifier la résistance hydrodynamique des bouchons, et distinguer les déplacements collectifs des réarrangements observés à l'intérieur du bouchon ; puis ces analyses ont été complétées par des modèles analytiques et des simulations numériques, ce qui offre un premier cadre théorique pour l'étude du biocolmatage aux petites échelles.

Les observations ont montré que la perméabilité de bouchons construits à pression constante diminue à mesure que l'intensité du forçage hydrodynamique augmente, avant d'atteindre un plateau. Ces résultats sont interprétés comme une conséquence du fort confinement du dispositif expérimental. À cause de celui-ci, l'écoulement se produit majoritairement entre les parois du dispositif et les cellules, à travers un réseau formé de deux types de pores : des pores de relativement petite taille localisés entre deux cellules et la paroi et des pores de plus grande taille, dont l'origine provient des effets d'exclusion géométrique. Un modèle analytique est proposé et représente ce double réseau de pores. Il indique que lorsque la pression augmente, les cellules se déforment et les pores de petites taille se ferment progressivement, ce qui diminue la perméabilité du bouchon. Aux hautes pressions, la perméabilité devient constante car ces petits pores sont clos, et l'écoulement passe à travers le réseau de pores plus gros, peu affecté par les changements de pression. Par ailleurs, les analyses de la microstructure des bouchons ne révèlent pas de changement observables lorsque la pression change. Ce point est expliqué par la polydispersité des cellules, qui complexifie l'analyse de la microstructure, et appelle un second type d'expériences, pour étudier le comportement mécanique d'un bouchon de levures. Pour cela, des

cycles de compression/décompression ont été réalisés sur des bouchons déjà construits, en modifiant l'intensité (ou la nature) du forçage.

Ces cycles ont mis en évidence la nature *poreuse* et *déformable* des bouchons formés. L'analyse des mouvements collectifs et des réarrangements au sein du bouchon a mis en évidence que le comportement mécanique du bouchon s'écartait des prédictions de la théorie poroélastique et des interprétations classiques de la littérature traitant des milieux poreux déformables génériques. Une hystérésis apparait lorsqu'on trace les déplacements en fonction de la pression appliquée, mais également dans les données de résistance hydraulique, ce qui est le marqueur d'une dissipation de l'énergie mécanique fournie. De plus, cette dissipation d'énergie est localisée dans la zone où les réarrangements sont les plus faibles : en bas du bouchon, proche du pore. Des résultats complémentaires suggèrent qu'après une compression, les contraintes restent importantes à l'intérieur du bouchon, alors que la pression hydrodynamique a été relâchée. Par ailleurs, lorsqu'on sollicite le bouchon avec un piston imperméable, celui-ci se bloque après la première phase de compression : lors des compressions et décompressions suivantes, une grande partie du bouchon reste quasi-immobile. De plus l'analyse fine des déplacements a révélé que lors des phases de décompression, une compression de faible amplitude est observable dans la partie basse du bouchon (localisée proche du pore) alors que le haut du bouchon se décomprime.

Ces observations, peu intuitives, révèlent un couplage entre (i) l'écoulement fluide à travers le bouchon, (ii) la déformation du bouchon et (iii) la friction du bouchon contre les parois du dispositif. Ce couplage a été mis en équation avec une approche continue, et les équations ont alors été résolues de manière analytique (dans des configurations simplifiées) et numérique. Le module œdométrique ($\mathcal{M}$) et le coefficient de friction (μ) sont alors estimés à partir de deux profils de déplacement (un en compression, l'autre en décompression). Les résultats du modèle sont comparés aux expériences et montrent que l'ensemble du cycle hystérétique observé dans les déplacements est bien reproduit à partir du moment où la friction est représenté, tout comme la compression d'une partie du bouchon lors des décompressions réalisées avec un piston imperméable. Cet exercice montre alors que lorsque le bouchon est comprimé, puis que les contraintes sont relâchées progressivement, la friction bloque le bouchon dans son état comprimé. Cependant, ce modèle reproduit assez mal les déplacements observés lorsque les contraintes sont faibles (en haut du bouchon, et au début de la compression), et ne permet pas de faire le lien entre comportement effectif du bouchon et comportement mécanique des cellules individuelles.

La nature granulaire des bouchons a donc été modélisée, afin de mieux comprendre le comportement mécanique des bouchons observés. A partir des propriétés mécaniques des cellules individuelles, directement reprises de la littérature, le comportement mécanique du bouchon est reproduit fidèlement. En particulier, les déplacements sont reproduits de manière correcte pour des faibles intensités de forçage, et on montre que le comportement mécanique du matériau formé par le bouchon est en partie non-linéaire, au moins lorsque les contraintes sont faibles, une conséquence des réarrangements au sein du bouchon et du comportement mécanique individuel des cellules.

L'ensemble de ces résultats suggère que les bouchons de levure confinés ont des propriétés poromécaniques proches de celles d'un milieu théorique relativement simple : ils suivent les lois de la poroélasticité linéaire, à condition de prendre en compte les effets de friction avec les parois. Ce comportement peut paraître surprenant. En effet, en utilisant des particules biologiques, on aurait pu s'attendre à des comportements mécaniques non-linéaires, même en l'absence de prolifération. Ce résultat, obtenu pour des pressions supérieures à 300 mbar, est probablement le fruit de deux effets. D'une part, au-delà de cette valeur de pression, la perméabilité pourrait devenir uniforme à l'intérieur du bouchon, comme le suggère la modélisation du chapitre 2. D'autre part, il est possible qu'au-delà d'un certain seuil de contrainte, le comportement mécanique du bouchon se rapproche de celui d'un milieu élastique linéaire, un résultat soutenu par les simulations numériques mises en place au chapitre 5.

6.2 Ouvertures

6.2.1 La filtration

Remis dans le contexte des études sur la filtration de particules biologiques, l'ensemble de ces résultats permet d'éclairer sur les processus en jeu lors du biocolmatage. En particulier, il a été montré que les interactions avec des parois rigides pouvaient significativement altérer à la fois la perméabilité et le comportement mécanique d'un bouchon de levures. Or, dans la littérature, il est largement rapporté qu'un critère de choix pour les adjuvants de filtration (*filter-aids* en anglais) est qu'ils doivent être poreux et rigides. Les résultats de cette thèse permettent de compléter cette description. En plus d'être poreuses, les particules utilisées comme adjuvants de filtration permettent au liquide de passer entre elles et les cellules à filtrer. De plus, à cause de la friction entre les adjuvants et les cellules, le comportement mécanique effectif du gâteau de filtration devrait être altéré, le gâteau présentant un comportement effectif plus rigide. Par ailleurs, la perméabilité d'un bouchon augmente significativement en réalisant des cycles de déconstruction/reconstruction brutales (*backflush*) du bouchon, si bien qu'il serait possible de faire floculer les particules à filtrer sans ajout de molécule chimique, pour améliorer les procédés de filtration. Si ce résultat était confirmé dans des dispositifs de plus grande échelle, il ouvrirait alors la voie à des innovations technologiques. Toutefois, il commence à être bien établi que des bouchons qui colmatent des pores voisins pouvaient « communiquer » entre eux, par diffusion (Liot *et al.*, 2018), distribution de l'écoulement (Sauret *et al.*, 2018) ou compétition trophique (Coyte *et al.*, 2017). Le changement d'échelle demande donc des développements expérimentaux, numériques et théoriques (voir par exemple Whitaker (1986)).

6.2.2 Les milieux poreux déformables et confinés

Plus généralement, l'ensemble des résultats obtenus améliorent la compréhension des processus dirigeant le comportement mécanique des milieux poreux confinés, c'est à dire placés dans une cavité très longue et étroite. Cela a des implications importantes pour de nombreuses applications. Par exemple, la moelle osseuse, située au centre des os ou bien les muscles des animaux avec des exosquelettes sont des milieu poreux déformable et confinés. Dans ces situations, en raison de l'espace restreint, les caractéristiques effectives du milieu peuvent varier considérablement par rapport au même matériau non confiné. Certaines cellules peuvent même utiliser la friction avec leur environnement combinée à des gonflements localisés pour se déplacer (Mondesert-Deveraux *et al.*, 2018). Les résultats de cette thèse soulignent alors l'importance de bien comprendre les interactions entre la matrice solide et l'environnement confinant, pour représenter les processus physiques dans de tels milieux.

6.2.3 La prolifération cellulaire

Certains résultats de cette thèse ont mis en évidence les interactions que la prolifération cellulaire pouvait avoir avec le comportement mécanique et la perméabilité des bouchons. D'abord, lors des cycles de compression/décompression, les déplacements observés en présence de prolifération cellulaire étaient plus grands lors de la décompression que lors de la compression, ce qui suggère que la prolifération cellulaire a fourni de l'énergie mécanique au système étudié. Ensuite, les résultats de perméabilité et de densité cellulaire montrent que la prolifération cellulaire rend le bouchon plus compact et moins perméable que ce qui est observé sans prolifération, ce qui pourrait s'expliquer par une *fluidisation* du bouchon, provoquée par la prolifération (Ranft *et al.*, 2010). Enfin, le changement de forçage mécanique pourrait impacter la prolifération cellulaire, car les résultats montrent que la croissance (l'augmentation de volume des cellules) et la division cellulaire sont stoppées lors de la compression d'un bouchon, avant de reprendre à un rythme accéléré suite au relâchement des contraintes.

Cependant, ce travail n'est pas exhaustif, car il pourrait exister un couplage entre la prolifération cellulaire et le transport bio-réactif de nutriments à l'intérieur des bouchon, comme suggéré par les travaux de Mathieu Ghenni (qui a réalisé un stage de M2 que j'ai pu co-encadrer), et de Noura Eddaoui (ATER dans l'équipe Milieu Poreux et Biologiques de l'IMFT en 2021-2022). M. Ghenni a mesuré l'évolution de la longueur d'un bouchon proliférant au cours du temps, tout en quantifiant les déplacements à l'intérieur du bouchon grâce à l'algorithme de traitement d'images présenté au

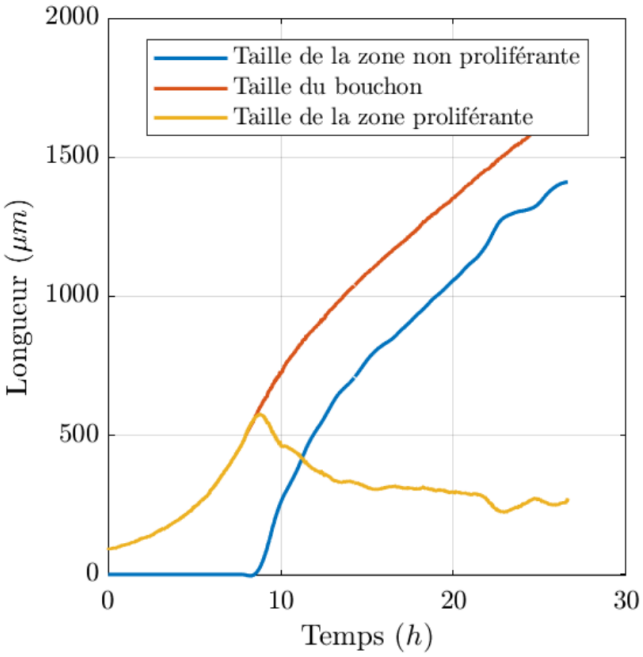

FIGURE 6.1 – Figure reprise de Ghenni (2023), présentant, au cours du temps, la longueur d'un bouchon proliférant (orange), la taille de la zone proliférante (jaune) et la taille de la zone immobile, non-proliférante (bleu).

chapitre 3. Ses résultats, illustrés sur la figure 6.1, ont montré que lorsque le bouchon atteint une certaine taille, une zone dite « non-proliférante » apparait dans le bas du bouchon, près du pore (pour plus de détails, voir Ghenni (2023)). De plus, la taille de cette zone non-proliférante augmente avec le temps. Ce travail est complété par les travaux de modélisation de N. Eddaoui qui a montré que ces observations pouvaient être expliquées par l'épuisement de la quantité de nutriments disponibles. Dans ce cas, les cellules du haut du bouchon consomment les nutriments qui leur parviennent, si bien que les nutriments ne sont plus disponibles pour les cellules situées dans le bas du bouchon.

L'ensemble de ces observations ouvrent de nombreuses perspectives de recherche. En effet, dans la littérature, la plupart des études traitant du biocolmatage sont réalisées avec des cellules non-proliférantes (elles sont placées dans une solution saline, sans aucun nutriment). Ainsi, aucune étude ne décrit les interactions qui peuvent exister entre (i) l'activité biologique (alimentation, croissance, division, mort), (ii) les contraintes environnementales (forçages mécaniques, raréfaction des nutriments) et (iii) le comportement mécanique, la structure du bouchon (réarrangements, (dé)stabilisations, fluidisation).

Dans ce cadre, un premier travail à mener serait de poursuivre les mesures de perméabilité présentées au chapitre 2, en présence de prolifération. Il est possible que l'apparition de la zone non-proliférante change la perméabilité globale du bouchon. En effet, lorsque les cellules arrêtent de proliférer, elles arrêtent de produire des bourgeons, si bien que la distribution de taille des cellules change. De plus, les résultats de modélisation présentés au chapitre 2 indiquent que cette distribution de taille peut impacter significativement la perméabilité du milieu. De même, l'arrêt de la prolifération pourrait s'accompagner d'une modification du comportement mécanique des levures, ce qui aurait également un impact sur la perméabilité (voir résultats présentés au chapitre 2).

Un second travail à mener serait de mieux quantifier la quantité de nutriments disponibles pour la prolifération. Des résultats préliminaires non présentés dans cette thèse, obtenus à l'aide d'un sucre fluorescent, tendent à confirmer les prédictions théoriques de N. Eddaoui et ont montré que la quantité de sucre décroissait à l'intérieur d'un bouchon proliférant, la taille de la zone proliférante étant corrélée à la zone où des sucres fluorescents étaient observables. Les prédictions théoriques indiquent alors que cette quantité de nutriments disponible dépend notamment du flux de liquide, si bien que la perméabilité du bouchon pourrait affecter ce transport.

Dans un troisième temps, il serait intéressant de caractériser l'état de contraintes à l'intérieur d'un bouchon proliférant. En effet, nous avons montré que ces bouchons sont plus denses que les bouchons non-proliférants, mais il a été rapporté que la prolifération pouvait fluidifier les agrégats de cellules (Ranft *et al.*, 2010), si bien que leur densité pourrait être plus grande sans que les contraintes subies par les cellules soient plus élevées (les cellules trouvant simplement des conformations plus compactes, grâce à la prolifération). Par ailleurs, réussir à mesurer les contraintes à l'intérieur du bouchon permettrait d'estimer si la friction provoque des effets qui sont limités aux bouchons non-proliférants ou si elle impacte également la mécanique des bouchons proliférants.

Enfin, ces observations fines des contraintes à l'intérieur des bouchons permettrait alors de mieux estimer l'impact des contraintes environnementales sur l'activité biologique des levures. En effet, il a été rapporté que le taux de prolifération des cellules décroit exponentiellement avec l'intensité des contraintes mécaniques compressives (Alric, 2021). Ce résultat permettrait de mieux comprendre les effets de la pression hydrodynamique appliquée. D'un côté, augmenter l'intensité du forçage permettrait d'augmenter le débit et donc apporter plus de nutriments à l'intérieur du bouchon, ce qui favoriserait la prolifération. Mais, d'un autre côté, les résultats de cette thèse ont montré que l'écoulement fluide transmettait des contraintes mécaniques au bouchon, ce qui limiterait la prolifération.

L'ensemble de ces perspectives pourrait être abordé à la fois expérimentalement, grâce au développement (ou l'adaptation) d'outils microfluidiques, et numériquement. La modélisation par éléments discrets, présentée au chapitre 5, pourrait être réutilisée en l'adaptant pour représenter le fait que les cellules peuvent croître (augmenter de volume) et se reproduire par bourgeonnement (créer de nouvelles cellules). Cela demanderait de réussir à représenter les effets de la prolifération cellulaire, qui ont lieu sur des échelles de temps très longues (plusieures heures), avec un outil de simulation numérique présentant des pas de temps très faibles (5×10^{-8} s dans les simulations présentées au chapitre 5). L'utilisation de tels outils permettrait de prédire les déplacements, les forces et les contraintes dans les bouchons en présence de prolifération cellulaire. L'ensemble de ces travaux permettrait alors de compléter le premier cadre théorique fourni par cette thèse, et pourrait permettre d'améliorer l'efficacité de la filtration de particules biologiques, en adaptant cette dernière aux spécificités du vivant.

Bibliographie

Albert, L. (2022). *Candida albicans sur puce : approche biomécanique de la plasticité morphogénétique de C. albicans*. Thèse de doctorat, Université Pierre et Marie Curie.

Alric, B. (2021). *Impact des contraintes mécaniques sur la physiologie cellulaire*. phd, Université de Toulouse, Université Toulouse III - Paul Sabatier.

Alric, B., Formosa-Dague, C., Dague, E., Holt, L. J. et Delarue, M. (2022). Macromolecular crowding limits growth under pressure. *Nature Physics*, 18(4):411–416.

Ando, T., Akamatsu, K., Nakao, S.-i. et Fujita, M. (2012). Simulation of fouling and backwash dynamics in dead-end microfiltration : Effect of pore size. *Journal of Membrane Science*, 392-393:48–57.

Andreotti, B., Forterre, Y. et Pouliquen, O. (2013). *Granular Media : Between Fluid and Solid*. Cambridge University Press, 1 édition.

Aubertin, M., Chapuis, R. P. et Mbonimpa, M. (2005). Discussion of "Goodbye, Hazen ; Hello, Kozeny-Carman," by W. David Carrier III. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 131(8):1056–1057.

Baqer, Y. et Chen, X. (2022). A review on reactive transport model and porosity evolution in the porous media. *Environmental Science and Pollution Research*, 29(32):47873–47901.

Beavers, G. S., Wilson, T. A. et Masha, B. A. (1975). Flow Through a Deformable Porous Material. *Journal of Applied Mechanics*, 42(3):598–602.

Beetstra, R. (2005). *Drag force in random arrays of mono- and bidisperse spheres*. Thèse de doctorat, s.n.], S.l. ISBN : 9789036522328 OCLC : 66442744.

Ben Hassan, I., Lafforgue, C., Ayadi, A. et Schmitz, P. (2014). Study of the separation of yeast by microsieves : In situ 3D characterization of the cake using confocal laser scanning microscopy. *Food and Bioproducts Processing*, 92(2):178–191.

Bouchoux, A., Qu, P., Bacchin, P. et Gésan-Guiziou, G. (2014). A General Approach for Predicting the Filtration of Soft and Permeable Colloids : The Milk Example. *Langmuir*, 30(1):22–34.

Bouhid de Aguiar, I., Meireles, M., Bouchoux, A. et Schroën, K. (2019). Microfluidic model systems used to emulate processes occurring during soft particle filtration. *Scientific Reports*, 9(1): 3063.

Bouhid De Aguiar, I. et Schroën, K. (2020). Microfluidics Used as a Tool to Understand and Optimize Membrane Filtration Processes. *Membranes*, 10(11):316.

Bouhid de Aguiar, I., Schroën, K., Meireles, M. et Bouchoux, A. (2018). Compressive resistance of granular-scale microgels : From loose to dense packing. *Colloids and Surfaces A : Physicochemical and Engineering Aspects*, 553:406–416.

Bouhid de Aguiar, I., van de Laar, T., Meireles, M., Bouchoux, A., Sprakel, J. et Schroën, K. (2017). Deswelling and deformation of microgels in concentrated packings. *Scientific Reports*, 7(1):10223.

Boutreux, T., Raphaël, E. et De Gennes, P. G. (1997). Propagation of a pressure step in a granular material : The role of wall friction. *Physical Review E*, 55(5):5759–5773.

Brinkman, H. C. (1949). A calculation of the viscous force exerted by a flowing fluid on a dense swarm of particles. *Flow, Turbulence and Combustion*, 1(1):27.

Cabane, B., Meireles, M. et Aimar, P. (2002). Cake collapse in frontal filtration of colloidal aggregates : mechanisms and consequences. *Desalination*, 146(1-3):155–161.

Capodici, M., Di Bella, G., Di Trapani, D. et Torregrossa, M. (2015). Pilot scale experiment with MBR operated in intermittent aeration condition : Analysis of biological performance. *Bioresource Technology*, 177:398–405.

Carman, P. (1937). Fluid flow through granular beds. *Chemical Engineering Research and Design*, 75:S32–S48.

Carrier, W. D. (2003). Goodbye, Hazen ; Hello, Kozeny-Carman. *Journal of Geotechnical and Geoenvironmental Engineering*, 129(11):1054–1056.

Cassou, C. (1999). Prédire la diagenèse des réservoirs par modélisation numérique : I. Comparaison des phénomènes advectif, diffusif et réactif par adimensionnement des équations de transport. *Sciences Géologiques, bulletins et mémoires*, 99(1):41–44.

Catalano, E., Chareyre, B. et Barthélémy, E. (2014). Pore-scale modeling of fluid-particles interaction and emerging poromechanical effects. *International Journal for Numerical and Analytical Methods in Geomechanics*, 38(1):51–71.

Caulk, R., Scholtès, L., Krzaczek, M. et Chareyre, B. (2020). A pore-scale thermo–hydro-mechanical model for particulate systems. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 372:113292.

Cerbino, R., Piotti, D., Buscaglia, M. et Giavazzi, F. (2018). Dark field differential dynamic microscopy enables accurate characterization of the roto-translational dynamics of bacteria and colloidal clusters. *Journal of Physics : Condensed Matter*, 30(2):025901.

Cerbino, R., Villa, S., Palamidessi, A., Frittoli, E., Scita, G. et Giavazzi, F. (2021). Disentangling collective motion and local rearrangements in 2D and 3D cell assemblies. *Soft Matter*, page 10.1039.D0SM01837F.

Chan, D. Y. C., Klaseboer, E. et Manica, R. (2011). Film drainage and coalescence between deformable drops and bubbles. *Soft Matter*, 7(6):2235–2264.

Chang, D., Hirate, T., Uehara, C., Maruyama, H., Uozumi, N. et Arai, F. (2021). Evaluating Young's Modulus of Single Yeast Cells Based on Compression Using an Atomic Force Microscope with a Flat Tip. *Microscopy and Microanalysis*, 27(2):392–399.

Chareyre, B., Cortis, A., Catalano, E. et Barthélemy, E. (2012). Pore-Scale Modeling of Viscous Flow and Induced Forces in Dense Sphere Packings. *Transport in Porous Media*, 92(2):473–493.

Choi, S., Lee, M. G. et Park, J.-K. (2010). Microfluidic parallel circuit for measurement of hydraulic resistance. *Biomicrofluidics*, 4(3):034110.

Churakov, S. V. et Prasianakis, N. I. (2018). Review of the current status and challenges for a holistic process-based description of mass transport and mineral reactivity in porous media. *American Journal of Science*, 318(9):921–948.

Corsino, S. F., Di Bella, G., Traina, F., Montes, L. A., Val Del Rio, A., Corral, A. M., Torregrossa, M. et Viviani, G. (2022). Membrane Fouling Mitigation in MBR via the Feast–Famine Strategy to Enhance PHA Production by Activated Sludge. *Membranes*, 12(7):703.

Coussy, O. (2004). *Poromechanics*. Wiley, Chichester, England ; Hoboken, NJ, 2nd ed édition. OCLC : ocm52992889.

Cowin, S. C. (1985). The relationship between the elasticity tensor and the fabric tensor. *Mechanics of Materials*, 4(2):137–147.

Coyte, K. Z., Tabuteau, H., Gaffney, E. A., Foster, K. R. et Durham, W. M. (2017). Microbial competition in porous environments can select against rapid biofilm growth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 114(2).

Cuccia, N. L., Pothineni, S., Wu, B., Méndez Harper, J. et Burton, J. C. (2020). Pore-size dependence and slow relaxation of hydrogel friction on smooth surfaces. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(21):11247–11256.

Cundall, P. A. et Strack, O. D. L. (1979). A discrete numerical model for granular assemblies. *Géotechnique*, 29(1):47–65.

Darcy, H. (1856). *Les fontaines publiques de la ville de Dijon : exposition et application des principes à suivre et des formules à employer dans les questions de distribution d'eau*. Victor Dalmont.

Davis, R. H., Serayssol, J.-M. et Hinch, E. J. (1986). The elastohydrodynamic collision of two spheres. *Journal of Fluid Mechanics*, 163:479–497.

Delarue, M., Brittingham, G., Pfeffer, S., Surovtsev, I., Pinglay, S., Kennedy, K., Schaffer, M., Gutierrez, J., Sang, D., Poterewicz, G., Chung, J., Plitzko, J., Groves, J., Jacobs-Wagner, C., Engel, B. et Holt, L. (2018). mTORC1 Controls Phase Separation and the Biophysical Properties of the Cytoplasm by Tuning Crowding. *Cell*, 174(2):338–349.e20.

Delarue, M., Hartung, J., Schreck, C., Gniewek, P., Hu, L., Herminghaus, S. et Hallatschek, O. (2016). Self-driven jamming in growing microbial populations. *Nature Physics*, 12(8):762–766.

Delouche, N., Dersoir, B., Schofield, A. B. et Tabuteau, H. (2022). Flow decline during pore clogging by colloidal particles. *Physical Review Fluids*, 7(3):034304.

Diels, E., Wang, Z., Nicolai, B., Ramon, H. et Smeets, B. (2019). Discrete element modelling of tomato tissue deformation and failure at the cellular scale. *Soft Matter*, 15(16):3362–3378.

Dillon, R., Fauci, L., Fogelson, A. et Gaver III, D. (1996). Modeling Biofilm Processes Using the Immersed Boundary Method. *Journal of Computational Physics*, 129(1):57–73.

Dolega, M. E., Delarue, M., Ingremeau, F., Prost, J., Delon, A. et Cappello, G. (2017). Cell-like pressure sensors reveal increase of mechanical stress towards the core of multicellular spheroids under compression. *Nature Communications*, 8(1):14056.

Dressaire, E. et Sauret, A. (2017). Clogging of microfluidic systems. *Soft Matter*, 13(1):37–48.

Duclos-Orsello, C., Li, W. et Ho, C.-C. (2006). A three mechanism model to describe fouling of microfiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, 280(1-2):856–866.

Dufreche, J. (2000). *Écoulement à travers une couche poreuse limitée par une paroi perforée : comparaison entre approche de Darcy et simulations numériques à l'échelle microscopique*. Thèse de doctorat, Université de Toulouse, INPT.

Dufrêche, J., Prat, M. et Schmitz, P. (2003). A two-scale domain decomposition method for computing the flow through a porous layer limited by a perforated plate. *International Journal for Numerical Methods in Fluids*, 42(6):623–639.

Dufrêche, J., Prat, M., Schmitz, P. et Sherwood, J. (2002). On the apparent permeability of a porous layer backed by a perforated plate. *Chemical Engineering Science*, 57(15):2933–2944.

Dunn, A. C., Zaveri, T. D., Keselowsky, B. G. et Sawyer, W. G. (2007). Macroscopic Friction Coefficient Measurements on Living Endothelial Cells. *Tribology Letters*, 27(2):233–238.

El-Kirat-Chatel, S., Beaussart, A., Vincent, S. P., Abellán Flos, M., Hols, P., Lipke, P. N. et Dufrêne, Y. F. (2015). Forces in yeast flocculation. *Nanoscale*, 7(5):1760–1767.

Ferreira, J. T., Ritzi, R. W. et Dominic, D. F. (2010). Measuring the Permeability of Open-Framework Gravel. *Ground Water*, 48(4):593–597.

Ferziger, J. H. et Perić, M. (2002). *Computational Methods for Fluid Dynamics*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg.

Fillaudeau, L. et Carrère, H. (2002). Yeast cells, beer composition and mean pore diameter impacts on fouling and retention during cross-flow filtration of beer with ceramic membranes. *Journal of Membrane Science*, 196(1):39–57.

Foley, G. (2006). A review of factors affecting filter cake properties in dead-end microfiltration of microbial suspensions. *Journal of Membrane Science*, 274(1-2):38–46.

François, D., Pineau, A. et Zaoui, A. (1995). *Comportement mécanique des matériaux. [1] : élasticité et plasticité*. Lavoisier : Hermès Science, Paris. OCLC : 495417677.

Ghenni, M. (2023). Étude des caractéristiques spatio-temporelles de prolifération dans un bouchon de levures Saccharomyces cerevisiae. Rapport de stage de M2, Université Paul Sabatier.

Gniewek, P. et Hallatschek, O. (2019). Fluid flow through packings of elastic shells. *Physical Review E*, 99(2):023103.

Goldhirsch, I. et Goldenberg, C. (2002). On the microscopic foundations of elasticity. *The European Physical Journal E*, 9(3):245–251.

Grenier, A., Meireles, M., Aimar, P. et Carvin, P. (2008). Analysing flux decline in dead-end filtration. *Chemical Engineering Research and Design*, 86(11):1281–1293.

Guillemot, G., Vaca-Medina, G., Martin-Yken, H., Vernhet, A., Schmitz, P. et Mercier-Bonin, M. (2006). Shear-flow induced detachment of Saccharomyces cerevisiae from stainless steel : Influence of yeast and solid surface properties. *Colloids and Surfaces B : Biointerfaces*, 49(2):126–135.

Han, Y. et Cundall, P. A. (2013). LBM-DEM modeling of fluid-solid interaction in porous media. *International Journal for Numerical and Analytical Methods in Geomechanics*, 37(10):1391–1407.

Hassanpourfard, M., Ghosh, R., Thundat, T. et Kumar, A. (2016). Dynamics of bacterial streamers induced clogging in microfluidic devices. *Lab on a Chip*, 16(21):4091–4096.

He, Y., Bayly, A. E. et Hassanpour, A. (2018). Coupling CFD-DEM with dynamic meshing : A new approach for fluid-structure interaction in particle-fluid flows. *Powder Technology*, 325:620–631.

Hewitt, D. R., Nijjer, J. S., Worster, M. G. et Neufeld, J. A. (2016). Flow-induced compaction of a deformable porous medium. *Physical Review E*, 93(2):023116.

Hwang, Su, Iritani et Katagiri (2016). Compression and filtration characteristics of yeast-immobilized beads prepared using different calci. *Separation Science and Technology*, 51(11):8.

Iritani, E. (2013). A Review on Modeling of Pore-Blocking Behaviors of Membranes During Pressurized Membrane Filtration. *Drying Technology*, 31(2):146–162.

Johnson, K., Kendall, K. et Roberts, A. (1971). Surface energy and the contact of elastic solids. *Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences*, 324(1558):301–313.

Judd, S. et Judd, C. (2011). *The MBR book : principles and applications of membrane bioreactors for water and wastewater treatment*. Elsevier/Butterworth-Heinemann, Oxford Burlington, MA, 2nd ed édition.

Karabelas, A. et Plakas, K. (2011). Membrane Treatment of Potable Water for Pesticides Removal. *In* Larramendy, M., éditeur : *Herbicides, Theory and Applications*. InTech.

Katagiri, N., Tomimatsu, K., Date, K. et Iritani, E. (2021). Yeast Cell Cake Characterization in Alcohol Solution for Efficient Microfiltration. *Membranes*, 11(2):89.

Kloss, C., Goniva, C., Hager, A., Amberger, S. et Pirker, S. (2012). Models, algorithms and validation for opensource DEM and CFD-DEM. *Progress in Computational Fluid Dynamics, An International Journal*, 12(2/3):140.

Knapp, B. D., Odermatt, P., Rojas, E. R., Cheng, W., He, X., Huang, K. C. et Chang, F. (2019). Decoupling of Rates of Protein Synthesis from Cell Expansion Leads to Supergrowth. *Cell Systems*, 9(5):434–445.e6.

Kranzz, R., Frankel, A., Engelder, T. et Scholz, C. (1979). The permeability of whole and jointed Barre Granite. *International Journal of Rock Mechanics and Mining Sciences & Geomechanics Abstracts*, 16(4):225–234.

Kuo, J. S., Zhao, Y., Schiro, P. G., Ng, L., Lim, D. S. W., Shelby, J. P. et Chiu, D. T. (2010). Deformability considerations in filtration of biological cells. *Lab on a Chip*, 10(7):837.

Ladd, A. J. C. et Verberg, R. (2001). Lattice-Boltzmann Simulations of Particle-Fluid Suspensions. *Journal of Statistical Physics*.

Lanir, Y., Sauob, S. et Maretsky, P. (1990). Nonlinear Finite Deformation Response of Open Cell Polyurethane Sponge to Fluid Filtration. *Journal of Applied Mechanics*, 57(2):449–454.

Lebleu, N., Roques, C., Aimar, P. et Causserand, C. (2009). Role of the cell-wall structure in the retention of bacteria by microfiltration membranes. *Journal of Membrane Science*, 326(1):178–185.

Levick, J. R. (1987). Flow through interstitium and other fibrous matrices. *Quarterly Journal of Experimental Physiology*, 72(4):409–437.

Li, B., Dobosz, K. M., Zhang, H., Schiffman, J. D., Saranteas, K. et Henson, M. A. (2019). Predicting the performance of pressure filtration processes by coupling computational fluid dynamics and discrete element methods. *Chemical Engineering Science*, 208:115162.

Li, Y., Sariyer, O. S., Ramachandran, A., Panyukov, S., Rubinstein, M. et Kumacheva, E. (2015). Universal behavior of hydrogels confined to narrow capillaries. *Scientific Reports*, 5(1):17017.

Linkhorst, J., Rabe, J., Hirschwald, L. T., Kuehne, A. J. C. et Wessling, M. (2019). Direct Observation of Deformation in Microgel Filtration. *Scientific Reports*, 9(1):18998.

Liot, O., Singh, A., Bacchin, P., Duru, P., Morris, J. F. et Joseph, P. (2018). Pore cross-talk in colloidal filtration. *Scientific Reports*, 8(1):12460.

Liu, Y. J., Mukherjee, S., Nishimura, N., Schanz, M., Ye, W., Sutradhar, A., Pan, E., Dumont, N. A., Frangi, A. et Saez, A. (2011). Recent Advances and Emerging Applications of the Boundary Element Method. *Applied Mechanics Reviews*, 64(3):030802.

Lohaus, J., Perez, Y. M. et Wessling, M. (2018). What are the microscopic events of colloidal membrane fouling ? *Journal of Membrane Science*, 553:90–98. arXiv :1803.07820 [cond-mat, physics :physics].

Lu, W.-M., Huang, Y.-P. et Hwang, K.-J. (1998). Stress distribution in a confined wet cake in the compression—permeability cell and its application. *Powder Technology*, 97(1):16–25.

Luding, S., Lätzel, M., Volk, W., Diebels, S. et Herrmann, H. (2001). From discrete element simulations to a continuum model. *Computer Methods in Applied Mechanics and Engineering*, 191(1-2):21–28.

Lutz, T. (2021). *Frictional, Large-Deformation Poroelastic Flow : Theory and Experiments*. Thèse de doctorat, Yale University.

Lüken, A., Linkhorst, J., Fröhlingsdorf, R., Lippert, L., Rommel, D., De Laporte, L. et Wessling, M. (2020). Unravelling colloid filter cake motions in membrane cleaning procedures. *Scientific Reports*, 10(1):20043.

Lüken, A., Stüwe, L., Lohaus, J., Linkhorst, J. et Wessling, M. (2021a). Particle movements provoke avalanche-like compaction in soft colloid filter cakes. *Scientific Reports*, 11(1):12836.

Lüken, A., Stüwe, L., Lohaus, J., Linkhorst, J. et Wessling, M. (2021b). Particle Movements Provoke Avalanche-like Compaction in Soft Colloid Filter Cakes. preprint, In Review.

MacMinn, C. W., Dufresne, E. R. et Wettlaufer, J. S. (2015). Fluid-Driven Deformation of a Soft Granular Material. *Physical Review X*, 5(1):011020.

MacMinn, C. W., Dufresne, E. R. et Wettlaufer, J. S. (2016). Large Deformations of a Soft Porous Material. *Physical Review Applied*, 5(4):044020.

Matuo, R., Sousa, F. G., Soares, D. G., Bonatto, D., Saffi, J., Escargueil, A. E., Larsen, A. K. et Henriques, J. A. P. (2012). Saccharomyces cerevisiae as a model system to study the response to anticancer agents. *Cancer Chemotherapy and Pharmacology*, 70(4):491–502.

McCarthy, A. A., Gilboy, P., Walsh, P. K. et Foley, G. (1999). Characterisation of cake compressibility in dead-end microfiltration of microbial suspensions. *Chemical Engineering Communications*, 173(1):79–90.

Meireles, M., Clifton, M. et Aimar, P. (2002). Filtration of yeast suspensions : experimental observations and modelling of dead-end filtration with a compressible cake. *Desalination*, 147(1-3):19–23.

Meireles, M., Molle, C., Clifton, M. et Aimar, P. (2004). The origin of high hydraulic resistance for filter cakes of deformable particles : cell-bed deformation or surface-layer effect ? *Chemical Engineering Science*, 59(24):5819–5829.

Mercier-Bonin, M., Ouazzani, K., Schmitz, P. et Lorthois, S. (2004). Study of bioadhesion on a flat plate with a yeast/glass model system. *Journal of Colloid and Interface Science*, 271(2):342–350.

Mohandas, N. et Gallagher, P. G. (2008). Red cell membrane : past, present, and future. *Blood*, 112(10):3939–3948.

Mokrane, M. L., Desclaux, T., Morris, J. F., Joseph, P. et Liot, O. (2020). Microstructure of the near-wall layer of filtration-induced colloidal assembly. *Soft Matter*, 16(42):9726–9737.

Mondesert-Deveraux, S., Allena, R. et Aubry, D. (2018). A Coupled Friction-Poroelasticity Model of Chimneying Shows that Confined Cells Can Mechanically Migrate Without Adhesions. *Molecular and cellular biomechanics*, 15(3):155–176.

Mota, M., Texeira, J. A. et Yelshin, A. (2004). Dependence of Saccharomyces cerevisiae filtration through membrance on yeast concentration. *In Proceedings of 9th World Filtration Congress*, pages 125–2, New Orleans - Louisiana - USA. American Filtration and Separations Society (AFS)}.

Nakanishi, K., Tadokoro, T. et Matsuno, R. (1987). On the specific resistance of cakes of microorganisms. *Chemical Engineering Communications*, 62(1-6):187–201.

Nakayama, A., Kuwahara, F. et Sano, Y. (2007). Concept of equivalent diameter for heat and fluid flow in porous media. *AIChE Journal*, 53(3):732–736.

Nì Mhurchù, J. et Foley, G. (2006). Dead-end filtration of yeast suspensions : Correlating specific resistance and flux data using artificial neural networks. *Journal of Membrane Science*, 281(1-2):325–333.

Olajire, A. A. (2020). The brewing industry and environmental challenges. *Journal of Cleaner Production*, 256:102817.

Ovarlez, G. et Clément, E. (2005). Elastic medium confined in a column versus the Janssen experiment. *The European Physical Journal E*, 16(4):421–438.

Ozgumus, T., Mobedi, M. et Ozkol, U. (2014). Determination of Kozeny Constant Based on Porosity and Pore to Throat Size Ratio in Porous Medium with Rectangular Rods. *Engineering Applications of Computational Fluid Mechanics*, 8(2):308–318.

Parker, K. H., Mehta, R. V. et Caro, C. G. (1987). Steady Flow in Porous, Elastically Deformable Materials. *Journal of Applied Mechanics*, 54(4):794–800.

Radeke, C. A., Glasser, B. J. et Khinast, J. G. (2010). Large-scale powder mixer simulations using massively parallel GPUarchitectures. *Chemical Engineering Science*, 65(24):6435–6442.

Raeini, A. Q., Blunt, M. J. et Bijeljic, B. (2012). Modelling two-phase flow in porous media at the pore scale using the volume-of-fluid method. *Journal of Computational Physics*, 231(17):5653–5668.

Ranft, J., Basan, M., Elgeti, J., Joanny, J.-F., Prost, J. et Julicher, F. (2010). Fluidization of tissues by cell division and apoptosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(49): 20863–20868.

Reed, R. J. R. (1986). Centenary Review Article Beer Filtration. *Journal of the Institute of Brewing*, 92(5):413–419.

Rushton, A. et Khoo, H. E. (1977). The filtration characteristics of yeast. *Journal of Applied Chemistry and Biotechnology*, 27(1):99–109.

Ruth, B. F. (1935). Studies in Filtration III. Derivation of General Filtration Equations. *Industrial & Engineering Chemistry*, 27(6):708–723.

Samaniego, L., Kumar, R. et Attinger, S. (2010). Multiscale parameter regionalization of a grid-based hydrologic model at the mesoscale. *Water Resources Research*, 46(5).

Sauret, A., Barney, E. C., Perro, A., Villermaux, E., Stone, H. A. et Dressaire, E. (2014). Clogging by sieving in microchannels : Application to the detection of contaminants in colloidal suspensions. *Applied Physics Letters*, 105(7):074101.

Sauret, A., Somszor, K., Villermaux, E. et Dressaire, E. (2018). Growth of clogs in parallel microchannels. *Physical Review Fluids*, 3(10):104301.

Sbalzarini, I. et Koumoutsakos, P. (2005). Feature point tracking and trajectory analysis for video imaging in cell biology. *Journal of Structural Biology*, 151(2):182–195.

Shabani, A., Zivar, D., Jahangiri, H. R. et Shahrabadi, A. (2020). Application of pore network modeling in deep bed filtration analysis. *SN Applied Sciences*, 2(9):1537.

Shamsuddin, N., Cao, C., Starov, V. M. et Das, D. B. (2016). A comparative study between stirred dead end and circular flow in microfiltration of China clay suspensions. *Water Supply*, 16(2):481–492.

Shamsuddin, N., Das, D. B. et Starov, V. M. (2015). Filtration of natural organic matter using ultrafiltration membranes for drinking water purposes : Circular cross-flow compared with stirred dead end flow. *Chemical Engineering Journal*, 276:331–339.

Smith, A., Moxham, K. et Middelberg, A. (1998). On uniquely determining cell–wall material properties with the compression experiment. *Chemical Engineering Science*, 53(23):3913–3922.

Smith, A., Zhang, Z. et Thomas, C. (2000). Wall material properties of yeast cells : Part 1. Cell measurements and compression experiments. *Chemical Engineering Science*, 55(11):2031–2041.

Steefel, C. I. et MacQuarrie, K. T. B. (1996). Chapter 2. Appoaches to modeling of reactive transport in porous media. *In* Lichtner, P. C., Steefel, C. I. et Oelkers, E. H., éditeurs : *Peter C. Lichtner and Carl I. Steefel and Eric H. Oelkers*, pages 83–130. De Gruyter, Berlin, Boston, reactive transport in porous media édition.

Swartz, M. A. et Fleury, M. E. (2007). Interstitial Flow and Its Effects in Soft Tissues. *Annual Review of Biomedical Engineering*, 9(1):229–256.

Sørensen, B. et Sørensen, P. (1997). Structure Compression in Cake Filtration. *Journal of Environmental Engineering*, page 9.

Tang, Y., Shi, J., Li, S., Wang, L., Cayre, Y. E. et Chen, Y. (2015). Microfluidic device with integrated microfilter of conical-shaped holes for high efficiency and high purity capture of circulating tumor cells. *Scientific Reports*, 4(1):6052.

Tarabara, V. (2004). Effect of hydrodynamics and solution ionic strength on permeate flux in cross-flow filtration : direct experimental observation of filter cake cross-sections. *Journal of Membrane Science*, 241(1):65–78.

Tarleton, E. et Wakeman, R. (2007). Pretreatment of suspensions. *In Solid/Liquid Separation*, pages 126–151. Elsevier.

Terzaghi, K. (1943). *Theoretical Soil Mechanics*. John Wiley & Sons, Inc., Hoboken, NJ, USA.

Uluatam, S. S. (1991). Assessing Perlite as a Sand Substitute in Filtration. *Journal - American Water Works Association*, 83(6):70–71.

Vafai, K., éditeur (2005). *Handbook of Porous Media, Second Edition*. Taylor & Francis, 2nd édition.

Valencia, A., Le Men, C., Ellero, C., Lafforgue-Baldas, C., Schmitz, P. et Morris, J. F. (2020). Direct observation at the microscale of particle deposition during the first stage of the microfiltration process. *Journal of Membrane Science*, 599:117823.

Valencia, A., LeMen, C., Ellero, C., Lafforgue-Baldas, C., F. Morris, J. et Schmitz, P. (2022). Direct observation of the microfiltration of yeast cells at the micro-scale : Characterization of cake properties. *Separation and Purification Technology*, 298:121614.

Valencia Navarro, A. (2020). *Etude à la micro-échelle de l'initiation du colmatage lors de la microfiltration de suspensions de particules modèles et de levures : Approche expérimentale in-situ et en temps réel*. Thèse de doctorat, Institut National Polytechnique de Toulouse, Toulouse.

Van Der Bruggen, B., Vandecasteele, C., Van Gestel, T., Doyen, W. et Leysen, R. (2003). A review of pressure-driven membrane processes in wastewater treatment and drinking water production. *Environmental Progress*, 22(1):46–56.

van der Sman, R. (2017). Flow through a filter plate backed by a packed bed of spheres. *Chemical Engineering Science*, 158:154–163.

van der Sman, R. G. M. (2009). Simulations of confined suspension flow at multiple length scales. *Soft Matter*, 5(22):4376.

Van Liedekerke, P., Ghysels, P., Tijskens, E., Samaey, G., Smeedts, B., Roose, D. et Ramon, H. (2010). A particle-based model to simulate the micromechanics of single-plant parenchyma cells and aggregates. *Physical Biology*, 7(2):026006.

Van Reis, R. et Zydney, A. (2007). Bioprocess membrane technology. *Journal of Membrane Science*, 297(1-2):16–50.

Van Zeebroeck, M., Lombaert, G., Dintwa, E., Ramon, H., Degrande, G. et Tijskens, E. (2008). The simulation of the impact damage to fruit during the passage of a truck over a speed bump by means of the discrete element method. *Biosystems Engineering*, 101(1):58–68.

Vella, D., Ajdari, A., Vaziri, A. et Boudaoud, A. (2012). The indentation of pressurized elastic shells : from polymeric capsules to yeast cells. *Journal of The Royal Society Interface*, 9(68):448–455.

Vicar, T., Balvan, J., Jaros, J., Jug, F., Kolar, R., Masarik, M. et Gumulec, J. (2019). Cell segmentation methods for label-free contrast microscopy : review and comprehensive comparison. *BMC Bioinformatics*, 20(1):360.

Walton, K. (1987). The effective elastic moduli of a random packing of spheres. *Journal of the Mechanics and Physics of Solids*, 35(2):213–226.

Whitaker, S. (1986). Flow in porous media I : A theoretical derivation of Darcy's law. *Transport in Porous Media*, 1(1):3–25.

Wickramasinghe, S., Wu, Y. et Han, B. (2002). Enhanced microfiltration of yeast by flocculation. *Desalination*, 147(1-3):25–30.

Wyss, H. M., Blair, D. L., Morris, J. F., Stone, H. A. et Weitz, D. A. (2006). Mechanism for clogging of microchannels. *Physical Review E*, 74(6):061402.

Xiong, Q., Baychev, T. G. et Jivkov, A. P. (2016). Review of pore network modelling of porous media : Experimental characterisations, network constructions and applications to reactive transport. *Journal of Contaminant Hydrology*, 192:101–117.

Xu, P. (2015). A Discussion On Fractal Models For Transport Physics Of Porous Media. *Fractals*, 23(03):1530001.

Xu, P. et Yu, B. (2008). Developing a new form of permeability and Kozeny–Carman constant for homogeneous porous media by means of fractal geometry. *Advances in Water Resources*, 31(1):74–81.

Yazdanshenas, M., Soltanieh, M., Tabatabaei Nejad, S. A. R. et Fillaudeau, L. (2010). Cross-flow microfiltration of rough non-alcoholic beer and diluted malt extract with tubular ceramic membranes : Investigation of fouling mechanisms. *Journal of Membrane Science*, 362(1-2):306–316.

Zhang, X., Hu, Q., Sommerfeld, M., Puruhito, E. et Chen, Y. (2010). Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. *Bioresource Technology*, 101(14):5297–5304.

Zhang, X.-Y., Luck, J., Dewhirst, M. W. et Yuan, F. (2000). Interstitial hydraulic conductivity in a fibrosarcoma. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 279(6):H2726–H2734.

Zhu, H., Zhou, Z., Yang, R. et Yu, A. (2007). Discrete particle simulation of particulate systems : Theoretical developments. *Chemical Engineering Science*, 62(13):3378–3396.

Annexe A

Expériences complémentaires lors d'un forçage par un écoulement fluide

Symbole	+	∗	⊠	×	⊗	○	▽	△	⊕	□	▷	❄
Figure	3.12	3.12	3.12	3.12	3.12	A.1	A.1	A.1	A.2	A.2	A.3	A.3
L [μm]	300	410	380	280	270	280	180	450	300	450	500	500
$\Delta P_c^\star$ [mbar]	328	328	328	328	328	400	400	400	1500	1500	2000	2000
$\Delta P_0^\star$ [mbar]	328	328	328	328	328	400	400	400	400	400	400	400
$\Delta P_1^\star$ [mbar]	775	775	775	775	775	800	800	800	800	800	800	800
Hauteur paliers [mbar]	78	78	38	157	157	100	100	100	200	200	100	100
L_{min}/L_{max}	0.01	0.01	0.04	0.05	0.05	0.16	0.11	0.10	0.16	0.09	0.16	0.08
Retour à 23 - 30 mbar	D/F	D/F	D/F	D/F	D/F	Non	Non	Non	Non	Non	D/M/F	D/M/F

TABLE A.1 – Synthèse des paramètres expérimentaux, pour l'ensemble des expériences présentées dans la section 3.3. Chaque expérience est représentée par un symbole. La figure présentant les profils de déplacements et de réarrangements issus de l'expérience en question est indiquée, avec la longueur du bouchon au début de l'expérience, la pression utilisée lors de la construction du bouchon $\Delta P_c^\star$, la pression à partir de laquelle les déplacements sont mesurés $\Delta P_0^\star$, la pression jusqu'à laquelle les déplacements sont mesurés $\Delta P_1^\star$, la hauteur des paliers de compression / décompression. La dernière ligne indique si un retour à une pression de 23 mbar (ou 30 mbar) est réalisé, soit au début et à la fin de l'expérience (D/F), soit au début, à la fin et entre les cycles (D/M/F), soit pas du tout (Non). L'expérience représentée par un « ∗ » a été conduite en microscopie de fluorescence.

A.1 Effets de l'augmentation de la longueur du bouchon au cours des cycles

Les expériences qui suivent ont été obtenues avec le protocole P1 présenté section 3.2.1, et sont caractérisées par une augmentation non-négligeable de la taille du bouchon pendant les cycles : la longueur finale du bouchon est jusqu'à 33% plus grande que la longueur initiale. Pour chaque expérience, les déplacements doivent donc être renormalisés par une longueur qui varie au cours du temps. Par souci de simplicité, il a été décidé de renormaliser les déplacements associés à chaque phase par la longueur du bouchon à la fin de la compression de ladite phase. Par exemple, les déplacements associés à la première compression sont divisés par la longueur du bouchon à la fin de cette première compression, et les déplacements observés lors de la première décompression sont normalisés par cette même longueur (à priori distincte de celle associée au second cycle). Par ailleurs, ces expériences ont été conduites avec un dispositif sans canal de lecture de débit, ou avec un canal de lecture de débit très peu pressurisé, si bien que la pression à la sortie du système est très proche de la pression atmosphérique. Pour pouvoir réaliser des comparaisons pertinentes avec les résultats présentés section 3.3.4, les déplacements sont mesurés entre 400 mbar (la pression minimale disponible) et 800 mbar.

Les profils de déplacements relatifs et de réarrangements obtenus dans ces conditions sont présentés sur la figure A.1, avec les données de référence présentées dans des couleurs foncées. Les expériences présentées sur la figure A.1 ont toutes été conduites avec des paliers de 100 mbar. Comme précédemment, les déplacements relatifs sont systématiquement les plus grands lors de la première compression, où ils atteignent entre 0.03 et 0.05 en haut du bouchon. Lors des phases suivantes des cycles ils sont inférieurs à 0.016. De même, les réarrangements sont plus importants lors de la première phase de compression, et en haut du bouchon, avec des valeurs qui sont situées entre 0.009 et 0.021 pour $y/L > 0.5$.

Cependant, ces résultats expérimentaux présentent des différences par rapport aux expériences de référence. Les réarrangements observés lors de la première compression sont plus importants que dans les cas de référence. Par ailleurs, lors des phases suivantes, les déplacements en bas du bouchon sont plus importants que précédemment, et les déplacements semblent varier avec la position relative de manière linéaire. Enfin, toujours lors de ces phases suivant la première compression, les réarrangements sont plus importants dans le haut du bouchon que dans le bas du bouchon.

A.2 Effets de l'histoire de construction : précontrainte

Deux expériences ont été conduites avec un bouchon qui a été construit à $\Delta P^\star = 1500$ mbar. Juste avant les cycles de compression, la pression diminue, à 400 mbar, puis les cycles sont réalisés, comme précédemment. Les résultats des cycles de compression/décompression sont présentés sur la figure A.2. Les déplacements relatifs observés sont très faibles lors de la première et la seconde compression - inférieurs à 0.01. De plus, les déplacements sont quasi-nuls proche du pore entre $y/L = 0$ et $y/L = 0.4$. Les réarrangements sont cependant du même ordre de grandeur que ceux mesurés précédemment, avec des réarrangements qui peuvent être supérieurs à 0.01 pendant les phases de compression, probablement sous l'effet de l'arrivée des nouvelles particules.

A.3 Effets de l'histoire de construction : décompression du bouchon

Deux expériences ont été conduites en imposant une chute de pression entre les deux cycles : entre les deux cycles, la différence de pression décroit par paliers successifs jusqu'à atteindre 30 mbar (voir figure 3.10).

Les profils de déplacements relatifs et de réarrangements sont présentés sur la figure A.3, avec les données de référence présentées dans des couleurs foncées. Comme précédemment, les déplacements sont mesurés entre 400 et 800 mbar. Les profils de déplacements observés lors de la première et la seconde compression prennent les mêmes valeurs que les profils observés lors de la première compression dans les expériences de référence. En partiuclier, les déplacements observés lors de la seconde compression sont systématiquement largement supérieurs à ceux observés lors de l'expérience de référence,

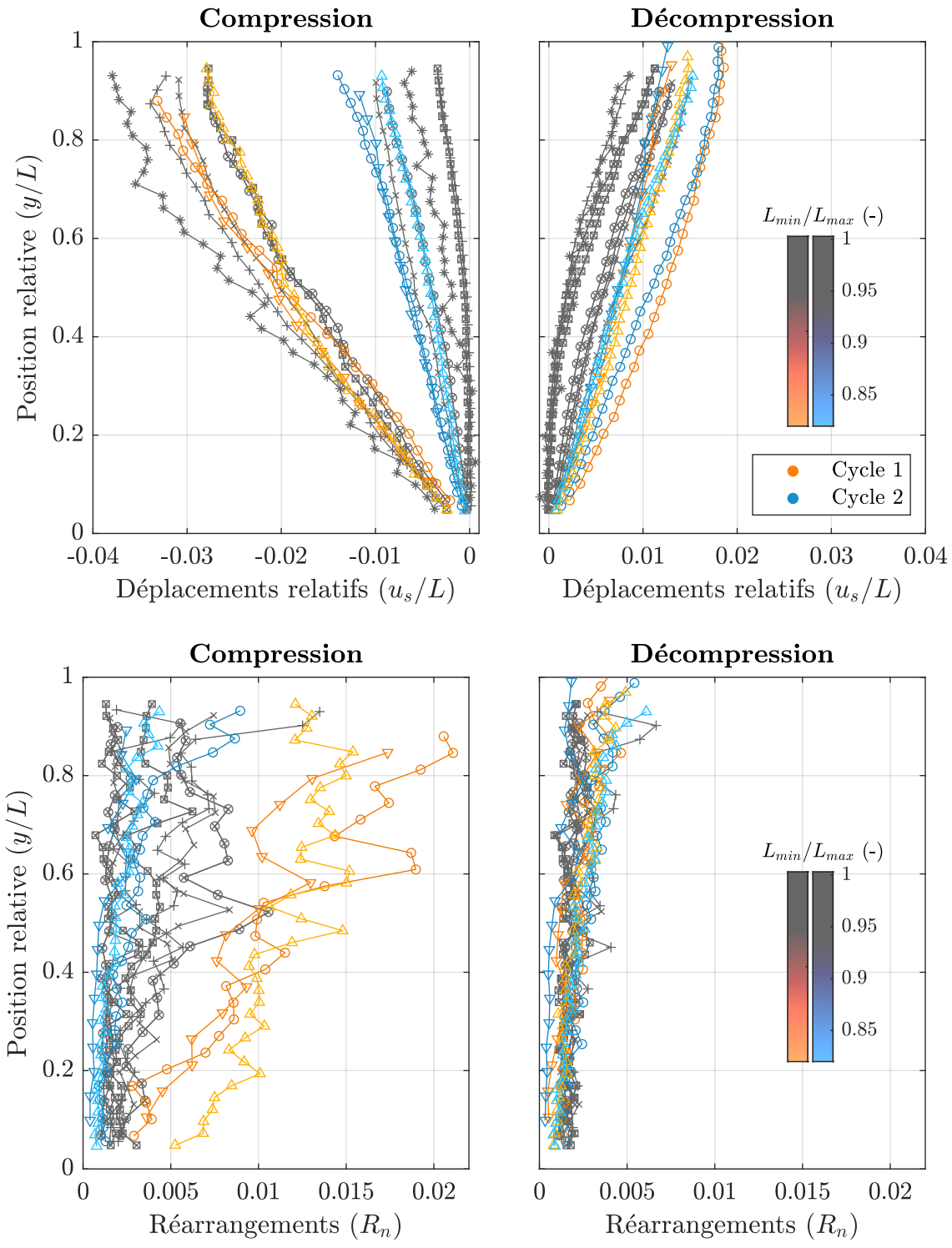

FIGURE A.1 – Profils de déplacements verticaux (rangée haute) et de réarrangements (rangée basse) pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale. Les expériences à longueur contrôlée sont présentées comme référence en gris. Les expériences où la longueur change dans le temps sont représentées par des couleurs claires, qui dépendent du rapport des longueurs au début et à la fin de chaque expérience (voir la table A.1 pour le détail des conditions expérimentales). Les données associées au premier cycle de compression sont représentées dans les tons oranges, alors que celles associées au second cycle de compression sont représentées par des tons bleus.

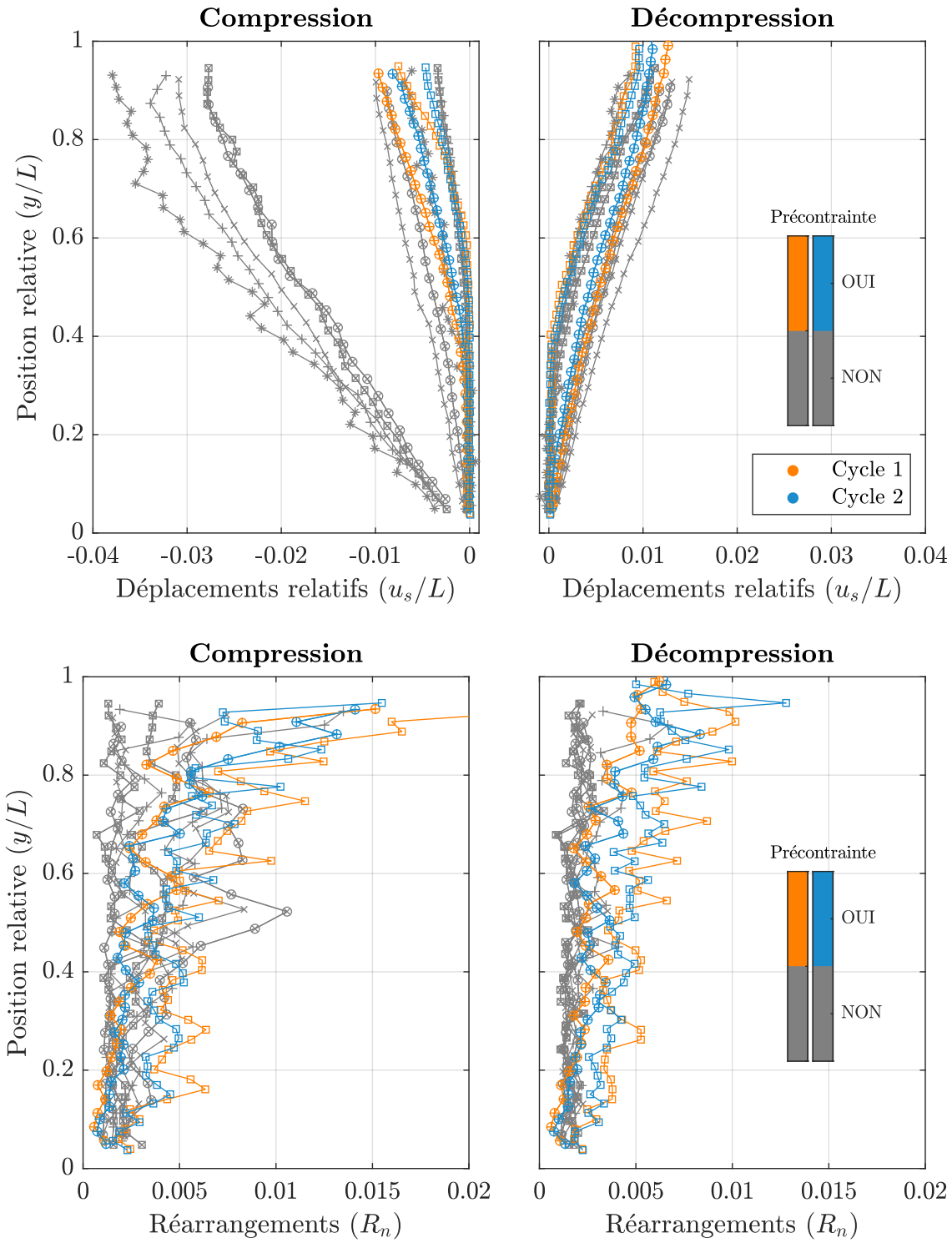

FIGURE A.2 – Profils de déplacements verticaux (rangée haute) et de réarrangements (rangée basse) pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale, lors du premier cycle (orange) et lors du second cycle (bleu). Les expériences de référence sont présentées en gris. Les expériences réalisées en pré-contraignant le bouchon sont présentées en couleur.

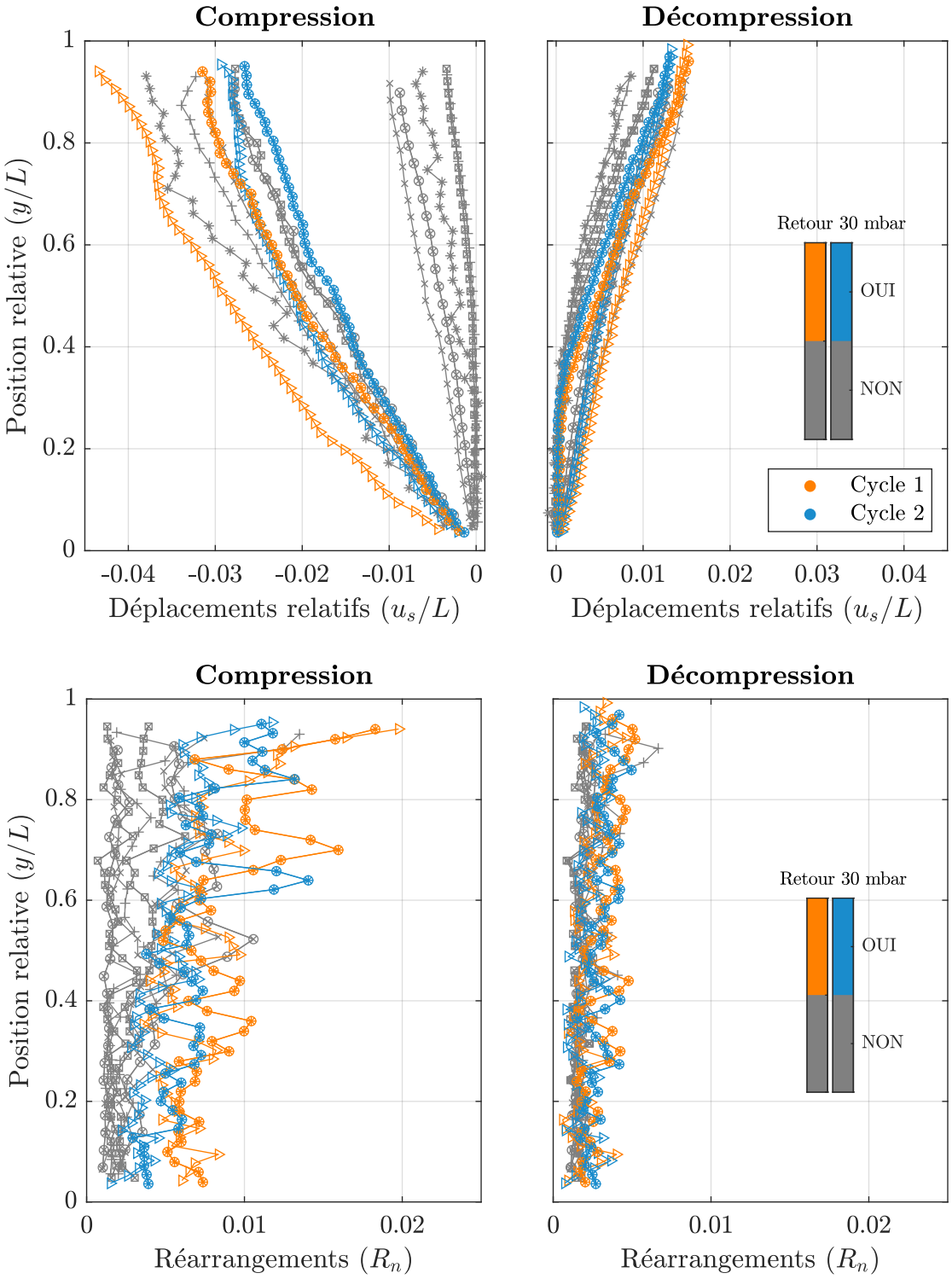

FIGURE A.3 – Profils de déplacements verticaux (rangée haute) et de réarrangements (rangée basse) pour chaque phase de compression (à gauche) et décompression (à droite), moyennés sur l'horizontale, lors du premier cycle (orange) et lors du second cycle (bleu). Les expériences de référence sont présentées en gris. Les expériences réalisées en en imposant une diminution de pression ($\Delta P^\star = 30$ mbar) entre les cycles sont présentées en couleur.

avec un déplacement en haut du bouchon qui dépasse 0.02 alors qu'il est systématiquement inférieur à 0.01 dans les expériences de référence. Les déplacements observés lors des décompressions prennent environ les mêmes valeurs que lors des expériences de référence, avec des déplacements parfois nuls en bas du bouchon et des déplacements maximum inférieurs à 0.015. De même, les réarrangements sont très importants lors des deux phases de compression, avec des réarrangement souvent supérieurs à 0.005, tandis que les réarrangement sont très faibles lors des phases de décompression, où ils sont toujours inférieurs à 0.005.

Enfin, pour une expérience donnée, les déplacements relatifs mesurés lors du second cycle sont systématiquement inférieurs à ceux observés lors du premier cycle, la différence étant de l'ordre de 0.01 en haut du bouchon. De même, les réarrangements sont généralement plus faibles lors de la seconde compression que lors de la première compression, notamment en bas du bouchon (pour $y/L < 0.4$).

Résumé

L'étude de la filtration de particules vivantes révèle plusieurs processus en interaction, qui occupent une large gamme d'échelles spatio-temporelles, si bien qu'un consensus est difficile à trouver à partir des études réalisées à l'échelle de la membrane. Au cours de cette thèse nous avons donc étudié la perméabilité et le comportement mécanique d'un bouchon de particules vivantes à partir d'observations à la microéchelle, dans une configuration modèle : la levure du boulanger *Saccharomyces cerevisiae*, aux propriétés mécaniques et biologiques bien connues, a été utilisée pour former des bouchons que l'on observe dans des dispositifs microfluidiques aux dimensions bien contrôlées.

Les résultats montrent que la perméabilité des bouchons diminue à mesure que l'intensité du forçage hydrodynamique augmente, en raison de la déformabilité des cellules de levures, puis atteint un plateau. Ces résultats ont été modélisés par un double réseau de pores, induit par le fort confinement du dispositif : les pores les plus petits se ferment progressivement à mesure que la pression augmente, réduisant ainsi la perméabilité du bouchon, jusqu'à leur fermeture, alors que les pores les plus grands sont relativement peu affectés par les variations de forçage.

Par ailleurs, des cycles de compression et de décompression sont appliqués sur des bouchons, ce qui démontre leur nature poreuse et déformable. L'analyse des résultats montre que les observations s'écartent des prédictions de la théorie poroélastique et des interprétations classiques de la littérature. Une modélisation continue est proposée, représentant le couplage entre l'écoulement du fluide, la déformation du bouchon (supposé être un matériau élastique linéaire) et le frottement contre les parois du dispositif. Cette modélisation reproduit remarquablement bien l'ensemble des observations réalisées, sauf pour des faibles forçages hydrodynamiques. Des simulations numériques représentant la nature granulaire des bouchons sont alors mises en place. Celles-ci montrent que le comportement mécanique des bouchons est non-linéaire aux faibles contraintes et suggèrent que pour des contraintes plus élevées, le bouchon se comporte bien comme un matériau élastique linéaire.

L'ensemble de ces résultats offrent alors un premier cadre théorique pour l'étude du biocolmatage aux petites échelles, et fournit des informations qui pourraient contribuer au développement de méthodes de filtration améliorées.

Summary

Studying the filtration of living particles involves multiple processes taking place at various spatiotemporal scales. Due to this complexity, reaching a consensus based on membrane scale studies is challenging. In this thesis, we studied the permeability and mechanical behaviour of a clog of living particles based on observations at the microscale in a model configuration : we used baker's yeast *Saccharomyces cerevisiae*, with well-known mechanical and biological properties, to form clogs that were observed in microfluidic devices with well-controlled dimensions.

The clogs' permeability is found to decrease with increasing hydrodynamic forcing intensity, due to the yeast cells' deformability, and then reaches a plateau. These results were modelled by a double pore network induced by the high confinement of the device : the smallest pores close progressively as the pressure increases, thus reducing the permeability of the clog until they close. In contrast, the largest pores are relatively unaffected by changes in forcing.

Besides, compression and decompression cycles were applied to the clogs, demonstrating their porous and deformable nature. The results show that the observations diverge from the poroelastic theory's predictions and conventional interpretations in the literature. A continuous model is proposed, taking into account the coupling between the fluid flow, the deformation of the clog (assumed to be a linear elastic material) and the friction against the device's walls. This model reproduces all observations remarkably well, except for weak hydrodynamic forcing. Numerical simulations representing the granular nature of the clogs were then carried out. Their results show that the mechanical behaviour of the clogs is non-linear at low stresses and suggest that, at higher stresses, the clog behaves like a linear elastic material.

Collectively, these results provide a first theoretical framework for the study of bioclogging on small scales and provide information that could contribute to improving filtration methods.