université de BORDEAUX

université de BORDEAUX

THÈSE PRÉSENTÉE

POUR OBTENIR LE GRADE DE

DOCTEUR

DE L'UNIVERSITÉ DE BORDEAUX

ECOLE DOCTORALE SCIENCES CHIMIQUES

Spécialité : CHIMIE-PHYSIQUE

Par **Julien RENAUDEAU**

Dynamique de transport de la sève dans les plantes vasculaires : approche microfluidique

Sous la direction de : **Jean-Baptiste SALMON**

Soutenue le 11 septembre 2026

Membres du jury :

M. Jean-Christophe BARET	Professeur	CRPP, Bordeaux	Président
Mme. Cécile COTTIN-BIZONNE	Directrice de Recherche	ILM, Lyon	Rapporteure
M. Yoel FORTERRE	Directeur de Recherche	IUSTI, Marseille	Rapporteur
M. Abraham STROOCK	Professeur	Cornell University	Examinateur
Mme. Sylvie DINANT	Directrice de Recherche	INRAE, Versailles	Examinatrice
M. Jean-Baptiste SALMON	Directeur de Recherche	LOF, Bordeaux	Directeur de thèse

Membre invité :

M. Pierre LIDON	Maître de Conférences	LOF, Bordeaux

Remerciements

Bienvenue dans le chapitre le plus populaire de ce manuscrit.

Je souhaite tout d'abord réserver ces premières lignes pour remercier l'ensemble des membres du jury. Je remercie Cécile COTTIN-BIZONNE et Yoël FORTERRE, rapporteurs du manuscrit, pour leur bienveillance et les échanges constructifs que nous avons pu avoir lors de la soutenance. Merci également à Sylvie DINANT pour nos discussions stimulantes à la frontière entre biologie et physique, ainsi qu'à Abraham STROOCK, pour ses conseils avisés et notre collaboration tout au long de la thèse. Je remercie enfin Jean-Christophe BARET d'avoir présidé le jury. Merci à toutes et à tous d'avoir pris le temps de lire ce manuscrit, de discuter de mes travaux, et d'avoir participé à leur évaluation. Je tiens également à remercier Thomas SALEZ et Philippe MARMOTTANT, membres de mon comité de suivi, pour leurs conseils et leur bienveillance.

Ces trois années m'ont permis de rencontrer des personnes avec qui j'ai pris autant de plaisir à travailler, à discuter, mais surtout à bien se marrer. Je n'aurais pas pu rêver d'un meilleur environnement de travail, et ça, je le dois à tous les « Lofeurs ». Puisque ces trois années n'auraient évidemment pas été les mêmes sans toutes ces personnes, il est temps de leur rendre hommage.

Je tiens à exprimer ma plus profonde reconnaissance à mes directeurs de thèse, Jean-Baptiste SALMON et Pierre LIDON. Vous avez tous les deux été les piliers scientifiques de ce travail, mais bien au-delà de cet aspect, j'ai surtout eu la chance de pouvoir mener cette thèse dans un cadre où je me suis toujours senti écouté, soutenu et en confiance. Je ne compte plus les heures passées avec toi, Jean-Baptiste, en salle de manip ou au bureau, à débattre dans les moindres détails des manips, de nos analyses, tantôt sur Python, tantôt sur Matlab, et des présentations (ah, les majuscules...). Pierre, j'ai toujours été impressionné par ta disponibilité envers moi, malgré tes nombreuses implications dans les enseignements à l'Université. Je me souviendrai toujours de notre colocation à Ithaca (non, je ne mentionnerai pas le vélo). J'ai énormément appris de vous deux et je vous remercie pour votre passion, votre bienveillance, et votre disponibilité, et surtout pour avoir toujours pris le temps de m'écouter, de discuter et de m'accompagner au cours de cette thèse, parfois lors de (très) longues réunions. Je vous remercie infiniment.

Je voudrais maintenant remercier Antoine MONIER et Margaux ZOLLO, membres de l'équipe non-officielle des « pegdéïstes ». Antoine, nous avons passé de nombreuses heures à travailler ensemble en salle de manip, à réfléchir, tester, recommencer, et surtout bien se marrer. Merci pour ton aide, ta disponibilité et tous ces moments passés à travailler ensemble, mais aussi pour tout ce qui a largement dépassé le cadre du labo. Merci également Margaux, toi qui m'as accueilli en salle de manip à mes

débuts. Merci pour tout ce que tu m'as transmis, pour ton aide au labo, et surtout pour tous les bons moments partagés depuis.

Comme je l'ai mentionné, une place particulière revient également à l'ensemble des Lofeurs. Vous avez largement contribué à rendre ces trois années aussi agréables. Je tiens à remercier Pierre GUILLOT ainsi que Thomas CLERICO de m'avoir accueilli au LOF. Une petite pensée pour toi, Pierre, qui, malgré la distance avec mes travaux au quotidien, as toujours suivi leur avancée avec une curiosité sincère. Je serai toujours impressionné par ton aisance légendaire pour donner des discours !

Impossible de parler de ces trois années sans mentionner mes camarades du thésarium. Alexie MATTEI, Nizar GHAZOUANI, Marleine TAMER et Alix LEEPINLAUSKY, puis Chloé HUMBERT et Théo ROWDEN, venus nous rejoindre par la suite : merci pour tous les précieux moments, pour ne pas dire fou rires partagés au cours de ces années.

Je remercie également les sportifs du Mardi, qui ont largement contribué à mon intégration au LOF. Merci Maëwenn CARRE, toujours débordante d'énergie, et ma binôme d'Hyrox. Merci Aymerick LE BRIS, toi qui étais particulièrement motivé lorsqu'il s'agissait de m'aider à faire exploser des puces (sans danger, Damien, promis). Damien ROUMEGOUS, mon pilier HSE, merci pour ton aide précieuse et ta patience face à mes nombreuses questions. Leïla KHACEF et Chloé GARAT, merci pour votre bienveillance et vos conseils tout au long de la thèse, et merci Cyril VIDAILLAC et Céline GUILLAUME pour toutes les bonnes rigolades du mardi.

Je remercie Camille FAUCON, pour toutes les sorties, les discussions et les rires partagés au fil de ces années. Une pensée particulière va à Gérald CLISSON qui m'a énormément appris et formé au travail en salle de microfabrication, toujours avec beaucoup de bienveillance. Jean GIMENEZ, merci pour ta patience et pour ton aide précieuse dans toutes ces tâches administratives pour lesquelles je suis, il faut bien l'avouer, particulièrement perdu, pour ne pas dire mauvais. Charles LOUSSERT, maître incontesté des LASER du labo Rayleigh, merci pour ton aide et tes conseils. Sophie GALINAT et Chloé CHAILLOT, merci pour nos discussions ponctuelles et toujours agréables, souvent à l'occasion de mes passages pour aller embêter Pierre dans l'open space. Je faisais évidemment subir le même sort à Céline STCHOGOLEFF lorsque j'allais voir Jean-Baptiste : merci à toi d'avoir si patiemment supporté nos longues discussions, et merci pour nos discussions pendant lesquelles tu as toujours su me témoigner ton soutien et ta sympathie.

Pour n'oublier personne, je remercie plus largement l'ensemble des Lofeurs, avec qui j'ai partagé, de près ou de loin, le quotidien de ces trois années. Certains d'entre vous sont devenus des amis, et je suis particulièrement reconnaissant que cette thèse m'ait permis de vous rencontrer. Cela aura été pour moi un honneur de faire partie de la fin de l'histoire du laboratoire, et je souhaite à tous les Lofeurs le meilleur pour la suite.

Parce que la thèse n'aurait pas été la même sans vous, je tiens également à remercier mes amis de longue date. Merci Samuel DUFRECHE, Thomas ROUAULT, Alexandre KADDAR, Colin EYDELI, Mélanie VISSERS, Rémy CONSTANS, Mathias CLOUPEAU, Dimitri LABBE, Mallory ARADE, Corentin BENTALIA, Vincent MONTAULIEU, Léa TEBERNE, Justine BOUSCASSE, Noémie BOÏTO, Justine HIRIGOYEN. Sans forcément le savoir, vous avez toutes et tous contribué à rendre ces années plus

légères et avez toujours représenté un soutien sans faille.

Difficile de trouver les mots pour remercier les membres de ma famille, qui ont été là bien avant que cette thèse ne commence, et qui le seront bien après qu'elle se termine. Merci de m'avoir transmis les outils pour avancer et construire mon propre chemin. Merci maman, de m'avoir accompagné toutes ces années sans relâche. Merci papa pour ton intérêt pour la science, notamment lorsque je te racontais ce que je faisais au labo. Merci Gilles, pour ta présence. Merci Thomas, mon frère, tu as toujours été un modèle pour moi, et merci Ornella, ma belle-sœur, pour tous les moments partagés au fil de ces années. Et bien sûr, pour n'oublier personne, merci Papi, Mamie, Zeze, Praline, Balou, Talia et Blancou. Merci à vous tous.

Et enfin, Carla. Tu partages ma vie depuis plusieurs années déjà, et je sais à quel point cette thèse aurait été différente sans ta présence. Merci pour ton soutien, ta confiance et surtout ta patience (légendaire). Merci d'avoir été là dans les bons moments comme dans les plus difficiles, d'avoir supporté mes longues journées au labo, mes histoires de manips et mes réflexions incessantes sur la thèse. Je suis reconnaissant pour tout ce que tu as apporté à ces trois dernières années, et surtout pour t'avoir eue à mes côtés. Merci.

Table des matières

Introduction **9**

1 Transport de la sève dans les plantes vasculaires **13**
1.1 Architecture des tissus vasculaires d'une plante 14
1.1.1 Le xylème 15
1.1.2 Le phloème 16
1.1.3 La pression osmotique 17
1.2 Mécanismes hydrodynamiques du transport 21
1.2.1 Le potentiel hydrique 21
1.2.2 Description du transport à travers une membrane 24
1.2.3 Le mécanisme de cohésion-tension 26
1.2.4 Le mécanisme de Münch 27
1.3 Transport dans le phloème : mesures *in planta*, modélisations, et approches microfluidiques 28
1.3.1 Preuves expérimentales du mécanisme de Münch 29
1.3.2 Modélisation du transport dans le phloème 34
1.3.3 Approche microfluidique : vers une plante-sur-puce 40
1.4 Objectifs de la thèse 43

2 Méthodes de microfabrication : puces microfluidiques et intégration d'hydrogels **45**
2.1 Fabrication des puces microfluidiques 46
2.1.1 Photolithographie de moule SU8 à deux niveaux 46
2.1.2 La réticulation du PEGDA 49
2.1.3 Silanisation des lames de verre 50
2.1.4 Fabrication et collage du timbre de PEGDA 51
2.1.5 Collage des connectiques 52
2.1.6 Fabrication de puces en PDMS 55
2.2 Photo-réticulation d'hydrogels dans les puces en PEGDA 56
2.2.1 Appareil de photopatterning : le Primo d'Alvéole 56
2.2.2 Photo-réticulation de l'hydrogel 58

3 Écoulements osmotiques transitoires : caractérisation des membranes hydrogels **63**
3.1 Contexte de l'étude 64
3.2 Mesure de la perméabilité hydraulique 65
3.2.1 Principe de l'expérience 65
3.2.2 Mesure locale de la vitesse dans le canal 67

3.2.3 Résultats . . . 69
3.3 Mesure de la pression osmotique de solutés . . . 71
3.3.1 Principe de l'expérience . . . 71
3.3.2 Couche limite de dilution . . . 72
3.3.3 Obtention d'équations d'état . . . 75
3.4 Perméation de solutés à travers la membrane . . . 77
3.4.1 Perméation sans flux osmotique . . . 78
3.4.2 Perméation avec flux osmotique transitoire . . . 81
3.5 Modélisation du transport dans la membrane . . . 82
3.5.1 Équations constitutives . . . 82
3.5.2 Cas limite étudié . . . 84
3.5.3 Application du modèle à plusieurs solutés . . . 85
3.6 Conclusions . . . 87

4 Écoulements osmotiques en régime concentré 91
4.1 Vers une nouvelle configuration en régime stationnaire . . . 92
4.1.1 Principe de l'expérience . . . 92
4.1.2 Première approche : utilisation d'une puce en PDMS . . . 94
4.1.3 Seconde approche : intégration d'une nouvelle membrane . . . 98
4.2 Dosage de la concentration en soluté par spectroscopie Raman . . . 102
4.2.1 Spectroscopie Raman . . . 102
4.2.2 Montage optique et calibrage . . . 103
4.3 Mesure du champ de concentration en saccharose . . . 106
4.3.1 Alignement de la puce avec le laser . . . 106
4.3.2 Mesure de profils de concentration en saccharose . . . 108
4.4 Modélisation des profils de concentration . . . 111
4.4.1 Kedem-Katchalsky . . . 112
4.4.2 Kedem-Spiegler . . . 115
4.5 Variation des paramètres de transport avec la concentration . . . 119
4.5.1 Mesure d'écoulements osmotiques transitoires . . . 119
4.5.2 Modèle perturbatif . . . 122
4.6 Conclusions . . . 124

5 Vers un modèle microfluidique du mécanisme de Münch 127
5.1 Chargement en soluté et transport osmotique . . . 128
5.1.1 Principe de l'expérience . . . 128
5.1.2 Chargement du soluté dans le canal . . . 129
5.1.3 Mesure des profils de concentration . . . 133
5.1.4 Modélisation du transport . . . 135
5.2 Couplage entre transport osmotique et pression négative . . . 137
5.2.1 Principe de l'expérience . . . 137
5.2.2 Mesure des profils de concentration . . . 139
5.2.3 Modélisation du transport dans le phloème . . . 142
5.2.4 Échelle caractéristique du transport . . . 146
5.3 Conclusions . . . 147

Conclusions et perspectives 149

A Modélisation du transport avec des coefficients dépendants de la concen-

tration **155**
A.1 Détermination du profil de concentration et du flux de soluté 156
A.1.1 Solution de base 156
A.1.2 Solution perturbative 157
A.2 Détermination du flux de volume 158

Introduction

Les plantes vasculaires jouent un rôle essentiel au sein de notre écosystème, et plus généralement à la vie sur Terre. Ces organismes dépendent d'un apport d'eau et de lumière pour leur survie et leur développement. En consommant de l'eau et du dioxyde de carbone, et à l'aide de l'énergie solaire, les plantes photo-synthétisent dans les feuilles leurs propres nutriments, des sucres. Pour transporter l'eau et les sucres dans tout leur organisme, les plantes vasculaires possèdent un réseau complexe de deux types de tissus. On distingue alors la sève brute, majoritairement composée d'eau et de minéraux dissous, qui circule dans le *xylème*, et la sève élaborée, composée d'eau et des sucres photo-synthétisés, qui circule dans le *phloème*.

Les plantes ne possèdent pas d'organe central consacré au transport actif de la sève, contrairement aux animaux qui possèdent un cœur. Pour assurer une bonne circulation, elles s'appuient alors sur des mécanismes passifs. L'écoulement de sève brute dans le xylème, qui s'effectue à l'opposé de la gravité des racines jusqu'aux feuilles, est conduit par la transpiration de la plante au niveau des feuilles. Dans le phloème, la translocation des sucres sur de longues distances, pouvant atteindre plusieurs mètres, est assurée par le mécanisme de Münch. Le phloème est le tissu reliant les organes sources (les feuilles) aux organes puits (les racines ou les tissus de stockage), et dont les parois sont perméables à l'eau. Le chargement de sucres dans le phloème au niveau des feuilles génère une différence de pression osmotique avec le milieu environnant. Il en résulte un écoulement d'eau, en provenance du xylème, à travers la paroi du phloème, ce qui élève localement la pression hydrostatique et donne lieu à une pression de turgescence. Cette pression induit un écoulement de solution sucrée, assurant la translocation des sucres jusqu'aux organes puits, où ils sont déchargés. L'étude du mécanisme de Münch *in planta* est toutefois difficile car le phloème est un tissu peu accessible et car la concentration en sucres, la vitesse d'écoulement ou la pression de turgescence sont délicates à mesurer localement. Dans ce contexte, des modèles théoriques ont été développés pour complémenter les études expérimentales, mais en l'absence de mesures locales et systématiques, ils restent limités pour décrire quantitativement le transport. Malgré l'importance des plantes vasculaires et des décennies de recherches, la translocation des sucres dans le phloème reste partiellement élucidée.

Cette thèse s'inscrit alors dans une démarche bio-inspirée, visant à développer des systèmes microfluidiques permettant de reproduire des écoulements osmotiques analogues à ceux générés dans le phloème. La microfluidique offre en effet un cadre expérimental particulièrement adapté. Le xylème et le phloème sont assimilés à deux canaux microfluidiques séparés par une membrane. Cette simplification permet de s'affranchir de l'architecture complexe d'une plante réelle et de construire un dispositif « modèle », dans lequel les géométries sont contrôlées. La plupart des dispositifs actuels inspirés

du phloème reposent toutefois sur l'utilisation de membranes intégrées « en sandwich » et maintenues mécaniquement. Cette disposition restreint l'accès à des mesures locales au sein des canaux. L'enjeu majeur de cette thèse est donc de proposer une alternative reposant sur l'intégration de membranes transverses dans les puces microfluidiques, afin de permettre des analyses locales du transport. Dans ce contexte, le manuscrit est organisé en cinq chapitres.

Le Chapitre 1 introduit les concepts fondamentaux relatifs au transport de la sève dans les plantes vasculaires. Après avoir présenté les mécanismes responsables du transport dans le xylème et le phloème, il dresse un état de l'art des techniques expérimentales *in planta* développées pour l'étude du phloème, ainsi que de leurs limitations. Il présente également les principaux modèles théoriques utilisés pour décrire la translocation des sucres et introduit finalement l'approche microfluidique, développée par la suite dans cette thèse.

Le reste du manuscrit s'organise autour de trois grands axes. Le Chapitre 2 est consacré au premier axe méthodologique. Il aborde en détails les méthodes de microfabrication utilisées et développées durant la thèse. Ce chapitre décrit donc la fabrication de puces en poly(éthylène glycol) diacrylate (PEGDA) et la photo-réticulation *in situ* d'hydrogels au sein des canaux, permettant d'intégrer des membranes transverses, aux géométries contrôlées, ouvrant la voie à des configurations multi-membranes.

Les Chapitres 3 et 4 constituent le deuxième axe, qui s'articule autour de la caractérisation du transport à travers les membranes hydrogels. Dans le Chapitre 3, la caractérisation est effectuée dans le régime dilué. Nous y présentons une configuration microfluidique permettant de mesurer simultanément la perméabilité hydraulique des hydrogels ainsi que leur perméabilité à des solutés de masses molaires variées. En particulier, lorsque l'hydrogel est perméable au soluté, celui-ci génère un écoulement osmotique transitoire, dont l'analyse permet de mesurer des paramètres de transport de la membrane. Le Chapitre 4 étend par la suite cette étude au régime concentré, en s'appuyant sur des mesures locales de concentration dans les puces, notamment par spectroscopie Raman confocale. Il discute les limites des modèles classiques de transport à travers les membranes et propose une modélisation adaptée qui étend le modèle du régime dilué au régime concentré.

Le Chapitre 5 correspond au troisième et dernier axe de cette thèse. Il vise à se rapprocher d'une reproduction du mécanisme de Münch dans une puce microfluidique. Il présente dans un premier temps une configuration permettant de reproduire le chargement puis la translocation de solutés dans un « phloème microfluidique ». Dans cette configuration, les profils de concentration sont mesurés en variant le taux de chargement en soluté, puis une modélisation est développée pour décrire le transport. Ensuite, une seconde configuration microfluidique est présentée. Celle-ci intègre un compartiment d'eau fermé, ce qui permet d'induire des échanges osmotiques avec de l'eau à pression négative et donc de reproduire une brique élémentaire du couplage phloème-xylème. Ici encore, une modélisation est développée pour décrire le transport. Au-delà des résultats présentés, ce chapitre constitue une « boîte à outils » expérimentale pour étudier le transport osmotique dans des puces microfluidiques comprenant de multiples membranes.

Le manuscrit se clôt par une conclusion générale qui récapitule les principaux résultats et apports de cette thèse, propose des pistes de recherche complémentaires, initiées

au cours des travaux, et ouvre sur des perspectives expérimentales et théoriques pour l'étude du transport osmotique, en lien avec le transport de la sève, ou plus largement pour des études fondamentales du transport à travers les membranes.

Chapitre 1

Transport de la sève dans les plantes vasculaires

Contents

1.1 Architecture des tissus vasculaires d'une plante 14
1.1.1 Le xylème 15
1.1.2 Le phloème 16
1.1.3 La pression osmotique 17
1.2 Mécanismes hydrodynamiques du transport 21
1.2.1 Le potentiel hydrique 21
1.2.2 Description du transport à travers une membrane 24
1.2.3 Le mécanisme de cohésion-tension 26
1.2.4 Le mécanisme de Münch 27
1.3 Transport dans le phloème : mesures *in planta*, modélisations, et approches microfluidiques 28
1.3.1 Preuves expérimentales du mécanisme de Münch 29
1.3.2 Modélisation du transport dans le phloème 34
1.3.3 Approche microfluidique : vers une plante-sur-puce 40
1.4 Objectifs de la thèse 43

Ce chapitre explore les concepts essentiels relatifs au transport de la sève dans les plantes vasculaires. Dans un premier temps, nous présentons l'architecture du réseau vasculaire spécialisé pour le transport de la sève, assuré par le xylème et le phloème, et introduisons le concept de potentiel hydrique nécessaire pour la définition des flux dans ces tissus. Nous nous intéressons ensuite au transport dans le phloème et présentons les approches expérimentales et numériques existantes dans la littérature, ainsi que leurs limites. Nous montrons finalement que les approches microfluidiques sont pertinentes dans un tel contexte. Le chapitre se clôt avec la définition des objectifs des travaux présentés dans le manuscrit.

1.1 Architecture des tissus vasculaires d'une plante

Les plantes vasculaires sont des organismes vivants qui dépendent d'un apport d'eau et de lumière pour leur survie et leur développement. En consommant de l'eau et du dioxyde de carbone, présent dans l'atmosphère, et à l'aide de l'énergie solaire, les plantes photo-synthétisent dans les feuilles leurs propres nutriments, des sucres (du saccharose majoritairement [1]). Pour transporter l'eau et les sucres, les plantes ont recours à des mécanismes passifs [2]. Le transport s'opère dans un réseau vasculaire complexe qui relie les feuilles et les racines, en passant par la tige et les pousses de la plante. La sève est le nom donné aux fluides qui s'écoulent au sein de ce réseau vasculaire, composé de deux tissus inter-connectés appelés xylème et phloème, assurant le transport de l'eau et des sucres respectivement. Nous distinguons donc la sève brute, composée principalement d'eau et de minéraux, qui s'écoule dans le xylème, et la sève élaborée, composée d'eau et des sucres issus de la photosynthèse, qui s'écoule dans le phloème [1].

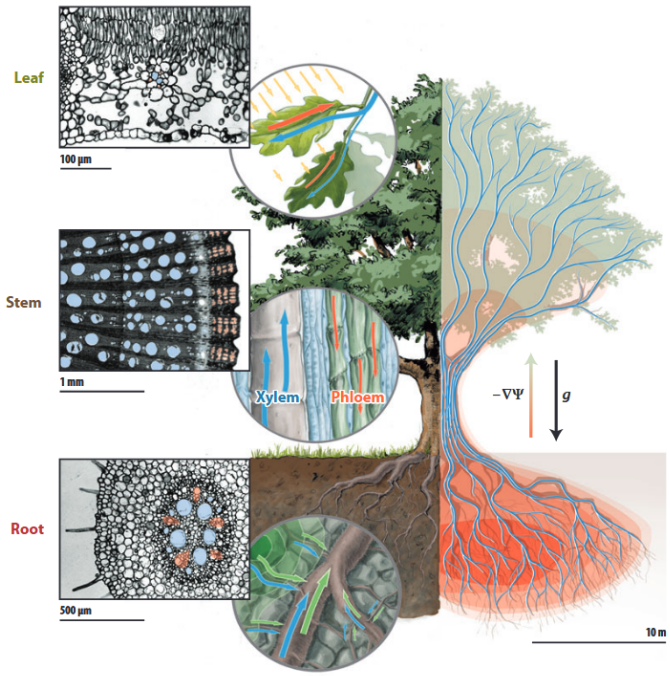


FIGURE 1.1 – Représentation schématique du transport de la sève dans un arbre. Issu de [2].

1.1.1 Le xylème

Lors de la photosynthèse, des échanges de gaz se produisent dans les feuilles et sont régulés par des valves appelées stomates. Durant leur ouverture, de l'eau s'évapore de la plante. Ce phénomène, appelé transpiration, représente une perte d'eau significative pouvant atteindre jusqu'à 200 L par jour pour la majorité des arbres de plus de 20 m de hauteur [3]. Pour référence, l'eau consommée par la photosynthèse et la croissance de la plante ne représente que 2 % du volume total évaporé, ce qui signifie qu'une plante perd environ 100 molécules d'eau pour chaque molécule de CO_2 transformée [4]. Dans ce contexte, le rôle du xylème est d'approvisionner de l'eau vers les feuilles pour maintenir l'hydratation de la plante. En particulier, des vitesses d'écoulement de l'ordre de 1 à $10\,\mathrm{m\,h^{-1}}$ sont reportées (voir Table 1.1) [4]. Le xylème est constitué d'une assemblée de cellules mortes, dénuées de leur protoplasme, entièrement remplies d'eau. Comme illustré sur la Figure 1.2b, la paroi du xylème est constituée de microfibrilles de cellulose et de lignine, permettant à ce tissu de résister à de fortes contraintes mécaniques [2, 3, 5]. Le xylème existe sous deux formes, qui se distinguent par leurs tailles. Les trachéides sont des vaisseaux uniques formant les conduits les plus petits, d'environ 10 à 50 µm de diamètre et 10 mm de longueur, tandis que les vaisseaux multi-cellulaires (ou éléments de vaisseaux) forment des conduits significativement plus grands, pouvant atteindre jusqu'à 500 µm de diamètre et plusieurs mètres de longueur [4]. La Figure 1.2a est un exemple illustrant l'architecture du xylème dans le bois d'un arbre (on parle de xylème secondaire [4]), sur lequel on identifie les trachéides et les éléments de vaisseaux [6].

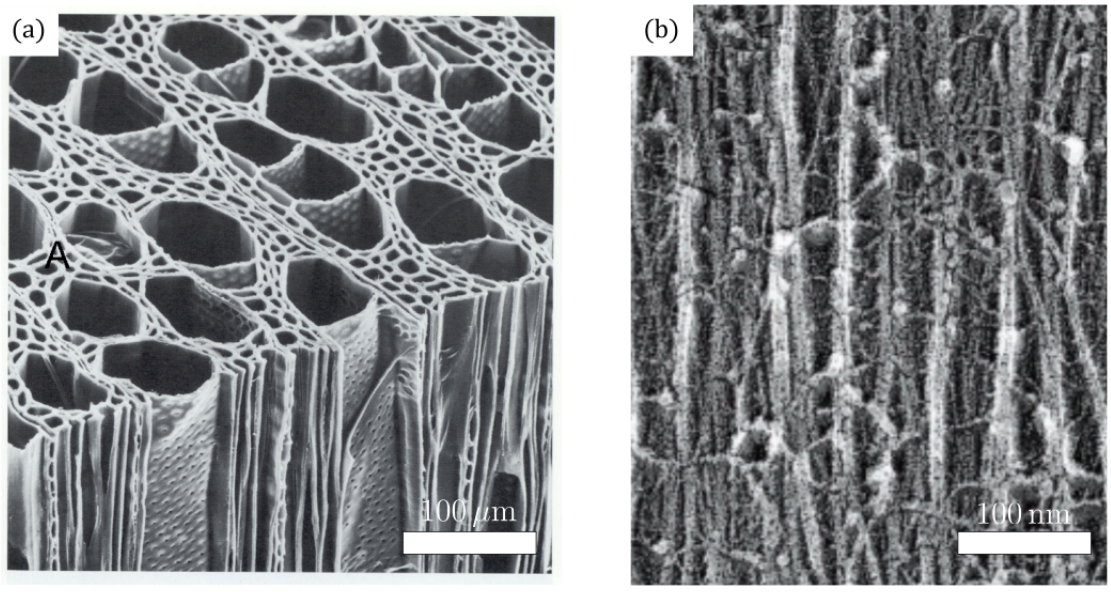


FIGURE 1.2 – Photographies de microscopie électronique. (a) Structure de cellules de xylème dans du bois d'arbres feuillus (angiospermes). Issu de [6]. (b) Fibres de cellulose d'une paroi de xylème. Issu de [4].

La paroi externe du xylème est hydrophobe et imperméable à l'eau. Par conséquent, la continuité de la circulation de l'eau entre les différentes cellules du conduit est assurée par des structures appelées ponctuations, qui sont des membranes perméables à l'eau. Leur structure varie selon les espèces. Chez les conifères par exemple, les ponctuations sont composées de deux membranes. On distingue une membrane dense et peu perméable appelée torus, entourée d'une autre appelée margo qui est bien plus perméable

et ne ralentit presque pas l'écoulement de l'eau qui la traverse [3]. La fonction des ponctuations est double, puisqu'elles protègent le xylème en cas d'embolie, dont l'origine sera brièvement mentionnée en Section 1.2.1.

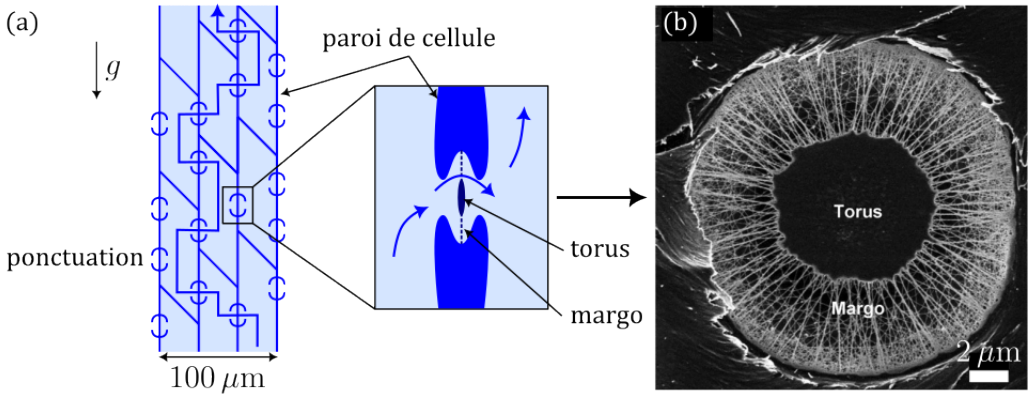


FIGURE 1.3 – (a) Représentation schématique d'un empilement de cellules de xylème, et d'une ponctuation de structure dite torus-margo. La circulation de l'eau à travers les ponctuations est représentée par les flèches bleues. (b) Image en microscopie d'une ponctuation dans un conifère. Issu de [3].

1.1.2 Le phloème

En parallèle de l'évapotranspiration, des sucres sont produits lors de la photosynthèse dans un tissu appelé mésophylle, puis chargés dans le phloème, dont le rôle est d'assurer leur transport le long de la plante. Typiquement, la vitesse de l'écoulement dans le phloème est de l'ordre de $1\,\mathrm{m\,h^{-1}}$ [1, 4, 7]. Ce tissu est constitué d'une assemblée de cellules séparées par des plaques de perforations. On parle alors plus communément d'éléments criblés, ou de tubes criblés, qui sont illustrés sur la Figure 1.4. Le phloème est défini en trois sections, attribuées aux fonctions de chargement (ou collecte), transport, et déchargement des sucres. Les zones de chargement, aussi appelées sources, sont généralement localisées au niveau des feuilles, tandis que les zones de déchargement, ou zones puits, concernent les différents sites de la plante où le sucre est stocké ou utilisé pour la croissance (pousses, racines, fruits, fleurs, etc.). Notons que certains organes, spécialisés dans le stockage de sucres, peuvent également jouer un rôle double de source et puits [1]. Contrairement au xylème, les cellules qui constituent le phloème sont des cellules vivantes, et sont différenciées en deux catégories. Certaines possèdent toujours leur noyau ainsi que d'autres organites, tandis que d'autres les perdent lors de la maturation [1, 4]. Dans le premier cas, la présence des organites n'impacte cependant pas le transport des sucres dans le phloème, car ils sont localisés en périphérie de la cellule. Dans le second, la survie des éléments criblés dépend de leur approvisionnement en métabolites, assuré par des cellules adjacentes appelées cellules compagnes. Pour comparer les différentes échelles de taille entre le xylème et le phloème, Jensen *et al.* [4] ont proposé une analogie originale : si le xylème est comme une autoroute pour l'eau, alors le phloème représente une route de campagne. Les dimensions des éléments criblés et les flux sont généralement un ordre de grandeur plus faible que dans le xylème, ce qui peut représenter un frein pour leur observation. Typiquement, on reporte des diamètres pour les éléments criblés autour de $10\,\mu\mathrm{m}$ [4, 8, 9] (voir Fig. 1.4b et la Table 1.1).

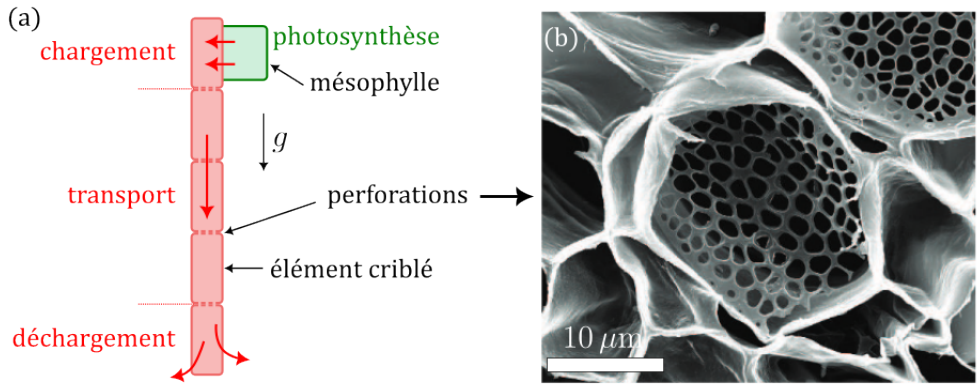


FIGURE 1.4 – (a) Représentation schématique d'un empilement d'éléments criblés formant le phloème. Le sens du transport des sucres est illustré par les flèches rouges. (b) Image en microscopie électronique de perforations séparant deux éléments criblés. Issu de [8].

TABLE 1.1 – Comparaison des tailles caractéristiques et des paramètres des écoulements de la sève dans le xylème et le phloème. Le nombre de Reynolds est calculé selon $\mathrm{Re} = \rho V d/2\eta$, où $\rho = 1000\,\mathrm{kg\,m^{-3}}$ est la masse volumique de l'eau. Issu de [4].

Paramètre	Symbole	Unité	Xylème	Phloème
Diamètre	d	µm	$10 - 500$	10
Vitesse	V	$\mathrm{m\,h^{-1}}$	$1 - 10$	1
Viscosité	η	mPa s	1	2
Nombre de Reynolds	Re		$10^{-3} - 10^{-1}$	10^{-3}

Tout du long de la plante, le phloème et le xylème sont proches, comme le montre la coupe d'une hampe florale sur la Figure 1.5, qui par ailleurs souligne très bien la différence de taille entre les cellules du xylème et du phloème. En outre, le milieu qui les sépare est semi-perméable, permettant la circulation de l'eau mais pas des sucres. Comme nous le montrerons dans la prochaine section, le transport des sucres dans le phloème repose sur un mécanisme passif qui exploite leur accumulation dans les tissus, et donc la *pression osmotique* qu'ils génèrent.

1.1.3 La pression osmotique

La pression osmotique est un concept fondamental à la compréhension des écoulements de sève dans les plantes. Considérons le système illustré sur la Figure 1.6 : un réservoir d'eau, de volume infini, est séparé d'un autre compartiment contenant un mélange d'eau et de soluté par une membrane. Cette membrane est une barrière physique qui laisse passer les molécules d'eau à travers, mais retient les solutés, on dit qu'elle est semi-perméable. Un piston mobile est placé de façon à fermer le compartiment contenant le soluté. Dans le premier cas (Figure 1.6a), aucune pression n'est appliquée sur le piston. Le système n'est pas à l'équilibre thermodynamique : spontanément, on observe un écoulement d'eau à travers la membrane, du réservoir d'eau vers le compartiment de soluté, et ce tant que la concentration en soluté n'est pas équilibrée dans chaque compartiment. Dans le cas illustré, l'eau continuerait indéfiniment de traverser la membrane dans le but de diluer de façon infinie le soluté dans son compartiment.

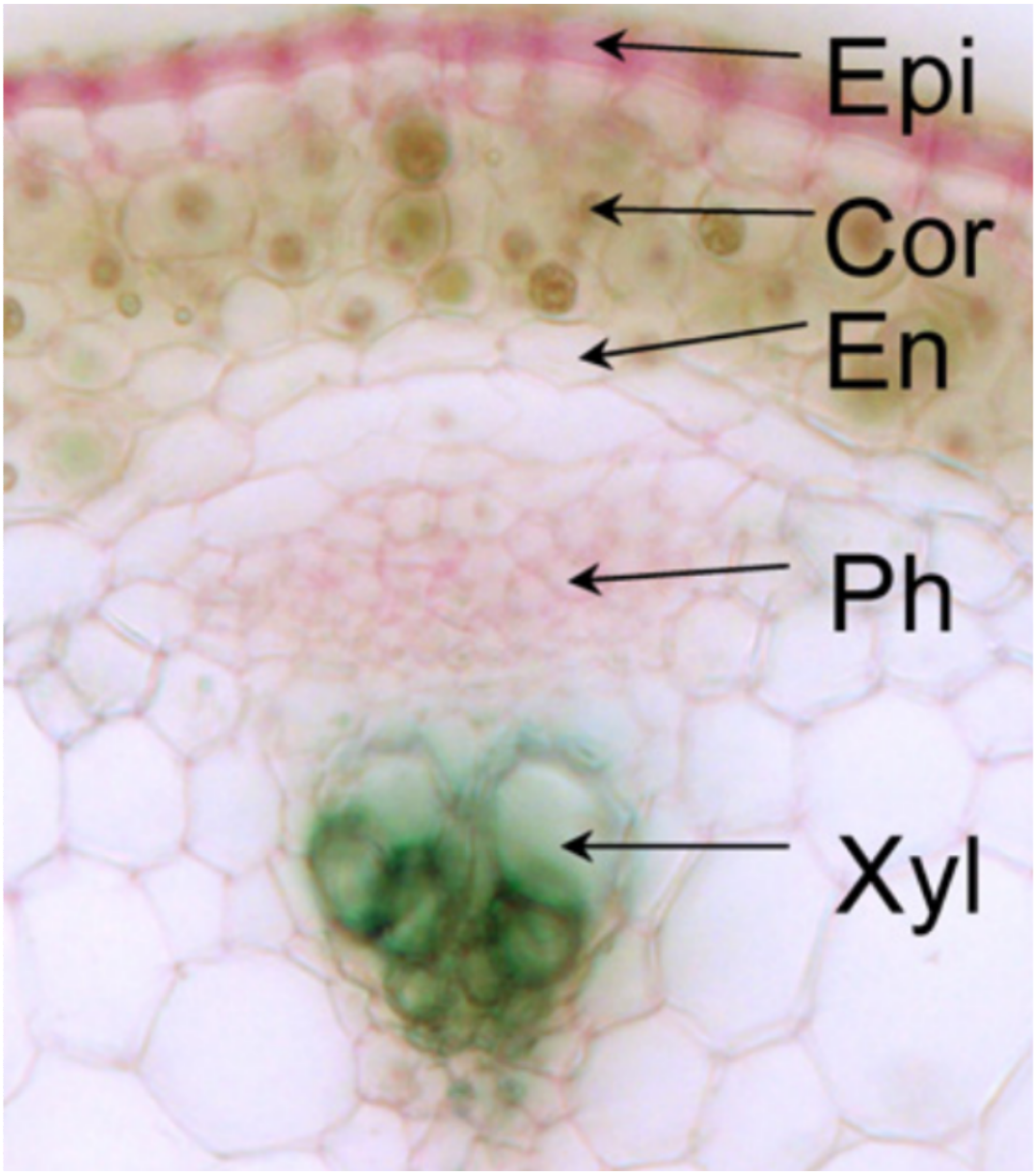


FIGURE 1.5 – Coupe transversale d'une hampe florale, issu de [1]. Le xylème (Xyl) est coloré en vert et le phloème (Ph) en rose. Sont également représentés l'endoderme (En), l'épiderme (Epi) et le cortex (Cor).

Pour l'arrêter, il faudrait appliquer une pression P sur le piston pour empêcher l'eau (qui est incompressible) de rentrer dans le compartiment (voir la Figure 1.6b). Cette pression est appelée pression osmotique Π.

Vers la fin du 19e siècle, van't Hoff a proposé une équation d'état pour la pression osmotique. Dans ses travaux, il reprend les principes d'une équation d'état de gaz parfait, pour laquelle les particules de gaz n'interagissent pas les unes avec les autres. La pression osmotique est donc exprimée selon

$$\Pi = RTC\,, \tag{1.1}$$

avec R la constante des gaz parfaits, T la température de la solution, et C est la concentration molaire du soluté. À l'image d'un gaz parfait, cette équation est valide s'il

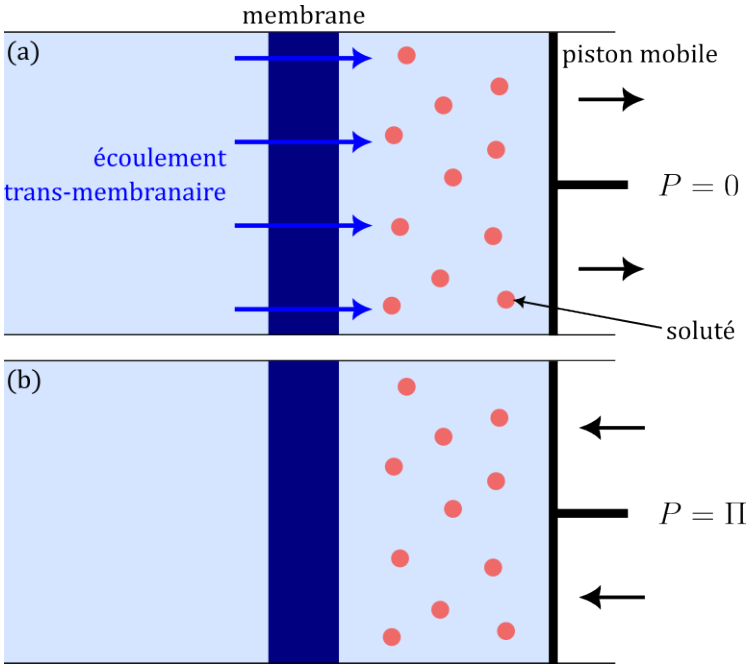


FIGURE 1.6 – Définition de la pression osmotique. (a) Un écoulement d'eau spontané est induit à travers la membrane par la différence de concentration en soluté, ce qui pousse le piston mobile et augmente le volume du le compartiment de soluté. (b) L'écoulement d'eau est arrêté en appliquant une pression $P = \Pi$ sur le piston.

n'y a pas d'interactions entre les solutés, c'est-à-dire dans le cas de solutions infiniment diluées.

Peu après van't Hoff, Gibbs a proposé une description plus générale de la pression osmotique, reposant sur le concept de potentiel chimique μ [10]. Considérons donc à présent le cas illustré sur la Figure 1.7. Une boîte fermée contenant un soluté (compartiment 2) est séparée d'un réservoir d'eau de volume infini (compartiment 1) par une membrane semi-perméable ne laissant passer que l'eau. Le réservoir d'eau est ouvert de sorte que la pression de l'eau y est égale à celle de l'atmosphère ($P_1 = P_{\text{atm}}$).

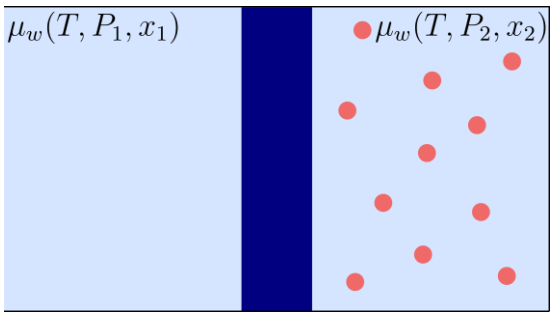


FIGURE 1.7 – Définition de la pression osmotique. Le réservoir d'eau est ouvert et à pression atmosphérique ($P_1 = P_{\text{atm}}$) tandis que le compartiment contenant le soluté est fermé.

Dans chaque compartiment, le potentiel chimique de l'eau $\mu_{w,i}$ s'exprime selon

$$\mu_{w,i}(T, P_i, x_{w,i}) = \mu_w^0 + v_w(P_i - P_{\text{atm}}) + RT \ln a_w(T, P_i, x_{w,i}) \,, \tag{1.2}$$

où μ_w^0 est le potentiel chimique de l'eau (en $\mathrm{J\,mol^{-1}}$) dans un état de référence (à pression atmosphérique P_{atm} ici), $v_w \simeq 18\,\mathrm{cm^3\,mol^{-1}}$ est le volume molaire de l'eau, P_i et $x_{w,i}$ sont les pression et fraction molaire de l'eau dans le compartiment i respectivement, et $a_w(T, P_i, x_{w,i})$ est l'activité chimique de l'eau dans le compartiment i. Le compartiment 1 ne contient que de l'eau, ce qui par définition signifie que $a_w = 1$. Ainsi, le potentiel chimique de l'eau dans ce compartiment est

$$\mu_{w,1}(T, P_1, x_{w,1}) = \mu_w^0 + v_w(P_1 - P_{\mathrm{atm}})\,, \tag{1.3}$$

et la présence de solutés dans le compartiment 2 nous donne

$$\mu_{w,2}(T, P_2, x_{w,2}) = \mu_w^0 + v_w(P_2 - P_{\mathrm{atm}}) + RT \ln a_w(T, P_2, x_{w,2})\,. \tag{1.4}$$

À l'équilibre thermodynamique, les potentiels de l'eau des deux compartiments sont égaux, soit $\mu_{w,1} = \mu_{w,2}$. Ainsi, d'après les éqns. (1.3) et (1.4), nous obtenons

$$\Pi = -\frac{RT}{v_w} \ln a_w(T, P_2, x_{w,2})\,, \tag{1.5}$$

où nous avons défini la pression osmotique $\Pi = P_2 - P_1$ comme la différence de pression hydrostatique entre les deux compartiments. Si on se repose sur le raisonnement de l'exemple précédent (Fig. 1.6), la différence de concentration en soluté entre les deux compartiments devrait générer un écoulement d'eau spontané à travers la membrane en direction du compartiment 2. Cependant, l'eau ne peut pas y entrer car celui-ci est fermé. Ainsi, pour compenser l'écart de potentiel chimique, la pression de l'eau augmente dans le compartiment 2.

Dans la limite du régime dilué, c'est-à-dire lorsque la concentration en soluté est faible (ou la fraction molaire de soluté $x_s \ll 1$), l'activité chimique de l'eau peut s'écrire $a_w \simeq x_w = 1 - x_s$. Nous obtenons donc, par un développement limité de l'éqn. (1.5) au premier ordre, une approximation de l'expression de la pression osmotique, selon

$$\Pi \simeq \frac{RTx_s}{v_w}\,. \tag{1.6}$$

En outre, puisque nous considérons le cas d'une solution diluée, le volume total de la solution peut être assimilé au volume de l'eau pure $V_{\mathrm{solution}} \simeq V_w = v_w n_w$. Par conséquent, le terme x_s/v_{w} correspond à la concentration molaire en soluté C. Nous retrouvons donc l'équation d'état (1.1) proposée par van't Hoff, $\Pi = RTC$.

Dans une plante, la présence des sucres dans le phloème génère donc une pression osmotique, qui induit un écoulement d'eau spontané en provenance des tissus adjacents. Pour donner une idée de la pression osmotique dans le phloème, nous avons tracé sur la Figure 1.8 la courbe de la pression osmotique du saccharose en fonction de sa concentration. L'équation d'état, obtenue à partir de mesures de l'activité de l'eau dans des solutions de saccharose [11], peut être exprimée selon

$$\Pi = RTC(1 + a_0 C)\,, \tag{1.7}$$

où $a_0 \simeq 0.4\,\mathrm{L\,mol^{-1}}$ est un paramètre d'ajustement. Nous remarquons que l'équation d'état dévie fortement de l'équation linéaire de van't Hoff, représentée par la droite noire, ce qui est caractéristique des interactions entre solutés hors du régime dilué.

La concentration en saccharose dans la sève élaborée est typiquement de l'ordre de $C \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ [1, 4, 12]. Dans ce régime, l'équation de van't Hoff prévoit une pression osmotique d'environ 24 bar, significativement plus basse que celle prévue par l'éqn. (1.7) qui s'élève à environ 35 bar. Comme nous le préciserons dans la Section 1.2.4, la pression osmotique est le moteur du transport des sucres le long du phloème.

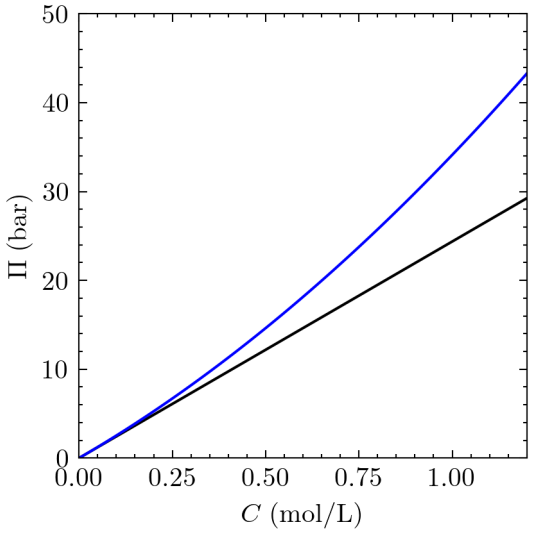


FIGURE 1.8 – Equation d'état de la pression osmotique du saccharose exprimée selon l'éqn. (1.7). La droite noire correspond à l'équation d'état de van't Hoff.

1.2 Mécanismes hydrodynamiques du transport

Les plantes vasculaires ne possèdent pas de pompe active consacrée à la circulation de la sève le long du xylème et du phloème. Dans ce contexte, elles exploitent des mécanismes passifs comme l'évapotranspiration dans le xylème et la pression osmotique générée par les sucres dans le phloème. Dans cette section, nous décrivons l'origine des flux dans le xylème et le phloème à partir de ces deux moteurs principaux.

1.2.1 Le potentiel hydrique

Dans les plantes, les écoulements au sein des tissus vasculaires sont communément décrits en termes de potentiel hydrique [5, 13]. Ce dernier est défini comme l'écart entre le potentiel chimique de l'eau dans l'état considéré et celui de l'eau dans un état de référence (μ_w^0), selon

$$\Psi = \frac{\mu_w - \mu_w^0}{v_w}\,. \tag{1.8}$$

Ainsi, pour de l'eau pure à pression atmosphérique et à une altitude de référence z_0, $\Psi = 0$. En outre, le potentiel hydrique est homogène à une pression, permettant de décrire de façon unifiée les flux d'eau [13], notamment dans les plantes. Dans les tissus vasculaires, le potentiel hydrique est exprimé par une somme de trois contributions selon

$$\Psi = \rho_w g(z - z_0) + P - P_{\mathrm{atm}} - \Pi\,. \tag{1.9}$$

La première correspond à l'effet de la gravité sur le fluide, $\Psi_g = \rho_w g(z - z_0)$, avec $\rho_w \simeq 1\,\mathrm{kg\,L^{-1}}$ la masse volumique de l'eau, $g \simeq 9.8\,\mathrm{m\,s^{-2}}$ l'intensité de la gravité et $(z - z_0)$ l'altitude par rapport à la hauteur de référence (en m). La deuxième est attribuée à la pression hydrostatique de la solution, $\Psi_P = P - P_{atm}$, aussi appelée pression de turgescence dans la plante. La dernière contribution est la pression osmotique Π (ou un potentiel $\Psi_{osm} = -\Pi$).

1.2.1.1 Pression de turgescence dans les tissus vasculaires

Les parois des cellules de plantes subissent une pression hydrostatique, ou pression de turgescence. Cette pression est une conséquence de l'égalisation des potentiels hydriques, à l'équilibre thermodynamique [5], et dépend de la composition de la cellule ainsi que de son environnement extérieur.

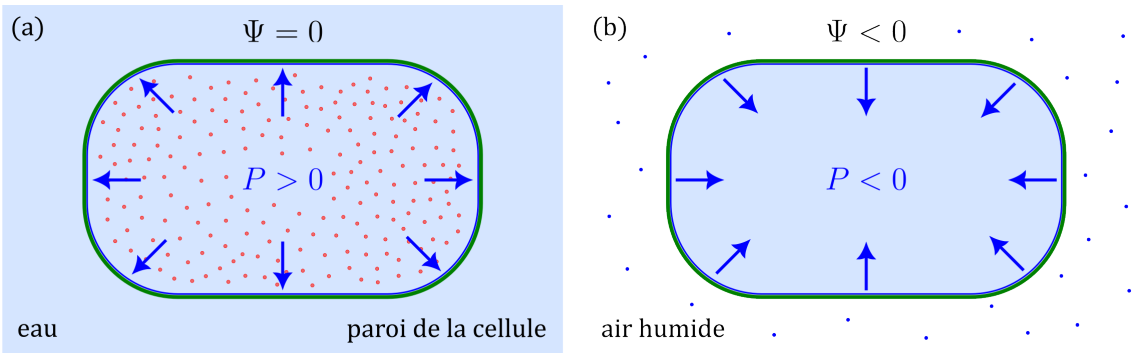


FIGURE 1.9 – Représentation schématique de la pression de turgescence dans des cellules de plantes à l'équilibre thermodynamique avec le potentiel hydrique externe Ψ. (a) Pression positive générée par la pression osmotique des solutés dans la cellule. (b) Pression négative induite par l'évaporation de l'eau dans l'air. Adapté de [5].

Considérons dans un premier temps le cas illustré par la Figure 1.9a, dans lequel une cellule contenant de l'eau et des solutés est plongée dans un bain d'eau pure. La paroi de la cellule est une membrane semi-perméable laissant traverser l'eau uniquement. Le potentiel hydrique à l'extérieur de la cellule est nul car l'eau est pure, tandis que celui à l'intérieur est donné par l'éqn. (1.9). Ainsi, à l'équilibre thermodynamique, la pression dans la cellule est donnée par

$$P = P_{atm} + \Pi + \Psi = P_{atm} + \Pi\,, \tag{1.10}$$

avec Π la pression osmotique de la solution. Cette configuration peut être notamment transposée aux cellules du phloème contenant des sucres, dans lequel des pressions de turgescence de l'ordre de 10 bar sont reportées [14, 15].

Considérons maintenant le cas illustré par la Figure 1.9b, dans lequel une cellule contenant de l'eau, dont la paroi est exclusivement perméable à l'eau, est en contact avec de l'air humide à pression atmosphérique. Le potentiel hydrique de cet air humide est exprimé selon

$$\Psi_{vap} = \frac{RT}{v_w} \ln \mathcal{RH} \tag{1.11}$$

avec $\mathcal{RH} = P_{vap}/P_{sat}(T)$ l'humidité relative de l'air, où P_{vap} est la pression partielle de l'eau dans la vapeur et P_{sat} est la pression de saturation de l'eau dans l'air à la température T. Lorsque l'équilibre thermodynamique est atteint, la pression de turgescence

dans la cellule s'écrit

$$P = P_{\text{atm}} + \Pi + \Psi_{\text{vap}} = P_{\text{atm}} + \Pi + \frac{RT}{v_w} \ln \mathcal{RH} \,. \tag{1.12}$$

Ainsi, pour une vapeur d'humidité relative, par exemple $\mathcal{RH} = 0.90$, et une concentration de soluté nulle (cas de la Figure 1.9b), la pression dans la cellule est $P \simeq -140\,\text{bar}$, ce qui signifie que les parois sont en tension. Comme nous allons le voir dans la Section 1.2.3, ce cas est transposable au xylème, en contact avec l'air au niveau des feuilles. La pression y est par conséquent fortement négative, typiquement de l'ordre de $-100\,\text{bar}$ [2, 3]. L'eau est ainsi dans un état métastable, exposée à la cavitation, qui n'est pas abordée dans ce manuscrit mais qui fait l'objet de travaux [3, 16].

1.2.1.2 Origine des flux dans les tissus

Une vision très simplifiée d'une plante revient à dire que la sève s'écoule dans des tuyaux de l'ordre de 10 à 100 µm de diamètre. À cette échelle, l'inertie des fluides est négligeable devant les forces de frottement, appelées plus communément forces de viscosité. L'intensité relative de ces forces est décrite par un paramètre sans dimension appelé nombre de Reynolds Re, exprimé selon

$$\text{Re} = \frac{\rho \mathcal{V} d}{2\eta} \,, \tag{1.13}$$

où ρ est la masse volumique, d le diamètre du tuyau et $\mathcal{V}$ et η sont la vitesse moyenne et la viscosité du fluide respectivement. Ainsi, dans le régime où $\text{Re} \ll 1$, on dit que les écoulements sont laminaires. Les valeurs typiques du nombre de Reynolds dans le xylème et le phloème, présentées dans la Table 1.1, confirment que les écoulements considérés se situent bien dans ce régime.

Dans les plantes, les écoulements dans les tissus vasculaires peuvent être décrits par des flux volumiques J_v (en $\text{m}^3\,\text{s}^{-1}\,\text{m}^{-2}$), générés par des différences de potentiel hydrique $\Delta\Psi$. Ces flux sont dirigés des régions de potentiel hydrique élevé vers les régions de potentiel hydrique faible. Ce principe est analogue aux flux de chaleur, qui vont des zones chaudes vers les zones froides, par exemple. Lorsqu'un écoulement est induit dans un tuyau de section $\mathcal{S}$ par une différence de pression hydrostatique uniquement ($\Delta\Psi = \Delta P$), le flux volumique est décrit par la loi de Poiseuille [5] selon

$$J_v = \frac{1}{\mathcal{R}_h \mathcal{S}} \Delta P \,, \tag{1.14}$$

où $\mathcal{R}_h$ est la résistance hydraulique (en $\text{Pa}\,\text{s}\,\text{m}^{-3}$). Notons que le débit volumique est défini selon $Q = J_v \mathcal{S}$. Dans le cas d'un écoulement à travers un milieu perméable à l'eau, comme illustré par la Figure 1.10a, la loi de Darcy s'écrit :

$$J_v = \mathcal{L}_{\text{hyd}} \Delta P \,, \tag{1.15}$$

où $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ est la perméabilité hydraulique (en $\text{m}\,\text{s}^{-1}\,\text{Pa}^{-1}$), souvent exprimée selon $\mathcal{L}_{\text{hyd}} = \kappa/(\eta w_{\text{m}})$, avec w_{m} l'épaisseur de la membrane (en m) et κ la perméabilité de Darcy (en m^2), qui représente la surface caractéristique d'un pore. Par identification avec l'éqn. (1.14), la résistance hydraulique du milieu $\mathcal{R}_{\text{m}}$ est donnée par $\mathcal{L}_{\text{hyd}} = 1/(\mathcal{R}_{\text{m}} \mathcal{S})$ avec $\mathcal{S}$ la section du milieu perméable. Ces deux descriptions permettent donc de définir la résistance hydrodynamique d'un milieu.

Les cas illustrés par les Figures 1.10b et c concernent quant à eux les flux générés par une différence de pression osmotique ($\Delta\Psi = \Delta\Pi$). Lorsqu'un gradient de concentration en soluté est imposé de part et d'autre d'un canal (Fig. 1.10b), on observe un flux de soluté J_s attribué à la diffusion des solutés, décrit par la loi de Fick selon

$$J_s = D\frac{\Delta C}{\ell}\,, \tag{1.16}$$

où D est le coefficient de diffusion des solutés dans le solvant et $\Delta C/\ell$ est le gradient de soluté sur une longueur caractéristique ℓ. Toutefois, le flux de volume est nul car le déplacement d'un volume de soluté dans une direction est compensé par le déplacement d'un volume de solvant dans le sens opposé. Pour générer un flux de volume à partir d'une différence de pression osmotique, la présence d'une membrane est nécessaire, comme illustré sur la Figure 1.10c. Dans ce cas, J_v est décrit par la loi de Darcy :

$$J_v = \mathcal{L}_{\text{hyd}}\Delta\Pi\,. \tag{1.17}$$

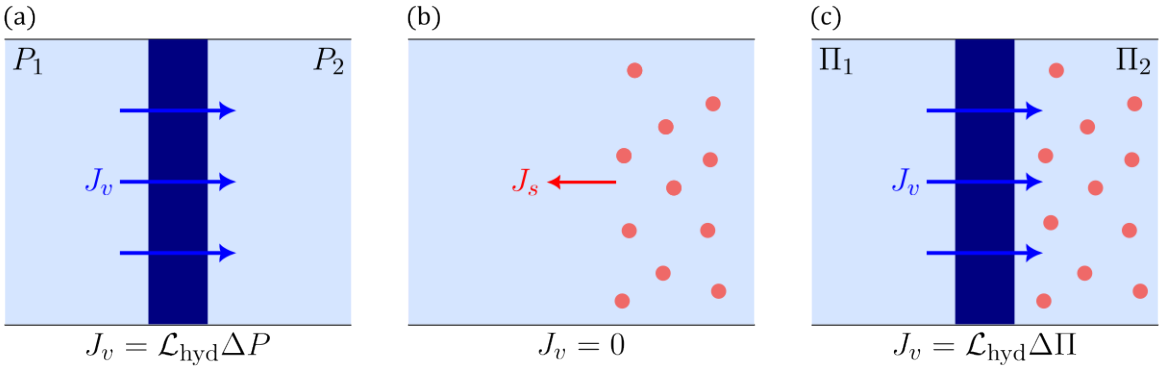


FIGURE 1.10 – Illustration des flux de volume J_v induits par une différence de pression (a) hydrostatique ΔP ou (c) osmotique $\Delta\Pi$ à travers une membrane. (b) Le flux J_v est nul sans la présence d'une membrane malgré le gradient de concentration en soluté (flux diffusif uniquement).

Des flux volumiques peuvent donc être induits par des gradients de pression hydrostatique, et également de pression osmotique en présence d'une membrane. Dans la prochaine section, nous présentons une description unifiée de ces différents flux à travers une membrane.

1.2.2 Description du transport à travers une membrane

Une membrane est caractérisée par sa perméabilité, c'est-à-dire sa capacité à laisser traverser des espèces chimiques. Par exemple, les membranes utilisées dans les procédés de séparation [17, 18] sont dites semi-perméables, ce qui signifie que le solvant (généralement de l'eau) peut s'y écouler librement, mais pas les autres espèces. Cette sélectivité peut être définie par un seuil de coupure sur la masse molaire de l'espèce (ou *molecular weight cut-off*, MWCO), et donc indirectement sa taille. C'est le cas des membranes en cellulose utilisées dans les procédés de dialyse notamment, dont le seuil de coupure est précisément contrôlé [7, 19]. Nous distinguons donc la perméabilité hydraulique de la membrane, et sa perméabilité au soluté.

Le transport à travers une membrane peut être décrit par des modèles mécaniques du type *pore-flow* pour les membranes poreuses, ou du type « dissolution-diffusion » pour les membranes denses [20]. Ces deux visions sont réconciliées sous la forme de modèles poro-élastiques, dits modèles à deux phases, dans le cas de membranes en polymères comme les hydrogels de PEGDA par exemple [21] (voir Section 2.2.2). Considérons le cas illustré sur la Figure 1.11. Une membrane sépare deux compartiments : l'un contient de l'eau et l'autre des solutés. La membrane est perméable à l'eau. Ainsi, la présence des solutés génère une pression osmotique, qui induit un flux de volume J_v à travers la membrane. Cependant, la membrane est également perméable aux solutés dont la masse molaire est inférieure au seuil de coupure ($M <$ MWCO), ce qui se traduit par un flux de soluté J_s.

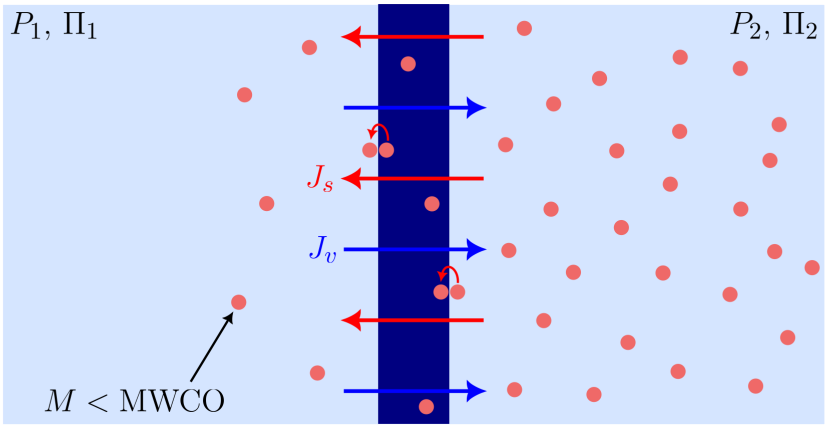


FIGURE 1.11 – Illustration du transport à travers une membrane perméable au solvant, et aux solutés de masse molaire $M <$ MWCO. Les flux de volume J_v et de soluté J_s sont représentés par les flèches bleues et rouges respectivement.

Le transport de masse peut être modélisé par les équations de Kedem et Katchalsky [22, 23]. Le flux volumique J_v (en $\mathrm{m^3\,s^{-1}\,m^{-2}}$) et le flux de soluté J_s (en $\mathrm{mol\,s^{-1}\,m^{-2}}$) sont exprimés selon

$$J_v = -\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi)\,, \tag{1.18}$$
$$J_s = -\mathcal{L}_{\mathrm{D}}\Delta C + (1-\sigma)\langle C\rangle J_v\,, \tag{1.19}$$

où ΔC, ΔP et $\Delta\Pi$ sont les différences de concentration, de pression hydrostatique, et de pression osmotique à travers la membrane, et $\langle C\rangle$ est la concentration moyenne en soluté de part et d'autre de la membrane. Le symbole Δ est défini comme $\Delta X = X_2 - X_1$ et les flux sont comptés positifs quand ils vont du compartiment 1 vers le compartiment 2. Les équations de Kedem et Katchalsky dérivent de la thermodynamique des processus irréversibles. Elles sont généralement employées en régime dilué, bien que des études se sont intéressées à des régimes plus concentrés [24]. La membrane est assimilée à une *boîte noire* caractérisée par trois paramètres : sa perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, son coefficient de perméabilité au soluté $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ (en $\mathrm{m\,s^{-1}}$), et son coefficient de réflexion $\sigma \leq 1$, qui caractérise l'interaction entre la membrane et le soluté [10, 23, 25].

Le cas $\sigma = 1$ décrit une membrane semi-perméable « idéale », c'est-à-dire perméable au solvant seulement, avec $J_s = 0$ car $\mathcal{L}_D \to 0$ lorsque $\sigma \to 1$ [10, 23, 25]. Dans ce régime, le transport de masse est caractérisé par la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ uniquement,

que l'on peut estimer par des mesures de J_v (qui font l'objet de la Section 3.2 dans le Chapitre 3) en fonction de $\Delta\Psi = \Delta P - \Delta\Pi$. Le flux volumique est donc décrit par la loi de Darcy, que nous avons précédemment définie selon les équations (1.15) et (1.17) dans le cadre de flux induits par des différences de pression hydrostatique ou osmotique respectivement.

Dans le cas d'une membrane non idéale ($\sigma < 1$), les solutés peuvent également traverser la membrane ($J_s \neq 0$) et le flux de soluté dans l'éqn. (1.19) est décrit par deux termes. Le premier correspond au flux à travers la membrane par diffusion. Selon un modèle du type « solution-diffusion », le gradient de concentration en soluté dans la membrane s'exprime selon $k\Delta C/w_\mathrm{m}$, où $k = C_\mathrm{m}/C_0$ est le coefficient de partage qui correspond au rapport à l'équilibre entre la concentration en soluté dans l'hydrogel et dans la solution [26-28]. En outre, si la membrane est homogène selon son épaisseur, le coefficient de perméabilité s'exprime selon $\mathcal{L}_\mathrm{D} = kD_\mathrm{m}/w_\mathrm{m}$, où D_m est le coefficient de diffusion du soluté dans la membrane. Le second terme de l'éqn. (1.19) correspond au transport advectif du soluté à travers la membrane. Ce dernier est opposé au flux diffusif et correspond à un terme de « retour » du soluté dans son compartiment initial. En outre, en raison de la réflexion σ du soluté sur la membrane, nous observons une différence de pression osmotique effective $\sigma\Delta\Pi$, de plus en plus faible lorsque $\sigma \to 0$ (la membrane est transparente au soluté dans ce cas limite) : le flux volumique J_v lié à l'osmose est donc effectivement réduit dans ce cas.

1.2.3 Le mécanisme de cohésion-tension

Dans le xylème, le transport de l'eau s'effectue à l'opposé de la gravité grâce à la transpiration de la plante. L'eau du sol est captée par les plantes au niveau de leurs racines, puis transportée à travers le xylème jusqu'aux feuilles où elle s'évapore. Le mécanisme qui gouverne ce transport est appelé mécanisme de cohésion-tension [29]. Ce dernier est schématisé sur la Figure 1.12. Au niveau des feuilles, les vaisseaux de xylème sont connectés au mésophylle, le même tissu où se déroule la photosynthèse des sucres. La paroi du mésophylle est hydrophile, et sa surface est constituée de pores nanométriques, typiquement de l'ordre de 10 nm de diamètre [3], qui séparent l'eau contenue dans le tissu de l'air humide dans la feuille (à pression atmosphérique). D'après l'éqn. (1.11), le potentiel hydrique d'une vapeur d'eau est fortement négatif, se traduisant par un flux d'évaporation d'eau depuis le mésophylle. Ainsi, lors de la transpiration de la plante, le ménisque se courbe à l'interface. Ce dernier est maintenu à la surface du pore par des forces capillaires [3]. Par conséquent, les molécules d'eau qui s'évaporent sont remplacées par d'autres qui sont tirées le long de toute la colonne d'eau (xylème), qui se met en dépression pour équilibrer son potentiel chimique avec celui de la vapeur. Sa pression est donnée par la relation de Kelvin-Laplace [30] selon

$$P_\mathrm{X} = P_\mathrm{atm} + \frac{RT}{v_w}\ln\mathcal{RH} = P_\mathrm{atm} - \frac{2\gamma\cos\theta}{r_p} \tag{1.20}$$

avec $\gamma \simeq 73 \times 10^{-3}\,\mathrm{N\,m^{-1}}$ la tension de surface, θ l'angle de contact du ménisque et r_p le rayon du pore. Notons que dès lors que $\mathcal{RH} \leq 99.9\%$ dans la feuille, l'eau est à pression négative dans le xylème. On dit alors qu'elle est en *tension*, et ce sont les forces de *cohésion* qui permettent à l'eau de rester dans un état liquide métastable.

Compte tenu de l'ordre de pression dans le xylème, typiquement $P_\mathrm{X} \sim -100\,\mathrm{bar}$ [2, 3], la contribution de la gravitation au potentiel hydrique, qui représente une chute de

1 bar de pression tous les 10 m de haut, est négligeable. Par ailleurs, les ponctuations qui séparent les éléments de vaisseaux ne ralentissent presque pas la circulation de l'eau [3]. Ainsi, puisque les membranes qui séparent le xylème du milieu racinaire sont fortement résistantes à l'écoulement d'eau (leur perméabilité est faible) [2], la pression de l'eau dans le xylème est relativement homogène.

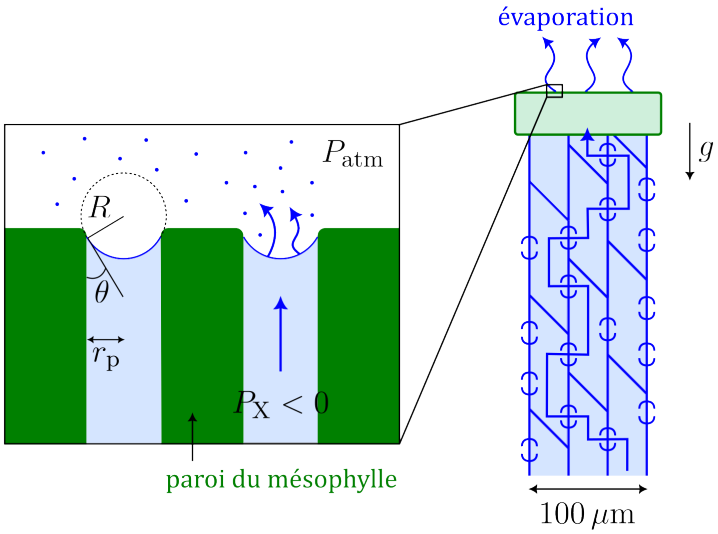


FIGURE 1.12 – Principe du mécanisme de cohésion-tension, adapté de [3].

1.2.4 Le mécanisme de Münch

Les sucres produits dans les feuilles sont transportés à travers le phloème selon un mécanisme décrit pour la première fois par Münch vers 1930 [31], aujourd'hui connu sous le nom de mécanisme de Münch. Selon cette théorie, l'écoulement de sève dans le phloème est induit par un gradient de pression de turgescence entre les zones de chargement des sucres, appelées sources, et les zones de déchargement, appelées puits. L'expérience de Münch est schématisée sur la Figure 1.13. Deux cellules A et B sont reliées par un canal. Initialement, le canal et la cellule B sont remplis d'eau, tandis que la cellule A contient un mélange d'eau et de solutés. Les parois des cellules sont des membranes semi-perméables ne laissant passer que l'eau. En plongeant les cellules dans un réservoir d'eau, Münch a observé un front de soluté avancer dans le canal en direction de la cellule B, bien trop rapide pour être expliqué par la diffusion des solutés dans le canal. Par conséquent, l'écoulement est généré par la pression osmotique des solutés dans la cellule A. De l'eau se déplace du réservoir vers la cellule A, ce qui implique par conservation du débit un flux trans-membranaire de la cellule B vers le réservoir d'eau. Les solutés sont donc transportés le long du canal par advection dans l'écoulement.

Ce mécanisme est transposable à la translocation des sucres dans le phloème, comme l'illustre la Figure 1.14. Suite à la photosynthèse, les sucres sont chargés dans le phloème. La dynamique du chargement des sucres n'est pas abordée en détails dans ce manuscrit, nous retenons essentiellement qu'elle s'opère selon les espèces de façon passive, c'est-à-dire par diffusion, ou active, qui requiert de l'énergie métabolique [32]. Dans les zones sources, l'accumulation de sucres se traduit selon l'éqn. (1.9) par une diminution locale du potentiel hydrique dans le phloème Ψ_{Ph}, qui devient plus faible

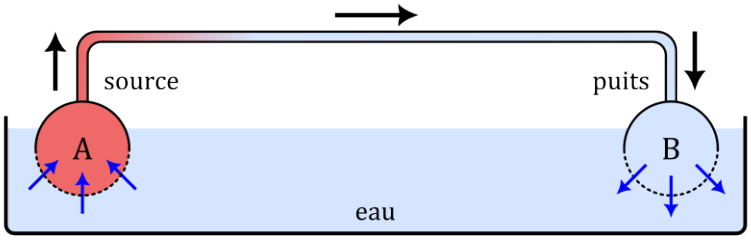


FIGURE 1.13 – Schéma de l'expérience réalisée par Münch [31]. Les flèches représentent les flux volumiques d'eau à travers les membranes des cellules (en bleu), et de l'écoulement d'eau et de soluté dans le canal (en noir). Adapté de [4].

que dans le xylème adjacent ($\Psi_{\mathrm{Ph}} < \Psi_{\mathrm{X}}$). Ainsi, un flux d'eau est induit en provenance du xylème, à travers le milieu perméable qui le sépare du phloème. En outre, l'accumulation des sucres induit une augmentation de la pression de turgescence dans le phloème (éqn. (1.10)), de l'ordre 10 bar typiquement [14, 15]. Dans les zones puits, le déchargement des sucres implique une concentration plus faible. Ainsi, le potentiel hydrique dans le phloème redevient supérieur à celui dans le xylème ($\Psi_{\mathrm{Ph}} > \Psi_{\mathrm{X}}$), se traduisant par un flux d'eau du phloème vers le xylème, et en outre une diminution de la pression de turgescence. Les sucres sont donc advectés dans le phloème selon un mécanisme exploitant les différences de pression osmotique (et donc de turgescence) entre les zones sources et les zones puits.

En résumé, les plantes vasculaires exploitent deux mécanismes passifs couplés, illustrés sur la Figure 1.14, pour transporter la sève brute et la sève élaborée le long du xylème et du phloème respectivement. Des flux de volume sont induits dans ces tissus, séparés l'un de l'autre par un milieu perméable (une membrane) permettant les échanges d'eau. D'un côté, l'hydratation de la plante est maintenue par un flux d'eau à pression négative dans le xylème, issu d'un phénomène appelé évapotranspiration. En parallèle, les sucres issus de la photosynthèse sont transportés par une différence de pression de turgescence le long du phloème, issue de leur accumulation et déchargement dans les zones sources et les zones puits respectivement, le tout en exploitant des différences de pression osmotique pour échanger de l'eau avec le xylème.

1.3 Transport dans le phloème : mesures *in planta*, modélisations, et approches microfluidiques

Si le mécanisme de transport de la sève brute dans le xylème est bien documenté, celui du transport de la sève élaborée dans le phloème a fait l'objet de moins d'expérimentations, en raison de la plus grande difficulté à les réaliser à cause de la faible accessibilité du phloème. Pour comprendre la dynamique du transport des sucres, il est nécessaire de mesurer plusieurs paramètres comme leur concentration (et donc leur pression osmotique), la vitesse de l'écoulement et la pression de turgescence le long des éléments criblés [4]. Cette section présente différents axes de recherche, expérimentaux et théoriques, qui ont été développés pour étudier le mécanisme de Münch.

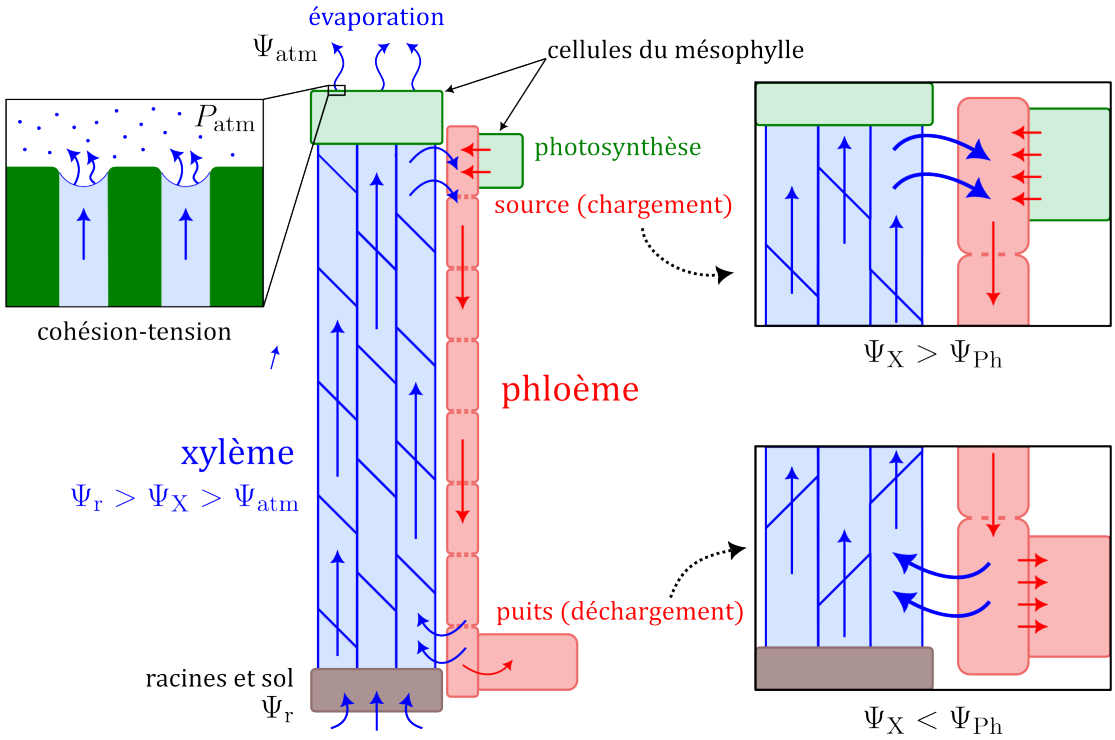


FIGURE 1.14 – Représentation schématique du transport de la sève dans les plantes vasculaires, inspirée par [2, 4].

1.3.1 Preuves expérimentales du mécanisme de Münch

La principale difficulté dans l'étude du phloème est son accessibilité. Comme le montre la Figure 1.5, les éléments criblés sont enfouis sous plusieurs couches de tissus, ce qui les rend difficile à observer avec un microscope [4]. Par ailleurs, le phloème est un tissu de petite taille (environ 10 µm) et ne constitue qu'une faible proportion de l'ensemble du système vasculaire, représentant typiquement seulement 0.5% du volume total dans les feuilles [1]. Dans ce contexte, plusieurs approches ont été développées pour sonder les éléments criblés.

1.3.1.1 Approches invasives

Les approches invasives consistent à sonder directement le contenu des éléments criblés en pénétrant le tissu. Ces méthodes ont par exemple permis de déterminer la composition de la sève élaborée, récupérée à partir d'incisions dans la plante. Celle-ci est donc composée en majorité de saccharose, dont la concentration est en moyenne de l'ordre de $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ [1, 4, 12]. Les incisions sont toutefois limitées car la réponse des plantes à ce type de blessures peut altérer les résultats [4, 15]. En outre, ces mesures ne permettent pas de mesurer localement la concentration de la sève le long du phloème. Il existe cependant des insectes (pucerons) qui se nourrissent de sève élaborée en implantant leur stylet à travers les différentes couches de tissus jusqu'au phloème, tout en limitant les réactions de cicatrisation de la plante. La stylectomie consiste à retirer le corps de l'insecte tout en laissant le stylet planté dans le phloème (voir Fig. 1.15) [4, 33-36]. La sève est alors récupérée sans avoir à inciser les multiples tissus et donc sans compromettre la mesure comme c'est le cas avec une incision. Par ailleurs, la pres-

sion de turgescence (importante pour la compréhension du mécanisme de Münch) peut être localement mesurée en connectant un transducteur de pression au stylet. Cette approche a notamment permis de mettre en évidence des différences de concentration (en saccharose) et de pression de turgescence dans le phloème, caractéristiques du mécanisme de Münch [4, 37]. Notons toutefois que cette approche reste limitée, car elle fournit une quantité de sève souvent insuffisante pour des analyses chimiques [38].

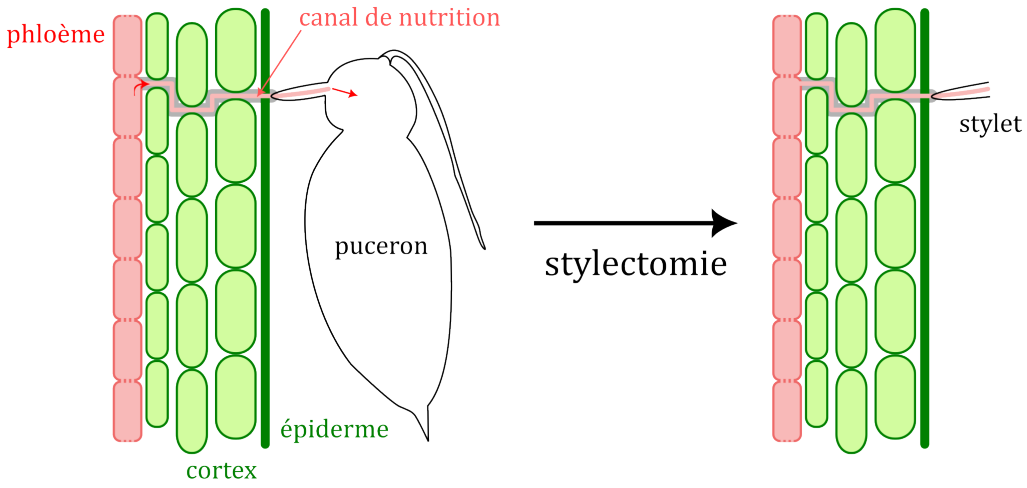


FIGURE 1.15 – Représentation schématique d'une stylectomie sur un puceron se nourrissant de sève phloémienne. Adapté de [35].

La stylectomie a inspiré le développement de microcapillaires, utilisés pour analyser la composition de la sève mais également pour mesurer la pression turgescence dans les cellules [39]. Le principe de fonctionnement des dispositifs est illustré sur la Figure 1.16. Le capillaire est rempli avec de l'huile silicone, et est relié à un système fermé composé d'un transducteur de pression et d'un piston. L'embout est inséré dans la cellule à travers la paroi. En raison de la pression dans la cellule, l'huile dans le capillaire est poussée, se traduisant par l'avancée d'un ménisque dans le capillaire. Ce dernier sépare le milieu cellulaire et l'huile, qui ne sont pas miscibles. En augmentant la pression sur le piston, l'avancée du ménisque ralentit progressivement, jusqu'à son arrêt à l'équilibre. Ainsi, le transducteur permet une lecture directe de la pression. Cette configuration peut être également employée pour mesurer le module d'élasticité de la paroi de la cellule [5].

Toutefois, pour que la mesure de la pression soit fiable, le volume de la cellule doit être très supérieur au volume du capillaire. Dans le cas contraire, il est possible d'observer une relaxation de la pression, issue d'une fuite du milieu cellulaire dans le capillaire [5, 15]. Dans ce contexte, de nouveaux microcapillaires ont été développés. Ces nouveaux dispositifs, appelés picojauges, permettent de travailler avec des volumes d'huile réduits compris entre 1 pL et 1 fL (proches du volume d'une cellule) [15]. Leur fonctionnement est illustré sur la Figure 1.17.

Les picojauges exploitent les propriétés de faible compressibilité de l'huile. Celle-ci est injectée dans le capillaire à travers la pointe, tandis que le reste du volume de l'embout est rempli avec une résine photo-sensible. Cette première étape permet ainsi de contrôler avec précision le volume de l'huile dans l'embout. Ce dernier est ensuite scellé en réticulant la résine par illumination sous UV (Fig. 1.17a). Lorsque la paroi

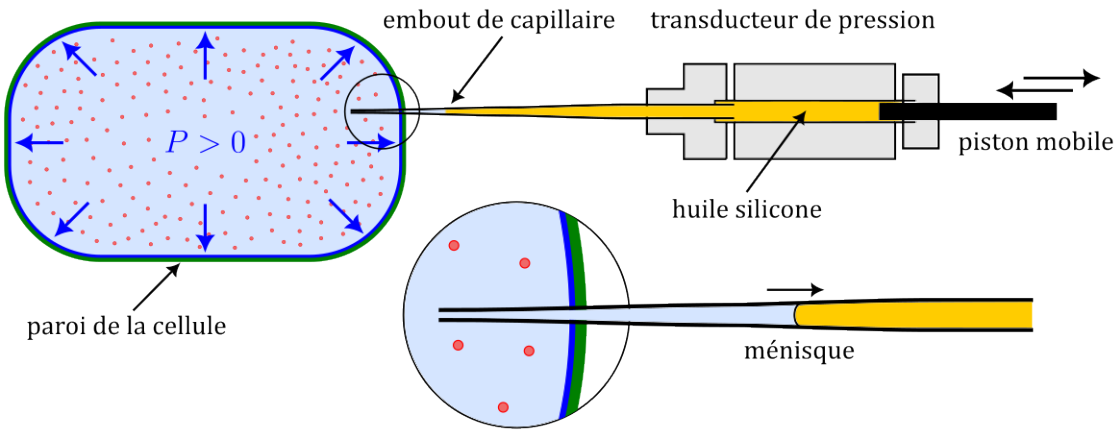


FIGURE 1.16 – Principe de la mesure de la pression de turgescence dans une cellule avec un microcapillaire. Schéma adapté de [5].

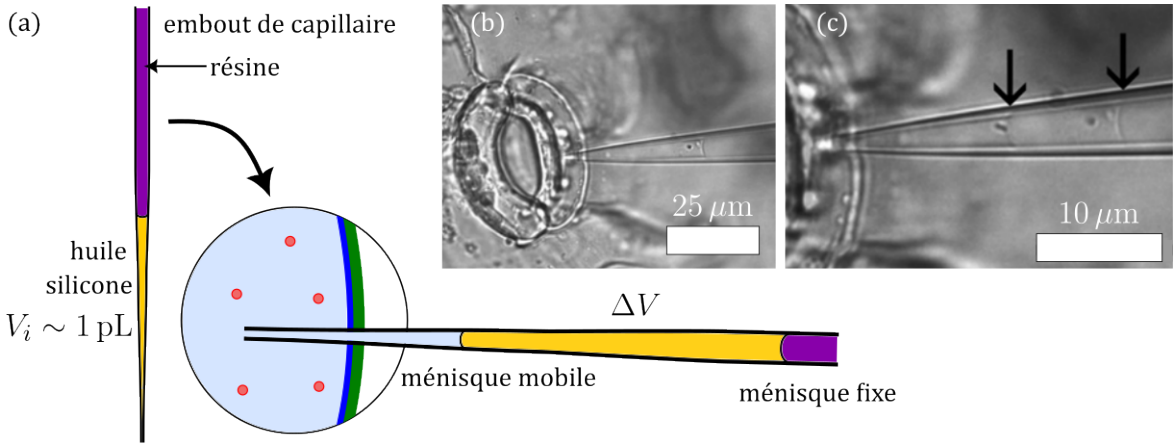


FIGURE 1.17 – Principe de fonctionnement des picojauges. (a) Représentation schématique d'un embout de capillaire, contenant l'huile de silicone dans sa pointe, et fermé à son extrémité avec une résine photo-réticulée. (b) et (c) sont des images de microscopie en champ clair d'une picojauge en opération. Les flèches noires montrent les ménisques eau/huile et huile/résine. Barres d'échelles (b) 25 µm et (c) 10 µm. Images issues de [15].

de la cellule est percée avec la pointe du capillaire, l'huile subit une compression sous l'effet de la pression intracellulaire, se traduisant par l'apparition d'un ménisque dans l'embout qui sépare le milieu cellulaire de l'huile. Puisque le capillaire est fermé, la différence de pression ΔP est calculée à partir de la variation de volume d'huile ΔV engendré par la compression, décrite selon [40]

$$E = V_i \frac{\Delta P}{\Delta V}\,, \tag{1.21}$$

avec E le module d'élasticité de l'huile (en Pa, connu ou mesuré en amont) et V_i son volume initial dans le capillaire. La variation du volume, quant à elle, est mesurée expérimentalement en suivant la position du ménisque, en microscopie optique typiquement (Fig. 1.17b et c). Cette compression est très faible, mais observable compte tenu du volume d'huile employé, de l'ordre du pL.

Les picojauges ont donc été utilisées pour mesurer la pression de turgescence dans le

phloème, reportée à environ 10 bar dans des éléments criblés de l'espèce *Vicia faba* par exemple [15]. Offrant une mesure locale, ces dernières ont également été employées pour mesurer la pression le long du phloème et dans les racines de l'espèce *Ipomoea nil* [41], comme illustré sur la Figure 1.18. L'étude reporte des pressions de 10 à 20 bar dans le phloème et de l'ordre de 5 bar dans les racines, ainsi que des vitesses d'écoulement de sève entre 100 et 250 µm s^{-1}. Ces résultats suggèrent que le transport des sucres des zones sources vers les zones puits est conduit par un gradient de pression de turgescence, mettant ainsi en évidence le mécanisme de Münch. L'expérience été réalisée à plusieurs reprises par les auteurs pour mesurer la pression de turgescence dans le phloème en fonction de la hauteur totale de la plante. Les résultats (non montrés dans le manuscrit) montrent que le gradient de pression et la vitesse de l'écoulement dans le phloème (donnée par la conductivité des éléments criblés) augmentent avec la hauteur totale de la plante [41], soulignant son adaptation au transport des sucres à longue distance.

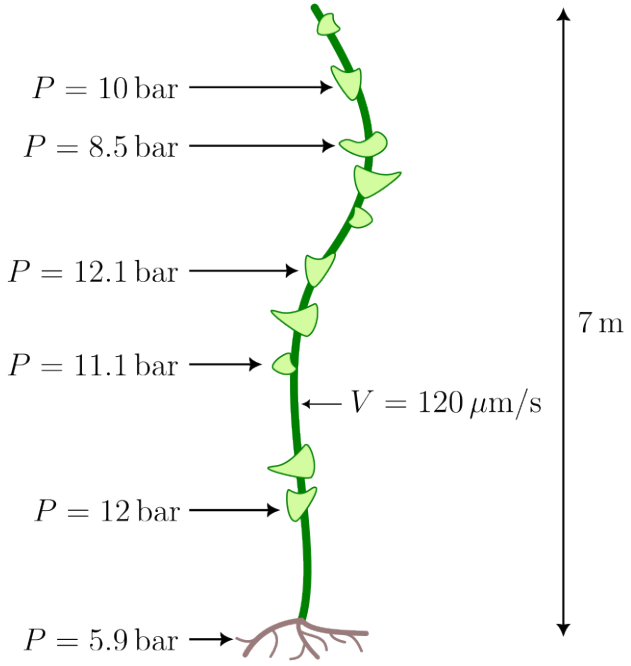


FIGURE 1.18 – Mesure locale de la pression de turgescence dans le phloème le long d'une plante de l'espèce *Ipomoea nil*. Les mesures sont réalisées dans les zones sources (feuilles) à l'aide de picojauges [15]. La pression dans les racines est mesurée dans les cellules du cortex. Adapté de [41].

Dans le phloème, les éléments criblés contiennent des protéines, dites protéines-P, qui n'impactent pas l'écoulement de la sève lorsque le tissu est intact. Cependant, lors d'une lésion, typiquement causée par une incision, ces protéines s'accumulent et jouent le rôle de coagulant dans un mécanisme de cicatrisation rapide [4]. Compte tenu de la taille caractéristique du phloème, leur accumulation peut boucher les pores des perforations, résultant en une réduction, et parfois même un arrêt de l'écoulement dans le phloème [4, 15]. Les approches invasives ne sont donc pas toujours adaptées.

1.3.1.2 Approches non-invasives

Dans ce contexte, des approches non-invasives reposant sur la microscopie à force atomique (AFM) ont été développées [5, 42]. Le principe est illustré sur la Figure 1.19.

Un faisceau laser est émis en direction d'un micro-levier réfléchissant, en contact avec la surface de la cellule. En appliquant une force sur le levier, la cellule subit une déformation δ. La topographie de la cellule est obtenue en analysant la déviation de la lumière réfléchie sur le micro-levier durant son inflexion et son redressement. Lorsque les déformations sont faibles, c'est à dire $\delta < e$ avec e l'épaisseur de la paroi de la cellule, le module d'élasticité de la paroi est déterminé par la loi de Hertz [43] selon

$$F \sim E\sqrt{R}\delta^{3/2}\,, \tag{1.22}$$

avec F la force appliquée sur le levier (en N) et R le rayon de la sonde du micro-levier. Lorsque $\delta \sim e$ et $R \ll R_{\text{cell}}$ (avec R_{cell} le rayon de la cellule), la déformation de la cellule est proportionnelle à la force selon

$$F = k\delta\,, \tag{1.23}$$

avec k la rigidité apparente de la cellule (en $\mathrm{N\,m^{-1}}$). Celle-ci dépend (i) de l'épaisseur de la paroi et de son module d'élasticité, déterminés par microscopie électronique et AFM pour $\delta \ll e$ respectivement, (ii) de la topographie locale de la cellule (mesures AFM), et (iii) de la pression de turgescence dans la cellule. Dans le cas limite d'une cellule de forme ellipsoïdale, ces trois contributions peuvent être dé-corrélées (voir éqn. (1) en ref. [42]) permettant ainsi de calculer la pression de turgescence de la cellule.

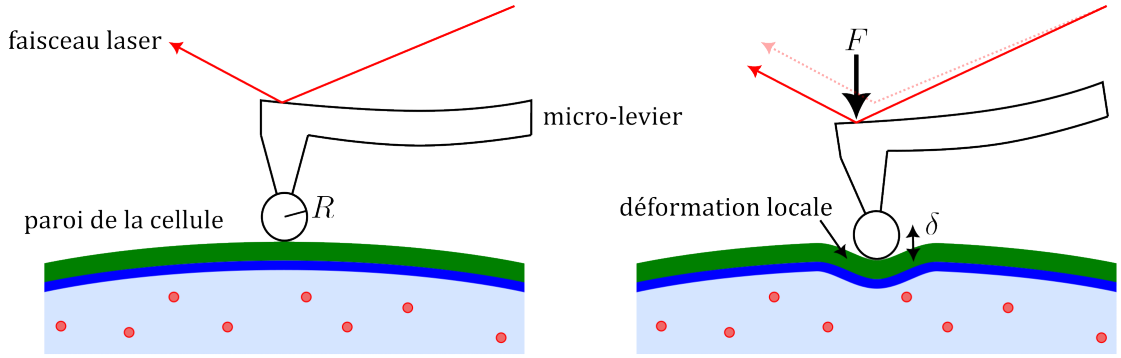


FIGURE 1.19 – Principe de fonctionnement d'une sonde de microscope à force atomique. Adapté de [5].

L'approche non-invasive reste cependant limitée pour étudier le transport des sucres le long des éléments criblés, car elle requiert un positionnement précis de la sonde sur la paroi de cellules protégées derrière plusieurs couches de tissus, mais également car ces mêmes cellules sont bien moins nombreuses par rapport aux autres types de tissus dans les plantes.

Sans être approfondies dans cette bibliographie, d'autres approches non invasives ont également été développées, notamment des méthodes d'imagerie telles que l'IRM [44]. À ce jour, l'IRM est la seule technique non invasive permettant de quantifier des vitesses d'écoulement sur de longues périodes. Malheureusement, sa résolution spatiale est insuffisante pour distinguer les tubes criblés entre eux.

La compréhension du transport de la sève élaborée dans le phloème reste donc un défi majeur, principalement en raison du manque de données expérimentales accessibles [45]. Les principales difficultés découlent de l'inaccessibilité du phloème, enfoui sous plusieurs

couches de tissus, et de la réaction rapide du phloème suite à sa blessure [4, 15]. Bien que plusieurs méthodes aient été développées, il existe à ce jour peu de mesures offrant une résolution spatiale et temporelle suffisante pour étudier la dynamique du transport de la sève chez les plantes vasculaires. Toutes ces raisons ont donc poussé la communauté scientifique à se tourner vers des approches théoriques, dans lesquelles le transport des sucres dans le phloème est modélisé.

1.3.2 Modélisation du transport dans le phloème

Comme nous l'avons évoqué dans la Section 1.2.1, les flux de volume dans les plantes sont induits par des gradients de potentiel hydrique. Dans le mécanisme de Münch, le transport de la sève élaborée repose sur la présence d'une membrane séparant le phloème du xylème, permettant de générer ces flux à partir d'une différence de pression osmotique via les chargement et déchargement des sucres dans les zones sources et puits respectivement. Pour répondre aux limitations des études *in planta*, des approches théoriques ont été développées pour modéliser les écoulements dans les plantes.

1.3.2.1 Les équations de Münch-Horwitz

Le phloème peut être représenté par un tube microfluidique dont la paroi est une membrane semi-perméable, permettant d'échanger de l'eau avec le milieu extérieur (xylème). Bien que certains travaux aient déjà étudié le cas d'une membrane non idéale ($\sigma < 1$) [46], une majorité d'études théoriques du mécanisme de Münch supposent $\sigma = 1$ [47-49]. On considère ici la configuration schématisée sur la Figure 1.20. Le xylème est un réservoir d'eau « infini » où le potentiel hydrique Ψ_{X} est uniforme le long du canal. Le phloème est quant à lui décrit comme un tube fermé de longueur L, sectionné en trois régions : chargement (source), transport, et déchargement (puits). La région de chargement est constamment approvisionnée en soluté par un flux Γ (en $\mathrm{mol\,m^{-1}\,s^{-1}}$). Par conséquent, les solutés génèrent une pression osmotique ce qui induit localement un flux volumique J_v en provenance du xylème, et donc une augmentation de la pression de turgescence dans le phloème. Un écoulement se crée donc le long du phloème, jusqu'à la région de déchargement dans laquelle les solutés sont déchargés selon un flux Γ sortant. Ce système peut atteindre un état stationnaire, caractérisé par des profils de vitesse $V(x)$ (moyennée sur la section $\mathcal{S}$ du tube) et de concentration $C(x)$ en soluté, qui dépendent de Γ ainsi que de la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ de la membrane.

Les écoulements sont incompressibles et le système est considéré indéformable. La conservation du débit est donc exprimée selon

$$\frac{r}{2}\frac{\partial V}{\partial x} = J_v\,, \tag{1.24}$$

avec r le rayon du phloème et $J_v = -\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(\Psi_{\mathrm{P}} - \Psi_{\mathrm{X}})$ le flux volumique exprimé selon la première équation de Kedem et Katchalsky. Le potentiel hydrique du xylème étant constant, nous avons

$$\frac{r}{2}\frac{\partial V}{\partial x} = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}[\Psi_{\mathrm{X}} - (P - \Pi)]\,, \tag{1.25}$$

où $P(x)$ et $\Pi = RTC(x)$ sont les pressions de turgescence et osmotique dans le phloème le long du canal respectivement. Nous considérons, par simplicité, que la pression osmotique s'exprime selon la loi de van't Hoff. En outre, nous considérons également

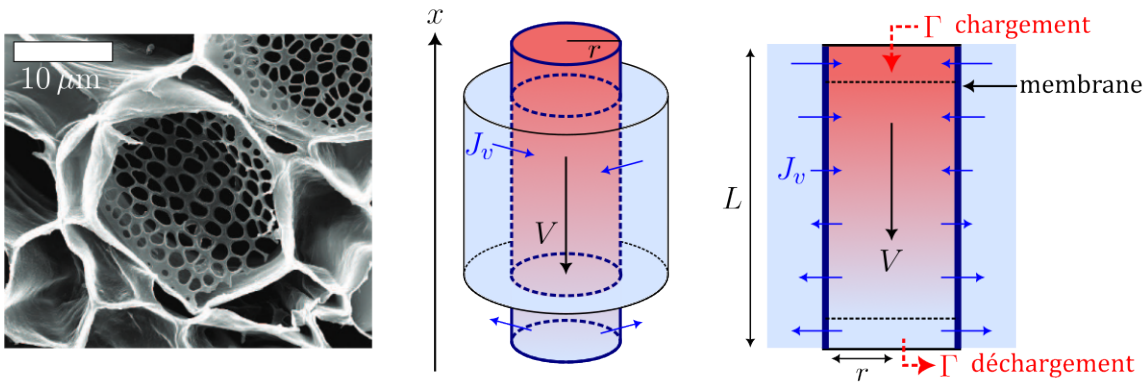


FIGURE 1.20 – (gauche) Photographie en microscopie électronique de perforations issue de [8]. (droite) Représentation schématique simplifiée du transport dans un phloème de section circulaire. Ce dernier est entouré d'eau et la paroi est une membrane perméable à l'eau. Les écoulements à travers la membrane et le long du tube sont symbolisés par les flèches en bleu et noir respectivement. Les flèches en pointillés rouges représentent les chargement et déchargement en soluté.

$\Psi_X = 0$. Le gradient de pression de turgescence génère un écoulement décrit par la loi de Hagen-Poiseuille selon

$$L\frac{\partial P}{\partial x} = -\mathcal{R}_h \mathcal{S}\, V(x)\,, \tag{1.26}$$

avec $\mathcal{S} = \pi r^2$ la section du canal, et $\mathcal{R}_h$ la résistance hydraulique du canal, exprimée dans notre configuration selon

$$\mathcal{R}_h = \frac{8\eta L}{\pi r^4}\,. \tag{1.27}$$

En dérivant l'éqn. (1.25) une seconde fois, et en y injectant l'expression (1.26), on obtient la première équation de Münch-Horwitz [50] :

$$\frac{r}{2}\frac{\partial^2 V}{\partial x^2} = \mathcal{L}_{\text{hyd}}\left(RT\frac{\partial C}{\partial x} + \frac{\mathcal{R}_h\mathcal{S}}{L}V(x)\right)\,, \tag{1.28}$$

dans laquelle $\partial_x \Psi_X = 0$ car le potentiel hydrique est considéré constant (et $\Psi_X = 0$). La seconde équation de Münch-Horwitz [50] est obtenue en écrivant l'équation de conservation du soluté dans le canal, exprimée selon

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial (CV)}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \Gamma\,, \tag{1.29}$$

où les termes $\partial_x(CV)$ et $D\partial_x^2 C$ correspondent à la convection et la diffusion dans le canal respectivement, et Γ au flux de soluté entrant (ou sortant) dans le canal. Notons que l'équation considère implicitement que le coefficient de diffusion du soluté dans le canal est indépendant de la concentration [51].

Les variables du systèmes sont normalisées pour simplifier la notation des équations, et également pour faire apparaître les paramètres sans dimensions relatifs au transport. Dans ce contexte, les positions, concentrations et vitesses sont normalisées selon $\mathcal{X} = x/L$, $c = C/C_0$ et $v = V/V_0$ respectivement, avec $V_0 = (2L/r)\mathcal{L}_{\text{hyd}}RTC_0$ la vitesse caractéristique de l'écoulement osmotique. La variable de temps est quant à elle

normalisée selon $\mathcal{T} = t/\tau$ avec $\tau = L/V_0$, ce qui correspond au temps caractéristique de l'advection d'une molécule de soluté sur la longueur du canal. Nous introduisons également le paramètre sans dimensions Mu, appelé plus communément nombre de Münch, qui compare la résistance hydraulique du canal $\mathcal{R}_h$ à celle de la membrane $\mathcal{R}_\mathrm{m} = 1/(2\pi r L \mathcal{L}_\mathrm{hyd})$, selon

$$\mathrm{Mu} = \frac{\mathcal{R}_h}{\mathcal{R}_\mathrm{m}} = \frac{16\eta L^2 \mathcal{L}_\mathrm{hyd}}{r^3}\,. \tag{1.30}$$

Ce dernier correspond notamment au paramètre $\hat{\mathrm{R}}$ défini dans un modèle de Thompson et Holbrook [49]. Ainsi, les équations (1.28) et (1.29) deviennent

$$\frac{\partial^2 v}{\partial \mathcal{X}^2} = \frac{\partial c}{\partial \mathcal{X}} + \mathrm{Mu}\; v\,, \tag{1.31}$$

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{T}} + \frac{\partial c}{\partial \mathcal{X}} = \frac{1}{\mathrm{Pe}}\frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2} + \gamma\,, \tag{1.32}$$

avec $\gamma = \Gamma L/(C_0 V_0)$ le flux de chargement/déchargement sans dimensions, et $\mathrm{Pe} = V_0 L/D$ le nombre de Péclet, qui compare le temps de diffusion du soluté à son temps d'advection sur la longueur du canal. Par ailleurs, la pression est normalisée selon $p = P/RTC_0$, donc nous avons

$$\frac{\partial v}{\partial \mathcal{X}} = c - p\,, \tag{1.33}$$

$$\frac{\partial p}{\partial \mathcal{X}} = -\mathrm{Mu}\; v\,. \tag{1.34}$$

Les études théoriques du transport dans le phloème se concentrent donc sur la résolution des équations de Münch-Horwitz. Ces équations ne possèdent pas de solution analytique, mais peuvent être résolues par des approches numériques, en considérant la dépendance du temps [47-49] ou à l'état stationnaire [9].

Les valeurs typiques de Mu et de Pe caractéristiques du transport des sucres aux différentes échelles dans le phloème sont présentées dans la Table 1.2, extraite d'une publication de Jensen *et al.* [4]. À l'état stationnaire, lorsque $\mathrm{Mu} \ll 1$, la résistance hydraulique du canal est négligeable devant celle de la membrane, on s'attend alors à un gradient de pression nul le long du phloème et à une translocation des sucres lente [9]. Cette limite est attribuée au transport à l'échelle d'un élément criblé ($< 1\,\mathrm{mm}$). Dans le régime inverse ($\mathrm{Mu} \gg 1$), la résistance du canal est fortement supérieure à celle de la membrane, le gradient de pression est donc élevé et la vitesse de l'écoulement n'est que peu influencée par le flux osmotique. Le transport s'effectue alors sur une longueur comparable à la taille d'un arbre ($10\,\mathrm{m}$). On note en outre que le transport s'effectue principalement par advection avec $\mathrm{Pe} \gg 1$.

1.3.2.2 Exemple de résolution

Nous prenons pour exemple le modèle de Thompson et Holbrook [48], dans lequel le phloème est modélisé selon les conventions établies précédemment (voir Fig. 1.20). Dans cette étude, le phloème est un tube de rayon $r = 7.5\,\mu\mathrm{m}$ et de longueur $L = 5\,\mathrm{m}$, et la perméabilité hydraulique des parois est de $\mathcal{L}_\mathrm{hyd} = 5\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$. Des flux de solutés Γ sont imposés de façon à mimer les chargement et déchargement constants

TABLE 1.2 – Valeurs de Mu et Pe selon l'échelle caractéristique de longueur du phloème. Le nombre de Münch est calculé selon l'éqn. (1.30) avec $r = 10\,\mu\text{m}$, $\eta = 2\,\text{mPa}\,\text{s}$, et $\mathcal{L}_{\text{hyd}} = 5\,\text{nm}\,\text{s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$. Le nombre de Péclet est calculé avec $D = 5 \times 10^{-10}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$ et $C_0 = 1\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$, soit $RTC_0 \simeq 25\,\text{bar}$. Issu de [4].

Èchelle caractéristique	ℓ	Mu	Pe
Èlément criblé	1 mm	1.6×10^{-6}	50
Feuille	1 cm	1.6×10^{-4}	5000
Branche	1 m	1.6	5×10^{7}
Arbre	10 m	160	5×10^{9}

des sucres dans les zones sources et puits respectivement. La membrane est considérée idéale ($\sigma = 1$), ne laissant passer que l'eau.

La concentration en soluté $C(x)$ le long du tube génère une pression osmotique et donc un écoulement de débit $Q = \mathcal{S}V$ ($\mathcal{S} = \pi r^2$ la section du tube), décrit de façon similaire à l'éqn. (1.26) selon

$$\beta L \frac{\partial P}{\partial x} = -\mathcal{R}_h \mathcal{S}\, V(x)\,, \tag{1.35}$$

où $\beta \leq 1$ est un nombre sans dimension, appelé facteur de perforation ou *sieve plate factor*, qui quantifie l'influence des pores des perforations sur la conductivité du tube, qui ont été considérées. Le cas $\beta = 1$ représente une situation idéale dans laquelle la présence des perforations ne gêne pas l'écoulement.

Notons que dans leur modèle, Thompson et Holbrook ont également considéré que le phloème pouvait être déformé sous l'effet de la pression de turgescence exercée sur la paroi du tube [48]. Ainsi, ils expriment la conservation du volume (et non pas du débit) selon

$$\frac{\partial \mathcal{S}}{\partial t} = J_v \mathcal{S} + v_s \Gamma - \frac{\partial(\mathcal{S}V)}{\partial x}\,, \tag{1.36}$$

où $\partial\mathcal{S}/\partial t$ correspond à l'expansion du tube liée à sa déformation (ce terme est nul si le système est indéformable), $\partial_x(\mathcal{S}V)$ est la variation du débit volumique le long du canal, J_v est le flux volumique trans-membranaire généré par la pression osmotique, v_s est le volume molaire du saccharose (supposé indépendant de C, en $\text{m}^3\,\text{mol}^{-1}$) et Γ est le flux de soluté. Ainsi, $v_s\Gamma$ correspond au débit volumique de soluté ajouté (ou retiré) par unité de longueur (en $\text{m}^3\,\text{m}^{-1}\,\text{s}^{-1}$). La conservation du soluté est quant à elle exprimée selon

$$\frac{\partial(\mathcal{S}C)}{\partial t} + \frac{\partial(CV)}{\partial z} = \Gamma\,, \tag{1.37}$$

où le transport du soluté par diffusion est négligé (Pe $\gg 1$). Ces équations sont résolues via une approche numérique, ce qui permet d'obtenir les champs de concentration et de pression de turgescence le long du phloème en fonction du temps. Ces derniers sont obtenus en fixant les flux de chargement et déchargement Γ, le potentiel hydrique à l'extérieur du tube Ψ_{X}, la perméabilité hydraulique de la membrane $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$, mais également les paramètres géométriques du système, soit L, r, et β, qui permettent de fixer la résistance hydraulique $\mathcal{R}_h$ du tube.

La Figure 1.21 est un exemple de résultats obtenus par Thompson et Holbrook pour une simulation sur 24 h. Les données montrent l'établissement d'un gradient de pression

le long du phloème. En fin de simulation, c'est-à-dire lorsque le système est à l'état stationnaire, la différence de pression entre les deux extrémités du phloème s'élève à environ 35 bar. Dans ce régime, la concentration moyenne de saccharose est d'environ $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$, ce qui est plutôt cohérent avec les mesures expérimentales [1, 4, 12]. Les états transitoires permettent de visualiser le transport du saccharose dans le temps. Nous pouvons notamment observer l'établissement du profil de l'écoulement dans le tube, qui informe sur le transport du front de soluté le long du phloème, ainsi que la conservation du débit dans avec le flux trans-membranaire J_v, négatif lorsque l'eau du phloème retourne vers le milieu extérieur. Compte tenu des dimensions du système, la conductivité hydraulique du tube est effectivement réduite par un facteur de perforation estimé à $\beta \simeq 0.13$. Par conséquent, $\mathrm{Mu} = \mathcal{R}_h/(\beta\mathcal{R}_\mathrm{m}) \sim 700$ ce qui correspond au régime attendu pour le transport des sucres à l'échelle d'un arbre, où la résistance hydraulique du phloème est bien plus élevée que celle de la membrane perméable du tube.

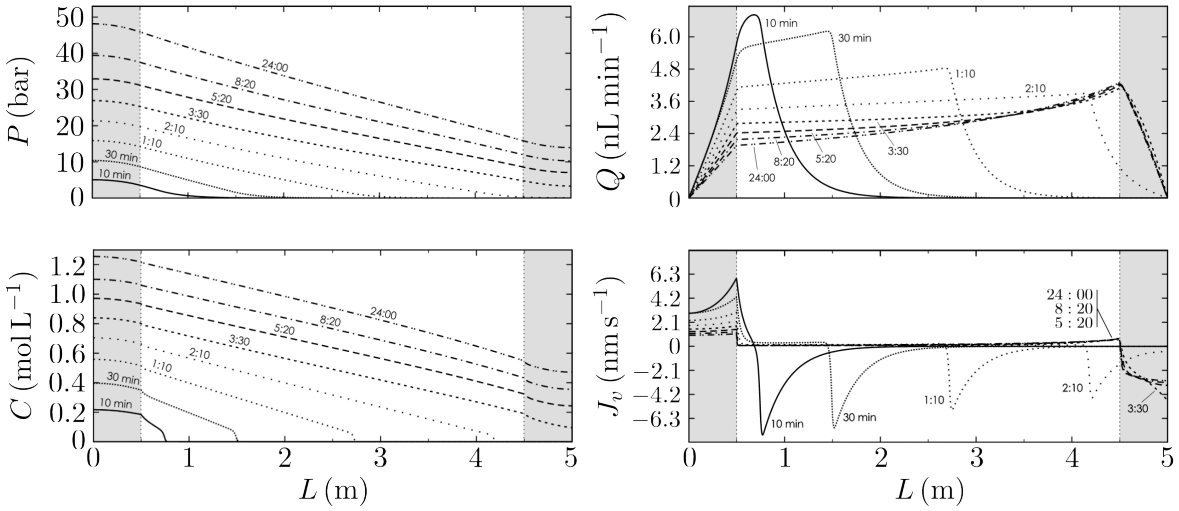


FIGURE 1.21 – Évolution dans le temps de la pression de turgescence P, la concentration C, le flux de volume axial j et du flux de volume trans-membranaire J_v en fonction de la distance dans le phloème L et du temps. Adapté de [48].

Les modélisations du mécanisme de Münch sont limitées par la difficulté d'obtention de données expérimentales sur l'anatomie et la physiologie du phloème. Certains paramètres sont donc difficiles à considérer, comme par exemple l'impact des perforations sur la résistance à l'écoulement le long du phloème, estimé par un facteur β dans le modèle de Thompson et Holbrook [48].

1.3.2.3 Résistance hydraulique des tubes criblés

Dans ce contexte, Jensen *et al.* ont étudié l'impact des perforations sur la résistance hydraulique du phloème, en mêlant des observations expérimentales et une approche numérique [8]. Comme illustré sur la Figure 1.22, le profil d'écoulement dans un tube criblé et à travers une perforation a été calculé, en considérant un écoulement laminaire ($\mathrm{Re} \ll 1$), permettant de déterminer numériquement la résistance hydraulique totale $\mathcal{R}_\mathrm{num}$. La taille et la répartition des pores sur les perforations sont issues d'images en microscopie électronique (voir Fig. 1.4).

Pour aller plus loin, les résistances calculées numériquement ont été confrontées à un

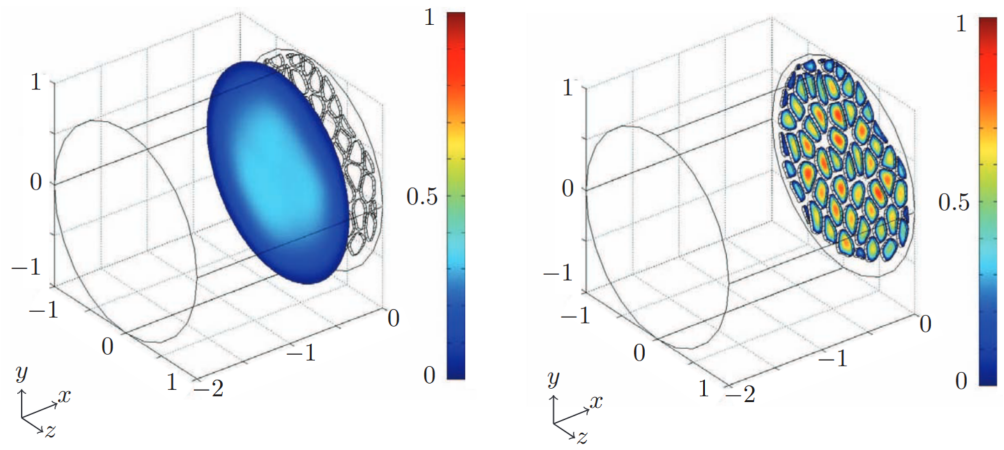


FIGURE 1.22 – Simulation du profil d'écoulement le long du phloème dans un élément criblé (gauche) et à travers une perforation (droite). Le code couleur correspond à l'intensité de la vitesse. Adapté de [8].

modèle théorique, dans lequel le phloème est représenté par un tube cylindrique. La résistance hydraulique totale d'un complexe élément criblé/perforation est exprimée selon

$$\mathcal{R}_{\text{th}} = \mathcal{R}_L + \mathcal{R}_p \,, \tag{1.38}$$

où $\mathcal{R}_L$ est la résistance de l'élément criblé (éqn. (1.27)) et $\mathcal{R}_p$ est la résistance de la perforation. Chaque perforation est composée d'un ensemble de N pores, qui forment une collection de résistances en parallèle. Ainsi, la résistance d'une perforation est exprimée selon

$$\mathcal{R}_p = \sum_{i=1}^{N} \left(\frac{8\eta l_p}{\pi r_{p,i}^4} + \frac{3\eta}{r_{p,i}^3} \right)^{-1} , \tag{1.39}$$

où l_p est l'épaisseur de la perforation et $r_{p,i}$ est le rayon d'un pore. Les auteurs montrent finalement que les valeurs de $\mathcal{R}_{\text{num}}$ obtenues par les simulations sont proches de l'estimation théorique de $\mathcal{R}_{\text{th}}$ qui semble donc être une approche correcte. En outre, une relation de quasi-égalité entre la résistance des perforations et des éléments criblés est reportée selon

$$\mathcal{R}_p \simeq \mathcal{R}_L \,, \tag{1.40}$$

indiquant que la présence des perforations double la résistance hydraulique totale du tissu. Pour faire écho à l'étude de Thompson et Holbrook [48], cela représente une valeur de $\beta \simeq 0.5$ dans l'éqn. (1.35).

L'étude du transport des sucres dans le phloème est complexe avec les outils actuels. En outre, ces modèles, bien qu'avec des équations locales, ne sont testés qu'avec des données globales de flux, et au mieux avec des mesures ponctuelles de pression ou de concentration à plusieurs positions. Cela dit, les diamètres caractéristiques du phloème et du xylème sont de l'ordre de 10 et 100 µm respectivement, et les écoulements y sont par ailleurs laminaires (voir Table 1.1). La microfluidique apparaît donc comme une approche pertinente à l'étude du transport dans les tissus vasculaires des plantes [7, 19, 30, 45, 52, 53].

1.3.3 Approche microfluidique : vers une plante-sur-puce

Un système est qualifié comme microfluidique lorsque de faibles volumes de fluides, de 10^{-9} à 10^{-18} L typiquement, sont manipulés dans des canaux aux dimensions microscopiques de l'ordre de la dizaine à quelques centaines de micromètres [54]. À cette échelle, les phénomènes de transport dans les canaux peuvent être précisément observés en microscopie optique. Par ailleurs, les expériences impliquent de faibles volumes d'échantillons, permettant de réduire significativement les coûts associés aux produits, et dans une certaine mesure le temps des expériences. L'étude du transport osmotique des sucres dans le phloème par des approches *in vitro* est relativement récente. Les configurations expérimentales développées reposent sur un principe commun : l'utilisation de membranes synthétiques permettant le transport sélectif de composés chimiques, et capables de générer des écoulements osmotiques. L'intégration de membranes dans des puces microfluidique ouvre la porte à de nombreux procédés [13, 55-57], comme par exemple la concentration d'analytes [58, 59], la micro-dialyse pour la purification [60], la cristallisation de protéines [61], le dessalement de l'eau par osmose inverse [17, 18], et la génération de flux osmotiques pour la distribution de substances actives de médicaments [62], pour le pompage osmotique passif [63, 64], mais aussi pour des études fondamentales du transport de la sève dans les plantes [52].

1.3.3.1 Reproduction d'un écoulement osmotique

Pour illustrer la pertinence de cette approche dans le contexte du transport dans le phloème, nous nous appuyons tout d'abord sur une étude dans laquelle des écoulements osmotiques ont été mesurés à l'échelle millifluidique [52]. La configuration étudiée est illustrée sur la Figure 1.23. Celle-ci se compose de deux tubes circulaires imbriqués l'un dans l'autre, séparés par une membrane semi-perméable, laissant passer l'eau mais pas les solutés. Le système est initialement entièrement rempli d'eau. À $t = 0$, une solution de dextran ($M = 17.5\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$) est injectée dans une des extrémités du tube interne, qui est ensuite fermé. La présence de soluté génère une pression osmotique dans le tube, qui se traduit par un écoulement spontané d'eau en provenance du tube externe (flèches bleues sur la Fig. 1.23), et donc une advection des solutés le long du tube, transitoire en raison de sa longueur finie. Notons que cette configuration expérimentale correspond remarquablement bien à la configuration théorique illustrée précédemment sur la Figure 1.20. En mesurant l'avancement du front de soluté dans le tube, les auteurs ont ainsi pu déterminer une vitesse d'écoulement de l'ordre de $1\,\mathrm{cm\,h^{-1}}$, et ont notamment montré que cette vitesse augmentait avec la concentration initiale des sucres (donc avec la pression osmotique). Les résultats expérimentaux ont été confrontés à une modélisation, faisant apparaître le nombre de Münch (Mu) qui renseigne sur l'échelle de distance sur laquelle les sucres sont transportés dans le phloème. En comparant les vitesses mesurées au régime adapté (ici $\mathrm{Mu} \ll 1$), une hypothèse fut émise, selon laquelle les plantes auraient recours, en plus du mécanisme de Münch, à des mécanismes actifs pour le transport des sucres le long de tout le phloème.

Ces mécanismes, appelés « relais », ont effectivement été considérés par le passé [65], mais cette théorie a finalement été contestée suite à une étude en microfluidique [9]. Dans cette étude, les auteurs ont reproduit le transport osmotique des sucres dans le phloème dans une puce en poly(méthacrylate de méthyle) (PMMA). Leur puce comprend deux canaux de 3 cm de longueur, 200 µm de largeur, et de 100 à 200 µm de

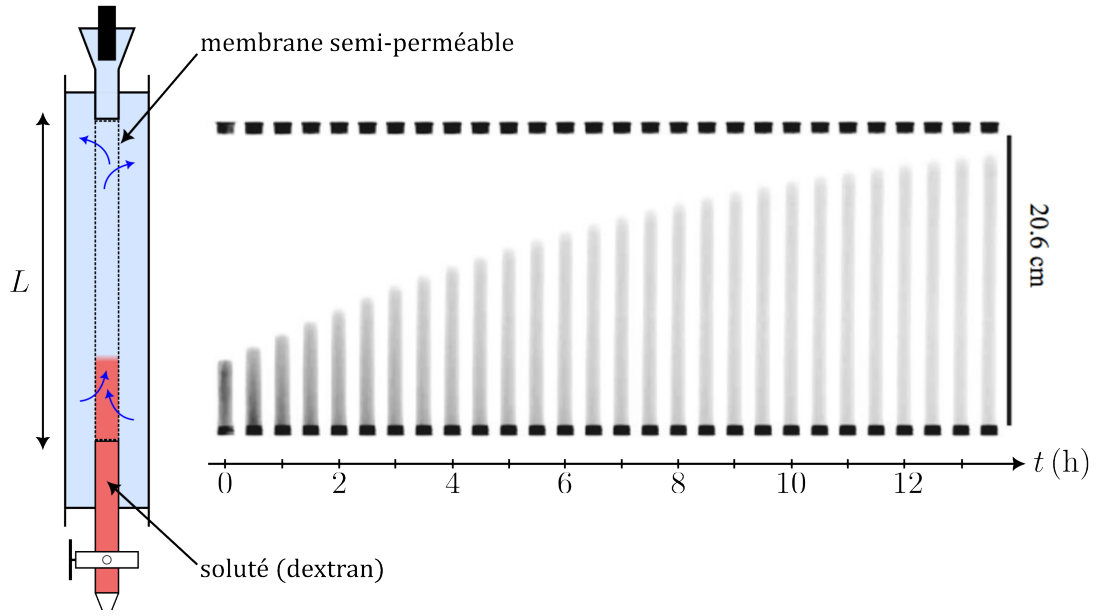


FIGURE 1.23 – Configuration millifluidique étudiée par Jensen *et al.* [7]. Un tube à la paroi semi-perméable (diamètre 10 mm) est inséré à l'intérieur d'un tube en verre (diamètre 30 mm) rempli d'eau. La présence de dextrans ($M = 17.5\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$) génère une pression osmotique et donc un écoulement d'eau transitoire le long du tube. L'avancement du front de soluté par advection est représenté au cours du temps.

hauteur. Ces deux canaux sont séparés par une membrane en cellulose, dont le seuil de coupure est de $3.5\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. De l'eau est injectée dans un canal et une solution de dextran ($M = 17.5\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$) dans l'autre (phloème). Cette dernière génère une pression osmotique ce qui induit un écoulement trans-membranaire. En couplant cette configuration microfluidique avec des mesures *in vivo*, les auteurs montrent que la vitesse maximale de translocation des sucres dépend des dimensions caractéristiques du phloème dans la plante. Plus précisément, une loi d'échelle est donnée entre le rayon des tubes criblés r, et les longueurs caractéristiques de la feuille L_f et de la tige L_t, selon

$$r \simeq (AL_fL_t)^{1/3}\,, \tag{1.41}$$

où A est une constante proportionnelle au produit $\eta\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$. La vitesse « optimale », quant à elle, est donnée par

$$v_{\mathrm{opt}} \simeq aRTC_0\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}^{2/3}\eta^{-1/3}L_f^{2/3}L_t^{-1/3}\,, \tag{1.42}$$

où a est une constante numérique et RTC_0 est la pression osmotique générée par les sucres.

1.3.3.2 Reproduction du chargement des sucres

Plus récemment, une configuration microfluidique a été développée pour étudier le transport des sucres suite à leur chargement dans le phloème par voie passive (par diffusion) [19]. Celle-ci est représentée sur la Figure 1.24. La fabrication implique l'intégration de deux membranes. La première, en rouge sur la figure, est une interface poreuse qui sépare un réservoir fermé contenant des sucres (dextran, $M = 6\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$) d'un canal microfluidique ouvert, mimant le mésophylle et le phloème respectivement. La perméabilité de cette membrane aux sucres est caractérisée par sa conductance K_D

(en $\mathrm{m^3\,s^{-1}}$), donnée par $K_D = \mathcal{S}\mathcal{L}_\mathrm{D}$ avec $\mathcal{S}$ la surface de la membrane (en $\mathrm{m^2}$) et $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ le coefficient de perméabilité du soluté. La seconde membrane, en bleu sur la figure, est semi-perméable ($\sigma = 1$) et sépare le phloème d'un réservoir d'eau ouvert jouant le rôle de xylème. Elle est caractérisée par sa perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_\mathrm{hyd}$, à laquelle est associée une résistance hydraulique $\mathcal{R}_\mathrm{M} = 1/(\mathcal{S}\mathcal{L}_\mathrm{hyd})$. Par diffusion, les solutés sont chargés dans le phloème, ce qui génère une pression osmotique et donc un flux d'eau à travers la membrane semi-perméable depuis le xylème. Ainsi, un écoulement se crée dans le phloème permettant l'advection des solutés, dont le débit est mesuré en sortie de canal.

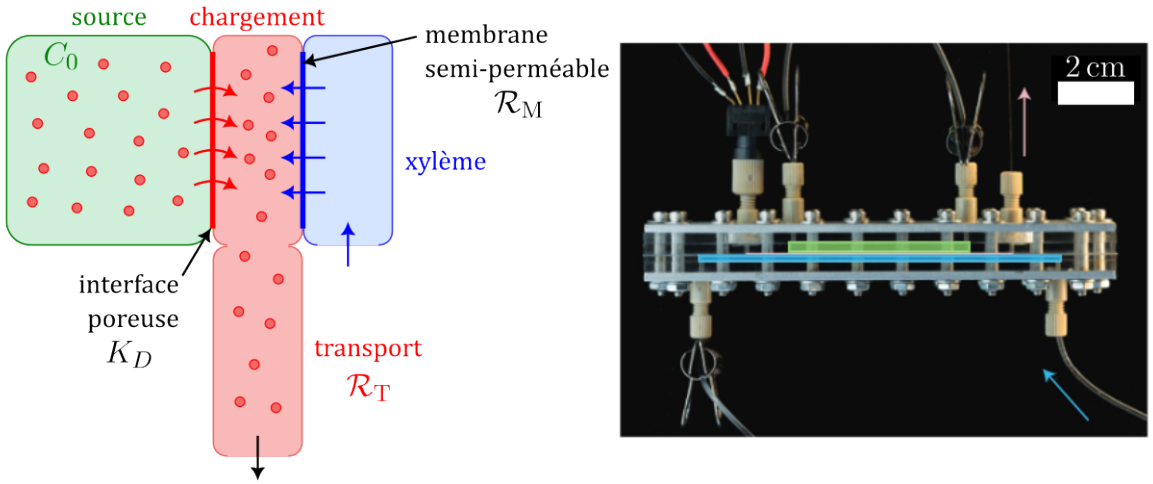


FIGURE 1.24 – (gauche) Configuration microfluidique étudiée par Comtet *et al.* [19]. Le phloème (en rouge), le xylème (en bleu), et la source de solutés (en vert) sont séparés par des membranes semi-perméable (de résistance $\mathcal{R}_\mathrm{M}$) et poreuse (de conductance K_D) respectivement. La résistance hydraulique du phloème est notée $\mathcal{R}_\mathrm{T}$. (droite) Photographie du dispositif microfluidique.

La compétition entre le chargement par diffusion et le transport osmotique est caractérisé par un nombre sans dimension appelé « nombre de flush » tel que

$$f = \frac{Q_\mathrm{M}}{K_D} = \frac{RTC_0 + P_\mathrm{X} - P_\mathrm{R}}{\mathcal{R}_\mathrm{tot} K_D}\,, \tag{1.43}$$

où Q_M est le débit de l'écoulement osmotique à la concentration C_0 en soluté, P_X et P_R sont les pressions dans le xylème et en sortie du phloème, et $\mathcal{R}_\mathrm{tot} = \mathcal{R}_\mathrm{M} + \mathcal{R}_\mathrm{T}$ est la résistance totale liée à l'écoulement dans le phloème (et à travers la membrane). Deux régimes sont identifiés, $f \ll 1$, qui décrit le cas où l'impact du transport osmotique est faible devant le chargement passif, qui se traduit par une concentration homogène dans le phloème, et $f \gg 1$, qui le cas inverse qui se traduit par une faible concentration de sucres dans le phloème (et donc une turgescence moins élevée). En augmentant la résistance hydraulique $\mathcal{R}_\mathrm{T}$ du phloème, f diminue et les auteurs mettent en évidence une augmentation de la pression dans le phloème, atteignant jusqu'à 10 bar comme dans les plantes. Ainsi, cette configuration a permis de montrer que le chargement passif dans le phloème est (i) un mécanisme viable pour le transport des sucres à longue distance dans le phloème, et (ii) efficacement opéré chez différentes espèces de plantes dans la limite $f \ll 1$.

1.4 Objectifs de la thèse

La microfluidique apparaît comme une alternative viable pour complémenter les études *in planta* et les modèles théoriques du transport dans les plantes, en particulier en ce qui concerne le transport des sucres via le mécanisme de Münch. L'étude de flux osmotiques dans des systèmes artificiels repose sur un principe commun, qui est l'intégration de membranes. Dans l'état actuel, les études qui se sont intéressées au transport dans le phloème utilisent des membranes qui sont intégrées « en sandwich » et maintenues par clampage (assuré par des vis dans le cas du dispositif en Fig. 1.24) [19, 52]. Ce type de configuration empêche des mesures locales de grandeurs comme la concentration en soluté et la vitesse. Dans ce contexte, nos travaux ont pour objectif premier de développer de nouveaux dispositifs microfluidiques, adaptés pour l'étude du transport de la sève dans le phloème, dans lesquels nous pouvons effectuer des mesures locales. En parallèle, nous avons également pour objectif de complémenter les résultats expérimentaux par des modélisations, en faisant apparaître des paramètres sans dimensions à l'image du nombre de Münch et du « nombre de flush ». Enfin, de manière plus générale, nos travaux ont pour but d'étudier la dynamique du transport de l'eau et de solutés pilotés par des hydrogels. Dans un premier temps, la fabrication des puces microfluidiques ainsi que l'intégration *in situ* de membranes dans la direction transverse des canaux, sont détaillées dans le chapitre suivant.

Chapitre 2

Méthodes de microfabrication : puces microfluidiques et intégration d'hydrogels

Contents

2.1 Fabrication des puces microfluidiques 46
2.1.1 Photolithographie de moule SU8 à deux niveaux 46
2.1.2 La réticulation du PEGDA 49
2.1.3 Silanisation des lames de verre 50
2.1.4 Fabrication et collage du timbre de PEGDA 51
2.1.5 Collage des connectiques 52
2.1.6 Fabrication de puces en PDMS 55
2.2 Photo-réticulation d'hydrogels dans les puces en PEGDA 56
2.2.1 Appareil de photopatterning : le Primo d'Alvéole 56
2.2.2 Photo-réticulation de l'hydrogel 58

Ce chapitre présente les méthodes de microfabrication utilisées et développées au cours de ces travaux. Nous détaillons dans un premier temps l'ensemble des étapes pour la fabrication de puces microfluidiques en polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA), qui ont été utilisées en grande majorité durant la thèse. Nous présentons également notre protocole de fabrication de puces en polydiméthylsiloxane (PDMS), pour lesquelles l'utilisation est restée ponctuelle, et sera détaillée ultérieurement dans le Chapitre 4. Enfin, nous expliquons comment nous intégrons *in situ* des hydrogels, jouant le rôle de membrane, au sein des puces en PEGDA.

2.1 Fabrication des puces microfluidiques

2.1.1 Photolithographie de moule SU8 à deux niveaux

Les puces sont fabriquées à partir d'un moule obtenu via une photolithographie à deux niveaux. Le principe consiste à réticuler des couches de résine photosensible négative (type SU8, MicroChem) d'épaisseurs contrôlées sur un wafer de silicium à l'aide d'une lampe UV, puis de retirer les parties non-réticulées pour faire apparaître des motifs en relief sur le wafer. L'épaisseur de la résine, qui fixe la hauteur des canaux, est contrôlée par les paramètres de dépôt et de recuit. Après exposition aux UV à travers un masque définissant le motif du canal, puis développement, on obtient une structure en relief correspondant au réseau microfluidique.

2.1.1.1 Conception du masque

Le masque permet de filtrer les rayonnements UV incidents sur la résine afin de ne réticuler que les motifs souhaités (les futurs canaux microfluidiques). Les motifs tout d'abord sont dessinés en 2D sur un éditeur vectoriel (Clewin). Un masque est ensuite imprimé sur un film de polyester de 0.18 mm d'épaisseur, avec une couche de photo-émulsion (encre noire opaque, Selba S.A.). Les motifs des canaux et des trous d'injection sont laissés transparents, tandis que le reste du masque contient l'encre opaque. Ainsi, lors de l'application de lumière UV, la résine réticule seulement à travers les zones transparentes. Nous prendrons pour exemple le masque de la configuration microfluidique la plus utilisée durant nos travaux (adapté pour des wafers de 3 pouces de diamètre). Ce dernier est présenté sur la figure 2.1.

On distingue deux masques, chacun associé à un niveau de la lithographie. Le premier (Figure 2.1a) contient les canaux microfluidiques et les trous d'injection, tandis que le second (Figure 2.1b) contient seulement les trous d'injections. La longueur et la largeur des canaux sont ainsi déterminées par le masque.

2.1.1.2 Premier niveau de la lithographie

La hauteur des canaux est déterminée par l'épaisseur de la première couche de résine déposée sur le wafer. La surface de ce dernier est tout d'abord traitée avec un plasma (Diener Zepto, $f = 13.56\,\mathrm{MHz}$, $P = 50\,\mathrm{W}$, gaz utilisé : air) pendant 30 s à une pression de travail comprise entre 1 et 1.5 mbar. Ce traitement favorise l'adhésion de la résine, qui est étalée à l'aide d'un spin-coater. L'épaisseur de la couche dépend de la viscosité de la résine utilisée, et de la rotation imposée par le spin-coater. Les SU8 fournies par MicroChem sont accompagnées d'une fiche technique permettant d'adapter les

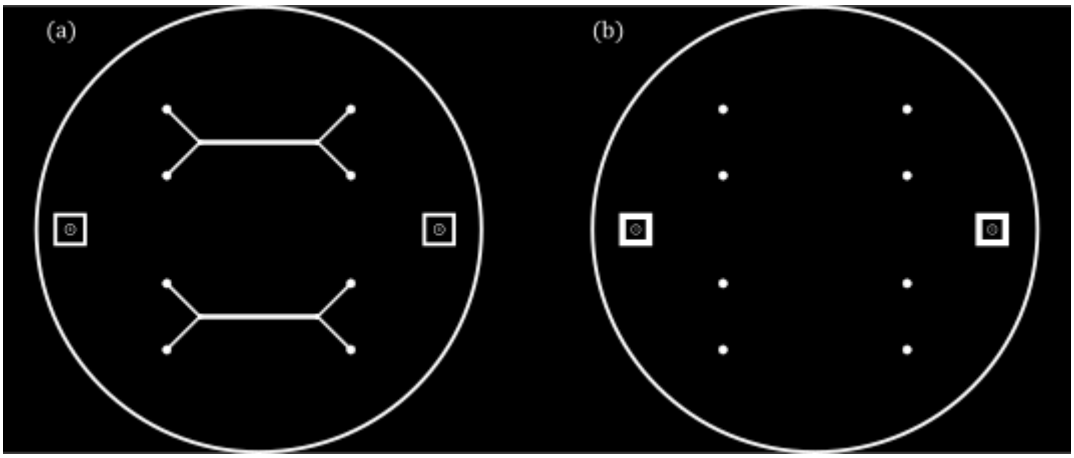


FIGURE 2.1 – Masques utilisés pour la photolithographie à deux niveaux (diamètre 3 pouces). (a) Masque du premier niveau de la lithographie. (b) Masque du second niveau de la lithographie. Les couleurs noires et blanches correspondent aux zones opaque et transparente respectivement.

paramètres de rotation en fonction de l'épaisseur souhaitée. Dans le cadre de cette lithographie, la SU8-3050 a été utilisée (3000 rotations/min (RPM) correspond plus ou moins à une épaisseur de 50 µm). L'étalement de la résine s'effectue en deux étapes : la première étape est un pré-étalement (500 RPM pendant 10 s), et la deuxième étale la solution (3000 RPM pendant 30 s). Après avoir centré le wafer sur la plateforme de rotation, et déposé un volume de quelques mL de SU8, le programme est lancé.

Une fois la résine étalée, on procède à l'évaporation du solvant en déposant le wafer sur une plaque chauffante ($T = 95\,°C$) pendant 20 min. Cette étape est appelée *soft bake*, et sa durée augmente avec l'épaisseur de résine déposée. Une fois le temps écoulé, le wafer est remis à température ambiante : si tout le solvant est effectivement évaporé, la résine ne doit plus "coller" (on touche généralement avec une pince métallique pour vérifier).

Le premier niveau est exposé aux rayons UV à l'aide d'un aligneur équipé d'une lampe à mercure ($\lambda = 385\,nm$, illumination $P \simeq 80\,mW\,cm^{-2}$, MJB4 SÜSS MicroTec). La durée d'insolation est de 9 s et dépend également de l'épaisseur de la résine. Les motifs du premier niveau sont ensuite révélés en déposant à nouveau le wafer sur la plaque chauffante pendant 5 min (*post exposure bake*, ou PEB).

2.1.1.3 Deuxième niveau de la lithographie

Un second dépôt de résine est effectué (pré-étalement à 500 RPM pendant 10 s puis étalement à 1500 RPM pendant 30 s). Cette deuxième couche est légèrement plus épaisse. De ce fait, le *soft bake* est plus long ($\simeq 50\,min$).

La principale difficulté de la photolithographie à deux niveaux réside dans l'alignement des motifs du deuxième niveau sur ceux du premier. Le wafer est placé dans l'aligneur puis est mis en contact avec le masque du second niveau. Un faible écart (*gap*) est ensuite créé entre le masque, fixe, et le wafer, mobile sur la platine de l'aligneur. Des motifs d'alignement sont dessinés sur les extrémités des masques de chaque niveau respectif (Fig. 2.1). Ainsi, le wafer est déplacé de façon à ce que les motifs d'alignement

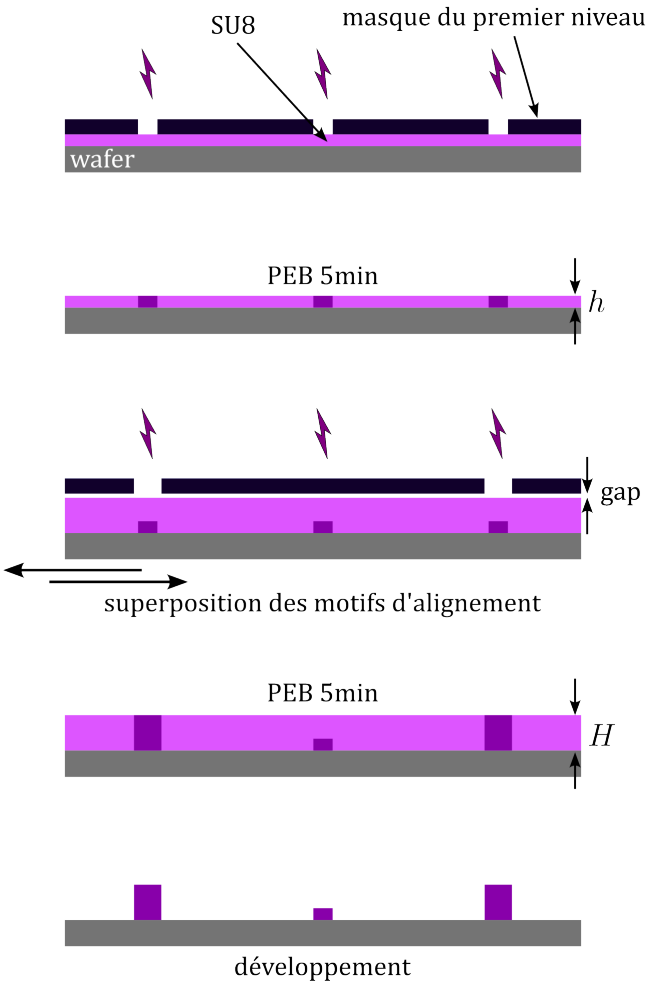


FIGURE 2.2 – Schéma récapitulatif des étapes de la photolithographie à deux niveaux. Photographies du wafer (a) sur le spin-coater après l'étalement de la première couche et (b) après le développement final.

du premier niveau coïncident avec ceux du masque. Le *gap* est alors retiré et la deuxième couche est insolée pendant 9 s. Un *post exposure bake* de 5 min est effectué afin de révéler les motifs du deuxième niveau.

2.1.1.4 Développement et traitement hydrophobe

Le développement consiste à retirer les couches de résine non-réticulées du wafer afin de révéler les motifs du moule. On procède en plongeant le wafer dans un cristallisoir contenant de l'acétate d'éther monométhylique de propylène glycol (PGMEA), puis en appliquant un léger mouvement rotatif pendant $\simeq 25$ min (la durée dépend une fois de plus de l'épaisseur totale déposée). Une fois le temps écoulé, le wafer est rincé avec du PGMEA, puis de l'isopropanol, et enfin de l'acétone.

La fabrication de puces microfluidiques en PEGDA exige un traitement de la surface du moule à l'hexaméthyldisilazane (HMDS) afin de la rendre hydrophobe (voir la Section 2.1.4 en page 51). La surface est activée au plasma (30 s à une pression comprise entre 1 et 1.5 mbar). Le moule est ensuite placé sur la plaque chauffante ($T = 95\,^{\circ}$C). Un morceau découpé d'une lame de verre est placé à côté, quelques gouttes de HMDS

y sont déposées, puis le moule et le verre sont rapidement recouverts par un capot en verre. Le traitement s'effectue ainsi en phase gazeuse par *chemical vapor deposition* pendant une durée de 35 min. On obtient finalement un moule hydrophobe pouvant servir environ une vingtaine de fois pour la fabrication de puces en PEGDA. Le traitement peut être effectué de nouveau quand la fabrication devient difficile, c'est-à-dire lorsque le PEGDA commence à coller au wafer, par exemple.

2.1.1.5 Mesure de la hauteur des canaux

La hauteur des motifs de SU8 a été mesurée à l'aide d'un profilomètre optique (S neox, Sensofar). Le principe de fonctionnement repose sur l'interférométrie en lumière blanche. On place le moule sur la platine amovible du profilomètre, puis on illumine la surface avec de la lumière blanche. La focalisation est réalisée sur la surface du wafer, en ajustant la distance entre le moule et l'objectif jusqu'à ce que des franges d'interférence soient visibles. Un scan vertical est ensuite effectué, et donne la hauteur des motifs du premier niveau et celle des piliers du second. Selon les paramètres de rotation décrits précédemment (voir page 46), on mesure une hauteur $h = 50\,\mu m$ pour le premier niveau, et une hauteur totale de $H = 150\,\mu m$. Afin de vérifier l'homogénéité de la hauteur des motifs, on effectue généralement entre 3 et 5 scans pour chaque motif présent sur le wafer à des positions aléatoires. L'analyse de multiples motifs sur de nombreux moules fabriqués tout le long de ces travaux montre une variation d'environ 5 µm d'un motif à l'autre, mais les variations au sein d'un même motif sont généralement de l'ordre de 2 µm.

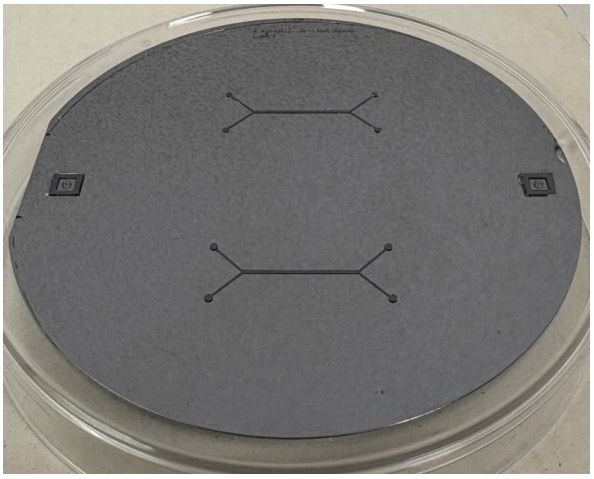


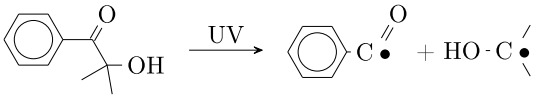
FIGURE 2.3 – Exemple de moule à deux niveaux en résine SU8 (diamètre 3 pouces). Le premier niveau contient les motifs de canaux tandis que le second contient les entrées et sorties (cercles localisés en bout de motifs des canaux).

2.1.2 La réticulation du PEGDA

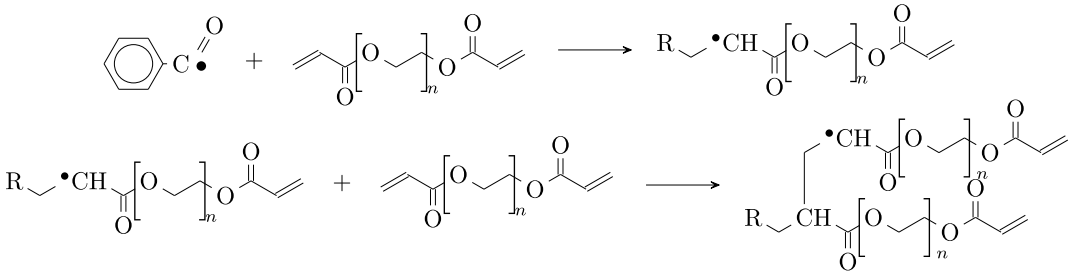
La matrice de la puce est un réseau tridimensionnel de polyéthylène glycol diacrylate (PEGDA) réticulé, dont les points de réticulation sont fournis par les groupements acrylates en bout de chaîne de PEG. Nous nous sommes intéressés au mécanisme de la photo-réticulation du PEGDA [27, 66] initiée par la 2-hydroxy-2-méthylpropiophénone (2-HMP) [67]. Ce dernier est une réaction radicalaire en chaîne qui se compose de

trois grandes étapes, illustrées sur la figure 2.4. La première est l'amorçage. La lumière UV induit la rupture d'une liaison chimique C-C au sein du photo-initiateur (2-HMP), produisant un radical. Ce groupement, de plus haute instabilité et réactivité, initie la propagation, que l'on décompose en deux sous-étapes. Tout d'abord, le radical est transféré à un groupement acrylate du PEGDA. Le groupement radicalaire de la 2-HMP se greffe sur la double liaison C=C et transfère son radical. Ce nouveau radical est ensuite transféré à une nouvelle chaîne de PEGDA à travers une réaction avec la double liaison C=C en bout de chaîne de PEGDA. Cette opération est répétée ce qui propage la réticulation entre les chaînes de PEGDA. La terminaison permet finalement d'interrompre la réticulation des chaînes. Elle se produit lorsque deux radicaux réagissent pour former une liaison covalente. Par exemple, la réticulation peut être stoppée lorsque deux groupes de chaînes réticulées se rencontrent (comme illustré par l'étape 3 de la Figure 2.4), mais également lorsque une chaîne réticulée rencontre l'un des radicaux de 2-HMP. Notons que la propagation est également interrompue en présence d'oxygène, qui est un inhibiteur de la réaction, généralement indésirable dans le cadre de photo-réticulation de micro-structures de PEGDA [27, 68-70].

Étape 1 : initiation de la réaction



Étape 2 : transfert et propagation



Étape 3 : terminaison

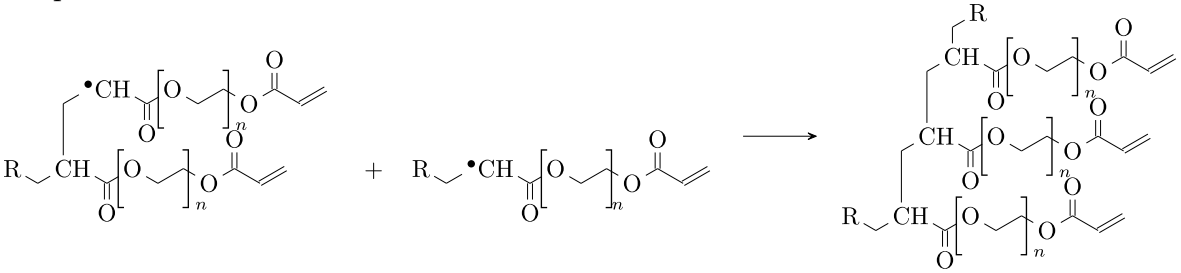


FIGURE 2.4 – Mécanisme de photo-réticulation radicalaire du PEGDA initiée par la 2-HMP [66, 67].

2.1.3 Silanisation des lames de verre

Il sera ultérieurement expliqué dans la section 2.1.4 que la puce microfluidique est scellée en collant un timbre de PEGDA, contenant les canaux microfluidiques, sur une lame de verre (voir la Figure 2.6). Pour assurer ce collage, la surface de cette lame de verre est fonctionnalisée avec du 3-(triméthoxysilyl)propyl acrylate (ou silane acrylate).

Le traitement de la surface est illustré sur la Figure 2.5. Un lot de lames de verre (3×1 pouces^2) est déposé dans une boîte prévue pour leur rangement. Plusieurs emplacements sont laissés libres, dans lesquels nous plaçons deux puits (des lames porte-objet fonctionnent très bien). Nous déposons quelques gouttes de silane acrylate dans les puits et fermons la boite avant de la placer dans une étuve ($T = 65\,°\mathrm{C}$). Le greffage du silane acrylate s'effectue en phase gazeuse, par *chemical vapor deposition*, pendant plusieurs heures, idéalement toute une nuit. Pendant le temps du traitement, des liaisons covalentes Si-O se forment entre la lame de verre et le silane.

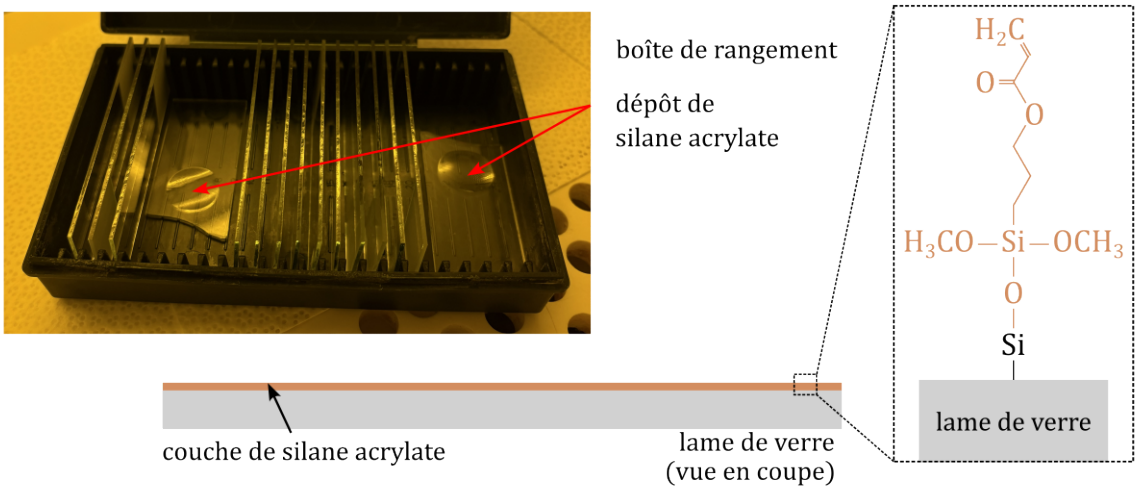


FIGURE 2.5 – Silanisation des lames de verre.

2.1.4 Fabrication et collage du timbre de PEGDA

Les puces sont fabriquées à partir du protocole de Keita et al. [70]. On utilise le PEGDA-250 (masse molaire moyenne $M_n \simeq 250\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) qui garantit l'obtention d'une matrice imperméable à l'eau [68, 70]. Cette propriété découle du poids moléculaire du PEGDA utilisé. En effet, de courtes chaînes de PEG (typiquement $M_n \leq 500\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$[68]) permettent de créer plus de points de réticulation par unité de volume, ce qui augmente la densité du réseau. De plus, ces puces sont capables de supporter des pressions hydrostatiques jusqu'à 7 bar sans fuite ni déformation [68]. Le protocole de fabrication est schématisé sur la Figure 2.6.

On utilise le moule SU8 à deux niveaux (voir la Section 2.1.1). Le premier niveau contient les motifs des canaux, de hauteur $h \simeq 50\,\mu\mathrm{m}$ tandis que le second contient les entrées et sorties de la puce ($H \simeq 150\,\mu\mathrm{m}$). On commence par déposer une lame de verre sur les piliers du second niveau, puis environ 0.25 mL d'un mélange de PEGDA-250 et 2-HMP (2-hydroxy-2-methylpropiophenone) (ratio 95/5% massique) est introduit par capillarité dans l'interstice entre la surface du wafer et la lame de verre (Figure 2.6a). Le système est ensuite exposé à la lumière UV de l'aligneur ($\lambda = 385\,\mathrm{nm}$, temps d'exposition $\leq 1\,\mathrm{s}$, illumination $P \simeq 80\,\mathrm{mW\,cm^{-2}}$, MJB4 SÜSS MicroTec) afin de déclencher la réticulation *partielle* du PEGDA-250, initiée par la 2-HMP (Figure 2.6b).

La lame de verre est ensuite décollée du moule, et puisque ce dernier a préalablement subi un traitement hydrophobe, le PEGDA partiellement réticulé reste collé à la lame de verre. Celui-ci doit ensuite être minutieusement décollé de la lame à l'aide d'un

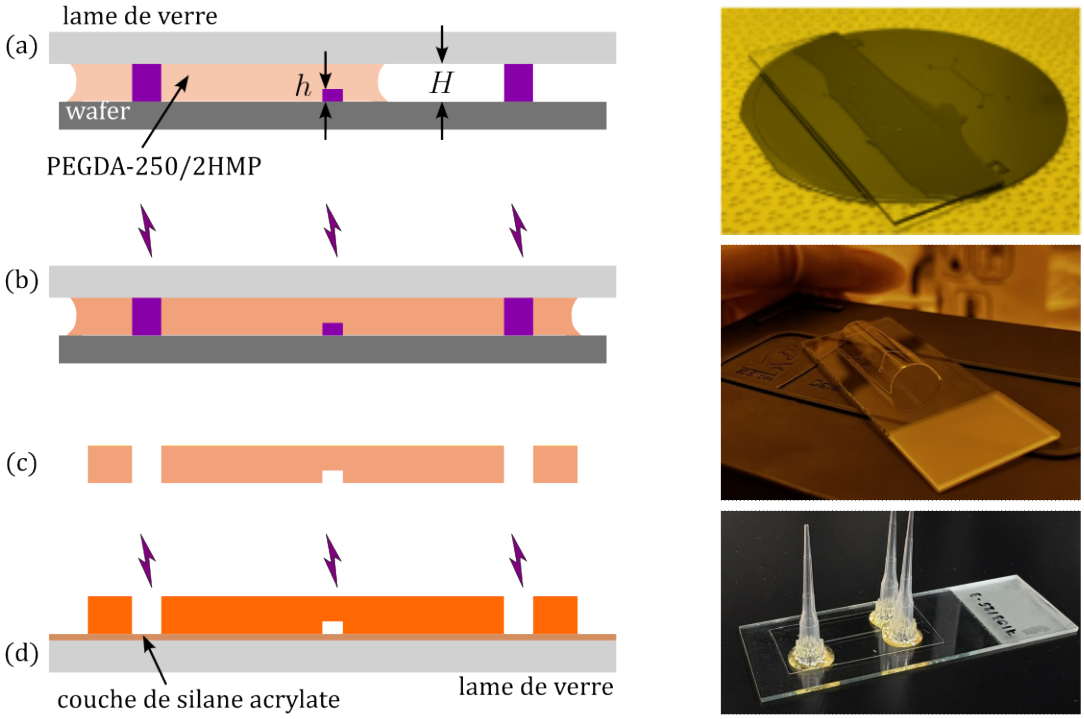


FIGURE 2.6 – Protocole de microfabrication des puces en PEGDA. (a) Injection de la formulation de PEGDA-250/2-HMP par capillarité entre le moule SU-8 et la lame de verre (hauteur du circuit microfluidique $h = 50\,\mu m$, hauteur des piliers $H = 150\,\mu m$). (b) Première exposition aux UV et (c) décollement du timbre partiellement réticulé du moule. (d) Seconde exposition aux UV après avoir déposé le timbre sur une lame de verre traitée avec du silane acrylate.

scalpel (Figure 2.6c). La réussite de cette étape dépend du degré de réticulation, qui dépend lui-même du temps d'exposition et de la puissance de l'illumination : si le PEGDA n'est pas assez réticulé, il sera très fragile et cassant, et donc impossible à décoller. À l'inverse, s'il est trop réticulé, il sera facilement décollé, mais ne collera pas correctement sur la lame de verre fonctionnalisée. Il s'agit alors de trouver un juste milieu pour lequel le timbre est suffisamment peu réticulé, mais tout de même maniable.

La puce est scellée en déposant délicatement le timbre partiellement réticulé sur une lame de verre fonctionnalisée avec du silane acrylate. Un front de collage doit apparaître. Il arrive parfois que le timbre soit déformé, en raison de la contrainte qu'il subit lors de la réticulation mais surtout lorsqu'on le décolle (voir la Figure 2.6). Le cas échéant, on peut aider le dépôt en appliquant une légère pression avec les doigts. Finalement, le timbre est exposé aux UV pendant 3 min pour réticuler l'intégralité de la matrice et lier de façon covalente le PEGDA et la lame de verre silanisée (Figure 2.6d).

2.1.5 Collage des connectiques

La dernière étape concerne le collage de connectiques permettant l'injection de fluides dans les canaux microfluidiques. Nous avons identifié et utilisé trois types de connectiques, chacune avec ses qualités et ses limites.

2.1.5.1 Connectiques NanoPorts

Les NanoPorts (Upchurch Scientific) sont des connectiques commerciales. Elles possèdent un filetage intégré qui permet de raccorder un tubing directement dedans, et assurent une excellente tenue de la pression (Figure 2.7). Ce sont des connectiques de premier choix. Néanmoins, leur coût est élevé (environ 20 € par pièce), et leur taille est relativement grande par rapport à la longueur de nos systèmes microfluidiques, ce qui peut gêner les mesures locales au sein des canaux. De plus, leur utilisation peut s'avérer complexe en raison des torsions des tubes imposées lors du serrage des tubes dans le filetage. Leur utilisation est donc restée ponctuelle au cours de nos travaux, comme par exemple lors de tests de tenue mécanique des puces, lors desquels la pression a été augmentée jusqu'à 10 bar, et nous avons pris l'habitude de les retirer pour les récupérer avant de jeter les puces.

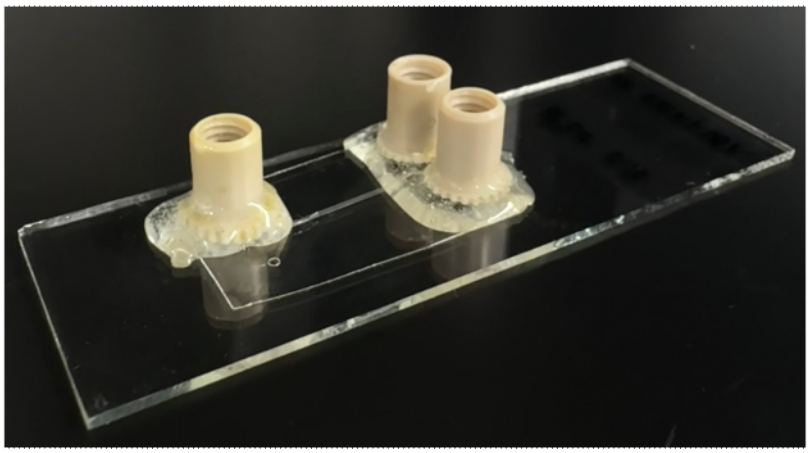


FIGURE 2.7 – Photographie de puce en PEGDA avec des connectiques type NanoPorts.

2.1.5.2 Embouts de micropipette

Une alternative consiste à utiliser des embouts de micropipette (embouts de 20 µL, Jasco) [67, 71], comme illustré sur la Figure 2.8. Ici, on conserve une bonne tenue mécanique sans se préoccuper de la récupération de la connectique au moment de jeter la puce. Les embouts sont collés avec de la résine époxy à prise rapide. Tout d'abord, nous déposons une faible quantité de résine sur le tour de la base de l'embout. Ensuite, nous plaçons délicatement celui-ci au dessus d'un trou d'injection. Pour finir, de la résine supplémentaire est ajoutée autour de la base de l'embout pour renforcer l'adhésion et éviter toute fuite. La résine est entièrement réticulée après environ 3 h, et la puce est prête à être utilisée. Notons que la délicatesse et la précision requises lors de cette étape en font une étape critique : si de la colle s'infiltre dans le canal, il faut recommencer le processus de fabrication depuis le début car la puce sera inutilisable. Ces connectiques ont également un désavantage : le volume mort de solution. En effet, le volume de l'embout de micropipette (20 µL) est bien plus élevé que le volume total du système microfluidique. De fait, nous avons parfois rencontré des difficultés pour purger les volumes morts des embouts, notamment avec des solutions visqueuses (> 15 mPa s). Bien sûr, cela ne remet pas en question l'efficacité des embouts de micropipette, qui ont été employés dans la grande majorité des expériences. Les tubes y sont raccordés par l'intermédiaire d'un tube mou qui fait la liaison avec l'embout, ce qui règle par

ailleurs le problème de torsions rencontré avec les NanoPorts. Nous estimons une tenue mécanique de ces connectiques de l'ordre de 5 bar. Au delà, nous n'observons pas de fuite, mais le tube mou se déconnecte de l'embout.

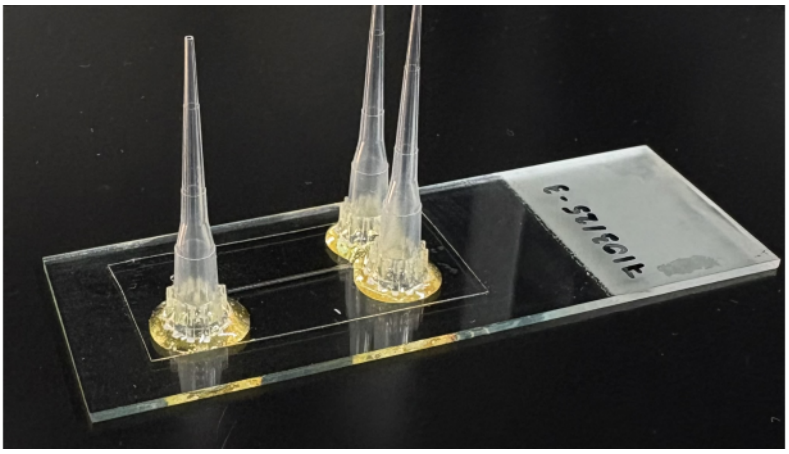


FIGURE 2.8 – Photographie de puce en PEGDA avec des connectiques provenant d'embouts de micropipette.

2.1.5.3 Connectiques en polydimethylsiloxane (PDMS)

Les connectiques idéales sont celles que l'on retrouve sur les puces en polydimethylsiloxane (PDMS). Ces dernières sont des trous percés dans le PDMS dans lesquels on insère directement un tube, offrant un côté *plug-and-play* tout en conciliant une bonne tenue mécanique et un faible volume mort. Ainsi, une partie des travaux de cette thèse consistait à développer nos propres connectiques PDMS artisanales en collant un timbre de PDMS percé sur la matrice en PEGDA de la puce comme illustré sur la Figure 2.9. Le principal enjeu réside dans le collage entre le PDMS et le PEGDA, puisque nous ne pouvons pas utiliser de résine époxy. Pour ce faire, nous découpons un timbre de PDMS réticulé ($\simeq 5$ mm d'épaisseur) puis nous y perforons le futur trou d'entrée. Nous effectuons ensuite un premier dégazage de l'air contenu dans le PDMS avec une cloche à vide pendant 15 min. Nous procédons ensuite à la fonctionnalisation de la surface du PDMS avec du silane acrylate : le PDMS est traité au plasma ($f = 13.56$ MHz, $\mathcal{P} = 50$ W pendant 30 s à une pression de travail comprise entre 1 et 1.5 mbar) pour le rendre hydrophile, puis est placé dans la boîte de silanisation en suivant les étapes décrites dans la section 2.1.3. Après plusieurs essais, nous avons conclu qu'un temps de déposition de 1 h était suffisant pour les morceaux de PDMS. Finalement, lors de la dernière étape de la fabrication (voir la section 2.1.4), nous déposons délicatement le morceau de PDMS silanisé sur le timbre de PEGDA partiellement réticulé avant l'exposition finale sous les UV pendant 3 min. Nous estimons de façon empirique une tenue mécanique entre 2 et 3 bar environ. Notons que malgré tous nos efforts, le collage ne fonctionne pas tout le temps, en particulier lorsque nous attendons trop longtemps (1 h) entre la silanisation des morceaux de PDMS et leur collage. Ainsi, en raison de la difficulté de leur fabrication, nous avons utilisé ces connectiques de façon ponctuelle dans le cadre des expériences nécessitant de minimiser les volumes morts.

En résumé, la fabrication d'une puce microfluidique en PEGDA est le fruit d'une succession d'étapes demandant précision, minutie et délicatesse. Si on additionne les durées associées à chaque étape, on peut évaluer un ordre du temps requis pour obtenir une

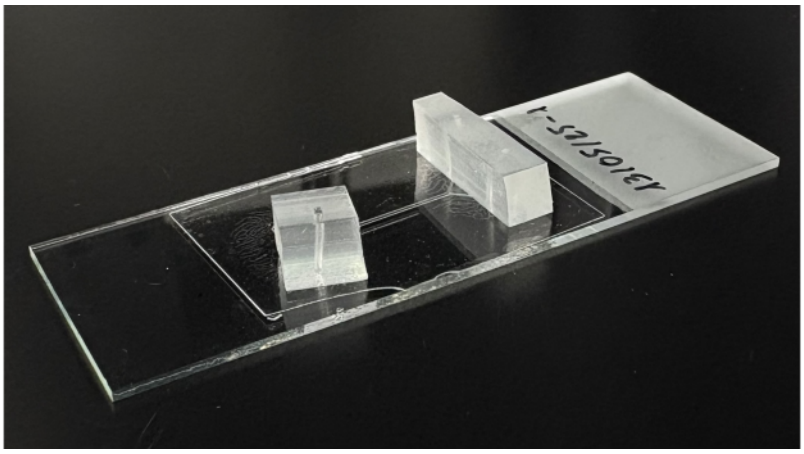


FIGURE 2.9 – Photographie de puce en PEGDA avec des connectiques type PDMS.

puce. La fabrication du moule, réalisée (en principe) une seule fois au début ($\simeq 4\,\mathrm{h}$), la silanisation des lames de verre et la préparation de la formulation, sont mises de côté dans ce calcul. Ainsi, la fabrication d'une puce, comprenant la réticulation du timbre et le collage des connectiques, demande en moyenne près de 1 h.

2.1.6 Fabrication de puces en PDMS

Au cours de la thèse, nous avons également utilisé des puces en polydiméthylsiloxane (PDMS), dont l'utilisation est détaillée dans le Chapitre 4. La fabrication des puces repose sur des techniques standards de lithographie douce. Nous avons donc appliqué la méthodologie décrite dans la Section 2.1.1 pour fabriquer un moule à 1 niveau par photolithographie, dans laquelle nous avons utilisé une résine SU8-3005. Le moule contient deux ensembles de motifs, chacun contenant trois configurations, comme illustré par la Figure 2.10.

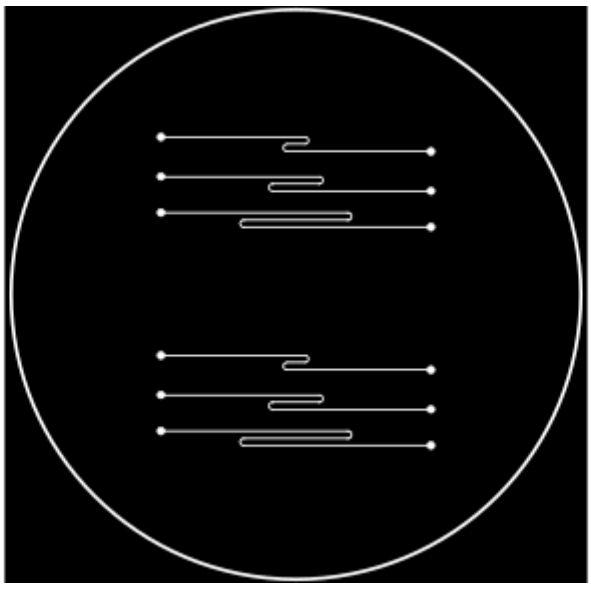


FIGURE 2.10 – Masque utilisé pour la photolithographie du moule des puces en PDMS (diamètre 3 pouces).

Les paramètres de dépôt et de recuit, ainsi que les détails de fabrication des timbres de PDMS, sont détaillés ci-après. La surface d'un wafer est activée au plasma (30 s à une pression de travail comprise entre 1 et 1.5 mbar) pour favoriser l'adhésion de la résine, puis une couche est déposée sur le wafer avec le spin-coater, selon un pré-étalement à 500 RPM pendant 10 s puis à 1000 RPM pendant 30 s. Le *soft bake* est ensuite effectué pendant 6 min pour évaporer le solvant de la solution. Le wafer est ensuite exposé aux UV ($\lambda = 385\,\text{nm}$, $\mathcal{P} = 80\,\text{mW}\,\text{cm}^{-2}$, MJB4 SÜSS MicroTec) pendant 9 s pour réticuler la résine, selon les motifs du masque illustré sur la Figure 2.10, puis est posé sur la plaque chauffante pendant 5 min pour le *post exposure bake*. Le moule est finalement développé dans le PGMEA (20 min), puis la surface du wafer est rendue hydrophobe par *chemical vapor veposition* avec l'HMDS pendant 30 min. Nous obtenons des motifs de hauteur $h \simeq 9\,\mu\text{m}$, après une mesure par profilométrie optique.

Le PDMS est ensuite préparé en mélangeant de la base et de l'agent de réticulation (Sylgard 184) dans un rapport massique 10 : 1. Ce mélange est placé sous une cloche à vide pour éliminer les bulles d'air, puis est coulé sur le moule dans une boîte de pétri jusqu'à ce que l'intégralité de la surface du wafer soit recouverte d'une épaisseur d'environ 5 mm. La boite de pétri est placée dans une étuve à 65 °C pendant environ 2 heures pour réticuler le PDMS. Un timbre est ensuite découpé autour des motifs et les trous d'entrée et de sortie sont perforés avec des punchers (diamètre 500 µm). Le timbre est finalement collé sur une lame de verre en activant leur surface au plasma ($f = 13.56\,\text{MHz}$, $\mathcal{P} = 50\,\text{W}$ pendant 30 s à une pression de travail comprise entre 1 et 1.5 mbar). Un exemple de puce obtenue est illustré sur la Figure 4.3a.

2.2 Photo-réticulation d'hydrogels dans les puces en PEGDA

Les hydrogels sont des réseaux tridimensionnels issus de la réticulation de chaînes de polymères, dont la particularité est de pouvoir absorber de l'eau [66]. Cette propriété en fait des candidats idéaux pour jouer le rôle de membrane, perméable à l'eau. Ces membranes montrent une variété de sélectivité et de perméabilité selon la formulation aqueuse employée et les conditions de réticulation. On les retrouve notamment dans des applications comme la pré-concentration de solutés [72-75], le dessalement [76], la microdialyse [27, 60], et le transport de particules colloïdales par diffusiophorèse [51, 77, 78]. Nous avons porté notre attention sur les hydrogels de PEGDA et leur intégration *in situ* au sein de nos puces microfluidiques en PEGDA. Cette section détaille notre protocole pour l'intégration de ces hydrogels par photo-réticulation.

2.2.1 Appareil de photopatterning : le Primo d'Alvéole

Pour réticuler les hydrogels dans les puces, nous avons utilisé l'appareil Primo, commercialisé par Alvéole, qui permet de projeter des motifs UV dans le plan focal d'un microscope inversé (Olympus IX73).

2.2.1.1 Principe de fonctionnement du DMD

Le Primo se compose d'une source de lumière UV (diode laser, $\lambda = 375\,\text{nm}$) et d'une plateforme (ou matrice) de micro-miroirs, appelée DMD (Digital Micro-Mirror Device).

Chaque micro-miroir sur la matrice est indépendamment contrôlé et peut être activé ou non par une rotation. Le rôle du DMD est de réfléchir une lumière UV incidente. À l'échelle individuelle, si le miroir est activé, il réfléchit la lumière, mais s'il est désactivé, le faisceau est dévié hors du champ d'illumination. Le DMD permet donc de projeter des motifs UV de géométrie définie et de haute résolution spatiale (voir Fig. 2.12c et d). Son principe de fonctionnement est schématisé sur la Figure 2.11.

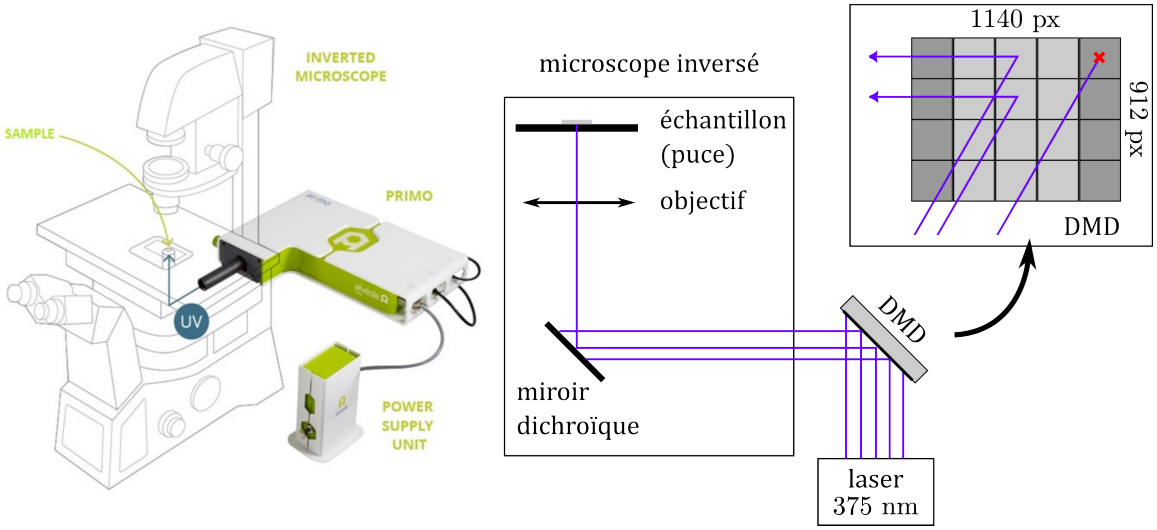


FIGURE 2.11 – (gauche) Schéma du système Primo monté sur un microscope inversé (Olympus IX73). (droite) Schéma du principe de fonctionnement du DMD pour la projection de motifs UV (inspiré de [67]). Les rayons UV incidents sur le DMD sont réfléchis (miroir ON) ou déviés hors du champ d'illumination (miroir OFF).

2.2.1.2 Montage optique

Le montage optique complet se compose du Primo et d'un microscope inversé (Olympus IX73). Le Primo est entièrement piloté depuis l'ordinateur par un logiciel (Leonardo, MicroManager). Ce dernier nous permet de dessiner la forme du motif à projeter, sa position, son éventuelle rotation, et la dose de lumière UV délivrée. Les motifs sont des images en nuances de gris au format natif, de dimensions (1140×1824 px^2), que nous éditons sur ImageJ (logiciel open source). L'utilisation d'un objectif 20X (N.A. 0.45), pour lequel le Primo est optimisé, permet de projeter des motifs dans un plan de $460 \times 285\,\mu m^2$ à une puissance de $6.2\,mW\,mm^{-2}$. Notons que le Primo communique avec la platine mobile du microscope, nous permettant de programmer des projections successives de motifs dans l'espace. Grâce à la haute résolution du DMD, il est donc possible de projeter des motifs UV très simples, tels que des rectangles ou des cercles, mais on peut également concevoir des motifs plus élaborés, comme ceux illustrés sur la Figure 2.12a et b, offrant ainsi une grande liberté dans la photo-réticulation des hydrogels.



FIGURE 2.12 – (a-b) Exemples de motifs (1824×1140 px^2) pouvant être projetés. (c-d) Images en fluorescence de l'illumination des motifs dans le plan focal du microscope.

2.2.2 Photo-réticulation de l'hydrogel

2.2.2.1 Préparation de la formulation aqueuse

Nous intégrons dans les puces des hydrogels de PEGDA-700. Premièrement, l'utilisation de PEGDA permet une accroche favorable avec la matrice de la puce, faite de PEGDA également, et celle de la lame de verre silanisée. Lors de la formation de l'hydrogel, des liaisons covalentes se forment entre le PEGDA-700 de la formulation et le PEGDA-250 de la puce, et également entre le PEGDA-700 et la surface de la lame de verre silanisée. Les chaînes de PEGDA-700 sont également plus longues que celles de PEGDA-250, on compte en moyenne $n = 6$ unités monomères pour le PEGDA-250 contre $n = 13$ pour le PEGDA-700. Ce changement impacte grandement les propriétés de perméabilité de l'hydrogel : nous avions précédemment évoqué en section 2.1.4 que plus les chaînes sont courtes, plus le réseau polymérique de l'hydrogel est dense, donc moins perméable [67]. Nous avons donc utilisé les formulations développées dans de précédents travaux au LOF [67, 69, 71], utilisant une base de PEGDA-700.

La formulation est un mélange de PEGDA-700, de 2-HMP (initiateur de la réaction de réticulation) et d'eau. Le PEGDA-700 et le 2-HMP sont tout d'abord mélangés en ratio volumique 90/10%. Notons que le PEGDA-700 est conservé en réfrigérateur à 4 °C, d'après les conseils du fournisseur (Merck) pour éviter sa détérioration, et est sous forme solide dans ces conditions (point de fusion entre 12 et 17 °C). Nous avons donc pris l'habitude de le placer à température ambiante pendant quelques heures avant de le manipuler. Cette pré-solution est ensuite mélangée avec de l'eau en ratio volumique 50/50%. Typiquement, le volume total de la solution est de 4 mL. Enfin, on dissout dans cette solution environ 40 mg d'hydroquinone, un inhibiteur de la réticulation, ce

qui correspond à une concentration de $10\,\mathrm{g\,L^{-1}}$. Celle-ci permet a priori de limiter la propagation indésirable de la réticulation de l'hydrogel en dehors de la zone insolée, et donc d'avoir une meilleure résolution [69]. La formulation est conservée dans l'obscurité, et dans des fioles ambrées de préférence, afin de préserver le photo-initiateur et de limiter la photo-réticulation de la formulation par la lumière environnante.

2.2.2.2 Déclenchement de la réticulation

Nous prenons ici pour exemple la configuration microfluidique la plus utilisée durant nos travaux. Celle-ci, illustrée sur la Figure 2.13b, se compose d'un canal principal de longueur L, connecté à 4 sous-canaux qui sont les entrées/sorties de la puce. Le protocole suivant détaille la photo-réticulation d'un hydrogel au milieu du canal principal, selon sa longueur. La puce microfluidique est positionnée sur la platine mobile du microscope. On utilise généralement une bande adhésive pour la fixer sur le support et éviter tout mouvement indésirable. L'intégralité du canal principal est remplie en déposant une goutte de la formulation aqueuse dans l'une des entrées de la puce. Selon les connectiques utilisées, et c'est notamment le cas avec les embouts de micropipette, le trou d'entrée est difficilement accessible, rendant le dépôt d'une goutte complexe. Pour contourner le problème sans gâcher de solution en remplissant le volume mort de l'embout, nous utilisons une seringue munie d'embouts fins (calibre 27, diamètre 0.4 mm) pour injecter la solution. La solution s'infiltre dans les canaux par capillarité. On dépose ensuite un peu d'encre de marqueur fluorescent sur la face supérieure de la surface de la lame, hors du PEGDA et du canal, puis on aligne l'objectif avec l'encre. En allumant le laser, un motif de calibrage apparaît avec la fluorescence de l'encre, ce qui permet de régler la focale au niveau de la surface de la lame de verre [67]. Notons qu'il faut être vigilant avec l'ordre des étapes. L'objectif doit être aligné avec l'encre avant d'allumer le laser, afin d'éviter de réticuler la formulation au sein de la puce, qui est irréversible. On repositionne ensuite l'objectif sous le canal principal. Le motif, typiquement un rectangle de section $460 \times 30\,\mu\mathrm{m}^2$, est positionné au centre du canal principal, puis est répliqué le long du canal. Chaque motif chevauche ses voisins sur environ $15\,\mu\mathrm{m}$, et les motifs dépassent du canal à chaque extrémité pour éviter d'éventuelles fuites (Figure 2.13). On compte au total $\simeq 30$ motifs pour couvrir toute la longueur du canal (cette valeur peut varier selon la longueur du canal). La photo-réticulation est ensuite déclenchée et les motifs sont projetés les uns après les autres, automatiquement par communication entre le Primo et la platine. Ainsi, chaque motif reçoit une énergie de $10\,\mathrm{mJ\,mm^{-2}}$ (qui correspond à un temps d'exposition de $\simeq 1\,\mathrm{s}$). La dose employée est un paramètre qui impacte les propriétés de perméabilité de l'hydrogel : plus elle est élevée, plus la perméabilité sera faible, et moins nous serons en mesure d'observer des écoulements trans-membranaires. Nous nous sommes appuyés sur des travaux précédemment réalisés au LOF [69] afin de choisir une dose conciliant une bonne tenue mécanique de l'hydrogel et une perméabilité convenable.

2.2.2.3 Lavage de la puce

Rapidement après la photo-réticulation, les canaux sont purgés avec de l'eau ce qui permet d'éviter toute propagation indésirable de la réticulation dans les canaux. Pour ce faire, on impose une différence de pression de $\simeq 200\,\mathrm{mbar}$ entre l'entrée et la sortie de chaque canal pendant $\simeq 5\,\mathrm{min}$. Nous effectuons ensuite un second lavage avec de l'eau, cette fois-ci à travers l'hydrogel, en imposant une différence de pression trans-

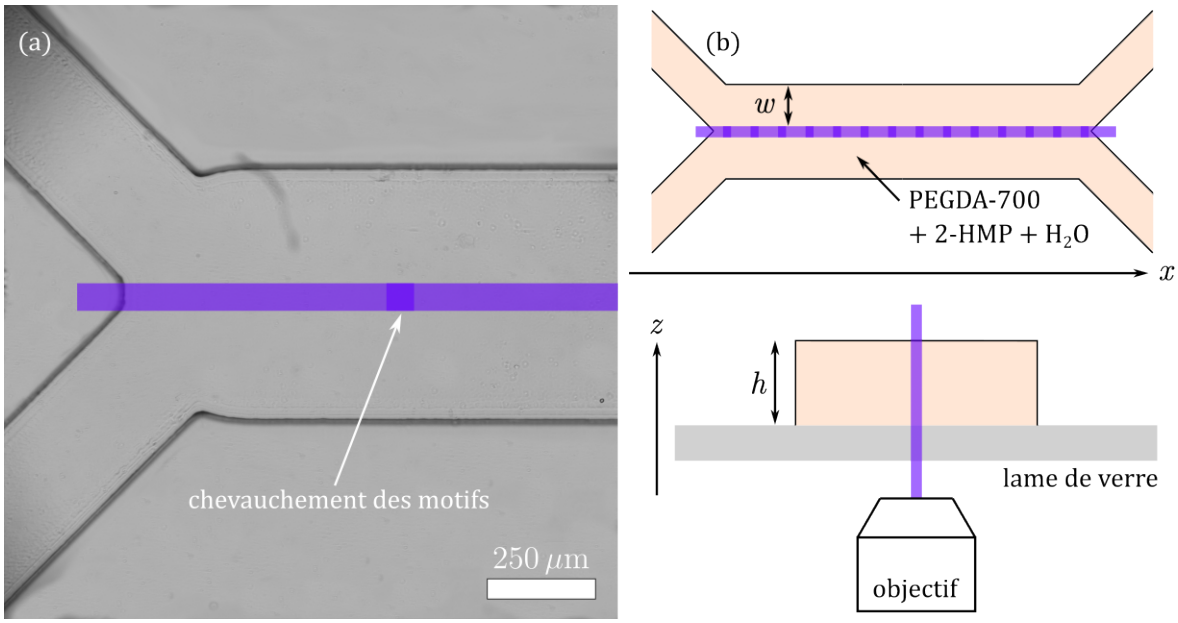


FIGURE 2.13 – Photo-réticulation d'un hydrogel avec le Primo. (a) Image en champ clair du canal microfluidique dans lequel nous avons positionné des motifs en guise d'exemple. (b) Vues schématiques de l'illumination du canal rempli de formulation liquide. Nous avons positionné en guise d'exemple des motifs se chevauchant (vue de dessus). Le faisceau du laser traverse l'échantillon par le dessous et déclenche la réticulation de l'hydrogel le long de la hauteur du canal (vue en coupe). Les schémas ne sont pas à l'échelle.

membranaire de $\simeq 1$ bar pendant 30 min. Ces deux lavages permettent d'éliminer les chaînes de PEGDA partiellement ou non réticulées dans les canaux et dans l'hydrogel. Les canaux devront par la suite contenir de l'eau en permanence lorsque la puce n'est pas utilisée pour éviter le séchage de l'hydrogel et donc sa rupture, causée par sa déshydratation.

Nous obtenons des hydrogels comme celui montré sur la Figure 2.14a. Les conditions d'illumination, suivies du lavage rapide des canaux, assurent une résolution satisfaisante des hydrogels, de l'ordre de 5 µm, liés en outre par des liaisons covalentes au PEGDA-250 de la puce et à la surface de la lame de verre silanisée. La Figure 2.15 présente des hydrogels obtenus à partir de motifs plus élaborés que le rectangle, illustrés précédemment sur la Figure. 2.12. Ces derniers ont été photo-réticulés dans un canal de hauteur $h \simeq 50$ µm, et chacun a reçu une énergie de 80 mJ mm^{-2}.

On peut évaluer, à l'instar de la fabrication des puces, un ordre de temps pour l'intégration d'un hydrogel. Ainsi, en comptant le temps de préparation, la focalisation du laser et l'injection de la solution (~ 10 min), le positionnement des motifs et leur réticulation (~ 10 min) et enfin le lavage, qui est l'étape la plus longue (~ 45 min), on estime un temps d'environ 1 h par membrane hydrogel.

Dans ce chapitre, nous avons présenté de manière détaillée l'ensemble des méthodes expérimentales développées et mises en œuvre au cours de ces travaux. Tout d'abord, nous avons décrit le protocole de la fabrication des puces microfluidiques en PEGDA, en insistant sur la précision requise à chaque étape, de la photolithographie des moules

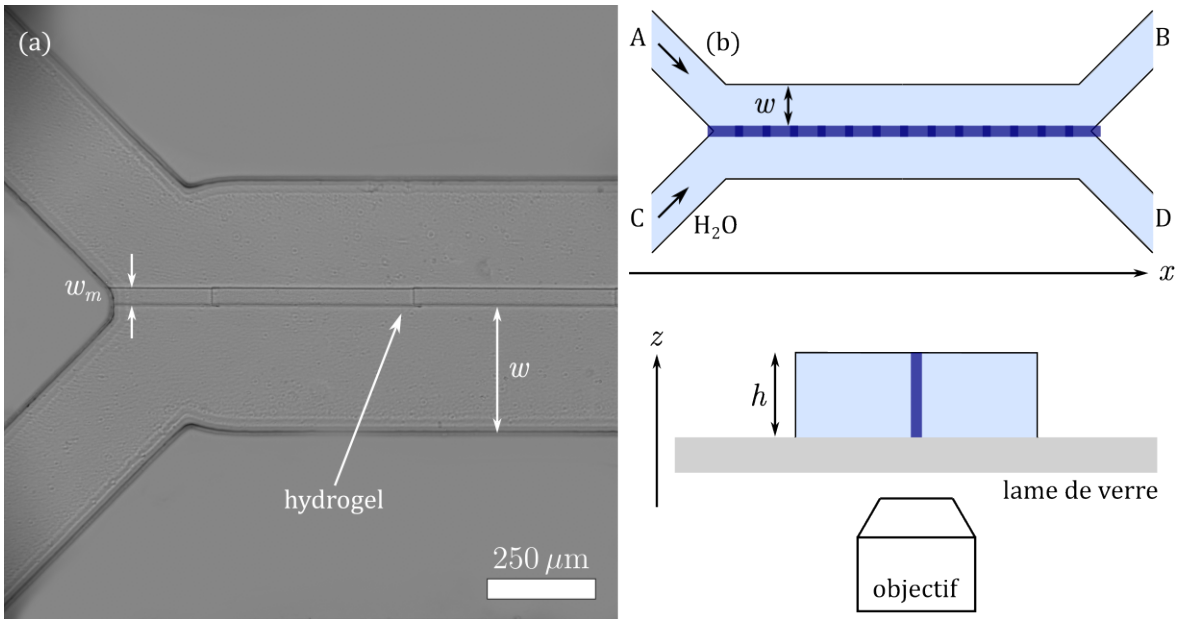


FIGURE 2.14 – Lavage de la puce après la photo-réticulation d'un hydrogel avec le Primo. (a) Image en champ clair du canal microfluidique et de l'hydrogel ($w_m \simeq 30\,\mu$m) après l'étape de lavage à l'eau. (b) Vues schématiques de dessus et en coupe de la puce microfluidique après le lavage de l'hydrogel. Les schémas ne sont pas à l'échelle.

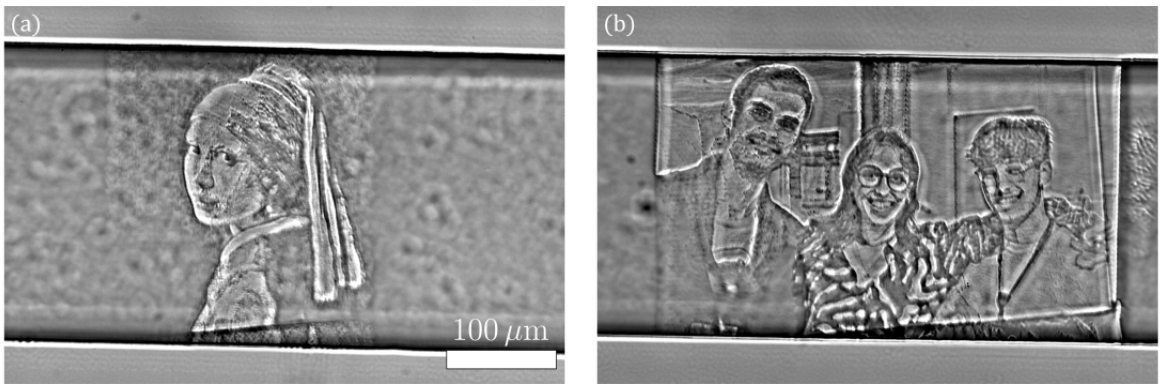


FIGURE 2.15 – Images en champ clair montrant des hydrogels obtenus à partir de motifs détaillés (Fig. 2.12).

SU-8 jusqu'au collage des connectiques. Nous avons ensuite présenté le fonctionnement du système Primo qui nous permet d'intégrer des hydrogels de PEGDA au sein des puces. En particulier, nous avons vu que ce dernier offre la possibilité de photo-réticuler des hydrogels aux motifs variés tout en conservant une bonne résolution spatiale. Le prochain chapitre aborde la caractérisation de ces hydrogels.

Chapitre 3

Écoulements osmotiques transitoires : caractérisation des membranes hydrogels

Contents

3.1 Contexte de l'étude 64
3.2 Mesure de la perméabilité hydraulique 65
3.2.1 Principe de l'expérience 65
3.2.2 Mesure locale de la vitesse dans le canal 67
3.2.3 Résultats 69
3.3 Mesure de la pression osmotique de solutés 71
3.3.1 Principe de l'expérience 71
3.3.2 Couche limite de dilution 72
3.3.3 Obtention d'équations d'état 75
3.4 Perméation de solutés à travers la membrane 77
3.4.1 Perméation sans flux osmotique 78
3.4.2 Perméation avec flux osmotique transitoire 81
3.5 Modélisation du transport dans la membrane 82
3.5.1 Équations constitutives 82
3.5.2 Cas limite étudié 84
3.5.3 Application du modèle à plusieurs solutés 85
3.6 Conclusions 87

Ce chapitre développe une étude du transport de solutés à travers des hydrogels de PEGDA intégrés *in situ* dans des puces microfluidiques. Après une courte mise en contexte, nous présentons une configuration microfluidique permettant de caractériser la perméabilité hydraulique des hydrogels, puis nous exploitons cette même configuration pour mesurer des flux osmotiques générés à travers la membrane par des solutés. Ces flux sont stationnaires lorsque la masse molaire M des solutés est supérieure au seuil de coupure de la membrane (MWCO), ce qui permet de déterminer leur équation d'état de pression osmotique, ou transitoires lorsque $M <$ MWCO. Dans ce cas, nous sommes en mesure d'estimer simultanément les coefficients de réflexion et de perméabilité d'un soluté dans la membrane à partir d'un modèle décrivant la dynamique de relaxation des flux osmotiques dans le régime dilué. Ainsi, le chapitre se termine avec des mesures de ces coefficients en régime dilué avec différents solutés aux masses molaires variées.

3.1 Contexte de l'étude

Comme nous l'avons mentionné dans le Chapitre 1, les équations de Kedem et Katchalsky peuvent être utilisées pour modéliser le transport de solvant et de soluté à travers une membrane. Selon ce formalisme, la membrane est caractérisée par sa perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$, son coefficient de perméabilité au soluté $\mathcal{L}_{\text{D}}$, et son coefficient de réflexion σ. Le coefficient de réflexion d'une paire membrane/soluté est souvent évalué à partir d'expériences macroscopiques selon

$$\sigma = \left(\frac{\Delta P}{\Delta \Pi}\right)_{J_v=0} . \tag{3.1}$$

Le principe repose sur la mesure de J_v à travers une membrane séparant deux réservoirs macroscopiques dans lesquels $\Delta\Pi$ et ΔP sont imposées [79-81]. Le coefficient de réflexion σ est évalué en faisant varier ΔP jusqu'à ce que le flux volumique soit nul ($J_v = 0$). La perméation au soluté $\mathcal{L}_{\text{D}}$ est estimée dans des conditions expérimentales similaires en mesurant le taux de perméation J_s en l'absence de flux trans-membranaire ($J_v = 0$) [28, 82], ou avec des mesures simultanées de J_v avec ΔP imposée [83]. Ces expériences sont difficiles à implémenter, notamment car des couches limites de concentration apparaissent (voir la Section 3.3.2), se traduisant par une réduction effective de la concentration au voisinage de la surface de la membrane, affectant en outre les estimations de σ et $\mathcal{L}_{\text{D}}$ [79-81, 83]. De plus, dans un contexte microfluidique, ces caractérisations macroscopiques sont généralement effectuées *ex situ*, soit avant leur intégration dans la puce [57]. Cependant, il existe plusieurs cas pratiques pour lesquels la membrane est intégrée *in situ* [57], comme pour nos hydrogels de PEGDA notamment (voir la Section 2.2), ne permettant donc pas les mesures de σ et $\mathcal{L}_{\text{D}}$. Dans de précédentes études, effectuées au LOF en particulier, les hydrogels de PEGDA ont été utilisés dans plusieurs applications microfluidiques : la microfiltration [68], la cristallisation par dialyse [69], et la compression osmotique [70]. Certains de ces travaux reportent des mesures de perméabilité hydraulique des hydrogels, et même de leur perméabilité aux solutés en l'absence d'écoulements osmotiques [69]. Cependant, aucune mesure *in situ* du coefficient de réflexion n'est reportée pour ces hydrogels, et plus généralement dans le cas de membranes intégrées mécaniquement (lorsque la tenue de la membrane est assurée par un clampage mécanique).

Dans ce contexte, et plus généralement dans le cadre de l'étude du transport osmotique de solutés, il est nécessaire de caractériser les propriétés de perméation des hydrogels photo-réticulés dans nos puces. Nous avons donc développé une configuration avec laquelle nous mesurerons individuellement la perméabilité hydraulique d'un hydrogel $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$, puis sa perméabilité à des solutés (σ, $\mathcal{L}_{\text{D}}$) aux masses molaires variées.

3.2 Mesure de la perméabilité hydraulique

3.2.1 Principe de l'expérience

La configuration microfluidique et le principe de l'expérience sont illustrés sur la Figure 3.1. La puce en PEGDA comprend un canal principal de longueur L et hauteur h, connecté à 4 entrées/sorties notées A, B, C et D. Un hydrogel de PEGDA-700 de largeur w_m est photo-réticulé le long du canal, formant ainsi deux sous-canaux (AB et CD) de largeur de w.

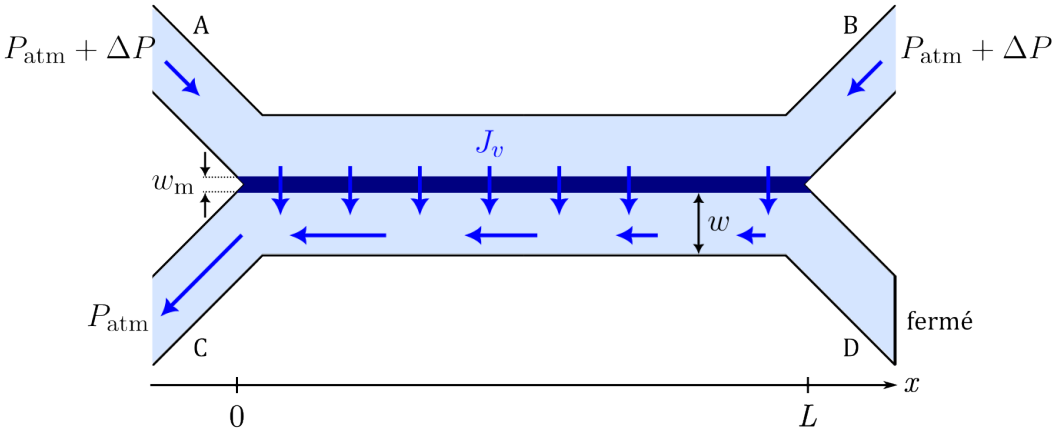


FIGURE 3.1 – Principe de la mesure de la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$. Une pression est imposée dans le canal AB, qui résulte en un flux d'eau vers C, avec D fermé. Les flèches bleues sont tracées dans le sens de l'écoulement.

Les canaux AB et CD sont respectivement remplis avec de l'eau pure et de l'eau contenant des particules fluorescentes diluées (inVitrogen fluosphères, diamètre 1 µm). L'expérience consiste à mesurer le flux d'eau trans-membranaire J_v résultant de la différence de pression imposée de part et d'autre de la membrane (Fluigent MFCS-EZ), $\Delta P = P_{\text{AB}} - P_{\text{CD}}$. L'écoulement trans-membranaire est induit de AB vers CD en imposant $P_{\text{A}} = P_{\text{B}} = P_{\text{atm}} + \Delta P$ dans des seringues connectées aux entrées de la puce par des tubes de 0.5 mm diamètre interne (PFA, Idex) et d'environ 15 cm de longueur. Il y a donc en principe une différence entre la pression imposée dans les seringues et la pression au niveau des entrées A et B. Cela dit, la résistance hydraulique des tubes, $\mathcal{R}_{\text{t}} = 8\eta L/\pi r^4 \simeq 0.02\,\text{mbar min/µL}$, est dérisoire devant la résistance du canal, que l'on estime dans le cas du canal AB par exemple, à $\mathcal{R}_{\text{c}} \simeq 2\,\text{mbar min/µL}$ selon [84]

$$\mathcal{R}_{\text{c}} \simeq \frac{12\eta L}{wh^3(1 - 0.63\frac{h}{w})}\,. \tag{3.2}$$

Nous considérons donc que la pression aux entrées est celle imposée dans les seringues. En outre, l'écoulement à travers la membrane se traduit par un écoulement dans le

canal AB, des entrées A et B vers le centre du canal en $x = L/2$. Ainsi, il existe donc une différence entre les pressions aux entrées et la pression au centre du canal. Toutefois, cette perte de charge est négligeable lorsque

$$\mathcal{R}_\mathrm{c}/\mathcal{R}_\mathrm{m} \ll 1\,, \tag{3.3}$$

autrement dit lorsque la résistance hydraulique du canal $\mathcal{R}_\mathrm{c}$ est négligeable devant la résistance hydraulique de la membrane $\mathcal{R}_\mathrm{m} = 1/(Lh\mathcal{L}_\mathrm{hyd})$. De précédents travaux publiés par Nguyen *et al.* [69] reportent une valeur de la perméabilité hydraulique de $\mathcal{L}_\mathrm{hyd} \sim 100\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$, ce qui correspond dans notre configuration à une résistance hydraulique $\mathcal{R}_\mathrm{m} \sim 170\,\mathrm{bar\,min/\mu L}$, qui est très élevée devant la résistance hydraulique du canal. En utilisant cette valeur, nous estimons $\sqrt{\mathcal{R}_\mathrm{c}/\mathcal{R}_\mathrm{m}} \simeq 0.003$. La pression dans le canal AB est donc homogène.

La sortie du canal CD est fermée mécaniquement en pinçant un morceau de PDMS sur la sortie D, comme illustré sur la Figure 3.2. On laisse dans un premier temps la solution s'écouler dans le canal jusqu'à ce qu'une goutte se forme au niveau de la sortie. Le bloc de PDMS est ensuite posé au dessus puis maintenu par une pince. Cette technique est préférée à l'utilisation de connectiques NanoPorts, qui offrent pourtant la possibilité de visser des bouchons (voir Section 2.1.5). En effet, nous observons avec ces connectiques de faibles écoulements de l'ordre du nL/min, dont nous attribuons l'origine à de minuscules poches d'air entre la connectique et le timbre de PEGDA de la puce, perturbant la mesure. Ainsi, nous avons pris l'habitude de laisser libre un des trous d'entrée sur les puces en prévision des mesures de perméabilité hydraulique.

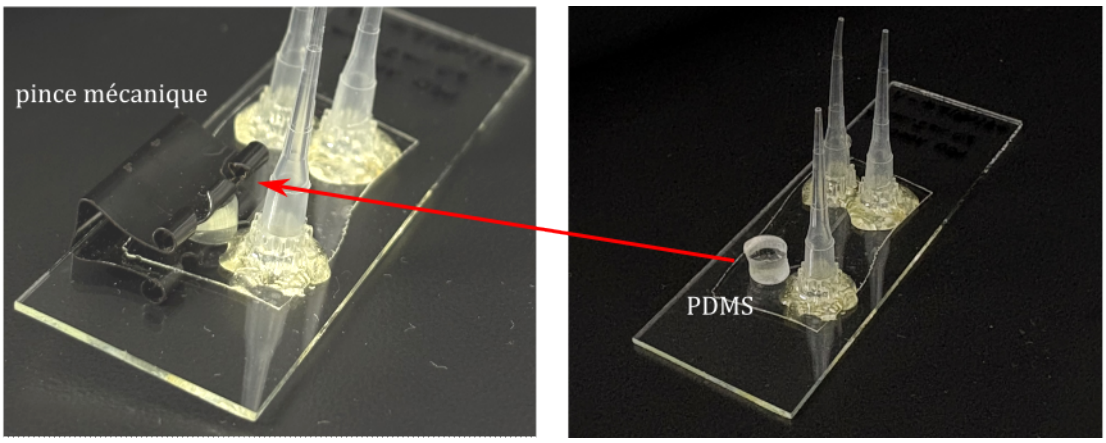


FIGURE 3.2 – Fermeture d'un canal microfluidique par pression mécanique avec un bloc en PDMS découpé.

Lorsque la pression est appliquée dans le système, de l'eau entre dans le canal CD en passant à travers la membrane entre $x = 0$ et $x = L$. De ce fait, un écoulement se crée dans le canal en direction de l'entrée C (ouverte). Cet écoulement est stationnaire et admet un profil de vitesse décrit selon la loi de Hagen-Poiseuille [84]. L'eau est incompressible et le système indéformable, ainsi la conservation du débit, illustrée par la Figure 3.3, s'exprime selon

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = -J_v = -\mathcal{L}_\mathrm{hyd}\Delta P\,. \tag{3.4}$$

Puisque la sortie D du canal est fermée, la vitesse de l'eau est nulle en $x = L$. Ainsi, en intégrant l'éqn. (3.4) entre $x = 0$ et $x = L$, nous obtenons :

$$V_i = \frac{L}{w} J_v = \frac{L}{w} \mathcal{L}_{\text{hyd}} \Delta P \ , \tag{3.5}$$

où V_i est la vitesse de l'eau dans l'entrée du canal en $x = 0$. Notons que l'éqn. (3.5) considère implicitement que $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ est homogène le long du canal. Si ce n'est pas le cas, il faudrait considérer une valeur moyenne de la perméabilité hydraulique.

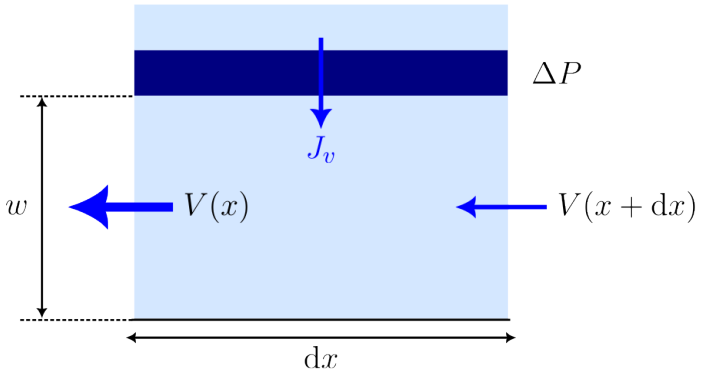


FIGURE 3.3 – Illustration de la conservation du débit dans le canal.

La caractérisation de la perméabilité hydraulique de la membrane repose donc sur une mesure du flux de volume J_v en fonction de la différence de pression ΔP imposée. Dans notre configuration, J_v est calculé à partir d'une mesure locale de la vitesse de l'écoulement dans l'entrée du canal.

3.2.2 Mesure locale de la vitesse dans le canal

Les débitmètres commercialisés par Fluigent offrent la possibilité de mesurer des débits jusqu'à $\simeq 50\,\text{nL/min}$ dans la limite la plus basse. En considérant l'estimation de $\mathcal{R}_{\text{m}}$, ces débits nécessitent une différence de pression $\Delta P \simeq 8\,\text{bar}$. Sachant que nos contrôleurs de pression ne peuvent excéder 7 bar en sortie, nous faisons face à une limitation technique. Nous ne possédons pas d'appareil nous permettant de mesurer un débit dans la puce tant que $\Delta P < 8\,\text{bar}$.

L'approche pour laquelle nous avons opté consiste à mesurer la vitesse de déplacement de traceurs fluorescents advectés dans l'écoulement dans le canal (Fig. 3.4a) . Pour ce faire, nous utilisons des micro-billes de polystyrène fluorescentes (inVitrogen fluosphères, diamètre 1 µm). La vitesse de l'écoulement est calculée en suivant le déplacement des particules en fonction du temps, par *Particle Tracking Velocimetry* (PTV), comme présenté sur la Figure 3.5. On procède en prenant des images en fluorescence des particules dans le canal, avec un objectif 60X de grande ouverture numérique (Olympus, N.A. 0.70, profondeur de champ $\leq 1\,\mu\text{m}$). Nous avons donc accès à une mesure locale de la vitesse de l'écoulement, dans un plan de $220 \times 220\,\mu\text{m}^2$. Dans une expérience typique, comme montré sur la Figure 3.5, le canal est filmé pendant environ 30 s, ce qui permet de laisser passer une vingtaine de particules. L'écoulement dans le canal admet un profil de vitesse du type Hagen-Poiseuille [84], représenté sur la Figure 3.4b dans le cas d'un canal de section rectangulaire $h \times w$. La vitesse du fluide est nulle aux parois en raison de l'interaction entre le liquide et la paroi solide (condition de

non-glissement). À l'inverse, elle atteint son maximum au centre de la section. Ainsi, l'acquisition des films s'effectue au milieu du canal selon sa largeur ($y \simeq w/2$), et la focale de l'objectif est réglée sur le milieu du canal selon sa hauteur ($z \simeq h/2$), afin d'isoler les particules les plus rapides du profil de l'écoulement. La détection et le suivi des particules sont réalisés à l'aide d'un algorithme sur MATLAB [85] (Fig. 3.5a), puis la vitesse de chaque particule v est calculée individuellement à partir de sa trajectoire. Certaines particules sont tout de même détectées hors du champ focal, donc leur vitesse est plus faible (en bleu sur la Figure 3.5b et c). La vitesse moyenne de l'écoulement $\langle V \rangle$ est calculée selon $\langle V \rangle = rV_{\max}$, où $V_{\max}$ est la vitesse de la particule la plus rapide, et r est le rapport entre les vitesses moyenne et maximale du profil de l'écoulement théorique (Fig. 3.4b) [84].

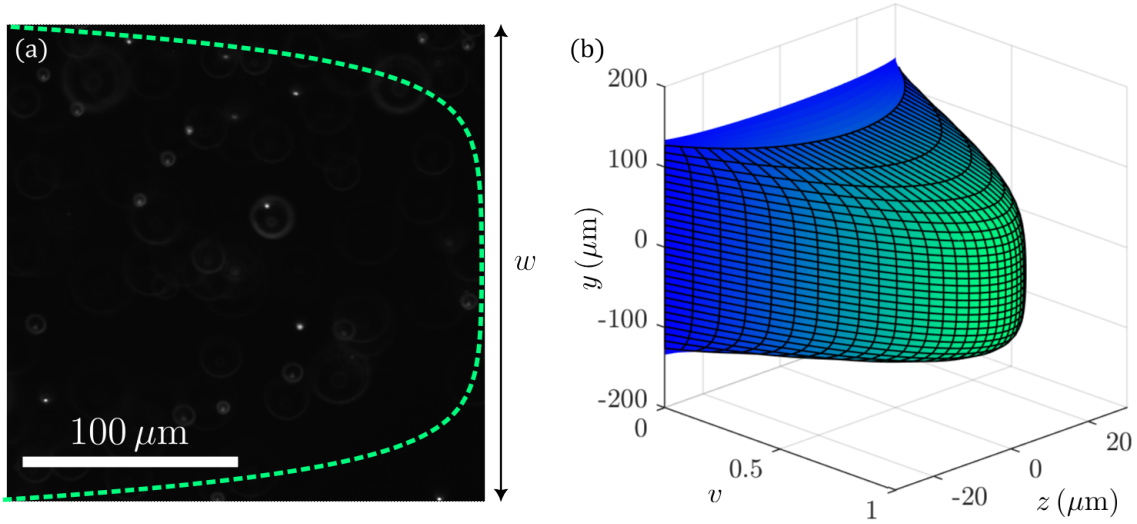


FIGURE 3.4 – (a) Image en microscopie de fluorescence d'une dispersion de particules fluorescentes dans le canal. Les particules hors du plan focal ($\simeq h/2$) apparaissent moins intenses et avec un halo de fluorescence autour. Le profil de vitesse selon w (en $h/2$) est reporté en pointillés. (b) Profil théorique de vitesse v sans dimension de l'écoulement, où $r \simeq 0.58$. Le gradient de couleur représente l'augmentation de v (bleu au vert).

Le déplacement des particules dans le canal est dicté par leur advection dans l'écoulement (induit par ΔP), et par un mouvement aléatoire diffusif attribué à l'agitation thermique des molécules dans le canal, appelé mouvement Brownien. Ce déplacement évolue dans le temps comme $\ell \sim \sqrt{Dt}$, avec ℓ la distance parcourue et D le coefficient de diffusion des particules dans l'eau, estimé par une relation de Stokes-Einstein [51] selon

$$D = \frac{k_B T}{3\pi\eta d}, \tag{3.6}$$

avec $k_B = 1.38 \times 10^{-23}\,\mathrm{J\,K^{-1}}$ la constante de Boltzmann, T la température absolue (en K), η la viscosité de la solution (en Pa s) et d le diamètre de la particule (1 µm). Pour une solution d'eau à 20 °C, nous obtenons $D \sim 4 \times 10^{-13}\,\mathrm{m^2\,s^{-1}}$. Dans ce cas, le temps requis pour qu'une particule diffuse d'un bout à l'autre du champ de mesure ($\ell = 220\,\mu\mathrm{m}$) est estimé à environ 1 jour. Ainsi, l'impact du mouvement Brownien sur les trajectoires des particules (Fig. 3.5a) est imperceptible tant que le temps caractéristique de leur diffusion est négligeable devant le temps caractéristique de leur advection dans

l'écoulement, soit $\ell^2/D \ll \ell/\langle V\rangle$. Le rapport entre ces deux temps est appelé nombre de Péclet, exprimé selon $\mathrm{Pe} = \langle V\rangle\ell/D$. Ainsi, le mouvement Brownien est négligeable dans le régime $\mathrm{Pe} \gg 1$. Nous avons donc défini la limite inférieure de mesure de $\langle V\rangle$ à environ $50\,\mathrm{nm\,s^{-1}}$ (correspondant à $\mathrm{Pe} \sim 25$). La limite supérieure, quant à elle, dépend de la résolution temporelle de la caméra. Notre microscope est équipé d'une caméra ORCA-flash 4.0 (Hamamatsu), pouvant atteindre jusqu'à 30 fps en résolution complète (2048×2048 px^2). Cependant, il est possible d'augmenter la résolution temporelle jusqu'à 100 fps en diminuant la résolution spatiale par regroupement des pixels.

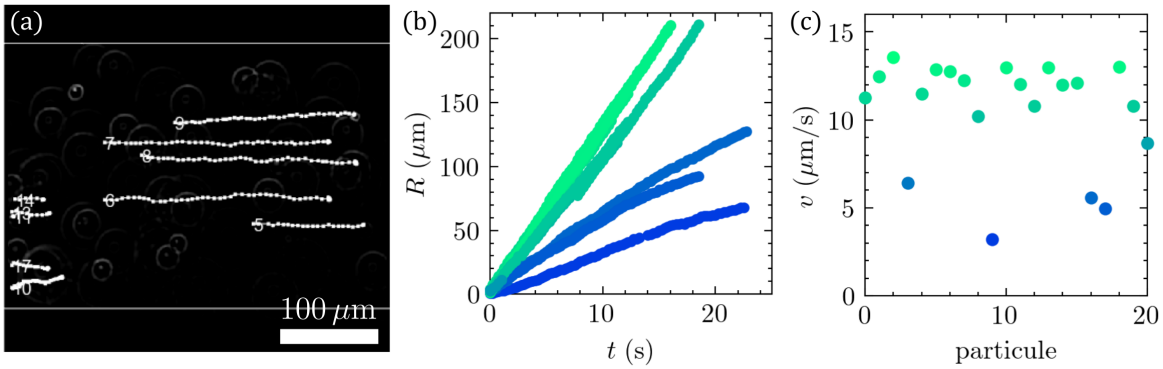


FIGURE 3.5 – Mesure de la vitesse dans un canal. (a) Image en fluorescence montrant les trajectoires de particules dans un écoulement. Les bords du canal sont délimités par les traits blanc. (b) Tracé de la position des particules R en fonction du temps t. (c) Tracé de la vitesse de chaque particule v en fonction de son ordre d'apparition dans l'analyse. Code couleur : bleu → vert pour les vitesses croissantes.

Il existe d'autres alternatives permettant de mesurer des débits $< 50\,\mathrm{nL/min}$. Une autre approche consiste par exemple à suivre l'écoulement à partir d'une interface entre deux phases, typiquement via des ménisques eau/huile ou eau/air. Cette méthode a notamment été employée dans le cadre de mesures de la perméabilité hydraulique d'hydrogels de PEGDA [67, 69, 70], dont les montages ont inspiré notre protocole. Nous avons exclu cette approche pour la caractérisation de la perméabilité hydraulique de nos hydrogels car elle ne correspond pas à l'expérience mise en œuvre. Toutefois, le suivi d'une interface eau/air est exploitée dans le Chapitre 4 (voir Section 4.1.2) pour caractériser la résistance hydraulique d'un canal microfluidique.

3.2.3 Résultats

Dans un premier temps, la vitesse moyenne de l'écoulement à été mesurée dans l'entrée du canal ($\langle V(x=0)\rangle = V_i$) en variant ΔP afin de vérifier l'éqn. (3.5). La Figure 3.6 présente une mesure typique de $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ dans laquelle ΔP a progressivement été augmentée par paliers jusqu'à 4 bar. Tout d'abord, l'augmentation linéaire de J_v avec ΔP souligne la résistance de la membrane à la déformation mécanique (qui modifierait les propriétés de perméabilité). En outre, ces résultats montrent que nos hydrogels sont capables de supporter des pressions mécaniques de l'ordre de 4 bar, ce qui est cohérent avec l'étude de Decock *et al.* qui reportait des mesures de J_v jusqu'à 6 bar de pression. La perméabilité hydraulique est systématiquement mesurée pour chaque membrane photo-réticulée. On estime, pour une dizaine de membranes, des valeurs de $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ se situant entre 60 et $90\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$. Cette perméabilité est comparable à celle rapportée pour

des membranes des cellules végétales, bien que nos membranes soient nettement plus épaisses, avec $w_\mathrm{m} \simeq 30\,\mu\mathrm{m}$ contre quelques micromètres seulement pour les membranes cellulaires [5].

Selon la loi de Darcy, la perméabilité hydraulique s'écrit

$$\mathcal{L}_\mathrm{hyd} = \frac{\kappa}{\eta w_m}\,, \tag{3.7}$$

avec κ la perméabilité de Darcy (en m^2), η la viscosité du fluide traversant la membrane (ici l'eau), et w_m l'épaisseur de la membrane. Celle-ci varie entre $w_\mathrm{m} \simeq 29$ et $33\,\mu\mathrm{m}$ dans l'échantillon représentatif, ce qui correspond à des perméabilités de Darcy comprises entre $\kappa \simeq 1.8$ et $2.6 \times 10^{-20}\,\mathrm{m}^2$. Ces valeurs sont notamment proches de celle reportée par Nguyen *et al.* [69] ($\kappa = (2.6 \pm 0.5) \times 10^{-20}\,\mathrm{m}^2$) pour un hydrogel photo-réticulé dans les même conditions. La perméabilité de Darcy nous renseigne sur la surface effective d'un pore de la membrane, bien que le transport soit décrit dans le contexte d'un modèle solution-diffusion [20].

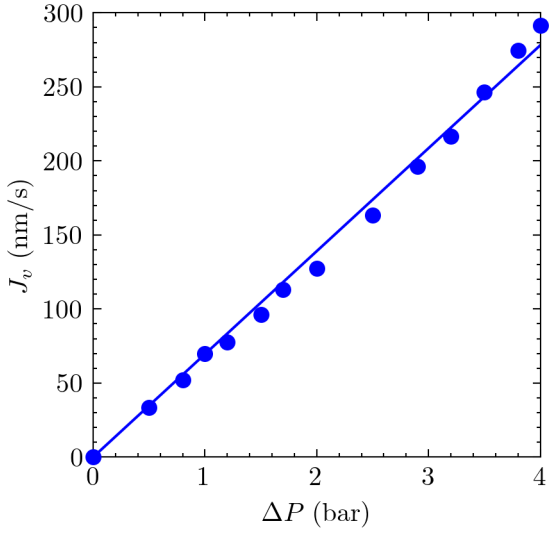


FIGURE 3.6 – Mesure de la perméabilité hydraulique. Tracé du flux volumique J_v en fonction de la différence de pression trans-membranaire ΔP. La régression linéaire selon l'éqn. (3.5) donne $\mathcal{L}_\mathrm{hyd} \simeq 70\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$.

Nous avons ensuite effectué une mesure locale de la vitesse moyenne de l'écoulement dans le canal afin de vérifier l'homogénéité du flux volumique le long de la membrane. Cette hypothèse est vérifiée si la pression dans le canal AB et si la perméabilité hydraulique sont homogènes. Nous avons précédemment montré que la première condition est vérifiée dans notre configuration, car la perte de charge est uniquement concentrée à travers la membrane. Ainsi, nous vérifions ici l'homogénéité de $\mathcal{L}_\mathrm{hyd}$.

Cette condition est vérifée si le profil de vitesse de l'écoulement, calculé en intégrant l'éqn. (3.4) entre $x = 0$ et x, vérifie

$$V(x) = \mathcal{L}_\mathrm{hyd} \Delta P \frac{(L-x)}{w}\,. \tag{3.8}$$

La mesure du champ de vitesse le long du canal a été effectuée pour $\Delta P = 2\,\mathrm{bar}$. Comme le montre la Figure 3.7, les résultats sont légèrement plus bruités que ceux

de la Figure 3.6. Cette dispersion pourrait être attribuée à la limite expérimentale de résolution sur la vitesse mesurée dans le canal. Néanmoins, nous observons une décroissance de la vitesse, de $V = 8\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ en $x = 0$ à $\simeq 0\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ en $x = L$. Cette décroissance est linéaire, ce qui vérifie l'éqn. (3.8) et l'hypothèse de l'homogénéité de la perméabilité. De plus, nous déduisons une valeur de $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}} \simeq 73\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$, qui est très proche de la valeur précédemment déterminée. Ce résultat est plutôt cohérent car les deux ensemble de données ont été obtenus dans la même puce microfluidique au cours de la même journée. Les conditions (3.3) et (3.8) étant toutes deux vérifiées, nous pouvons finalement affirmer que J_v est homogène le long de la membrane.

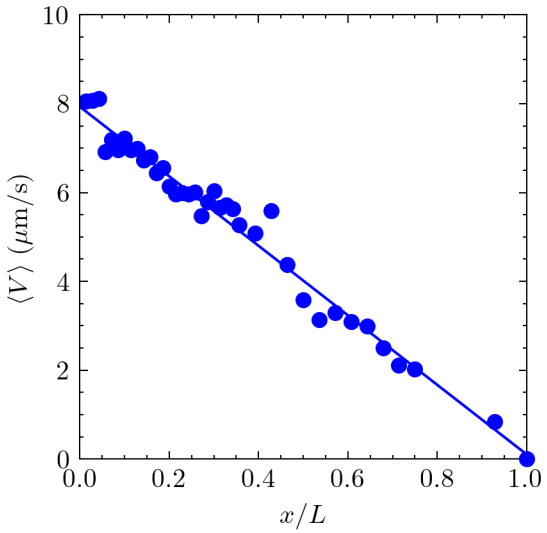


FIGURE 3.7 – Mesure du champ de vitesse par PTV. Tracé de la vitesse moyenne de l'écoulement $\langle V \rangle$ en fonction de la position dans le canal x lorsque $\Delta P = 2\,\mathrm{bar}$.

3.3 Mesure de la pression osmotique de solutés

Un flux trans-membranaire osmotique est généré lorsque la concentration en soluté n'est pas égale de part et d'autre de la membrane. De plus, nous avons précédemment mentionné que lorsque $\sigma = 1$, la membrane est perméable au solvant uniquement ($J_s = 0$) et la différence de pression osmotique $\Delta\Pi$ est maximale. Ce cas correspond à la limite dans laquelle la masse molaire des agents osmotiques est supérieure au seuil de coupure de la membrane ($M >$ MWCO), estimé à quelques $\mathrm{kg\,mol^{-1}}$ [69]. Cette section se concentre sur la mesure de flux osmotiques pour mesurer les équations d'état de pression osmotique de solutés dans ce régime.

3.3.1 Principe de l'expérience

Nous avons réalisé l'expérience illustrée sur la Figure 3.8. Le montage est identique à celui de la mesure de perméabilité hydraulique. Les canaux AB et CD sont respectivement remplis avec de l'eau pure et de l'eau contenant les traceurs fluorescents, et la sortie du canal CD est fermée mécaniquement en pinçant un morceau de PDMS sur la sortie D (Fig. 3.2). Ensuite, nous imposons un écoulement constant de soluté ($M >$ MWCO) à une concentration C_0 dans le canal AB par une différence de pression $\delta P = P_{\mathrm{A}} - P_{\mathrm{B}}$. Cette solution est séparée de l'eau initialement présente dans le

canal par une bulle d'air ce qui permet de limiter au maximum un état transitoire de concentration dans le canal. Le canal AB sert donc de réservoir de solutés.

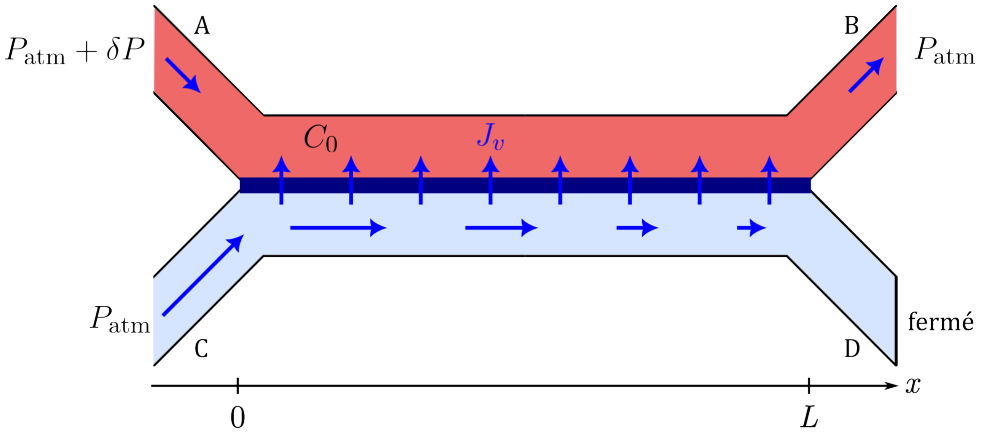


FIGURE 3.8 – Principe de la mesure de flux osmotique. Un écoulement de soluté de concentration C_0 est imposé dans le canal AB par une différence de pression δP. La différence de concentration de part et d'autre de la membrane $\Delta C = C_0$ génère un écoulement osmotique trans-membranaire du canal CD vers le réservoir de soluté AB. Les flèches bleues sont tracées dans le sens de l'écoulement.

En imposant un écoulement de soluté dans le canal AB, nous observons un flux volumique généré par la pression osmotique du soluté ($\Delta\Pi = \Pi(C_0)$), ce qui a pour effet de pomper de l'eau dans le canal CD à travers la membrane. En outre, cet écoulement est stationnaire durant toute l'expérience (2 h). Dans cette configuration, nous considérons donc $\sigma = 1$, et le flux trans-membranaire J_v s'écrit

$$J_v = -\mathcal{L}_{\text{hyd}}(\Delta P - \Delta\Pi)\,, \tag{3.9}$$

avec $\Delta P = \delta P/2$ et $\Delta\Pi = \Pi(C_0)$. La conservation du débit est donnée par

$$w\frac{\partial V}{\partial x} = -J_v = \mathcal{L}_{\text{hyd}}(\Delta P - \Delta\Pi) \tag{3.10}$$

et la vitesse d'entrée dans le canal, $V_i = V(x = 0)$, par

$$V_i = \frac{L}{w}\mathcal{L}_{\text{hyd}}(\Delta P - \Delta\Pi)\,. \tag{3.11}$$

Dans cette expérience, nous allons mesurer la vitesse de l'écoulement dans l'entrée du canal CD par PTV. Connaissant la perméabilité hydraulique de la membrane (mesurée séparément), nous déduisons donc la pression osmotique de la solution $\Pi(C_0)$.

3.3.2 Couche limite de dilution

La différence de pression osmotique de part et d'autre de la membrane génère un flux d'eau à travers la membrane qui impacte localement la concentration en soluté de l'autre côté, se traduisant par l'apparition d'une couche limite de dilution. Par conséquent, la concentration en soluté sur la membrane $C(y = 0^+)$ est effectivement réduite. L'étude des couches limites est un enjeu majeur dans les procédés d'osmose directe [86] mettant en jeu des flux trans-membranaires (on parle de polarisation de la

concentration), et ce phénomène peut être directement observé par l'approche microfluidique [87]. Ainsi, notre approche pour estimer la pression osmotique est applicable seulement si la couche limite de dilution au voisinage de la membrane est négligeable, soit $C(y = 0^+) \simeq C_0$. La Figure 3.9 illustre ce phénomène avec la configuration étudiée par Pedley [88], qui présente des similarités avec la nôtre.

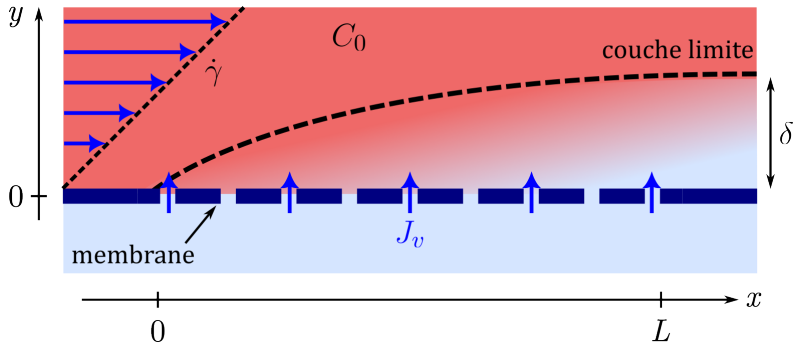


FIGURE 3.9 – Schéma de la configuration étudiée par Pedley [88]. Un flux osmotique d'eau à travers une membrane réduit localement la différence de concentration ΔC, donnant lieu à une couche limite de dilution de taille caractéristique δ.

Pour mettre en évidence cette couche limite, nous avons effectué une première expérience dans laquelle nous avons mesuré la vitesse osmotique générée par des solutions de PEG-4000 (masse molaire moyenne $M \simeq 4000\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) en fonction de la vitesse de l'écoulement du soluté dans le réservoir (imposée par δP). Les solutions de PEG ont été préparées dans une gamme de concentration se situant entre 10 et 80 $\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, soit entre 5% et 30% en fraction massique. Le mélange eau/PEG est considéré comme idéal dans la gamme de concentration étudiée, ainsi les conversions entre fraction massique ϕ_{wt} et concentration sont effectuées selon

$$C = \frac{1}{M}\frac{\phi_{\mathrm{wt}}}{(1-\phi_{\mathrm{wt}})v_w^{\mathrm{sp}} + \phi_{\mathrm{wt}} v_P}\,, \tag{3.12}$$

où $v_w^{\mathrm{sp}} \simeq 1.003 \times 10^{-3}\,\mathrm{m^3\,kg^{-1}}$ et $v_P \simeq 0.84 \times 10^{-3}\,\mathrm{m^3\,kg^{-1}}$ sont les volumes spécifiques de l'eau et du PEG-4000 [89] respectivement.

Nous avons mesuré la vitesse d'entrée en faisant varier la différence de pression δP imposée à travers le réservoir entre 10 mbar et 1.5 bar. Cette première expérience permet de mettre en évidence l'effet de la couche limite de dilution sur la vitesse de l'écoulement osmotique. Nous avons représenté sur la Figure 3.10 la pression osmotique, calculée à partir de V_i selon l'éqn. (3.11) en fonction de δP, pour trois solutions de PEG de concentrations C_0 distinctes. Notons que la perméabilité hydraulique de la membrane a été mesurée séparément en amont de l'expérience. Lorsque $\delta P \to 0$, l'effet de la couche limite est de plus en plus important car l'apport de soluté dans le canal par l'écoulement de cisaillement n'est pas suffisant par rapport au flux osmotique. Par conséquent, la vitesse mesurée à l'entrée chute, et la pression osmotique estimée n'est pas la bonne. À l'inverse, lorsque δP augmente, le soluté est renouvelé de plus en plus rapidement dans le canal, la courbe atteint donc un plateau correspondant à la pression osmotique "réelle" de la solution. Nous voyons donc que le cisaillement nécessaire pour se débarrasser des effets de couche limite de dilution est atteint pour une perte de charge le long du canal de l'ordre de $\delta P \simeq 1$ bar.

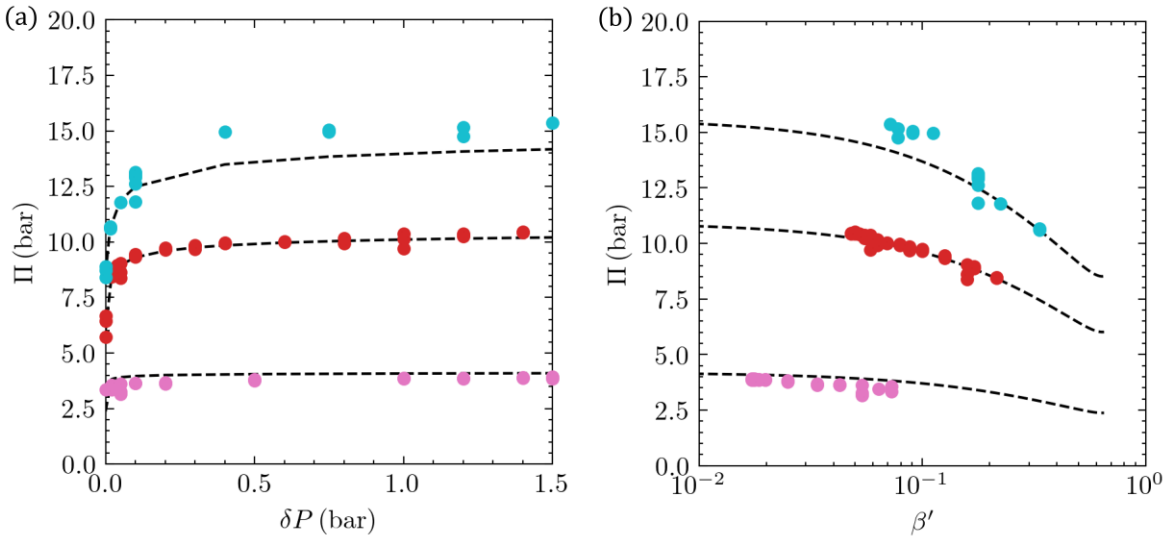


FIGURE 3.10 – Impact de la couche limite de dilution sur le flux osmotique mesuré. (a) Tracé de la pression osmotique calculée selon l'éqn. (3.11) en fonction de δP (la perméabilité hydraulique de la membrane est mesurée en amont). (b) Tracé de la pression osmotique en fonction de β', calculé selon l'éqn. (3.13). Les données suivent un code couleur selon la concentration dans le réservoir avec $C_0 \simeq 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (rose), $65\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (rouge) et $78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (cyan). Les tracés en pointillés correspondent aux prédictions du modèle de Pedley [88].

Dans le but d'étudier quantitativement les couches limites dans notre configuration, nous nous sommes inspirés des travaux de Pedley [88]. Ce dernier a étudié la couche limite de dilution par des méthodes théoriques dans le cas d'osmose directe, avec un écoulement de cisaillement pur s'écoulant au dessus d'une membrane semi-perméable idéale ($\sigma = 1$), en considérant que celui-ci n'est pas perturbé par le flux trans-membranaire J_v. En particulier, il a montré que la concentration en soluté sur la membrane est proche de C_0 tant que :

$$\beta' = J_v \left(\frac{9L}{\dot{\gamma} D^2} \right)^{1/3} \ll 1\,, \tag{3.13}$$

avec $\dot{\gamma}$ le taux de cisaillement, $J_v = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd}} \Pi(C_0)$ le flux trans-membranaire et D le coefficient de diffusion du soluté dans la solution. Le nombre sans dimension β' compare le temps caractéristique δ/J_v de l'advection à travers la couche limite de dilution, où $\delta \simeq (DL/\dot{\gamma})^{1/3}$, avec le temps caractéristique δ^2/D de la diffusion du soluté sur δ. La concentration moyenne en soluté sur la membrane, définie par

$$\langle C(y = 0^+) \rangle = \frac{1}{L} \int_0^L C(y = 0^+, x) \mathrm{d}x\,, \tag{3.14}$$

est reliée à β' selon un développement en série entière, et évolue de sorte que $\langle C(y = 0^+) \rangle / C_0 \to 1$ lorsque $\beta' \ll 1$. En intégrant la série de Pedley, la concentration moyenne est exprimée selon

$$\langle C(y = 0^+) \rangle = 3 C_0 \sum_{n=0}^{\infty} \gamma_n \frac{\beta'^{\,n}}{3+n}\,, \tag{3.15}$$

avec les coefficients γ_n constants, reportés dans la référence [88].

Dans le cas d'un écoulement dans un canal de largeur w (2D), l'approche de Pedley reste applicable si on peut assimiler l'écoulement de Poiseuille à un cisaillement simple. Cette condition est vérifiée si $\delta \ll w$, *i.e.* pour un taux de cisaillement constant sur toute la largeur de la couche limite. Dans ce cas, l'écoulement de cisaillement reste non perturbé si le débit lié au flux osmotique est négligeable devant le débit constant dans le réservoir de soluté, soit $Q_{\mathrm{osm}} = (hL)J_v \ll Q$. Le cas 2D étudié est différent d'un profil 3D de Poiseuille comme dans notre configuration, mais nous avons considéré que la condition (3.13) reste valable tant que $\delta < h$ (et $\delta \ll w$) et en évaluant $\dot{\gamma}$ comme le cisaillement moyenné sur la hauteur en $y = 0$. Plus précisément, nous calculons le taux de cisaillement à la membrane selon

$$\dot{\gamma} = \frac{1}{h}\int_0^h \frac{\partial V}{\partial y}(y = 0, z)\mathrm{d}z\,, \tag{3.16}$$

avec $V(y, z)$ le profil de vitesse de Poiseuille, pour δP imposé dans un canal de section rectangulaire [84]. Nous avons porté une grande attention aux effets de couche limite de dilution dans nos expériences. Comme le montrent les tracés en pointillés sur la Figure 3.10, obtenus via le calcul de β' et $\langle C(y = 0^+)\rangle$ selon l'approche de Pedley, nous pouvons décrire de façon plutôt cohérente l'évolution de la pression osmotique en fonction du cisaillement (imposé par δP). De ce fait, nous avons systématiquement calculé ces paramètres pour quantifier l'impact de la couche limite, et corriger l'analyse des données lorsque c'était nécessaire.

3.3.3 Obtention d'équations d'état

3.3.3.1 Équation d'état du PEG-4000

Nous avons mesuré la pression osmotique de solutions PEG-4000 en appliquant la méthodologie détaillée plus haut, pour une seule valeur de δP comprise entre 50 et 200 mbar selon la concentration en soluté dans le réservoir. Dans cette expérience, la couche limite est quantifiée selon le modèle de Pedley. Nous considérons que le coefficient de diffusion augmente de $D \simeq 1.5$ à $2.3 \times 10^{-10}\,\mathrm{m^2\,s^{-1}}$ dans la gamme de concentration étudiée [90], et la viscosité des solutions est mesurée par nos soins à l'aide d'un rhéomètre (Kinexus, Netzsch) en utilisant une géométrie Double-Gap. Ces données nous permettent de calculer β'. La Figure 3.11a illustre l'évolution de la concentration moyenne sur la membrane, calculée selon l'éqn. (3.15), en fonction de la concentration initiale imposée. On voit que la dilution du soluté par la couche limite est faible ($\leq 3\%$) tant que $C_0 < 40\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Cependant, au delà de ce régime, la concentration moyenne peut être réduite significativement, jusqu'à environ 10%. Dans cette configuration, la pression osmotique calculée expérimentalement peut donc être attribuée à une concentration effective, corrigée d'un facteur $\langle C(y = 0^+)\rangle/C_0$. Cette approche permet donc de mesurer la pression osmotique de solutions sans avoir à imposer de fortes pertes de charge.

La Figure 3.11b présente le tracé de la pression osmotique en fonction de la concentration en PEG-4000. Une partie des données (carrés) correspond aux valeurs des plateaux de la Figure 3.10, obtenus lors de notre expérience précédente, pour lesquels aucune correction n'est appliquée. Le second ensemble de données (points) correspond aux pressions osmotiques tracées en fonction de la concentration effective. Les données montrent une augmentation de la pression osmotique de $\Pi \simeq 0.5\,\mathrm{bar}$ lorsque $C \simeq 12.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$

à $\Pi \simeq 16\,\text{bar}$ lorsque $C \simeq 80\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$. L'équation d'état dévie alors fortement de l'équation de van't Hoff, avec les données ajustées selon

$$\Pi(C) = RTC(1 + a_0 C) \tag{3.17}$$

où $a_0 \simeq 89\,\text{L}\,\text{mol}^{-1}$. Nous avons comparé nos données aux travaux de Cohen *et al.* [89], qui ont mesuré la pression osmotique de solutions de PEG dans une gamme de concentration similaire à la notre, et pour une large gamme de masses molaires également. Ils reportent notamment une équation d'état de la pression osmotique du PEG généralisée à toute masse molaire, selon

$$\Pi(C_m) = \frac{RT}{M_m v_P N^{9/5}} \left(\frac{C_m}{C_m^*} + \alpha \left(\frac{C_m}{C_m^*} \right)^{9/4} \right). \tag{3.18}$$

Dans cette équation, M_m et N sont la masse molaire d'une unité monomère et le nombre d'unités monomères dans une chaîne de PEG respectivement, α est un préfacteur relatif à la nature du PEG ($\alpha \simeq 0.49$), C_m est la concentration massique de la solution et enfin $C_m^* \simeq N^{-4/5}/v_P$ est la concentration massique attribuée à la transition entre les régimes dilué et semi-dilué. L'accord entre les éqns. (3.17) et (3.18) est plutôt satisfaisante tant que $C \leq 40\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$. Pour les solutions plus concentrées cependant, notre estimation de la pression osmotique est systématiquement inférieure à l'équation d'état reportée par Cohen *et al.* [89]. Nous ne pouvons pas déterminer avec certitude l'origine de cette différence, qui pourrait être liée à des incertitudes sur nos mesures de V_i, à la polydispersité des chaînes de PEG présentes dans nos échantillons, une variation du paramètre α avec la masse molaire du polymère, ou bien à notre correction de la concentration qui pourrait être perfectionnée.

3.3.3.2 Équation d'état de dextrans

Nous avons également mesuré les flux osmotiques générés par des solutions de dextran T-10 ($M \simeq 10\,\text{kg}\,\text{mol}^{-1}$) dans une gamme de concentration de $5\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$ à $50\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$ (5% à 40% en fraction massique). Le mélange eau/dextran est considéré comme idéal et les conversions entre fraction massique et concentration sont effectuées selon l'éqn. (3.12) en remplaçant v_P par $v_D \simeq 0.625 \times 10^{-3}\,\text{m}^3\,\text{kg}^{-1}$ le volume spécifique du dextran T-10. Nous considérons que le coefficient de diffusion est relativement constant autour de $D \simeq 0.9 \times 10^{-10}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$ [91] et la viscosité proche de $\eta \simeq 12.6\,\text{mPa}$ [92, 93] dans la gamme de concentration étudiée. Les mesures ont été effectuées en imposant $\delta P = 50\,\text{mbar}$, ce qui d'après l'éqn. (3.13) signifie que $\beta' \sim 0.1$, impliquant nécessairement la formation d'une couche limite, notamment dans les cas où la concentration C_0 est la plus élevée. Pour en tenir compte, nous calculons la concentration moyenne en soluté selon l'éqn. (3.15). Comme le montre la Figure 3.12a, l'effet de la couche limite augmente progressivement avec C_0, et la concentration est réduite d'environ 10% lorsque $C_0 \simeq 50\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$.

La Figure 3.12b comprend les tracés de la pression osmotique en fonction de la concentration corrigée $\langle C(y = 0^+) \rangle$. On observe une augmentation de Π de $\simeq 0.5\,\text{bar}$ lorsque $C \simeq 5\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$ à $\simeq 7\,\text{bar}$ lorsque $C \simeq 45\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$. Nous avons déterminé l'équation d'état, qui dévie fortement de l'équation de van't Hoff, avec les résultats expérimentaux ajustés selon

$$\Pi(C) = a_0 RTC(1 + b_0 C) \tag{3.19}$$

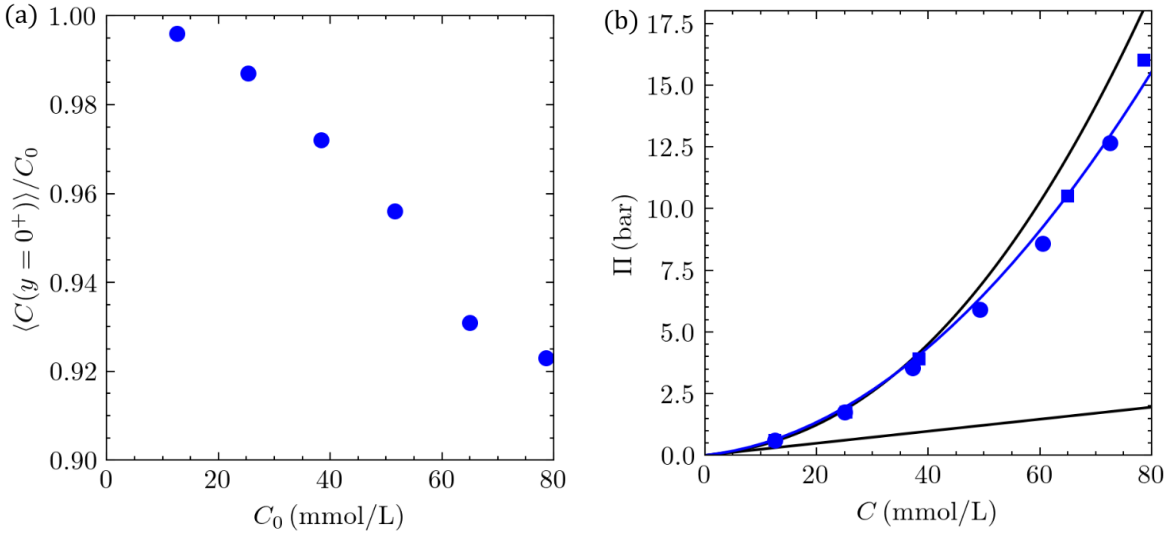


FIGURE 3.11 – (a) Impact de la couche limite de dilution sur la concentration sur la membrane. Tracé de la concentration moyenne normalisée $\langle C(y=0^+)\rangle/C_0$ en fonction de la concentration initialement imposée C_0, pour une perte de charge δP comprise entre 50 et 200 mbar. (b) Équation d'état de la pression osmotique du PEG-4000. (□) : pression osmotique mesurée en éliminant la couche limite de concentration en augmentant le cisaillement. (○) : pression osmotique tracée en fonction de la concentration effective. Les données sont ajustées selon l'éqn. (3.17) avec $a_0 \simeq 89\,\mathrm{L\,mol^{-1}}$. La droite et la courbe en noir correspondent à l'équation de van't Hoff et l'équation d'état déterminée par Cohen *et al.* [89] respectivement.

où $a_0 \simeq 3.15$ et $b_0 \simeq 2.3 \times 10^{-2}\,\mathrm{L\,mmol^{-1}}$. Cette équation dévie d'un développement de viriel ($a_0 = 1$) car la gamme de concentration étudiée se situe bien au delà du régime dilué [89, 92, 94]. Les données sont cependant en accord avec les équations d'état reportées dans le cas de solutions de dextran de masse molaire $M = 17.5\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$ [52] et $6\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$ [19], décrites selon $\Pi \simeq aRTC$ avec $a \simeq 4.1$ et 4.7 respectivement.

Comme nous l'avons vu, les équations d'état de la pression osmotique du dextran T-10 et du PEG-4000 dévient fortement du régime linéaire de van't Hoff, et cet effet semble plus important dans le cas du dextran. Selon le modèle de Cohen *et al.* [89], et plus généralement dans le cas de polymères en solution, la concentration de transition entre les régimes dilué et semi-dilué diminue lorsque les chaînes de PEG s'allongent. Si on pouvait appliquer le même modèle au dextran, la tendance observée pourrait alors être attribuée à l'augmentation de la masse molaire moyenne des polymères (et donc de la longueur des chaînes) entre le PEG-4000 et le dextran T-10.

3.4 Perméation de solutés à travers la membrane

Nous nous intéressons maintenant au cas pour lequel la membrane est perméable à la fois au solvant et au soluté, lorsque $M <$ MWCO. Comme nous l'avons mentionné dans le Chapitre 1, le transport d'un soluté à travers un hydrogel est en partie décrit par son coefficient de perméabilité $\mathcal{L}_\mathrm{D}$. Dans le cadre d'un modèle du type « solution-diffusion », le gradient de concentration dans l'hydrogel est $k\Delta C/w_\mathrm{m}$, où k est le coefficient de partage et D_m le coefficient de diffusion dans l'hydrogel. Ainsi, selon la loi de Fick et

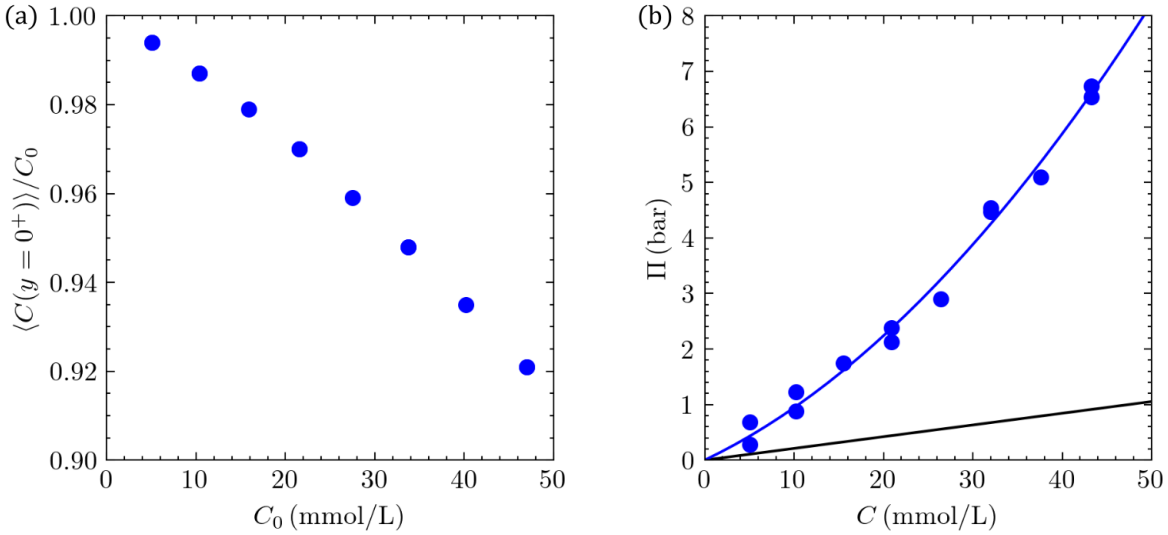


FIGURE 3.12 – (a) Impact de la couche limite de dilution sur la concentration en dextran T-10 sur la membrane. Tracé de la concentration moyenne normalisée $\langle C(y = 0^+)\rangle/C_0$ en fonction de la concentration initialement imposée C_0. (b) Equation d'état de la pression osmotique des dextrans T-10. Les données sont ajustées selon l'éqn. (3.19) avec $a_0 \simeq 3.15$ et $b_0 \simeq 2.3 \times 10^{-2}\,\mathrm{L\,mmol^{-1}}$. La droite noire correspond à l'équation de van't Hoff.

si l'hydrogel est homogène, le coefficient de perméabilité s'écrit

$$\mathcal{L}_D = \frac{kD_m}{w_\mathrm{m}}\,. \tag{3.20}$$

3.4.1 Perméation sans flux osmotique

Nous avons mené une première expérience dans laquelle nous nous sommes intéressés à la perméation d'une solution de bleu de méthylène ($M \simeq 320\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) à travers la membrane. Le bleu de méthylène est couramment employé pour ses propriétés de colorant dans l'industrie du textile [95], ainsi que pour ses propriétés thérapeutiques dans le domaine de la médecine [95, 96]. Nous avons tiré profit de ses qualités de colorant dans le cadre d'observations au microscope pour lesquelles le bleu de méthylène offre un contraste élevé avec l'eau ce qui s'avère très pratique pour le suivi visuel d'écoulements ou la mesure de sa diffusivité.

La configuration de l'expérience est schématisée sur la Figure 3.13. Le canal CD est initialement rempli d'eau pure avec la sortie D fermée et C ouverte à P_atm. À $t = 0$, un écoulement constant de bleu de méthylène de concentration C_0 est imposé dans le canal AB par une différence de pression $\delta P = P_\mathrm{A} - P_\mathrm{B} \simeq 50\,\mathrm{mbar}$, qui correspond à un débit $Q \simeq 25\,\mu\mathrm{L/min}$. La membrane est perméable au bleu de méthylène ($M < MWCO$). En conséquence, nous observons la perméation du soluté vers le canal CD, par diffusion uniquement, jusqu'à l'équilibrage de la concentration dans les deux canaux.

Le principe de l'expérience repose sur l'acquisition d'images dans le canal CD au cours du temps. Au microscope, l'augmentation de la concentration en bleu de méthylène se traduit visuellement par un assombrissement du canal contenant initialement l'eau. Comme l'illustre la Figure 3.14, l'équilibrage des concentrations en bleu de méthylène

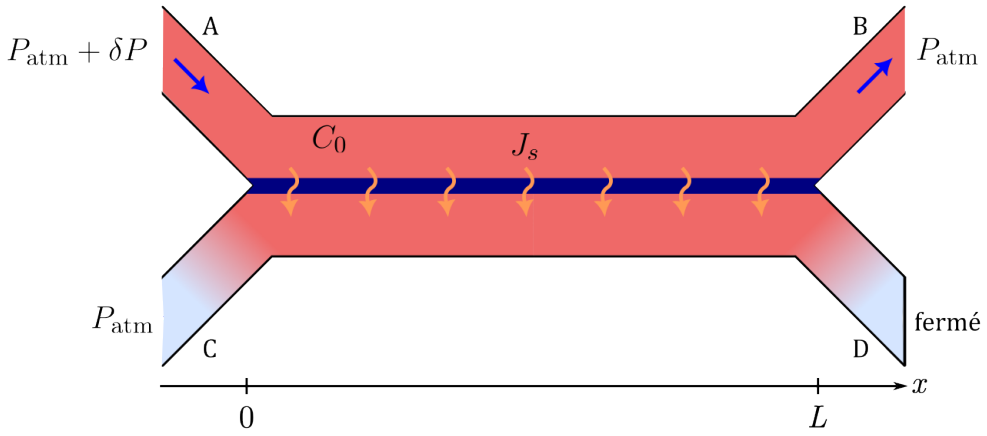


FIGURE 3.13 – Principe de la mesure de la perméabilité de la membrane au bleu de méthylène.

de part et d'autre de la membrane se produit en environ 30 min. Notons tout d'abord que nous n'avons pas observé de gradient d'intensité de la lumière transmise selon la dimension transversale du canal (la largeur w). En outre, l'intensité transmise est homogène le long du canal (non montré ici). Nous avons donc considéré que la concentration en bleu de méthylène évolue de manière homogène dans le canal. Compte tenu de ces observations, l'acquisition des images est restreinte dans une région d'intérêt représentative (ROI) illustrée sur la Figure 3.14. Nous calculons l'intensité moyenne de la lumière transmise I que nous comparons à I_{ref} l'intensité moyenne dans le canal à $t = 0$, lorsqu'il ne contient que de l'eau, et déduisons l'absorbance A selon

$$A = -\log \frac{I}{I_{\text{ref}}} \,. \tag{3.21}$$

L'absorbance est proportionnelle à la concentration en soluté selon la loi de Beer-Lambert, vérifiée dans le régime dilué. Ainsi, nous calculons la concentration relative en bleu de méthylène en comparant l'absorbance dans le canal à l'absorbance dans le réservoir de soluté A_0 tel que $C/C_0 = A/A_0$.

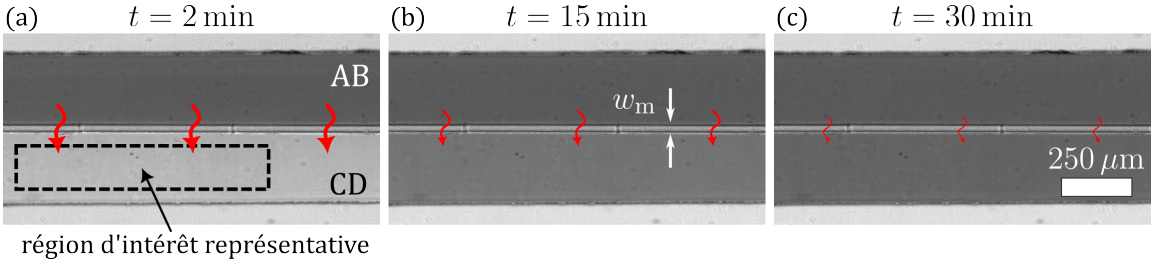


FIGURE 3.14 – Images en champ clair de la mesure de la perméation du bleu de méthylène aux temps (a) $t = 2$ min, (b) $t = 15$ min et (c) $t = 30$ min. Le flux de soluté est représenté par les flèches rouges.

D'après nos observations, la concentration en soluté est homogène sur la largeur du canal, ce qui signifie que le transport de masse est uniquement limité par la diffusion à travers la membrane. En d'autres termes, la résistance à la diffusion du soluté dans le canal $\sim w/D$ est négligeable devant celle dans la membrane $\sim 1/\mathcal{L}_{\text{D}}$, soit

$$\frac{w\mathcal{L}_{\text{D}}}{D} \ll 1 \,. \tag{3.22}$$

En outre, la présence de bleu de méthylène génère en principe un flux de volume d'origine osmotique tel que $J_v \simeq -\mathcal{L}_{\text{hyd}}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi)$ avec $\sigma < 1$. Or, nous estimons $\Delta P \sim \delta P \simeq 50\,\text{mbar}$ et $\Delta\Pi \sim RTC_0$ dans la limite du régime dilué. En tenant compte de la concentration en bleu de méthylène ($C_0 = 4\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$), l'hypothèse semble raisonnable, ce qui donne $RTC_0 \simeq 100\,\text{mbar}$. Ainsi, $\Delta P \sim \sigma\Delta\Pi$, le flux volumique à travers la membrane est quasiment négligeable ($J_v \sim 0$). Dans ce régime, le flux de soluté de l'éqn. (1.19) est uniquement diffusif et se réduit à $J_s \simeq -\mathcal{L}_D\Delta C$. Ainsi, l'évolution de la concentration dans le canal peut être modélisée par une équation de diffusion 1D selon

$$w\frac{\partial C}{\partial t} = -J_s = \mathcal{L}_{\text{D}}(C_0 - C)\,. \tag{3.23}$$

La résolution analytique de l'éqn. (3.23) avec la condition initiale $C(t = 0) = 0$ est donnée par

$$C(t) = C_0\left[1 - \exp\left(-\frac{\mathcal{L}_{\text{D}}}{w}t\right)\right], \tag{3.24}$$

avec $w/\mathcal{L}_{\text{D}}$ le temps caractéristique de remplissage du canal par le soluté. Lors de l'expérience, nous avons précédemment mentionné que la perméation du bleu de méthylène dans le canal se produit en environ 30 min. Après analyse des images, l'évolution de C/C_0 en fonction du temps est tracée sur la Figure 3.15. Nous remarquons que les points expérimentaux sont en bon accord avec l'éqn.(3.24) du modèle. Par conséquent, nous obtenons un coefficient de perméation $\mathcal{L}_{\text{D}} \simeq 50\,\text{nm}\,\text{s}^{-1}$, à partir duquel nous déduisons $kD_{\text{m}} \simeq 1.5 \times 10^{-11}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$ pour le bleu de méthylène selon l'éqn. (3.20).

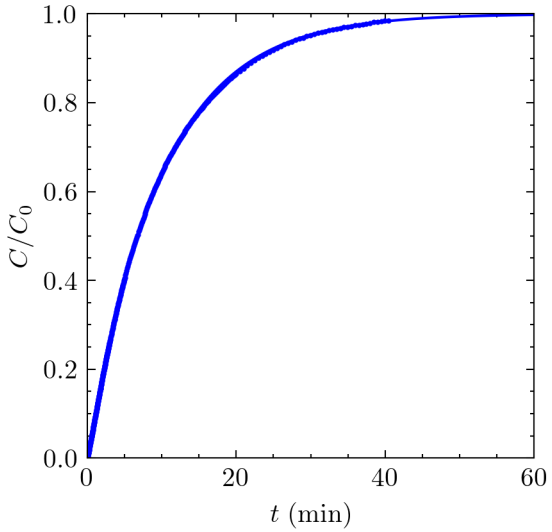


FIGURE 3.15 – Mesure de la perméabilité de la membrane au bleu de méthylène. Tracé de la concentration normalisée C/C_0 en fonction du temps t. L'ajustement des données selon l'éqn. (3.24) donne $kD_{\text{m}} \simeq 1.5 \times 10^{-11}\,\text{m}^2\,\text{s}^{-1}$.

Il est important de préciser que notre modèle considère implicitement un gradient stationnaire de soluté dans la membrane dès l'injection du soluté à $t = 0$, ce qui n'est pas nécessairement correct. Pour autant, nous n'avons pas observé de temps d'induction de la perméation, attribué à l'établissement du profil de concentration de soluté dans la membrane. En première approximation, le coefficient de partage est estimé selon $k = 1 - \varphi \simeq 0.5$ avec φ la fraction volumique de l'eau dans l'hydrogel [26, 69], ce

qui est raisonnable pour des solutés ponctuels. Ainsi, nous pouvons déduire une valeur de D_m et estimons le temps d'induction à $t_\mathrm{lag} = w_\mathrm{m}^2/D_\mathrm{m} \sim 30\,\mathrm{s}$, ce qui est proche de l'ordre de temps nécessaire pour imposer une concentration C_0 uniforme dans le canal AB ($\simeq 10\,\mathrm{s}$). Des estimations plus précises de D_m pourraient être obtenues à partir ce temps d'induction, mais cela implique de travailler avec des membranes plus épaisses.

3.4.2 Perméation avec flux osmotique transitoire

La sève brute qui s'écoule dans le phloème contient en grande majorité du saccharose [1]. Produit lors de la photosynthèse dans les feuilles, sa concentration dans le phloème s'élève jusqu'à 30% en fraction massique [1, 12], correspondant à une pression osmotique de l'ordre de 35 bar [11]. Naturellement, le saccharose a été un soluté phare dans le cadre de nos travaux.

Nous avons réalisé l'expérience schématisée sur la Figure 3.16. Le canal CD est initialement rempli d'eau contenant des traceurs fluorescents, puis la sortie D est fermée tandis que la sortie C reste ouverte à P_atm. À $t = 0$, un écoulement constant de saccharose de concentration C_0 est imposé dans le canal AB par une différence de pression $\delta P = P_\mathrm{A} - P_\mathrm{B} = 100\,\mathrm{mbar}$. La différence de pression osmotique de part et d'autre de la membrane génère ainsi un flux osmotique se traduisant par un écoulement dans le canal CD. Au regard de sa masse molaire ($M = 342\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) proche du bleu de méthylène, nous nous attendons en plus à un flux de perméation de saccharose à travers la membrane. Par conséquent, la vitesse du flux osmotique décroît dans le temps jusqu'à ce que la concentration de saccharose soit équilibrée de chaque côté de la membrane.

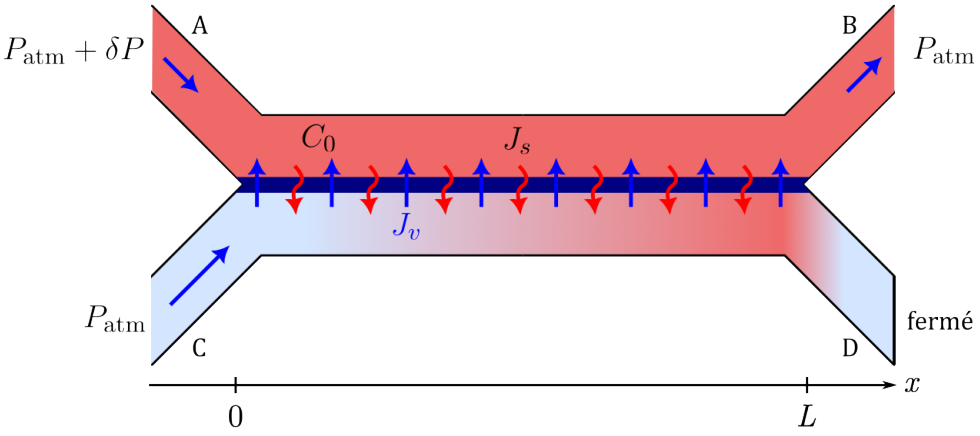


FIGURE 3.16 – Principe de la mesure d'écoulement osmotique transitoire.

L'expérience est dans un premier temps menée en régime dilué, avec $C_0 \simeq 150\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (correspondant à une fraction massique de 5%). Ainsi, la pression osmotique est décrite par la relation de van't Hoff avec $\Pi(C_0) = RTC_0 \simeq 3.5\,\mathrm{bar}$, et les effets de couche limite sont négligeables ($\beta' \ll 1$). Dès l'injection du soluté, la vitesse de l'écoulement osmotique est quasi-instantanément mesurée dans l'entrée du canal CD afin ne pas manquer la dynamique de décroissance. En outre, le temps d'acquisition d'un film ($\simeq 30\,\mathrm{s}$) limite notre résolution entre deux points dans le temps (de l'ordre de $\simeq 1\,\mathrm{min}$ par conséquent). La mesure de V_i indique effectivement la présence d'un flux volumique d'origine osmotique qui diminue de $V_i \simeq 11\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$ à $t \simeq 0\,\mathrm{s}$, à $V_i \leq 1\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$ à $t \simeq 1\,\mathrm{h}$ comme illustré sur la Figure 3.17. La décroissance est associée à la perméation

du saccharose à travers la membrane et son accumulation dans le canal CD jusqu'à l'équilibre. Nous sommes dans la limite d'osmose directe, où la différence de pression osmotique initiale domine la différence de pression hydrostatique de part et d'autre de la membrane $\Delta\Pi \gg \Delta P$. La présence du saccharose induit un flux volumique à travers la membrane $J_v \simeq \sigma\mathcal{L}_\mathrm{p}\Delta\Pi$ et donc un écoulement dans le canal avec pour vitesse d'entrée $V_i = (L/w)\sigma\mathcal{L}_\mathrm{p}\Delta\Pi$. Cependant, la membrane étant perméable au saccharose ($\sigma < 1$), la différence de concentration de part et d'autre de la membrane diminue avec le temps (flux de soluté J_s). Ainsi, V_i décroît jusqu'à ce que $\Delta C = 0$. Enfin, contrairement à l'expérience menée avec le bleu de méthylène, le flux osmotique généré par le saccharose impacte le profil de concentration dans le canal, qui n'est donc a priori plus homogène selon la longueur.

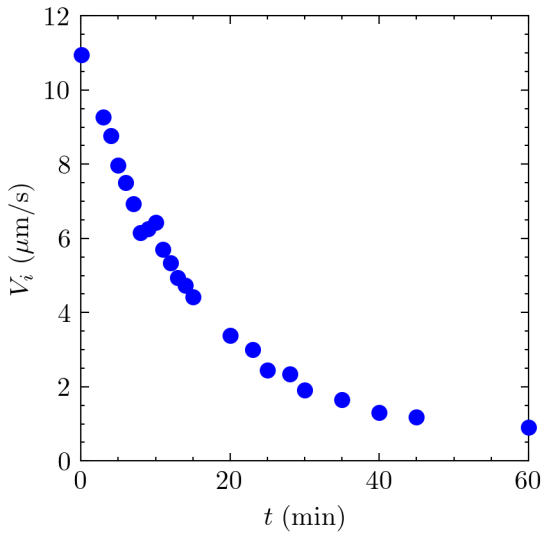


FIGURE 3.17 – Écoulement osmotique transitoire induit par une solution de saccharose ($C_0 = 150\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$). Tracé du flux V_i dans le canal CD en fonction du temps t.

3.5 Modélisation du transport dans la membrane

Nous avons développé un modèle reposant sur les équations de Kedem et Katchalsky pour étudier la dynamique des flux de volume et de soluté à travers la membrane. Nous considérons la configuration microfluidique de la Figure 3.16 : une membrane semi-perméable sépare un canal microfluidique fermé de section transversale $h \times w$ d'un autre canal, ouvert, qui sert de réservoir de soluté.

3.5.1 Équations constitutives

Les transports du solvant (l'eau) et du soluté sont décrits par les équations de Kedem et Katchalsky, avec comme paramètres associés $\mathcal{L}_\mathrm{hyd}$, $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ et σ. Un écoulement constant de soluté est imposé dans le réservoir par une différence de pression δP pour éviter la formation de couches limites et assurer une concentration sur la membrane $C_0(y = 0^+)$ et donc une pression osmotique $\Pi_0 = RTC_0$ uniformes sur toute sa longueur L. De l'autre côté de la membrane, le canal est fermé et en équilibre avec la pression atmosphérique P_atm, et ne contient que de l'eau à $t = 0$. Les équations de Kedem et

Katchalsky sont recopiées ici pour apporter plus de confort pour la suite de la lecture :

$$J_v = -\mathcal{L}_{\text{hyd}}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi)\,, \tag{3.25}$$
$$J_s = -\mathcal{L}_{\text{D}}\Delta C + (1-\sigma)\langle C\rangle J_v\,. \tag{3.26}$$

Nous considérons le cas limite pour lequel la différence de pression osmotique domine toute pression hydrostatique, soit $\Delta\Pi \gg \Delta P$. La différence de concentration en soluté initiale $\Delta C(t=0) = C_0$, associée à une différence de pression osmotique initiale $\Delta\Pi = \Pi(C_0)$, induit un flux volumique à travers la membrane (flux local $J_v \simeq \sigma\mathcal{L}_{\text{hyd}}\Delta\Pi$) et donc un flux dans le canal avec une vitesse d'entrée V_i. La pression osmotique est décrite par la loi de van't Hoff, adaptée au régime dilué ($\Delta\Pi = RT\Delta C$). La concentration moyenne $\langle C\rangle$ n'est pas clairement définie, cela dit nous sommes dans un cas où $\Delta C \ll \langle C\rangle$ donc nous pouvons choisir de définir $\langle C\rangle \simeq C$, où C est la concentration dans le canal CD. La membrane est perméable au soluté ($\sigma < 1$), ainsi la différence de concentration en soluté de part et d'autre diminue avec le temps, ce qui correspond au terme $-\mathcal{L}_{\text{D}}\Delta C$ dans l'éqn. (3.26). Le terme $(1-\sigma)CJ_v$ de l'éqn. (3.26) correspond quant à lui à une advection du soluté retournant vers le réservoir par le flux osmotique à travers la membrane. Dans notre cas, le flux J_s mène à une accumulation de soluté dans le canal jusqu'à l'équilibre avec le réservoir aux temps longs. Ainsi, le flux J_v, et donc la vitesse de l'écoulement dans l'entrée V_i, diminuent avec le temps jusqu'à l'équilibre ($\Delta C = 0$).

3.5.1.1 Équation de conservation

Les écoulements sont incompressibles donc les débits sont conservés. La vitesse V diminue donc le long du canal selon

$$w\frac{\partial V}{\partial x} = -J_v\,. \tag{3.27}$$

L'équation de conservation du soluté dans le canal s'écrit

$$\frac{\partial C}{\partial t} = -\frac{\partial}{\partial x}(CV) + D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - \frac{J_s}{w}\,, \tag{3.28}$$

dans laquelle les termes $-\partial_x(CV)$ et $D\partial_x^2 C$ décrivent l'advection par l'écoulement et la diffusion du soluté dans le canal respectivement. Dans le régime dilué, nous considérons que le coefficient de diffusion du soluté dans l'eau D est indépendant de la concentration. Le terme $-J_s/w$ correspond quant à lui à la perméation du soluté entrant dans le canal. Les équations de Kedem et Katchalsky sont injectées dans l'éqn. (3.28) pour obtenir

$$\frac{\partial C}{\partial t} = \frac{\mathcal{L}_{\text{D}}}{w}\Delta C - \frac{1}{w}\sigma(1-\sigma)C\mathcal{L}_{\text{hyd}}RT\Delta C - \frac{\partial}{\partial x}(CV) + D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}\,, \tag{3.29}$$

où les termes $\mathcal{L}_{\text{D}}\Delta C/w$ et $-\sigma(1-\sigma)C\mathcal{L}_{\text{hyd}}RT\Delta C/w$ correspondent à la diffusion du soluté à travers la membrane et son transport vers le réservoir par le flux osmotique (terme advectif de « retour ») respectivement.

Les variables du système sont normalisées pour faire apparaître les paramètres sans dimensions du modèle. La position et la concentration sont normalisées selon $\mathcal{X} = x/L$ et $c = C/C_0$ respectivement. Nous pouvons donc ré-écrire l'éqn. (3.27) qui devient

$$\frac{\partial v}{\partial \mathcal{X}} = \sigma(c-1) \tag{3.30}$$

avec v la vitesse sans dimension selon $v = V/V_0$, où $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}RTC_0$ correspond à la vitesse de l'écoulement dans l'entrée du canal attendue dans le cas d'une membrane idéale ($\sigma = 1$). Quant à elle, l'équation de conservation devient

$$\frac{\partial c}{\partial t} = \frac{\mathcal{L}_{\mathrm{D}}}{w}(1-c) - \frac{V_0}{L}\sigma(1-\sigma)c(1-c) - \frac{V_0}{L}\frac{\partial}{\partial \mathcal{X}}(cv) + \frac{D}{L^2}\frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2}\,. \tag{3.31}$$

3.5.1.2 Adimensionnement du temps

Le temps est adimensionné selon $\mathcal{T} = t/\tau$, où τ est un temps caractéristique choisi. On identifie naturellement L/V_0 qui correspond au temps nécessaire pour traverser le canal sur sa longueur. On identifie également $w/\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ qui peut être interprété comme le temps de remplissage du canal par diffusion du soluté à travers la membrane. Bien que ces deux alternatives soient équivalentes, nous choisissons arbitrairement la seconde définition qui convient le mieux à notre modélisation. Ainsi, l'éqn. (3.31) devient

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{T}} = (1-c) - \mathrm{Pe}_m\sigma(1-\sigma)c(1-c) - \mathrm{Pe}_m\frac{\partial}{\partial \mathcal{X}}(cv) + \frac{\mathrm{Pe}_m}{\mathrm{Pe}}\frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2}\,, \tag{3.32}$$

dans laquelle apparaissent le nombre de Péclet $\mathrm{Pe} = V_0L/D$, qui compare le temps de diffusion du soluté à son temps d'advection sur la longueur du canal, ainsi qu'un second paramètre sans dimension Pe_m, qui compare l'advection au transport par diffusion dans la membrane selon

$$\mathrm{Pe}_m = \frac{\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}RTC_0}{\mathcal{L}_{\mathrm{D}}}. \tag{3.33}$$

3.5.2 Cas limite étudié

Nous considérons le cas limite pour lequel le transport du soluté dans la membrane est majoritairement gouverné par sa diffusion, soit $J_s \simeq -\mathcal{L}_{\mathrm{D}}\Delta C$. Le flux advectif de "retour" du soluté dans le réservoir est donc négligeable, soit

$$\mathrm{Pe}_m \ll 1. \tag{3.34}$$

Pour se placer dans une description à 1D de la concentration telle que $C(x,y,z,t) \simeq C(x,t)$, nous considérons que la résistance à la diffusion du soluté dans le canal $\sim w/D$ est négligeable devant celle dans la membrane $\sim 1/\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ soit

$$\mathcal{R} = \frac{w\mathcal{L}_{\mathrm{D}}}{D} \ll 1. \tag{3.35}$$

La condition (3.35) assure que la concentration est uniforme dans la dimension transversale du canal en l'absence d'écoulement, comme c'était le cas lors de l'expérience de perméation du bleu de méthylène (voir section 3.4.1). Lorsque les flux osmotiques sont présents, le nombre de Péclet relatif au transfert de masse dans le canal s'écrit $\sigma\mathcal{L}_{\mathrm{p}}RTC_0w/D = \sigma\mathrm{Pe}_m\mathcal{R}$. Ce dernier est donc faible, ce qui implique que la concentration est uniforme dans le canal même en présence du flux osmotique. Dans ce régime, l'équation de conservation est linéaire. En l'intégrant entre $x = 0$ et $x = L$, elle devient

$$\frac{\mathrm{d}\overline{c}}{\mathrm{d}\mathcal{T}} = (1-\overline{c})\,, \tag{3.36}$$

avec $\overline{c} = \int_0^1 c \, \mathrm{d}\mathcal{X}$ la concentration moyenne en soluté dans le canal. La résolution de l'éqn. (3.36) avec la condition initiale $c(\mathcal{T} = 0) = 0$ (la concentration est initialement nulle dans le canal) donne

$$\overline{c}(\mathcal{T}) = 1 - \exp(-\mathcal{T}) \,, \tag{3.37}$$

et donc

$$\overline{C}(t) = C_0 \left[1 - \exp\left(-\frac{\mathcal{L}_\mathrm{D}}{w} t \right) \right] . \tag{3.38}$$

La vitesse d'entrée dans le canal est donnée par l'intégration de l'éqn. (3.27) entre $x = 0$ et $x = L$, et puisque $V(x = L) = 0$, on obtient

$$V_i = -\frac{1}{w} \int_0^L J_v \mathrm{d}x = \frac{L}{w} \sigma \mathcal{L}_\mathrm{hyd} RT (C_0 - \overline{C}) \,, \tag{3.39}$$

soit

$$V_i = \sigma V_0 \exp\left(-\frac{\mathcal{L}_\mathrm{D}}{w} t \right). \tag{3.40}$$

3.5.3 Application du modèle à plusieurs solutés

Nous avons appliqué la méthode détaillée en section 3.4.2 en remplaçant le saccharose avec plusieurs solutés de masses molaires variées : NaCl, PEG-400 et PEG-1000. Les expériences ont toutes été réalisées dans le régime dilué, avec $C_0 = 1$, 0.253 et $0.071\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ respectivement. Les vitesses d'entrée ont été mesurées en fonction du temps et les résultats sont tracés sur la Figure 3.18, avec l'ensemble de données correspondant à l'expérience menée avec le saccharose ($C_0 = 0.150\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$). La vitesse est normalisée par $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_\mathrm{hyd} RTC_0$. Dans le cas du sel, nous avons considéré la dissociation en ions Na^+ et Cl^- dans l'eau, ainsi la pression osmotique est exprimée selon $\Pi_0 = 2RTC_0$. Dans le cas du PEG-1000, nous avons estimé $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_\mathrm{hyd}\Pi(C_0)$ en utilisant la pression osmotique d'une solution idéale selon $\Pi(C_0) \simeq RTx_0/v_w$ (x_0 étant la fraction molaire de soluté, voir éqn. (1.6)). Cette expression de la pression osmotique dévie légèrement du régime de van't Hoff dans le régime de concentration étudié, à savoir une fraction massique d'environ 5 %, mais ne compromet pas la validité du modèle. Ainsi, pour chaque soluté, nous avons systématiquement vérifié que les conditions (3.34) et (3.35) étaient valides et que la couche limite de dilution était négligeable ($\beta' \ll 1$). Les valeurs des paramètres sont reportées sur la Table 3.1.

Les données mettent en valeur une grande gamme de temps caractéristiques de décroissance du flux osmotique, de l'ordre de 1 min dans le cas de NaCl à plus de 10 h pour le PEG-1000. Notons cependant que la pertinence des derniers points mesurés avec le PEG-1000 est à nuancer, car les analyses ont parfois révélé l'infiltration de bulles d'airs dans le canal servant de réservoir de soluté, qui peuvent donc perturber la dynamique de décroissance. L'ajustement des données selon l'éqn. (3.40) est néanmoins satisfaisant et nous permet d'estimer les coefficients de réflexion σ et de perméation $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ de chaque soluté, reportés dans la Table 3.1. En particulier, le coefficient de réflexion correspond à la valeur de V/V_0 lorsque $t = 0$, soit l'ordonnée à l'origine des ensembles de données tracés sur la Figure 3.18. L'estimation de σ repose donc uniquement sur de la mesure de la vitesse à l'entrée en $t = 0$, dont l'estimation n'est pas triviale dans le cadre de l'expérience. Nous avons défini $t = 0$ comme le moment où les particules sont subitement entraînées par le flux osmotique, ce qui est parfaitement visible expérimentalement.

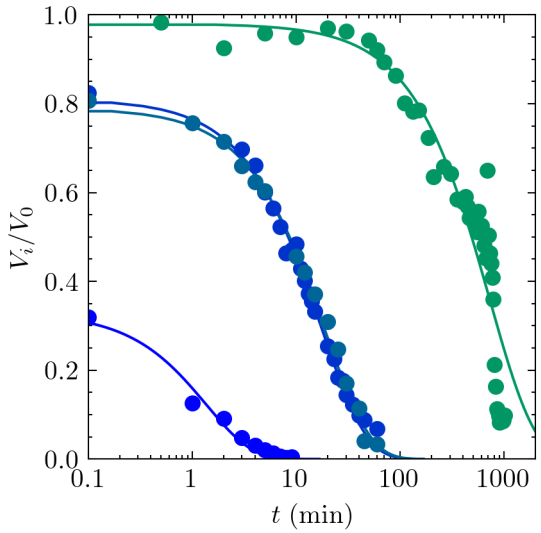


FIGURE 3.18 – Tracés de la vitesse d'entrée normalisée V_i/V_0 en fonction du temps t pour différents solutés : NaCl, saccharose, PEG-400 et PEG-1000 (du bleu au vert). Les données sont ajustées selon l'éqn. (3.40) avec σ et $\mathcal{L}_D$ pour chaque soluté.

Cependant, nous ne pouvons pas définir avec certitude la vitesse de l'écoulement à cet instant précis car notre résolution temporelle ($\simeq 30\,\mathrm{s}$) est du même ordre de grandeur que le temps nécessaire pour l'établissement d'une concentration uniforme dans le canal réservoir ($\simeq 10\,\mathrm{s}$). Par ailleurs, le temps d'induction $w_\mathrm{m}^2/D_\mathrm{m}$ caractéristique de l'établissement du profil de concentration de soluté dans la membrane impacte la dynamique de perméation du soluté aux premiers instants. Les mesures de vitesse ont donc été réalisées en portant une attention particulière aux premiers instants.

La Figure 3.19 souligne l'évolution du coefficient de réflexion en fonction de la masse molaire des solutés. Les données montrent que $\sigma \simeq 1$ lorsque $M \geq 1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$, donnant une estimation indépendante du seuil de coupure de la membrane à $\simeq 1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. De plus, le guide visuel tracé sur la figure semble montrer que $\sigma \to 0$ lorsque $M \simeq 13\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$, définissant ainsi une limite inférieure sur la taille de soluté pour qu'une pression osmotique soit générée. Les coefficients $\sigma < 1$ estimés pour NaCl, PEG-400 et le saccharose sont la signature que la membrane leur est partiellement perméable, et que les interactions avec l'hydrogel résultent en une pression osmotique effective $\simeq \sigma RTC_0$ correspondant à $V_i \simeq \sigma V_0$ à $t \to 0$. Les travaux de Nguyen et al.. [69] reportent des valeurs du produit kD_m en mesurant le taux de perméation de chromophores fluorescents de masses molaires variées à travers un hydrogel de PEGDA-700. Leurs données expérimentales, inscrites sur la Figure 3.19, soulignent une dépendance en loi de puissance de kD_m avec M, telle que

$$kD_m \sim M^{-\alpha} \tag{3.41}$$

avec $\alpha \simeq 2.3$. Ainsi, ils ont estimé un seuil de coupure de la membrane de l'ordre de quelques $\mathrm{kg\,mol^{-1}}$ dans leur configuration microfluidique (un canal de $150\,\mu\mathrm{m}$ de largeur contenant une membrane de $25\,\mu\mathrm{m}$ d'épaisseur). Le résultat de notre mesure de kD_m du bleu de méthylène est également présente sur la Figure 3.19, et est en accord avec les mesures précédemment obtenues par Nguyen et al.. [69]. En particulier, ils reportent $kD_m \simeq 1.2 \times 10^{-11}\,\mathrm{m^2\,s^{-1}}$ dans le cas d'une solution de fluorescéine, dont

TABLE 3.1 – Liste des paramètres des agents osmotiques étudiés.

Paramètre	Unité	NaCl	Saccharose	PEG-400	PEG-1000
M	$\mathrm{g\,mol^{-1}}$	58	342	400	1000
C_0	$\mathrm{mol\,L^{-1}}$	1	0.148	0.253	0.071
η	mPa s	1	1.26 [97]	1.36 [98]	5.2 [99]
$D \times 10^{10}$	$\mathrm{m^2\,s^{-1}}$	18.5 [100]	4.9 [52]	4.8 [101]	3.2 [101]
Π_0	bar	24.5	3.6	6.2	1.8
δP	mbar	50	100	100	100
$\dot{\gamma} \times 10^{-3}$	$\mathrm{s^{-1}}$	2.5	4	3.6	0.9
δ	µm	22	12	12	19
β'		0.02	0.01	0.02	0.01
Pe_m		0.63	0.97	2.53	28.06
$\mathcal{R}$		0.44	0.12	0.13	0.005
$\sigma \mathrm{Pe}_m \mathcal{R}$		0.09	0.09	0.26	0.14
σ		0.33	0.81	0.79	0.98
$\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$	$\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$	83	66	94	94
$\mathcal{L}_D$	$\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$	3.15	0.25	0.23	0.006
w_{m}	µm	31	32	30	30
$\kappa \times 10^{20}$	$\mathrm{m^2}$	2.46	2.04	2.70	2.70
$kD_{\mathrm{m}} \times 10^{12}$	$\mathrm{m^2\,s^{-1}}$	97.5	8.07	6.88	0.18

la masse molaire ($332\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) est proche du bleu de méthylène. La perméabilité au soluté $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ estimée par les ajustements selon l'éqn. (3.40) pour NaCl, sucrose, PEG-400, et PEG-1000 donne également une estimation de la diffusivité des solutés dans la membrane kD_{m} selon l'éqn. (3.20). Ces valeurs sont reportées sur la Figure 3.19 et sont cohérentes avec les mesures indépendantes de perméation sans osmose de Nguyen *et al.* [69], et avec le bleu de méthylène, ce qui confirme la pertinence du modèle pour estimer σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$, dans le régime dilué.

Toutefois, notre approche ne nous permet pas de conclure clairement sur la corrélation entre σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$. Dans la littérature, le cas $\sigma = 1$ décrit une membrane semi-perméable idéale, ce qui implique que le flux de soluté est nul à travers la membrane, soit $\mathcal{L}_{\mathrm{D}} = 0$ [10, 25]. Or, d'après les résultats de Nguyen *et al.*, les hydrogels sont perméables à des solutés de masse molaire supérieure à $1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. Dans ces cas, nous estimons dans notre configuration que les temps caractéristiques de la diffusion à travers l'hydrogel sont de l'ordre de plusieurs jours lorsque $M \simeq 4\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$ (ce qui explique que nous ne voyons pas la vitesse diminuer dans notre expérience avec le PEG-4000 dans la Section 3.3.3), et plusieurs mois lorsque $M \simeq 10\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. Pour autant, les coefficients de réflexion associés ne peuvent pas dépasser l'unité, atteinte aux alentours de $M \simeq 1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. Ces résultats invitent donc à discuter du lien entre σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ dans les modèles usuels de membranes nanoporeuses [10, 23-25].

3.6 Conclusions

Dans ce chapitre, nous nous sommes consacrés à la caractérisation des propriétés de perméabilité de membranes en hydrogels de PEGDA, photo-réticulées dans nos puces

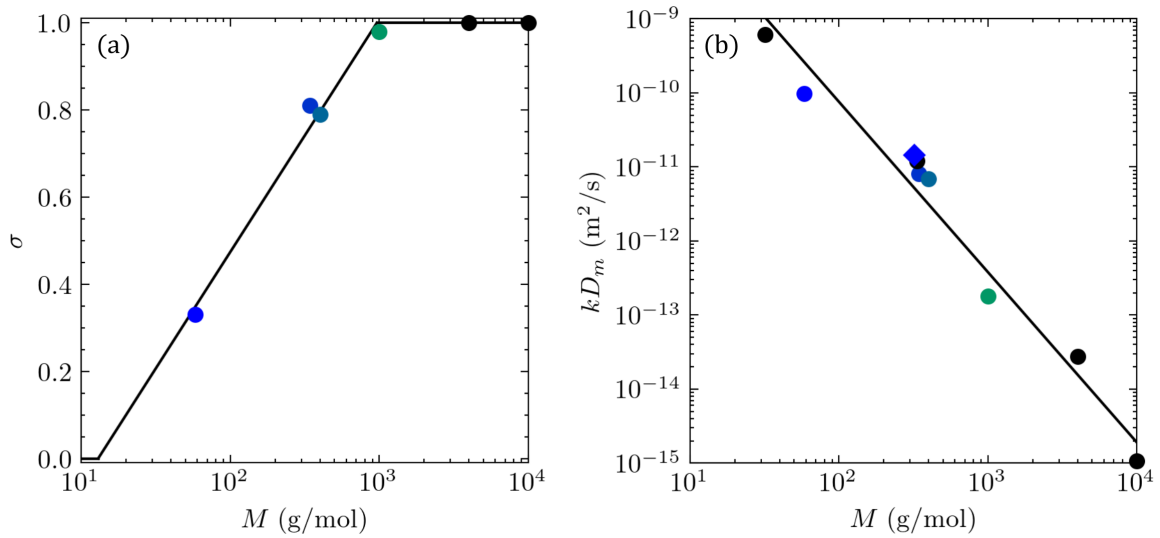


FIGURE 3.19 – (a) Tracé du coefficient de réflexion σ en fonction de la masse molaire. La ligne noire est un guide visuel illustrant le seuil de coupure de la membrane de $\simeq 1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$. (b) Tracé de la perméabilité au soluté kD_m en fonction de sa masse molaire M. Les perméations mesurées sans convection sont représentées par les points noirs (Nguyen *et al.* [69]) et le losange bleu (bleu de méthylène) respectivement. Les perméations mesurées en présence de flux osmotiques transitoires avec NaCl, saccharose, PEG-700 et PEG-1000 sont représentées en suivant le code couleur établi précédemment. La droite noire est un guide visuel illustrant l'éqn. (3.41) avec $\alpha \simeq 2.3$.

microfluidiques. Nous avons tout d'abord développé une configuration microfluidique nous permettant de mesurer la perméabilité hydraulique des hydrogels. Cette même configuration a ensuite été exploitée pour mesurer des flux osmotiques générés par des solutés aux masses molaires variées. Nous avons notamment montré que les flux générés par des solutés de masse molaire supérieure au seuil de coupure de la membrane ($M >$ MWCO) sont stables, ce qui nous a permis de déterminer les équations d'état de la pression osmotique de solutés tels que le PEG-4000 et le dextran T-10 ($M = 10\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$). Nous avons ensuite étudié la perméation de solutés à travers la membrane dans le régime dilué, lorsque $M <$ MWCO, se traduisant par des flux osmotiques transitoires. Dans ce contexte, nous avons développé un modèle théorique nous permettant de déterminer simultanément les coefficients de réflexion σ et de perméation $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ d'un soluté dans l'hydrogel à partir de la dynamique de relaxation des flux osmotiques dans un canal microfluidique. Nous avons étudié la gamme de validité de ce modèle, qui dépend à la fois de la géométrie de la puce, des propriétés de perméabilité de l'hydrogel, de la concentration du soluté employé et de son coefficient de diffusion. Nos résultats soulignent une forte dépendance de σ et $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ avec la masse molaire des solutés. Toutefois, nous notons que les hydrogels sont perméables même au delà du seuil de coupure lorsque $\sigma = 1$, avec des temps caractéristiques de diffusion trans-membranaire très élevés (supérieurs à plusieurs jours).

Si le canal CD pouvait être complètement fermé ($J_v = 0$), la perméation du soluté à travers la membrane se traduirait par une relaxation de la pression hydrostatique P dans le canal, en suivant la même dynamique que celle de V_i en fonction de t. Cette configuration pourrait alors être utilisée pour mesurer $\mathcal{L}_D$ et σ par une unique mesure

de P en fonction de t dans le canal. Dans un autre contexte, nous pourrions envisager de compléter le modèle afin de décrire la dynamique de relaxation simultanée de deux solutés, avec des temps de relaxation fondamentalement différents (et donc facilement identifiables) dans un premier temps. Pour aller plus loin, il serait pertinent de mesurer le coefficient de partition k des solutés dans la membrane et les paramètres de poro-élasticité des hydrogels, et de relier les variations de σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ à ces paramètres en utilisant des modèles de transport établis dans les hydrogels [21].

Dans le prochain chapitre, nous allons présenter des expériences similaires dans lesquelles nous avons augmenté la concentration des solutés. Ces expériences sont motivées par la volonté de se rapprocher du régime de concentration de la sève brute dans le phloème mais également de tester la validité des équations de Kedem et Katchalsky dans ce régime.

Chapitre 4

Écoulements osmotiques en régime concentré

Contents

4.1 Vers une nouvelle configuration en régime stationnaire . . 92
4.1.1 Principe de l'expérience 92
4.1.2 Première approche : utilisation d'une puce en PDMS 94
4.1.3 Seconde approche : intégration d'une nouvelle membrane . . . 98
4.2 Dosage de la concentration en soluté par spectroscopie Raman 102
4.2.1 Spectroscopie Raman 102
4.2.2 Montage optique et calibrage 103
4.3 Mesure du champ de concentration en saccharose 106
4.3.1 Alignement de la puce avec le laser 106
4.3.2 Mesure de profils de concentration en saccharose 108
4.4 Modélisation des profils de concentration 111
4.4.1 Kedem-Katchalsky 112
4.4.2 Kedem-Spiegler 115
4.5 Variation des paramètres de transport avec la concentration 119
4.5.1 Mesure d'écoulements osmotiques transitoires 119
4.5.2 Modèle perturbatif 122
4.6 Conclusions 124

Nous nous sommes jusqu'à présent exclusivement intéressés au transport osmotique en régime dilué. Or, dans le phloème des plantes, le transport des sucres s'effectue à des concentrations nettement plus élevées, typiquement de l'ordre de $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ pour le saccharose [1, 4, 12]. Dans ce chapitre, nous abordons donc le transport osmotique en régime concentré à travers une membrane, dans une configuration microfluidique conçue pour atteindre un état stationnaire. Contrairement au régime transitoire étudié précédemment, cette approche nous permet de mesurer des profils de concentration indépendants du temps le long du canal, ce qui constitue un cadre particulièrement idéal à l'étude locale du transport. Pour ce faire, nous développons un dispositif nous permettant de contrôler finement les écoulements dans la puce, et mesurons directement les profils de concentration en soluté par spectroscopie Raman. Les résultats obtenus sont ensuite confrontés à différents modèles de transport, dans le but d'évaluer leur validité en régime concentré et d'en identifier les limites. Ce chapitre met ainsi en évidence les spécificités du transport osmotique hors du régime dilué et constitue un premier pas vers une description plus générale du transport à travers des membranes.

4.1 Vers une nouvelle configuration en régime stationnaire

4.1.1 Principe de l'expérience

Nous avons réalisé l'expérience schématisée sur la Figure 4.1. La configuration est quasiment identique à l'expérience en régime transitoire (voir Fig. 3.16). Le canal AB est constamment alimenté par un écoulement de saccharose de concentration C_0 en imposant une différence de pression $\delta P = P_\mathrm{A} - P_\mathrm{B} = 100\,\mathrm{mbar}$. Il joue le rôle de réservoir infini de soluté. Le compartiment CD, initialement rempli d'eau, est quant à lui constamment alimenté en entrée C par un écoulement d'eau de vitesse V_i, et la sortie D reste ouverte à pression atmosphérique. D'une part, la différence de concentration de part et d'autre de la membrane génère une différence de pression osmotique et donc un flux J_v du canal CD vers le réservoir AB. Cependant, comme nous l'avons précédemment montré en Section 3.4.2, la membrane est également perméable au saccharose, dont la masse molaire ($M = 342\,\mathrm{g\,mol^{-1}}$) est inférieure au seuil de coupure. Cette perméabilité se traduit par un flux de soluté J_s à travers la membrane. Bien que cette configuration soit initialement transitoire, elle évolue vers un régime stationnaire car l'écoulement d'eau imposé dans le canal CD et l'ouverture de la sortie D permettent une évacuation continue du soluté, tandis que son approvisionnement est assuré par l'écoulement dans le réservoir AB. On observe donc l'établissement de profils stationnaires de concentration et de vitesse.

La forme des profils dépend de la dynamique de perméation du soluté à travers la membrane et de l'advection dans le canal (de vitesse caractéristique $\mathcal{V}$). Considérons tout d'abord le cas idéal où $\sigma = 1$ (soit $J_s = 0$), pour lequel l'état stationnaire est caractérisé par un profil de vitesse uniquement. La conservation du débit est exprimée selon

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = -J_v\,, \tag{4.1}$$

avec $J_v = \mathcal{L}_\mathrm{hyd}\Pi(C_0)$. L'intégration de cette expression entre $x = 0$ et x nous donne le

profil de vitesse dans le canal :

$$V(x) = V_i - \frac{1}{w}\mathcal{L}_{\text{hyd}}\Pi(C_0)x = V_i - V_0\frac{x}{L}\,, \tag{4.2}$$

avec $V_i = V(x=0)$ la vitesse d'entrée. Nous voyons donc que la vitesse de l'écoulement décroît linéairement le long du canal. L'advection y est pilotée par la vitesse V_i que nous imposons à l'entrée et par la vitesse caractéristique $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\text{hyd}}\Pi(C_0)$, caractéristique du flux osmotique généré par le soluté dans le réservoir (intégré sur toute la longueur). Lorsque $V_i \gg V_0$, le profil de vitesse n'est pas perturbé par le flux osmotique et est donc quasi-constant. Lorsque $V_i \ll V_0$ cependant, on observe en théorie un point de stagnation dans le canal où la vitesse est nulle (et de l'eau serait pompée depuis la sortie D). Pour étudier le transport dans cette configuration, nous cherchons donc un régime intermédiaire pour lequel $V_i \sim V_0$.

Nous considérons à présent le système complet avec le flux de perméation du soluté. Dans ce cas, l'état stationnaire admet également un profil de concentration. Si le temps d'advection $L/\mathcal{V}$ d'une molécule de soluté le long du canal est négligeable devant le temps de remplissage du canal $w/\mathcal{L}_{\text{D}}$ par diffusion du soluté à travers la membrane, autrement dit si $(w\mathcal{V})/(L\mathcal{L}_{\text{D}}) \gg 1$, alors la concentration dans le canal CD sera faible, et le gradient selon la longueur sera nul. Dans le régime inverse $(w\mathcal{V})/(L\mathcal{L}_{\text{D}}) \ll 1$, la concentration en soluté est également constante, mais proche de C_0. Pour étudier le transport à travers la membrane, nous cherchons un régime intermédiaire où le profil de concentration admet un gradient longitudinal $(w\mathcal{V})/(L\mathcal{L}_{\text{D}}) \sim 1$. En utilisant les paramètres de notre configuration, $L = 1.5\,\text{cm}$, $w = 250\,\mu\text{m}$ et $\mathcal{L}_{\text{D}} \simeq 0.25\,\mu\text{m}\,\text{s}^{-1}$, nous obtenons $\mathcal{V} \sim 15\,\mu\text{m}\,\text{s}^{-1}$.

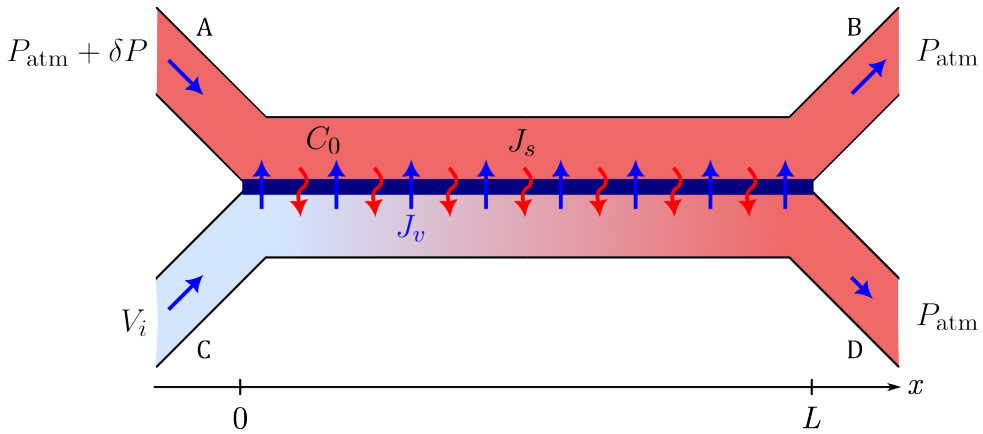


FIGURE 4.1 – Principe de la caractérisation du transport osmotique en régime stationnaire à travers une membrane perméable au soluté.

En considérant une solution de saccharose de concentration $C_0 \simeq 1\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$, correspondant à une pression osmotique $\Pi \simeq 35\,\text{bar}$ (d'après [11]), et en prenant $\mathcal{L}_{\text{hyd}} \simeq 70\,\text{nm}\,\text{s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$, on a $V_0 \sim 150\,\mu\text{m}\,\text{s}^{-1}$, ce qui correspond à un débit de l'ordre de $100\,\text{nL/min}$ pour un canal de hauteur $h \simeq 60\,\mu\text{m}$. Compte tenu de la résistance hydraulique du canal, estimée selon l'éqn. (3.2) à $\mathcal{R}_{\text{c}} \simeq 2\,\text{mbar}\,\text{min}/\mu\text{L}$ (page 65), ce débit est atteint pour une différence de pression d'environ $10\,\text{Pa}$ entre l'entrée et la sortie. De telles pertes de charge sont difficilement accessibles avec les dispositifs expérimentaux disponibles. Notre stratégie consiste donc à introduire une résistance hydraulique

importante en amont du canal d'entrée. Cette approche permet de travailler avec des pressions imposées dans une gamme compatible avec les contrôleurs (de l'ordre du bar), tout en maintenant un faible débit dans le canal CD. Dans ce contexte, nous avons développé deux approches : l'utilisation d'un canal en PDMS aux dimensions adaptées, et l'intégration d'un (second) hydrogel, directement au sein de la même puce, dont la perméabilité hydraulique est ajustée par la formulation et les conditions de réticulation.

4.1.2 Première approche : utilisation d'une puce en PDMS

Nous avons dans un premier temps utilisé une puce en polydiméthylsiloxane (PDMS) connectée en amont du dispositif principal. La géométrie de cette puce est choisie spécifiquement pour générer des pertes de charge importantes : l'idée est d'imposer un écoulement à travers un canal microfluidique de grande longueur et de faible section. En ajustant les longueur, largeur et hauteur du canal, il est donc possible de fixer la résistance hydraulique à une valeur cible, de sorte que la majeure partie de la perte de charge imposée par le contrôleur de pression se produise dans cette puce, et non dans le canal CD. Pour s'en assurer, la résistance hydraulique de cette puce $\mathcal{R}_{\mathrm{pdms}}$ doit être fortement supérieure à la résistance du canal $\mathcal{R}_{\mathrm{c}}$.

4.1.2.1 Conception et fabrication de la puce

Dans notre configuration, nous cherchons à imposer un débit de l'ordre de 100 nL/min à partir d'une perte de charge inférieure à 1 bar, ce qui équivaut à une résistance hydraulique de l'ordre de $\mathcal{R}_{\mathrm{pdms}} \sim 8\,\mathrm{bar\,min/\mu L}$ selon l'éqn. (1.14). Compte tenu de la résistance hydraulique du canal ($\mathcal{R}_{\mathrm{c}} \simeq 2\,\mathrm{mbar\,min/\mu L}$), nous avons $\mathcal{R}_{\mathrm{pdms}} \gg \mathcal{R}_{\mathrm{c}}$. Dans ces conditions, la quasi-totalité de la perte de charge s'effectue dans la puce en PDMS. La puce en PDMS est composée d'un canal de section constante $h \times w$. Afin d'explorer différentes gammes de débits, nous avons conçu trois configurations en faisant varier la longueur L du canal. La Figure 4.2 illustre ces configurations de largeur $w = 50\,\mu\mathrm{m}$, et de longueur comprise entre 45 et 69 mm. Celle-ci est augmentée en repliant les motifs sous forme de serpentins afin de ne pas excéder la surface de la future lame de verre qui servira de support pour la puce.

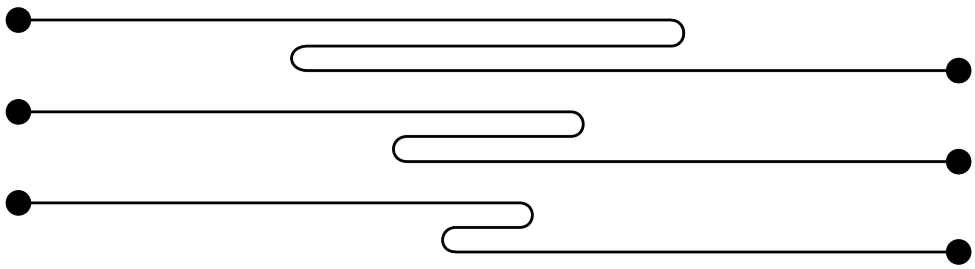


FIGURE 4.2 – Motifs des canaux microfluidiques de largeur $w = 50\,\mu\mathrm{m}$ et avec $L = 69$, 53 et 45 mm (du haut vers le bas).

La fabrication des puces repose sur des techniques standards de lithographie douce. Nous avons donc appliqué la méthodologie décrite dans le Chapitre 2 et des puces des canaux de hauteur $h \simeq 9\,\mu\mathrm{m}$, mesurée par profilométrie optique. La Figure 4.3a illustre un exemple de puce obtenue dans laquelle on distingue les trois configurations. Compte tenu de la section des canaux, une attention particulière est portée à la manipulation

et la conservation des puces, pour éviter l'infiltration de poussières qui peuvent gêner les écoulements. Les puces sont donc conservées dans des boîtes de pétri et leurs entrée et sortie sont bouchées en collant une bande adhésive sur la surface.

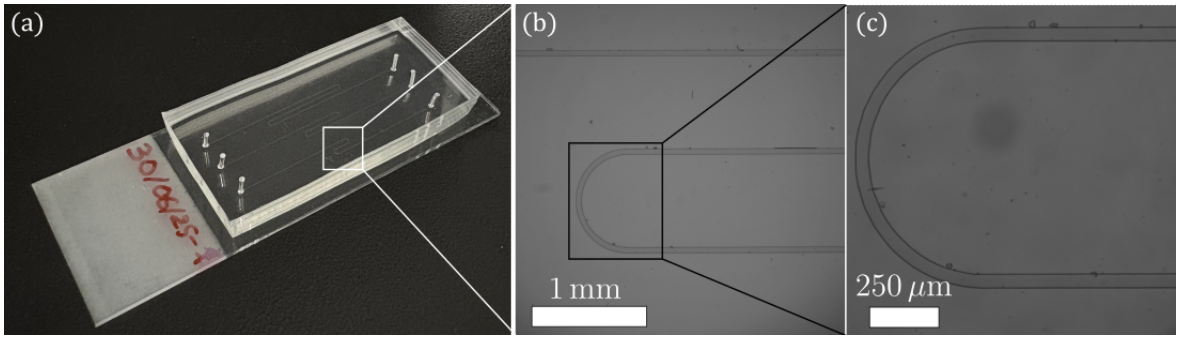


FIGURE 4.3 – (a) Photographie d'une puce en PDMS contenant les trois configurations. (b-c) Images en champ clair d'un canal microfluidique.

4.1.2.2 Caractérisation de la résistance hydraulique

Afin de valider le rôle de la puce en PDMS en tant que résistance hydraulique dominante, nous avons caractérisé sa réponse débit–pression, l'objectif étant de vérifier que le débit imposé est bien contrôlé par la résistance $\mathcal{R}_{\text{pdms}}$. Pour ce faire, nous avons réalisé l'expérience illustrée sur la Figure 4.4. L'entrée de la puce PDMS est connectée à un réservoir d'eau par un tube en PTFE (diamètre interne 380 µm). Un second tube du même type, d'environ 20 cm de long, est connecté en sortie de puce et laissé ouvert à pression atmosphérique. Ce dernier est fixé dans les encoches d'un porte objet, positionné sous une loupe binoculaire (Olympus SZX16, objectif 1.6XPF), nous permettant d'observer l'écoulement dans le tube en configuration planaire. Ces mesures ont fait l'objet du stage de M2 de Benjamin Fournié, que j'ai co-encadré pendant 5 mois.

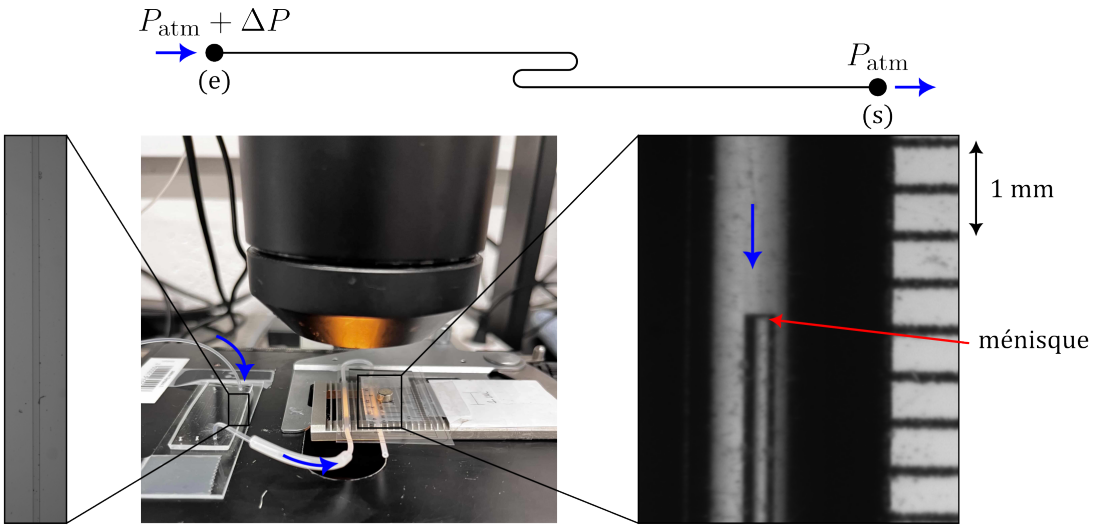


FIGURE 4.4 – Montage de la caractérisation de la résistance hydraulique.

Une pression $P_{\text{atm}} + \Delta P$ est imposée dans le réservoir d'eau en entrée de la puce (Fluigent MFCS-EZ) tout en maintenant la sortie à pression atmosphérique, ce qui

induit un débit Q dans le système. Pour mesurer ce débit, nous observons l'avancée du ménisque eau/air le long du tube en sortie de la puce. La distance parcourue est calculée à l'aide d'une mire positionnée à côté du tube, dont les graduations sont visibles sur les images, ce qui nous permet de déduire la vitesse du ménisque V. Le débit est ensuite calculé selon $Q = V\pi r_{\text{tube}}^2$, avec $r_{\text{tube}} = 190\,\mu\text{m}$ le rayon interne du tube. Dans le cadre d'un écoulement de Hagen-Poiseuille, la perte de charge est exprimée selon

$$\Delta P = \mathcal{R}_{\text{H}} Q\,, \tag{4.3}$$

où $\mathcal{R}_{\text{H}}$ est la résistance hydraulique totale du système. Ce dernier se compose de trois résistances connectées en séries : nous distinguons les deux tubes, connectés en entrée et en sortie de puce respectivement, et le canal microfluidique. La résistance hydraulique totale est exprimée comme la somme de chaque résistance individuelle, soit

$$\mathcal{R}_{\text{H}} = \mathcal{R}_{\text{tube}} + \mathcal{R}_{\text{pdms}} \tag{4.4}$$

où $\mathcal{R}_{\text{pdms}}$ et $\mathcal{R}_{\text{tube}}$ sont les contributions du canal et des tubes respectivement. En outre, nous avons

$$\mathcal{R}_{\text{tube}} = \frac{8\eta\ell}{\pi r_{\text{tube}}^4}\,, \tag{4.5}$$

où ℓ est la longueur des tubes d'entrée et de sortie mis bout-à-bout. En prenant $\ell \simeq 30\,\text{cm}$, nous obtenons $\mathcal{R}_{\text{tube}} \simeq 0.1\,\text{mbar min}/\mu\text{L}$, qui est négligeable devant la résistance totale du système. Celle-ci est donc essentiellement donnée par $\mathcal{R}_{\text{pdms}}$, qui s'exprime selon

$$\mathcal{R}_{\text{pdms}} \simeq \frac{12\eta L}{wh^3(1 - 0.63\frac{h}{w})} \tag{4.6}$$

dans le cas d'un canal de section rectangulaire où $h \ll w$. Pour caractériser $\mathcal{R}_{\text{pdms}}$, nous avons donc mesuré le débit en augmentant progressivement la pression à l'entrée du canal, dans chaque configuration.

La Figure 4.5 illustre les tracés du débit mesuré en fonction de la perte de charge dans la configuration $L = 45\,\text{mm}$. Ce dernier a essentiellement été mesuré dans une gamme de pression se situant entre 0 et 500 mbar, mais un des ensemble de données comprend des mesures à 700 et 900 mbar. Nous observons une augmentation du débit de $Q \simeq 35\,\text{nL/min}$ lorsque $\Delta P = 100\,\text{mbar}$ à environ 450 nL/min lorsque $\Delta P = 900\,\text{mbar}$. On remarque que les données dévient du caractère linéaire de l'équation de Hagen-Poiseuille, représentée par la droite noire, où $\mathcal{R}_{\text{pdms}} \simeq 2.78\,\text{bar min}/\mu\text{L}$ est calculée selon l'éqn. (4.6) avec $\eta = 1\,\text{mPa s}$. Nous attribuons cette déviation à une déformation du PDMS sous l'effet de la pression. Lorsque $\Delta P > 250\,\text{mbar}$, la déformation du PDMS se traduit par une augmentation de la hauteur du canal, ce qui implique une diminution de la résistance hydraulique. Par conséquent, le débit mesuré est plus élevé et on observe une sur-linéarité. Pour tenir compte de ce phénomène, nous nous sommes inspirés des travaux de Wang *et al.* [102], qui reportent une expression reliant le débit à la perte de charge dans un canal déformable. Sous l'effet d'une déformation, le débit est exprimé selon

$$Q = \frac{\Delta P}{\mathcal{R}^0_{\text{pdms}}}\left(1 + S_1\left(\frac{w}{\overline{E}h_0}\right)\Delta P + S_2\left(\frac{w}{\overline{E}h_0}\right)^2\Delta P^2 + S_3\left(\frac{w}{\overline{E}h_0}\right)^3\Delta P^3\right) \tag{4.7}$$

où S_1, S_2 et S_3 sont des constantes sans unité, et $\overline{E} = E/(1-\nu^2)$ avec E le module d'Young (en Pa) et $\nu \simeq 0.499$ le coefficient de Poisson du PDMS [102]. Les termes h_0

et $\mathcal{R}^0_{\text{pdms}}$ représentent la hauteur et la résistance hydraulique du canal respectivement, lorsque ce dernier ne subit pas de déformation. Dans ce régime ($\Delta P < 250\,\text{mbar}$), la résistance hydraulique peut alors être estimée via un ajustement selon l'éqn. (4.3), ce qui permet en outre de calculer h_0. D'après nos données, nous obtenons une résistance $\mathcal{R}^0_{\text{pdms}}$ qui diffère de moins de 1% de l'estimation par l'éqn. (4.6). Ainsi, la hauteur des motifs mesurée au profilomètre est cohérente avec $h_0 = 9\,\mu\text{m}$. En effectuant un ajustement selon l'éqn. (4.7), représenté par la courbe bleue sur la Figure 4.5, nous estimons le module d'Young du PDMS à $E \simeq 1\,\text{MPa}$, qui est cohérent avec l'ordre de grandeur reporté dans la littérature [102]. Notons que les déformations subies par le PDMS ne représentent qu'une variation d'environ $0.5\,\mu\text{m}$ sur la hauteur du canal lorsque $\delta P \simeq 1\,\text{bar}$. Cela dit, la hauteur du canal est de l'ordre de $10\,\mu\text{m}$, donc cette variation entraîne une diminution significative de la résistance hydraulique du canal.

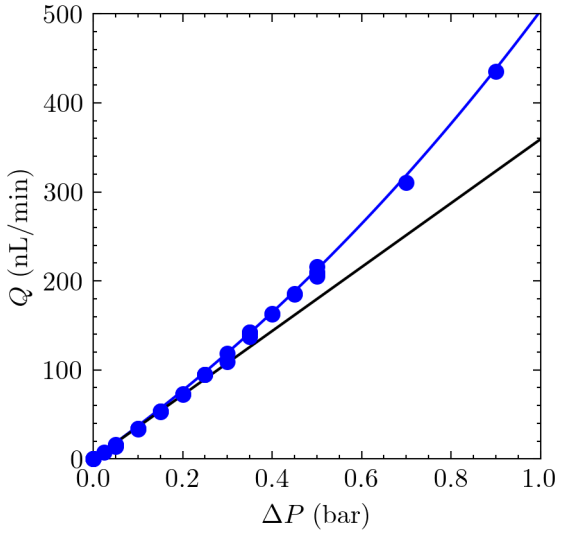


FIGURE 4.5 – Caractérisation de la résistance hydraulique de plusieurs puces en PDMS de la configuration de longueur $L = 45\,\text{mm}$. Tracé du débit Q en fonction de la perte de charge imposée ΔP. Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.7) avec $E \simeq 1\,\text{MPa}$ (courbe bleue). La droite noire est un tracé selon l'éqn. (4.3) avec $\mathcal{R}_{\text{H}} \simeq 2.78\,\text{bar min}/\mu\text{L}$.

Nous avons également caractérisé la réponse débit-pression dans les autres configurations où $L = 53$ et $69\,\text{mm}$. La Figure 4.6 illustre les tracés du débit en fonction de la pression dans une puce contenant ces trois configurations. Comme précédemment, nous reportons une déviation de l'éqn. (4.3) lorsque $\Delta P > 250\,\text{mbar}$. Ainsi, lorsque la déformation est faible, nous estimons la résistance hydraulique à $\mathcal{R}_{\text{H}} \simeq 2.27$, 2.93 et $4.27\,\text{bar min}/\mu\text{L}$, soit une hauteur $h \simeq 9.66$, 9.36 et $9\,\mu\text{m}$ respectivement. Notons que cette puce a été fabriquée en utilisant un autre moule que celui qui a servi pour les résultats précédemment discutés, ce qui explique que la hauteur est légèrement différente.

L'intégration de cette puce en amont du dispositif principal en PEGDA permet ainsi d'imposer un débit de l'ordre de $100\,\text{nL/min}$ en concentrant l'essentiel de la perte de charge dans la résistance ($\mathcal{R}_{\text{pdms}} \gg \mathcal{R}_{\text{c}}$). Cette configuration maintient ainsi une pression quasi-homogène dans le canal en PEGDA, égale à la pression atmosphérique. Comme nous le verrons en Section 4.3.2, cette approche a notamment permis de mesu-

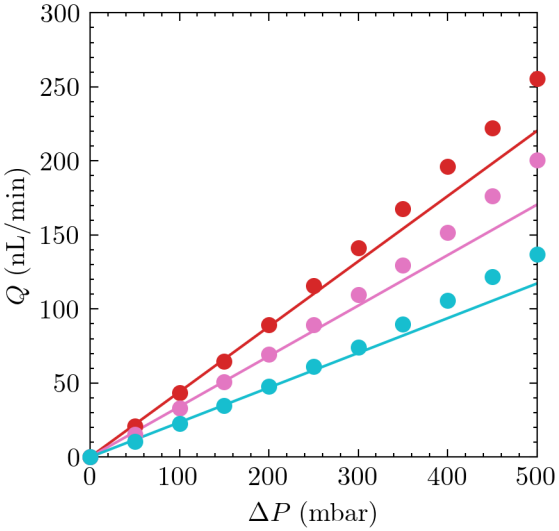


FIGURE 4.6 – Caractérisation de la résistance hydraulique de puces en PDMS. Tracé du débit Q en fonction de la perte de charge imposée ΔP lorsque $L = 45\,\text{mm}$ (magenta), 53 mm (rouge) et 69 mm (bleu). Les points sont ajustés selon l'éqn. (4.3) dans la gamme (0-250) mbar avec $\mathcal{R}_\text{H} \simeq 2.27$, 2.93 et 4.27 bar min/µL.

rer des profils de concentration stationnaires (voir Fig. 4.18b). L'utilisation de la puce en PDMS présente toutefois plusieurs limites. D'une part, la faible section des canaux rend la résistance hydraulique sensible à l'infiltration de poussières, et la déformation du PDMS sous pression induit une diminution de $\mathcal{R}_\text{pdms}$ aux fortes pertes de charge, ce qui complique la maîtrise fine du débit. D'autre part, et surtout, l'assemblage en série de plusieurs puces multiplie les connexions et donc les sources d'instabilités. En pratique, lors de tentatives de mesure de la vitesse d'écoulement par PTV (voir Section 3.2.2), nous avons observé des oscillations dans l'écoulement dans le canal, traduites par des mouvements brusques en va-et-vient des particules. En outre, ces oscillations sont corrélées aux fluctuations mécaniques du tube reliant la puce PDMS à la puce en PEGDA. Malgré nos efforts pour les minimiser, ces fluctuations semblent inévitables. Pour ces raisons, nous avons donc privilégié une seconde approche, qui consiste à intégrer directement une membrane au sein de la puce en PEGDA, ce qui simplifie le montage expérimental en supprimant l'assemblage de plusieurs puces et en réduisant fortement le nombre de connexions fluidiques.

4.1.3 Seconde approche : intégration d'une nouvelle membrane

Dans cette nouvelle approche, la résistance hydraulique est apportée par une membrane, plus précisément un hydrogel de PEGDA *macro-poreux* [103], que l'on intègre dans l'entrée du canal CD. Le principe est essentiellement le même qu'avec la puce en PDMS : la perte de charge est concentrée à travers cette membrane, ce qui nous permet d'imposer un débit d'écoulement de l'ordre de 100 nL/min tout en maintenant le canal CD à pression atmosphérique. L'écoulement d'eau à travers la membrane est décrit par la loi de Darcy selon l'éqn. (1.15) (voir page 23), qui relie le flux de volume à la perte de charge imposée via la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_\text{p}$. Compte tenu des outils à notre disposition, nous nous sommes naturellement tournés vers l'intégration d'un hydrogel de PEGDA par photo-réticulation. La formulation et les conditions de

réticulation sont donc choisies afin d'ajuster la perméabilité hydraulique, de façon à ce que la perte de charge soit localisée dans l'hydrogel et non dans le canal. Pour s'en assurer, la résistance hydraulique de l'hydrogel, exprimée selon $1/(\mathcal{L}_\mathrm{p}\mathcal{S})$ ($\mathcal{S}$ étant la section $h \times w$ du canal), doit être fortement supérieure à la résistance du canal $\mathcal{R}_\mathrm{c}$.

4.1.3.1 Formulation et conditions de photo-réticulation

L'objectif est d'imposer une vitesse d'entrée dans le canal de l'ordre de $150\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ à partir d'une perte de charge de l'ordre de 1 bar, ce qui correspond selon la loi de Darcy à $\mathcal{L}_\mathrm{p} \simeq 150\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$. Nous avons donc écarté la formulation utilisée la membrane le long du canal dont la perméabilité hydraulique est nettement plus faible ($\mathcal{L}_\mathrm{hyd} \simeq 70\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$), au profit d'une autre formulation donnant lieu à des hydrogels plus perméables, issue de travaux antérieurs réalisés au LOF [67, 71]. Celle-ci contient du PEGDA-700, de la 2-HMP (photoinitiateur), de l'eau et du PEG-1000. Ne possédant pas de fonctions acrylates, le PEG-1000 ne réticule pas avec le reste du réseau de l'hydrogel et forme des pores nanométriques de l'ordre de 10 nm [104], ce qui augmente significativement la perméabilité de l'hydrogel. Notons que le mécanisme exact à l'origine de la porosité reste discuté dans la littérature : certaines études l'attribuent au rinçage des PEG non réticulés, laissant des pores dans le réseau hydrogel [103], tandis que d'autres suggèrent que les PEG restent piégés dans le réseau, mais entraînent une réticulation moins homogène présentant des défauts [104]. Le PEGDA-700 et la 2-HMP sont tout d'abord mélangés en ratio volumique 90/10%. Cette pré-solution est ensuite mélangée avec de l'eau et du PEG-1000 suivant une fraction volumique de $\varphi_w = 50\%$, $\varphi_\mathrm{PEGDA+HMP} = 25\%$ et $\varphi_\mathrm{PEG-1000} = 25\%$. Le volume total d'une solution est typiquement de 4 mL, correspondant à environ 2 mL d'eau, 1 mL de pré-solution (PEGDA-700/2-HMP) et 1 mL de PEG-1000. Notons que le PEG-1000 est solide à température ambiante. Nous avons donc pris l'habitude de le chauffer dans une étuve à 65 °C avant de le manipuler. Il en est de même des embouts de pipette servant à son dosage, qui sont chauffés pour éviter la solidification à l'intérieur.

Nous respectons toujours le même ordre pour l'intégration de chaque hydrogel dans la puce. Dans un premier temps, nous réalisons la photo-réticulation de l'hydrogel le long du canal (formulation sans le PEG-1000) en suivant la méthodologie détaillée dans la Section 2.2. Suite à l'étape de nettoyage des canaux avec l'eau, nous injectons ensuite la nouvelle formulation (PEG-1000) dans le canal CD, puis procédons à la seconde photo-réticulation en suivant les même étapes. Comme l'illustre la Figure 4.7a, le motif projeté est un rectangle de section $400 \times 45\,\mu\mathrm{m}^2$. Notons que la dose d'énergie employée est ici légèrement supérieure au premier hydrogel, avec $E = 30\,\mathrm{mJ\,mm^{-2}}$. Notons que la position du motif sur la Figure 4.7a ne représente pas sa vraie position. En effet, l'hydrogel est préférentiellement positionné proche de la connectique d'entrée, afin de faciliter l'étape de lavage qui est dans ce cas plus subtile. Les puces sont ici munies de connectiques type PDMS qui permettent de réduire les volumes morts dans les entrées et sorties (voir la Section 2.1.5 page 52). Ainsi, une fois la formulation photo-réticulée, nous nettoyons localement la connectique d'entrée avec de l'eau à l'aide d'un embout fin (calibre 27, diamètre 0.4 mm). Nous connectons ensuite un tube et imposons un écoulement d'eau (par une pression) à travers la membrane pour nettoyer le reste du canal (Fig. 4.7b). En outre, la différence de pression osmotique avec la membrane le long du canal génère un flux de volume qui aide au nettoyage de la solution non-réticulée qui dure environ 30 min.

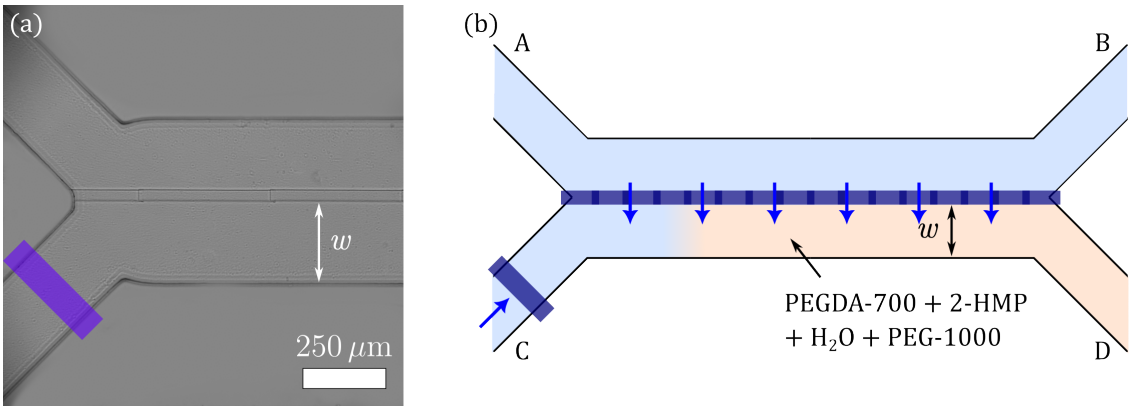


FIGURE 4.7 – Photo-réticulation d'un hydrogel poreux. (a) Image en champ clair du canal microfluidique dans lequel nous avons positionné le motif à polymériser en guise d'exemple. (b) Vue schématique de l'étape de lavage du canal et de l'hydrogel après la photo-réticulation.

4.1.3.2 Caractérisation de la perméabilité

Compte tenu de la variabilité de la perméabilité hydraulique des hydrogels photo-réticulés (voir Section 3.2), nous caractérisons systématiquement chaque hydrogel intégré dans la puce. Pour ce faire, nous appliquons la méthodologie illustrée sur la Figure 4.8. La puce est entièrement remplie d'eau, et le canal AB est laissé ouvert et à pression atmosphérique. Un écoulement d'eau est induit à travers la membrane *macro-poreuse* en imposant $P_C = P_{atm} + \Delta P$ et $P_D = P_{atm}$ respectivement. L'expérience consiste alors à mesurer le flux volumique, décrit par la loi de Darcy selon

$$J_v = \mathcal{L}_p \Delta P \,, \tag{4.8}$$

où $\mathcal{L}_p$ est la perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse*. Des particules fluorescentes (inVitrogen fluosphères, diamètre 1 µm) sont dispersées dans le réservoir connecté à l'entrée C. Celles-ci sont transportées par l'écoulement, mais sont arrêtées par la membrane qui leur est entièrement imperméable. Le flux volumique est donc mesuré en amont de la membrane par PTV (voir Section 3.2.2).

La Figure 4.9 illustre un exemple de caractérisation de la perméabilité hydraulique dans lequel ΔP a progressivement été augmentée jusqu'à 800 mbar. Le flux de volume, analogue à la vitesse des particules dans cette configuration, augmente linéairement jusqu'à environ $20\,\mu m\,s^{-1}$ lorsque $\Delta P = 800$ mbar. L'ajustement des données selon l'éqn. (4.8) nous permet donc d'obtenir $\mathcal{L}_p \simeq 23.5\,\mu m\,s^{-1}\,bar^{-1}$, soit une perméabilité de Darcy $\kappa = \mathcal{L}_p/(\eta w_m) \simeq 1 \times 10^{-17}\,m^2$ avec $w_m = 44\,\mu m$. Nous sommes donc proches des perméabilités de Darcy reportées par Decock *et al.* pour ce type d'hydrogel [68]. La perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_p$ est quant à elle en dessous de la valeur ciblée, mais reste tout à fait convenable dans le cadre de notre expérience. En outre, on reporte des valeurs de $\mathcal{L}_p$ se situant entre 18 et $24\,\mu m\,s^{-1}\,bar^{-1}$ selon les dispositifs.

L'intégration d'une membrane *macro-poreuse* en amont du canal constitue ainsi une alternative efficace à l'utilisation de puces en PDMS pour imposer de faibles débits. Cette approche permet de localiser la résistance hydraulique directement au sein du dispositif, tout en simplifiant le montage expérimental. Toutefois, la membrane reste déformable, et en outre vulnérable à une potentielle rupture si la perte de charge est

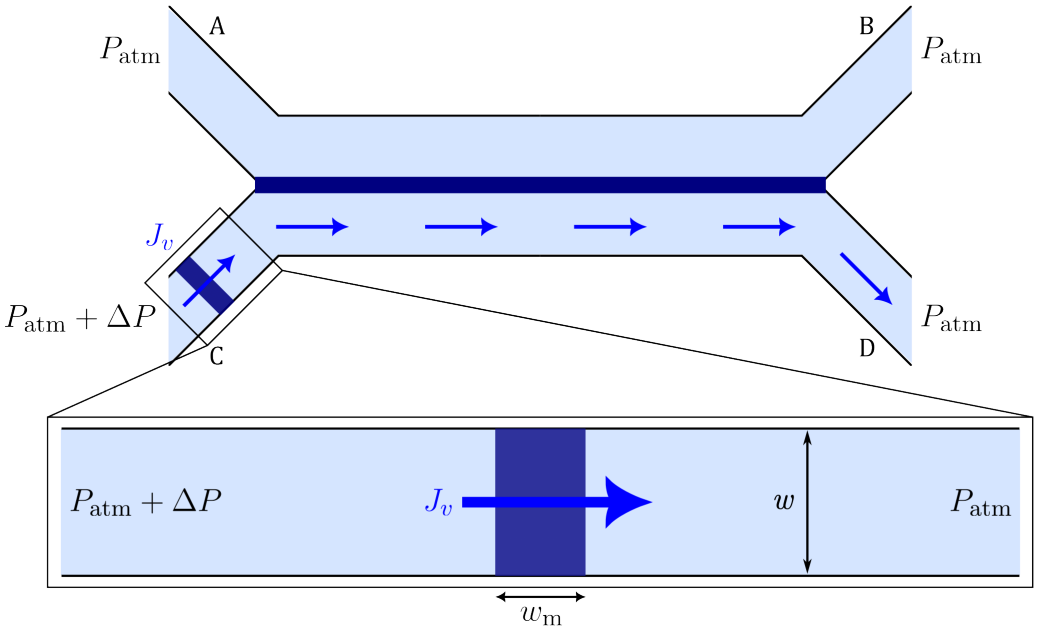


FIGURE 4.8 – Principe de la mesure de la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{p}}$ de la membrane *macro-poreuse*. Les flèches bleues sont tracées dans le sens de l'écoulement.

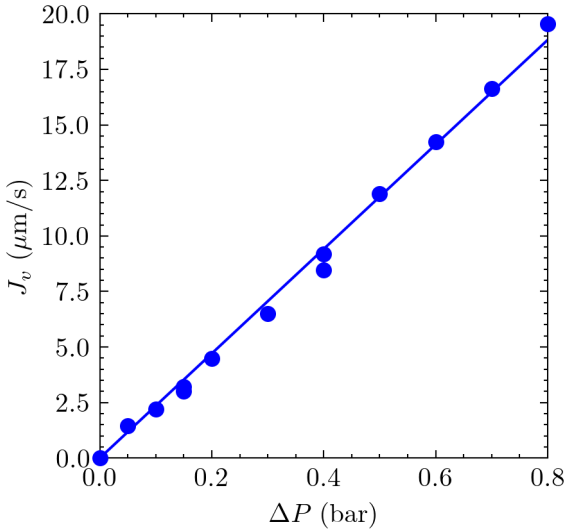


FIGURE 4.9 – Caractérisation de la perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse*. Tracé du flux J_v en fonction de la perte de charge ΔP. Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.8) avec $\mathcal{L}_{\mathrm{p}} \simeq 23.5\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$.

augmentée trop rapidement ou dépasse un certain seuil, que nous avons estimé de façon empirique à $\Delta P = 2\,\mathrm{bar}$. La vitesse de l'écoulement que nous imposons est donc dans ce cas limitée à $V_i \simeq 50\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$, qui est relativement cohérent avec notre objectif initial.

4.2 Dosage de la concentration en soluté par spectroscopie Raman

Comme nous l'avons précédemment mentionné, notre configuration expérimentale illustrée sur la Figure 4.1 atteint un état stationnaire, caractérisé par des profils de vitesse et de concentration en soluté indépendants du temps le long du canal CD. Dans le cadre de notre étude locale du transport, nous avons porté notre attention sur la mesure de la concentration en soluté au sein du canal. Nous utilisons pour cela la spectroscopie Raman.

4.2.1 Spectroscopie Raman

Lorsqu'une molécule est illuminée par un rayonnement électromagnétique de longueur d'onde λ_0, la majeure partie de la lumière est transmise, une autre est réfléchie, et une infime fraction est diffusée dans toutes les directions de l'espace [105]. La lumière diffusée est émise en grande majorité à la longueur d'onde incidente. On appelle ce phénomène la diffusion Rayleigh. Cependant, de l'énergie peut être également libérée ou consommée par la molécule, notamment par la vibration de ses liaisons chimiques qui est un évènement non-radiatif. La lumière diffusée est donc émise à des longueurs d'ondes différentes de λ_0 : on appelle ce phénomène la diffusion Raman. La spectroscopie Raman est une technique analytique qui exploite ce phénomène pour l'identification de substances chimiques ou de groupements fonctionnels.

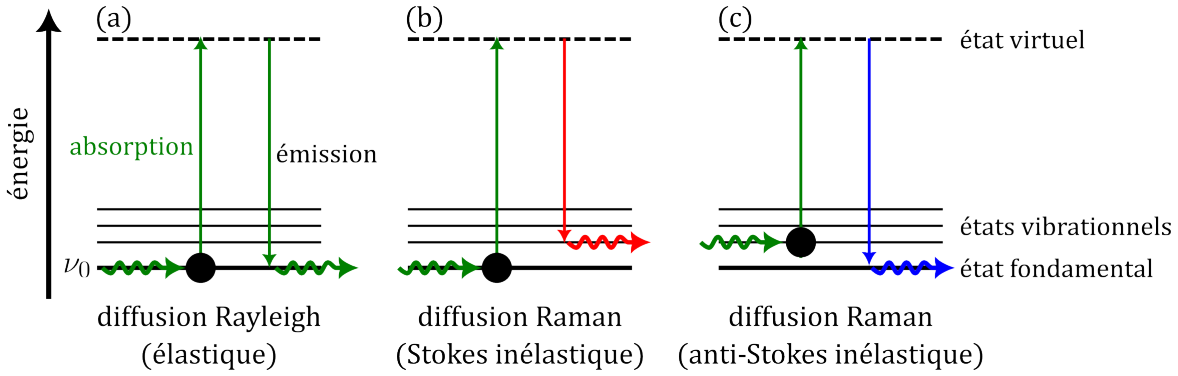


FIGURE 4.10 – Diagrammes d'énergie associés à la diffusion de la lumière lors de l'excitation d'une molécule. (a) Diffusion élastique Rayleigh : un photon est émis à la même énergie. Diffusion inélastique Raman : un photon est émis à une fréquence (b) inférieure (Stokes) ou (c) supérieure (anti-Stokes) à λ_0. Adapté de [106].

Dans le modèle quantique, l'état d'une molécule est décrit par des niveaux d'énergie discrétisés. Lorsqu'une molécule est excitée par un photon de longueur d'onde λ_0, celle-ci atteint un état dit virtuel, puis relaxe vers un niveau réel en émettant un photon à λ_{em}. Il existe trois scénarios possibles, représentés sous forme de diagramme d'énergie sur la Figure 4.10. La diffusion Rayleigh correspond au cas où le photon est émis à la même longueur d'onde que λ_0. On dit que la diffusion est élastique (Fig. 4.10a). Lorsque la molécule relaxe vers un état vibrationnel, d'énergie supérieure à l'état fondamental, le photon est émis à $\lambda_{em} > \lambda_0$. On parle alors de diffusion inélastique, dite diffusion Raman Stokes. Enfin, si la molécule était déjà dans un état d'excitation vibrationnel avant

l'illumination, sa relaxation vers l'état fondamental émet un photon à une longueur d'onde inférieure à λ_0, et on parle de diffusion Raman anti-Stokes.

La spectroscopie Raman consiste à collecter la lumière de la diffusion Raman Stokes, qui contient l'information sur les vibrations des liaisons chimiques des molécules. Chaque vibration est caractérisée par une différence entre λ_0 et λ_{em} mais on utilise plus communément la notion de nombre d'onde $\overline{\nu} = 1/\lambda$. La différence $\Delta\overline{\nu}$ est ainsi appelée déplacement Raman (ou *Raman shift*). La spectroscopie Raman est couramment utilisée pour déterminer la composition d'échantillons. Cela dit, l'intensité de la lumière diffusée est intrinsèquement liée au nombre de molécules dans l'échantillon. Dans ce contexte, si la composition est connue, la spectroscopie Raman permet de déterminer quantitativement la concentration d'une espèce.

4.2.2 Montage optique et calibrage

Les spectres Raman sont obtenus à partir du montage illustré sur la Figure 4.11, conçu spécifiquement pour des applications en microfluidique au LOF [106-109]. Un laser ($\lambda_0 = 532\,\text{nm}$) est aligné avec un microscope inversé (Olympus IX71) à travers une séquence de lentilles et de miroirs. En utilisant les objectifs du microscope, le faisceau du laser est focalisé en un point dans l'échantillon, permettant de sonder localement sa composition (le volume sondé dépend de l'objectif utilisé). La lumière diffusée est collectée par l'objectif puis est dirigée vers le spectrophotomètre (Andor Shamrock) après avoir filtré la diffusion élastique. Dans le cadre de nos expériences, nous avons obtenu les spectres en utilisant un réseau d'une densité de 600 lignes mm^{-1}. Notons que le montage est équipé d'un trou confocal (« pinhole ») de 100 µm de diamètre, positionné avant l'entrée dans le réseau du spectromètre afin d'éliminer les contributions hors du plan focal [109].

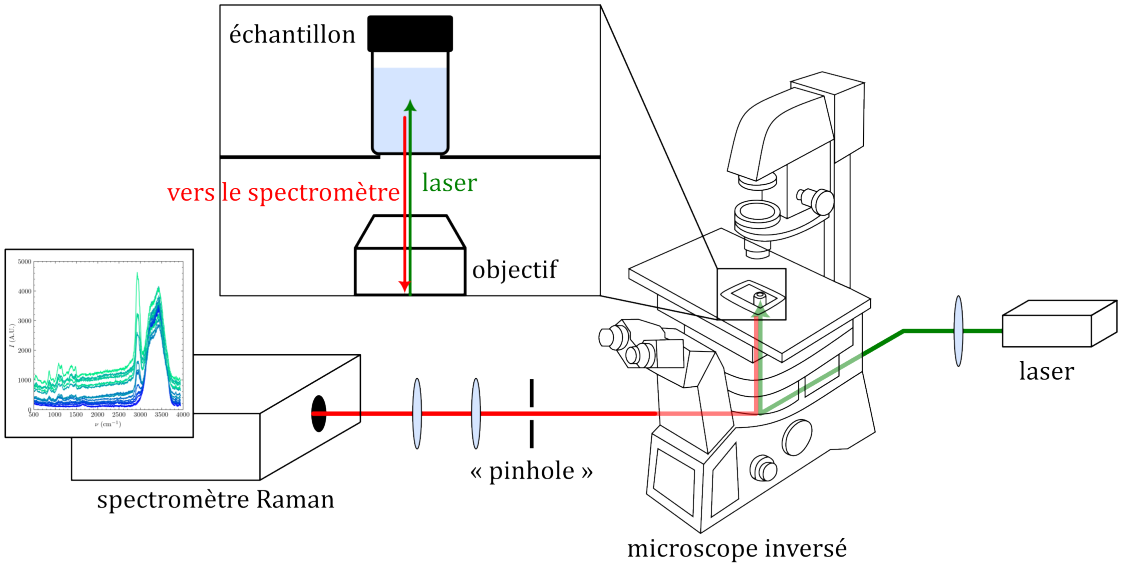


FIGURE 4.11 – Schéma du montage optique de Raman confocal couplé à un microscope inversé. Inspiré de [106, 109].

Comme nous l'avons mentionné précédemment, l'intensité du signal collecté est étroitement liée au nombre de vibrations et donc à la concentration de l'échantillon. Afin

de mesurer localement la concentration d'un soluté dans de l'eau, nous effectuons un calibrage. Le principe repose sur l'acquisition de nombreux spectres Raman d'échantillons constitués d'eau et de soluté dans une gamme de concentration connue. Les spectres Raman de chaque échantillon sont récoltés comme illustré dans l'encart de la Figure 4.11, c'est-à-dire en focalisant le faisceau du laser directement dans un vial de 20 mL contenant le mélange, positionné au-dessus d'un objectif 10X (N.A. 0.30), avec un temps d'exposition de 3 s. La courbe de calibrage spécifique au soluté est alors établie à partir de la variation de intensité des bandes de vibration avec la concentration [51].

Le calibrage que nous avons effectué est spécifique au saccharose. Nous avons acquis les spectres Raman d'échantillons contenant un mélange d'eau et de saccharose dans une gamme de concentration de 30 mmol L^{-1} à 1.8 mol L^{-1} (1 à 50% en fraction massique), considéré idéal et pour lequel le volume spécifique du saccharose, utilisé pour la conversion entre fraction massique et concentration molaire (éqn. (3.12)), est $v_s \simeq 0.613 \times 10^{-3}\,\mathrm{m^3\,kg^{-1}}$ [51]. Les spectres bruts sont tracés sur la Figure 4.12a en suivant un gradient de couleur allant du bleu (spectre de l'eau) au vert ($C \simeq 1.8\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$).

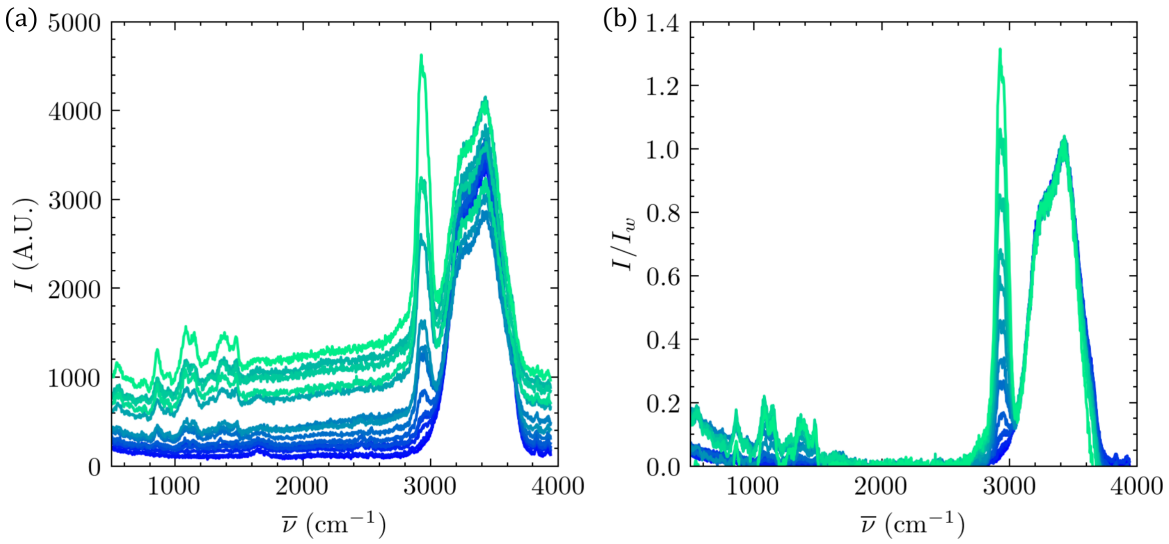


FIGURE 4.12 – Caractérisation du mélange eau/sucrose. (a) Spectres Raman bruts obtenus entre 0 et 1.8 mol L^{-1}. (b) Spectres Raman normalisés par l'intensité de la bande de l'eau I_w. Le gradient de couleur va du bleu (eau) au vert ($C \simeq 1.8\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$).

On observe essentiellement deux régions caractéristiques de vibration. La première dans la gamme (500-1500) cm^{-1} révèle plusieurs modes de vibrations qui apparaissent uniquement lorsque le saccharose est présent en solution. Dans la seconde ($\overline{\nu} > 2500\,\mathrm{cm^{-1}}$), on observe deux contributions. La bande dans l'intervalle (2800-3000) cm^{-1} est caractéristique du saccharose et plus précisément de l'élongation de liaisons C-H. La bande dans l'intervalle (3000-3700) cm^{-1} est quant à elle caractéristique de l'eau et de l'élongation de liaisons O-H en général, et dont l'élargissement est attribué aux liaisons hydrogènes dans la solution. On remarque également que l'intensité de fond augmente avec la concentration, ce qui est caractéristique d'une fluorescence de l'échantillon. Nous pensons que ce phénomène témoigne de la présence d'impuretés dans le mélange, dont la concentration est négligeable devant celle en saccharose mais suffisante pour parasiter le signal, bien que nous n'ayons pas pu confirmer cette hypothèse avec certitude. Pour créer la courbe de calibrage, et plus généralement pour analyser les spectres Ra-

man, cette contribution fluorescente est soustraite de chaque spectre. Dans l'intervalle (2000-2600) cm^{-1} et lorsque $\overline{\nu} > 3800\,\mathrm{cm}^{-1}$, aucune bande de vibration n'est observée. Ainsi, nous effectuons un ajustement polynomial (ordre 2) du signal dans ces gammes pour obtenir une ligne de base que l'on soustrait au spectre. La Figure 4.12b présente les spectres après la correction de la contribution fluorescente. Le signal est normalisé par l'intensité de la bande caractéristique de l'eau I_w, exprimée selon la moyenne de I dans la gamme (2700-3700) cm^{-1}. Dans ce cas, on observe clairement une augmentation monotone de l'intensité des bandes caractéristiques du saccharose. Nous choisissons arbitrairement de limiter l'analyse des spectres dans la région (2700-3700) cm^{-1} pour laquelle les bandes sont plus intenses, permettant une meilleure résolution. Nous définissons donc la contribution du saccharose par la bande entre (2800-3000) cm^{-1} caractéristique de l'élongation des liaisons C-H. La valeur de cette bande, notée r, est calculée selon la moyenne de I dans la gamme (2920-2960) cm^{-1}. Elle correspond donc à l'intensité relative de la bande de saccharose (I_s) par rapport à celle de l'eau selon

$$r = \frac{I_s}{I_w}\,. \tag{4.9}$$

Le tracé de r en fonction de la concentration en saccharose, illustré sur la Figure 4.13, permet de souligner la tendance du signal observée sur les spectres. On remarque une augmentation de $r \simeq 0.04$ lorsque $C = 0$ à $\simeq 1.24$ lorsque $C \simeq 1.8\,\mathrm{mol\,L}^{-1}$. Ces données sont ajustées suivant un polynôme d'ordre 2 selon

$$r = a_0 C^2 + b_0 C + c_0\,, \tag{4.10}$$

avec $a_0 \simeq 0.18\,\mathrm{L}^2\,\mathrm{mol}^{-2}$, $b_0 \simeq 0.33\,\mathrm{L\,mol}^{-1}$ et $c_0 \simeq 0.04$. Ainsi, la concentration en saccharose de n'importe quel échantillon peut être mesurée à partir de l'analyse de son spectre Raman.

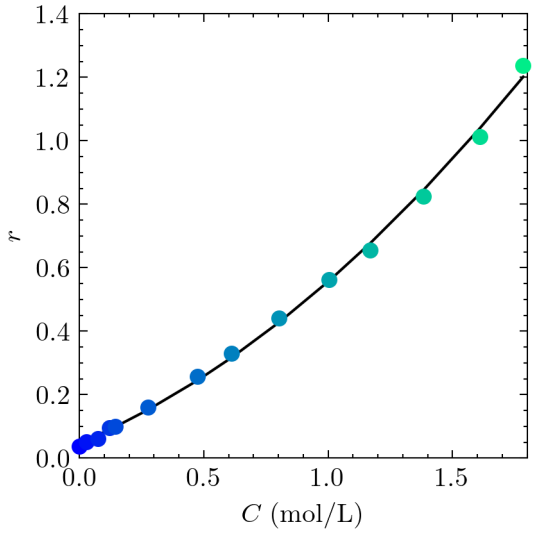


FIGURE 4.13 – Courbe de calibration du saccharose en solution. Tracé de r en fonction de C. Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.10).

La précision de ce calibrage a également été testée en calculant r après l'acquisition de spectres avec des paramètres d'acquisition différents pour une même concentration (non montré ici, voir [51]). Nous avons par exemple fait varier les temps d'exposition

(de 1 à 5 s) ainsi que les objectifs (10X, 20X et 60X). Nous estimons finalement une incertitude sur la concentration de l'ordre de $7\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, qui montre la précision de cette approche pour les valeurs considérées dans nos expériences. Le calibrage permet ainsi de calculer avec précision la concentration en soluté d'une solution inconnue à partir de son spectre Raman. Dans la prochaine section, nous présentons des mesures locales de concentration en saccharose dans un canal microfluidique réalisées à l'aide de ce calibrage.

4.3 Mesure du champ de concentration en saccharose

Nous avons mesuré les profils de concentration en saccharose dans le canal CD en variant la vitesse de l'écoulement dans l'entrée et en augmentant progressivement la concentration C_0 dans le réservoir. Pour obtenir ces profils, nous avons eu recours à des mesures de spectres Raman, qui demandent un réglage optique précis pour automatiser les acquisitions.

4.3.1 Alignement de la puce avec le laser

La puce microfluidique est fixée sur la platine mobile du microscope inversé. Les entrées A et C sont connectées à un réservoir d'eau et les sorties à une évacuation. Nous utilisons pour ce type de configuration des connectiques en PDMS (voir la Section 2.1.5), qui permettent d'une part de limiter les volumes morts dans le dispositif, et d'autre part d'utiliser des tubes flexibles en PTFE (diamètre interne 370 µm). Contrairement aux tubes rigides en PFA régulièrement employés, les tubes en PTFE permettent d'éviter tout déplacement indésirable de la puce lors du déplacement de la platine. Un léger écoulement d'eau est induit dans chaque canal pour remplir la puce.

La platine est ensuite déplacée dans l'espace jusqu'à ce que le faisceau du laser, fixe, soit aligné avec le canal. On utilise ici un objectif 60X (N.A. 0.70). Pour sonder l'entièreté du canal, nous effectuons donc un calibrage du déplacement de la platine, illustré par la Figure 4.14, qui nous permet d'automatiser l'acquisition des spectres durant les expériences. Le faisceau est tout d'abord positionné à l'entrée, en $x_0 = 0$ et en $y_0 = w/2$, qui sont les coordonnées de référence dans le plan. Nous déplaçons ensuite la platine jusqu'à la sortie du canal ($x = L$) et notons la différence avec la position initiale Δx. Un léger ajustement selon la largeur (Δy) est également nécessaire pour maintenir le faisceau au milieu du canal. Typiquement, cet angle de déviation θ est inférieur à 1°. L'ajustement de la focale du laser selon la hauteur est effectué à l'aide d'un amplificateur piézoélectrique (Physik Instrumente E-665) pour maintenir la bonne focalisation le long du canal, ponctuellement nécessaire en raison d'une déviation selon un angle $\phi < 0.5°$. Le canal est découpé en n points, ce qui nous permet d'obtenir un profil de concentration correctement résolu dans l'espace. Le déplacement entre chaque point est donc exprimé selon $\delta = \sqrt{(\mathrm{d}x)^2 + (\mathrm{d}y)^2 + (\mathrm{d}z)^2}$, où $\mathrm{d}x = \Delta x/n$ et $\mathrm{d}y = \Delta y/n$ sont les déplacements selon la longueur et la largeur respectivement, et $\mathrm{d}z = \Delta z/n$ est la correction sur la hauteur du point focal. Typiquement, le canal est découpé en $n = 50$ points, donc $\delta x \simeq 250\,\mu\mathrm{m}$, et les corrections selon la largeur et la hauteur sont de l'ordre de $|\delta y| \sim 5\,\mu\mathrm{m}$ et $|\delta z| \sim 0.1\,\mu\mathrm{m}$.

Le montage est équipé d'un trou confocal (diamètre 100 µm), dont le rôle est de minimiser les contributions des espèces hors de la focale sur les spectres, typiquement

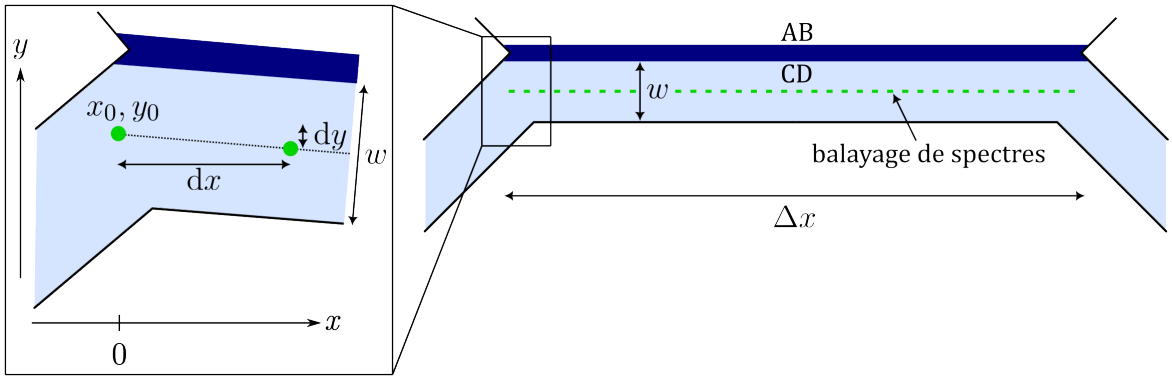


FIGURE 4.14 – Positionnement du laser dans la puce. La rotation dans l'encart est exagérée pour illustrer la correction δy.

la bande caractéristique de la matrice en PEGDA dans l'intervalle (2800-3000) cm^{-1}. La présence de cette bande peut s'avérer contraignante car elle coïncide avec la bande caractéristique analysée pour le dosage du saccharose. Nous cherchons donc à minimiser sa contribution en choisissant la meilleure focalisation possible. Pour quantifier l'impact des contributions hors-champ sur les signaux des spectres, nous effectuons un balayage selon la hauteur du canal lorsqu'il contient de l'eau. Des spectres sont récoltés en faisant varier la position de l'objectif selon l'axe z à l'aide de l'amplificateur piézoélectrique, suivant un déplacement de $\delta z = 1\,\mu m$, ce qui correspond à un déplacement réel de $1.33\,\mu m$ en raison de l'indice optique de l'eau. La Figure 4.15 présente l'évolution des intensités des bandes de l'eau et de la matrice en PEGDA (en bleu et rouge respectivement) avec la hauteur de la focale. La contribution du PEGDA reste faible jusqu'à $z \simeq 50\,\mu m$, puis croît rapidement ensuite jusqu'à atteindre un maximum à l'approche de $z = h$. Dans la suite, notre objectif est donc de conserver la focalisation autour de $z \leq h/2$, où le rapport d'intensité entre la bande de l'eau et celle du PEGDA est maximal, afin de minimiser l'influence du signal parasite de la matrice.

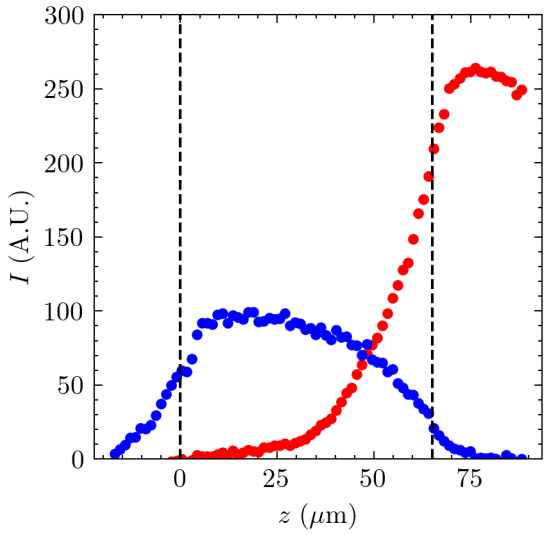


FIGURE 4.15 – Tracé de l'intensité moyenne des bandes de l'eau (points bleu) et de la matrice en PEGDA (points rouges) en fonction de la hauteur z dans le canal. Les pointillés noirs indiquent la position des parois du canal de hauteur $h \simeq 65\,\mu m$.

Nous avons également illustré sur la Figure 4.16 le signal Raman obtenu pour trois positions de la focale. Au point le plus bas ($h < 0$), le spectre Raman obtenu n'est pas exploitable, on observe un signal caractéristique de la lame de verre (Fig. 4.16a). Lorsque le point focal remonte dans le canal, on observe l'apparition de la bande caractéristique de l'eau dans l'intervalle (3000-3700) cm^{-1}, ainsi qu'une seconde contribution dans l'intervalle (2800-3000) cm^{-1}, attribuée à la matrice en PEGDA de la puce, qui s'intensifie lorsque $z \to h$ (Fig. 4.16b et c). La meilleure focalisation correspond au spectre sur lequel la contribution de la bande du PEGDA est minimale, donc vers $h/2$ comme mentionné précédemment.

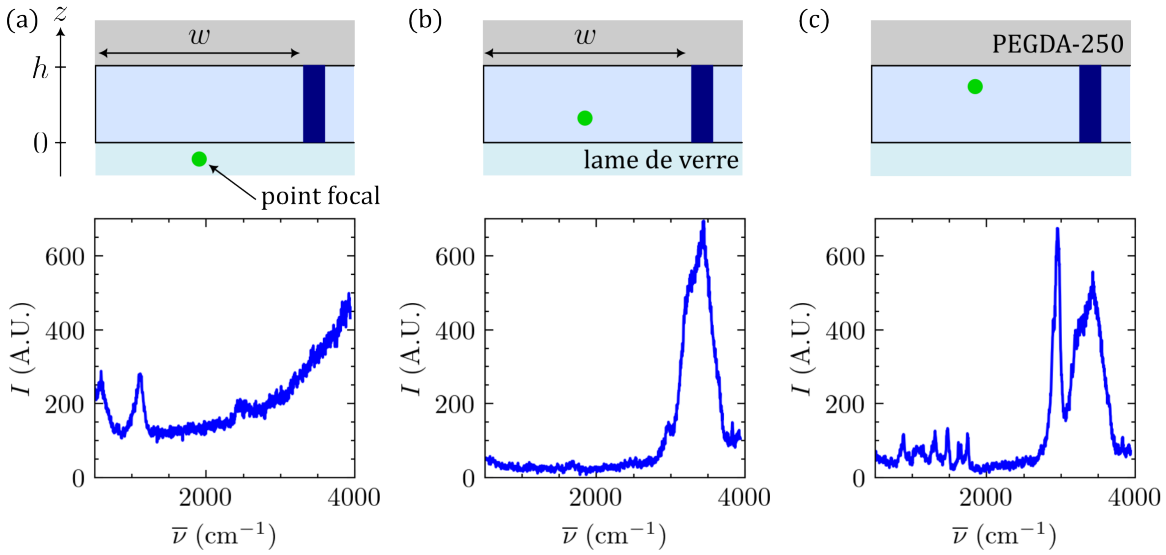


FIGURE 4.16 – Spectres Raman obtenus dans une puce remplie d'eau en fonction de la hauteur de la focale.

Nous voyons que l'intensité de la bande du PEGDA est faible mais toujours présente, et ce même lorsque la focalisation est optimale (Fig. 4.16b). Pour enlever cette contribution parasite, nous effectuons une acquisition de spectres le long du canal lorsque ce dernier contient uniquement de l'eau. Au total, 4 balayages du canal sont effectués (typiquement avec $n > 50$ points) pour moyenner l'intensité de la contribution parasite en chaque position. Nous obtenons ainsi une ligne de base à soustraire à chacun des spectres récoltés par la suite.

4.3.2 Mesure de profils de concentration en saccharose

Après avoir effectué tous les calibrages nécessaires, nous pouvons réaliser l'expérience illustrée sur la Figure 4.1. L'entrée A est connectée à un réservoir contenant du saccharose de concentration C_0, puis un écoulement constant est imposé dans le canal par une perte de charge $\delta P \simeq 100\,\mathrm{mbar}$. En parallèle, nous imposons un écoulement d'eau depuis l'entrée C via une perte de charge ΔP s'élevant jusqu'à 250 mbar pour la puce en PDMS, ou 2 bar pour la membrane *macro-poreuse*. La vitesse d'entrée s'élève donc jusqu'à $60\,\mu\mathrm{m\,s}^{-1}$ environ. Dans le cadre de notre étude, nous avons étudié le transport en augmentant progressivement la concentration en saccharose dans le réservoir, de 0.3 à $1\,\mathrm{mol\,L}^{-1}$. Certaines de ces mesures ont été effectuées en collaboration avec Benjamin Fournié, que j'ai co-encadré au cours de son stage de M2.

4.3.2.1 Régime transitoire

Dans un premier temps, nous avons estimé expérimentalement l'ordre de temps nécessaire pour atteindre l'état stationnaire. Pour ce faire, nous avons mesuré des profils de concentration en saccharose en fonction du temps, en démarrant l'acquisition des spectres dès le lancement de l'expérience. Les résultats sont tracés sur la Figure 4.17 dans le cas d'une solution de saccharose où $C_0 \simeq 0.63\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et $V_i \simeq 16\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$. Dans cette expérience, chaque profil est obtenu à partir d'un seul balayage du canal de $n = 72$ points, afin de ne pas manquer la dynamique du transitoire. En outre, la durée d'acquisition d'un spectre est paramétrée à 1 s, ce qui signifie que chaque balayage est effectué en environ 1 min. Nous sacrifions donc une bonne résolution spatiale pour conserver une résolution correcte dans le temps. Comme on peut le voir sur le premier profil, la concentration n'est pas strictement nulle le long du canal, ce qui montre que le saccharose a déjà diffusé à travers la membrane dès la première minute. En particulier, la superposition des deux derniers profils suggère que l'état stationnaire est atteint en environ 20 min. On remarque que ce temps est proche du temps caractéristique de remplissage du canal par diffusion du saccharose à travers la membrane, défini précédemment en Section 3.5.3 selon $w/\mathcal{L}_\mathrm{D}$ avec $\mathcal{L}_\mathrm{D} \simeq 0.25\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$. Ainsi, pour toutes les expériences présentées dans la suite, nous attendons systématiquement un temps de l'ordre de $w/\mathcal{L}_\mathrm{D}$ avant de lancer l'acquisition Raman le long du canal. En outre, pour vérifier que l'état stationnaire est effectivement atteint, nous réalisons quatre balayages successifs du canal. Lorsque ces balayages montrent des profils superposables comte tenu des incertitudes expérimentales, nous considérons le régime comme stationnaire et calculons le profil final de concentration en moyennant les spectres obtenus pour chaque position x (ou les concentrations déduites).

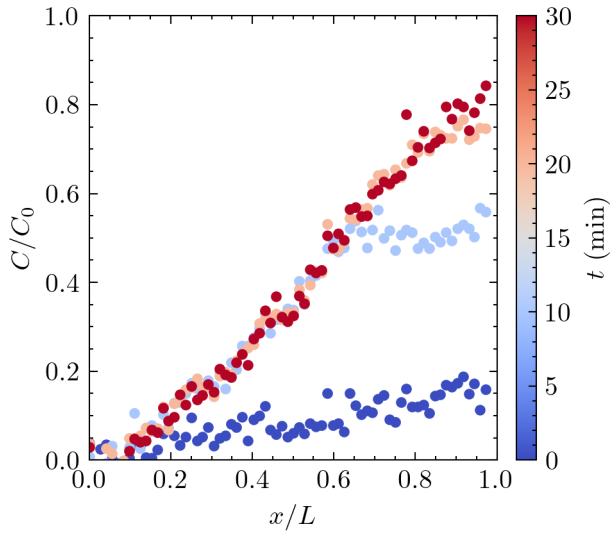


FIGURE 4.17 – Transitoire observé au lancement d'une expérience avec $C_0 \simeq 0.63\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et $V_i \simeq 16\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$. Le gradient de couleur représente l'évolution temporelle à $t = 0$, 10, 20 et 30 min (du bleu au rouge).

4.3.2.2 Régime stationnaire : influence de la vitesse d'entrée

On s'intéresse maintenant au régime stationnaire. Nous avons donc mesuré des profils de concentration en saccharose dans le canal CD en faisant varier la vitesse d'entrée

V_i pour une concentration C_0 fixée dans le réservoir AB. Les profils sont obtenus en moyennant quatre balayages successifs du canal. Chaque spectre Raman est acquis avec un temps d'exposition de 3 s afin d'assurer une bonne résolution du signal. Un balayage de 50 points dure donc typiquement 150 s, et l'acquisition d'un profil complet un temps total de l'ordre de 10 min. Nous avons réalisé ces mesures pour trois concentrations dans le réservoir, $C_0 \simeq 0.3$, 0.63 et 1 mol L^{-1}. Pour comparer quantitativement les profils tracés sur la Figure 4.18, ces derniers sont représentés suivant un code couleur reflétant la valeur de V_i, des courbes bleues (vitesses les plus faibles) aux courbes vertes (vitesses les plus élevées). Notons que tous les profils d'une même configuration ont été obtenus au sein d'une unique puce. Lorsque $V_i/V_0 > 1$, les profils de concentration, représentés par les courbes vertes, sont quasiment plats et la concentration dans le canal reste faible (Fig. 4.18a et b). Notons que cet effet est moins prononcé sur la Figure 4.18c ($C_0 \simeq 1$ mol L^{-1}) car $V_i/V_0 \simeq 0.5$ au maximum. Dans ce régime de vitesse, l'advection le long du canal évacue efficacement le saccharose qui diffuse à travers la membrane, ce qui empêche donc son accumulation dans le canal et correspond au régime où $(w\mathcal{V})/(L\mathcal{L}_\mathrm{D}) \gg 1$ défini en Section 4.1.1. Dans le régime inverse, lorsque $V_i/V_0 < 0.05$, l'advection est nécessairement plus faible donc $(w\mathcal{V})/(L\mathcal{L}_\mathrm{D}) \ll 1$. Par conséquent, le saccharose qui diffuse à travers la membrane n'est pas évacué suffisamment rapidement par l'advection dans le canal et on observe un profil stationnaire où $C \simeq C_0$ le long du canal (courbes bleues). Dans les cas intermédiaires, nous observons un gradient de concentration le long du canal, et dans certains cas, la concentration atteint C_0 au-delà d'une certaine position. Dans cette zone, la pression osmotique est égale de part et d'autre de la membrane, ce qui signifie que le flux volumique local est nul, et donc que la vitesse ne décroît plus.

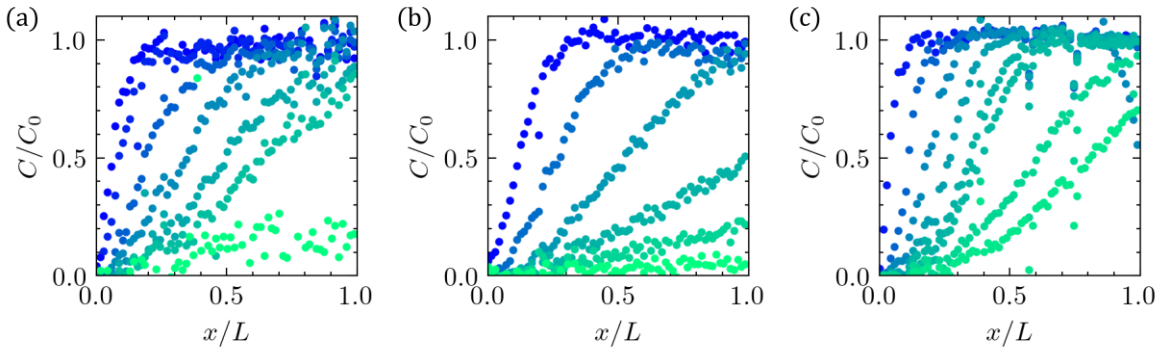


FIGURE 4.18 – Profils de concentration stationnaires en saccharose mesurés par spectroscopie Raman dans le canal pour trois concentrations dans le réservoir. Chaque courbe correspond à une vitesse d'entrée différente normalisée par V_0. (a) $C_0 \simeq 0.3$ mol L^{-1}, $V_i/V_0 \in [0.07; 1.38]$; (b) $C_0 \simeq 0.63$ mol L^{-1}, $V_i/V_0 \in [0.03; 1.72]$; (c) $C_0 \simeq 1$ mol L^{-1}, $V_i/V_0 \in [0.01; 0.5]$. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

Afin d'évaluer la reproductibilité des résultats, nous avons répété nos mesures plusieurs fois pour chaque concentration C_0, en variant la résistance hydraulique d'entrée (puce en PDMS ou membrane *macro-poreuse*), et parfois en changeant également la puce en PEGDA. Comme le montre la Figure 4.19, l'organisation des profils respecte le gradient de couleur établi sur l'ensemble des jeux de données, c'est-à-dire que les profils correspondant aux faibles vitesses V_i/V_0 (bleus) restent regroupés entre eux et se distinguent nettement des profils à plus fortes vitesses (verts). Cette cohérence confirme

que la tendance principale est bien retrouvée indépendamment de la résistance d'entrée utilisée et du dispositif, et qu'elle est principalement gouvernée par le rapport entre le transport advectif dans le canal et le transfert de soluté à travers la membrane. Notons que nous n'attendions pas un regroupement parfait car les paramètres σ et $\mathcal{L}_\mathrm{D}$ influencent également la forme du profil. Cela dit, ces derniers ne varient que faiblement d'une puce à l'autre car les conditions expérimentales sont les même, ce qui explique la cohérence entre nos résultats. Les profils apparaissent plus bruités dans la configuration $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (Fig. 4.18a). Dans ce régime de concentration, les variations de C le long du canal restent faibles, ce qui se traduit par des différences d'intensité plus faibles sur les spectres Raman, en particulier dans la bande (2800-3000) cm^{-1}, utilisée pour le dosage. La sensibilité de la méthode étant alors proche de sa limite de résolution, l'incertitude sur la concentration augmente, ce qui explique le niveau de bruit observé. Comme on peut le voir, cet effet est nettement moins prononcé sur la Figure 4.18b et n'est plus perceptible sur la Figure 4.18c.

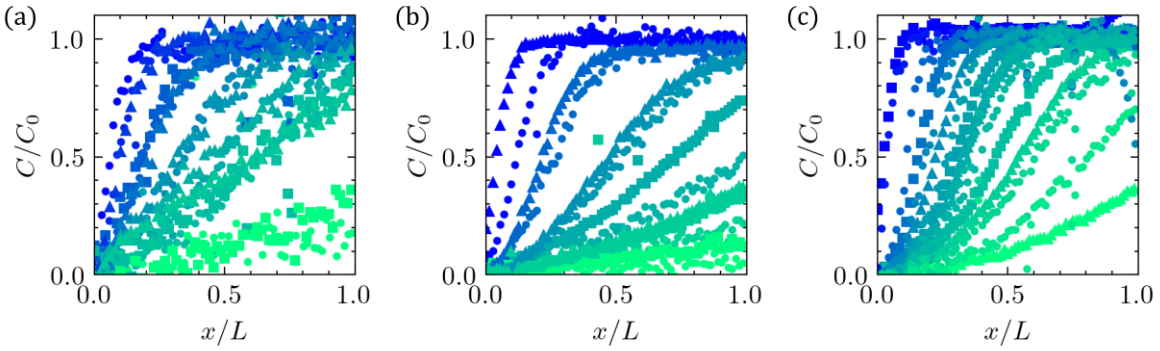


FIGURE 4.19 – Profils de concentration stationnaires en saccharose mesurés par spectroscopie Raman dans le canal pour trois concentrations dans le réservoir avec (a) $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$, (b) $C_0 \simeq 0.63\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et (c) $C_0 \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$. Les ensembles de données obtenus dans des dispositifs différents sont représentés par les différents caractères ($\circ$, $\square$ et $\triangle$). Code couleur : bleu $\rightarrow$ vert pour V_i/V_0 croissant.

4.4 Modélisation des profils de concentration

Nous considérons la configuration microfluidique de la Figure 4.1, dans laquelle le transport du soluté peut être modélisé par un système à 1 dimension selon la dimension axiale x. Dans ce système, la vitesse de l'écoulement $V(x)$ décroît le long du canal en raison du flux de volume trans-membranaire J_v vers le réservoir, d'origine osmotique. La conservation du débit s'exprime donc selon

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = -J_v\,, \tag{4.11}$$

La membrane est perméable au saccharose ($\sigma < 1$), ce qui donne lieu à des échanges de soluté entre chaque compartiment et se traduit par un flux de soluté J_s (terme source). L'équation de conservation du soluté s'exprime donc selon

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial (CV)}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - \frac{J_s}{w}\,, \tag{4.12}$$

où $\partial_x(CV)$ et $D\partial_x^2 C$ décrivent l'advection du soluté par l'écoulement et son transport par diffusion dans le canal respectivement (nous considérons que D est indépendant de la concentration). Pour étudier la dynamique du transport à travers la membrane, l'équation de conservation est résolue par des méthodes numériques. Afin de se rapprocher le plus possible de la réalité, l'espace est discrétisé en trois sections : une correspondante au canal principal ($x \in [0, L]$) et deux autres pour les sous-canaux d'entrée ($x < 0$) et de sortie ($x > L$) respectivement, tous deux de longueur $\ell = \lambda L$ avec $\lambda \simeq 0.3$. Dans les sections d'entrée et de sortie, V étant constant, on a simplement $\partial_x(CV) = V\,\partial_x C$. La conservation du soluté relative à chaque section est donc exprimée selon

$$\frac{\partial C}{\partial t} + V(x)\frac{\partial C}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}\,, \qquad x < 0 \tag{4.13}$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial (CV)}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} - \frac{J_s}{w}\,, \qquad 0 \le x \le L \tag{4.14}$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + V(x)\frac{\partial C}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}\,, \qquad x > L \tag{4.15}$$

et la vitesse dans le canal est obtenue en intégrant l'éqn. (4.11) entre $x = 0$ et x, ce qui donne

$$V(x) = V_i - \int_0^x \frac{J_v}{w}\mathrm{d}x\,, \tag{4.16}$$

où $V(x \le 0) = V_i$ est la vitesse imposée à l'entrée, et $V(x \ge L) = V_s$ est la vitesse en sortie, qui dépend donc du flux de volume. Dans la résolution numérique, le problème est posé sur un réseau couvrant l'intervalle $[-\ell,\, L + \ell]$, la contribution de la membrane étant prise en compte uniquement sur $[0, L]$ via l'ajout du terme source (J_s/w). Les conditions aux limites sont $C(-\ell, t) = 0$ à l'entrée (apport constant en eau) et $\partial_x C(-\ell, t) = \partial_x C(L + \ell, t) = 0$ (flux nul). Après avoir effectué la discrétisation, l'équation de conservation est transformée en un système d'équations différentielles ordinaires, dans lequel les dérivées spatiales sont approchées par des opérateurs aux différences finies. Ce système est résolu à l'aide de fonctions comme `solve_ivp` (SciPy), ou `ode*` (équivalent MATLAB), sur un intervalle de temps $[0, t_f]$ à partir de la condition initiale $C(x, t = 0) = 0$.

Au cours de ces travaux, nous nous sommes intéressés à plusieurs descriptions des flux de volume et de soluté dans l'objectif de décrire au mieux le transport à travers la membrane en résolvant numériquement l'équation de conservation du soluté.

4.4.1 Kedem-Katchalsky

La première approche reprend les concepts explorés dans la Section 3.5. La membrane est une boîte noire caractérisée par sa perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, son coefficient de perméabilité au soluté $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ et son coefficient de réflexion σ. Les flux volumique et de soluté sont décrits par les équations de Kedem et Katchalsky selon

$$J_v = -\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi)\,, \tag{4.17}$$

$$J_s = -\mathcal{L}_{\mathrm{D}}\Delta C + (1 - \sigma)\langle C\rangle J_v\,. \tag{4.18}$$

Ces relations s'obtiennent en supposant des écarts de concentration faibles de part et d'autre de la membrane. Dans ce formalisme, la concentration moyenne $\langle C\rangle$ intervenant dans le terme convectif de J_s n'est pas clairement définie. Nous choisissons

donc, par simplicité, de l'identifier à la concentration locale dans le canal CD, soit $\langle C \rangle \simeq C$. Ce choix a une influence négligeable dans le régime dilué, mais ce n'est plus le cas lorsque la différence de concentration à travers la membrane devient importante. En l'absence d'information plus précise sur le profil de concentration au sein de la membrane, nous conservons néanmoins cette définition. Dans notre configuration, la différence de pression osmotique domine toute pression hydrostatique, soit $\Delta\Pi \gg \Delta P$. Les équations (4.11) et (4.12) deviennent donc

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = \sigma\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}\Delta\Pi\,, \tag{4.19}$$

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial (CV)}{\partial x} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} + \frac{\mathcal{L}_{\mathrm{D}}}{w}\Delta C - \frac{1}{w}\sigma(1-\sigma)C\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}\Delta\Pi\,. \tag{4.20}$$

Les variables du système sont normalisées pour faire apparaître les paramètres sans dimension du modèle, en respectant les conventions établies en Section 3.5.1. La position et la concentration sont normalisées selon $\mathcal{X} = x/L$ et $c = C/C_0$ respectivement. La conservation du débit s'exprime donc selon

$$\frac{\partial v}{\partial \mathcal{X}} = \sigma(\pi - 1)\,, \tag{4.21}$$

avec $\pi = \Pi(C)/\Pi(C_0)$ la pression osmotique normalisée par la pression osmotique du soluté dans le réservoir, et v la vitesse normalisée selon $v = V/V_0$, où $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}\Pi(C_0)$ est la vitesse de l'écoulement dans l'entrée du canal, attendue dans le cas d'une membrane idéale ($\sigma = 1$). Le temps est adimensionné selon $\mathcal{T} = t/\tau$ avec $\tau = w/\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ le temps caractéristique du remplissage du canal par diffusion du soluté à travers la membrane. La conservation du soluté s'exprime donc finalement selon

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{T}} = -\mathrm{Pe}_m\frac{\partial}{\partial \mathcal{X}}(cv) + \frac{\mathrm{Pe}_m}{\mathrm{Pe}}\frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2} + (1-c) - \mathrm{Pe}_m\sigma(1-\sigma)c(1-\pi)\,, \tag{4.22}$$

où Pe_m est un paramètre sans dimension qui compare l'advection du soluté à son transport par diffusion dans la membrane selon

$$\mathrm{Pe}_m = \frac{\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}\Pi(C_0)}{\mathcal{L}_{\mathrm{D}}}\,. \tag{4.23}$$

Les paramètres de la modélisation sont reportés dans la Table 4.1, pour chacune des configurations étudiées, appelées 1, 2 et 3 respectivement.

TABLE 4.1 – Comparaison des paramètres de la modélisation selon la configuration.

Paramètre	Unité	Configuration 1	Configuration 2	Configuration 3
C_0	$\mathrm{mol\,L^{-1}}$	0.3	0.63	1.0
$\Pi(C_0)$	bar	8.3	19.3	33.7
$\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$	$\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$	78	53	78
V_i	$\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$	2-46	2-110	2-46
V_0	$\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$	31	60	135
Pe		920	1730	4000
Pe_m		2.3	5.5	10
$\mathrm{Pe}_m\sigma(1-\sigma)$		0.53	1.25	2.3

La Figure 4.20 illustre la résolution numérique dans le temps de l'équation de conservation du soluté pour la configuration 1 ($C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$) avec $V_i/V_0 \simeq 0.5$. L'état stationnaire est atteint après environ 30 min (courbe rouge). La concentration dans le canal est initialement nulle (condition initiale), mais le saccharose s'accumule progressivement, au fond du canal, selon un effet couplé entre la diffusion à travers la membrane et l'écoulement d'eau imposé à l'entrée (Fig. 4.20a), tout en conservant un profil relativement plat. Le profil de vitesse décroît linéairement à $t = 0$ car la concentration en soluté est nulle, et le modèle prédit même des vitesses localement négatives (pompage d'eau depuis la sortie) puisque $V_i < V_0$. Toutefois, à mesure que le saccharose diffuse à travers la membrane et se concentre dans le canal, la vitesse de l'écoulement évolue vers un régime stationnaire et diminue d'environ 17 à 6 $\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$. En moyenne, la vitesse dans le canal est donc $\mathcal{V} \simeq 11.5\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$, ce qui correspond relativement bien à un régime où $(w\mathcal{V})/(L\,\mathcal{L}_\mathrm{D}) \sim 1$.

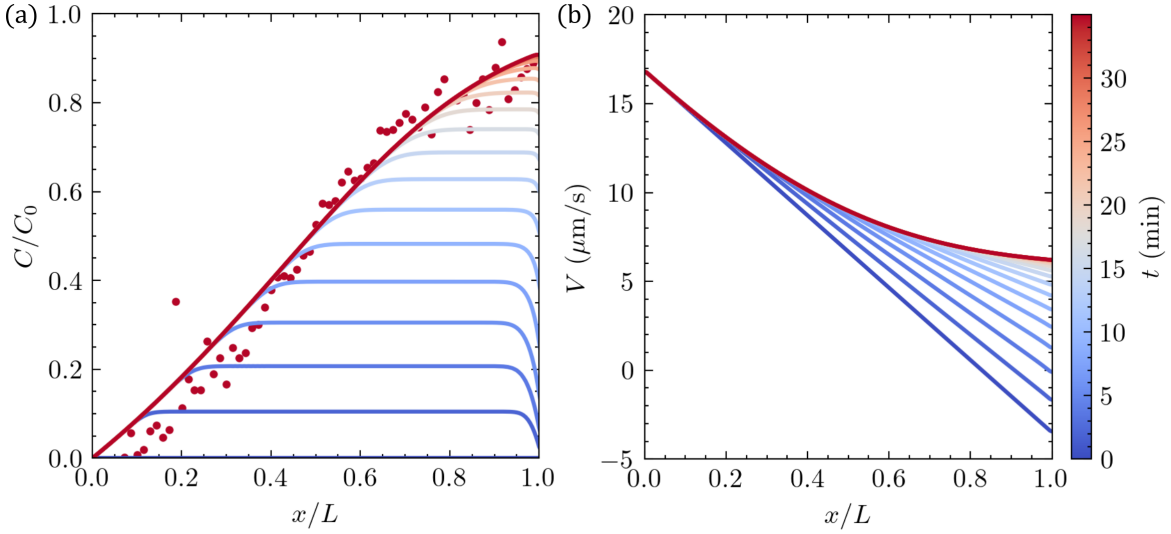


FIGURE 4.20 – Profils transitoires de concentration et de vitesse obtenus via une résolution numérique de l'éqn. (4.22) avec $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et $V_i/V_0 \simeq 0.5$. Le gradient de couleur représente l'évolution temporelle de 0 à 35 min (bleu au rouge).

La Figure 4.21 montre les profils de concentration stationnaires mesurés par spectroscopie Raman dans le canal pour les trois concentrations imposées dans le réservoir, $C_0 = 0.3$, 0.6 et $1.0\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (Fig. 4.21a-c). Nous nous concentrons volontairement sur un seul ensemble de données de chaque configuration tracé sur la Figure 4.19, pour lequel les paramètres de transport de la membrane, $\mathcal{L}_\mathrm{hyd}$, σ et $\mathcal{L}_\mathrm{D}$, ont été déterminés indépendamment en appliquant la méthodologie détaillée dans la Section 3.4.2. Les lignes pleines correspondent à la résolution numérique de l'équation de conservation du soluté pour chaque vitesse d'entrée, en décrivant les flux trans-membranaires par les relations de Kedem et Katchalsky. Les profils sont calculés sans ajustement sur les données. Comme le montre la Figure 4.21a, le modèle de Kedem et Katchalsky reproduit qualitativement les profils expérimentaux avec $\mathcal{L}_\mathrm{hyd} \simeq 78\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$, $\sigma = 0.65$ et $\mathcal{L}_\mathrm{D} \simeq 0.27\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$, qui sont cohérents avec les paramètres estimés pour le saccharose dans le cadre d'écoulements osmotiques transitoires (voir Section 3.5.3). Notons que ces même paramètres ont été mesurés *in situ* sur la même puce après avoir mesuré les profils de concentration. On remarque cependant que la prédiction théorique des profils est moins bonne dans la configuration 2, et que cet effet s'accentue lorsque la

concentration augmente jusqu'à $C_0 \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ avec la configuration 3 (Fig. 4.21b-c). En outre, on observe une chute soudaine de la concentration chez certains profils juste avant $x = L$, notamment dans le cas où $C_0 \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$. À première vue, cet effet semble juste souligner que l'état stationnaire n'est pas atteint. Cependant, même après avoir augmenté la plage de temps de la résolution, la décroissance persiste. Nous ne pouvons pas affirmer avec certitude l'origine de cet effet, mais nous pensons qu'il peut être lié à la présence du canal de sortie dans lequel la diffusion du soluté peut jouer un rôle important, ou qu'un point de stagnation est prédit par le modèle.

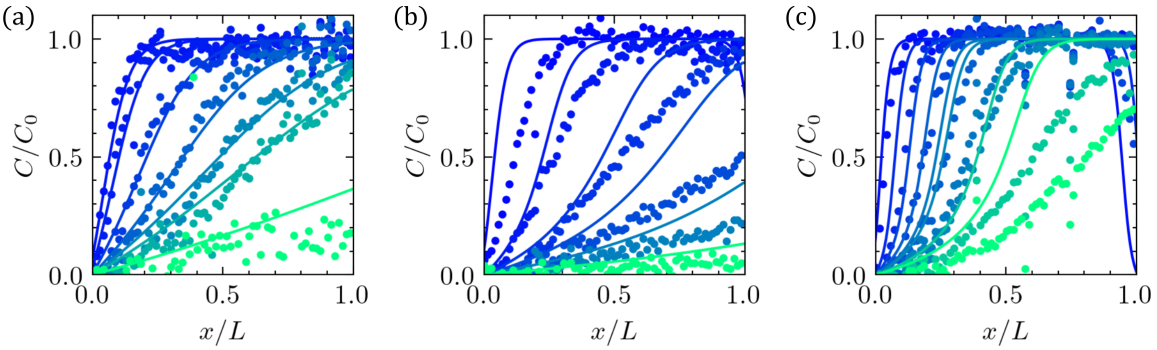


FIGURE 4.21 – Profils de concentration stationnaires de saccharose mesurés par spectroscopie Raman pour $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (a), $0.6\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (b) et $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (c). Les courbes pleines sont les prédictions du modèle de Kedem-Katchalsky, obtenues avec $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ mesurés indépendamment.

Le modèle de Kedem et Katchalsky permet de décrire quantitativement le transport, mais uniquement dans le régime dilué. Nous remarquons en outre que l'écart entre les résolutions numériques et les mesures expérimentales n'apparaît pas de façon abrupte, mais augmente progressivement avec la concentration. Comme le montre la Table 4.1, le terme Pe_m est de l'ordre de l'unité dans la configuration 1, mais augmente jusqu'à $\mathrm{Pe}_m \sim 5$ puis 10 dans les configurations 2 et 3. Ainsi, l'influence du terme de « retour » augmente dans l'équation de conservation, et le régime dilué est progressivement perdu. En outre, l'écart entre les prédictions du modèle et les expériences est une conséquence de notre définition de $\langle C \rangle$, qui est valide uniquement dans le régime dilué. En effet, les équations de Kedem et Kacthalsky sont définies pour un écart de concentration faible à travers la membrane, ce qui n'est pas vraiment le cas dans le cadre des expériences réalisées à $C_0 \simeq 0.6$ et $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$. Nous avons donc envisagé une autre approche pour modéliser le transport, basée sur les équations de Kedem et Spiegler [110].

4.4.2 Kedem-Spiegler

L'approche de Kedem et Spiegler, illustrée sur la Figure 4.22, consiste à modéliser la membrane comme une succession de membranes d'épaisseur $\mathrm{d}y \ll w_{\mathrm{m}}$, séparant des solutions de concentrations proches [110]. Ce faisant, il est possible d'appliquer les équations de Kedem et Katchalsky à chaque membrane infinitésimale, et de calculer le profil de concentration dans la membrane. Essentiellement, les flux trans-membranaires sont décrits par les équations de Kedem et Katchalsky en version locale [111], avec y

la direction orthogonale à la membrane d'épaisseur w_m :

$$J_v = -\mathcal{L}'_\mathrm{hyd}\left(\frac{\partial P}{\partial y} - \sigma\frac{\partial \Pi}{\partial y}\right), \tag{4.24}$$

$$J_s = (1-\sigma)CJ_v - \mathcal{L}'_\mathrm{D}\frac{\partial C}{\partial y}, \tag{4.25}$$

où les perméabilités hydraulique et au soluté sont exprimées selon $\mathcal{L}'_\mathrm{hyd} = \mathcal{L}_\mathrm{hyd}w_m$ et $\mathcal{L}'_\mathrm{D} = \mathcal{L}_\mathrm{D}w_m$ respectivement. Les termes $\partial_y P$, $\partial_y \Pi$ et $\partial_y C$ sont les gradients de pressions hydrostatique et osmotique, et de concentration à travers la membrane respectivement. Ces équations peuvent être intégrées à travers l'épaisseur de la membrane, avec $C(y = 0) = C$ et $C(y = w_\mathrm{m}) = C_0$, et en considérant les coefficients σ, $\mathcal{L}'_\mathrm{hyd}$ et $\mathcal{L}'_\mathrm{D}$ constants. Les flux dans le régime stationnaire s'expriment donc selon

$$J_v = -\mathcal{L}_\mathrm{hyd}(\Delta P - \sigma\Delta\Pi), \tag{4.26}$$

$$J_s = (1-\sigma)J_v\frac{C - C_0F}{1-F}, \tag{4.27}$$

avec $\mathcal{L}'_\mathrm{hyd} = \mathcal{L}_\mathrm{hyd}w_\mathrm{m}$ et $\mathcal{L}'_\mathrm{D} = \mathcal{L}_\mathrm{D}w_\mathrm{m}$, et où

$$F = \exp\left(-\frac{J_v}{\mathcal{L}_\mathrm{D}}(1-\sigma)\right). \tag{4.28}$$

Le flux de volume est donc exprimé de la même façon que dans le modèle de Kedem et Katchalsky. Dans notre configuration, $\Delta\Pi \gg \Delta P$, donc $J_v \simeq \sigma\mathcal{L}_\mathrm{hyd}\Delta\Pi$. Lorsque l'advection par le flux osmotique est négligeable devant le transport par diffusion, un développement limité au premier ordre donne $F \simeq 1-(1-\sigma)J_v/\mathcal{L}_\mathrm{D}$, donc on retrouve l'approximation du régime dilué ($\mathrm{Pe}_m \ll 1$) où $J_s \simeq \mathcal{L}_\mathrm{D}\Delta C$. Dans le régime inverse ($\mathrm{Pe}_m \gg 1$), $F \simeq 0$, et le transport du soluté est majoritairement advectif à travers la membrane. Cette approche permet donc de modéliser le transport sans que ΔC soit nécessairement faible.

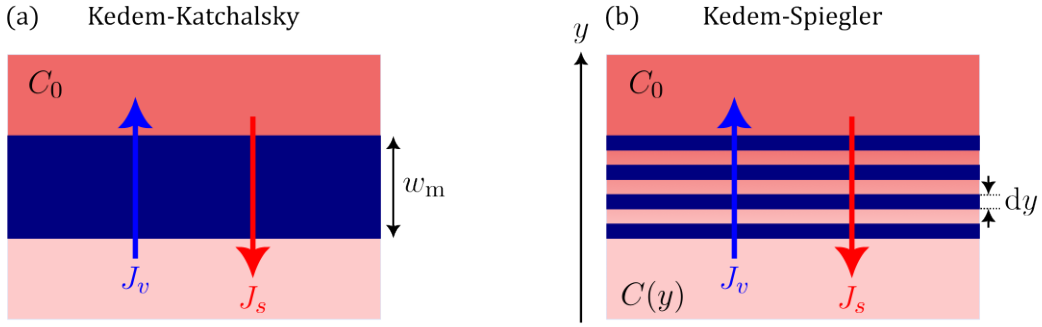


FIGURE 4.22 – Illustration du transport à travers une membrane perméable au soluté. (a) Modèle de Kedem et Katchalsky défini pour des faibles écarts de concentration ΔC. (b) Modèle de Kedem-Spiegler : la membrane est découpée en une succession de membranes d'épaisseur dy séparant des solutions de concentrations finies. Un profil $C(y)$ est alors défini à travers la membrane.

En respectant nos conventions établies pour l'adimensionnement des variables, l'équation de conservation du débit est exprimée selon l'éqn. (4.21), et la conservation du

soluté selon

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{T}} = -\mathrm{Pe}_m \frac{\partial}{\partial \mathcal{X}}(cv) + \frac{\mathrm{Pe}_m}{\mathrm{Pe}} \frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2} - \mathrm{Pe}_m \sigma(1-\sigma)(1-\pi)\frac{c-F}{1-F}\,, \tag{4.29}$$

où $F = \exp\left(-\mathrm{Pe}_m \sigma(1-\sigma)(1-\pi)\right)$ (forme adimensionnée).

La Figure 4.23 présente la même comparaison expérience-modèle que précédemment, mais en décrivant cette fois les flux trans-membranaires à l'aide du formalisme de Kedem–Spiegler. Comme pour la Figure 4.21, nous superposons aux profils stationnaires mesurés par spectroscopie Raman les profils prédits par la résolution numérique de l'équation de conservation du soluté, en utilisant les mêmes paramètres de transport mesurés indépendamment ($\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}} \simeq 78\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$, $\sigma = 0.65$ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}} \simeq 0.27\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$). On observe que, malgré une description plus détaillée du flux de soluté à travers la membrane, l'accord n'est pas significativement amélioré par rapport au modèle de Kedem et Katchalsky. Le modèle reste pertinent dans le régime dilué, mais des écarts persistent et s'accentuent lorsque C_0 augmente. On retrouve, comme précédemment, les chutes soudaines des profils de concentration, cette fois au milieu du canal, qui ne semblent pas provenir d'un état transitoire. Nos résultats montrent clairement que le formalisme de Kedem-Spiegler ne permet pas d'améliorer significativement la description des profils mesurés par rapport au modèle de Kedem-Katchalsky dans notre configuration. Les deux approches reproduisent correctement la tendance générale dans le régime dilué ($C_0 \leq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$) mais l'accord se dégrade progressivement lorsque C_0 augmente.

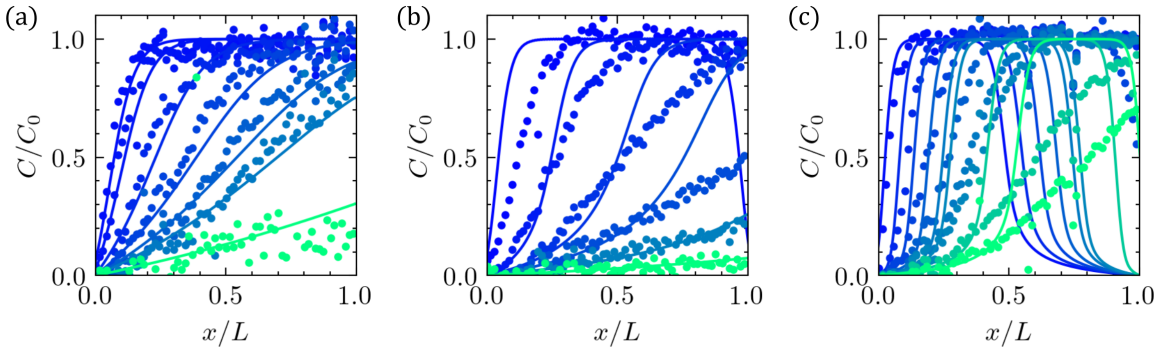


FIGURE 4.23 – Profils de concentration stationnaires de saccharose mesurés par spectroscopie Raman pour $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (a), $0.6\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (b) et $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (c). Les courbes pleines sont les prédictions du modèle de Kedem-Spiegler, obtenues avec $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ mesurés indépendamment.

Cette évolution pourrait refléter une modification des paramètres de transport de la membrane, que nous avons jusqu'ici considérés comme constants. Dans la suite, nous faisons donc l'hypothèse que $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ dépendent de la concentration en soluté. Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé la même expérience dans le régime concentré avec $C_0 \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$, mais en conservant une différence de concentration faible entre les deux compartiments. Nous imposons donc, à l'entrée du canal CD, un écoulement d'une solution de saccharose de concentration $C_i \simeq 0.8\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ (nous renvoyons le lecteur à la Section 5.1.2 qui traite de l'advection de soluté à travers une membrane qui lui est transparente). Dans cette configuration, nous pouvons appliquer les équations de Kedem et Katchalsky car la différence de concentration entre les deux compartiments est du même ordre que dans la configuration où $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$, décrite

avec des paramètres de transport constants. Nous adaptons en conséquence les conditions du problème numérique en imposant $C(-\ell, t) = C_i$ à l'entrée et $C(x, t = 0) = C_i$ comme condition initiale. La résolution de l'équation de conservation fournit alors les profils de concentration prédits par le modèle, que nous confrontons directement aux mesures expérimentales sur la Figure 4.24. Les profils montrent une augmentation de la concentration de C_i à C_0, et les courbes issues de la résolution numérique, superposées aux points expérimentaux, semblent décrire correctement cette dynamique pour chacune des vitesses imposées entre 1 et 17 µm s^{-1}. Dans cette configuration, les paramètres de transport peuvent être supposés constants car la variation de concentration entre C_i et C_0 reste faible. Nous constatons toutefois que l'accord avec les données n'est obtenu qu'en prenant $\sigma \simeq 0.5$ et de $\mathcal{L}_{\text{hyd}} \simeq 58\,\text{nm s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$, qui sont plus faibles que les valeurs déterminées dans le régime dilué (la valeur de perméabilité hydraulique mesurée avec de l'eau est de $\mathcal{L}_{\text{hyd}} \simeq 72.5\,\text{nm s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$). Cette observation suggère donc une diminution de ces coefficients lorsque la concentration augmente, point que nous examinons plus en détail dans la Section 4.5.

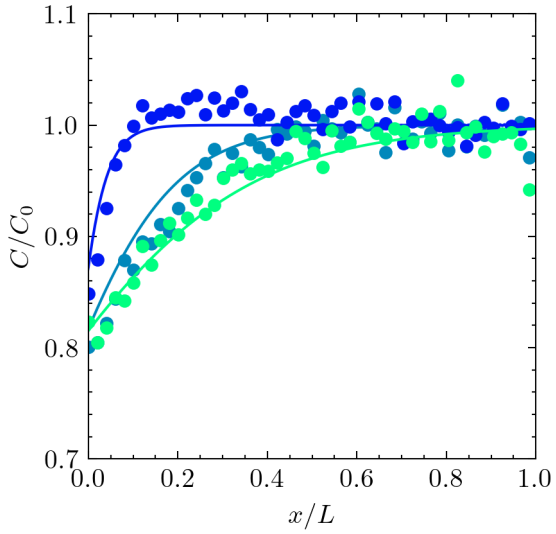


FIGURE 4.24 – Profils de concentration stationnaires de saccharose mesurés par spectroscopie Raman pour $C_0 \simeq 1\,\text{mol L}^{-1}$ et $C_i \simeq 0.8\,\text{mol L}^{-1}$. Les courbes pleines sont les prédictions du modèle de Kedem-Katchalsky où $\mathcal{L}_{\text{hyd}} \simeq 58\,\text{nm s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$, $\sigma \simeq 0.5$ et $\mathcal{L}_{\text{D}} \simeq 0.24\,\mu\text{m s}^{-1}$.

Comme nous l'avons vu, le transport peut être modélisé selon les équations de Kedem et Katchalsky ou celles de Kedem Spiegler, qui sont une version plus locale. Ces deux approches reproduisent correctement la tendance générale de notre expérience dans le régime dilué ($C_0 \leq 0.3\,\text{mol L}^{-1}$), mais l'accord avec les expériences se dégrade toujours lorsque C_0 augmente. Nous avons donc réalisé une expérience dans laquelle la concentration est *en moyenne* toujours élevée ($C_0 \simeq 1\,\text{mol L}^{-1}$ et $C_i \simeq 0.8\,\text{mol L}^{-1}$). On montre alors qu'un bon accord peut être retrouvé, à condition de modifier les valeurs de σ et de $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$, initialement caractérisées dans le régime dilué. L'ensemble de ces résultats suggère que les paramètres de transport de la membrane ne peuvent peut être pas être considérés constants sur toute la gamme de concentration étudiée, ce qui remet en cause l'approche de Kedem et Spiegler. Dans la prochaine section, nous examinons donc l'hypothèse d'une dépendance en concentration des paramètres σ, $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ et $\mathcal{L}_{\text{D}}$ en nous appuyant sur des mesures indépendantes.

4.5 Variation des paramètres de transport avec la concentration

La comparaison entre les profils stationnaires mesurés et les prédictions numériques obtenues suggère que les paramètres de transport varient sur la gamme de concentration explorée. Pour caractériser cette variation, nous estimons ces paramètres expérimentalement à partir de mesures d'écoulements osmotiques transitoires en appliquant la méthodologie détaillée dans la Section 3.4.2. Cette caractérisation est effectuée en imposant une différence de concentration faible de part et d'autre de la membrane, pour appliquer les équations de Kedem et Katchalsky. Dans un second temps, nous modélisons à nouveau le transport dans la membrane, dans le cas d'une différence de concentration quelconque, en nous basant sur les équations de Kedem-Spiegler et en intégrant la dépendance en concentration de $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ et σ.

4.5.1 Mesure d'écoulements osmotiques transitoires

Afin de quantifier l'évolution des paramètres de transport avec la concentration en soluté, nous réalisons des mesures d'écoulements osmotiques transitoires dont la méthodologie est détaillée dans la Section 3.4.2. Dans cette expérience, le flux de volume J_v, induit par la différence de pression osmotique, décroît dans le temps en raison de la perméation du soluté à travers la membrane. La Figure 4.25 illustre le principe de cette nouvelle itération. La subtilité réside dans le fait que la différence de concentration initiale, $\Delta C = C_0 - C_i$, est maintenue constante. Par exemple, lorsque $C_0 \simeq 0.3\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$, le canal inférieur contient de l'eau pure ($C_i = 0$). Lorsque la concentration dans le réservoir est augmentée, la concentration initiale dans le canal inférieur est également relevée, de façon à maintenir un écart relativement faible $\Delta C \simeq 5\,\%$ (fraction massique). Cette approche permet de conserver une force osmotique initiale comparable entre les expériences, tout en augmentant progressivement la concentration en moyenne de part et d'autre de la membrane.

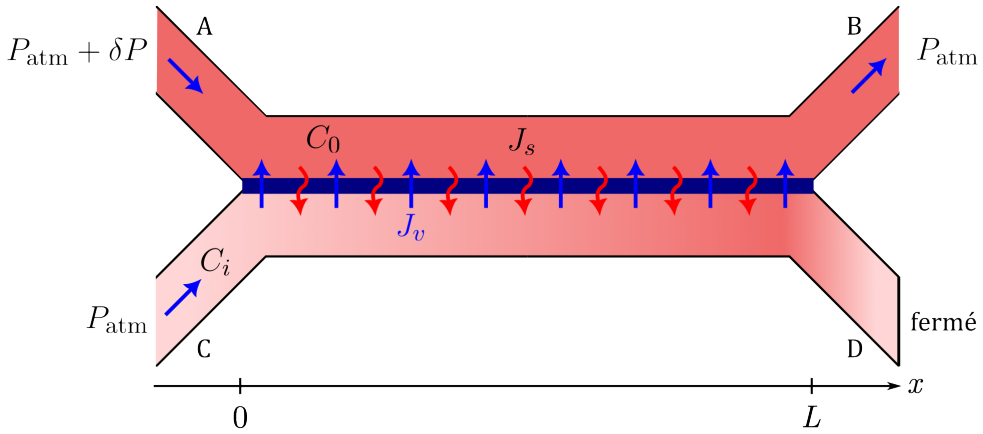


FIGURE 4.25 – Principe de la mesure d'écoulement transitoire avec un ΔC initial constant.

Avant le lancement de l'expérience, tous les canaux sont remplis d'une solution de concentration C_i. Notons que le canal CD contient des traceurs fluorescents (inVitrogen fluosphères, diamètre 1 µm) et est fermé en sortie (D). À $t = 0$, un écoulement constant d'une solution de saccharose de concentration $C_0 > C_i$ est imposé dans le canal AB

par une perte de charge δP. L'écoulement osmotique dans le canal CD est transitoire en raison de la perméation du soluté à travers la membrane. La vitesse de l'écoulement osmotique est donc mesurée dans l'entrée du canal CD en fonction du temps par PTV, et ce dès l'injection du soluté à C_0.

Nous avons réalisé l'expérience illustrée en Figure 4.25 en augmentant la concentration moyenne en saccharose de $\overline{C} \simeq 0.15$ à $1.1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$. Notons que la perte de charge imposée dans le réservoir est également augmentée avec la concentration, de $\delta P = 50$ à 200 mbar afin d'éviter la formation d'une couche limite de dilution. La Figure 4.26a présente les tracés de la vitesse d'entrée en fonction du temps. La vitesse est normalisée par rapport à $V_0 = (L/w)\mathcal{L}^0_{\mathrm{hyd}}(\Pi(C_0) - \Pi(C_i))$ la vitesse caractéristique de l'écoulement osmotique, où $\mathcal{L}^0_{\mathrm{hyd}}$ est la perméabilité hydraulique mesurée avec l'eau. On remarque que la dynamique de décroissance de la vitesse est bien plus lente dans le régime dilué (courbes bleues) que dans le régime concentré (courbe vertes). En réalité, la diminution du temps caractéristique lorsque la concentration augmente est une conséquence directe du fait que du saccharose soit initialement présent dans le canal à $t = 0$. Si en plus de la perméation du soluté à travers la membrane, ce dernier est advecté par le flux osmotique dans l'entrée, alors on s'attend à une dynamique plus rapide. Cet effet est particulièrement marqué entre la première courbe (1) et les autres sur la Figure 4.26a. La courbe 1 correspond à l'ensemble de données pour lequel $C_i = 0$, soit à l'expérience menée dans la Section 3.4.2, tandis que $C_i > 0$ pour les autres courbes, qui montrent toutes une dynamique plus rapide.

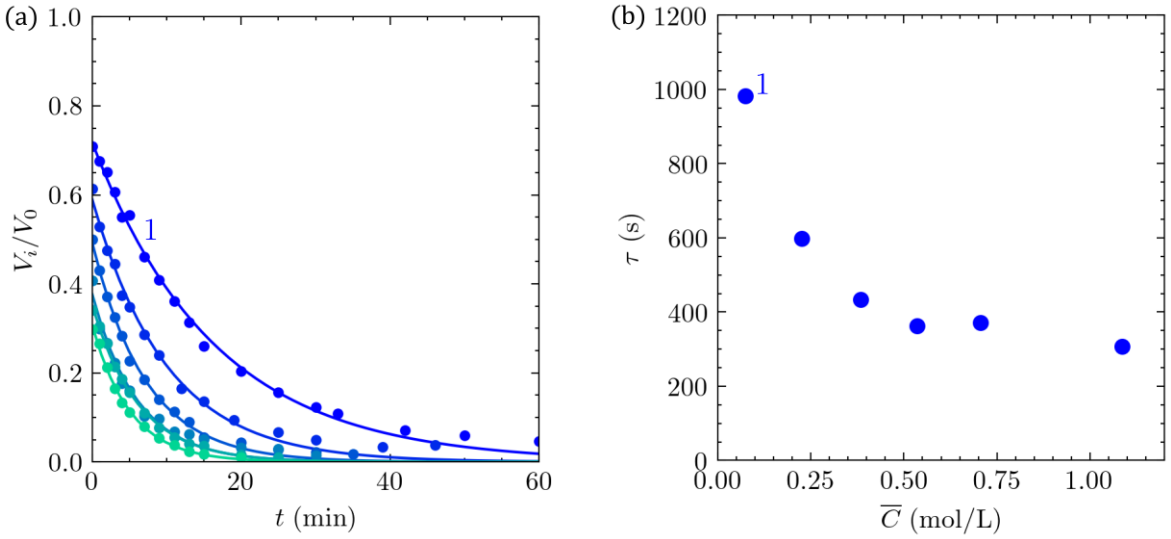


FIGURE 4.26 – Caractérisation des écoulements transitoires induits par une différence de concentration faible. (a) Tracés de la vitesse d'entrée normalisée V_i/V_0 en fonction du temps t pour des solutions de saccharose de concentration moyenne 0.07, 0.23, 0.38, 0.53, 0.71 et 1.09 (du bleu au vert). Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.30) avec τ pour chaque concentration. (b) Tracé du temps caractéristique τ en fonction de la concentration moyenne $\overline{C}$.

Au lancement de l'expérience, la vitesse de l'écoulement à l'entrée, générée par le flux osmotique, est $V(t = 0) = \sigma \ell_{\mathrm{hyd}} \mathcal{L}^0_{\mathrm{hyd}} \Delta\Pi(t = 0)$, où $\ell_{\mathrm{hyd}}(C) = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(C)/\mathcal{L}^0_{\mathrm{hyd}}$ est un paramètre sans dimension qui décrit la variation de la perméabilité hydraulique par rapport à sa valeur mesurée avec l'eau, et $\Delta\Pi(t = 0) = \Pi(C_0) - \Pi(C_i)$. Afin

d'interpréter quantitativement la décroissance du flux osmotique mesuré dans cette nouvelle configuration, les données sont ajustées de façon empirique selon

$$V_i/V_0 = \sigma\ell_{\mathrm{hyd}} \exp\left(-t/\tau\right), \tag{4.30}$$

où τ est le temps caractéristique de la décroissance. Notons que ce modèle n'est pas correct car le terme de « retour » n'est pas négligeable dans cette configuration (voir éqn. (4.22)), mais il nous permet tout de même d'estimer un ordre de temps caractéristique. Ce dernier est tracé en fonction de la concentration sur la Figure 4.26b, et souligne effectivement une décroissance dans le régime concentré comme mentionné précédemment. L'ajustement nous permet en outre de déterminer le produit $\sigma\ell_{\mathrm{hyd}}$, dont la valeur peut être lue directement via l'ordonnée à l'origine puisque $V_i(t=0) = \sigma\ell_{\mathrm{hyd}}V_0$. Nous avons reproduit l'expérience dans plusieurs puces, et la Figure 4.27 présente l'évolution de $\sigma\ell_{\mathrm{hyd}}$ en fonction de la concentration, où nos différents ensembles de données sont regroupés. Comme on peut le voir, le produit diminue de 0.7 à 0.4 lorsque la concentration augmente de 0.12 à environ 1.1 mol L^{-1}.

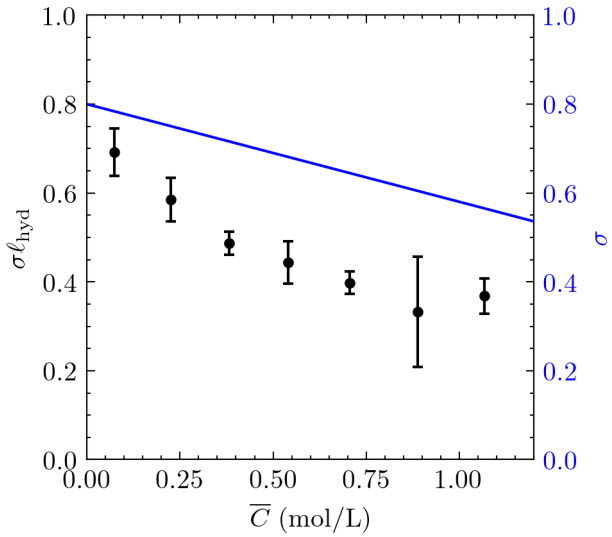


FIGURE 4.27 – Tracé du produit $\sigma\ell_{\mathrm{hyd}}$ en fonction de la concentration moyenne $\overline{C}$, déterminé à partir de l'ordonnée à l'origine des mesures transitoires pour différents ensemble de données. Les incertitudes sont calculées à partir de l'écart type sur les mesures. La droite bleue provient un ajustement de mesures indépendantes de σ selon l'éqn. (4.31) avec $a_0 \simeq 0.8$ et $b_0 \simeq 0.22\,\mathrm{L\,mol^{-1}}$ (A. Monier, données non publiées).

Notre expérience ne nous permet pas de décorréler la variation de ℓ_{hyd} de celle de σ en fonction de la concentration. Dans ce contexte, nous reportons également sur la Figure 4.27 un ajustement issu de mesures indépendantes du coefficient de réflexion en fonction de la concentration. Ces mesures proviennent d'expériences réalisées par Antoine Monier (données non publiées), dont le principe est brièvement présenté ci-dessous. Comme illustré sur la Figure 4.28, des hydrogels cylindriques (appelés *tores* par la suite) sont photo-réticulés dans un canal. Leur perméabilité est a priori identique à celle de notre hydrogel long, la formulation et les conditions d'illumination étant les mêmes. Après plusieurs heures de lavage afin d'éliminer la solution non réticulée, un écoulement de solution de saccharose est imposé dans le canal ($t = 0$) et circule autour des tores, dont l'intérieur contient initialement de l'eau. Aucun flux volumique n'est

possible car les tores sont des objets fermés, donc $J_v = 0$. Ainsi, une différence de pression hydrostatique $\Delta P = \sigma\Delta\Pi$ s'établit à l'équilibre. Plus précisément, la pression hydrostatique diminue à l'intérieur du tore ($P_{\text{tore}} = P_{\text{atm}} - \sigma\Delta\Pi$), ce qui induit une déformation δ (compression) de l'hydrogel. Notons que la pression interne peut alors devenir négative. Dans un second temps, on observe une décompression progressive de l'hydrogel, caractéristique de la perméation du saccharose à travers la membrane ($\sigma < 1$). Le tore retrouve sa forme initiale lorsque les concentrations à l'intérieur et à l'extérieur se sont équilibrées (t_∞). La compression δ du tore est proportionnelle à la force osmotique $\sigma\Delta\Pi$ associée à la différence de concentration en soluté. Le coefficient de réflexion est déterminé en comparant la compression initiale induite par le saccharose à celle induite par un soluté de même pression osmotique, mais de masse molaire supérieure au seuil de coupure de la membrane (pour lequel $\sigma = 1$). Une courbe de calibrage de δ avec ce soluté de référence est établie pour effectuer l'analyse. L'expérience est ensuite répétée en augmentant progressivement la concentration, tout en maintenant un faible écart initial, de manière similaire à notre configuration en régime transitoire. Nous obtenons alors une forme empirique de l'évolution du coefficient de réflexion avec la concentration :

$$\sigma(C) = a_0(1 - b_0 C)\,, \tag{4.31}$$

où $a_0 \simeq 0.8$ et $b_0 \simeq 0.22\,\text{L mol}^{-1}$ sont des paramètres d'ajustement.

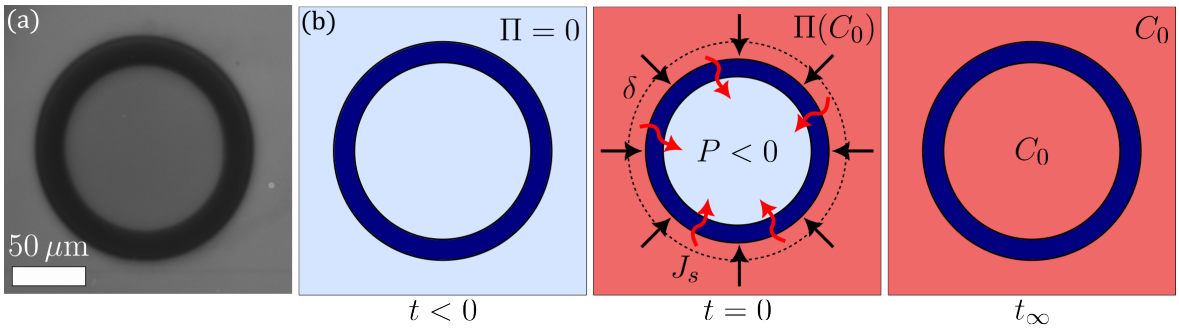


FIGURE 4.28 – (a) Image en microscopie de fluorescence montrant de la fluoréscéine à l'intérieur et l'extérieur du tore. (b) Principe de la de mesure de σ basée sur la déformation transitoire d'hydrogels cylindriques.

Ces résultats constituent une première indication quantitative de la dépendance en concentration des paramètres de transport, qui renforce l'idée que les modèles de Kedem-Katchalsky et de Kedem-Spiegler ne sont plus valides dans régime concentré. Les relations empiriques établies dans cette section sont utilisées dans la suite dans une modélisation plus complète du transport.

4.5.2 Modèle perturbatif

Nous revenons à présent à la modélisation du transport dans l'objectif de décrire quantitativement les profils de concentration mesurés dans le régime concentré (Fig. 4.18b-c). Le coefficient de réflexion est décrit par une loi empirique selon l'éqn. (4.31) avec $a_0 \simeq 0.8$ et $b_0 \simeq 0.22\,\text{L mol}^{-1}$. Par ailleurs, nous avons précédemment déterminé l'évolution du produit $\sigma\ell_{\text{hyd}}$ en fonction de la concentration (Fig. 4.27). Ainsi, nous pouvons

dissocier les contributions de σ et de $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ et déduisons une expression empirique de la perméabilité hydraulique en fonction de la concentration, selon

$$\mathcal{L}_{\text{hyd}}(C) = \mathcal{L}^0_{\text{hyd}} \exp\left(-C/C^*\right), \tag{4.32}$$

où $C^* \simeq 1\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$ est un paramètre déterminé arbitrairement. Le coefficient de perméation $\mathcal{L}_{\text{D}}$ est quant à lui supposé indépendant de la concentration, comme le suggèrent les expériences avec les tores (non montré).

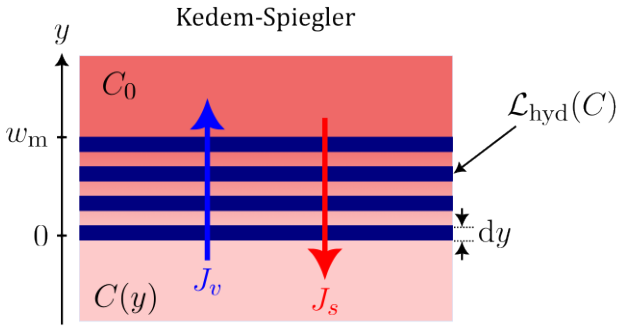


FIGURE 4.29 – Modèle de Kedem-Spiegler : la membrane est découpée en une succession de membranes d'épaisseur dy séparant des solutions de concentrations finies. Un profil $C(y)$ est alors défini à travers la membrane.

Pour tenir compte de la dépendance des paramètres de transport avec la concentration, nous adoptons une approche dans laquelle les flux trans-membranaires dépendent explicitement de la concentration locale, et sont exprimés selon le modèle de Kedem-Spiegler (Fig. 4.29) :

$$J_v(C) = -\mathcal{L}'_{\text{hyd}}(C)\left(\frac{\partial P}{\partial y} - \sigma(C)\frac{\partial \Pi(C)}{\partial y}\right), \tag{4.33}$$

$$J_s(C) = (1-\sigma(C))C J_v(C) - \mathcal{L}'_{\text{D}}\frac{\partial C}{\partial y}. \tag{4.34}$$

Le système est défini par la concentration en soluté C_0 imposée dans le réservoir, la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}^0_{\text{hyd}}$ mesurée dans l'eau, et $\mathcal{L}_{\text{D}}$ le coefficient de perméation mesuré en régime dilué. Connaissant les formes empiriques de σ et $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$, et pour une concentration $C(y=0)$ imposée, les profils de concentration et de pression osmotique à travers la membrane, et donc les flux trans-membranaires J_v et J_s, peuvent être déterminés. En pratique, ce calcul est effectué suivant une approche perturbative développée par Pierre Lidon, dans laquelle les flux trans-membranaires sont déterminés en imposant de faibles perturbations de la concentration. La méthodologie est détaillée dans l'annexe A, et est appliquée en faisant varier $C(y=0)$ entre 0 et C_0. Les flux correspondants sont présentés sur la Figure 4.30 pour deux configurations étudiées, $C_0 \simeq 0.3\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$ et $C_0 \simeq 1\,\text{mol}\,\text{L}^{-1}$. Ces derniers sont représentés en fonction de la différence de concentration à travers la membrane normalisée par C_0. Lorsque $\Delta C = 0$, les flux sont nuls, la force osmotique étant elle-même nulle. À l'inverse, lorsque $\Delta C \to C_0$ (soit $C = 0$), le flux volumique augmente avec la différence de pression osmotique, cet effet étant nettement plus marqué dans le régime concentré (Fig. 4.30b). Le même comportement est observé pour le flux de soluté, de signe opposé selon nos conventions, correspondant à un transport du réservoir vers le canal. Enfin, on observe que

la dépendance des flux avec ΔC est quasi-linéaire dans le régime dilué (Fig. 4.30a), tandis qu'une non-linéarité apparaît progressivement dans le régime concentré. Cette différence reflète directement l'importance des variations des paramètres de transport avec la concentration.

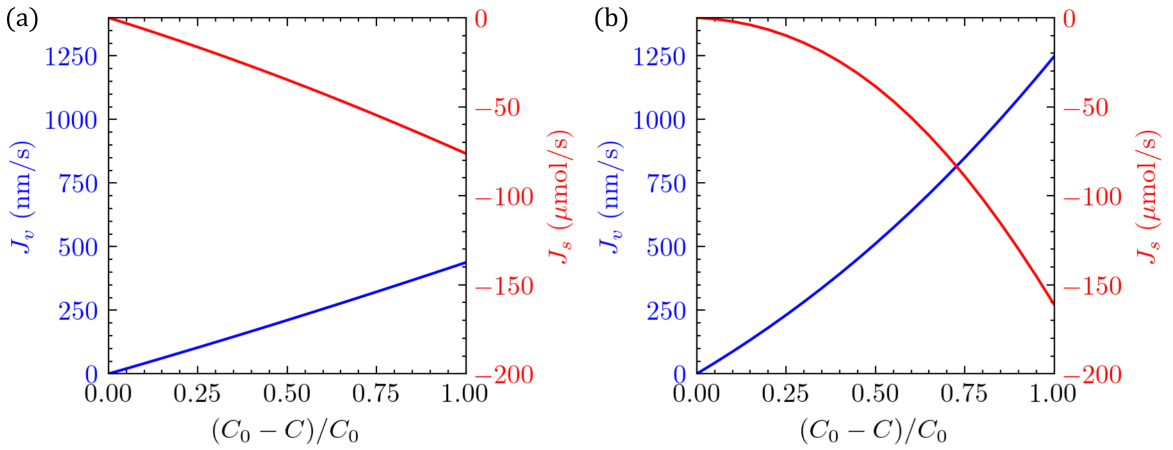


FIGURE 4.30 – Calibrage des flux trans-membranaires en fonction de la concentration. Tracés de J_v (courbes bleues) et J_s (courbes rouges) en fonction de $\Delta C/C_0$ avec (a) $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et (b) $C_0 \simeq 1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$.

Une fois ce « calibrage » effectué, l'équation de conservation du soluté est résolue numériquement en appliquant la méthodologie présentée dans la Section 4.4 (discrétisation de l'espace). Le système à résoudre se compose de l'équation de conservation du débit

$$\frac{\partial v}{\partial \mathcal{X}} = -\frac{1}{\mathcal{L}^0_{\mathrm{hyd}}\Pi(C_0)} J_v\,, \tag{4.35}$$

ainsi que de l'équation de conservation du soluté

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{T}} = -\mathrm{Pe}_m \frac{\partial}{\partial \mathcal{X}}(cv) + \frac{\mathrm{Pe}_m}{\mathrm{Pe}} \frac{\partial^2 c}{\partial \mathcal{X}^2} - \frac{1}{C_0 \mathcal{L}_{\mathrm{D}}} J_s\,, \tag{4.36}$$

que nous avons écrites sous leur forme adimensionnée, en conservant les conventions établies précédemment. Dans ces expressions, J_v et J_s sont traités comme des fonctions de la concentration, que l'on a calculées en tenant compte des lois empiriques déterminées pour $\sigma(C)$ et $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(C)$. Les profils de concentration obtenus sont présentés sur la Figure 4.31. On observe que l'accord s'est nettement amélioré avec les données expérimentales dans le régime concentré. Le modèle reproduit correctement l'amplitude des gradients de concentration ainsi que la position de la zone où $C \to C_0$, ce qui n'était pas possible avec les modèles précédents. Ces résultats confirment que la caractérisation des paramètres de transport sur l'ensemble de la gamme de concentration est essentielle pour décrire quantitativement le transport osmotique en régime concentré.

4.6 Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons étudié le transport osmotique d'un soluté dans les régimes dilué et concentré dans une configuration microfluidique permettant d'atteindre un état stationnaire. Afin de contrôler finement les faibles débits nécessaires (du même

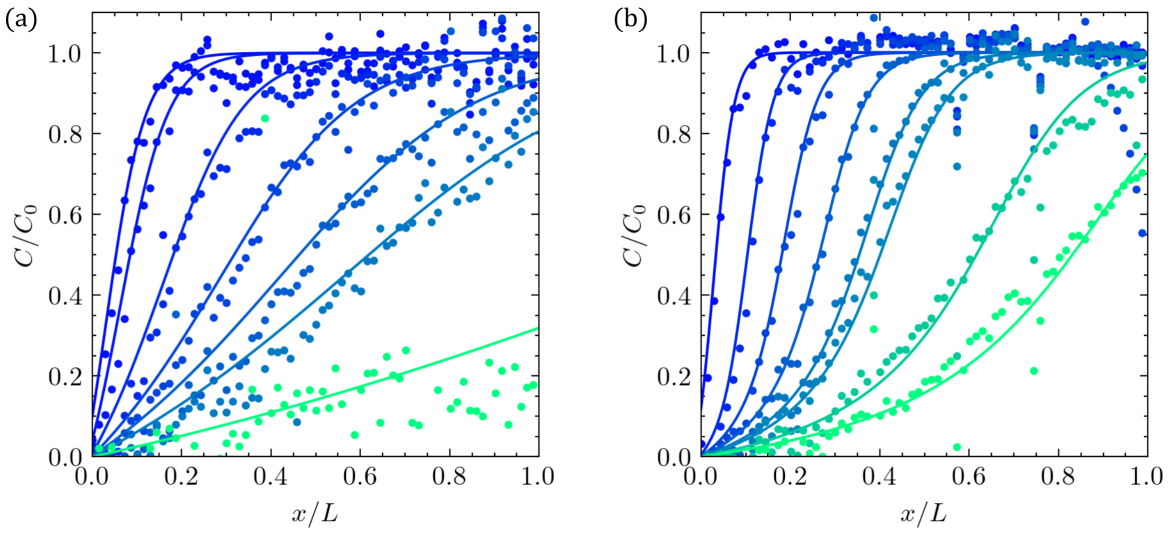


FIGURE 4.31 – Profils de concentration stationnaires de saccharose mesurés par spectroscopie Raman pour (a) $C_0 \simeq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$ et (b) $1\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$. Les courbes pleines sont les prédictions obtenues avec le modèle perturbatif intégrant la dépendance en concentration des paramètres de transport $\sigma(C)$ et $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(C)$.

ordre que le flux de volume osmotique à travers la membrane), deux stratégies ont été développées : l'intégration d'une résistance hydraulique externe sous forme de puce en PDMS, et l'ajout d'une membrane *macro-poreuse* directement au sein du dispositif. Ces approches permettent de localiser la perte de charge en amont du canal d'étude et d'y maintenir la pression atmosphérique. Nous avons ensuite mesuré localement la concentration en soluté par spectroscopie Raman. Cette technique nous a permis d'accéder aux profils de concentration résolus spatialement dans le canal, et de suivre leur évolution dans le temps jusqu'à l'établissement du régime stationnaire. Les mesures montrent que le temps caractéristique d'établissement de ce régime est du même ordre que la diffusion du soluté à travers la membrane, et que les profils stationnaires résultent d'un équilibre entre l'advection dans le canal, imposée par le flux d'entrée, et l'apport de soluté par sa perméation à travers la membrane. Le tracé des profils met en évidence différents régimes selon le rapport V_i/V_0, avec V_0 la vitesse osmotique caractéristique de l'écoulement. Lorsque l'advection domine, le soluté est efficacement évacué et la concentration reste faible et uniforme. Dans le régime inverse, lorsque la diffusion du soluté à travers la membrane domine, le soluté s'accumule dans le canal et la concentration se stabilise vers celle du réservoir. Un régime intermédiaire donne lieu à des gradients de concentration le long du canal, directement observés expérimentalement.

Afin d'interpréter ces observations, nous avons modélisé le transport (1D) à travers la membrane en nous basant sur plusieurs approches. Les flux de volume et de soluté ont d'abord été décrits à l'aide du formalisme de Kedem et Katchalsky, puis du modèle de Kedem et Spiegler. Les deux approches reproduisent correctement la tendance générale dans le régime dilué ($C_0 \leq 0.3\,\mathrm{mol\,L^{-1}}$), mais l'accord entre les prédictions théoriques et les résultats expérimentaux se dégrade progressivement lorsque C_0 augmente. Nous avons donc émis l'hypothèse que les paramètres de transport de la membrane, $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$, σ et $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$, ne sont pas constants sur toute la gamme de concentration étudiée. Cette hypothèse est notamment renforcée par une expérience complémentaire en régime concentré,

à faible différence de concentration, pour lesquelles un bon accord modèle-expérience est retrouvé au prix d'une modification des paramètres. Nous nous sommes donc concentrés sur la détermination des paramètres $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ et σ sur une large gamme de concentration couvrant les régimes dilué et concentré, par des mesures d'écoulements osmotiques transitoires. Nos résultats ont effectivement souligné une variation de ces paramètres avec la concentration, ce qui a motivé le développement d'un modèle perturbatif du transport, qui permet de prédire correctement les profils de concentration dans la configuration stationnaire peu importe le régime de concentration.

Dans le chapitre suivant, nous poursuivons l'étude du transport osmotique en régime concentré en nous intéressant à des situations où le soluté advecté ne traverse pas la membrane, en lien avec des systèmes biologiques tels que le phloème.

Chapitre 5

Vers un modèle microfluidique du mécanisme de Münch

Contents

5.1 Chargement en soluté et transport osmotique 128
5.1.1 Principe de l'expérience 128
5.1.2 Chargement du soluté dans le canal 129
5.1.3 Mesure des profils de concentration 133
5.1.4 Modélisation du transport 135
5.2 Couplage entre transport osmotique et pression négative 137
5.2.1 Principe de l'expérience 137
5.2.2 Mesure des profils de concentration 139
5.2.3 Modélisation du transport dans le phloème 142
5.2.4 Échelle caractéristique du transport 146
5.3 Conclusions 147

Dans ce chapitre, nous poursuivons l'étude du transport en régime concentré, cette fois dans une configuration où le soluté ne peut pas traverser la membrane ($\sigma = 1$). Nous montrons dans un premier temps une configuration microfluidique qui nous permet de générer un écoulement osmotique stationnaire et ainsi de reproduire le transport de solutés comme dans le phloème. Cette configuration est utilisée pour mesurer localement les profils de concentration. Nous introduisons ensuite une nouvelle configuration pour reproduire le couplage entre le transport osmotique des solutés dans le phloème et la pression négative de l'eau dans le xylème. Après avoir mesuré les profils de concentration en variant le taux de chargement des solutés dans le système, nous développons une modélisation du transport des solutés que l'on confronte à nos expériences. Ce chapitre constitue une étape importante car il établit la faisabilité de puces microfluidiques complexes, comprenant l'intégration *in situ* de plusieurs membranes, tout en permettant une caractérisation locale du transport, un élément clé de la démarche développée dans cette thèse.

5.1 Chargement en soluté et transport osmotique

Nous allons dans un premier temps étudier le transport osmotique de solutés (PEG-4000) dans la configuration microfluidique de référence utilisée tout au long de cette thèse, constituée de deux canaux parallèles séparés par une membrane. Nous allons tout d'abord montrer comment générer un écoulement osmotique de solutés, à l'image du transport dans le phloème. Nous détaillons ensuite la méthode de chargement du soluté dans le canal de transport, réalisée en injectant une solution de PEG-4000 à travers une résistance hydraulique (membrane *macro-poreuse*) positionnée en amont du canal. Enfin, nous mesurons les profils de concentration le long du canal en faisant varier le taux de chargement en soluté, puis nous confrontons ces résultats à une modélisation inspirée des travaux de Haaning *et al.* [53].

5.1.1 Principe de l'expérience

La Figure 5.1 illustre l'expérience mise en œuvre. Le canal AB est constamment alimenté par un écoulement d'eau en imposant une différence de pression $\delta P = P_\mathrm{A} - P_\mathrm{B} < 50\,\mathrm{mbar}$. Il joue le rôle de réservoir d'eau infini, à l'image du xylème, bien qu'à pression atmosphérique dans notre configuration. Le compartiment CD est quant à lui constamment alimenté en solutés par un écoulement de vitesse V_i, imposée à l'entrée C. La sortie D reste ouverte à pression atmosphérique. Lors de l'arrivée du soluté en $x = 0$, la différence de concentration de part et d'autre de la membrane génère une différence de pression osmotique et donc un écoulement trans-membranaire J_v du réservoir vers le canal CD. Ainsi, on observe une diminution de la concentration $C(x)$, soit une augmentation de la vitesse de l'écoulement $V(x)$, le long du canal. La majorité des études du mécanisme de Münch et du transport des sucres dans le phloème supposent que le milieu perméable séparant le xylème du phloème est imperméable aux sucres, soit $\sigma = 1$ [47-49]. Par conséquent, nous avons écarté la possibilité d'utiliser le saccharose comme agent osmotique, pour lequel $\sigma < 1$, et nous sommes tournés vers un soluté dont la masse molaire est supérieure au seuil de coupure de la membrane (d'environ $1\,\mathrm{kg\,mol^{-1}}$). Le saccharose est donc remplacé par du PEG-4000.

Le canal CD étant ouvert, le système atteint un état stationnaire, caractérisé par un

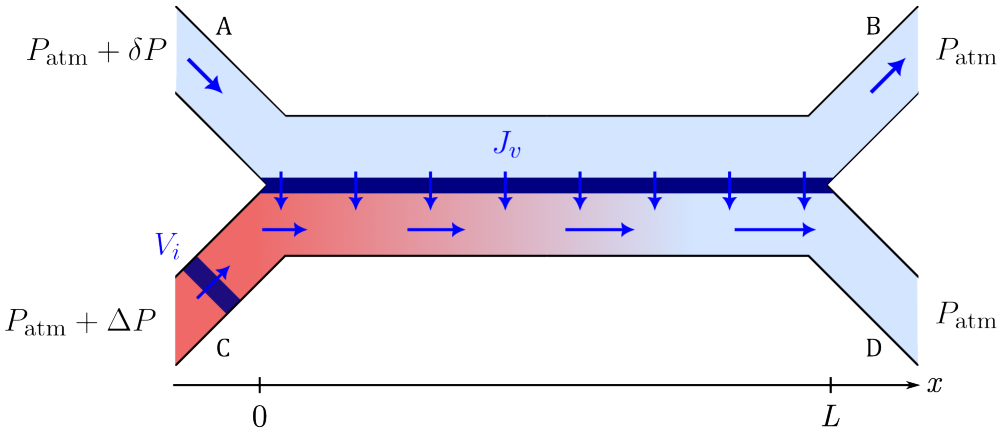


FIGURE 5.1 – Transport osmotique de PEG-4000 dans le canal. Le canal AB est alimenté en eau et joue le rôle de réservoir, tandis que le canal CD est alimenté en soluté à l'entrée C par une vitesse imposée V_i. La membrane qui sépare les deux compartiments génère un flux osmotique J_v sans passage de soluté ($\sigma = 1$). La membrane *macro-poreuse*, placée en amont du canal CD, est une résistance hydraulique permettant de contrôler le flux d'entrée de soluté.

profil de vitesse et un profil de concentration en soluté. La forme des profils est le résultat d'une compétition entre l'écoulement advectif de soluté imposé à l'entrée et l'écoulement osmotique généré à travers la membrane. On identifie alors deux limites. Lorsque V_i est élevée devant la vitesse osmotique du soluté, exprimée par $V_0 \simeq (L/w)\mathcal{L}_{\text{hyd}}\Pi_0$, l'écoulement généré par la pression osmotique est négligeable. Dans ce cas, le profil de vitesse dans le canal est faiblement impacté par le flux osmotique, et est donc quasi-constant. Dans le régime inverse cependant ($V_i \ll V_0$), l'écoulement osmotique joue un rôle dominant, donc on observe une augmentation notable de la vitesse de l'écoulement dans le canal CD. Notons cependant que le transport du soluté par diffusion joue également un rôle dans ce cas. Pour étudier le transport osmotique, nous nous sommes concentrés sur la mesure des profils de concentration en soluté en variant la vitesse d'injection V_i du soluté, ainsi que la concentration C_i de la solution. Ainsi, nous cherchons à imposer une vitesse d'entrée $V_i \sim V_0$. En utilisant les paramètres de notre configuration, où $L \simeq 1.5\,\text{cm}$, $w \simeq 100\,\mu\text{m}$ et $\mathcal{L}_{\text{hyd}} \simeq 70\,\text{nm}\,\text{s}^{-1}\,\text{bar}^{-1}$, et en considérant une solution de PEG-4000 de concentration $C_0 = 51.5\,\text{mmol}\,\text{L}^{-1}$, soit de pression osmotique $\Pi_0 \simeq 7\,\text{bar}$ (voir Fig. 3.11), on obtient $V_0 \sim 70\,\mu\text{m}\,\text{s}^{-1}$, qui est du même ordre que les vitesses imposées dans le Chapitre 4.

5.1.2 Chargement du soluté dans le canal

Le soluté est introduit dans le canal par advection (V_i). Le flux d'entrée est contrôlé en utilisant une forte résistance hydraulique positionnée en amont du canal, imposée par une membrane *macro-poreuse*. Comme nous l'avons montré dans la Section 4.1.3, cette approche s'est montrée efficace pour contrôler le flux d'entrée. Toutefois, nous devons ici tenir compte de la perméabilité au soluté de la membrane, caractérisée par son coefficient de réflexion σ (et de perméation $\mathcal{L}_{\text{D}}$). Ainsi, pour éviter la rétention de PEG-4000 sur la membrane, celle-ci doit lui être *transparente*, c'est-à-dire $\sigma = 0$.

Pour vérifier cette propriété, nous avons réalisé l'expérience illustrée sur la Figure 5.4. Un hydrogel *macro-poreux* est photo-polymérisé au sein d'un canal afin de le séparer

en deux compartiments. Après le rinçage du système avec de l'eau (1 h), un écoulement d'une solution de PEG-4000 de concentration C_i est imposé à travers la membrane via une perte de charge ΔP. L'expérience consiste alors à mesurer la concentration en soluté le long du canal, en particulier en amont et en aval de la membrane, afin de détecter une éventuelle accumulation de soluté, caractéristique de $\sigma > 0$. Pour ce faire, la concentration est mesurée par spectroscopie Raman en appliquant la méthodologie décrite dans le Chapitre 4, que l'on résume brièvement ci-après.

5.1.2.1 Dosage du PEG4k

Nous avons effectué un calibrage spécifique au PEG-4000. Les spectres Raman d'échantillons contenant de l'eau et du PEG-4000 ont été collectés dans une gamme de concentration de 10 mmol L^{-1} à 78 mmol L^{-1} dans laquelle le mélange est considéré comme idéal (voir Section 3.3.3 page 75). Les spectres sont tracés sur la Figure 5.2a suivant un gradient de couleur du bleu (spectre de l'eau) au vert ($C = 78$ mmol L^{-1}). On observe essentiellement deux régions caractéristiques : la première dans la gamme (500-1500) cm^{-1} et la seconde lorsque $\overline{\nu} > 2500\,cm^{-1}$, dans laquelle on retrouve les bandes caractéristiques d'élongation des liaisons C-H du PEG à (2800-3000) cm^{-1} et O-H de l'eau à (3000-3700) cm^{-1}. On observe également une contribution parasite de fluorescence, à l'origine de l'augmentation de l'intensité de fond avec la concentration en soluté. Après avoir filtré (numériquement) la fluorescence et normalisé l'intensité du signal par I_w, nous obtenons les spectres tracés sur la Figure 5.2b.

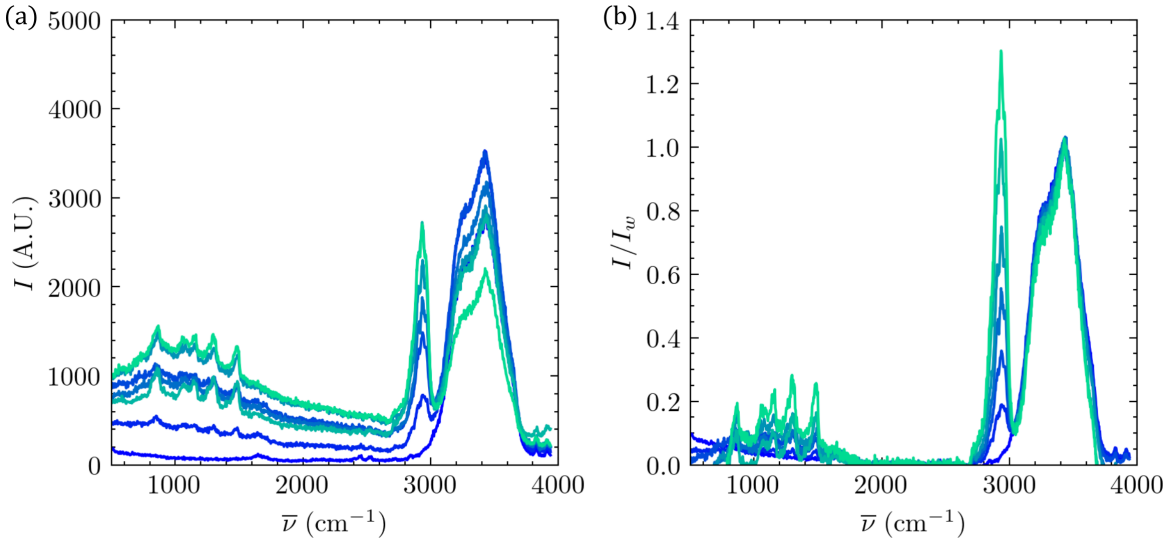


FIGURE 5.2 – Caractérisation du mélange eau/PEG-4000. (a) Spectres Raman obtenus entre 0 et 78 mmol L^{-1}. (b) Spectres Raman normalisés par l'intensité de la bande de l'eau I_w. Le gradient de couleur va du bleu (eau) au vert ($C = 78$ mmol L^{-1}).

On identifie aisément une augmentation monotone de l'intensité de vibration des liaisons C-H avec la concentration en soluté dans la région (2800-3000) cm^{-1}. Cette tendance est moins évidente dans la région (500-1500) cm^{-1} en raison de la fluorescence, ce même après la filtration. Nous avons donc uniquement considéré la bande d'élongation pour caractériser les solutions. Le rapport r est calculé selon l'éqn. (4.9), où I_s est l'intensité moyenne du signal dans la gamme (2920-2960) cm^{-1}. Comme le montre la Figure 5.3, l'intensité relative de la bande de soluté augmente de façon monotone, de

$r \simeq 0.04$ lorsque $C = 0$ à $\simeq 1.2$ lorsque $C = 78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Ces données sont ajustées selon l'éqn. (4.10) avec $a_0 \simeq 66\,\mathrm{L^2\,mol^{-2}}$, $b_0 \simeq 9.4\,\mathrm{L\,mol^{-1}}$ et $c_0 \simeq 0.04$.

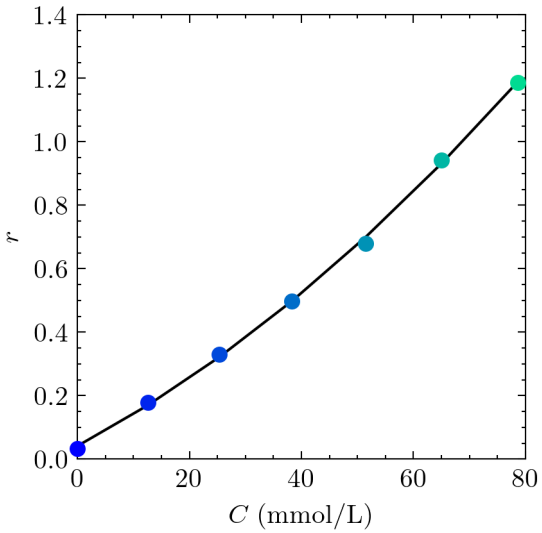


FIGURE 5.3 – Courbe de calibration du PEG-4000 en solution. Tracé de r en fonction de C. Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.10).

5.1.2.2 Caractérisation de la perméabilité de la membrane *macro-poreuse*

Après avoir aligné le laser et calibré le déplacement de la puce dans l'espace, nous effectuons des balayages le long du canal pour déterminer l'évolution de la concentration en soluté en fonction du temps. Un balayage se compose de $n = 20$ points et chaque spectre est collecté pendant 3 s. Les ensembles de données représentés sur la Figure 5.4 sont obtenus en moyennant 5 balayages, ce qui correspond à un temps de 5 min par acquisition. Nous avons reproduit cette mesure pendant environ 2 h. Comme le montre le graphe, la concentration en soluté est constante dans le canal en amont et en aval de la membrane. En outre, nous n'observons pas d'augmentation de la concentration au niveau de la membrane, ce qui signifie que le soluté ne s'accumule pas et est entièrement transporté par advection dans l'écoulement à travers la membrane. Nous pouvons donc confirmer que la membrane est transparente au PEG-4000.

La perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse* est également caractérisée, après son intégration dans le dispositif final. Une perte de charge ΔP est imposée à travers la membrane et le flux volumique induit est mesuré par PTV. La caractérisation est réalisée pour deux solutions de PEG-4000, de concentrations $C_i = 38$ et $78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Pour chaque concentration, J_v est mesuré en augmentant progressivement la perte de charge ΔP. Ces membranes *macro-poreuses* sont sujettes à des déformations plus importantes que les hydrogels non poreux, pouvant donner lieu à des micro-fuites lorsque la pression dépasse 2 bar, qui correspond au seuil de résistance mécanique de la membrane estimé empiriquement (voir Chap. 4 page 101). Par conséquent, nos mesures sont effectuées en conservant $\Delta P \leq 2\,\mathrm{bar}$. Pour $C_i = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (Fig. 5.5a), on observe une augmentation linéaire de J_v avec ΔP, en accord avec la loi de Darcy. L'ajustement des données selon l'éqn. (4.8) permet alors d'obtenir une perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_\mathrm{p} \simeq 6.9\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$. Le même ajustement conduit à $\mathcal{L}_\mathrm{p} \simeq 3.4\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$ pour $C_i = 79\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ (Fig. 5.5b). La perméabilité hydraulique mesurée est inférieure

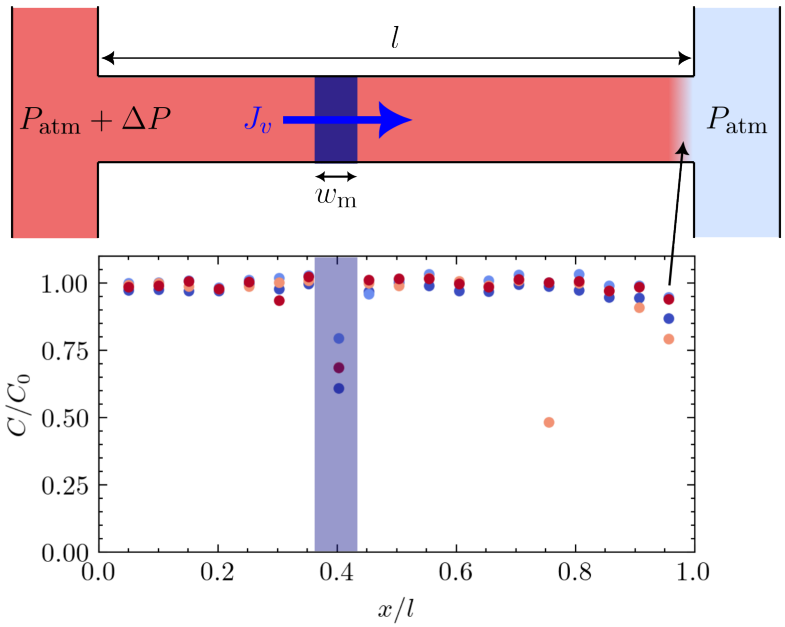


FIGURE 5.4 – Caractérisation de la perméabilité au soluté de la membrane *macroporeuse*. (a) Un écoulement d'une solution de PEG-4000 est imposé à travers la membrane via une différence de pression ΔP. (b) Tracé des profils de concentration le long du canal avec $C_i = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Le gradient de couleur représente l'évolution temporelle à $t = 0$, 30, 60, et 120 min (du bleu au rouge).

à celle mesurée avec de l'eau (Fig. 4.9), bien que la formulation et les conditions de réticulation soient identiques. D'après la loi de Darcy, ce comportement est caractéristique de l'augmentation de la viscosité η des solutions de PEG-4000 avec la concentration. Nous reviendrons brièvement sur cet effet dans la conclusion du manuscrit.

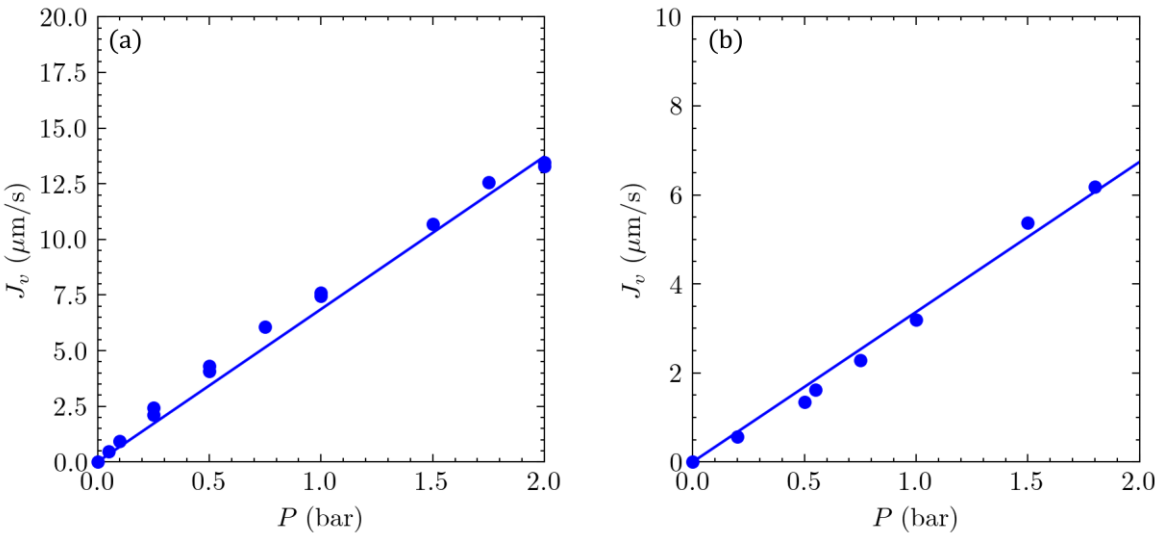


FIGURE 5.5 – Caractérisation de la perméabilité hydraulique de la membrane *macroporeuse* avec des solutions de PEG-4000. Tracés du flux de volume J_v en fonction de ΔP. Les données sont ajustées selon l'éqn. (4.8) avec (a) $\mathcal{L}_{\mathrm{p}} \simeq 6.9\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$ lorsque $C_i = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et (b) $\mathcal{L}_{\mathrm{p}} \simeq 3.4\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}\,bar^{-1}}$ lorsque $C_i = 78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$.

5.1.3 Mesure des profils de concentration

Suite à la caractérisation du système, nous avons réalisé l'expérience illustrée sur la Figure 5.1. Nous avons mesuré expérimentalement les profils de concentration en soluté dans le canal en appliquant la méthode détaillée dans le Chapitre 4. Suite au calibrage du mélange eau/PEG-4000 et à l'alignement du laser avec le canal (Fig.4.14), nous avons étudié l'impact de la vitesse de l'écoulement V_i à l'entrée (via une perte de charge ΔP) sur les profils, en effectuant des balayages du canal. Chaque spectre Raman est acquis avec une exposition de 3 s pour assurer une bonne résolution de signal. Les profils sont obtenus en moyennant l'intensité du signal de 4 balayages de 50 points dans le canal, ce qui correspond à un temps d'acquisition d'environ 10 min par profil. Ces mesures ont été réalisées pour deux concentrations initiales en PEG-4000, avec $C_i = 38$ et $78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$.

5.1.3.1 Correction sur la vitesse d'entrée

Comme nous l'avons mentionné, la forme des profils de concentration et de vitesse dépendent de l'advection du soluté dans le canal, qui est dictée par le flux osmotique à travers la membrane et par la vitesse d'injection V_i imposée à l'entrée. Celle-ci est induite par une perte de charge ΔP à travers la membrane *macro-poreuse* positionnée en amont du canal d'entrée. La perméabilité hydraulique de cette membrane est caractérisée, ce qui nous permet de relier la vitesse de l'écoulement à la perte de charge. Cependant, le canal CD présente un rétrécissement de largeur, entre le canal d'entrée et la position $x = 0$, comme illustré sur la Figure 5.6. La vitesse d'entrée V_i est donc exprimée selon

$$V_i = V(x < 0)\frac{w_\mathrm{C}}{w}\,, \tag{5.1}$$

où $V(x < 0)$ est la vitesse de l'écoulement mesurée dans le canal d'entrée, et w_C/w est un facteur géométrique issu de la conservation du débit.

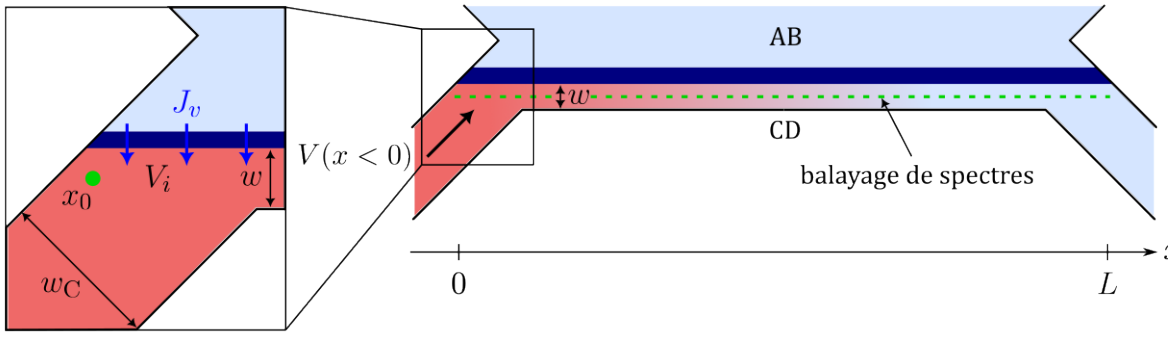


FIGURE 5.6 – Correction de la vitesse d'entrée mesurée. Le point x_0 représente la position initiale du laser dans le canal.

5.1.3.2 Influence de la vitesse d'entrée

Pour comparer quantitativement les profils tracés sur la Figure 5.7, ces derniers sont représentés selon un code couleur reflétant le rapport entre la vitesse imposée à l'entrée V_i et la vitesse caractéristique de l'écoulement osmotique V_0. Dans chaque configuration, on observe une diminution de la concentration le long du canal en raison de l'écoulement osmotique à travers la membrane, ce qui dilue progressivement le soluté. En outre,

la concentration apparaît homogène selon la largeur du canal (non montré ici), ce qui signifie que l'écoulement osmotique n'est pas suffisamment fort pour perturber la concentration en soluté sur la membrane. Autrement dit, nous n'observons pas de couche limite de dilution dans les configurations explorées. En pratique, la couche limite est négligeable si le transport diffusif du soluté selon la largeur du canal domine le transport par l'advection dans le flux osmotique, soit lorsque

$$\mathrm{Pe}_y = \frac{\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}\Pi(C_0)w}{D} \ll 1\,. \tag{5.2}$$

où le paramètre Pe_y correspond au nombre de Péclet dans la direction transverse du canal. Nous l'avons estimé pour chaque profil, et ce dernier ne dépasse jamais l'unité ($\mathrm{Pe}_y \simeq 0.6$ au maximum). Les couches limites de dilution sont donc bien négligeables dans les configurations explorées. En outre, puisque $h < w$, nous considérons que la concentration est homogène selon la hauteur également.

Lorsque la vitesse d'entrée est basse ($V_i/V_0 \leq 0.02$), la concentration décroît fortement, et tend à se stabiliser un peu avant $x = L$ (courbes bleues). Notons que cet effet est plus prononcé lorsque la concentration en soluté C_i est plus élevée (Fig. 5.7b), ce qui est dû à l'augmentation du flux osmotique. En augmentant la vitesse d'entrée, la dilution du soluté est moins prononcée le long du canal car l'advection par le flux d'entrée est plus importante. Ainsi, on observe un aplatissement du profil, comme le montre la courbe verte obtenue dans la configuration avec $C_i = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ lorsque $V_i/V_0 \simeq 1$ (Fig. 5.7a). Notons que ce régime n'est pas atteint avec $C_i = 78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ car la perméabilité de la membrane *macro-poreuse* est plus faible dans ce cas ($V_i/V_0 \simeq 0.2$ au maximum). Il faudrait donc imposer une perte de charge au moins cinq fois plus élevée, soit $\Delta P \simeq 10\,\mathrm{bar}$, qui se situe au-delà du seuil de tenue mécanique de la membrane et des connectiques.

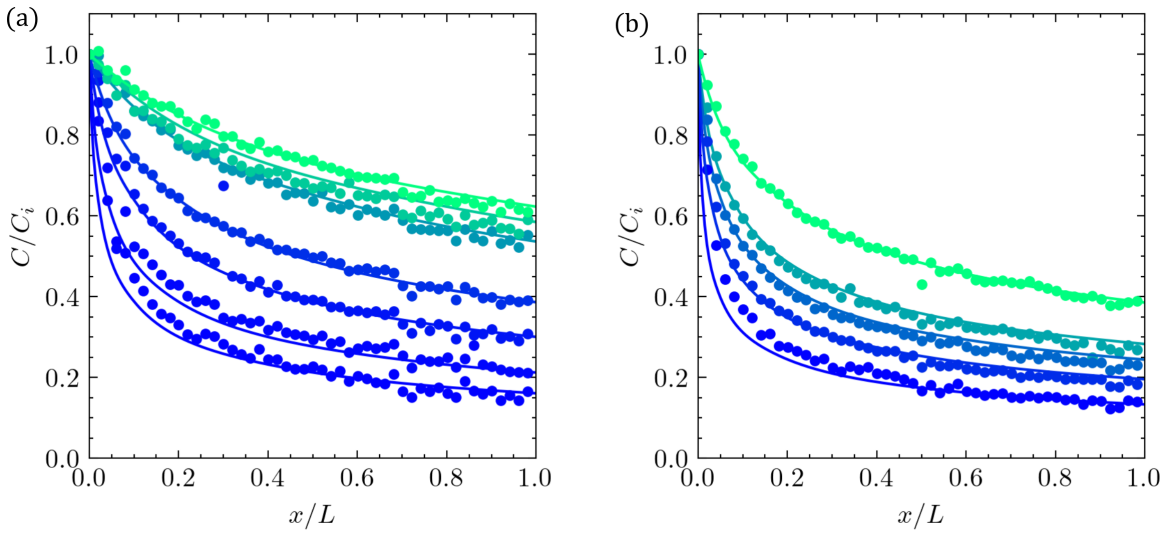


FIGURE 5.7 – Profils de concentration stationnaires mesurés par spectroscopie Raman. (a) $C_i = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, $V_i/V_0 \in [0.02; 1]$. (b) $C_i = 78\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, $V_i/V_0 \in [0.01; 0.2]$. Les lignes pleines correspondent aux prédictions de l'éqn. (5.10) obtenues pour chaque vitesse d'entrée. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

5.1.4 Modélisation du transport

Nous souhaitons confronter les résultats expérimentaux à une modélisation du transport. Pour ce faire, nous nous appuyons sur la démarche développé par Haaning *et al.* [53]. Le flux volumique est décrit par la loi de Darcy selon

$$J_v = \mathcal{L}_{\text{hyd}} \Delta\Psi \,, \tag{5.3}$$

où $\Delta\Psi = \Psi_{\text{AB}} - \Psi_{\text{CD}}$ est la différence de potentiel hydrique de part et d'autre de la membrane. Les deux compartiments étant à pression atmosphérique, cette relation se réduit à $J_v = \mathcal{L}_{\text{hyd}}\Pi(C)$. Notons que dans le cas du PEG-4000, nous exprimons l'équation d'état de la pression osmotique selon

$$\Pi(C) = RTC(1 + a_0 C) \,, \tag{5.4}$$

où $a_0 \simeq 89\,\text{L}\,\text{mol}^{-1}$ est un paramètre d'ajustement (voir Section 3.3.3). Les écoulements étant incompressibles, les débits sont conservés. Le gain de vitesse le long du canal s'exprime donc selon

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = J_v \,. \tag{5.5}$$

Par ailleurs, en l'absence de perméation de soluté à travers la membrane ($J_s = 0$), la conservation du soluté dans le canal s'écrit

$$\frac{\partial C}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x}(CV) = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \,, \tag{5.6}$$

où $\partial_x(CV)$ et $D\partial_x^2 C$ représentent le transport du soluté par advection et diffusion le long du canal respectivement. Nous faisons l'hypothèse que le transport par diffusion du soluté le long du canal est négligeable, c'est-à-dire

$$\text{Pe}_x = \frac{\mathcal{L}_{\text{hyd}}\Pi(C_i)L}{D} \gg 1 \,, \tag{5.7}$$

avec Pe_x le nombre de Péclet longitudinal. Ainsi, $\partial_x(CV) \gg D\partial_x^2 C$. En outre, dans le régime stationnaire, $\partial C/\partial t = 0$, donc l'équation de conservation se réduit à

$$\frac{\partial}{\partial x}(CV) = 0 \,, \tag{5.8}$$

et une intégration de cette expression entre $x = 0$ et x conduit à

$$C(x)V(x) = C_i V_i \,, \tag{5.9}$$

où C_i et V_i désignent respectivement la concentration en soluté et la vitesse de l'écoulement à l'entrée du canal ($x = 0$). Finalement, en injectant cette relation dans l'éqn. (5.5), on obtient une équation sur la vitesse :

$$\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = \frac{\mathcal{L}_{\text{hyd}} RTC_i V_i}{w}\left(\frac{1}{V} + \frac{a_0 C_i V_i}{V^2}\right) . \tag{5.10}$$

5.1.4.1 Cas limite du régime dilué

Dans le régime dilué, la pression osmotique est décrite par la loi de van't Hoff selon $\Pi = RTC$, ce qui revient à écrire $a_0 = 0$ dans l'éqn. (5.10). L'équation devient alors linéaire et admet une solution analytique telle que

$$V(x) = V_i\sqrt{1 + 2\frac{V_0}{V_i}\frac{x}{L}}\,, \tag{5.11}$$

où $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\text{hyd}}RTC_i$. Cette expression montre comment la vitesse augmente le long du canal sous l'effet du flux osmotique à travers la membrane. On voit apparaître le paramètre V_0/V_i, qui compare la vitesse caractéristique du flux osmotique à la vitesse imposée à l'entrée. Ainsi, lorsque $V_0/V_i \gg 1$, l'écoulement est fortement impacté par le flux osmotique : la vitesse augmente significativement le long du canal, et s'écarte rapidement de la valeur imposée à l'entrée. Dans le régime inverse, la vitesse reste proche de V_i sur toute la longueur du canal car la force relative du flux d'entrée est bien supérieure au flux osmotique. Notons que ces deux limites correspondent à notre analyse qualitative de la configuration dans la Section 5.1.1.

5.1.4.2 Régimes semi-dilué et concentré

Dans le régime concentré, la pression osmotique dévie de la loi de van't Hoff, ce qui introduit une non-linéarité dans l'équation de conservation, qui ne peut donc plus être résolue simplement de façon analytique. Les profils de vitesse et de concentration sont alors obtenus numériquement. L'équation (5.10) est traitée comme une équation différentielle ordinaire sur l'intervalle $x \in [0, L]$, résolue à l'aide de la fonction `solve_ivp` (SciPy), basée sur une méthode de Runge-Kutta (RK45). La condition initiale est fixée par $V(x = 0) = V_i$, déterminée expérimentalement via la caractérisation de la perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse*. Nous calculons ainsi le profil de vitesse, à partir duquel le profil de concentration est déterminé via la relation de conservation du soluté (éqn. (5.9)).

Les lignes pleines sur la Figure 5.7 correspondent aux prédictions du modèle suite à la résolution numérique de l'éqn. (5.10) effectuée pour chaque vitesse d'entrée imposée. Notons que la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\text{hyd}}$ de la membrane est caractérisée *in situ* dans chaque configuration en appliquant le protocole décrit dans la Section 3.2. La superposition des profils expérimentaux avec les prédictions du modèle est relativement satisfaisante sur l'ensemble des profils dans les configurations explorées, ce qui confirme la pertinence du modèle pour décrire le transport du soluté à l'échelle locale. Nous observons dans certains cas de légers écarts entre les profils expérimentaux et les prédictions. Cela dit, ces différences sont compatibles avec une incertitude de l'ordre de 10% sur la vitesse d'entrée, liée à la caractérisation de la perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse*, ainsi qu'à la détermination de la vitesse en $x = 0$, dont la définition reste délicate compte tenu de la géométrie du dispositif (voir Fig. 5.6).

Dans cette section, nous avons étudié le transport osmotique d'un soluté dans un canal microfluidique. Notre puce comporte deux membranes aux rôles distincts. La membrane principale, qui sépare les compartiments contenant l'eau et le soluté (PEG-4000), est idéale ($\sigma = 1$). La seconde membrane, *macro-poreuse*, est au contraire transparente au PEG-4000 ($\sigma = 0$) et permet de contrôler le flux entrant dans le canal via une perte de charge (chargement actif). Le transport est modélisé en s'appuyant sur les

travaux de Haaning et al. [53], adaptés à une description unidimensionnelle de notre système selon la longueur. Dans le régime concentré, qui constitue le cadre principal de cette étude, la non-linéarité de la pression osmotique impose une résolution numérique de l'équation de conservation du débit. La comparaison entre prédictions théoriques et mesures expérimentales montre un accord satisfaisant, validant la pertinence du modèle proposé pour décrire le transport osmotique dans cette configuration. Les écarts entre les prédictions et les expériences restent faibles et s'expliquent essentiellement par les incertitudes expérimentales sur la mesure de la vitesse d'entrée. Cette première expérience constitue un point de départ vers l'étude du transport osmotique des sucres dans le phloème. Dans la suite, nous allons modifier ce dispositif pour intégrer un compartiment contenant de l'eau sous tension ($P < 0$), afin de reproduire le couplage entre le transport osmotique dans le phloème et la pression négative de l'eau dans le xylème.

5.2 Couplage entre transport osmotique et pression négative

Cette section est consacrée à l'étude du transport osmotique des solutés dans une nouvelle configuration microfluidique, dans laquelle on se rapproche du couplage xylème-phloème. Nous exploitons cette configuration pour générer un écoulement osmotique tout en maintenant dans un réservoir de l'eau sous tension ($P < 0$), afin d'étudier l'impact de la pression négative sur l'efficacité du transport osmotique. Nous mesurons en particulier les profils de concentration $C(x)$ en faisant varier d'une part le flux de chargement en soluté, contrôlé par la vitesse d'entrée V_i, et d'autre part la pression P_X de l'eau dans le réservoir. Enfin, nous confrontons l'ensemble de ces résultats expérimentaux à une modélisation adaptée à cette configuration couplée.

5.2.1 Principe de l'expérience

La Figure 5.8 illustre la nouvelle configuration microfluidique, basée sur la configuration de référence utilisée tout au long de la thèse. La puce comprend un canal central de longueur L, connecté à 4 entrées/sorties. Trois membranes sont photo-réticulées. Le canal central est tout d'abord séparé en trois sous-canaux R, X et P, par deux membranes (hydrogels de PEGDA-700) de largeur w_{m}, notées (1) et (2) respectivement. On note w la largeur du canal P. Un lavage long est réalisé avec de l'eau, typiquement durant toute une nuit, afin d'évacuer la solution non-réticulée encore présente dans le sous-canal X, par diffusion trans-membranaire notamment car le PEGDA-700 diffuse à travers la membrane ($\sigma < 1$). Ensuite, une membrane *macro-poreuse* (PEGDA-700 + PEG-1000) est photo-réticulée dans l'entrée du canal P (voir Fig. 4.7). Elle agit comme une résistance hydraulique forte nous permettant de contrôler le taux de chargement en soluté par advection via une perte de charge ΔP.

Par souci de lisibilité et en référence au mécanisme de Münch, nous désignerons dans la suite le sous-canal X comme « xylème » et le sous-canal P comme « phloème », bien qu'il s'agisse ici de canaux microfluidiques. Nous considérons que le xylème ne contient que de l'eau une fois le lavage de la puce effectué. Le canal R joue le rôle de réservoir et est constamment approvisionné en eau, ou par une solution de PEG-4000 de concentration C_{R}, via une faible différence de pression δP. Une autre solution de

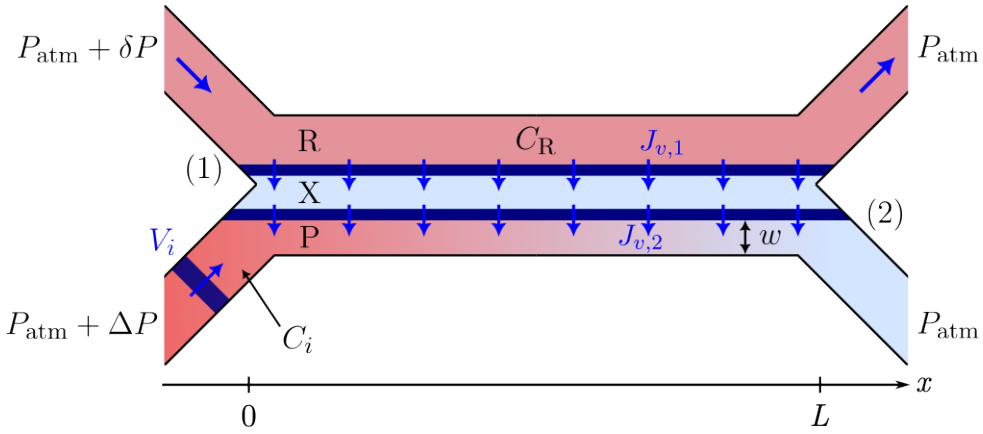


FIGURE 5.8 – Principe de l'expérience de transport osmotique pour mimer le couplage xylème/phloème. Le canal R est alimenté par de l'eau ou des solutions de PEG de concentration C_{R} et joue le rôle de réservoir. Le canal X est fermé et contient de l'eau, il communique avec le reste du système via les membranes (1) et (2). Le canal P est alimenté par une solution de PEG de concentration C_i en imposant une perte de charge à travers une membrane *macro-poreuse*, et joue le rôle de phloème.

PEG-4000, de concentration C_i, est injectée à l'entrée du phloème via une perte de charge ΔP à travers la membrane *macro-poreuse* transparente ($\sigma = 0$). Les différences de concentration entre les différents canaux génèrent des flux osmotiques $J_{v,1}$ et $J_{v,2}$ à travers les membranes (1) et (2), et dont la direction dépend de C_{R} et C_i respectivement. Les hydrogels de PEGDA-700 sont imperméables ($\sigma = 1$) au PEG-4000 et le phloème est ouvert, donc le système atteint un état stationnaire caractérisé par des profils de concentration et de vitesse. Cette configuration est quasi-identique à l'expérience précédente, bien que le xylème (qui contient l'eau) soit fermé. La conservation du débit dans ce canal impose donc

$$h \int_0^L J_{v,1} \mathrm{d}x = h \int_0^L J_{v,2} \mathrm{d}x \,, \tag{5.12}$$

soit

$$h\mathcal{L}_{\text{hyd},1} \int_0^L \Delta\Psi_1 \mathrm{d}x = h\mathcal{L}_{\text{hyd},2} \int_0^L \Delta\Psi_2 \mathrm{d}x \,, \tag{5.13}$$

où $\Delta\Psi_1 = \Psi_{\text{R}} - \Psi_{\text{X}}$ et $\Delta\Psi_2 = \Psi_{\text{X}} - \Psi_{\text{P}}$. Les canaux R et P sont à pression atmosphérique. Ainsi, après l'intégration de cette relation, la pression dans le xylème s'exprime selon

$$P_{\text{X}} = P_{\text{atm}} - \frac{1}{1+\alpha}\Pi_{\text{R}} - \frac{\alpha}{1+\alpha}\overline{\Pi}_{\text{P}} \,, \tag{5.14}$$

où Π_{R} est la pression osmotique du soluté dans le réservoir, $\overline{\Pi}_{\text{P}} = 1/L \int_0^L \Pi_{\text{P}} \mathrm{d}x$ est la pression osmotique en soluté dans le canal P moyennée sur la longueur, et α est un paramètre sans dimension qui compare les perméabilités hydrauliques des membranes (1) et (2), exprimé suivant

$$\alpha = \frac{\mathcal{L}_{\text{hyd},2}}{\mathcal{L}_{\text{hyd},1}} \,. \tag{5.15}$$

Compte tenu de la formulation utilisée et des conditions de réticulation des hydrogels, nous considérons que les perméabilités sont proches, soit $\alpha \simeq 1$. Comme le montre

l'éqn. (5.14), la pression dans le xylème diminue lorsque la concentration en soluté, et donc la pression osmotique $\Pi_{\mathrm{P}} = \Pi[C(x)]$, augmente dans le phloème. En outre, cet effet est d'autant plus important lorsque le soluté est également injecté dans le réservoir ($\Pi_{\mathrm{R}} = \Pi(C_{\mathrm{R}})$). Notre expérience a donc pour but d'étudier le transport osmotique du soluté dans le phloème en variant la pression dans le xylème, contrôlée par le taux de chargement et par l'écoulement de solutés dans le réservoir.

5.2.2 Mesure des profils de concentration

Nous avons mesuré les profils de concentration dans le phloème par spectroscopie Raman en appliquant la méthodologie décrite dans le Chapitre 4. Chaque spectre Raman est collecté pendant 3 secondes, et un balayage complet du canal se compose de $n = 50$ points. Les profils de concentration sont calculés en moyennant les signaux de 4 balayages, ce qui signifie que chaque acquisition prend environ 10 minutes. Nous avons étudié trois configurations, en variant les concentrations C_i et C_{R}.

5.2.2.1 Premier cas : $C_i > C_{\mathrm{R}}$

Nous nous sommes principalement intéressés au régime où la concentration imposée à l'entrée est supérieure à la concentration du soluté dans le réservoir, qui correspond à la configuration se rapprochant le plus du fonctionnement d'un phloème (d'un point de vue microfluidique). Les résultats présentés ci-après sont obtenus avec $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, et $C_{\mathrm{R}} < C_i$.

La Figure 5.9 présente les profils de concentration stationnaires mesurés en variant la vitesse d'entrée dans trois configurations avec $C_{\mathrm{R}} = 0$, 25 et $38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ respectivement. Les profils sont représentés suivant un code couleur allant du bleu au vert, reflétant l'augmentation de V_i. Comme nous l'avons brièvement mentionné précédemment, la perméabilité hydraulique de la membrane *macro-poreuse* diminue lorsque la viscosité de la solution augmente. Cependant, la résistance mécanique de la membrane (estimée empiriquement à environ 2 bar) est indépendante de la solution utilisée, donc les vitesses d'entrée imposées sont plus faibles que dans le Chapitre 4, avec $V_i \simeq 20\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ au maximum dans le cas présenté. Nous observons dans tous les cas une diminution de la concentration le long du canal. En effet, lorsque $C_i > C_{\mathrm{R}}$, les flux osmotiques $J_{v,1}$ et $J_{v,2}$ sont dirigés vers le phloème car la pression osmotique y est plus élevée en $x = 0$, ce qui a pour effet de diluer le soluté le long du canal. Notons que ce cas est analogue à la configuration précédente (Fig. 5.7). La forme des profils dépend de la force respective de l'advection dans le canal et du flux trans-membranaire, ce dernier ayant tendance à diluer le soluté comme dans la configuration expérimentale précédente (Fig. 5.1). Lorsque la vitesse d'entrée est faible devant le flux osmotique, autrement dit lorsque $V_i \ll V_0$ ($V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\mathrm{hyd},2}RTC_i$ étant la vitesse caractéristique de l'écoulement osmotique dans le canal), on observe une forte diminution de la concentration en soluté dès son entrée dans le canal en $x = 0$ (courbes bleues). En augmentant la vitesse de l'écoulement à l'entrée ($V_i/V_0 \simeq 2$), la dilution du soluté est moins intense (courbes vertes), car son advection par le flux d'entrée est plus importante.

Dans cette configuration, la pression dans le xylème, donnée par l'éqn. (5.14), peut être négative. Celle-ci dépend de la pression osmotique Π_{R}, donc de la concentration C_{R} du soluté dans le réservoir, et également de $\overline{\Pi}_{\mathrm{P}}$, qui varie avec V_i/V_0. En intégrant les résultats expérimentaux, nous pouvons donc calculer P_{X} pour chaque profil de

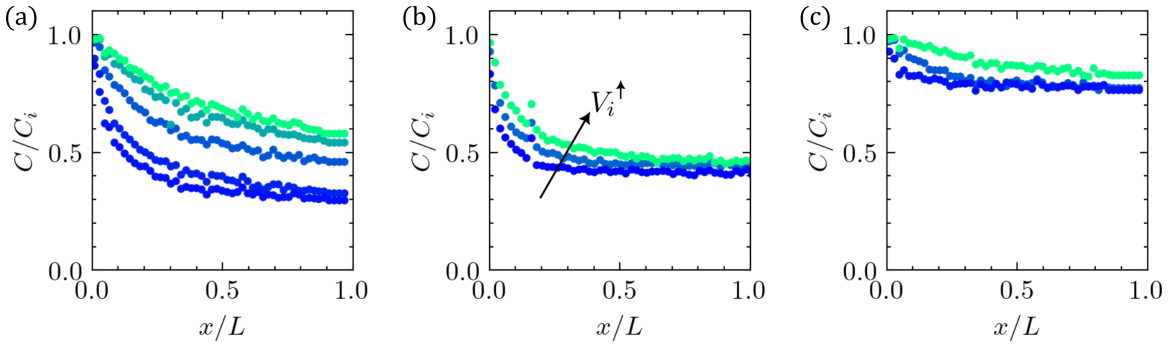


FIGURE 5.9 – Profils de concentration stationnaires $C(x)$ mesurés par spectroscopie Raman pour différentes valeurs de V_i, avec $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. (a) $C_\mathrm{R} = 0$, $V_i/V_0 \in [0.15; 2.2]$; (b) $C_\mathrm{R} = 25\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, $V_i/V_0 \in [0.05; 0.2]$; (c) $C_\mathrm{R} = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, $V_i/V_0 \in [0.15; 2.2]$. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

concentration tracé sur la Figure 5.9. Ainsi, lorsque $C_\mathrm{R} = 0$, la pression dans le xylème varie entre 0.5 et $-1\,\mathrm{bar}$; et lorsque $C_\mathrm{R} = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, elle est encore plus inférieure et varie entre -3 et $-4\,\mathrm{bar}$ (voir Fig. 5.13. La pression est donc d'autant plus négative que la concentration dans le réservoir augmente, comme prévu par l'éqn. (5.14). Notons que dans la limite $V_i \gg V_0$ (qui n'est pas atteinte dans notre expérience), on observerait en principe un profil constant où $C = C_i$. Dans ce cas, la pression hydrostatique dans le xylème atteint une valeur limite de $P_\mathrm{X} \simeq P_\mathrm{atm} - (\Pi(C_i) + \Pi_\mathrm{R})/2$, soit environ -2.5, -3.5 et $-4.6\,\mathrm{bar}$ lorsque $C_\mathrm{R} = 0$, $25\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et $38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ respectivement. La concentration du soluté dans le réservoir influence également la forme des profils de concentration. En particulier, nous remarquons que lorsque $C_\mathrm{R} > 0$ (Figures 5.9b et c), la concentration atteint une valeur plateau où $C = C_\mathrm{R}$. Dans ce cas, la différence de pression osmotique entre le phloème et le réservoir est nulle, donc aucun flux osmotique n'est généré à travers les membranes.

5.2.2.2 Deuxième cas : $C_i = C_\mathrm{R}$

Si on continue d'augmenter la concentration en soluté dans le réservoir jusqu'à ce que $C_\mathrm{R} = C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, on obtient les profils tracés sur la Figure 5.10. On remarque que, indépendamment de la vitesse d'entrée, la concentration est constante le long du canal, donc les pressions osmotiques dans le phloème et dans le réservoir sont égales. Ainsi, aucun flux osmotique n'est généré dans le régime stationnaire, et la pression dans le xylème est donc $P_\mathrm{X} \simeq P_\mathrm{atm} - \Pi_\mathrm{R}$, soit environ $-6\,\mathrm{bar}$.

On remarque que tous les profils ne sont pas parfaitement plats, ce qui pourrait indiquer que le soluté serait localement concentré ou dilué dans le canal. Cet effet n'est pas toujours observé et varie d'une expérience à l'autre selon le type de connectique utilisé, la hauteur du canal et la focalisation du laser. Tous ces paramètres peuvent peut influencer la collecte des spectres, notamment dans les sous-canaux d'entrée et de sortie (non montré ici) où de la colle ou du PDMS (selon le type de connectique) peuvent être présents sur la surface de la puce. Il arrive donc que le signal Raman d'une même solution de PEG-4000 varie entre deux puces. Cette variation, inférieure à $5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, nous permet d'estimer de façon empirique l'incertitude sur la mesure de la concentration.

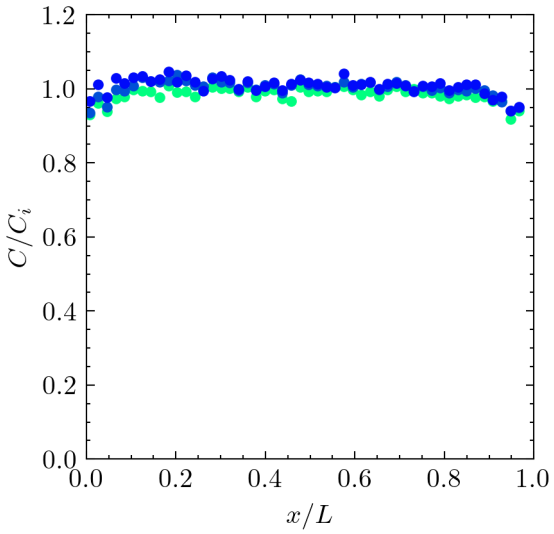


FIGURE 5.10 – Profils de concentration stationnaires $C(x)$ mesurés par spectroscopie Raman pour différentes valeurs de V_i, avec $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et $C_\mathrm{R} = C_i$. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

5.2.2.3 Troisième cas : $C_i < C_\mathrm{R}$

Nous nous sommes brièvement intéressés au régime où la concentration en soluté est plus élevée dans le réservoir qu'à l'entrée du phloème, avec $C_i = 25\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et $C_\mathrm{R} = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Comme le montrent les profils expérimentaux sur la Figure 5.11, on observe un comportement inverse au cas où $C_i > C_\mathrm{R}$. Le soluté se concentre le long du canal, ce qui traduit des flux osmotiques en direction du réservoir. Les profils sont obtenus en variant la vitesse d'entrée entre 3 et $9\,\mathrm{\mu m\,s^{-1}}$. Lorsque V_i est basse, l'advection dans le canal est faible devant le flux trans-membranaire, on observe donc une augmentation rapide de la concentration puis une saturation à $C = C_\mathrm{R}$ (courbe bleue). Lorsque V_i augmente, l'advection par le flux d'entrée est plus importante donc on observe l'aplatissement des profils (courbe verte). Nous avons calculé P_X à partir des profils expérimentaux selon l'éqn. (5.14). Dans cette configuration, la pression dans le xylème est systématiquement négative et augmente avec V_i/V_0 de -5.5 à $-4\,\mathrm{bar}$. Dans la limite où $V_i \gg V_0$, qui n'est pas atteinte ici, on observerait un profil de concentration plat où $C = C_i$, donc la pression dans le xylème serait de $P_\mathrm{X} \simeq P_\mathrm{atm} - (\Pi(C_i) + \Pi_\mathrm{R})/2 \simeq -3.5\,\mathrm{bar}$.

Comme nous l'avons montré, nous parvenons à générer des écoulements osmotiques stationnaires dans le phloème tout en maintenant de l'eau sous tension dans le xylème ($P_\mathrm{X} < 0$). La présence d'une pression hydrostatique négative n'empêche donc pas l'établissement de flux osmotiques $J_{v,1}$ et $J_{v,2}$, dont l'intensité et la direction restent principalement gouvernées par les différences de pression osmotique entre le réservoir et le phloème. En outre, l'exploration des différentes conditions de chargement met en évidence trois régimes distincts permettant de « piloter » la forme des profils stationnaires. Tant que $C_i > C_\mathrm{R}$, les écoulements osmotiques sont dirigés vers le phloème et permettent de mimer la translocation des solutés dans le canal. Lorsque $C_i = C_\mathrm{R}$ cependant, aucun flux osmotique n'est généré, et on observe même une concentration du soluté lorsque $C_i < C_\mathrm{R}$, à l'image des profils de concentration mesurés dans le Chapitre 4.

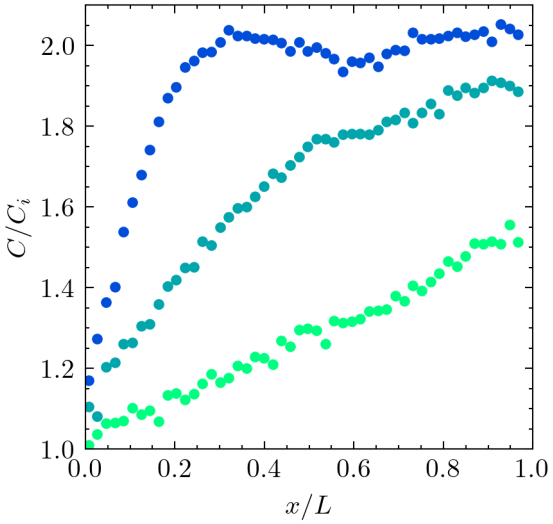


FIGURE 5.11 – Profils de concentration stationnaires $C(x)$ mesurés par spectroscopie Raman pour différentes valeurs de V_i, avec $C_i = 25\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et $C_\mathrm{R} = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

5.2.3 Modélisation du transport dans le phloème

Pour décrire le transport à l'échelle locale dans le phloème, nous avons développé un modèle, basé sur l'approche de Haaning *et al.* [53] décrite dans la section précédente, en considérant la configuration illustrée sur la Figure 5.8. Nous faisons l'hypothèse que le transport du soluté dans la direction longitudinale est dominé par l'advection ($\mathrm{Pe}_x \gg 1$) et que l'écoulement n'est pas perturbé par le flux osmotique ($\mathrm{Pe}_y \ll 1$), autrement dit que la concentration en soluté est homogène selon la largeur du canal. Le transport est donc modélisé par un système à 1 dimension selon x.

5.2.3.1 Équations constitutives

Dans la configuration étudiée, la vitesse de l'écoulement $V(x)$ varie le long du phloème en raison du flux osmotique $J_{v,2}$. La conservation du débit dans le canal est donc exprimée selon

$$w\frac{\mathrm{d}V}{\mathrm{d}x} = J_{v,2}\,, \tag{5.16}$$

avec $J_{v,2} = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd},2}(P_\mathrm{X} - P_\mathrm{atm} + \Pi_\mathrm{P})$ d'après l'éqn. (5.3). La pression dans le xylème est homogène, car la résistance hydraulique du canal est négligeable devant la résistance des membranes (1) et (2). Elle est exprimée selon l'éqn. (5.14), que l'on recopie ici pour plus de fluidité dans la lecture :

$$P_\mathrm{X} = P_\mathrm{atm} - \frac{1}{1+\alpha}\Pi_\mathrm{R} - \frac{\alpha}{1+\alpha}\overline{\Pi}_\mathrm{P}\,, \tag{5.17}$$

avec $\alpha = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd},2}/\mathcal{L}_{\mathrm{hyd},1}$ le rapport des perméabilités hydrauliques des membranes (1) et (2). Dans le cas où le transport du soluté est majoritairement advectif ($\mathrm{Pe}_x \gg 1$), la conservation du soluté dans le canal à l'état stationnaire s'écrit

$$C(x)V(x) = C_iV_i\,. \tag{5.18}$$

Les variables du système sont normalisées selon $\mathcal{X} = x/L$, $c = C/C_i$ et $v = V/V_0$ avec $V_0 = (L/w)\mathcal{L}_{\mathrm{hyd},2}RTC_i$. La pression osmotique, exprimée selon l'éqn. (5.4), est normalisée par $\Pi(C_i)$. La conservation du soluté devient donc

$$c(\mathcal{X})v(\mathcal{X}) = v_i\,, \tag{5.19}$$

et peut être injectée dans l'éqn. (5.16) suite à son adimensionnement. Nous obtenons donc une équation sur la vitesse :

$$\frac{\mathrm{d}v}{\mathrm{d}\mathcal{X}} = \frac{v_i}{v}\left(1 + \mathcal{A}_0\frac{v_i}{v}\right) - \frac{1}{1+\alpha}\left(\pi_\mathrm{R} + \alpha\int_0^1 \frac{v_i}{v}(1 + \mathcal{A}_0\frac{v_i}{v})\mathrm{d}\mathcal{X}\right)\,, \tag{5.20}$$

où $\mathcal{A}_0 = a_0C_i$ est une constante. Notons que le cas limite $\alpha \to 0$ correspond à l'expérience menée dans la section précédente, dans laquelle la membrane (1) n'est pas présente, et où $\pi_\mathrm{R} = 0$

L'équation (5.20) est *intégro-différentielle*, c'est à dire que la dérivée de v dépend de v et de sa valeur moyenne. Nous ne savons pas résoudre cette équation directement de façon analytique. Cela dit, nous remarquons que le second terme à droite dans l'expression est constant. En effet, il s'agit d'une intégrale sur le domaine $\mathcal{X} \in [0, 1]$, donc une fois évaluée elle ne dépend pas de la position locale $\mathcal{X}$. Par conséquent, en dérivant l'équation une seconde fois par rapport à $\mathcal{X}$, ce terme disparaît et nous obtenons

$$\frac{\mathrm{d}^2v}{\mathrm{d}\mathcal{X}^2} = -\frac{v_i}{v^2}\frac{\mathrm{d}v}{\mathrm{d}\mathcal{X}}\left(1 + 2\mathcal{A}_0\frac{v_i}{v}\right)\,, \tag{5.21}$$

qui est une équation différentielle ordinaire de second ordre, que l'on peut résoudre numériquement (`solve_ivp`, méthode Radau) avec deux conditions initiales : $v(\mathcal{X} = 0)$, la vitesse de l'écoulement à l'entrée du canal et $\partial_\mathcal{X}v|_{\mathcal{X}=0}$, la valeur de sa dérivée en ce même point.

Si nous connaissons $v(\mathcal{X} = 0) = V_i/V_0$, ce n'est pas le cas de sa dérivée en $\mathcal{X} = 0$. Dans un premier temps, nous avons envisagé de déterminer $\partial_\mathcal{X}v|_{\mathcal{X}=0}$ à partir de nos résultats expérimentaux, mais cette approche n'a pas fonctionné car notre profil n'est pas suffisamment résolu. Nous avons donc opté pour une approche différente, qui consiste à trouver la valeur de $\mathrm{d}_\mathcal{X}v|_{\mathcal{X}=0}$ qui vérifie l'expression (5.20). Pour ce faire, nous intégrons numériquement l'éqn. (5.21) pour une valeur d'essai de $\mathrm{d}_\mathcal{X}v|_{\mathcal{X}=0}$, ce qui permet de calculer le profil $v(\mathcal{X})$ puis l'intégrale apparaissant dans (5.20). Nous évaluons ensuite l'expression (5.20) en $\mathcal{X} = 0$ et calculons l'écart entre les termes de gauche et de droite dans l'équation. Cette opération est répétée pour différentes conditions initiales, en raffinant progressivement l'intervalle de recherche autour du minimum, jusqu'à obtenir un écart inférieur à un seuil de tolérance fixé (typiquement 10^{-5}). Une fois cette condition initiale optimale déterminée, nous vérifions *a posteriori* que l'éqn. (5.20) est bien satisfaite sur l'ensemble du domaine $\mathcal{X} \in [0, 1]$, puis nous en déduisons le profil stationnaire de vitesse (et donc de concentration).

5.2.3.2 Application du modèle au cas $C_i > C_\mathrm{R}$

Nous avons appliqué cette méthode et avons résolu numériquement l'éqn. (5.20) dans le régime stationnaire afin de calculer, pour chaque vitesse d'entrée imposée, les profils de vitesse $V(x)$ et de concentration en soluté $C(x)$ dans le canal. Nous nous intéressons exclusivement au cas $C_i > C_\mathrm{R}$ avec $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, qui correspond à la situation la

plus pertinente dans le contexte du transport osmotique dans le phloème d'une plante. La Figure 5.12 présente les prédictions du modèle obtenues, superposées avec les profils mesurés expérimentalement avec $C_\mathrm{R} = 0$ et $38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$.

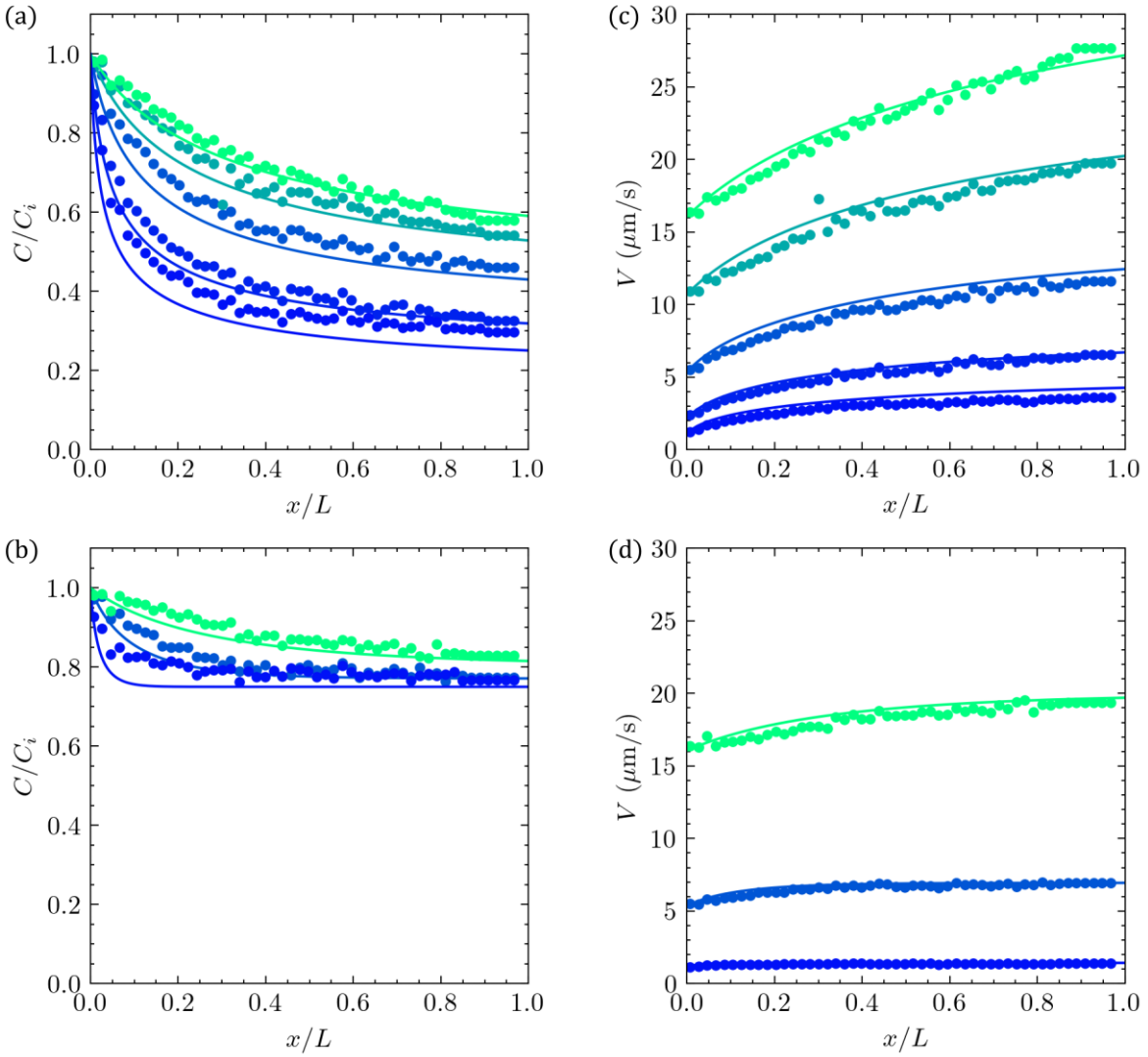


FIGURE 5.12 – (a-b) Profils de concentration stationnaires $C(x)$ mesurés par spectroscopie Raman pour $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et (a) $C_\mathrm{R} = 0$ ou (b) $38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, ainsi que les prédictions correspondantes du modèle (lignes pleines). (c-d) Profils de vitesse $V(x)$, calculés à partir de $C(x)$, ainsi que les prédictions correspondantes du modèle. Code couleur : bleu → vert pour V_i/V_0 croissant.

Considérons dans un premier temps les profils de concentration (Figures 5.12a et b). Le modèle reproduit de façon satisfaisante les profils expérimentaux sur l'ensemble de la longueur, en capturant correctement la dilution progressive du soluté induite par les flux osmotiques vers le phloème. Nous observons toutefois de légers écarts : le modèle prédit une concentration légèrement inférieure à celle mesurée. Notons que nous n'avons aucun paramètre libre dans cette résolution, puisque la perméabilité hydraulique de chaque membrane et la vitesse d'entrée sont mesurées *in situ*. En première approximation, nous attribuons ces écarts aux incertitudes expérimentales sur ces grandeurs. En particulier, la vitesse d'entrée est corrigée d'un facteur géométrique w_C/w en raison de la géométrie de la zone d'injection (Fig. 5.6). La définition exacte de la

vitesse en $x = 0$ n'est cependant pas triviale, le rétrécissement du canal n'étant pas symétrique (forme coudée). Nous avons ainsi identifié V_i comme la principale source d'incertitudes. Cela dit, nous pensons que les écarts entre les résultats expérimentaux et le modèle peuvent également être dus à la présence de solutés piégés dans le xylème. Ces solutés pourraient par exemple être des chaînes de PEGDA *partiellement réticulées* lors de l'intégration des membranes (1) et (2), ne pouvant alors pas être évacuées si leur masse molaire dépasse le seuil de coupure. Expérimentalement, nous mettons effectivement en évidence la présence de solutés résiduels dans le xylème (non montré ici). Bien que nous ne puissions pas identifier l'espèce observée avec certitude, l'intensité de la bande caractéristique sur les spectres Raman est faible devant le signal mesuré dans le phloème, ce qui semble indiquer que la concentration est faible devant C_i. Toutefois, la présence de solutés dans le xylème implique en toute rigueur une diminution des flux osmotiques à travers les membranes (1) et (2), ce qui pourrait expliquer que nous mesurons une concentration systématiquement supérieure aux prédictions du modèle.

Considérons à présent les profils de vitesse (Figures 5.12c et d), obtenus en déduisant $V(x)$ des profils de concentration via l'éqn. (5.18) de conservation du soluté. Le modèle prédit une augmentation de l'écoulement le long du canal, conséquence directe du flux transmembranaire $J_{v,2}$ qui augmente le débit total. Il permet en outre de quantifier le « gain » de vitesse apporté par l'osmose pour une condition d'entrée donnée. Nous voyons que, à vitesse d'entrée égale, ce gain est plus important lorsque la concentration dans le réservoir est nulle. Par exemple, lorsque $V_i \simeq 16\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ (courbes vertes), la vitesse atteint $V(x = L) \simeq 28\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ pour $C_\mathrm{R} = 0$, contre seulement $20\,\mu\mathrm{m\,s^{-1}}$ pour $C_\mathrm{R} = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Ce résultat est cohérent avec l'idée que la présence de soluté dans le réservoir abaisse les flux osmotiques et limite ainsi l'apport d'eau vers le phloème.

Bien que le gain de vitesse soit plus faible lorsque $C_\mathrm{R} > 0$, la pression dans le xylème est alors plus négative, conformément à l'éqn. (5.14) qui relie P_X à Π_R et à la pression osmotique moyenne dans le phloème $\overline{\Pi}_\mathrm{P}$. Pour illustrer ce propos, la Figure 5.13 présente le tracé de P_X en fonction de V_i/V_0 dans le cas $C_i \geq C_\mathrm{R}$ avec $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$, et pour $C_\mathrm{R} = 0$, $38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$ et $51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Nous avons représenté les valeurs de P_X calculées à partir des profils expérimentaux $C(x)$ et avec $\alpha = 1$ ainsi que les prédictions du modèle sur une plage plus large de V_i/V_0 (en pointillés). On observe que P_X devient d'autant plus négative que le taux de chargement augmente, ce qui accroît $\overline{\Pi}_\mathrm{P}$, et que la concentration en soluté dans le réservoir est élevée, ce qui augmente Π_R. Bien que nous n'atteignions pas expérimentalement le régime $V_i/V_0 \gg 1$, l'extrapolation du modèle dans cette limite permet d'estimer une valeur plateau de P_X, ce qui correspond au cas où $C(x) = C_i$ et donc $\overline{\Pi}_\mathrm{P} \simeq \Pi(C_i)$. La valeur du plateau est donc exprimée selon

$$P_\mathrm{X} \simeq P_\mathrm{atm} - \frac{1}{1+\alpha}\big(\alpha\Pi(C_i) + \Pi_\mathrm{R}\big)\,. \tag{5.22}$$

Avec $\alpha \simeq 1$, on obtient $P_\mathrm{X} \simeq -2.5\,\mathrm{bar}$ pour $C_\mathrm{R} = 0$ et $P_\mathrm{X} \simeq -4.6\,\mathrm{bar}$ pour $C_\mathrm{R} = 38\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Lorsque $C_\mathrm{R} = C_i$, la pression dans le xylème est indépendante du taux de chargement. Comme nous l'avons précédemment observé, les profils de concentration en soluté sont constants avec $C(x) = C_i$ (Fig. 5.10) donc aucun flux osmotique n'est généré ; dans ce cas, $P_\mathrm{X} \simeq P_\mathrm{atm} - \Pi(C_i) \simeq -6\,\mathrm{bar}$. Le bon accord entre les expériences et le modèle valide ainsi la description proposée dans cette configuration.

Cette configuration permet donc de générer un écoulement osmotique stationnaire dans le canal P (mimant le phloème) tout en maintenant de l'eau sous tension dans le canal

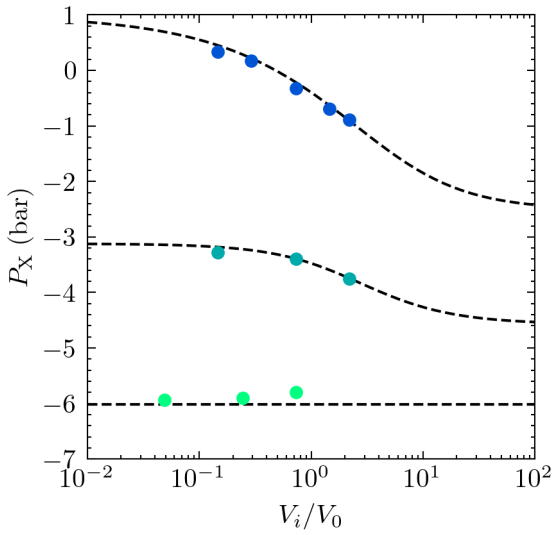


FIGURE 5.13 – Tracé de la pression P_X en fonction de V_i/V_0 pour $C_i = 51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Les ensembles de données correspondent à $C_R = 0$, 38 et $51.5\,\mathrm{mmol\,L^{-1}}$. Code couleur : bleu → vert pour C_R croissant. Les pointillés correspondent aux prédictions du modèle, obtenues par la résolution de l'éqn. (5.20) pour une série de valeurs de V_i.

X (mimant le xylème) en contrôlant les concentrations C_i et C_R ainsi que le taux de chargement en soluté. Le modèle développé, inspiré des travaux de Haaning *et al.* et adapté à notre géométrie, reproduit de façon satisfaisante les profils de concentration et de vitesse ainsi que l'évolution de P_X, sans paramètre ajustable. Cette concordance valide l'approche proposée pour décrire le transport dans notre système et permet de mettre en évidence le compromis entre l'efficacité du transport (gain de vitesse dans le phloème) et la pression négative atteinte dans le xylème.

5.2.4 Échelle caractéristique du transport

Pour conclure l'analyse de cette configuration, il est utile de discuter dans quelle mesure le transport osmotique reproduit ici est représentatif de la translocation des sucres dans une plante. Pour cela, nous évaluons le nombre de Münch Mu, introduit dans le Chapitre 1 (Section 1.3.2, éqn. (1.30)). Ce paramètre sans dimension compare la résistance hydraulique longitudinale du canal (phloème) à la résistance hydraulique de la membrane, et est associé à une échelle de longueur caractéristique L de la translocation des sucres dans le phloème.

Dans notre dispositif, le « phloème » est un canal de longueur $L \simeq 1.5\,\mathrm{cm}$, de section rectangulaire $h \times w$, avec $h \simeq 75\,\mu\mathrm{m}$ et $w \simeq 100\,\mu\mathrm{m}$. Sa résistance hydraulique $\mathcal{R}_c$ est estimée [84] selon l'éqn. (3.2). Le nombre de Münch est donc exprimé selon

$$\mathrm{Mu} = \frac{\mathcal{R}_c}{\mathcal{R}_m} = \frac{12\eta L^2\,\mathcal{L}_{hyd,2}}{wh^2\left(1 - 0.63\,\frac{h}{w}\right)}\,, \tag{5.23}$$

où $\mathcal{R}_m = 1/(Lh\mathcal{L}_{hyd,2})$ est la résistance hydraulique de la membrane (2). En utilisant les dimensions du système et la valeur mesurée $\mathcal{L}_{hyd,2} \simeq 40\,\mathrm{nm\,s^{-1}\,bar^{-1}}$, on obtient $\mathrm{Mu} \sim 10^{-5}$. Nous sommes donc dans un régime où $\mathcal{R}_c \ll \mathcal{R}_m$, c'est-à-dire que l'essentiel de la perte de charge s'effectue à travers la membrane. La pression dans le canal

est donc homogène avec $P \simeq P_{\text{atm}}$ car le canal est ouvert. Les gradients de pression hydrostatique le long du canal restent très faibles à l'échelle de la longueur L, donc les profils stationnaires mesurés sont principalement gouvernés par les flux osmotiques transmembranaires.

Ce point n'est pas limitant ici, car l'objectif est d'établir et de caractériser localement le transport osmotique dans le régime stationnaire. Cela dit, conformément à la discussion du Chapitre 1 et aux ordres de grandeur rapportés dans la Table 1.2 (page 37), le régime $\text{Mu} \ll 1$ correspond à une échelle caractéristique de transport ℓ comparable à celle d'*un seul* élément criblé (ou de quelques éléments en série), plutôt qu'à une translocation des sucres à l'échelle d'une feuille ($\ell \sim 1\,\text{cm}$) ou d'une plante entière ($\ell > 1\,\text{m}$), où l'on attend typiquement $\text{Mu} \gtrsim 1$ et l'apparition de gradients de pression longitudinaux significatifs.

Atteindre $\text{Mu} \sim 1$ dans le dispositif microfluidique nécessiterait donc d'augmenter fortement $\mathcal{R}_{\text{c}}$, par exemple en augmentant L et en diminuant la section du canal. Cette approche parait toutefois peu réaliste, car pour obtenir $\text{Mu} \sim 1$, il faudrait augmenter la longueur du canal à $L = 15\,\text{cm}$, et réduire sa section à $h = w = 10\,\mu\text{m}$ (ce qui gênerait la mesure de profils de concentration par spectroscopie Raman). Ainsi, une solution serait d'intégrer plusieurs membranes *macro-poreuses* dans le canal, jouant le rôle de résistances hydrauliques. Une autre approche serait de diminuer $\mathcal{R}_{\text{m}}$ en augmentant la perméabilité hydraulique de la membrane. Cependant, une augmentation de la perméabilité pourrait rendre la membrane perméable au soluté, ce qui n'est pas souhaité dans cette expérience. Nous faisons donc face à un compromis entre la sélectivité et la perméabilité. Une solution serait de réduire l'épaisseur de la membrane puis d'ajouter des membranes *macro-poreuses* autour pour la supporter mécaniquement. Notons en outre qu'une modification de $\mathcal{L}_{\text{hyd},2}$ entraînerait une variation de α et donc de la forme des profils.

5.3 Conclusions

Dans ce chapitre, nous avons étudié le transport osmotique en régime concentré dans le cas d'une membrane idéale ($\sigma = 1$), en nous appuyant sur la spectroscopie Raman qui permet de mesurer les profils de concentration en soluté dans les canaux. Dans la configuration de référence, constituée de deux canaux parallèles séparés par une membrane, nous avons généré un écoulement osmotique stationnaire et mesuré les profils $C(x)$ en variant le taux de chargement en soluté. Ce dernier s'effectue par advection et est contrôlé grâce à une membrane *macro-poreuse* jouant le rôle de résistance hydraulique, transparente au PEG-4000 ($\sigma = 0$). La comparaison avec une modélisation inspirée des travaux de Haaning *et al.* montre un accord satisfaisant et valide l'approche retenue pour décrire le transport dans cette géométrie.

Nous avons ensuite développé une configuration plus complexe visant à reproduire le couplage phloème-xylème, en ajoutant au dispositif de référence un compartiment d'eau fermé pouvant être mis sous tension ($P < 0$). La fabrication de cette puce implique l'intégration de plusieurs membranes photo-réticulées *in situ*. Après avoir montré qu'un écoulement osmotique stationnaire peut être maintenu tout atteignant une pression négative dans le compartiment d'eau, nous avons identifié trois régimes du transport en variant les concentrations en soluté dans le réservoir et à l'entrée

du canal « phloème ». Enfin un modèle unidimensionnel, tenant compte de la non-linéarité de la pression osmotique, reproduit de façon quasi-quantitative les profils de concentration mesurés ainsi que l'évolution de la pression dans le compartiment sous tension, sans paramètre ajustable ; les écarts résiduels étant principalement attribués aux incertitudes expérimentales sur l'estimation de la vitesse d'entrée.

Enfin, l'estimation du nombre de Münch dans cette configuration met en évidence que nos dispositifs opèrent dans un régime où $\mathrm{Mu} \ll 1$, c'est-à-dire où la résistance hydraulique du canal mimant le phloème reste négligeable devant la résistance de la membrane. L'échelle de transport effectivement reproduite est ainsi davantage comparable à celle d'un élément criblé qu'à une translocation à l'échelle d'une feuille ou de la plante, pour laquelle on attend typiquement $\mathrm{Mu} \gtrsim 1$ et l'apparition de gradients de pression longitudinaux significatifs. Cette limitation ne remet pas en cause les résultats obtenus ici, mais elle motive l'augmentation contrôlée de la résistance hydraulique du canal (ou à l'inverse la diminution de la résistance de la membrane) afin d'explorer le régime $\mathrm{Mu} \sim 1$.

Au-delà des résultats obtenus, ce chapitre constitue une étape importante car il établit la faisabilité de puces microfluidiques « complexes » dans lesquelles nous avons intégré plusieurs membranes tout en permettant une étude locale du transport. L'ensemble des techniques employées constitue donc une « boîte à outils » expérimentale réutilisable pour des travaux futurs visant à reproduire plus fidèlement le mécanisme de Münch.

Conclusions et perspectives

L'objectif de cette thèse était d'étudier le transport osmotique à travers des membranes intégrées dans des puces microfluidiques, avec comme cadre directeur le transport de la sève dans le phloème. Le premier enjeu était donc de développer des dispositifs microfluidiques bio-inspirés, en intégrant *in situ* des membranes hydrogels, afin de permettre une caractérisation locale du transport osmotique. Par la suite, l'objectif était d'utiliser ces dispositifs pour reproduire le mécanisme de Münch.

Nous avons tout d'abord caractérisé les propriétés de perméabilité de membranes en hydrogel. Une configuration a été développée pour mesurer leur perméabilité hydraulique, puis exploitée pour mesurer des écoulements osmotiques générés par des solutés de masses molaires variées. Lorsque la masse molaire des solutés est supérieure au seuil de coupure ($M >$ MWCO), les flux sont stables, ce qui a permis de déterminer des équations d'état de pression osmotique. À l'inverse, lorsque $M <$ MWCO, la perméation du soluté à travers la membrane induit des flux transitoires. L'analyse de leur relaxation dans le régime dilué a permis d'estimer les paramètres de transport (coefficients de réflexion σ et de perméation $\mathcal{L}_\mathrm{D}$), ainsi que l'influence de la masse molaire sur ces paramètres.

La caractérisation a ensuite été poursuivie dans le régime concentré, ce qui était motivé par les concentrations en sucre élevées mesurées dans le phloème (typiquement de l'ordre du $\mathrm{mol\,L^{-1}}$ pour le saccharose). Dans une configuration stationnaire, la mesure locale des profils de concentration par spectroscopie Raman nous a permis de tester des modèles de transport. Nous avons donc mis en évidence les limites des formalismes classiques de Kedem et Katchalsky et de Kedem et Spiegler, dans lesquels les paramètres de transport sont généralement considérés indépendants de la concentration. Nos travaux nous ont conduit à considérer explicitement une dépendance en concentration de ces paramètres, en développant une nouvelle approche permettant d'unifier la description du transport dans les régimes dilué et concentré.

Nous nous sommes finalement rapprochés d'une reproduction du mécanisme de Münch en développant une puce microfluidique multi-membrane, permettant de reproduire le couplage phloème-xylème. Ce dispositif a permis de mettre en évidence des écoulements osmotiques stationnaires, via la mesure de profils de concentration, et d'étudier l'effet du chargement en soluté dans un « phloème artificiel », tout en intégrant un compartiment d'eau fermé pouvant être maintenu à pression négative. La modélisation associée reproduit de façon quasi quantitative les observations expérimentales. Au-delà de ces résultats, l'apport majeur de ce travail est le développement d'une « boîte à outils » expérimentale reposant sur la fabrication de puces complexes contenant plusieurs membranes, d'épaisseur et de perméabilité hydraulique contrôlées, tout en conservant

l'accès aux mesures locales nécessaires à l'étude des écoulements.

Les résultats de cette thèse ouvrent plusieurs pistes d'exploration pour de futurs travaux concernant le transport de la sève dans les plantes, ou plus généralement pour l'étude du transport à travers des membranes. Ces perspectives s'inscrivent dans la continuité des approches développées dans la thèse et peuvent être envisagées à court comme à plus long terme.

Perspectives à court terme

Tout d'abord, des expériences complémentaires pourraient être menées avec les dispositifs existants afin d'affiner la caractérisation des membranes et du transport dans le régime concentré. En particulier, nous proposons de modéliser le transport dans le cadre des expériences d'écoulements osmotiques transitoires mesurés dans le régime concentré en nous basant sur l'approche numérique développée dans le Chapitre 4.

Il serait également intéressant de reprendre la première configuration présentée dans le Chapitre 5 en remplaçant le PEG-4000 par du saccharose. Ainsi, on pourrait étudier l'efficacité du transport osmotique lorsque la membrane est perméable au soluté ($\sigma < 1$), une situation peu explorée dans le contexte des plantes. [46].

Dans les expériences où les profils de concentration sont mesurés, les profils de vitesse sont reconstruits à partir de l'équation de conservation du soluté. Bien que cette approche soit cohérente, il serait pertinent de mesurer de façon indépendante les champs de vitesse dans les canaux, par exemple par PTV. De telles mesures ont déjà été réalisées (voir Fig. 3.7, page 71, et la Figure 5.14). Toutefois, elles ne sont pas directement transposables aux expériences menées dans les Chapitres 4 et 5 car les membranes *macro-poreuses* intégrées dans les canaux de mesure sont imperméables aux particules fluorescentes utilisées. Dans ce cas, la principale difficulté est d'introduire en amont des particules dans le canal, mais cette approche reste limitée car la plupart des particules seront évacuées une fois l'état stationnaire atteint (environ 30 min). Si cette difficulté expérimentale pouvait être levée, la mesure des vitesses fournirait une validation indépendante des modèles de transport.

Enfin, on pourrait envisager de reproduire le chargement passif en solutés, par diffusion à travers une membrane par exemple, comme réalisé par Comtet *et al.* [19]. Cette approche serait pertinente pour étudier l'efficacité du transport osmotique dans des conditions plus fidèles au chargement des sucres dans le phloème, puisque actuellement dans nos configurations le chargement se fait par advection. Notons que cette piste a d'ores et déjà été amorcée et a conduit aux résultats préliminaires illustrés sur la Figure 5.14. Dans cette expérience, une solution de saccharose est injectée dans un canal jouant le rôle de réservoir, et est chargée dans le canal mimant le phloème par diffusion à travers une membrane *macro-poreuse*. Bien que nous observions des trajectoires hélicoïdales, probablement dues à un écoulement convectif généré par des différences de densité selon la largeur du canal, nous observons la mise en place d'un écoulement osmotique généré par le saccharose.

Perspectives à long terme

Les expériences développées dans cette thèse ne reproduisent que partiellement le mécanisme de Münch. En outre, nous nous situons dans le régime $\mathrm{Mu} \ll 1$, qui correspond davantage au transport à l'échelle d'un seul élément criblé plutôt qu'à une transloca-

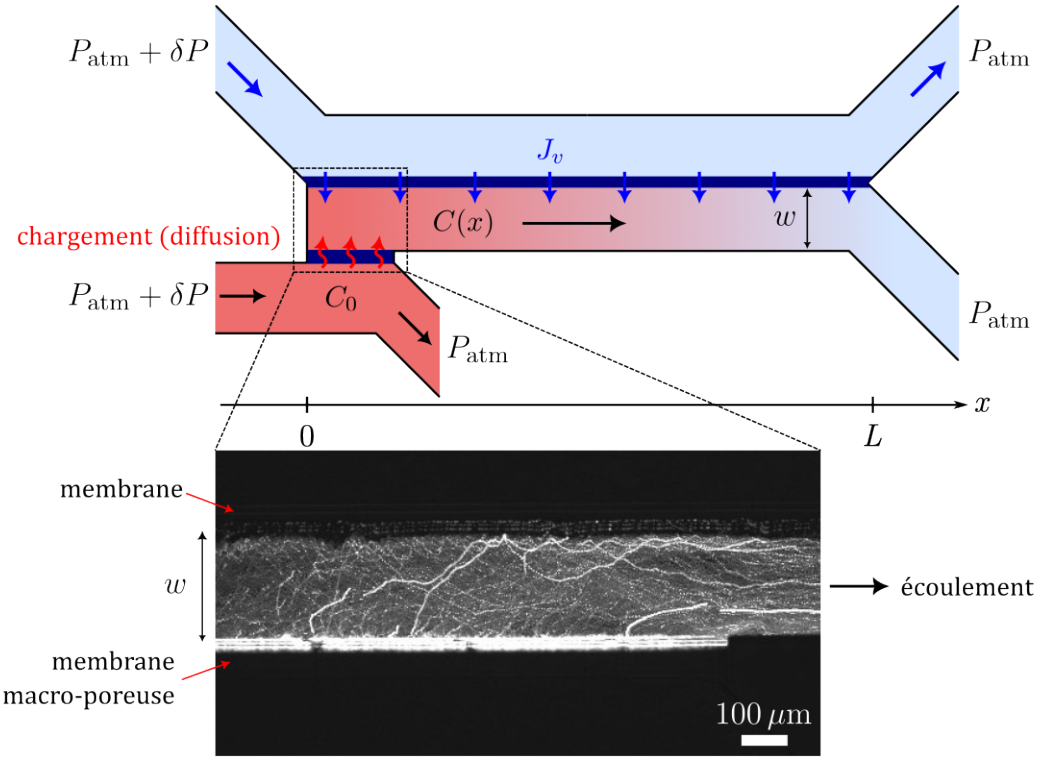


FIGURE 5.14 – Configuration microfluidique illustrant un chargement passif en soluté. Une solution de saccharose circule dans un canal (réservoir) et le soluté diffuse vers le canal mimant le phloème à travers une membrane *macro-poreuse*. La pression osmotique générée induit un écoulement osmotique le long du canal. L'encart est une superposition d'images de microscopie de fluorescence mettant en évidence les trajectoires des particules dans la zone de chargement.

tion efficace à l'échelle macroscopique. Une perspective naturelle de ce travail, à long terme, est donc d'optimiser le dispositif actuel afin d'augmenter Mu et d'explorer des régimes plus pertinents. Plusieurs leviers pourraient alors être envisagés. Une partie du travail pourrait être consacrée à augmenter la résistance hydraulique du « phloème artificiel », en réduisant la section du canal, ou en passant par l'intégration le long du canal de membranes *macro-poreuses* jouant le rôle des perforations (avec $\sigma = 0$). Un second axe d'amélioration consisterait à augmenter la perméabilité hydraulique de la membrane longitudinale, en veillant toutefois à conserver la sélectivité vis-à-vis du soluté considéré ($\sigma = 1$), ce qui exclut l'utilisation des membranes *macro-poreuses*.

Dans la continuité de l'étude du transport de la sève, nous avons également abordé le développement d'une puce microfluidique dont la matrice est un hydrogel de PEGDA, perméable à l'eau. Des résultats préliminaires suggèrent qu'un écoulement peut être conduit par la *pervaporation* de l'eau à travers les parois de l'hydrogel, se rapprochant donc de la circulation de la sève brute dans le xylème. L'intégration de ce type de dispositif avec ceux développés au cours de cette thèse représente un défi ambitieux, mais un tel système ouvrirait la voie à une reproduction, dans des conditions contrôlées et avec un accès local, du chargement en solutés et du transport osmotique dans un phloème artificiel, ainsi que de l'écoulement d'eau dans un xylème artificiel, et permettrait donc de se rapprocher d'une description plus fidèle du transport de la sève dans les plantes.

À plus long terme, il serait particulièrement intéressant, du point de vue de la caractérisation par exemple, de mesurer localement le potentiel hydrique au sein des hydrogels. Cette mesure permettrait de cartographier la concentration en soluté dans les hydrogels et donc d'affiner la description du transport, en particulier dans le régime concentré où les variations locales de pression osmotique jouent un rôle majeur. Lors du mois de juillet 2025, nous nous sommes rendus avec Pierre Lidon à l'Université Cornell dans le cadre d'une collaboration avec le groupe de recherche dirigé par Abraham Stroock. Ces derniers ont développé la synthèse de nanoparticules, appelées Aquadusts, sensibles aux variations de potentiel hydrique [112]. Les Aquadusts sont des nanoparticules d'hydrogel de polyacrylamide (PAAm) incorporant deux fluorophores présentant un effet FRET (Förster Resonance Energy Transfer). Ce phénomène est un transfert d'énergie entre le fluorophore donneur à l'état excité et le fluorophore accepteur, dont l'efficacité augmente avec le rapprochement des fluorophores. Une variation du potentiel hydrique environnant induit une contraction ou un gonflement du gel, et donc une augmentation ou diminution de l'effet FRET observable sur les spectres d'émission. Le signal est alors dominé par l'émission du donneur lorsque la particule est gonflée, ou par celle de l'accepteur lorsque la particule est contractée. Ainsi, moyennant un calibrage dans un potentiel hydrique contrôlé, la mesure des spectres d'émission permet de déduire le potentiel hydrique local.

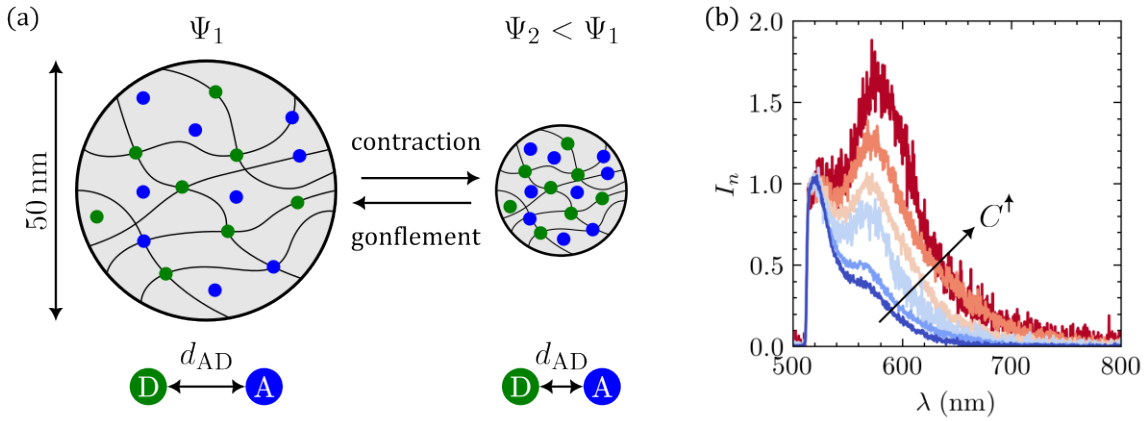


FIGURE 5.15 – (a) Schéma de principe des Aquadusts. Deux fluorophores, donneur (D, vert) et accepteur (A, bleu), présentant un effet FRET, sont greffés sur une nanoparticule d'hydrogel de polyacrylamide (PAAm). L'hydrogel se contracte ou gonfle selon le potentiel hydrique de l'extérieur, ce qui modifie la distance d_{AD} et donc l'efficacité du FRET. (b) Spectres d'émission de fluorescence de suspensions d'Aquadust pour différentes concentrations de PEG-10k. L'intensité d'émission I_n est normalisée par l'intensité de la bande d'émission du donneur. Code couleur : bleu $\rightarrow$ rouge pour C croissante.

Durant notre visite du groupe, nous avons effectué des expériences préliminaires dans lesquelles nous avons caractérisé la réponse des Aquadusts dans des suspensions en variant la concentration C en soluté (PEG-10k). Comme l'illustre la Figure 5.15, nous observons une augmentation de l'intensité d'émission de l'accepteur, dans la gamme (570-590) nm, lorsque la concentration en soluté augmente, distincte des réponses habituellement observées. Une réponse similaire a été observée en dispersant des Aquadusts dans des hydrogels, bien que l'intensité des signaux soit plus faible dans ce cas. Dans ce contexte, Antoine Monier s'est également rendu à Cornell en avril 2026 pour pour-

suivre ces expériences. Au final, les résultats préliminaires obtenus ouvrent la voie à l'intégration des Aquadusts au sein de nos dispositifs microfluidiques pour y cartographier le potentiel hydrique. Notons que des travaux récents dans le groupe d'Abraham Stroock ont adopté cette stratégie dans des matrices de PDMS [113].

Enfin, au-delà des problématiques de transport osmotique abordées dans cette thèse, la caractérisation des membranes *macro-poreuses* a mis en évidence une question plus générale relative aux écoulements en milieu poreux. Comme l'illustre la Figure 5.16a, la perméabilité hydraulique de la membrane diminue lorsque la concentration C de la solution qui la traverse augmente. En supposant une perméabilité de Darcy κ constante, déterminée à partir de la perméabilité $\mathcal{L}_{p,0}$ mesurée avec de l'eau ($C = 0$), et en tenant compte de l'évolution de la viscosité η des solutions, la variation de $\mathcal{L}_\mathrm{p}$ avec la concentration se calcule (courbe en pointillés noirs). On remarque toutefois que cette prédiction ne correspond pas aux mesures expérimentales. En outre, si on détermine la viscosité des solutions à partir des mesures de $\mathcal{L}_\mathrm{p}$, en conservant κ constant, on observe un écart significatif avec des mesures indépendantes de viscosité (courbe en pointillés noirs, Fig. 5.16b). Ces résultats préliminaires invitent ainsi à étudier le transport dans ces membranes, ce qui pourrait contribuer à une meilleure compréhension des écoulements dans les milieux poreux.

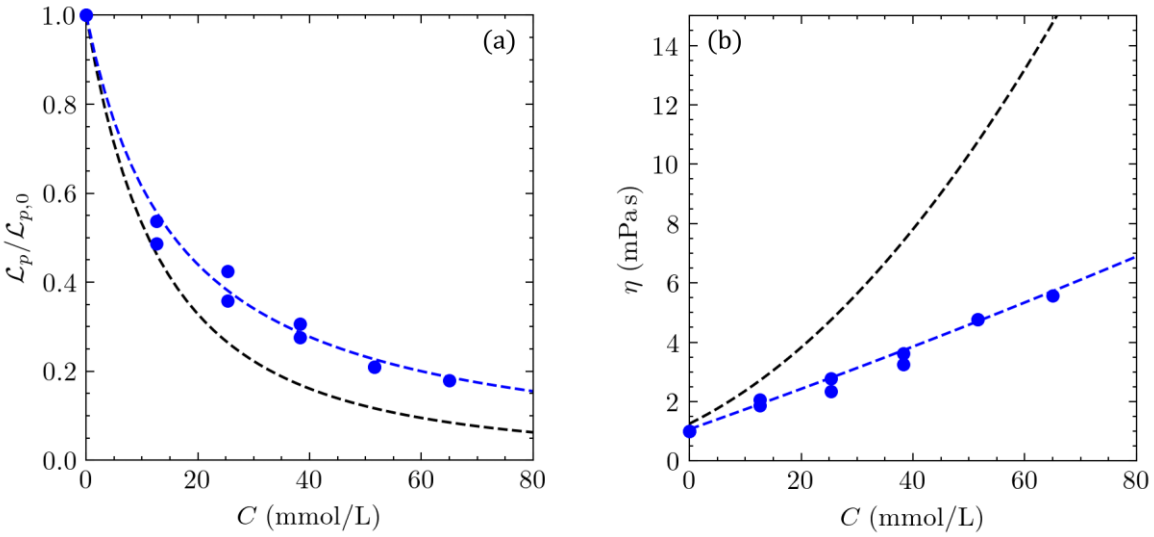


FIGURE 5.16 – (a) Tracé de la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_\mathrm{p}$, normalisée par $\mathcal{L}_{p,0}$ la perméabilité mesurée à $C = 0$, en fonction de la concentration C en soluté (PEG-4000). La courbe en pointillés noir représente la tendance attendue d'après le modèle de Darcy. (b) Tracé de la viscosité η en fonction de la concentration C. La courbe noire est obtenue expérimentalement, et les points sont les viscosités calculées à partir de la mesure de $\mathcal{L}_\mathrm{p}$ d'après le modèle de Darcy.

Annexe A

Modélisation du transport avec des coefficients dépendants de la concentration

Cette annexe résume les concepts fondamentaux de la modélisation développée par Pierre Lidon pour décrire le transport dans les régimes dilué et concentré. Nous considérons la configuration illustrée sur la Figure A.1 : une membrane d'épaisseur w_m sépare un réservoir et un canal. Le réservoir contient une solution de concentration C_0 constante et le canal contient initialement de l'eau. La différence de concentration entre les deux compartiments génère un flux osmotique J_v, du canal vers le réservoir. Toutefois, la membrane est perméable au soluté ($\sigma < 1$), donc un flux de soluté J_s du réservoir vers le canal est également généré. Cette configuration atteint un état stationnaire caractérisée par un profil de concentration $C(y)$ dans la membrane et des flux J_v et J_s constants. On note $\Delta C = C_0 - C_1$ la différence de concentration à l'état stationnaire, C_1 étant la concentration dans le canal.

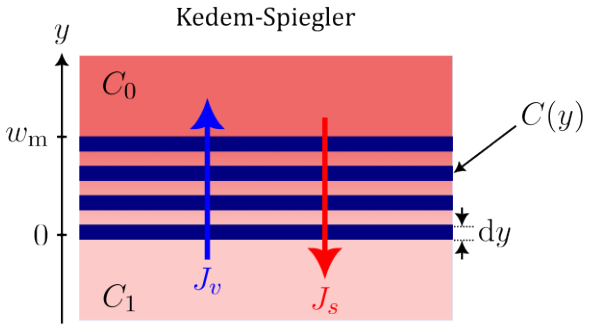


FIGURE A.1 – Modèle de Kedem-Spiegler : la membrane est découpée en une succession de membranes d'épaisseur dy séparant des solutions de concentrations finies. Un profil $C(y)$ est défini dans la membrane.

Comme nous l'avons discuté dans le Chapitre 4, la membrane peut être modélisée comme une succession de multiples membranes infinitésimales d'épaisseur dy. Le trans-

port est donc décrit par les équations locales de Kedem et Spiegler.

$$J_v(C) = -\mathcal{L}'_{\mathrm{hyd}}(C)\left(\frac{\partial P}{\partial y} - \sigma\frac{\partial \Pi(C)}{\partial y}\right), \tag{A.1}$$

$$J_s(C) = (1-\sigma(C))CJ_v(C) - \mathcal{L}'_{\mathrm{D}}\frac{\partial C}{\partial y}, \tag{A.2}$$

où y est la direction orthogonale à la membrane, $\mathcal{L}'_{\mathrm{hyd}} = \mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}w_{\mathrm{m}}$ et $\mathcal{L}'_{\mathrm{D}} = \mathcal{L}_{\mathrm{D}}w_{\mathrm{m}}$. Nous considérons d'après nos expériences que le coefficient de perméation $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ est indépendant de la concentration. Le coefficient de réflexion σ et la perméabilité hydraulique $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}$ dépendent quant à eux de C. Pour caractériser le transport dans cette configuration, nous souhaitons donc calculer J_v et J_s en fonction de ΔC.

Commençons par réorganiser les différents termes dans les expressions (A.1) et (A.2) :

$$\frac{\partial P}{\partial y} = \sigma(C)\frac{\partial \Pi(C)}{\partial y} - \frac{J_v(C)}{\mathcal{L}'_{\mathrm{hyd}}(C)}, \tag{A.3}$$

$$\frac{\partial C}{\partial y} = \frac{1-\sigma(C)}{\mathcal{L}'_{\mathrm{D}}}J_v(C)\,C - \frac{J_s(C)}{\mathcal{L}'_{\mathrm{D}}}. \tag{A.4}$$

Les variables du système sont normalisées selon $\mathcal{Y} = y/w_{\mathrm{m}}$, $c = C/C_0$, $p = P/\Pi_0$ et $\pi = \Pi/\Pi(C_0)$, et les flux selon $j_v = J_v/\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ et $j_s = J_s/(C_0\mathcal{L}_{\mathrm{D}})$. Enfin, en introduisant le paramètre sans dimension $\lambda = \mathcal{L}_{\mathrm{D}}/(\Pi(C_0)\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}})$, les équations deviennent :

$$\frac{\partial p}{\partial \mathcal{Y}} = \sigma\frac{\partial \pi}{\partial \mathcal{Y}} - \lambda j_v, \tag{A.5}$$

$$\frac{\partial c}{\partial \mathcal{Y}} = (1-\sigma)j_v c - j_s. \tag{A.6}$$

À l'état stationnaire, c'est-à-dire lorsque le profil de concentration $C(y)$ est établi dans la membrane, les flux J_v et J_s sont constants. Ainsi, puisque $\mathcal{L}_{\mathrm{D}}$ est indépendant de la concentration, j_v et j_s le sont également.

A.1 Détermination du profil de concentration et du flux de soluté

La première étape consiste à calculer le profil de concentration $c(\mathcal{Y})$ et le flux de soluté j_s à partir d'une valeur arbitraire de j_v.

A.1.1 Solution de base

Nous définissons un état de base dans lequel le coefficient de réflexion est constant, avec $\sigma = \sigma_0$, et où la perméabilité hydraulique dépend de la concentration (éqn (4.32) page 123). Cet état est caractérisé par le profil $c_0(\mathcal{Y})$, qui peut être intégré à partir de l'éqn. (A.6) :

$$c_0(\mathcal{Y}) = \frac{c_1}{\mathcal{F}_0(\mathcal{Y})} - \frac{j_{\mathrm{s}}}{(1-\sigma_0)j_v}\frac{1-\mathcal{F}_0(\mathcal{Y})}{\mathcal{F}_0(\mathcal{Y})}, \tag{A.7}$$

avec $c_1 = c(\mathcal{Y}=0)$ la concentration normalisée dans le canal, et

$$\mathcal{F}_0(\mathcal{Y}) = e^{-(1-\sigma_0)j_v\mathcal{Y}}. \tag{A.8}$$

D'après la condition $c_0(\mathcal{Y}=1)=1$, nous avons :

$$\frac{j_s}{(1-\sigma_0)j_v}=\frac{c_1-\varphi}{1-\varphi}\,, \tag{A.9}$$

avec $\varphi=\mathcal{F}_0(\mathcal{Y}=1)=e^{-(1-\sigma_0)j_v}$.

Enfin l'intégration de l'éqn. (A.5) donne

$$j_v=\frac{\sigma_0\Delta\pi-\Delta p}{\langle\lambda(c_0)\rangle}\,. \tag{A.10}$$

Cette expression est non-linéaire car c_0 dépend de j_v, mais peut être résolue numériquement. Ainsi, nous calculons le terme de droite pour une série de valeurs de j_v, et cherchons la valeur « correcte » qui satisfait l'expression. Nous obtenons donc $j_{v,0}$ le flux de volume dans l'état de base, puis le flux de soluté dans l'état de base $j_{s,0}$ est déduit de l'éqn. (A.9).

A.1.2 Solution perturbative

Nous adoptons maintenant une approche perturbative. On considère que σ dépend de C, et on suppose que le profil de concentration dans la membrane est proche du profil dans l'état de base. La perturbation du profil de concentration (δc) entraîne une perturbation du flux de soluté δj. Nous cherchons donc $c(\mathcal{Y})=c_0(\mathcal{Y})+\delta c$, et $j_s=j_{s,0}+\delta j$.

Lorsque

$$\delta c\ll\left|\frac{1-\sigma[c_0(\mathcal{Y})]-c_0(\mathcal{Y})\sigma'[c_0(\mathcal{Y})]}{\sigma'[c_0(\mathcal{Y})]}\right|\,, \tag{A.11}$$

où $\sigma'=\partial_c\sigma$, le profil de la perturbation est exprimé selon

$$\delta c(\mathcal{Y})=\frac{A(\mathcal{Y})}{\mathcal{F}(\mathcal{Y})}\,, \tag{A.12}$$

avec

$$\mathcal{F}(\mathcal{Y})=\exp\left[-\int_0^{\mathcal{Y}}j_v\left(1-\sigma[c_0(z)]-c_0(z)\sigma'[c_0(z)]\right)\mathrm{d}z\right]\,, \tag{A.13}$$

et

$$A(\mathcal{Y})=\int_0^{\mathcal{Y}}\left[(1-\sigma[c_0])j_vc_0-(1-\sigma_0)j_{v,0}c_0-\delta j\right]\mathcal{F}(z)\mathrm{d}z\,. \tag{A.14}$$

Les conditions aux limites sont $\delta c(y=0)=0$ et $\delta c(y=1)=0$. Cette dernière impose $A(\mathcal{Y}=1)=0$, donc

$$\delta j=\frac{\langle c_0\mathcal{F}\left[(1-\sigma[c_0])j_\mathrm{v}-(1-\sigma_0)j_{\mathrm{v},0}\right]\rangle}{\langle\mathcal{F}\rangle}. \tag{A.15}$$

L'état de base « optimal » est obtenu lorsque le critère (A.11) est satisfait au mieux. On cherche donc à optimiser la valeur de σ_0, en testant plusieurs valeurs. Nous obtenons finalement j_s et $c(\mathcal{Y})$ pour la valeur de j_v imposée. Ce processus est ensuite répété pour de nombreuses valeurs arbitraires de j_v.

A.2 Détermination du flux de volume

Nous déterminons ensuite la valeur « correcte » de j_v, c'est-à-dire celle correspondant à ΔC. Pour ce faire, nous intégrons l'éqn. (A.5) entre $\mathcal{Y} = 0$ et $\mathcal{Y} = 1$, ce qui donne :

$$j_v = \frac{\langle \sigma(c) \partial_c \pi \partial_y c \rangle - \Delta p}{\langle \lambda(c) \rangle}. \tag{A.16}$$

Cette équation est non-linéaire car elle dépend de j_v. Une résolution numérique permet cependant de déterminer le flux de volume j_v, et donc la valeur correspondante de j_s.

Ces étapes sont répétées en variant C_1, nous permettant de calculer les flux transmembranaires en fonction de ΔC, à partir de la forme de $\sigma(C)$ et de $\mathcal{L}_{\mathrm{hyd}}(C)$ (voir Fig. 4.30). Les flux sont ensuite employés pour résoudre l'équation de conservation du soluté et ainsi modéliser le transport dans les régimes dilué et concentré.

Bibliographie

1. Dinant, S. Phloème, transport interorgane et signalisation à longue distance. *Comptes Rendus Biologies* **331** (2008).
2. Stroock, A. D., Pagay, V. V., Zwieniecki, M. A. & Holbrook, N. M. The physicochemical hydrodynamics of vascular plants. *Annu. Rev. Fluid Mech.* **46** (2014).
3. Venturas, M. D., Sperry, J. S. & Hacke, U. G. Plant xylem hydraulics : What we understand, current research, and future challenges. *J. Integr. Plant Biol.* **59** (2017).
4. Jensen, K. H. *et al.* Sap flow and sugar transport in plants. *Rev. Mod. Phys.* **88** (2016).
5. Forterre, Y. in *Soft Matter Series* (Royal Society of Chemistry, Cambridge, 2022).
6. Zimmermann, M. H. *Xylem structure and the ascent of sap* (Springer Science & Business Media, 2013).
7. Jensen, K. H., Rio, E., Hansen, R., Clanet, C. & Bohr, T. Osmotically driven pipe flows and their relation to sugar transport in plants. *J. Fluid Mech.* **636** (2009).
8. Jensen, K. H. *et al.* Modeling the Hydrodynamics of Phloem Sieve Plates. *Front. Plant Sci.* **3** (2012).
9. Jensen, K. H. *et al.* Optimality of the Münch mechanism for translocation of sugars in plants. *J. R. Soc. Interface.* **8** (2011).
10. Marbach, S. & Bocquet, L. Osmosis, from molecular insights to large-scale applications. *Chem. Soc. Rev.* **48** (2019).
11. Starzak, M. & Peacock, S. D. Water activity coefficient in aqueous solutions of sucrose -a comprehensive data analysis. *Zuckerind.* **122** (1997).
12. Jensen, K. H., Savage, J. A. & Holbrook, N. M. Optimal concentration for sugar transport in plants. *J. R. Soc. Interface.* **10** (2013).
13. Bacchin, P., Leng, J. & Salmon, J. B. Microfluidic Evaporation, Pervaporation, and Osmosis : From Passive Pumping to Solute Concentration. *Chem. Rev.* **122** (2022).
14. Turgeon, R. The Puzzle of Phloem Pressure. *Plant Physiol.* **154** (2010).
15. Knoblauch, J., Mullendore, D. L., Jensen, K. H. & Knoblauch, M. Pico Gauges for Minimally Invasive Intracellular Hydrostatic Pressure Measurements. *Plant Physiology* **166** (2014).
16. Choat, B. *et al.* Global convergence in the vulnerability of forests to drought. *Nature* **491** (2012).
17. Baker, R. W. *Membrane Technology and Applications* (John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK, 2012).

18. Shannon, M. A. *et al.* Science and technology for water purification in the coming decades. *Nature* **452** (2008).
19. Comtet, J., Jensen, K. H., Turgeon, R., Stroock, A. D. & Hosoi, A. E. Passive phloem loading and long-distance transport in a synthetic tree-on-a-chip. *Nat. Plants* **3** (2017).
20. Wang, J. *et al.* A critical review of transport through osmotic membranes. *J. Membr. Sci.* **454** (2014).
21. Hegde, V. H., Doherty, M. f. & Squires, T. M. A two-phase model that unifies and extends the classical models of membrane transport. *Science* **377** (2022).
22. Kedem, O. & Katchalsky, A. Thermodynamic analysis of the permeability of biological membranes to non-electrolytes. *Biochim. Biophys. Acta* **27** (1958).
23. Kedem, O. & Katchalsky, A. A physical interpretation of the phenomenological coefficients of membrane permeability. *J. Gen. Physiol.* **45** (1961).
24. Marbach, S., Yoshida, H. & Bocquet, L. Osmotic and diffusio-osmotic flow generation at high solute concentration. I. Mechanical approaches. *J. Chem. Phys.* **146** (2017).
25. Manning, G. S. Binary Diffusion and Bulk Flow through a Potential-Energy Profile : A Kinetic Basis for the Thermodynamic Equations of Flow through Membranes. *J. Chem. Phys.* **49** (1968).
26. Kotsmar, C. *et al.* Aqueous Solute Partitioning and Mesh Size in HEMA/MAA Hydrogels. *Macromolecules* **45** (2012).
27. Paustian, J. S., Azevedo, R. N., Lundin, S. T. B., Gilkey, M. J. & Squires, T. M. Microfluidic microdialysis : spatiotemporal control over solution microenvironments using integrated hydrogel membrane microwindows. *Phys. Rev. X* **3** (2013).
28. Matsuyama, H., Teramoto, M. & Urano, H. Analysis of solute diffusion in poly(vinyl alcohol) hydrogel membrane. *J. Membr. Sci.* **126** (1997).
29. Dixon, H. H. & Joly, J. XII. On the ascent of sap. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London.(B.)* (1895).
30. Wheeler, T. D. & Stroock, A. D. The transpiration of water at negative pressures in a synthetic tree. *Nature* **455** (2009).
31. Münch, E. *Die stoffbewegungen in der pflanze* (G. Fischer, 1930).
32. Turgeon, R. The role of phloem loading reconsidered. *Plant physiology* **152** (2010).
33. Fisher, D. B. & Frame, J. M. A guide to the use of the exuding-stylet technique in phloem physiology. *Planta* **161** (1984).
34. Will, T. & van Bel, A. J. Physical and chemical interactions between aphids and plants. *Journal of experimental botany* **57** (2006).
35. Will, T., Furch, A. C. & Zimmermann, M. R. How phloem-feeding insects face the challenge of phloem-located defenses. *Frontiers in plant science* **4** (2013).
36. Dinant, S. & Kehr, J. in *Plant mineral nutrients : methods and protocols* (Springer, 2012).
37. Gould, N., Thorpe, M. R., Koroleva, O. & Minchin, P. E. Phloem hydrostatic pressure relates to solute loading rate : a direct test of the Münch hypothesis. *Functional Plant Biology* **32** (2005).
38. Turgeon, R. & Wolf, S. Phloem transport : cellular pathways and molecular trafficking. *Annual review of plant biology* **60** (2009).

39. Steudle, E. & Zimmermann, U. Determination of the hydraulic conductivity and of reflection coefficients in Nitella flexilis by means of direct cell-turgor pressure measurements. *Biochimica et Biophysica Acta -Biomembranes* **332** (1974).
40. Timoshenko, S. & Goodier, J. Theory of Elasticity" McGraw-Hill Book Company. *Inc. New York* (1951).
41. Knoblauch, M. *et al.* Testing the Münch hypothesis of long distance phloem transport in plants. *elife* **5** (2016).
42. Beauzamy, L., Derr, J. & Boudaoud, A. Quantifying hydrostatic pressure in plant cells by using indentation with an atomic force microscope. *Biophysical journal* **108** (2015).
43. Johnson, K. L. *Contact mechanics* (Cambridge university press, 1987).
44. Köckenberger, W. *et al.* A non-invasive measurement of phloem and xylem water flow in castor bean seedlings by nuclear magnetic resonance microimaging. *Planta* **201** (1997).
45. Knoblauch, M. & Peters, W. S. Münch, morphology, microfluidics–our structural problem with the phloem. *Plant, cell & environment* **33** (2010).
46. Cabrita, P., Thorpe, M. & Huber, G. Hydrodynamics of steady state phloem transport with radial leakage of solute. *Frontiers in Plant Science* **4** (2013).
47. Christy, A. L. & Ferrier, J. M. A mathematical treatment of Munch's pressure-flow hypothesis of phloem translocation. *Plant Physiology* **52** (1973).
48. Thompson, M. V. & Holbrook, N. M. Application of a single-solute non-steady-state phloem model to the study of long-distance assimilate transport. *Journal of Theoretical Biology* **220** (2003).
49. Thompson, M. V. & Holbrook, N. M. Scaling phloem transport : water potential equilibrium and osmoregulatory flow. *Plant, Cell & Environment* **26** (2003).
50. Horwitz, L. Some simplified mathematical treatments of translocation in plants. *Plant Physiology* **33** (1958).
51. Monier, A. *et al.* Diffusiophoretic migration of colloidal particles in sucrose gradients. *Langmuir* **41** (2025).
52. Jensen, K. H., Lee, J., Bohr, T. & Bruus, H. Osmotically driven flows in microchannels separated by a semipermeable membrane. *Lab Chip* **9** (2009).
53. Haaning, L. S., Jensen, K. H., Hélix-Nielsen, C., Berg-Sørensen, K. & Bohr, T. Efficiency of osmotic pipe flows. *Physical Review E—Statistical, Nonlinear, and Soft Matter Physics* **87** (2013).
54. Whitesides, G. M. The origins and the future of microfluidics. *Nature* **442.** issn : 0028-0836, 1476-4687 (2006).
55. Wang, P.-C., Devoe, D. L. & Lee, C. S. Integration of polymeric membranes with microfluidic networks for bioanalytical applications. *Electrophoresis* **22** (2001).
56. Chen, X. & Shen, J. Review of membranes in microfluidics. *J Chem Technol Biotechnol* **92** (2017).
57. De Jong, J., Lammertink, R. G. H. & Wessling, M. Membranes and microfluidics : a review. *Lab Chip* **6** (2006).
58. Kaufman, Y., Kasher, R., Lammertink, R. G. & Freger, V. Microfluidic NF/RO separation : Cell design, performance and application. *J. Membr. Sci.* **396** (2012).
59. Jajack, A. *et al.* Continuous, quantifiable, and simple osmotic preconcentration and sensing within microfluidic devices. *PloS ONE* **14** (2019).

60. Song, S., Singh, A. K., Shepodd, T. J. & Kirby, B. J. Microchip Dialysis of Proteins Using in Situ Photopatterned Nanoporous Polymer Membranes. *Anal. Chem.* **76** (2004).
61. Junius, N. *et al.* A microfluidic device for both on-chip dialysis protein crystallization and : In situ X-ray diffraction. *Lab Chip* **20** (2020).
62. Su, Y. C. & Lin, L. A water-powered micro drug delivery system. *J. Microelectromech. Syst.* **13** (2004).
63. Shay, T., Dickey, M. D. & Velev, O. D. Hydrogel-enabled osmotic pumping for microfluidics : Towards wearable human-device interfaces. *Lab Chip* **17** (2017).
64. Chuang, C. H. & Chiang, Y. Y. Bio-o-pump : a novel portable microfluidic device driven by osmotic pressure. *Sens. Actuators, B* **284** (2019).
65. Thompson, M. V. Phloem : the long and the short of it. *Trends in plant science* **11** (2006).
66. Litzenberger, A. L. *A Microfluidic Method to Measure Diffusion in Hydrogels* Master's thesis (Bucknell University, 2010).
67. Keïta, C. *Compression osmotique microfluidique : caractérisation rapide de dispersions colloïdales et de formulations industrielles* Thèse de doctorat dirigée par Salmon, Jean-Baptiste Physico-Chimie de la Matière Condensée Bordeaux 2021. PhD thesis (Université de Bordeaux, 2021).
68. Decock, J., Schlenk, M. & Salmon, J.-B. In-situ photo-patterning of pressure-resistant hydrogel membranes with controlled permeabilities in PEGDA microfluidic channels. *Lab Chip* **18** (2018).
69. Nguyen, H. T., Massino, M., Keita, C. & Salmon, J.-B. Microfluidic dialysis using photo-patterned hydrogel membranes in PDMS chips. *Lab Chip* **20** (2020).
70. Keita, C., Hallez, Y. & Salmon, J.-B. Microfluidic osmotic compression of a charge-stabilized colloidal dispersion : Equation of state and collective diffusion coefficient. *Phys. Rev. E* **104** (2021).
71. Decock, J. *Approches micro/milli-fluidiques pour l'étude in situ de procédés de filtration frontale* Thèse de doctorat dirigée par Salmon, Jean-Baptiste Chimie physique Bordeaux 2017. PhD thesis (Université de Bordeaux, 2017).
72. Kim, H. *et al.* Optofluidic in situ maskless lithography of charge selective nanoporous hydrogel for DNA preconcentration. *Biomicrofluidics* **4** (2010).
73. Kim, M. & Kim, T. Integration of nanoporous membranes into microfluidic devices : Electrokinetic bio-sample pre-concentration. *Analyst* **138** (2013).
74. Shin, I. H., Kim, K. J., Kim, J., Kim, H. C. & Chun, H. Cation-selective electropreconcentration. *Lab Chip* **14** (2014).
75. Randall, G. C., Schultz, K. M. & Doyle, P. S. Methods to electrophoretically stretch DNA : microcontractions, gels, and hybrid gel-microcontraction devices. *Lab Chip* **6** (2006).
76. Gumuscu, B. *et al.* Desalination by Electrodialysis Using a Stack of Patterned Ion-Selective Hydrogels on a Microfluidic Device. *Adv. Funct. Mater.* **26** (2016).
77. Paustian, J. S. *et al.* Direct Measurements of Colloidal Solvophoresis under Imposed Solvent and Solute Gradients. *Langmuir* **31** (2015).
78. Gu, Y., Hegde, V. & Bishop, K. J. M. Measurement and mitigation of free convection in microfluidic gradient generators. *Lab Chip* **18** (2018).

79. Schultz, J. S., Valentine, R. & Choi, C. Y. Reflection coefficients of homopore membranes : effect of molecular size and configuration. *J. Gen. Physiol.* **73** (1979).
80. Dainty, J. & Ginzburg, B. Z. The reflection of coefficient of plant cell membranes for certain solutes. *Biochim. Biophys. Acta* **79** (1964).
81. Opong, W. S. & Zydney, A. L. Effect of membrane structure and protein concentration on the osmotic reflection coefficient. *J. Membr. Sci.* **72** (1992).
82. Li, L. *et al.* Gyroid Nanoporous Membranes with Tunable Permeability. *ACS Nano* **5** (2011).
83. Pusch, W. Examination methods for the physicochemical properties of synthetic membranes. *Pure & Appl. Chem.* **58** (1986).
84. Bruus, H. *Theoretical Microfluidics* (Oxford Master Series in Physics, 2007).
85. See https ://site.physics.georgetown.edu/matlab/ for "The Matlab particle tracking code repository."
86. Cath, T., Childress, A. & Elimelech, M. Forward osmosis : Principles, applications, and recent developments. *J. Membr. Sci.* **281** (2006).
87. Jiao, Y., Zhao, C., Kang, Y. & Yang, C. Microfluidics-based fundamental characterization of external concentration polarization in forward osmosis. *Microfluid. Nanofluid.* **23** (2019).
88. Pedley, T. J. The interaction between stirring and osmosis. Part 2. *J. Fluid Mech.* **107** (1981).
89. Cohen, J. A., Podgornik, R., Hansen, P. L. & Parsegian, V. A. A phenomenological one-parameter equation of state for osmotic pressures of PEG and other neutral flexible polymers in good solvents. *J. Phys. Chem. B* **113** (2009).
90. Wu, W., Supper, M., Rausch, M. H., Kaspereit, M. & Fröba, A. P. Mutual Diffusivities of Binary Mixtures of Water and Poly(ethylene) Glycol from Heterodyne Dynamic Light Scattering. *Int J Thermophys* **43** (2022).
91. Preston, B. N., Comper, W. D., Hughes, A. E., Snook, I. & van Megen, W. Diffusion of dextran at intermediate concentrations. *J.C.S. Faraday 1* **4** (1982).
92. Ioan, C. E., Aberle, T. & Burchard, W. Structure Properties of Dextran. 2. Dilute Solution. *Macromolecules* **33** (2000).
93. Antoniou, E. & Tsianou, M. Solution properties of dextran in water and in formamide. *J. Appl. Polym. Sci.* **125** (2012).
94. Noda, I., Kato, N., Kitano, T. & Nagasawa, M. Thermodynamic properties of moderately concentrated solutions of linear polymers. *Macromolecules* **14** (1981).
95. Khan, I. *et al.* Review on Methylene Blue : Its Properties, Uses, Toxicity and Photodegradation. *Water* **14** (2022).
96. Selifonov, A. A., Shapoval, O. G., Mikerov, A. N. & Tuchin, V. V. Determination of the Diffusion Coefficient of Methylene Blue Solutions in Dentin of a Human Tooth using Reflectance Spectroscopy and Their Antibacterial Activity during Laser Exposure. *Opt. Spectrosc.* **126** (2019).
97. Telis, V. R. N., Telis-Romero, J., Mazzotti, H. B. & Gabas, A. L. Viscosity of Aqueous Carbohydrate Solutions at Different Temperatures and Concentrations. *Int. J. Food Prop.* **10** (2007).
98. Han, F., Zhang, J., Chen, G. & Wei, X. Density, Viscosity, and Excess Properties for Aqueous Poly(ethylene glycol) Solutions from (298.15 to 323.15) K. *J. Chem. Eng. Data* **53** (2008).

99. Gonzalez-Tello, P., Camacho, F. & Blazquez, G. Density and Viscosity of Concentrated Aqueous Solutions of Polyethylene Glycol. *J. Chem. Eng. Data* **39** (1994).
100. Bouazizi, S. & Nasr, S. Self-diffusion coefficients and orientational correlation times in aqueous NaCl solutions. *J. Mol. Liq.* **162** (2011).
101. Shimada, K., Kato, H., Saito, T., Matsuyama, S. & Kinugasa, S. Precise measurement of the self-diffusion coefficient for poly(ethylene glycol) in aqueous solution using uniform oligomers. *J. Chem. Phys.* **122** (2005).
102. Wang, X. & Christov, I. C. Theory of the flow-induced deformation of shallow compliant microchannels with thick walls. *Proceedings of the Royal Society A : Mathematical, Physical and Engineering Sciences* **475** (2019).
103. Lee, A. G., Arena, C. P., Beebe, D. J. & Palecek, S. P. Development of macroporous poly (ethylene glycol) hydrogel arrays within microfluidic channels. *Biomacromolecules* **11** (2010).
104. Eddine, M. A. *et al.* Tuning the water intrinsic permeability of PEGDA hydrogel membranes by adding free PEG chains of varying molar masses. *Soft Matter* **20** (2024).
105. Delhaye, C. Spectroscopie Raman et microfluidique : application à la diffusion Raman exaltée de surface. *Université de Bordeaux I* (2009).
106. Zollo, M. *CO2-switchable hydrophilic solvents : applications in microfluidics for liquid/liquid separation processes* thèse de doct. (Université de Bordeaux, 2024).
107. Destremaut, F. *Microfluidique et diffusion de rayonnements : des outils pour l'étude cinétique de la polycondensation du silicate* thèse de doct. (Bordeaux 1, 2009).
108. Daubersies, L. S. V. *Séchage de fluides complexes en géométrie confinée* thèse de doct. (Université Bordeaux 1 Bordeaux, France, 2012).
109. Bouchaudy, A. *Séchage microfluidique de fluides complexes : champs de concentration, diffusion collective et mesure in situ de contraintes* thèse de doct. (Université de Bordeaux, 2018).
110. Spiegler, K. S. & Kedem, O. Thermodynamics of hyperfiltration (reverse osmosis) : criteria for efficient membranes. *Desalination* **1** (1966).
111. Fang, Y., Bian, L. & Wang, X. Understanding membrane parameters of a forward osmosis membrane based on nonequilibrium thermodynamics. *Journal of membrane science* **437** (2013).
112. Jain, P. *et al.* A minimally disruptive method for measuring water potential in planta using hydrogel nanoreporters. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **118** (2021).
113. Wu, I.-F. *et al.* An Optical Reporting Patch for Spatiotemporal Measurements of Water Activity in Complex Environments. *Analytical Chemistry* **98** (2026).

Transport de la sève dans les plantes vasculaires : approche microfluidique

Résumé : Le transport de la sève chez les plantes vasculaires est opéré par des mécanismes passifs. En particulier, l'écoulement de sève élaborée dans le phloème, responsable du transport des sucres issus de la photosynthèse, est généralement décrit par le mécanisme de Münch. Cependant, malgré son importance pour le fonctionnement des plantes, l'étude quantitative de ce mécanisme demeure difficile en raison de la faible accessibilité du phloème. Cette thèse s'inscrit donc dans une démarche bio-inspirée visant à développer des dispositifs microfluidiques capables de reproduire et d'étudier les transport des sucres dans le phloème. L'objectif principal est de concevoir des puces microfluidiques intégrant des membranes hydrogels directement au sein des canaux, afin de permettre une caractérisation locale du transport. Dans un premier temps, des méthodes de microfabrication reposant sur la photoréticulation *in situ* d'hydrogels de poly(éthylène glycol) diacrylate (PEGDA) ont été développées pour intégrer des membranes aux géométries contrôlées dans des dispositifs microfluidiques en PEGDA. Ces systèmes ont ensuite été utilisés pour caractériser le transport à travers les membranes. Dans le régime dilué, l'analyse d'écoulements osmotiques transitoires a permis de mesurer les propriétés de transport des hydrogels. Dans le régime concentré, des mesures locales de concentration obtenues par spectroscopie Raman confocale ont mis en évidence les limites des modèles de transport conventionnels, et ont conduit au développement d'une approche unifiée décrivant le transport dans les régimes dilué et concentré. Enfin, une puce microfluidique multi-membrane reproduisant certains aspects du couplage phloème-xylème a été développée. Ce dispositif permet de générer des écoulements osmotiques stationnaires dans un *phloème artificiel*. Au-delà des résultats obtenus, cette thèse fournit une plateforme expérimentale originale pour l'étude fondamentale du transport osmotique à travers les membranes et constitue une étape vers une reproduction contrôlée du transport de la sève dans les plantes.
Mots-clés : Microfluidique, Hydrogels, Osmose, Phloème

Sap transport in vascular plants : a microfluidics approach

Abstract: Sap transport in vascular plants relies on passive mechanisms. In particular, the transport of photosynthesized sugars in the phloem is commonly described by the Münch mechanism. Despite its importance for plant functioning, quantitative investigations of this mechanism remain challenging due to the limited accessibility of the phloem. In this context, this thesis adopts a bio-inspired approach aimed at developing microfluidic devices capable of reproducing and studying sugar transport in the phloem. The main objective of this work is to design microfluidic chips integrating hydrogel membranes directly within the channels, thereby enabling local characterization of transport. First, microfabrication methods based on the *in situ* photopolymerization of poly(ethylene glycol) diacrylate (PEGDA) hydrogels were developed to integrate membranes with controlled shapes into PEGDA microfluidic devices. These systems were then used to characterize the membranes. In the dilute regime, the analysis of transient osmotic flows enabled the determination of the transport parameters of the hydrogels. In the concentrated regime, local concentration measurements obtained by confocal Raman spectroscopy revealed the limitations of conventional transport models and led to the development of a unified framework describing transport in both dilute and concentrated conditions. Finally, a multi-membrane microfluidic chip reproducing key features of phloem–xylem coupling was developed. This device enabled the generation of steady osmotic flows within an *artificial phloem*. This work provides an original experimental toolbox for fundamental studies of osmotic transport through membranes, and represents a step towards the reproduction of sap transport in plants.
Keywords: Microfluidics, Hydrogels, Osmosis, Phloem

Unité de recherche
UMR 5258 LOF, Université de Bordeaux, 33000 Bordeaux, France.