

Propriétés physico-chimiques de capsules d'hydrogel à coeur liquide

Leslie Rolland

▶ **To cite this version:**

Leslie Rolland. Propriétés physico-chimiques de capsules d'hydrogel à coeur liquide. Matériaux. Université Pierre et Marie Curie - Paris VI, 2013. Français. NNT : . tel-00919083

HAL Id: tel-00919083

https://pastel.hal.science/tel-00919083

Submitted on 16 Dec 2013

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

THÈSE DE DOCTORAT
DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

École Doctorale de Chimie Physique et Chimie Analytique de Paris Centre

Présentée par

Leslie Rolland

pour obtenir le grade de

DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ PIERRE ET MARIE CURIE

Spécialité : Physico-Chimie

Propriétés physico-chimiques de capsules d'hydrogel à cœur liquide

---

Soutenue publiquement le 22 novembre 2013 devant le jury composé de :

Mme	Laurence Ramos	Rapportrice	Dir. de recherche, *Univ. Montpellier 2*
M.	Philippe Poulin	Rapporteur	Dir. de recherche, *CRPP Bordeaux*
Mme	Valérie Cabuil	Présidente du jury	Professeur, *Univ. Paris 6*
M.	David Weitz	Examinateur	Professeur, *Harvard University*
M.	Bernard Cabane	Examinateur	Dir. de recherche, *ESPCI ParisTech*
M.	Jérôme Bibette	Directeur de thèse	Professeur, *ESPCI ParisTech*
M.	Nicolas Bremond	Co-encadrant	Maître de conférences, *ESPCI ParisTech*
M.	Thomas Delmas	Co-encadrant	Docteur-Ingénieur R&D, *Capsum*

Remerciements

Mes premiers remerciements s'adressent à Jérôme, qui m'a accueillie dans son laboratoire Colloïdes et Matériaux Divisés. Il a dirigé cette thèse et je le remercie de m'avoir fait confiance, de m'avoir accompagnée et soutenue pendant tout ce temps. Merci pour tous tes coups de pouce et pour tes intuitions fructueuses, qui avaient le pouvoir de me "rebooster" dans les moments de faiblesse ! Merci beaucoup.

Je tiens également à remercier chaleureusement Nicolas, qui m'a aidée et encadrée tout au long de ces trois années. Merci pour tous tes précieux conseils et pour ta patience. Je me rappelle ma première visite au LCMD, lorsque tu m'as présenté les capsules d'alginate qui m'ont immédiatement intriguée et donné l'envie de les étudier ! Tu m'as beaucoup appris au laboratoire, et tu m'as transmis ton savoir-faire sur la fabrication des capsules. Merci encore pour ton soutien, tu m'as permis de faire face à de nombreuses difficultés.

Un grand merci à Jean qui a toujours été présent et disponible pour répondre à mes questions. Merci pour tes nombreux conseils et pour ton aide, ainsi que pour l'intérêt que tu as porté à mon sujet. Merci pour tout le temps que tu m'as consacré, pour le projet des sabliers entre autre. Ta patience et ta pédagogie m'ont beaucoup aidée et je t'en suis très reconnaissante.

Je souhaite également remercier Capsum*, qui a financé cette thèse. Merci à Sébastien Bardon d'avoir permis cette première collaboration CIFRE. Merci également à Audrey pour son aide à mon arrivée au laboratoire et chez Capsum. Merci pour ta gentillesse et pour les quelques moments passés ensemble à la paillasse à faire des tests de produits. Merci à Enric pour sa bonne humeur et pour tout ce qu'il m'a appris sur les capsules au début de ma thèse. Merci à Thomas, qui a été mon "lien" entre le laboratoire et* Capsum*, pour son aide et ses conseils. Merci enfin à Mathieu pour toutes les discussions intéressantes que l'on a eu. Merci enfin à toutes les personnes de* Capsum *qui travaillent à Marseille et qui m'ont accueillie chaleureusement lors de mes visites.*

J'adresse un grand remerciement à Laurence Ramos et Philippe Poulin qui ont accepté d'être rapporteurs de mon manuscrit de thèse. Merci de l'intérêt que vous avez porté à mon travail et merci pour vos remarques et vos critiques constructives et enrichissantes. Je remercie

également les membres de mon jury Valérie Cabuil, Bernard Cabane et David Weitz, qui ont apprécié mon travail et apporté un regard extérieur aussi intéressant qu'enrichissant.

Je souhaite également remercier chaleureusement Damien Baigl, qui a été mon tuteur à l'ENS. Merci pour ta gentillesse et ton dynamisme et pour tous tes conseils durant ces années formatrices à l'ENS. Merci également de m'avoir aiguillée vers le LCMD ! Merci d'être toujours disponible pour discuter et pour répondre à mes interrogations.

I would also like to thank Paul Chaikin and David Weitz. It was a real pleasure for me to discuss with you about my work during your annual visit at the LCMD. Thank you Dave for being present during my long oral presentation in French.

La thèse, c'est aussi et surtout un laboratoire où l'on passe beaucoup de temps et où il est important de se sentir bien. J'adresse donc un immense merci à tous mes collègues du LCMD ! Merci aux anciens Rachid, Julie et Fabien qui m'ont accueillie chaleureusement dans leur bureau à mon arrivée. Merci à mes conscrits Denis et Donatien qui ont commencé leur thèse avec moi, et merci à notre aîné Damien pour tous ses conseils ! Merci à vous les "3 D" pour tous les bons moments partagés, au mariage de Donatien ou sur les courts de tennis entre autres !

L'équipe des encapsuleurs : Hugo, Perrine, Léo et Kevin. Sans vous ma thèse n'aurait pas été la même ! Je n'oublierai jamais toutes nos discussions farfelues, nos fous rires endiablés, et nos sessions juke-box dans notre labo "Capsulers & Kevin" ! Quel plaisir de travailler dans la bonne humeur et de partager nos réussites et nos déboires ensemble ! Les manips ratées ont eu un goût bien moins amer grâce à vous ! Hugo, merci pour toute ton aide et ta générosité, tu es toujours disponible pour les autres. Perrine, merci pour ta gentillesse et ta patience incarnée. Léo, merci pour ta bonne humeur, ta jovialité et tes blagues. Et surtout, "garde la pêche" ! Kevin, merci pour ton humour, ton cynisme et ton "intelligence suprême". Entre nous, ça a souvent été "qui aime bien, châtie bien". Merci aussi pour les nombreuses pauses goûter que tu nous as forcé à prendre.

Au bureau aussi le travail s'est fait dans la bonne humeur grâce à Hugo, Léo, Jairo et Guillaume. Merci à vous de m'avoir supportée durant ma dure période de rédaction entre autre !

NiKo, merci pour ton humour et ta bonne humeur, et pour toutes les soirées qu'on a passées ensemble. Tu es toujours partant lorsqu'il s'agit de se marrer et de se détendre devant des vidéos comiques, de sortir prendre un verre ou de visiter une expo.

Merci au "bureau des filles", Fanny, Julie et Florence. Merci à Fanny la deuxième savoyarde du labo, je n'oublierai jamais ton énergie débordante et ta spontanéité. Julie, merci pour nos fous rires et nos discussions de filles entre deux manips.

Florence, un immense merci pour tout ce que tu apportes au laboratoire. Sans toi la vie au LCMD ne serait pas la même. Tu es toujours disponible pour nous aider et pour discuter de tout : tu es notre maman de labo ! Jean-Yves, merci beaucoup pour tous les services que tu m'as rendu. Merci pour ta gentillesse, tu es toujours présent lorsqu'il s'agit d'aider, de bricoler ou réparer quelque chose. Merci aussi pour tous les outils que tu m'as généreusement prêté ! Lise, ton efficacité et ta disponibilité font de toi la gestionnaire parfaite !

Enfin, merci à toutes les personnes du LCMD, les anciens comme les nouveaux, Edouard,

Laurent, Rory, Gabrielle, Céline, Anette, Shima, Lian Mei, Emmanuelle, Juliette, Sarah et les autres...

Merci également à Lucie et Charlotte, avec Léo et Hugo, de m'avoir invitée et intégrée à leurs amis lors de soirées "PCènnes". Grâce à eux, j'ai rencontré de nombreuses personnes toutes aussi sympathiques les unes que les autres. J'ai pu découvrir l'atmosphère conviviale qui règne dans cette école, dans laquelle je suis très heureuse d'avoir réalisé ma thèse.

À la sortie du labo, heureusement que les amis et la famille sont là pour oublier un instant les capsules d'alginate !

Un immense merci à ma meilleure amie Élise. Je ne sais comment te remercier pour tous nos moments passés ensemble. Depuis notre rencontre à l'ENS et pendant toutes ces années, tu as toujours été là, dans les meilleurs comme dans les pires instants. Comment oublier toutes ces soirées de folies, nos vacances aux ski, nos délires et tous ces heures passées à refaire le monde et à se raconter nos déprimes et nos réussites de thésardes...

Floriane, merci de t'être défoulée avec moi durant nos cours de tennis, merci pour ta gentillesse et ta générosité, et pour toutes les confidences de thésardes que l'on a partagées.

Maëlle, grâce à ton stage tu es devenue une amie et je te remercie pour les bons moments que l'on a partagés. Merci d'être venue écouter ma soutenance et faire la fête avec moi ! Et merci pour le Zimm-plot du PEO !

Amandine, depuis nos années lycée et malgré la distance, tu restes mon amie et même si la SNCF en a décidé autrement, je te remercie du fond du cœur d'avoir accepté de venir de si loin pour fêter ça !

Merci également à ma famille et belle-famille Pascou, Ninou, Patricia, Aurore, Jonathan, Séverine, Karima, Lynda et Jean-Yves, ainsi qu'à tous ceux qui ont été présents le jour de ma soutenance ! Cette journée a été inoubliable ! Merci aussi à mes amis de Pralognan, notamment Marino et Alyssa, qui sont loin mais que je n'oublie pas.

Merci enfin à mes parents et ma sœur pour leur amour et leur soutien pendant toutes ces années. Maman, merci d'être toujours là pour me réconforter et m'encourager, merci pour tout, et bien plus encore... Papa, merci de m'avoir initié aux joies du bricolage, crois-moi ça m'a été très utile ! Un immense merci à Clem, mon agronome de petite sœur, la deuxième scientifique de la famille. Je vous aime.

Je te dédicace cette thèse, Papy. Toi qui m'a appris tant de choses et qui m'a toujours rappelé à quel point "l'école, c'est le plus important", je suis sûre qu'aujourd'hui tu es très fier de moi. Tu me manques...

Mehdi, merci d'être là pour moi, merci de me soutenir et de me supporter (surtout pendant ces six longs derniers mois de thèse !), merci de me redonner confiance en moi, merci pour ton optimisme, merci pour ta patience et pour ton amour, merci pour tout ce que tu me donnes... Ilo Veyou !

Table des matières

Introduction générale **13**

I L'alginate de calcium : utilisation d'un hydrogel pour la formation de capsules à cœur liquide. **15**

Introduction **17**

1 Les hydrogels **19**
1.1 Généralités 19
1.2 Qu'est-ce qu'un hydrogel ? 21
1.3 Propriétés notables des hydrogels 23
1.4 Exemples d'applications des hydrogels 28
1.4.1 Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments 28
1.4.2 Immobilisation cellulaire 31
1.4.3 Ingénierie tissulaire 31
1.4.4 Cosmétique 33
1.5 Conclusion 35

2 Encapsulation par un hydrogel **37**
2.1 L'encapsulation 37
2.1.1 Concept et applications 37
2.1.2 Quelques techniques d'encapsulation 39
2.2 Technique originale de formation de capsules à membrane fine d'alginate 43
2.2.1 Capsule simple en régime goutte-à-goutte 43
a. Formation de la capsule 43
b. Matériaux 46
2.2.2 Capsule à double membrane en régime goutte-à-goutte 48

a. Dispositif expérimental : coextrusion à trois voies 48
b. Matériaux 48
c. Contrôle des épaisseurs 49
2.2.3 Capsules submillimétriques par fragmentation d'un jet composé 51
2.3 Premières applications des capsules 54
2.4 Conclusion 54

3 Transition sol-gel de l'alginate **57**
3.1 La transition sol-gel 57
3.2 L'alginate : un polysaccharide naturel gélifiant 58
3.2.1 Présentation de l'alginate 58
3.2.2 Bref historique de l'alginate 58
3.2.3 Structure et propriétés de l'alginate 59
a. Structure chimique 59
b. Gélification 60
3.3 Stabilité du gel d'alginate en présence de sel 61
3.3.1 Dissolution du gel en présence d'un sel chélatant 63
3.3.2 Stabilité en présence d'un sel non chélatant 65
3.4 Stabilité d'une membrane d'alginate de calcium 66
3.4.1 Effet de la force ionique sur le temps de rupture 67
3.4.2 Effet de la taille de l'ion sur $t_{rupture}$ 69
3.5 Conclusion 70

Conclusion de la première partie **71**

II Encapsulation par une membrane d'hydrogel et par une double membrane hydrogel + huile **73**

Introduction **75**

4 Diffusion à travers une membrane d'hydrogel **77**
4.1 Description de l'expérience de diffusion dans une capsule d'alginate 77
4.1.1 Protocole expérimental 77
4.1.2 Mesure de la fuite par réfractométrie 78
4.1.3 Résultats expérimentaux 79
4.2 Diffusion de petites molécules 80
4.2.1 Modélisation 80
4.2.2 Diffusion libre 81
4.3 Diffusion de grosses molécules : détermination d'un rayon de coupure 83
4.3.1 Fuite partielle 84
4.3.2 Diffusion gênée 85
4.3.3 Rayon de coupure 85

4.4 Conclusion 86

5 Encapsulation de solutés hydrophiles dans une DuoPearl Inverse 89

5.1 Introduction 89

5.2 Le modèle de solubilité-diffusion 89

5.2.1 Diffusion à travers une membrane : cas linéaire 90

5.2.2 Introduction du coefficient de partage K 91

5.2.3 Diffusion à travers une couche huileuse : cas des DPi 92

5.3 Étude de la fuite de composés modèles 95

5.3.1 Matériaux 95

5.3.2 Méthodes expérimentales de mesure de la fuite 96

a. Flurorescence 96

b. Absorbance 96

5.3.3 Résultats expérimentaux 97

a. Encapsulation totale des composés hydrophiles 97

b. Fuite de la Rhodamine B 99

5.4 Transport de l'eau dans la couche hydrophobe 102

5.4.1 Diminution du volume du cœur aqueux par osmose 102

5.4.2 Modélisation 103

5.4.3 Résultats de l'expérience 103

5.5 Conclusion 105

Conclusion sur l'encapsulation 107

Annexe A Rayon hydrodynamique du Dextran 109

Annexe B Surface de diffusion 111

III Comportements mécaniques d'une membrane fine d'alginate 113

Introduction 115

6 Introduction à la mécanique des hydrogels 117

6.1 Quelques notions de mécanique des matériaux 117

6.1.1 Propriétés mécaniques des hydrogels 120

6.2 Comportement mécanique d'une membrane 122

6.2.1 Contrainte de pression isotrope 122

6.2.2 Contrainte de compression anisotrope 123

6.2.3 Compression d'une collection de capsules 123

7 Gonflement osmotique d'une capsule **127**
7.1 Description de l'expérience . . . 127
7.1.1 Matériaux . . . 127
7.1.2 Protocole expérimental . . . 128
7.2 Résultats et observations . . . 129
7.2.1 Rupture de la membrane et relaxation : régimes viscoélastique et viscoplastique . . . 129
7.2.2 Viscoélasticité de la membrane et module d'Young . . . 131
a. Cinétique de gonflement . . . 131
b. Influence de la concentration en alginate et de l'épaisseur de la membrane . . . 133
c. Détermination du module d'Young E . . . 134
7.3 Conclusion . . . 139

8 Compression d'une dispersion de microcapsules **141**
8.1 Description de l'expérience . . . 142
8.1.1 Matériaux . . . 142
8.1.2 Protocole expérimental . . . 142
8.2 Résultats . . . 144
8.2.1 Relaxation temporelle . . . 144
8.2.2 Équation d'état du système $\Pi = f(\Phi)$ . . . 145
8.2.3 Élasticité du système et plasticité . . . 148
8.3 Conlusion . . . 152

Conclusion sur la mécanique **153**

IV Écoulement de microcapsules d'alginate **155**

Introduction **157**

9 Les microcapsules comme milieu granulaire : écoulement dans un "sablier liquide" **159**
9.1 Friction statique entre les microcapsules . . . 159
9.1.1 Le frottement solide . . . 160
9.1.2 Friction dans un granulaire et angle de talus . . . 160
9.1.3 Friction entre microcapsules . . . 161
9.2 Écoulement dans un "sablier liquide" . . . 163
9.2.1 Introduction . . . 163
9.2.2 Matériaux . . . 165
9.2.3 Protocole expérimental . . . 166
9.3 Mesure de la vitesse d'écoulement . . . 168
a. Effet de l'angle du sablier sur la vitesse d'écoulement . . . 169

b. Variation du diamètre du col des sabliers D_{col} 170
c. Variation du diamètre des capsules $d_{capsules}$ 171
9.4 Quels sont les phénomènes physiques mis en jeu ? 172
9.4.1 Influence de la friction dans l'écoulement des microcapsules 173
9.4.2 Fluidisation d'un lit de microcapsules 174
9.4.3 Crémage d'une colonne de microcapsules 177
a. Sédimentation dans un milieu non confiné 177
b. Effet du confinement 182
c. Description de l'expérience 183
d. Discussion 185

Conclusion sur l'écoulement de microcapsules dans un sablier **189**

Annexe C Fluidisation d'un lit de microcapsules **191**
C.1 Description de l'expérience 191
C.2 Résultats 192
C.3 Conclusion 195

Annexe D Théorie de la sédimentation **197**
D.1 Construction des lignes de discontinuité 197

Conclusion générale **199**

Bibliographie **210**

Introduction générale

Ce travail de thèse s'articule autour de la caractérisation de différentes propriétés physico-chimiques de capsules d'hydrogel à cœur liquide.

Un procédé original de fabrication de structures cœur-coque biocompatibles constituées d'un cœur liquide et d'une membrane fine d'alginate a été développé au laboratoire. Cette technique millifluidique permet la production de capsules millimétriques et submillimétriques, dont le cœur liquide peut être aqueux ou huileux et la membrane d'épaisseur contrôlée de 150 à moins de 40 μm. De nombreuses travaux s'orientent aujourd'hui sur l'utilisation de ces objets en biologie pour l'encapsulation de matière vivante (cellules, algues, bactéries) ou pour une utilisation industrielle en cosmétique. Notre objectif s'est donc naturellement dirigé vers l'exploration de leurs propriétés physico-chimiques.

Dans la première partie, nous présentons les hydrogels et leurs propriétés ainsi que quelques techniques d'encapsulation usuelles. Nous décrivons ensuite notre procédé de fabrication ainsi que l'hydrogel d'alginate qui constitue la membrane. L'alginate est un polysaccharide naturel biocompatible très répandu et utilisé dans de nombreux domaines. Il possède la particularité de former instantanément un hydrogel physique en présence d'ions bivalents. Nous nous sommes donc penchés sur la transition sol-gel de l'alginate et la stabilité de l'hydrogel, notamment en présence d'un sel chélatant du calcium et d'un sel monovalent.

Nous avons ensuite mis au point différentes techniques spécifiques à la caractérisation des objets mis en forme par notre procédé, c'est-à-dire constités d'une enveloppe solide d'hydrogel d'alginate et d'un cœur liquide.

Dans la deuxième partie, nous nous intéressons aux propriétés de perméabilité de la membrane. L'étude du transport de solutés nous a permis de montrer la semi-perméabilité de la membrane et d'estimer une taille de coupure du réseau de l'hydrogel. Nous montrons également que l'ajout d'une couche hydrophobe entre le cœur aqueux et la membrane permet de piéger durablement des solutés hydrophiles à l'intérieur des capsules.

Dans la troisième partie, nous présentons deux expériences qui permettent l'étude des

comportements mécaniques des capsules soumises à différents types de contrainte. La membrane étant semi-perméable, une capsule se comporte comme un sac à dialyse lorsqu'elle encapsule un polymère de grande taille. Plongée dans l'eau, la différence de pression osmotique entraîne un gonflement et un étirement de la membrane. Cette expérience nous a permis dans un premier temps de caractériser les régimes viscoélastique et viscoplastique des capsules. Dans un deuxième temps, une expérience de compression d'une colonne de microcapsules nous a permis de mettre en évidence la plasticité du gel sous compression.

Dans la dernière partie, nous nous sommes penchés sur les propriétés d'écoulement d'une suspension concentrée de microcapsules dans l'eau. Par analogie avec un milieu granulaire, nous avons mis en évidence l'existence d'un coefficient de friction statique dans les microcapsules, ce qui nous a amené à examiner leur écoulement dans un sablier liquide. Les études sur l'écoulement des granulaires sont peu nombreuses et n'ont donné lieu qu'à des lois empiriques. La sédimentation a été formalisée depuis longtemps, mais uniquement en milieu infini. Nous avons adapté cette théorie à un milieu confiné afin d'expliquer que l'écoulement est gouverné par un phénomène hydrodynamique, et non par la friction entre particules comme le montrent toutes les études sur les granulaires.

Toutes ces différentes expériences nous ont permis d'examiner et de caractériser les propriétés spécifiques de ces objets complexes dont les comportements singuliers sont la signature d'un procédé de fabrication inédit.

Première partie

L'alginate de calcium : utilisation d'un hydrogel pour la formation de capsules à cœur liquide.

Introduction

Les hydrogels sont des réseaux à trois dimensions de polymères gonflés d'eau, qui peuvent être réticulés de manière chimique ou physique. Les caractéristiques notables et versatiles de ces gels en font des matériaux largement utilisés pour un grand nombre d'applications dans les secteurs des biotechnologies, du biomédical, de la pharmaceutique, de la cosmétique ou encore de l'agroalimentaire. Après avoir présenté les hydrogels, nous donnerons un aperçu de leurs propriétés remarquables puis présenterons des exemples d'applications biomédicales.

Nous nous sommes intéressés en particulier à l'hydrogel d'alginate de calcium. Ce matériau a déjà été beaucoup étudié et utilisé et présente de nombreux avantages, tels que sa biocompatibilité, son faible coût et sa transition sol-gel rapide en présence d'ions calcium. Nous présentons un procédé original de mise de mise en œuvre de l'alginate. Notre technologie millifluidique permet de former des capsules biocompatibles millimétriques et sub-millimétriques à structure type cœur-coque. Elles sont composées d'un cœur liquide aqueux ou huileux et d'une membrane d'alginate d'épaisseur contrôlée.

Les enjeux de l'encapsulation sont multiples et ont donné naissance à un grand nombre de produits industriels. De ce fait, de nombreuses techniques d'encapsulation se sont développées dans les domaines industriels et scientifiques. Nous en présenterons quelques exemples dans le deuxième chapitre, avant de décrire les avantages et les détails expérimentaux de notre procédé de fabrication de capsules.

Dans le dernier chapitre, nous nous penchons en détail sur les propriétés du gel d'alginate de calcium. En effet, l'alginate est le matériau constituant la membrane des capsules, il est donc nécessaire dans un premier temps d'étudier sa transition sol-gel et sa stabilité avant de nous intéresser aux propriétés physico-chimiques des capsules à proprement parlé.

CHAPITRE 1

LES HYDROGELS

1.1 Généralités

Un hydrogel est un réseau à trois dimensions de polymère gonflé par une grande quantité d'eau. Leur classification se fait selon différents critères, représentés dans le diagramme de la Figure 1.1 :

- La source du polymère : hydrogel naturel ou synthétique.
- La nature de la réticulation : hydrogel chimique ou physique.
- La nature du réseau polymérique : réseau homopolymérique ou copolymérique, réseau de polymères enchevêtrés.
- La charge de l'hydrogel.
- Leur durée de vie dans l'organisme : hydrogel dégradable ou non-dégradable.
- Les propriétés physiques : hydrogel conventionnel ou "intelligent".

Dans les années 50, Wichterle et Lim ont travaillé sur des nouveaux biomatériaux pour une application en ophtalmologie. Les principales caractéristiques attendues de ces matériaux étaient d'être mous et avec une forme stable, avec une stabilité chimique et biochimique et très perméables aux nutriments solubles dans l'eau [Kopeček and Yang, 2007]. Sur la base de ce cahier des charges, Lim synthétisa en 1953 les premiers hydrogels par copolymérisation du 2-hydroxyéthyl méthacrylate (HEMA) avec l'éthylène diméthacrylate (EDMA). Ces polymères sont décrits dans la publication parue en 1960 dans *Nature* [Wichterle and Lim, 1960]. À la suite de ces travaux, Wichterle mit au point les premières lentilles de contact flexibles à base d'hydrogel, invention brevetée en 1968 [Wichterle, 1968]. C'est à cette même époque qu'ont démarré les recherches sur les hydrogels et leur utilisation dans de nombreuses applications biomédicales [Wichterle, 1978]. Ces différentes applications ont constitué le point de départ d'études pous-

sées sur la relation entre la structure des hydrogels et leur biocompatibilité [Kopeček and Yang, 2007].

Depuis la formation du premier hydrogel synthétique par Wichterle et Lim [1960], la technologie des hydrogels a progressé dans un grand nombre d'applications industrielles, telles que l'industrie agroalimentaire [Chen et al., 1995], la pharmacie ou encore le biomédical [Kashyap et al., 2005]. Ils jouent désormais un rôle majeur dans l'ingénierie tissulaire [Lee and Mooney, 2001], dans les biosenseurs et l'immobilisation cellulaire [Jen et al., 1996] ou encore comme vecteurs de médicaments [Peppas, 2000]. Parmi ces applications, les systèmes de libération contrôlée de médicaments à base d'hydrogels sont devenus une secteur de recherche majeur, avec plusieurs produits commerciaux déjà développés [Peppas, 2000]. De plus, le développement d'un large spectre de monomères fonctionnels continue d'élargir la versatilité des hydrogels.

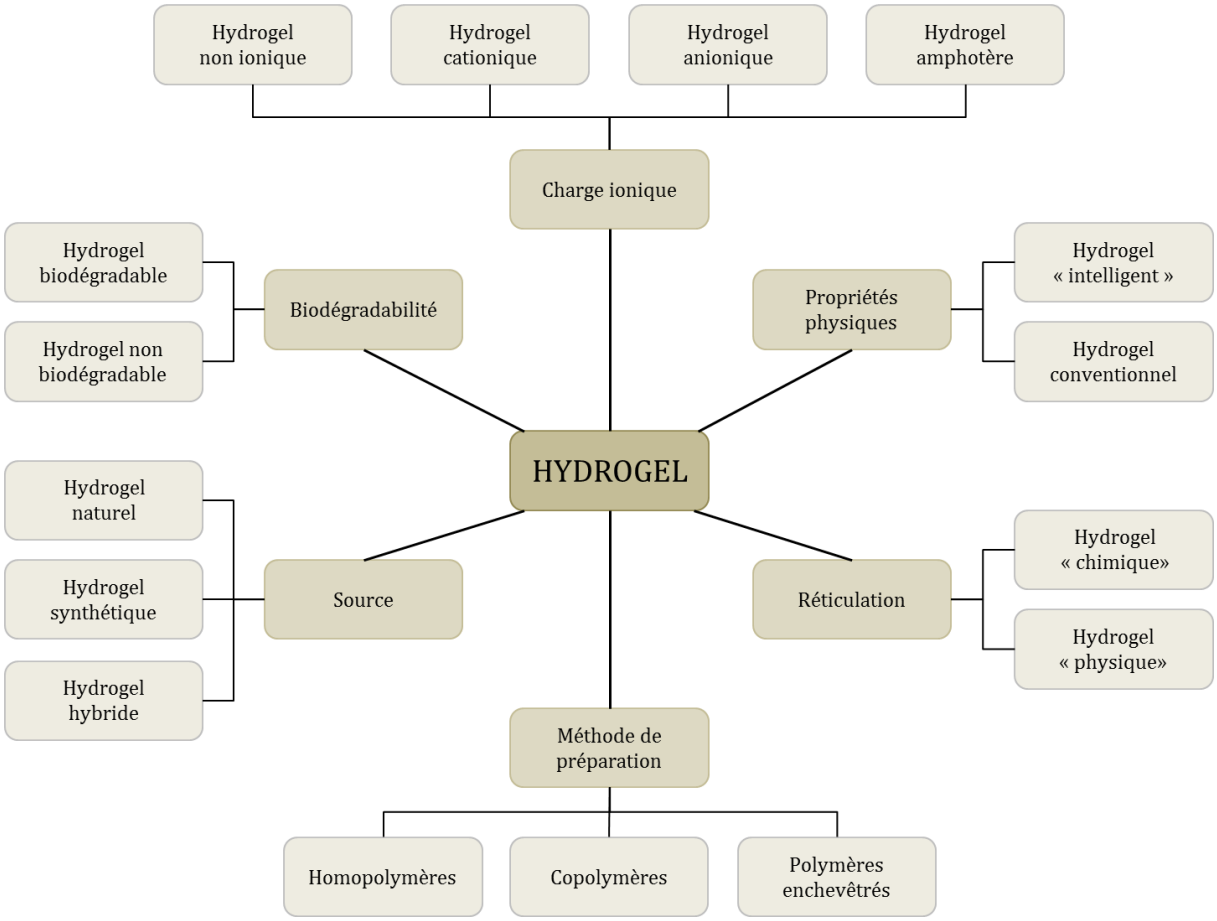


Figure 1.1 – Classification des hydrogels. *Inspiré par [Patel and Mequanint, 2011].*

1.2 Qu'est-ce qu'un hydrogel ?

Un hydrogel est un réseau polymérique hydrophile qui peut absorber en eau jusqu'à plusieurs milliers de fois sa masse sèche. Les hydrogels peuvent être stables chimiquement ou peuvent se dégrader et se dissoudre [Hoffman, 2002].

Les hydrogels sont dits "réversibles" ou "physiques" lorsque le réseau est un enchevêtrement de polymère tenu par des forces secondaires de type liaisons hydrogènes, ioniques ou hydrophobes. Les domaines de réticulation des gels physiques créent des inhomogénéités. Les chaînes de polymères libres représentent un réseau transitoire dans les gels physiques puisque les sites de réticulation ne sont pas permanents. Lorsqu'un polyélectrolyte est combiné à un ion multivalent de charge opposée, cela peut conduire à la formation d'un hydrogel physique dit "ionotropique". L'alginate de calcium, que nous seront amené à décrire plus spécifiquement par la suite, est un exemple de ce type d'hydrogel. D'autre part, lorsque deux polyélectrolytes de charges opposées sont mélangés, ils peuvent gélifier ou précipiter en fonction de leur concentration, de la force ionique et du pH de la solution. Les produits de ce type de systèmes réticulés "physiquement" sont appelés coacervats complexes ou complexes polyélectrolytes. L'alginate peut par exemple former un coacervat complexe avec la polylysine. Les interactions dans les hydrogels physiques étant réversibles, il est possible de les défaire en jouant sur les conditions physiques telles que la force ionique, le pH, la température, en appliquant une contrainte mécanique ou encore en ajoutant un soluté spécifique qui entre en compétition avec l'agent réticulant [Hoffman, 2002].

Les hydrogels sont dits "permanents" ou "chimiques" lorsque leur réseau est réticulé de manière covalente. Les premiers hydrogels synthétiques de Wichterle and Lim [1960] étaient formés par la copolymérisation du monomère HEMA avec le monomère EGDMA (voir Tableau 1.1 pour la définition des acronymes). Comme les hydrogels physiques, les hydrogels chimiques ne sont pas homogènes. Ils contiennent généralement des régions peut gonflées par l'eau où la densité de réticulation est élevée. Ces régions appelées "clusters" sont dispersées parmi des régions à faible densité de réticulation très gonflées en eau. Dans certains cas, en fonction de la composition du solvant, de la température et de la concentration lors de la formation du gel, une séparation de phase peut avoir lieu, formant ainsi des cavités (ou macropores) remplis d'eau dans le gel. Dans les gels chimiques, les chaînes de polymères libres sont des "défauts" dans le réseau et ne contribuent pas à l'élasticité permanente du réseau [Hoffman, 2002].

Il existe un certain nombre de structures macromoléculaires possibles pour les hydrogels physiques et chimiques, incluant les suivantes : un réseau réticulé ou enchevêtré d'homopolymères linéaires, de copolymères linéaires et de copolymères à blocs ou branchés ; un complexe polyion-ion multivalent, polyion-polyion ou liaisons hydrogènes ; un réseau hydrophile stabilisé par des régions hydrophobes ; des réseaux inter-pénétrés (ou mélanges physiques).

D'autres part, les hydrogels peuvent avoir différentes formes physiques, comme par exemple :

- Un solide mou (ex. lentilles de contact).
- Une poudre comprimée (ex. pilules ou capsules pour ingestion orale).
- Des microparticules (ex. vecteurs bioadhésifs ou traitement des plaies).

- Sous forme de revêtement (ex. sur les implants, sur les pilules ou capsules).
- Sous forme de membrane ou de feuille (ex. réservoir dans un patch de libération sous-cutanée, gels d'électrophorèse à 2D).
- Solide encapsulé (ex. pompe osmotique)
- Liquide (formant un gel par chauffage ou refroidissement).

Une grande variété de polymères sont utilisés pour fabriquer des hydrogels et le Tableau 1.1 résume les plus courants. Les hydrogels peuvent être partagés entre les polymères d'origine naturelle et les polymères synthétiques. Il est également possible de former des hydrogels en mélangeant les deux classes.

Tableau 1.1 – Polymères naturels et monomères synthétiques les plus couramment utilisés dans la fabrication des hydrogels. ***Adapté de [Lin and Metters, 2006; Hoffman, 2002].***

Polymères naturels		Monomères synthétiques
Polymères anioniques	Acide hyaluronique	Hydroxyéthyl méthacrylate (HEMA)
	Alginate	*N*-(2-hydroxypropyl)méthacrylate
	Pectine	(HPMA)
Polymères cationiques	Chitosan	*N*-vinyl-2-pyrrolidone (NVP)
	Polylysine	*N*-isopropyle acrylamide (NIPAAm)
Polymères amphiphiles	Collagène (et gélatine)	Acétate de vinyl (VAc)
	Fibrine	Acide acrylique (AA)
Polymères neutres	Dextran	Acide méthacrylique (MAA)
	Agarose	Éthylène glycol acrylate/méthacrylate (EGA/EGMA)
		Éthylène glycol diacrylate/diméthacrylate (EGDA/EGDMA)

Les hydrogels issus de polymères naturels offrent en général plusieurs avantages inhérents tels que la biocompatibilité et la biodégradabilité, ainsi que la présence de fragments biologiques favorisant l'activité cellulaire. À l'inverse, les hydrogels synthétiques ne possèdent pas de propriétés biologiques intrinsèques. Néanmoins, les polymères synthétiques ont généralement des structures bien définies qui peuvent être ajustées de manière à satisfaire la biodégradabilité et la biofonctionnalité [Lin and Metters, 2006].

Il existe différents moyens de synthétiser un hydrogel chimique ou physique, et quelques-unes des principales techniques sont présentées dans le Tableau 1.2. La Figure 1.2 présente schématiquement quelques exemples de formations d'hydrogels physiques et chimiques, et notamment la formation d'un hydrogel "ionotropique" tel que l'alginate de calcium.

Tableau 1.2 – Méthodes couramment utilisées pour synthétiser des hydrogels.
Adapté de [Hoffman, 2002].

Hydrogels physiques
Chauffage ou refroidissement d'une solution (ex. agarose ou gélatine dans l'eau)
Diminution du pH pour former un gel par liaisons hydrogènes entre deux polymères en solution aqueuse (ex. PEG et PAA)
Mélange de solutions d'un polyanion et d'un polycation pour former un gel sous forme de coacervat complexe (ex. alginate de sodium plus polylysine)
Gélification d'une solution de polyélectrolyte avec un ion multivalent de charge opposée (ex. alginate de sodium + calcium)
Hydrogels chimiques
Réticulation de polymères solides ou en solution par :
- Radiation (ex. irradiation de PEG dans l'eau)
- Réticulation chimique (ex. traitement du collagène avec du glutaraldéhyde)
Copolymérisation d'un monomère par un agent réticulant en solution (ex. HEMA + EGDMA)
Polymérisation d'un monomère dans un polymère solide différent pour former un réseau interpénétré (ex. acrylonitrile + amidon)
Conversion chimique d'un polymère hydrophobe en hydrogel (ex. hydrolyse partielle de poly(acétate de vinyl) PVAc en alcool polyvinylique PVA)

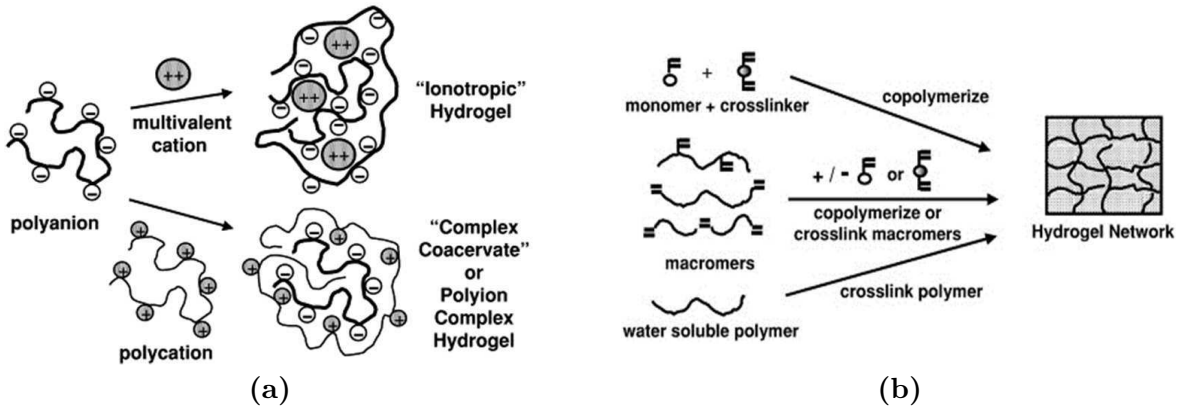


Figure 1.2 – **(a)** Schéma de formation de deux types d'hydrogels physiques ioniques : un d'hydrogel "ionotropique" (ex : alginate de calcium) et un hydrogel polyionique (ex : complexe d'alginate avec la polylysine). **(b)** Schéma de formation d'un hydrogel chimique par différents types de polymérisation ou réticulation de polymères hydrosolubles. *Adapté de [Hoffman, 2002].*

1.3 Propriétés notables des hydrogels

Les hydrogels utilisés comme biomatériaux dans les biotechnologies nécessitent certaines propriétés physico-chimiques que l'on doit pouvoir caractériser et contrôler. Deux caractéristiques importantes sont la biocompatibilité [Augst et al., 2006] et les propriétés mécaniques [Anseth et al., 1996]. La perméabilité dans les hydrogels est également un paramètre nécessaire à étudier aux vues des applications potentielles d'encapsulation et de relargage [Hoffman, 2002; Lin and Metters, 2006]. Enfin, certains hydrogels dits "intelligents" voient leurs caractéristiques modifiées en réponse à un stimulus extérieur [Patel and Mequanint, 2011].

Dégradabilité : Le contrôle de la dégradation d'un biomatériaux est souvent un facteur clé dans les applications biomédicales. En se dégradant, le matériau laisse de l'espace pour la croissance d'un nouveau tissu, ou laisse diffuser les molécules bioactives. La dégradation du gel peut être contrôlée par des méthodes physiques et/ou chimiques : il est possible de jouer sur la masse molaire des polymères ou leur composition pour contrôler la cinétique de dégradation in vivo. Par exemple, en irradiant un alginate de haute masse molaire, on peut couper sélectivement certains types de liaisons, et ainsi former un gel qui se dégrade plus rapidement. L'utilisation d'enzymes est un exemple de méthode biologique permettant la dégradation des hydrogels [Augst et al., 2006].

Propriétés mécaniques : Les propriétés mécaniques d'un hydrogel sont très importantes pour le choix du matériau à utiliser au regard d'une application spécifique : les propriétés attendues ne sont pas les mêmes en ingénierie tissulaire ou pour des lentilles de contact (gel mou), pour un épaississant en agroalimentaire (gel très mou), ou encore dans la fabrication de microbilles absorbant l'humidité (gel dur). Pour mieux comprendre le comportement mécanique des hydrogels, on utilise les théories d'élasticité et viscoélasticité basées sur la réponse temporelle du gel soumis à une contrainte. On peut distinguer les gels mous, comme les élastomères, qui sont viscoélastiques et possèdent un faible module d'Young. Ils possèdent une contrainte seuil de plasticité à partir de laquelle la déformation est irréversible : c'est le régime de viscoplasticité. Les gels plus rigides possèdent des modules d'Young supérieurs : ils sont moins déformables et peuvent casser lorsque la contrainte dépasse une contrainte seuil de rupture.

La rigidité d'un polymère réticulé provient essentiellement de la densité de réticulation et de l'énergie des liaisons. On peut par exemple, lorsqu'un hydrogel n'est pas homopolymérique, améliorer la rigidité finale du matériau en augmentant la proportion de monomères plus "solides" et en augmentant ainsi la raideur du squelette de polymères (en remplaçant par exemple des acrylates par des méthacrylates). On peut également augmenter la densité de réticulation d'un gel en augmentant la quantité d'agent réticulant ou la concentration en polymère [Anseth et al., 1996].

Les conditions de formation de l'hydrogel telles que le temps de réaction, la température, la quantité et le type de solvant influent sur la structure finale du gel et peuvent également affecter les propriétés mécaniques du gel. Par exemple, lorsque le temps de réaction avec l'agent réticulant est court, la densité de points de réticulation sera faible et le gel sera moins rigide. Le post-traitement d'un gel (addition d'un composé réagissant avec le(s) polymère(s)) peut changer la structure du réseau polymérique et modifier ses propriétés mécaniques. Enfin, le degré de gonflement d'un réseau d'hydrogel est intimement lié à sa résistance mécanique : plus il est gonflé d'eau, plus la densité de réticulation est faible [Anseth et al., 1996].

L'énergie de fracture d'un hydrogel est typiquement comprise entre 0,1 et 1 J/m^2, ce qui est beaucoup plus faible que celle des caoutchoucs usuels ($\simeq 10^3$ J/m^2). De nombreux chercheurs ont pensé que cette caractéristique des gels était due à un comportement de type liquide, lié à la faible densité de chaînes de polymères et leur faible friction. Néanmoins, il existe des exemples d'hydrogels biologiques possédant d'excellentes performances mécaniques : c'est le cas du carti-

lage. Le challenge a donc été de développer des hydrogels qui rivalisent avec ces gels naturels. Récemment, trois nouveaux types d'hydrogels ayant de bonnes caractéristiques mécaniques ont été développés : les hydrogels "topologiques" (TP), les hydrogels "nanocomposites" (NC) et les hydrogels "à double réseau" (DR). Les gels TP possèdent des points de réticulation en forme de 8 qui peuvent glisser autour de la chaîne de polymère. Cette réticulation flexible permet leur permet d'être extrêmement étirables. Dans les gels NC, les chaînes de polymères sont réticulées par des blocs inorganiques de quelques dizaines de nanomètres. Ils sont également très étirables et possèdent d'autres propriétés physiques intéressantes comme une excellente transparence optique. Enfin, les hydrogels DR sont constitués de deux réseaux de polymères interpénétrés : l'un est fait d'un polymère rigide hautement réticulé, et l'autre est un polymère flexible faiblement réticulé. Ils possèdent à la fois un module d'Young élevé (environ 0,3 MPa) et une grande résistance à la rupture (contrainte de rupture d'environ 10 MPa). L'invention de ces trois types d'hydrogels a permis d'étendre encore plus les champs d'applications des gels dans l'industrie [Tanaka et al., 2005].

Porosité : De nombreuses applications sont basées sur la diffusion de soluté dans un hydrogel. La porosité du gel (taille des pores du réseau) et les paramètres qui affectent la diffusion d'un soluté dans le gel sont donc des caractéristiques importantes à déterminer. Il existe différents modèles mathématiques qui modélisent les phénomènes de transports dans un gel. Les chaînes de polymères bloquent ou retardent le mouvement des solutés en réduisant le volume libre moyen disponible : elles agissent comme une barrière physique et augmentent la longueur du chemin à parcourir [Amsden, 1998]. La structure du réseau (taille des pores), la composition du polymère, la nature et la taille des solutés sont autant de paramètres à prendre en compte dans le phénomène de diffusion. Dans le cas de gels à larges pores (supérieurs à la taille des solutés) la diffusion est limitée par la tortuosité du réseau. Lorsque la taille des solutés est de l'ordre de la taille des pores de l'hydrogel, on peut déterminer leur coefficient de diffusion par diverses modélisations dont la forme générale est la suivante :

$$\frac{D_{gel}}{D_{eau}} = f(a, \Phi, \xi)$$

avec D_{eau} (respectivement D_{gel}) le coefficient de diffusion du soluté dans l'eau pure (respectivement dans l'hydrogel), a la taille du soluté, Φ la fraction volumique en polymère dans le gel et ξ la taille caractéristique de la maille du réseau de l'hydrogel [Peppas et al., 2000]. La taille de la maille ξ peut être affectée par plusieurs facteurs incluant : le degré de réticulation du gel, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique) (voir la Figure 1.3). La taille caractéristique des mailles du réseau d'un hydrogel est typiquement comprise entre 5 et 100 nm. Ces tailles sont bien supérieures à la taille d'une molécule organique (médicament par exemple), et leur diffusion n'est pas retardée par la matrice du réseau de l'hydrogel. Par contre, la diffusion d'une protéine ou d'un polymère est gênée par la présence de l'hydrogel. L'interaction d'un soluté avec les chaînes du réseau peut éventuellement gêner sa diffusion, dans le cas par exemple d'un soluté chargé positivement dans un réseau anionique. En

conclusion, il est nécessaire d'adapter la composition du polymère et la densité de réticulation à la taille et la composition du soluté présent dans l'hydrogel [Lin and Metters, 2006; Hoffman, 2002].

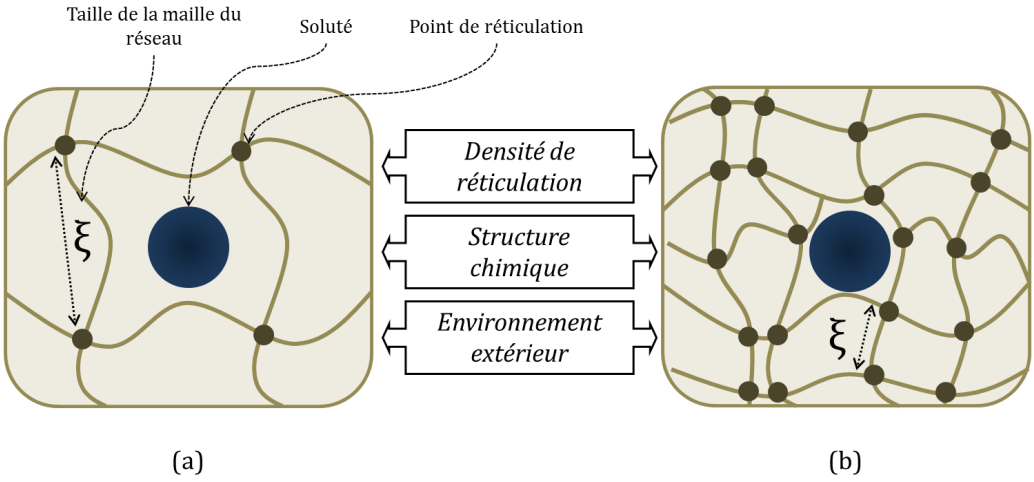


Figure 1.3 – Schéma d'un soluté dans un hydrogel : **(a)** La taille du soluté est petit par rapport à la maille du réseau, il peut diffuser librement. **(b)** Le soluté a une taille de l'ordre de la taille de maille du réseau, il est piégé par les polymères. La porosité du gel peut être "réglée" en jouant sur différents paramètres tels que la densité de réticulation, la structure chimique du polymère et l'environnement extérieur (pH, température, force ionique etc...).

Hydrogels "intelligents" : Certains hydrogels peuvent réagir à des stimuli extérieurs et subir des modifications relativement importantes de leur structure et de leurs propriétés telles que le gonflement, la perméabilité ou encore la résistance mécanique. Ces hydrogels sont appelés hydrogels "intelligents". Ils peuvent être classés selon les différents types de stimuli (chimiques ou physiques) auxquels ils sont sensibles (voir Figure 1.4) [Patel and Mequanint, 2011].

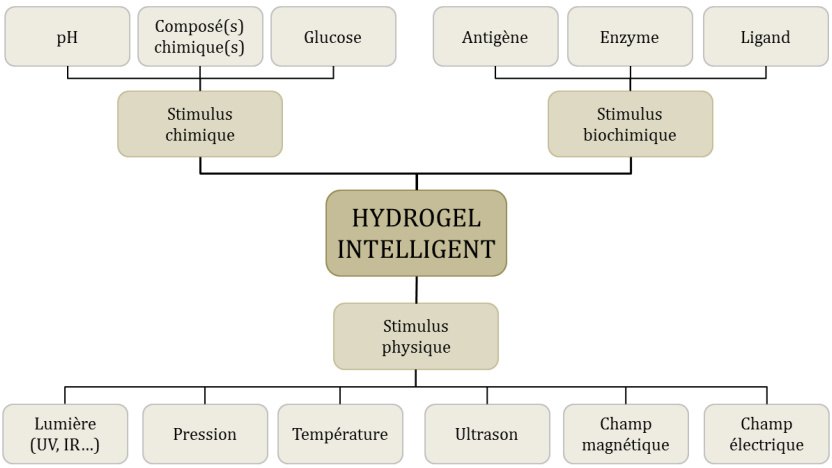


Figure 1.4 – Classification des hydrogels "intelligents".

Les stimuli chimiques, tels que le pH ou l'ajout d'un composé chimique, peuvent changer les interactions entre les chaînes de polymères ou entre le polymère et le solvant à l'échelle moléculaire. Les stimuli d'origine physique, tels que la température, un champ électrique ou magnétique ou encore une contrainte mécanique, peuvent affecter les interactions moléculaires. Certains hydrogels ont été développés pour combiner deux mécanismes de réponse à deux stimuli. On les appelle des réseaux polymères à réponse double. Plus récemment, les stimuli biochimiques sont considérés comme une nouvelle catégorie à part entière. Elle comprend la réponse des hydrogels à des antigènes, des enzymes, des ligands ou d'autres agents biochimiques et présente un grand intérêt pour certaines applications biomédicales [Patel and Mequanint, 2011]. Quatre exemples de types d'hydrogels "intelligents" sont présentés ici.

Les hydrogels sensibles au pH sont constitués d'un squelette polymérique comprenant des groupes pendants ioniques qui peuvent accepter/donner des protons en réponse à un changement du pH : le degré d'ionisation est modifié et le changement de la charge nette des groupes pendants peut causer des transitions de volume brusque en générant des forces électrostatiques répulsives entre ces groupes ionisés. Cela donne lieu à un gonflement du gel. Il existe deux types d'hydrogels sensibles au pH : les anioniques, dans lesquels les groupes pendants peuvent être des groupes carboxyliques, ou les cationiques dans lesquels des groupes pendants peuvent être des amines. La charge ionique et le pKa du polymère, ainsi que la force ionique de la solution extérieure sont les principaux facteurs qui influent sur le degré de gonflement d'un gel sensible au pH [Patel and Mequanint, 2011].

Les hydrogels sensibles à la température sont des systèmes répondant à une diminution ou à une augmentation de la température. Les hydrogels physiques thermo-sensibles subissent une transition sol-gel à une température critique. La gélatine est liquide pour des températures typiquement supérieures à 35°C (cette température de transition varie en fonction du grade et de la concentration en polymère). Les hydrogels chimiques thermo-sensibles répondent quant à eux par un changement de volume plutôt que par une transition sol-gel. Certaines interactions moléculaires, comme les interactions hydrophobes ou les liaisons hydrogènes, jouent un rôle essentiel dans le changement de volume des gels à la température critique : les liaisons hydrogènes entre le polymère et l'eau deviennent défavorables par rapport aux interactions polymère-polymère. Cela entraîne la déshydratation du système (évacuation de l'eau du réseau) et une rétraction de la structure polymérique [Patel and Mequanint, 2011]. Le poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) est le polymère sensible à la température le plus utilisé puisqu'il présente une transition de phase dans l'eau à 34°C, proche de la température corporelle [Peppas et al., 2000].

Les hydrogels sensibles au glucose ont été développés pour le traitement du diabète. Ils permettent de libérer une quantité spécifique d'insuline en réponse au taux de glucose présent. Ces hydrogels sont fabriqués avec un mélange de polymère cationique et de glucose oxydase emprisonnant dans son réseau de l'insuline. En présence d'oxygène, le glucose oxydase convertit le glucose en acide gluconique, ce qui a pour effet de réduire le pH dans le gel et donc d'augmenter

le gonflement de l'hydrogel (par répulsion des polymères cationiques). Ceci a pour conséquence le relargage de l'insuline [Patel and Mequanint, 2011].

Les hydrogels sensibles à un antigène ont été développés pour le relargage de molécules bioactives à un endroit ciblé. Des antigènes et leurs anticorps spécifiques sont greffés au squelette polymérique hydrophile de l'hydrogel. En absence d'antigène libre dans l'environnement extérieur, la structure du gel est rétractée par interactions entre les antigènes et les anticorps greffés aux squelette. En présence d'antigènes libres, les interactions anticorps-antigènes dans le gel sont affaiblies par échange avec les antigènes libres : l'hydrogel est alors gonflé et peut relarguer la molécule active à l'endroit visé [Miyata et al., 1999].

Nous avons présenté ici quelques propriétés importantes et contrôlables des hydrogels qui peuvent être résumées comme suit :

- Bicompatibilité et dégradabilité
- Propriétés mécaniques ajustables : gels durs, mous, cassants...
- Structure à porosité variable
- Gonflement/dégonflement contrôlable par stimulus extérieur

Ces propriétés des hydrogels en font des biomatériaux idéaux pour des applications en relargage contrôlé de molécules bioactives, en encapsulation cellulaire, en ingénierie tissulaire ou encore dans les biosenseurs ou les lentilles de contact.

1.4 Exemples d'applications des hydrogels

L'objectif de cette partie n'est pas de détailler de manière exhaustive toutes les applications des hydrogels, mais plutôt de donner un aperçu des principales utilisations possibles de ces matériaux en lien avec leurs caractéristiques physico-chimiques, illustrées par quelques exemples dans les domaines du biomédical et de la cosmétique.

1.4.1 Libération contrôlée de substances bioactives ou médicaments

Une des applications importantes des hydrogels est leur utilisation en pharmaceutique pour la libération contrôlée de molécules bioactives. Un système de libération doit pouvoir contrôler le relargage du soluté en fonction du temps. Parmi les biomatériaux disponibles, les hydrogels possèdent un ensemble de caractéristiques qui les rend très adaptés à cette application car la diffusion des molécules actives peut être contrôlée (cf paragraphe 1.3).

Le choix du matériau et du réseau de l'hydrogel va gouverner la libération du médicament hors de la matrice. Les principaux critères à prendre en compte dans la fabrication de l'hydrogel avant son utilisation sont listés dans le Tableau 1.3.

Un des critères les plus important concerne le transport de la molécule active, qui peut être affecté par sa taille ainsi que les caractéristiques du réseau de polymère, comme nous l'avons déjà discuté dans le paragraphe 1.3. La biocompatibilité est bien évidemment un facteur essentiel pour l'utilisation du matériau dans le corps humain.

Tableau 1.3 – Critères de fabrication pour des hydrogels utilisés en relargage contrôlé. *Adapté de [Lin and Metters, 2006].*

Critères	*Variables*
Propriétés de transport	• Taille et masse molaire de la molécule
Diffusion de la molécule	• Masse molaire du polymère de l'hydrogel
	• Densité de réticulation
	• Interaction polymère-molécule
	• Vitesse/taux de dégradation de l'hydrogel
Propriétés physiques	• Concentration en polymère/réticulant/initiateur
Conditions de gélification	• Température, pH, force ionique
Propriétés de structure	• Masse molaire du polymère
Biodégradabilité	• Résistance mécanique
Réactivité aux stimuli	• Concentration de groupes sensibles aux stimuli
Propriétés biologiques	• Cytotoxicité de l'hydrogel
Biocompatibilité	• Biodégradabilité

Dans la plupart des applications médicales, les hydrogels biodégradables sont favorisés puisqu'ils se dégradent assez rapidement dans des conditions relativement douces, et évitent ainsi une intervention chirurgicale supplémentaire de retrait d'un implant d'hydrogel non dégradable. La prédiction du temps de dégradation des hydrogels est cruciale pour garantir le succès du relargage du médicament et maximiser les effets thérapeutiques [Lin and Metters, 2006].

Les systèmes de distribution contrôlée de médicaments à base d'hydrogels peuvent être utilisés pour une application orale, oculaire, sous-cutanée ou épidermique. L'administration de médicaments par voie orale est la méthode la plus utilisée. Cela permet délivrer les substances dans quatre sites spécifiques majeurs : la bouche, l'estomac, l'intestin grêle et le colon. Les propriétés d'adhésion spécifique des hydrogels permettent d'augmenter la concentration locale en médicament et augmentent son absorption dans le corps. Plusieurs types d'hydrogels bioadhésifs ont été développés depuis les années 80 et certains sont sur le marché. Par exemple, le comprimé commercialisé sous le nom de Aftach est composé d'une couche bioadhésive d'hydroxypropyle cellulose et d'acide polyacrylique ainsi que d'une deuxième couche support non adhésive de lactose. C'est un système de délivrance locale de triamcinolone acétonide pour le traitement des aphtes [Peppas, 2000].

Les capacités de "sondes" des hydrogels "intelligents" sont très attractives pour les applications biomédicales de relargage contrôlé de médicaments, notamment dans le traitement du diabète ou des problèmes de rythme cardiaque. Dans ces deux cas, la molécule bioactive est relarguée en réponse à des changements métaboliques, ou en présence d'une certaine molécule dans l'environnement. La libération est donc contrôlée par les besoins physiologiques en temps donné et dans un site adéquat (modulation temporelle et ciblage spécifique). De plus, la substance active est protégée par l'hydrogel d'un environnement éventuellement hostile (par exemple des enzymes et du pH acide de l'estomac) avant sa libération. C'est le cas avec les hydrogels sensibles au pH : le pH acide de l'estomac (pH < 3) est différent du pH neutre de la bouche. Cette différence induit un changement de comportement de l'hydrogel polycationique : son gonflement

est minimal à pH neutre et le médicament est immobilisé ; dans l'estomac à pH acide, le gel est gonflé par ionisation et le médicament est libéré.

Un autre exemple est le développement de systèmes de libération d'insuline auto-régulés. L'insuline, à la différence d'autres médicaments, doit être libérée en quantité et en temps précis. Cela nécessite un système de délivrance automatique sensible au glucose. De nombreux hydrogels ont été développés pour répondre à cette contrainte : ils peuvent par exemple être conçus de façon à subir une transition sol-gel réversible en fonction de la concentration extérieure en glucose. Ces hydrogels sont constitués de chaînes de polymères greffées par des molécules de glucose, ainsi que par une glycoprotéine, la Concanavaline A (Con A). Celle-ci se lie spécifiquement aux molécules de glucose et joue ainsi le rôle d'agent réticulant. L'interaction entre le glucose et la Con A étant non covalente, la transition sol-gel est réversible. En présence de glucose dans l'environnement, les échanges entre glucoses libres et greffés donnent lieu à une transition gel-sol qui libère l'insuline par rupture des points de réticulation avec Con A (voir Figure 1.5). Les concentrations en Con A et en polymère greffé par le glucose permettent d'ajuster la réponse de l'hydrogel pour une concentration spécifique en glucose libre [Qiu and Park, 2001].

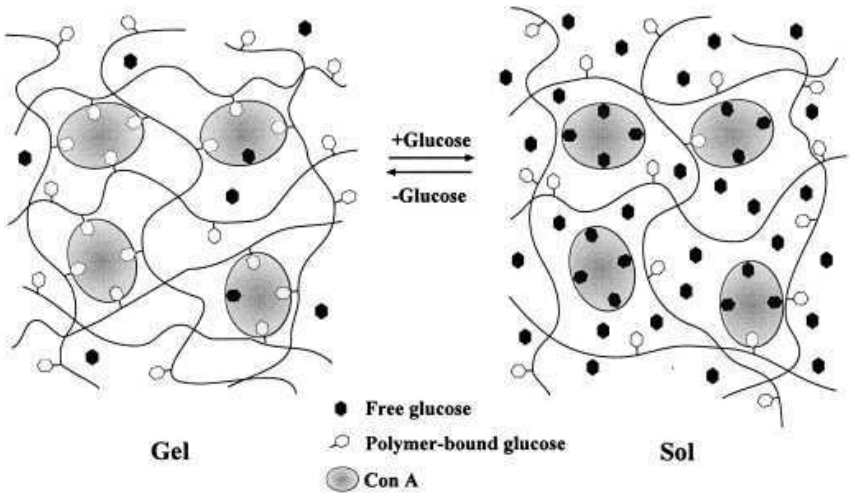


Figure 1.5 – Transition sol-gel d'un hydrogel sensible au glucose pour la libération contrôlée d'insuline. Les chaînes polymères greffées par du glucose (losanges blancs) sont réticulées de manière non covalente par la glycoprotéine Con A (cercles gris). Une transition gel-sol est amorcée en présence de molécules de glucose libres (losanges noirs) qui viennent se lier à Con A, rompant ainsi les points de réticulation et permettant à l'insuline de diffuser librement. *Adapté de [Qiu and Park, 2001].*

En résumé, les hydrogels jouent un rôle majeur dans les applications de relargage contrôlé de substances médicamenteuses. En jouant sur leurs caractéristiques physicochimiques (critères décrits dans le Tableau 1.3), il est possible d'ajuster la diffusion des substances actives. De plus, l'utilisation des hydrogels "intelligents" permet de créer des systèmes de libération auto-régulés.

1.4.2 Immobilisation cellulaire

L'immobilisation cellulaire consiste à faire croître des cellules immobilisées dans une matrice d'hydrogel. Il est donc nécessaire que cet hydrogel soit biocompatible et assure la viabilité des cellules.

Il existe différentes méthodes pour immobiliser des cellules dans un hydrogel : l'adsorption, la capture ou la microencapsulation. L'adhésion est généralement utilisée pour stabiliser les cultures cellulaires et effectuer des analyses, ou pour fournir une matrice structurelle qui dirige la croissance et/ou la différenciation des cellules. Les hydrogels utilisés pour l'adhésion doivent posséder de bonnes propriétés bioadhésives. L'affinité des cellules peut être affectée par la structure moléculaire des monomères de l'hydrogel, et ses propriétés de surface (charges). Il est possible d'améliorer l'adhésion des cellules sur l'hydrogel en greffant des protéines adhésives. D'autre part, les gels macroporeux sont la plupart du temps utilisés, afin de fournir un espace suffisant à la croissance des cellules [Jen et al., 1996].

L'immobilisation cellulaire par capture diffère de l'adhésion dans le type de maintien des cellules dans l'hydrogel : ici, contrairement à l'adhésion, les cellules sont prises au piège dans la matrice par des contraintes physiques. Le réseau poreux tridimensionnel des hydrogels permet de maintenir les cellules en place tout en permettant le transport des nutriments. Les gels sont généralement polymérisés in situ avec les cellules, dans un moule ou dans l'air (exemple : billes de gels).

La microencapsulation consiste à enfermer des cellules ou des amas cellulaires par une membrane poreuse et semi-perméable. Ces systèmes d'encapsulation permettent par exemple la transplantation de cellules spécifiques dans le patient : elles sont fonctionnelles tout en étant protégées du système immunitaire [Jen et al., 1996]. Dans le Chapitre 2, nous nous focaliserons sur les techniques d'encapsulation par un hydrogel et présenterons une application récente de culture cellulaire à trois dimensions dans une capsule à membrane d'alginate semi-perméable [Alessandri et al., 2013].

1.4.3 Ingénierie tissulaire

Afin de traiter des patients ayant besoin de nouveaux tissus ou organes, une nouvelle stratégie de conception de tissus ou organes artificiels a été développée. Elle consiste à combiner les cellules du patient avec une matrice polymérique à trois dimensions qui agit comme la matrice extra-cellulaire naturelle. Cette matrice permet de délivrer les cellules à l'endroit désiré dans le corps et fournit un nouvel espace pour la croissance du tissu. Elle permet également de contrôler la structure et la fonction de ce dernier. Une grande variété de tissus artificiels peuvent être conçus par cette méthode, comme des artères, de la peau, du cartilage, des os, des ligaments ou encore des tendons. Ainsi, l'ingénierie tissulaire est apparue comme une technologie prometteuse dans la fabrication de substituts de tissu vivant ayant des propriétés similaires aux tissus naturels. Le polymère utilisé pour la matrice artificielle est un élément déterminant, puisqu'il doit être capable de mimer tous les rôles des matrices extra-cellulaires naturelles. Ces dernières sont constituées d'acides aminés et de macromolécules à base de sucres qui lient les cellules entre

elles, contrôlent la structure du tissu et régulent les fonctions cellulaires, tout en permettant la diffusion des nutriments, des métabolites ou des facteurs de croissance.

Les hydrogels sont de plus en plus utilisés comme matrices pour l'ingénierie tissulaire car ils possèdent une structure ressemblant aux tissus naturels. Leur grande teneur en eau et leur porosité permettent le transport des nutriments nécessaires aux cellules et la diffusion de leurs déchets et reproduisent ainsi un environnement aqueux semblable à celui des cellules dans le corps humain. La biocompatibilité permet au gel d'exister dans le corps humain sans être nuisible aux cellules adjacentes. Les hydrogels naturels sont souvent biocompatibles, à la différence des hydrogels synthétiques qui engendrent souvent une réaction négative du corps.

Le type de réticulation (covalente ou ionique) joue un rôle important. Les gels ioniques sont souvent plus faciles à fabriquer, mais les échanges avec les molécules ioniques présentes dans le corps peuvent entrainer une détérioration incontrôlée du gel. La densité de réticulation des gels covalents peut être contrôlée précisément, néanmoins la toxicité de certains agents réticulants est à prendre en compte, et l'irréversibilité du gel est souvent désavantageuse. Une alternative intéressante est d'utiliser la transition de phase de certains polymères par changement de température : des hydrogels thermo-sensibles ont déjà été utilisés en ingénierie tissulaire orthopédique [Temenoff and Mikos, 2000].

Le Tableau 1.4 résume les propriétés importantes que les hydrogels doivent posséder pour leur utilisation comme matrices en ingénierie tissulaire, ainsi que leurs avantages et leurs inconvénients. Un avantage significatif des hydrogels dans la reconstruction tissulaire est la facilité avec laquelle on peut leur greffer des ligands récepteurs de cellules dans le but de stimuler leur adhésion et leur croissance dans la matrice. Par contre, les hydrogels peuvent parfois présenter une faible résistance mécanique qui les rend difficilement manipulables, et leur stérilisation peut également s'avérer compliquée à réaliser [Lee and Mooney, 2001; Hoffman, 2002].

Tableau 1.4 – Propriétés importantes, avantages et inconvénients des hydrogels utilisés comme matrices pour l'ingénierie tissulaire. *Adapté de [Hoffman, 2002].*

Propriétés importantes	**Avantages**
- Dégradable ou non	- Souvent biocompatible
- Injectable ou préfabriqué	- Transport efficace des nutriments et des déchets
- Résistance mécanique	- Facilement modifiable par des ligands cellulaires spécifiques
- Forme et ratio surface/volume (couche fine, cylindre, sphère)	- Peut être injectable in vivo comme liquide qui gélifie à la température corporelle
- Modification chimique (ex : greffage avec des ligands cellulaires)	- Environnement aqueux protégeant les cellules et les substances fragiles (protéines, ADN...)
- Porosité (gros ou petits pores)	**Inconvénients**
- Teneur en eau	- Peut être difficile à manipuler
- Facilité de manipulation	- Souvent faible résistance mécanique
- Composés bioactifs additionnels (cellules, médicaments...)	- Peut être difficile à stériliser
- Biocompatibilité et stérilisation	

Il existe une grande variété d'hydrogels naturels ou synthétiques utilisés en ingénierie tissulaire, mais nous nous limiterons ici à deux exemples d'hydrogels naturels : le collagène, puisqu'il est le plus utilisé, et l'alginate, puisqu'il est l'hydrogel étudié dans cette thèse.

Le collagène est le polymère naturel le plus utilisé en ingénierie tissulaire puisqu'il est le composant principal des matrices extra-cellulaires des tissus mammifères incluant la peau, les os, le cartilage, les tendons et les ligaments. Les hydrogels physiques de collagènes sont pH-réversibles et présentent une faible résistance mécanique, qui peut être améliorée par réticulation chimique par du glutaraldéhyde. Ils restent néanmoins assez peu rigides, sont potentiellement immunogènes et peuvent être relativement chers. Par contre, les collagènes satisfont les critères biologiques puisqu'ils sont constitués de chaînes d'acides aminés reconnues par les cellules et dégradées par les enzymes qu'elles sécrètent (collagénase). Les hydrogels de collagène ont par exemple été utilisés dans la reconstruction de foie, de peau, de vaisseaux sanguins ou encore de l'intestin grêle [Lee and Mooney, 2001].

L'alginate est un polysaccharide naturel extrait d'algues brunes et il est très utilisé grâce à sa biocompatibilité, sa faible toxicité, son coût relativement bas et sa gélification facile par des cations divalents comme le Ca^{2+} (l'alginate sera présenté précisément dans la partie 3.2). Malgré ses caractéristiques avantageuses, l'hydrogel physique d'alginate n'est pas idéal puisqu'il se dégrade en présence d'ions chélatant le calcium (citrate, phosphate,...). Néanmoins, il est possible de réticuler l'alginate de manière covalente avec différents types de molécules qui permettent de contrôler sa densité de réticulation et ses propriétés mécaniques, ou encore de modifier chimiquement l'alginate par des protéines spécifiques permettant une meilleure interaction du gel avec les cellules [Lee and Mooney, 2001]. Les alginates ont démontré une grande utilité dans les domaines biomédicaux et la revue de Lee and Mooney [2012] présente une certains nombres d'exemples d'utilisations de l'alginate, notamment en ingénierie tissulaire mais également en immobilisation cellulaire. Par exemple, ils peuvent être utilisés dans la reconstruction de vaisseaux sanguins. Des gels d'alginate à mémoire de forme ont également été développés dans le but de concevoir in vivo des cartilages de taille et de forme désirées [Lee and Mooney, 2012].

1.4.4 Cosmétique

Les hydrogels sont également très utilisés dans le secteur de la cosmétique. Ils permettent de piéger des ingrédients actifs cosmétiques et de les libérer de manière contrôler, grâce à un stimulus extérieur comme une variation de pH par exemple. De plus, les actifs piégés dans l'hydrogel sont protégés de l'environnement extérieur pouvant éventuellement les dégrader. Les propriétés mécaniques des hydrogels confère aux formulations une stabilité et une résistance utiles pour le stockage pendant plusieurs mois, voire plusieurs années, dans un flacon soumis éventuellement à des contraintes et des chocs (transport). De plus, il est possible de jouer sur la rhéologie des hydrogels et de leur donner des formes et des textures variées et adaptées à l'usage que l'on souhaite en faire (solution viscoélastique, solide plus ou moins mou, membrane fine, billes, etc...).

Dans leurs travaux, Morales et al. [2009] décrivent et évaluent un traitement cosmétique

contre la cellulite, dont la formulation utilise un hydrogel qui libère les actifs. Leurs études rhéologiques montrent que la formulation exhibe un comportement viscoplastique qui lui confère une texture plaisante et appropriée à l'application sur la peau. D'autre part, les profils de relargage révèlent que les actifs ont été libérés dans des quantités suffisantes et dans des temps raisonnables [Morales et al., 2009].

Les principes actifs cosmétiques sont la plupart du temps des molécules instables dans l'air, sensibles à l'oxygène, aux rayons lumineux, à la chaleur et aux ions métalliques. Ainsi, des efforts considérables ont été faits dans la recherche de moyen d'encapsulation et de protection de ces molécules actives [Agnely et al., 2006; Kim et al., 2006; Lee and Kim, 2011]. À titre d'exemple, les travaux de Lee and Kim [2011] présentent le développement d'un système de relargage contrôlé par un stimulus de pH. Ils ont piégé les actifs dans des microparticules d'hydrogel P(MAA-co-EGMA) sensible au pH. Durant la conservation du cosmétique dans le flacon, le pH est maintenu en dessous du pKa de l'hydrogel. Les actifs sont donc piégés dans le réseau. Par contre, lorsque la formulation cosmétique est appliquée sur la peau dont le pH est autour de 6, le gonflement des microparticules d'hydrogel libère les actifs qui s'absorbent dans la peau [Lee and Kim, 2011].

La société de cosmétique Capsum, avec laquelle ce travail a été réalisé, a dores et déjà commercialisé plusieurs formulations cosmétiques dont les actifs sont encapsulés et protégés par une membrane d'hydrogel d'alginate de calcium (voir la Figure 1.6). Ces matériaux sont l'objet d'étude de cette thèse et ils seront présentés dans le chapitre suivant.



Figure 1.6 – Photos de produits cosmétiques créés par Capsum. La formulation est isolée dans des capsules à membrane fine d'hydrogel d'alginate.

1.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté les généralités sur les hydrogels, leur principales propriétés et quelques exemples d'applications dans les domaines du biomédical et de la cosmétique.

Les propriétés principales de ces matériaux sont synthétisées ci-dessous :

- Matériaux pour la plupart biocompatibles.
- Perméabilité et porosité ajustables par le type et le degré de réticulation.
- Propriétés mécaniques et rhéologiques ajustables : gels durs ou mous, fragile ou non, différentes formes ou textures.
- Propriétés de relargage contrôlé grâce à une structure à porosité variable, ou grâce à un gonflement/dégonflement contrôlé par un stimulus externe.

Face à de telles propriétés, on comprend que les hydrogels possèdent un fort potentiel dans une large gamme d'applications industrielles et médicales. En présentant quelques exemples d'applications biomédicales et cosmétique des hydrogels, nous avons mis en évidence que la versatilité des propriétés de ces matériaux les rend de plus en plus intéressants.

À la lumière de ces enjeux, nous nous sommes penchés sur l'étude d'un hydrogel en particulier : l'alginate de calcium. Cet hydrogel très connu est dores et déjà utilisé dans de nombreux secteurs et sous beaucoup de formes. Néanmoins, l'originalité de notre étude porte sur la mise en forme de ce matériau, constituant la coque d'une structure cœur-coque.

Dans le chapitre suivant, nous nous focaliserons sur les différentes techniques d'encapsulation, avant de présenter la technique originale de fabrication de capsules à membrane fine d'alginate de calcium mise au point au laboratoire.

CHAPITRE 2

Encapsulation par un hydrogel

Dans ce chapitre, nous présenterons les procédés d'encapsulation, illustrés par quelques exemples. Nous présenterons ensuite une nouvelle technique de fabrication de capsules millimétriques à membrane d'hydrogel d'alginate mise au point dans notre laboratoire.

2.1 L'encapsulation

L'encapsulation a donné naissance ces dernières années à de nombreux produits commerciaux. C'est une technologie très largement utilisée dans l'industrie. En réalité, le principe même d'encapsulation est bien plus ancien que l'homme lui-même, car si la biochimie est un principe fondateur de la vie, rien n'aurait été possible sans l'existence des membranes qui permettent le confinement des molécules vitales au sein des cellules. Le développement de méthodes d'encapsulation n'est donc qu'une imitation de la nature et donne naissance à des structures innovantes permettant d'isoler, de protéger et de structurer des substances.

2.1.1 Concept et applications

De manière générale, l'encapsulation peut être définie de la façon suivante : piégeage d'un ou plusieurs objets au sein d'un matériau en vue de son immobilisation, sa protection, le contrôle de son transfert, sa structuration et sa fonctionnalisation [Vandamme et al., 2007]. Cette définition fait référence aux enjeux de l'encapsulation et englobe un grand nombre de systèmes.

On distingue deux types d'encapsulation : lorsque les microparticules sont creuses (sous forme de vésicule cœur-coquille), on parle alors de microcapsules. Elles sont constituées d'un cœur liquide et d'une membrane de polymère réticulé. Si elles sont pleines (c'est à dire matricielles), on parle alors de microbilles. Elles peuvent éventuellement être recouvertes par une ou

plusieurs couches de polymères (voir la Figure 2.1). La taille des capsules/billes peut varier en fonction de leur utilisation, du millimètre au nanomètre. Le préfixe "nano" est ajouté pour des tailles variant de quelques nanomètres à un micromètre ; le préfixe "micro" pour des tailles allant de 1 μm à 1 mm.

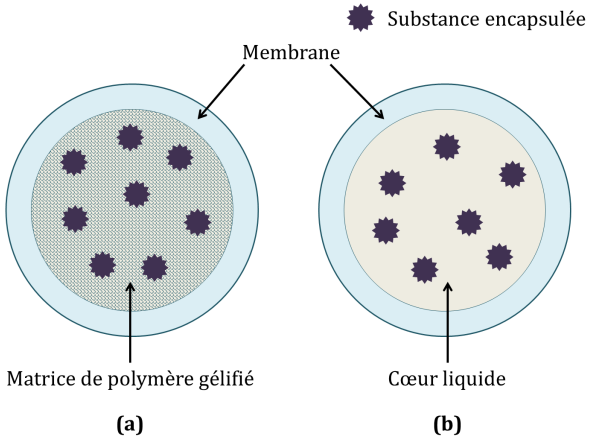


Figure 2.1 – Deux différents types de structures : **(a)** Microbille : les composés sont incorporés dans un cœur de matrice polymérique réticulée éventuellement enrobé d'une membrane. Il n'y a pas de distinction claire entre la membrane et le cœur qui sont tous les deux solides. **(b)** Microcapsule : les composés sont dispersés dans un cœur liquide enveloppé par une membrane polymérique réticulée.

L'encapsulation peut concerner une grande variété de systèmes, allant de molécules simples à des structures plus complexes comme des cellules. Au sein des microcapsules, les composés peuvent être sous forme d'une solution, d'une suspension ou d'une émulsion. Les principaux objectifs de l'encapsulation peuvent être résumés comme suit [Vandamme et al., 2007] :

- **Immobiliser ou isoler :** limite le contact entre différentes parties d'un système. Par exemple, deux réactifs sont séparés par encapsulation et mis en contact seulement lors de la rupture des capsules.
- **Protéger :** protège le composé encapsulé du milieu environnant. Par exemple, les cellules biologiques, très sensibles au cisaillement, sont protégées une fois incorporées dans une microcapsule.
- **Contrôler la libération :** isole un composé non indéfiniment. Par exemple, un parfum encapsulé sera libéré par frottement d'une surface sur laquelle sont déposées des microcapsules, ou un médicament sera libéré selon une cinétique bien définie.
- **Structurer et fonctionnaliser :** modifie les propriétés physiques et le comportement, ou permet de créer des fonctions nouvelles. Par exemple, le sucre brun collant peut être rendu fluide en enrobant les grains par une fine couche de sucre cristallisé. L'activité d'un biocatalyseur peut par exemple être régulée par variation du pH en jouant sur la perméabilité de la membrane qui l'entoure. Les microcapsules peuvent aussi avoir un rôle "marketing" en proposant des enrobages colorés ou pailletés, dans les cosmétiques par exemple.

On comprend donc que l'intérêt principal des microcapsules réside dans la présence d'une couche protectrice. En fonction des applications, cette membrane peut être détruite mécaniquement ou chimiquement lors de l'utilisation des capsules afin de libérer le contenu instantanément, ou alors rester présente tout au long de la libération du contenu dont elle contrôlera la vitesse de diffusion. C'est par exemple le cas de la libération ralentie de médicaments.

Les bénéfices de l'encapsulation sont multiples. Dans l'industrie cosmétique [Lee et al., 2001] ou agroalimentaire [Weiss et al., 2005; Lobato-Calleros et al., 2006], on cherche souvent à isoler un composé des agressions du milieu extérieur, comme par exemple protéger une substance de l'oxydation, masquer des odeurs ou des arômes, ou encore prévenir une attaque chimique d'un ingrédient. Dans l'industrie pharmaceutique [Ferreira et al., 1994; Mundargi et al., 2008], les microcapsules sont la plupart du temps utilisées comme vecteurs pour la libération contrôlée de médicaments. Dans les industries textiles, les microcapsules permettent d'encapsuler des parfums ou des teintures, ou même des composés ignifuges dans les textiles militaires [Nelson, 2002; Monllor et al., 2007].

La bioencapsulation constitue un domaine particulier de la microencapsulation. Elle consiste à encapsuler un substance d'origine biologique (peptide, enzyme, cellules, micro-organismes, etc...). Depuis plusieurs décennies [Chang, 1964], la microencapsulation de cellules a été développée pour de nombreuses applications thérapeutiques, telles que l'encapsulation de cellules de mammifères pour la thérapie cellulaire [Uludag et al., 2000], l'immobilisation de cellules microbiennes pour la fabrication de bioréacteurs [Park and Chang, 2000], on encore le développement de méthodes de tri cellulaire [Köster et al., 2008]. Les techniques d'encapsulation cellulaire permettent d'envelopper les cellules à l'intérieur d'une membrane ou d'une matrice semi-perméable, rendant possible les flux de molécules nécessaires à leur métabolisme (nutriments, oxygène, etc...) ainsi que l'évacuation des déchets. Dans le même temps, les cellules restent isolées et protégées des organismes ou molécules éventuellement présents dans le milieu extérieur (bactéries ou des composés toxiques) qui ne peuvent pas franchir la membrane [Rabanel et al., 2009].

Aux vues de leurs nombreuses applications potentielles, différents procédés de fabrication de microcapsules ont été développés. Le choix final de la technique et de la nature des constituants de la membrane dépend de l'utilisation finale des capsules et des facteurs tels que la taille des composés à encapsuler, l'épaisseur de la membrane, la stabilité thermique et/ou mécanique, la dégradabilité, et la compatibilité à l'environnement extérieur.

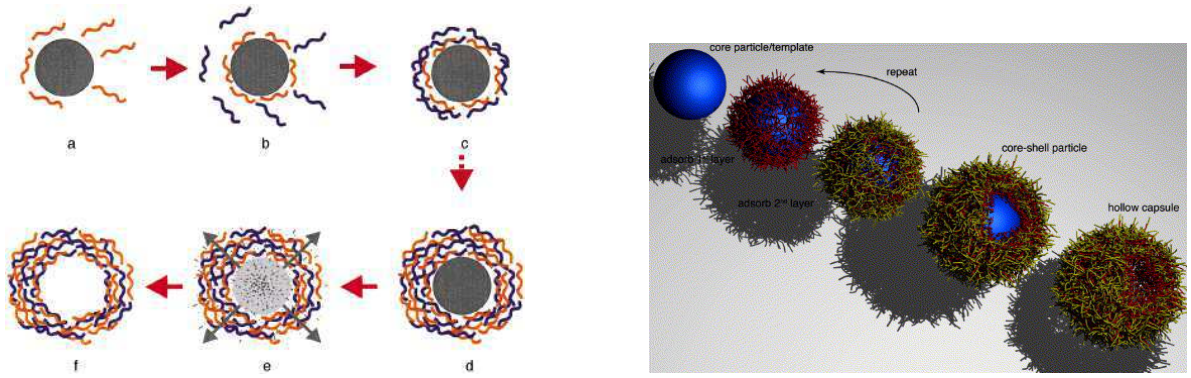
2.1.2 Quelques techniques d'encapsulation

Il existe un grand nombre de polymères adaptés à l'encapsulation. De manière générale, tous les polymères que l'on peut gélifier par une transformation chimique et/ou physique (photoréticulable, par agent de réticulation, par réaction chimique, par changement de température ou de pH, par interactions électrostatiques etc...) peuvent être employés dans la fabrication de microcapsules. Le type de matériau et la technique utilisés dépendent donc de l'utilisation que l'on souhaite faire des capsules. Une grande majorité des applications industrielles nécessite que les matériaux soit biocompatibles et/ou biodégradables. Par exemple, la gélatine, la cellulose,

l'agarose ou encore l'alginate et l'acide polylactique glycolique (PLGA) sont des polymères biocompatibles utilisés pour la fabrication de microcapsules à cœur liquide pour l'encapsulation de cellules [Rabanel et al., 2009]. Il existe un certain nombre de techniques de fabrication de capsules qui ne seront pas détaillées ici de manière exhaustive. Seuls quelques exemples seront explicités.

Dans leurs travaux, Danicher et al. [1999] présentent une technique de fabrication de capsules millimétriques à cœur liquide et à membrane de polyamide. Ces capsules sont obtenues par polycondensation inter-faciale, à partir d'une émulsion inverse eau dans huile : en présence de surfactant, la phase aqueuse contenant un premier monomère est dispersée dans une phase huileuse contenant le second monomère. Le polymère précipite alors très rapidement à l'interface par polycondensation, et forme une membrane. La réaction est contrôlée par le temps de diffusion des monomères à travers la membrane. Le type de membrane obtenue dépend de la nature chimique du solvant et du polymère, ainsi que du coefficient de partition du monomère. Son épaisseur dépend du temps de réaction de polycondensation.

Les revues de Johnston et al. [2006] et Peyratout and Dähne [2004] présentent une technique d'encapsulation largement répandue : la polymérisation multicouches (*layer-by-layer*). Ces capsules sont formées par dépositions consécutives de polymères "complémentaires" à la surface d'une particule colloïdale (interactions électrostatiques de polymères de charges opposées, liaisons hydrogènes, interactions hydrophobes etc...), puis par dissolution de la matrice du colloïde afin de former un cœur liquide (voir la Figure 2.2).



(a) **(b)**

Figure 2.2 – Illustrations schématiques de la formation de capsule par polymérisation multicouches. Des couches successives sont déposées à la surface d'un colloïde exposé alternativement à des polymères de charges opposées. La matrice du colloïde est ensuite dissoute pour former une capsule à cœur liquide. **(a)** *Adapté de [Donath et al., 1998]*, **(b)** *Adapté de [Johnston et al., 2006]*.

Une des techniques les plus classiques pour la formation de structures de type cœur-coquille consiste à faire diffuser un agent de gélification dans une solution de polymère contenant la substance à encapsuler [Breguet et al., 2005; Zhang et al., 2006; Fundueanu et al., 1999], ou vice versa [Park and Chang, 2000; Nigam et al., 1988; Blandino et al., 1999].

Dans leur publication, Breguet et al. [2005] présentent un procédé de fabrication par ex-

trusion : une solution d'alginate est extrudée et gélifiée dans un bain de calcium, pour former des billes de gel. Ces billes sont ensuite plongées dans une solution de poly-L-lysine afin de composer une membrane par une réaction de transacylation à la surface des billes. La matrice d'alginate est ensuite dissoute pour obtenir des capsules à cœur liquide. L'épaisseur de la membrane est contrôlée par le temps de réaction d'acylation dans la poly-L-lysine. Zhang et al. [2006] produisent des microcapsules de polysaccharide en extrudant une solution aqueuse de biopolymère dans une phase organique contenant un agent de réticulation soluble dans les deux phases. La gélification est contrôlée par la diffusion de l'agent réticulant de la phase continue vers les gouttes. L'équipe de Fundueanu et al. [1999] prépare quant à elle des microcapsules de 1,2 mm de diamètre par extrusion en régime goutte-à-goutte d'une solution d'alginate dans un bain de calcium gélifiant. Le temps de diffusion du calcium à travers la goutte d'alginate détermine alors l'épaisseur de gel d'alginate.

À l'inverse, le procédé utilisé dans les travaux de Park and Chang [2000], Nigam et al. [1988] et Blandino et al. [1999] consiste à ajouter goutte-à-goutte une solution d'agent gélifiant ($CaCl_2$) dans la solution d'alginate. Une membrane est alors formée instantanément autour de la goutte et là encore, l'épaisseur de la membrane dépend du temps de réaction dans la solution de polymère [Park and Chang, 2000; Nigam et al., 1988; Blandino et al., 1999].

Le développement des techniques de microfluidique a également offert la possibilité de fabriquer des structures de type cœur-coque par émulsification double [Hennequin et al., 2009; Shah et al., 2008]. Le fluide de cœur contenant les composés à encapsuler est émulsifié dans un fluide intermédiaire, et cette première émulsion est à nouveau émulsifiée dans un troisième fluide (la phase continue). Deux exemples de production de capsules par microfluidique sont présentés dans la Figure 2.3 : des microcapsules à cœur aqueux [Hennequin et al., 2009], ou à cœur huileux [Utada et al., 2005] enveloppés par une membrane de polymère réticulé. Ces procédés permettent notamment de contrôler l'épaisseur de la membrane des capsules en ajustant les débits entre les différents fluides.

Les procédés classiques d'encapsulation sont beaucoup utilisés dans différents secteurs d'applications, néanmoins ils présentent plusieurs inconvénients. Tout d'abord, dans la majeure partie des cas, ils requièrent l'encapsulation du polymère gélifiant dans le cœur. Ces techniques permettent d'obtenir un cœur liquide, mais qui contient également la solution de polymère constituant la membrane [Park and Chang, 2000; Breguet et al., 2005; Zhang et al., 2006; Fundueanu et al., 1999; Nigam et al., 1988; Blandino et al., 1999]. De plus, l'épaisseur de la membrane est déterminée par le temps de diffusion de l'agent gélifiant, et il est donc difficile d'obtenir de manière précise et contrôlée une membrane fine et homogène.

Les techniques de microfluidique permettent de palier à ce problème et de former des capsules à cœur liquide exempt de polymère [Hennequin et al., 2009; Shah et al., 2008]. Néanmoins, ces procédés conduisent à des membranes d'épaisseur relative h supérieure à 10% (voir la Figure 2.4) Hennequin et al. [2009]. De plus, ces procédés utilisent des matériaux qui sont souvent non biocompatibles.

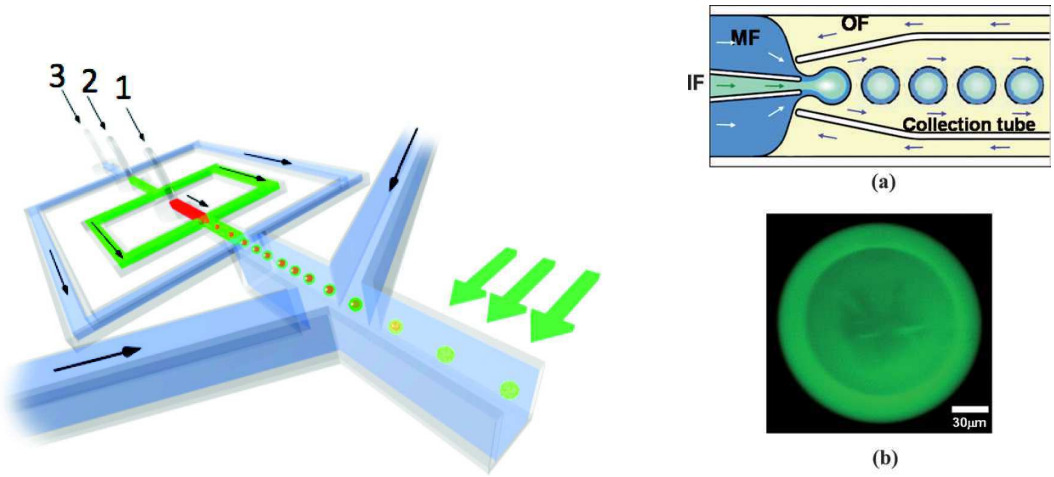


Figure 2.3 – Exemples de production de microcapsules par microfluidique **(a)** Le fluide 1 est une solution aqueuse de glycérine (cœur), émulsifiée dans un fluide 2 de tripropylène glycol diacrylate photoréticulable (membrane). La phase continue (fluide 3) est une huile silicone. La membrane de polymère est ensuite photo-polymérisée par exposition aux UV. *Adapté de [Hennequin et al., 2009].* **(b)** Le fluide interne (IF) est une huile silicone contenant un catalyseur, le fluide intermédiaire (MF) est une soltuion aqueuse contenant les monomères NIPAM, un réticulant et un initiateur et le fluide externe (OF) est une huile (cf (a)). Lorsque l'émulsion est formée, le catalyseur diffuse dans la MF et catalyse la polymérisation du NIPAM formant ainsi des microcapsules à membrane d'hydrogel PNIPAM (cf (b)). *Adapté de [Utada et al., 2005].*

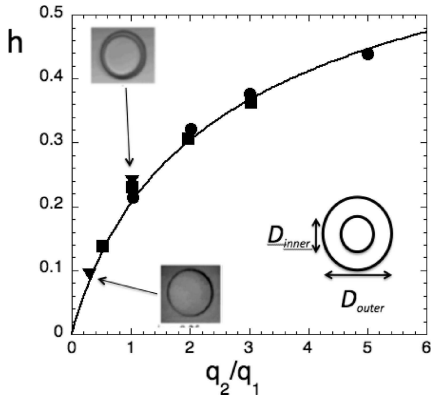


Figure 2.4 – Épaisseur relative $h = (D_{outer} - D_{inner})/D_{outer}$ de la membrane de microcapsules de PNIPAM fabriquées par microfluidique , en fonction du ratio des débits entre les fluides interne et intermédiaire. *Adapté de [Hennequin et al., 2009].*

Au laboratoire LCMD, nous avons développé une nouvelle technique de fabrication de capsules biocompatibles millimétriques et submillimétriques, de structure type cœur-coque. Elles sont composées d'un cœur liquide (aqueux ou non) et d'une membrane fine d'alginate d'épaisseur contrôlée, pouvant varier de quelques centaines à quelques dizaines de micromètres.

Nous avons choisi l'alginate comme matériau gélifiant. En effet, l'alginate est un polymère

largement utilisé dans les biotechnologies [Park and Chang, 2000; Gombotz, 1998; Augst et al., 2006]. Que ce soit pour l'immobilisation de cellules dans des matrices d'hydrogel [Augst et al., 2006], le relargage de protéines encapsulées dans des microbilles [Gombotz, 1998] ou encore pour la microencapsulation de cellules microbiennes [Park and Chang, 2000], l'alginate demeure un candidat idéal pour les applications biomédicales et biotechnologiques. C'est un polysaccharide naturel et biocompatible présent en grande quantité. De plus, sa gélification en présence d'ions calcium est simple à mettre en œuvre, instantanée et permet de former un hydrogel physique relativement rigide. Le procédé mis en place dans notre laboratoire (dont le protocole sera présenté dans la partie suivante) est original et permet de fabriquer des capsules composées d'un cœur liquide exempt de polymère d'alginate. De plus, nous sommes capable de contrôler l'épaisseur de la membrane et d'accéder à des épaisseurs de l'ordre de 30 à 350 μm [Bremond et al., 2010].

Ces capsules biocompatibles trouvent des applications dans le secteur cosmétique (de part leur aspect visuel, mais également leur capacité d'encapsulation et de protection de principes actifs) ainsi que dans les biotechnologies puisqu'elles permettent d'encapsuler de la matière vivante (cellules, bactéries, levures etc...).

2.2 Technique originale de formation de capsules à membrane fine d'alginate

Nous présentons dans cette partie les différentes procédés de fabrication de capsules d'alginate mis au point au laboratoire.

2.2.1 Capsule simple en régime goutte-à-goutte

a. Formation de la capsule

La fabrication des capsules se réalise en deux étapes : la formation d'une bi-goutte par un procédé millifluidique de coextrusion à deux voies, puis la chute de cette bi-goutte dans un bain de gélification. Un schéma de formation de la bi-goutte est représenté dans la figure Figure 2.5.

La bi-goutte est formée dans un régime goutte à goutte. Le diamètre externe D de la buse est de 3 mm et impose le rayon total R de la goutte. En effet, en régime goutte à goutte, le rayon de la goutte peut être évalué par la méthode de la goutte pendante, mise au point par Tate [1864]. Cette méthode décrit l'équilibre entre la force gravitationnelle et la force capillaire : la goutte se détache lorsque son poids est supérieur à la force capillaire qui la maintient initialement attachée à l'extrémité de l'injecteur.

À l'équilibre, on obtient donc :

$$W = \rho g V_{idéal} = \pi D \gamma \tag{2.1}$$

où W est le poids de la goutte de volume idéal $V_{idéal}$, ρ est la densité du liquide, g l'accélération due à la gravité, D est le diamètre du capillaire et γ est la tension de surface entre

l'interface goutte/air.

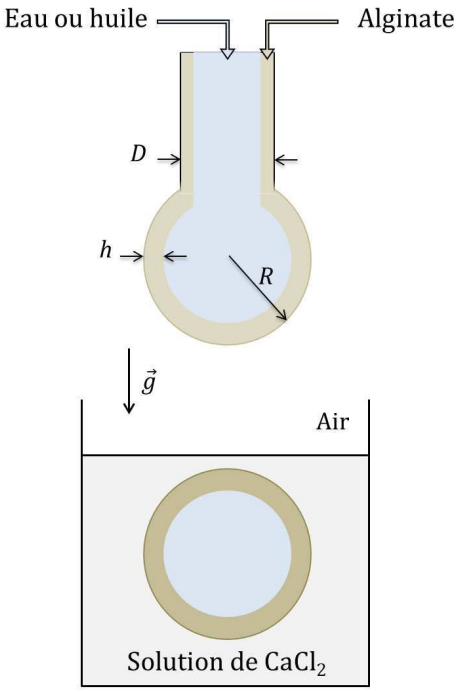


Figure 2.5 – Schéma du procédé de fabrication des capsules. Une bi-goutte est formée par co-extrusion de la solution de cœur (eau ou huile) et la solution d'alginate. En tombant dans une bain de calcium, l'alginate gélifie instantanément pour former une capsule à cœur liquide et membrane fine d'hydrogel.

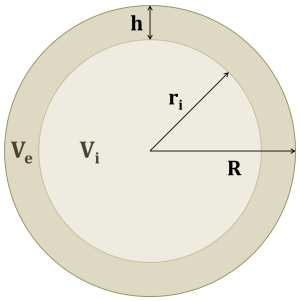
Cependant, cette méthode néglige les effets de viscosité et d'inertie, et considère que la totalité du volume qui pend du capillaire tombe pour former la goutte. En réalité, il existe un facteur correctif car le volume final de la goutte est inférieur au volume idéal $V_{idéal}$: une petite fraction du liquide reste "accroché" à l'extrémité de l'injecteur. Yildirim et al. [2005] ont montré qu'on peut écrire le rayon d'une goutte R tombant d'un injecteur de diamètre D comme :

$$\frac{R}{D} \simeq 3,5 \left(\frac{l_c}{D}\right)^{2/2,81} \tag{2.2}$$

avec $l_c = \sqrt{\dfrac{\gamma}{\rho g}}$ la longueur capillaire.

Lors de la fabrication des capsules, les débits des phases interne et externe sont contrôlés par des pousses-seringues (PHD 2000, Harvard Apparatus) reliés à l'injecteur par des tubes en PTFE. L'épaisseur de la couche d'alginate, et donc de la membrane, peut être contrôlée en jouant sur le ratio imposé entre les débits interne et externe.

On appelle Q_e (respectivement Q_i) le débit (en mL/h) de la phase externe (respectivement interne) et V_e (respectivement V_i) le volume de la phase externe (respectivement interne).



Le ratio des débits s'écrit :

$$R_q = \frac{Q_i}{Q_e}$$

Par définition, le débit pendant un temps δt, s'écrit :

$$Q_i = \frac{V_i}{\delta t} \text{ et } Q_e = \frac{V_e}{\delta t}$$

La conservation du volume pendant ce temps δt donne :

$$\frac{Q_i}{Q_e} = R_q = \frac{V_i}{V_e}$$

On exprime ensuite les volumes V_i et V_e en fonction du rayon total de la capsule R et du rayon du cœur r_i, et l'expression précédente devient :

$$R_q = \frac{r_i^3}{R^3 - r_i^3} \tag{2.3}$$

Enfin, sachant que l'épaisseur moyenne de la couche d'alginate h est égale à $R - r_i$, on obtient une expression de h en fonction du ratio des débits R_q :

$$h = R\left(1 - \left(\frac{R_q}{1 + R_q}\right)^{\frac{1}{3}}\right) \tag{2.4}$$

Dans nos conditions expérimentales ($D = 3$ mm et $\gamma = 35$ mN/m) le rayon de goutte R est égal à 1,73 mm. En faisant varier le ratio des débits entre 1 et 12, l'épaisseur moyenne des membranes d'alginate varie entre 360 μm et 45 μm. Cette technique nous permet d'accéder à des épaisseurs relatives moyennes h/R comprises entre 3% et 20% (voir Figure 2.6(a)). Il est important de noter que h est une épaisseur *moyenne*. En réalité, les capsules ont une forme de sphéroïde et la membrane est inhomogène : l'épaisseur est plus importante au niveau du point de rupture de la goutte (voir le schéma de la Figure 2.6(b)).

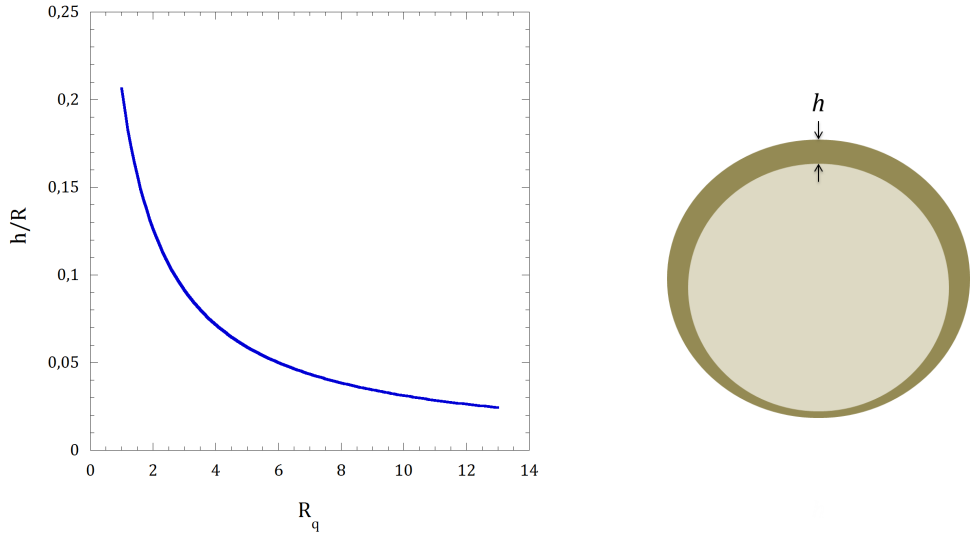


Figure 2.6 – **(a)** Épaisseur moyenne relative théorique de la membrane d'alginate d'une capsule de rayon R en fonction du ratio des débits R_q. **(b)** Schéma d'une capsule de forme sphéroïdale composée d'une membrane d'épaisseur non homogène h.

b. Matériaux

Les propriétés des alginates étant dépendantes de la source d'extraction et du lot, nous nous sommes attachés à utiliser le même lot d'alginate pour tous les travaux inclus dans cette thèse. L'alginate utilisé, appelé Protanal LF200s est un alginate de sodium fournit par FMC Biopolymer. Sa masse molaire est de 300 kDa environ. Il est extrait des algues brunes primaires *Laminaria hyperborea*, présentes sur la côte Ouest de Norvège. Son ratio G/M compris entre 65/35 et 75/25 nous assure une gélification efficace (voir le Chapitre 3 sur la structure de l'alginate).

Pour la fabrication des capsules, la solution externe est préparée en solubilisant 2g d'alginate de sodium LF200s dans 98g d'eau ultra-pure (MilliQ). La solution interne peut être une solution aqueuse ou huileuse de viscosité variable. Le bain de gélification est une solution aqueuse de chlorure de calcium ($CaCl_2$, Fluka) concentrée à 5% ou 10% en masse. Nous n'avons observé aucune différence dans les comportements mécaniques de la membrane pour un bain de calcium à 1% ou 20 % en masse. Le temps de gélification dans le bain de calcium est compris entre 10 et 30 secondes, ce qui assure une gélification de toute l'épaisseur de la couche d'alginate. En effet, le coefficient de diffusion D des ions calcium dans l'alginate à 2%wt est égal à 7.10^{-4} mm^2/s [Potter et al., 1994]. En considérant une épaisseur de membrane moyenne h de 50 μm, le temps de diffusion des ions Ca^{2+} dans l'alginate est inférieur à 10 secondes :

$$t \sim \frac{h^2}{D} \simeq 3.5 \text{ s} < 10 \text{ s}$$

Une mesure de la viscosité à cisaillement nul η_0 d'une solution d'alginate LF200s a été réalisée par Hugo Doméjean grâce à un viscosimètre de Couette. La Figure 2.7 donne les valeurs

de η_0 pour différentes concentrations de la solution. Pour une solution d'alginate concentrée à 2%wt, le fabricant annonce une viscosité à 20°C d'environ 6 Pa.s. Les mesures effectuées au laboratoire donnent une valeur relativement plus faible puisque la viscosité mesurée à 2%wt est d'environ 2 Pa.s (cf. Figure 2.7).

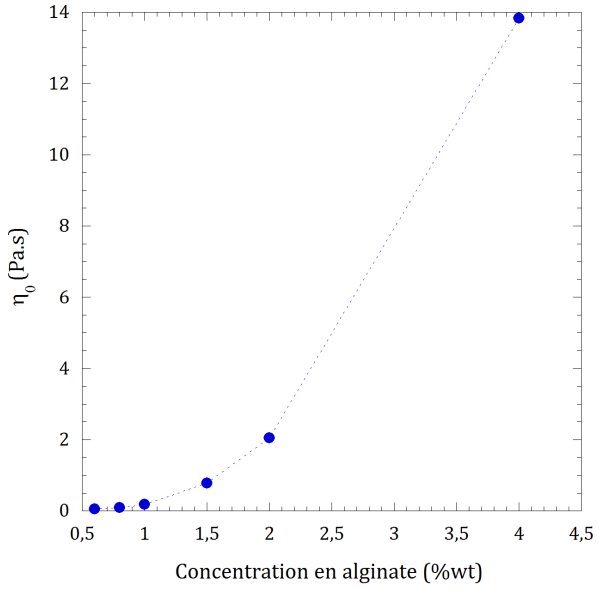


Figure 2.7 – Mesures de la viscosité à cisaillement nul pour différentes concentrations massiques d'alginate LF200s *(expérience réalisée par H. Doméjean).*

Lors de l'encapsulation d'un cœur aqueux, les deux phases étant totalement miscibles, on s'attend à ce qu'elles se mélangent au moment de l'impact dans le bain de gélification.

Dans leurs travaux, Bremond et al. [2010] ont montré qu'effectivement, une solution d'alginate ne pouvait encapsuler un cœur aqueux que pour une membrane d'hydrogel très épaisse. Dans le cas contraire, la goutte est immédiatement mélangée lors de la chute par les nombreux vortex formés à l'impact dans le bain. Pour éviter les instabilités de mélange lors de la chute dans le bain et permettre la formation de capsules à membrane très fine, leurs expériences ont montré qu'il est nécessaire d'ajouter dans la solution d'alginate un surfactant qui est insoluble dans le bain de calcium . Le sodium dodécylsulfate (SDS) est un surfactant anionique, non-soluble dans une solution de calcium. L'ajout de SDS dans la solution d'alginate confère une rigidité à l'interface lors de la chute dans le bain de calcium grâce à la précipitation du surfactant, limitant la formation de vortex internes et protégeant ainsi la capsule des instabilités de mélange.

D'autre part, pour assurer un parfait mouillage de la goutte dans le bain, Bremond et al. [2010] ont également montré qu'il est nécessaire d'ajouter une trace de surfactant dans le bain de gélification. La solution d'alginate pure est caractérisée par une tension de surface γ_0 de 72 mN/m. Les propriétés d'interface de la solution d'alginate sont modifiées lors de l'ajout de SDS à la concentration 10 mM et la tension superficielle chute alors à 35 mN/m. L'ajout de SDS dans l'alginate et de surfactant dans le bain de calcium permet ainsi de fabriquer des capsules possédant une membrane très fine, jusqu'à 30 μm d'épaisseur [Bremond et al., 2010].

La Figure 2.8 présente une photo de capsules fabriquées en régime goutte-à-goutte par le procédé présenté précédemment. Ces capsules sont constituées d'une membrane d'alginate gélifié à 2% en masse et d'un cœur d'huile silicone teintée en bleu.



Figure 2.8 – Photo de capsules constituées d'une membrane fine d'alginate et d'un cœur huileux.

2.2.2 Capsule à double membrane en régime goutte-à-goutte

Nous avons mis au point un procédé de fabrication d'émulsion double eau/huile/eau macroscopique. La technique millifluidique développée pour la fabrication des capsules simples d'alginate a été adaptée afin de fabriquer des perles contenant une couche intermédiaire hydrophobe. Ces nouveaux matériaux ont été développé par la société de cosmétique Capsum et sont appelés DuoPearl Inverse™(DPi).

a. Dispositif expérimental : coextrusion à trois voies

La technique de coextrusion à deux voies mise au point pour la fabrication des capsules cœur-coque a été étendue à trois voies. Il est possible d'introduire un troisième fluide entre le cœur et la couche externe. La buse utilisée est donc formée de trois tubes coaxiaux et en sortie de buse, une goutte triphasique est formée. Un schéma du procédé de fabrication est présenté dans la Figure 2.9.

b. Matériaux

De même que pour la fabrication des capsules classiques présentée dans la partie 2.2.1, le fluide externe est une solution aqueuse d'alginate de sodium à 2%wt contenant du SDS.

Le verrou technologique le plus important à surmonter pour la fabrication des DPi est la stabilisation du cœur aqueux au centre de la perle, entouré par la couche lipophile. En effet, les densités de l'eau et de l'huile étant très différentes, le cœur aqueux risque de se décentrer puis de coalescer avec l'alginate, détruisant la DPi. La stratégie développée par l'équipe Recherche et Développement de Capsum est d'utiliser pour la couche intermédiaire un fluide lipophile présentant une contrainte seuil à l'écoulement. Ce type de matière première est couramment utilisé en cosmétique. Les systèmes les plus répandus sont les gélifiants siliconés gonflés par un

solvant huileux à faible viscosité. Néanmoins, il ne faut pas que le gélifiant soit trop dilué, afin qu'il ne perde pas son pouvoir suspensif. Les fractions massiques de gélifiant et de solvant huileux ont été déterminées de manière à ce qu'il soit possible de fabriquer des capsules sphériques, que leur résistance mécanique soit acceptable et que les DPi soient stables dans le temps (c'est à dire qu'il n'y ait pas de coalescence du cœur aqueux). La solution interne constituant le cœur est une solution aqueuse de solutés solubilisés dans de l'eau ultra-pure. Le bain de gélification est une solution de chlorure de calcium $CaCl_2$ à 5%wt.

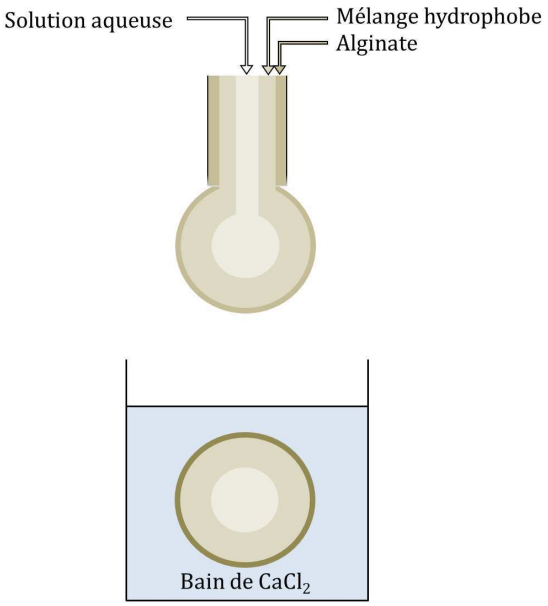


Figure 2.9 – Principe de fabrication d'une DuoPearl Inverse™par un procédé millifluidique de coextrusion à trois voies.

c. Contrôle des épaisseurs

En jouant sur les ratios des débits entre les trois phases, il est possible de contrôler l'épaisseur de la membrane d'alginate ainsi que celle de la couche huileuse.

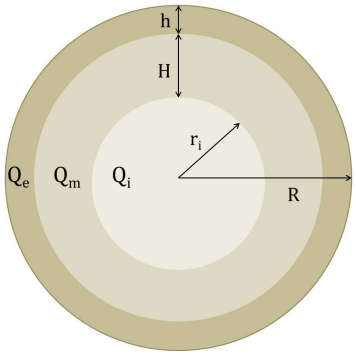
On appelle Q_e le débit du fluide extérieur (alginate), Q_m le débit de la couche intermédiaire (huile siliconée) et Q_i le débit de la phase interne (cœur aqueux). Le rayon total de la capsule R est déterminé par la taille de l'injecteur, la longueur capillaire et la tension de surface (cf. (2.2)).

On peut alors calculer l'épaisseur de la membrane d'alginate h selon la formule :

$$h = R\left(1 - \left(\frac{R_{q_1}}{1 + R_{q_1}}\right)^{1/3}\right) \tag{2.5}$$

avec $R_{q_1} = \dfrac{Q_i + Q_m}{Q_e}$.

Cette expression est similaire à celle introduite dans la section 2.2.1 sur la fabrication des capsules classiques cœur-coquille.



De la même manière, on peut calculer l'épaisseur de la couche intermédiaire hydrophobe en fonction du ratio entre les phases interne et intermédiaire :

$$H = (R - h)\left(1 - \left(\frac{R_{q_2}}{1 + R_{q_2}}\right)^{1/3}\right) \tag{2.6}$$

avec $R_{q_2} = \dfrac{Q_i}{Q_m}$.

On peut finalement en déduire le rayon interne r_i de la DPi :

$$r_i = R - h - H \tag{2.7}$$

La valeur de r_i nous permet également d'estimer le volume du cœur aqueux : $V_i = \dfrac{4}{3}\pi r_i^3$.

Dans toutes les expériences sur l'étude de l'encapsulation dans les DPi qui seront présentées dans le chapitre 5, ces dernières ont été fabriquées dans les mêmes conditions expérimentales. Les débits utilisés ainsi que les épaisseurs et les rayons sont reportés dans le Tableau 2.1.

Tableau 2.1 – Paramètres de fabrication des DPi et grandeurs caractéristiques. Les débits sont exprimés en mL/h, les rayons et épaisseurs en mm et le volume interne en μL.

Q_i	Q_m	Q_o	R	h	H	r_i	V_i
5	20	7	2	0,16	0,76	1,08	52

La Figure 2.10 présente une photo de DPi composées d'un cœur aqueux contenant une solution de colorant rouge (Amaranthe).

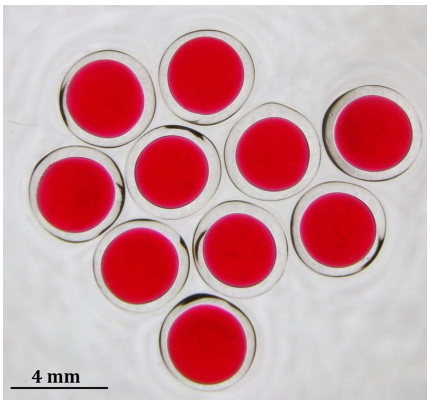


Figure 2.10 – Photo de DuoPearl Inverse composées d'un cœur aqueux (solution d'amaranthe), une couche huileuse de 760 μm et une membrane d'alginate de 160 μm.

2.2.3 Capsules submillimétriques par fragmentation d'un jet composé

La production de gouttes, et donc de capsules, dont la taille est inférieure à la longueur capillaire $l_c \simeq 1mm$ n'est pas possible en régime goutte-à-goutte et nécessite la formation d'un jet suivi d'une fragmentation. En effet, l'instabilité capillaire du jet (instabilité de Rayleigh-Plateau) conduit à sa brisure en gouttes dont la taille est de l'ordre de la taille du jet [Eggers and Villermaux, 2008]. La fragmentation d'un jet composé de deux liquides concentriques peut donc conduire à la création de capsules sub-millimétriques. L'étude de l'hydrodynamique sous-jacente de ce procédé ainsi que son optimisation sont réalisées par Hugo Doméjean dans le cadre de sa thèse au laboratoire. Un schéma du dispositif mis en place, et inspiré d'un appareil commercial (*Encapsulator STARTUP*), est présenté dans la Figure 2.11.

Afin d'obtenir des capsules de taille identiques, il est nécessaire de contrôler la fragmentation du jet en imposant une perturbation harmonique de l'écoulement [Goedde and Yuen, 1970]. L'excitation est ici amenée par une membrane piezoélectrique. Le choix de la fréquence d'excitation se fait par visualisation du jet à la caméra rapide. Le diamètre des gouttes D dépend de la fréquence d'excitation f et de la taille du jet D_j. La Figure 2.12 présente la fragmentation d'un jet composé d'une couche d'alginate et d'un cœur de Dextran.

Si on appelle Q le débit total, la conservation du volume permet d'écrire :

$$D = \left(\frac{6}{\pi}\frac{Q}{f}\right)^{1/3} \tag{2.8}$$

D'autre part, il existe une longueur d'onde d'excitation optimale λ_{opt} correspondant au taux de croissance maximal de l'instabilité de Rayleigh-Plateau. λ_{opt} dépend des propriétés du fluide et du diamètre de l'injecteur D_j. Il définit la fréquence d'excitation optimale f_{opt} telle que :

$$f_{opt} = \frac{u}{\lambda_{opt}} = \frac{Q}{\lambda_{opt}\frac{\pi}{4}D_j^2} \tag{2.9}$$

avec u la vitesse du fluide.

Le diamètre final des gouttes D est donc déterminé par D_j et λ_{opt} :

$$D = \left(\frac{6}{4} D_j^2 \lambda_{opt}\right)^{1/3} \tag{2.10}$$

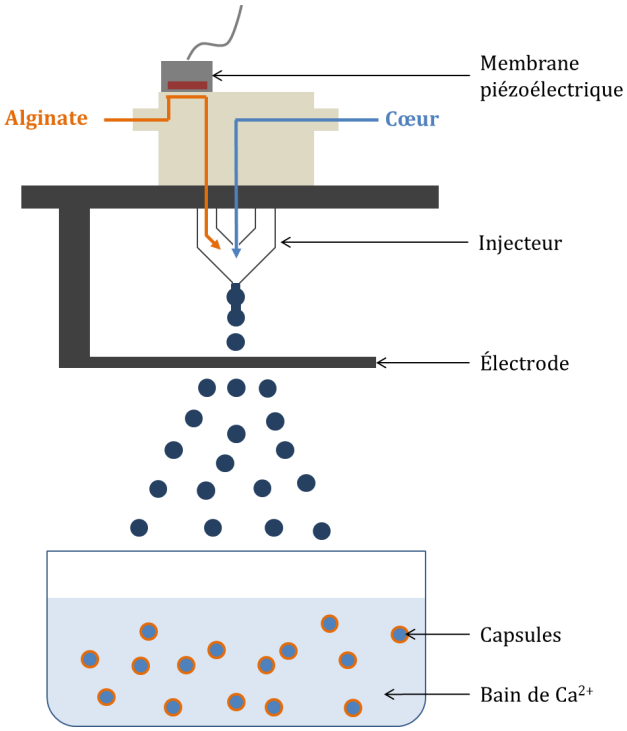


Figure 2.11 – Schéma du dispositif de fabrication des micro-capsules par fragmentation d'un jet composé inspiré d'un appareil commercial (*Encapsulator STARTUP*) et optimisé par H. Doméjean.

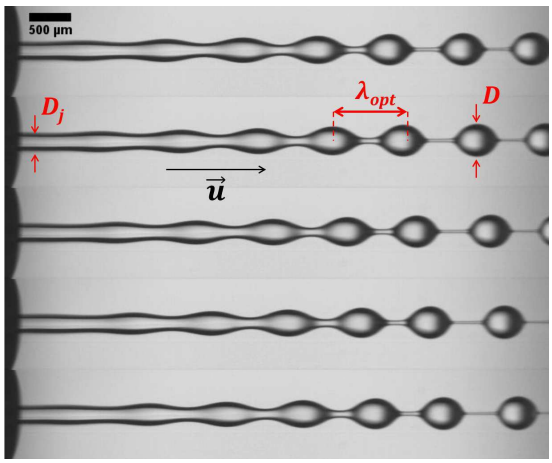


Figure 2.12 – Fragmentation d'un jet composé d'alginate et d'une solution de Dextran. Fréquence d'excitation = 1500 Hz, Δt=0,1ms. Pour des raisons de commodités, les clichés sont présentés horizontalement, mais il faut bien imaginer un jet vertical dans l'expérience. *(Crédits Hugo Doméjean).*

D'autre part, pour éviter que les gouttes ne coalescent avant de tomber dans le bain de calcium et forment des capsules plus grosses et/ou difformes, une électrode est placée au niveau de la zone de fragmentation. Cette électrode charge les gouttes en surface et ces dernières se repoussent en formant un "spray" qui tombe ensuite dans le bain de calcium [Brandenberger et al., 1999]. Pour produire le jet composé, il est nécessaire d'utiliser un injecteur avec deux entrées. La solution extérieure est une solution d'alginate à 2%wt contenant du SDS à 10 mM et la solution de cœur peut être aqueuse ou huileuse. De la même manière que dans le régime goutte-à-goutte, le ratio des débits $R_q = \frac{Q_i}{Q_e}$ entre les deux fluides permet de contrôler l'épaisseur de la membrane d'alginate.

Le Tableau 2.2 regroupe les paramètres expérimentaux (fréquence, débit, diamètre de l'injecteur) ainsi que les caractéristiques (diamètre, épaisseur de la membrane) pour les microcapsules utilisées dans nos expériences.

Tableau 2.2 – Paramètres expérimentaux et caractéristiques des microcapsules fabriquées par fragmentation d'un jet composé.

Diamètre de l'injecteur (μm)	148	100	148
Débit phase externe Q_e (mL/h)	50	25	100
Débit phase interne Q_i (mL/h)	150	75	100
Fréquence (Hz)	500	600	300
Diamètre des capsules d_{caps} (μm)	550	412	550
Ratio h/R	0,09	0,09	0,20

La Figure 2.13 présente un cliché de microcapsules à cœur huileux et membrane fine d'alginate. Ces capsules ont été fabriquées avec l'injecteur à 100 μm de diamètre et une fréquence d'excitation de 600 Hz. On remarque que les capsules ont une bonne sphéricité. Leur diamètre moyen est de 412 μm, avec une polydispersité de 1%.

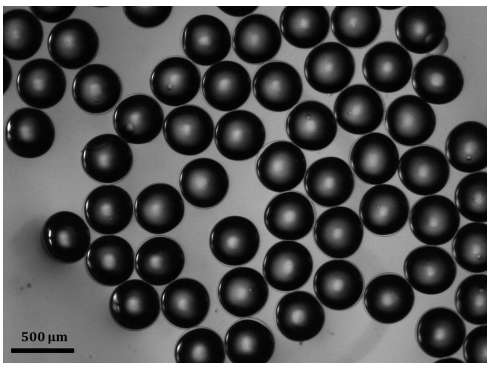


Figure 2.13 – Image au microscope (×2) de microcapsules constituées d'un cœur d'huile et d'une membrane d'alginate. Le diamètre des capsules est d'environ 412 ± 4,1 μm. Les capsules ont été fabriquées avec un injecteur de 100 μm à une fréquence d'excitation de 600 Hz. Le débit du fluide interne était de 75 mL/h et celui du fluide externe de 25 mL/h.

2.3 Premières applications des capsules

Le laboratoire s'oriente vers une utilisation des capsules d'alginate dans les biotechnologies. Nous avons déjà présenté dans le chapitre précédent un application en cosmétique des capsules millimétriques. La société Capsum commercialise pour La Prairie des capsules "simples" à membrane d'alginate et cœur aqueux contenant une formulation cosmétique. Leur gamme Revolution™regroupe tout un ensemble de formulations basées sur l'utilisation des capsules d'alginate à cœur aqueux ou huileux (voir la Figure 2.14). Ces dernières sont dispersées dans un gel ou dans une crème et s'utilisent en application sur la peau : la rupture de la membrane, soit par contrainte de cisaillement ou par dissolution, libère les principes actifs. En biotechnologie, les microcapsules d'alginate formées par le procédé de fragmentation d'un jet composé ont montré des premiers résultats dans les travaux de Alessandri et al. [2013]. Le procédé a permis d'encapsuler et confiner dans des sphéroïdes des cellules tumorales dont la croissance a été visualisée par microscopie (voir la Figure 2.15). Les microcapsules ont permis de mesurer la force exercée par l'amas cellulaire grâce à expérience similaire à celle détaillée dans le chapitre 7.

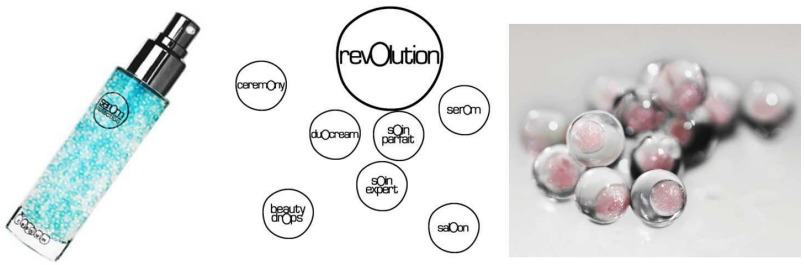


Figure 2.14 – Photo de produits de la gamme Revolution™développés par Capsum.

2.4 Conclusion

L'encapsulation de substance actives ou biologiques dans des matrices de polymère gélifié ou des vésicules est de plus en plus répandue dans les secteurs de la cosmétique, de l'agroalimentaire, de la pharmacologie ou encore des biotechnologies. Il existe différentes techniques d'encapsulation permettant de former des microcapsules ou des microshpères. Certaines techniques ont été présentées dans cette partie, notamment la microfluidique, qui permet de fabriquer des microcapsules à cœur liquide aqueux ou huileux et à membrane d'épaisseur contrôlée. Les matériaux utilisés (polymères) pour l'encapsulation diffèrent en fonction de leur application. Néanmoins, il est bien souvent nécessaire d'employer des polymères biocompatibles, notamment dans les secteurs de la cosmétique ou des biotechnologies. L'alginate, de part sa biocompatibilité et sa facilité d'utilisation est un candidat idéal et très largement utilisé.

Le développement des techniques d'encapsulation n'a pas permis jusqu'à maintenant d'obtenir des structures type cœur-coque biocompatibles avec une membrane très fine et un cœur exempt du polymère formant la membrane. Pour palier à ces deux limitations, notre labora-

toire a développé une technique millifluidique originale, permettant de fabriquer des capsules biocompatibles millimétriques et submillimétriques composées d'un cœur liquide et d'une membrane fine d'alginate. Notre procédé nous autorise à contrôler l'épaisseur de la membrane, et à encapsuler de l'eau ou de l'huile. Ces matériaux trouvent des applications dans le domaine de la cosmétique de part leur aspect visuel et leur capacité à encapsuler des principes actifs. Ils peuvent également encapsuler de la matière vivante, telles que des cellules, et constituent ainsi un réservoir de culture cellulaire à trois dimensions.

Indépendamment de leur utilisation finale, il est nécessaire de comprendre les propriétés physico-chimiques de ces nouveaux matériaux, tels que la perméabilité de la membrane ou la résistance mécanique. L'hydrogel d'alginate étant le matériau qui compose la membrane, il est nécessaire de comprendre ses propriétés thermodynamiques (notamment sa transition sol-gel) avant de l'étudier sous forme de membrane fine. Dans le chapitre 3, nous nous intéressons donc à la transition sol-gel de l'alginate de calcium ainsi qu'à sa stabilité thermodynamique et cinétique.

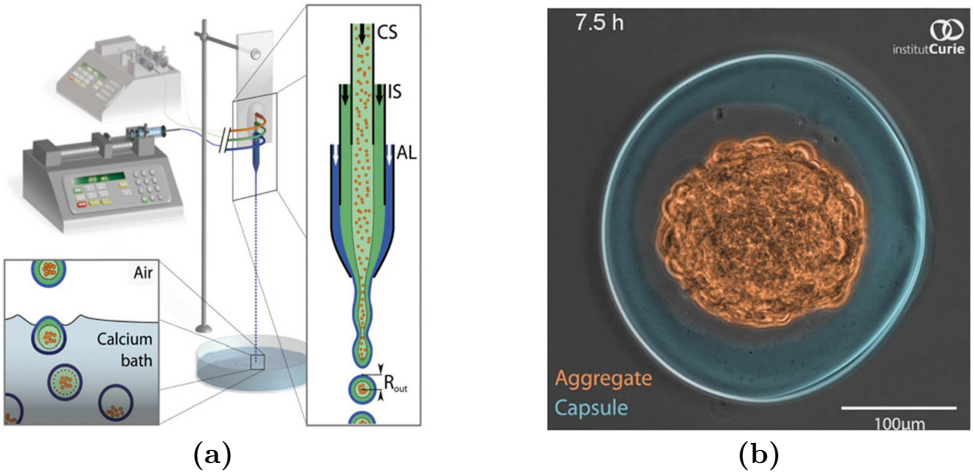


Figure 2.15 – **(a)** Schéma du procédé microfluidique de fabrication des microcapsules à membrane d'alginate. La phase interne contient une suspension de cellules tumorales. La phase intermédiaire est un solution aqueuse sans calcium et sert de barrière à la diffusion des ions calcium contenus dans le milieu cellulaire et qui pourraient gélifier l'alginate et boucher le capillaire. **(b)** Image de la croissance d'un agrégat de capsules dans une capsule prise 7,5 heures après le formation de la capsule. *Adapté de [Alessandri et al., 2013]*

CHAPITRE 3

Transition sol-gel de l'alginate

L'alginate de calcium est l'hydrogel constituant la membrane des capsules : il détermine les caractéristiques mécaniques et la perméabilité des capsules. Nous nous sommes donc penchés dans un premier temps sur les propriétés thermodynamiques de cet hydrogel, sa transition sol-gel ainsi que sa stabilité en présence de sels.

3.1 La transition sol-gel

Un gel est un solide mou qui peut se déformer facilement sous l'action d'une faible pression. Pour obtenir un gel, il faut partir de deux constituants distincts : un solvant et un soluté. La phase initiale est constituée par un liquide (de l'eau dans le cas d'un hydrogel) dans laquelle est dissout un composé moléculaire qui est le plus souvent un polymère. Cet état fluide est appelé *sol*. Dans certaines conditions (température, pH, réticulant) le *sol* subit une transition de phase et passe à l'état *gel*. C'est ce qu'on appelle la *transition sol-gel* ou *gélification*. Dans l'état gel, le solvant et le soluté forment un réseau tridimensionnel. On peut caractériser un gel de la façon suivante [Papon et al., 1999] :

- Un gel constitue une phase homogène à deux composants : un soluté dissout dans une phase liquide.
- Le constituant dissout ou dispersé et le solvant occupent tout le volume de la phase gel : ils sont interconnectés sous forme d'un réseau tridimensionnel.
- La phase gel a un comportement de solide sous l'action de forces microscopiques.

La transition sol-gel est un type de transition hors équilibre. On peut mettre en évidence cette transition dans des solutions de molécules organiques ou inorganiques dans un solvant. Ces dernières peuvent subir une transition vers une phase plus organisée sous certaines conditions

physiques (température, pH, concentration) : elles sont constituées par un réseau tridimensionnel non périodique mais qui possède les propriétés viscoélastiques d'un solide, c'est la phase gel. La gélification est un phénomène analogue à la percolation. La percolation décrit un phénomène au cours duquel des petites structures initialement indépendantes (molécules de polymère et de solvant) s'agrègent ou se couplent les unes aux autres pour former une microstructure ou un macro-objet (réseau tridimensionnel), les liaisons entres les objets pouvant être de nature physique ou chimique. Nous n'entrerons pas ici dans le détail du modèle de percolation appliqué à la transition sol-gel qui a été proposé en 1976 par P.G. de Gennes et D. Stauffer [Papon et al., 1999].

L'alginate est un biopolymère pouvant subir une transition sol-gel et former un gel électriquement chargé, c'est-à-dire un polyélectrolyte. Dans les parties suivantes, nous présenterons en détail l'alginate, sa structure et ses propriétés de gélification. Ensuite, nous nous intéresserons à la stabilité thermodynamique et cinétique de l'hydrogel d'alginate en présence de sels.

3.2 L'alginate : un polysaccharide naturel gélifiant

3.2.1 Présentation de l'alginate

Les polysaccharides sont des polymères carbohydrates constitués d'unités monosaccharides liées entre elles par des liaisons glycosidiques C-O-C. Leur structure peut être linéaire ou branchée. Ces macromolécules ont des propriétés distinctes qui dépendent de leur structure et peuvent être amorphes ou même insolubles dans l'eau. L'unité monomère dans la chaîne du polymère étant un cycle à 6 carbones, la formule générale des polysaccharides peut être représentée comme $(C_6H_{10}O_5)_n$ où n est compris entre 40 et 3000.

L'alginate est un polysaccharide naturel relativement abondant puisqu'il constitue le composant structurel des algues brunes marines (*Phaeophyceae*), représentant plus de 40% en masse sèche. Ces algues peuvent se trouver au bord des littoraux du monde entier. L'alginate est l'un des polysaccharides constituant la capsule entourant certaines bactéries, et peut également être produit par fermentation microbiologique. Néanmoins, les alginates commerciaux utilisés pour des applications industrielles sont la plupart du temps issus d'algues marines brunes. Les applications industrielles de l'alginate sont souvent liées à ses propriétés de rétention d'eau, son pouvoir viscosifiant, gélifiant ou encore stabilisant.

3.2.2 Bref historique de l'alginate

Le chimiste britannique E.C. Standford fut le premier à caractériser l'alginate par la préparation de l'acide alginique à partir d'algues brunes dans un brevet daté du 12 Janvier 1881. Standford réussit à préparer l'alginate par extraction de l'acide alginique des algues avec du carbonate de sodium puis précipitation à pH acide. Il pensait initialement que l'alginate contenait de l'azote et a beaucoup contribué à l'élucidation de la structure du polymère [Standford, 1881].

Dès 1926, les équipes indépendantes de Atsuki et Schmidt ont travaillé sur la structure du polysaccharide et ont découvert la présence de l'acide uronique comme constituant de l'alginate.

Les années suivantes, différentes équipes s'accordent sur le fait que l'alginate est constitué d'acide D-mannuronique. En 1939, l'équipe de Hirst détermine la nature β1,4 des liaisons entre des résidus d'acide mannuronique, à l'instar de la cellulose. Mais cette structure simple fut par la suite remise en cause par les travaux de Fisher et Dörfel en 1955, qui découvrent un nouvel acide uronique présent dans le polymère : l'acide L-guluronique. À partir de ce moment là, l'alginate fut considéré comme un copolymère composé de résidus α-L-guluronique et β-D-mannuronique. En fonction de la source dont est extrait l'aginate, sa composition exacte en acide uronique doit alors être examinée par des méthodes d'analyse chimiques. C'est d'ailleurs le travail auquel s'attellent Haug et son équipe en 1964. Suivent alors la découverte de l'alginate comme copolymère à blocs ainsi que la corrélation entre la structure des blocs et les propriétés chimiques du polymère. Cette structure et ces propriétés sont décrites dans la partie suivante.

3.2.3 Structure et propriétés de l'alginate

a. Structure chimique

L'alginate fait partie de la famille des copolymères : il est composé des deux résidus α-L-guluronique et β-D-mannuronique liés en (1→4) (voir Figure 3.1(a) et (b)). Ainsi, les possibilités de composition et de séquence sont très larges et varient en fonction du type d'alginate. L'alginate peut être considéré comme un véritable copolymère à blocs composé de régions homopolymériques M et G (dénommées blocs M et blocs G), séparées par des séquences alternées de M et G (appelées blocs MG) (voir Figure 3.1(c)). La quantité relative entre ces différentes séquences dépend de l'origine de l'alginate.

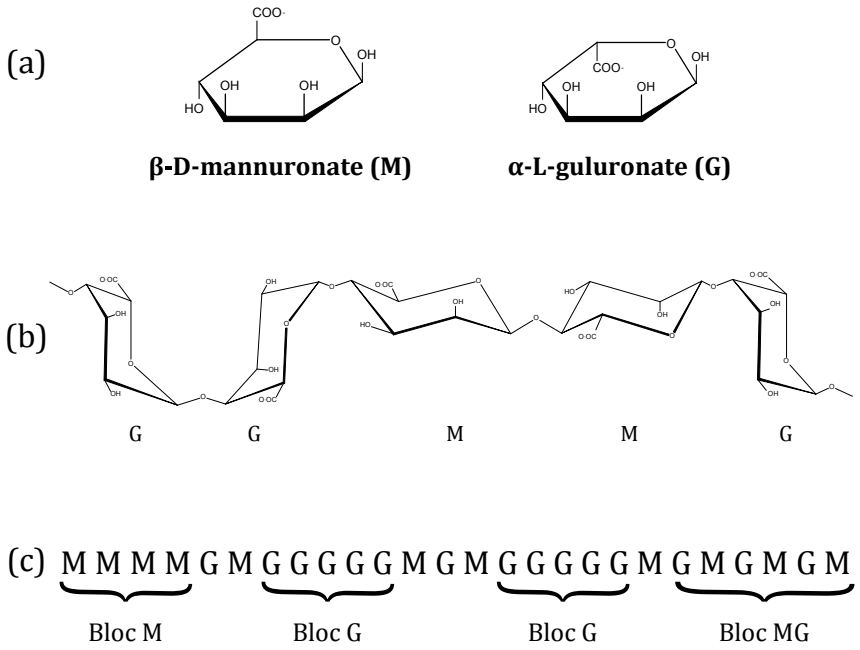


Figure 3.1 – Structure et composition de l'alginate : **(a)** monomères d'acides uroniques, **(b)** conformation des chaînes et **(c)** distribution des blocs.

Des études sur la conformation des chaines par des mesures de diffraction aux rayons X, confirmées plus tard par des mesures de RMN, ont montré que l'alginate possède quatre types de liaisons glycosidiques : diéquatoriale (MM), diaxial (GG), equatoriale-axiale (MG) et axial-équatoriale (GM) (voir Figure 3.1(b)). De part leur conformation diaxiale, les blocs G sont beaucoup plus raides que les blocs M et les blocs MG. D'autre part, l'alginate peut être préparé dans une large gamme de masse molaire (entre 50 et 100000 Da).

b. Gélification

Les propriétés physiques de l'alginate ont été principalement découvertes dans les années 1960 et 1970. À la différence des autres polysaccharides gélifiants, la principale caractéristique de l'alginate est sa gélification avec des cations bivalents. De plus, sa transition sol-gel n'est pas influencée par un changement de température.

Deux blocs G de deux chaînes de polymères adjacentes peuvent être réticulés par un cation bivalent (par exemple Ca^{2+} ou Ba^{2+}), par une interaction électrostatique entre les deux groupes carboxyliques COO^- du polysaccharide. Cette complexation non covalente donne lieu à la formation d'un réseau à trois dimensions, et donc d'un hydrogel physique. Lorsque deux brins de polymère sont face à face, la conformation des blocs G forment des cavités dans lesquelles viennent se loger les ions Ca^{2+}. Cette dimérisation des blocs G est communément appelée structure type "boite d'oeufs". Un schéma représentatif de la gélification des chaînes d'alginate est représenté dans la Figure 3.2. La rigidité du gel obtenu dépend du ratio entre les blocs G et les blocs M contenus dans le polymère (ration G/M). De façon générale, les alginates composés d'un faible ratio G/M forment des gels plus mous et élastiques, alors que les alginates avec ratio G/M élevé donnent plutôt des gels durs et cassants [Draget et al., 1994].

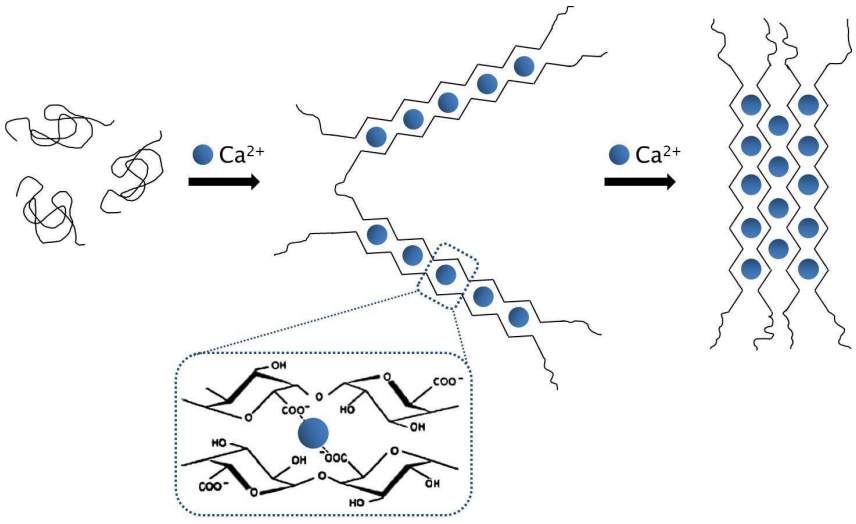
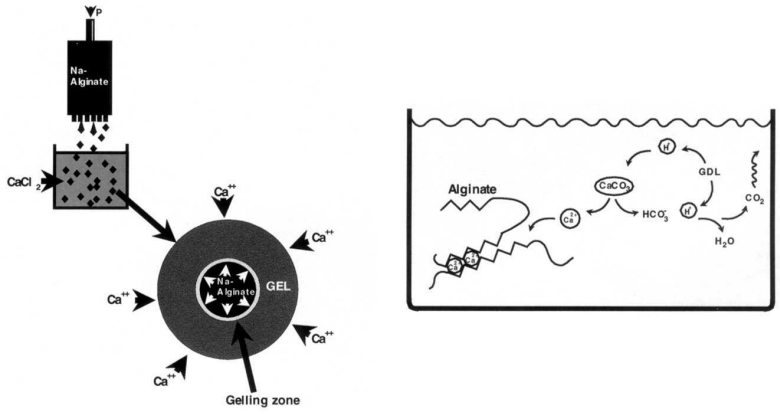


Figure 3.2 – Gélification de l'alginate par des ions calcium, selon de modèle "boite d'oeufs". Les blocs G de deux chaînes sont d'abord dimérisés par une liaison électrostatique avec un cation Ca^{2+}, puis ensuite polymérisés afin de former un gel dur.

La gélification instantanée par des cations bivalents est une caractéristique typique de l'alginate. Le mélange direct de ces deux composés produits rarement un hydrogel homogène. Il existe deux méthodes fondamentales de gélification de l'alginate : une technique de diffusion externe et une technique de gélification interne (voir Figure 3.3). La méthode de gélification interne consiste à relarguer des ions calcium de manière contrôlée (par réaction chimique, changement de pH, changement de solubilité...) à partir d'une source de calcium initialement présente à l'intérieur de l'alginate (mélange de $CaCO_3$ dans la solution d'alginate, qui libère des ions Ca^{2+} par réaction chimique) . La technique de diffusion externe consiste quant à elle à faire diffuser dans la solution d'alginate des ions calcium à partir d'un réservoir infini (une goutte d'alginate est plongée dans un bain contenant un sel de calcium). Cette méthode, caractérisée par une cinétique très rapide de gélification, est largement utilisée pour l'immobilisation d'actifs biologiques dans une bille de gel.



(a) Diffusion externe (b) Relargage interne

Figure 3.3 – Les deux principales techniques de gélification de l'alginate : **(a)** par diffusion externe, illustrée par la technique d'immobilisation dans une bille de gel et **(b)** par relargage interne, illustrée par la libération de Ca^{2+} à partir de $CaCO_3$ et Delta-gluconolactone (GDL). *Adapté de [Draget et al., 2005].*

Après avoir présenté l'alginate ainsi que ses propriétés de gélification, nous nous intéressons à la stabilité de cet hydrogel en présence de sels.

3.3 Stabilité du gel d'alginate en présence de sel

L'hydrogel d'alginate de calcium est un gel physique formé par les interactions électrostatiques entre les ions bivalents Ca^{2+} et les groupes carboxylates COO^- présents dans le polysaccaride. Lorsqu'une solution d'alginate entre en contact avec des ions calcium, une précipitation très rapide s'opère et donne lieu à la formation d'un gel. On peut donc parler de transition sol-gel de l'alginate de calcium.

Dans un premier temps, nous avons observé qu'un morceau de gel d'alginate de calcium dans un volume infini d'eau pure ne se dissolvait pas, ce qui va à l'encontre de ce est attendu

thermodynamiquement. Cela signifie que la cinétique de dissociation des liaisons électrostatiques entre un ion calcium et deux sites de l'alginate est infiniment lente. On écrit la réaction de dissociation suivante :

$$\text{Alg-Ca-Alg}_{(gel)} \underset{k_{on}}{\overset{k_{off}}{\rightleftharpoons}} 2\ \text{Alg}_{(sol)} + \text{Ca}^{2+}$$

on appelle k_{off} la constante de vitesse de dissociation. $K_D = \dfrac{k_{off}}{k_{on}}$ est la constante thermodynamique de dissociation. La loi d'Arrhénius permet d'écrire :

$$k_{off} = k_0 \exp\left(\frac{-E_a}{RT}\right) \tag{3.1}$$

avec E_a l'énergie d'activation de la réaction. Si la cinétique de dissolution est infiniment lente dans l'eau pure, cela signifie que k_{off} est très faible, et donc que E_a est très élevée (voir la Figure 3.4). Ainsi, la barrière énergétique à franchir pour défaire les liaisons Ca-Alg est trop élevée dans l'eau pure pour que l'on observe la dissolution du gel.

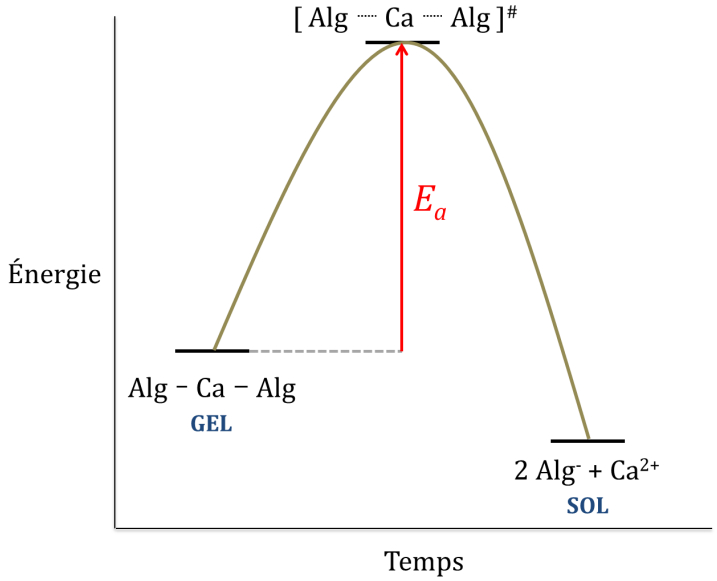


Figure 3.4 – Représentation schématique de la barrière énergétique à franchir dans la réaction de dissociation des liaisons Ca-Alg dans le cas où le gel est dans une solution infinie.

Néanmoins, cette barrière énergétique peut être abaissée lorsque le gel est plongé dans une solution saline. Ainsi, la force ionique de la solution externe permet d'augmenter k_{off}, et on peut observer la dissolution du gel. Nous avons étudié l'effet d'un sel chélatant du calcium et d'un sel non chélatant sur la stabilité thermodynamique du gel en réalisant des diagrammes de phases.

3.3.1 Dissolution du gel en présence d'un sel chélatant

Alors que dans l'eau pure la barrière énergétique est trop grande pour casser les liaisons électrostatiques entre le calcium et l'alginate, la présence d'un ion chélatant abaisse cette barrière et rend le gel réversible. En effet, le gel d'alginate peut être dissout dans une solution contenant un ion chélatant du calcium comme l'EDTA ou encore le citrate de sodium. Le citrate de sodium $Na_3C_6H_5O_7$ possède 3 sites carboxyliques et peut donc chélater les ions calcium pour former un complexe de citrate de calcium.

Nous nous sommes penchés sur l'effet du citrate de sodium en étudiant l'état thermodynamique d'une solution d'alginate en présence de calcium et de citrate. Pour ce faire, nous avons réalisé un diagramme de phase dans lequel la quantité d'alginate est fixée à 2% en masse et les proportions de calcium et de citrate varient, dans un échantillon de volume total constant égal à 5 mL. Pour chaque échantillon, on mélange les constituants et on observe l'état physique du système après une nuit d'agitation. Le diagramme de phase du système ternaire alginate/calcium/citrate est présenté dans la Figure 3.5.

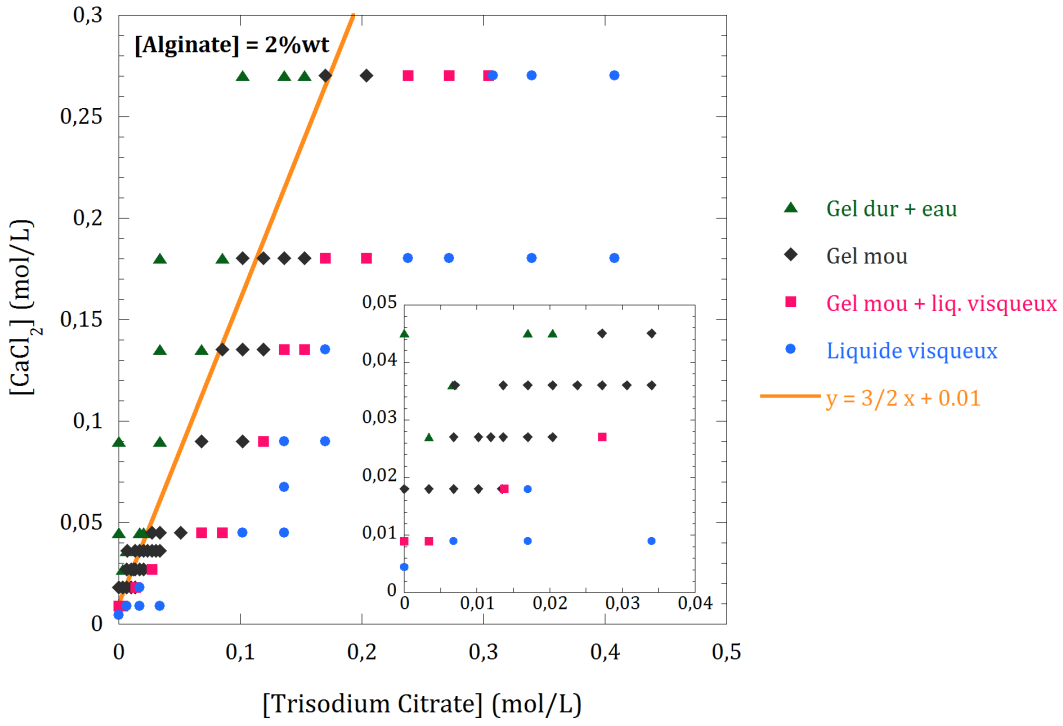


Figure 3.5 – Diagramme de phase d'une mélange ternaire alginate/calcium/citrate. La concentration de l'alginate est fixée à 2% en masse et on fait varier les concentrations en chlorure de calcium et citrate de sodium.

Sur le diagramme de phase, on peut distinguer quatre états thermodynamiques :

- Un état monophasique de liquide visqueux d'alginate en solution (points bleus).
- Un état biphasique constitué d'un gel mou et d'une solution liquide visqueuse d'alginate (carrés roses). La transition sol-gel est amorcée, mais la quantité de calcium est encore insuffisante pour réticuler la totalité du volume d'alginate.

- Un état monophasique intermédiaire de "gel mou" occupant le volume total de l'échantillon (losanges noirs). On est à la transition sol-gel, tout le polymère d'alginate est gonflé dans un état gel.
- Un état biphasique constitué d'un gel dur et contracté dans de l'eau (triangles verts). En ajoutant encore des ions calcium, le réseau du gel est contracté et l'eau expulsée à l'extérieur du gel, formant ainsi un bloc de gel dur.

Lorsque la concentration en citrate est nulle, cela correspond au diagramme sol-gel de l'alginate de calcium avec une transition de gel pour une concentration en calcium environ égale à 8 mmol/L. On retrouve ici le même seuil de gélification que Zhao et al. [2011]. Lorsque la concentration en alginate est comprise entre 1,5% et 3 % en masse, ils ont observé une transition sol-gel pour une concentration en calcium de 10 mmol/L (voir la Figure 3.6).

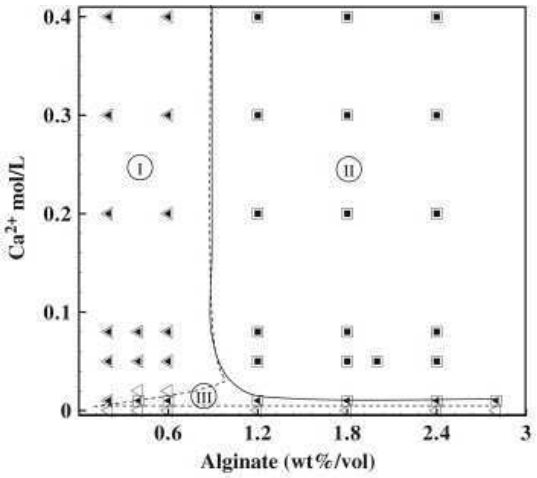


Figure 3.6 – Diagramme de la transition sol-gel de l'alginate de calcium réalisé dans les travaux de Zhao et al. [2011]. La région I correspond à l'état *sol* et la région II correspond à l'état *gel*.

Lorsque la concentration en citrate augmente, on observe sur le diagramme de phase que la transition sol-gel a lieu pour une concentration en calcium de plus en plus élevée. En effet, deux réactions sont en compétition dans le système. D'une part, la réaction de gélification de l'alginate correspond à :

$$2\ \text{Na-Alg}_{(sol)} + \text{Ca}^{2+} \longrightarrow \text{Alg-Ca-Alg}_{(gel)} + 2\ \text{Na}^{+}$$

En parallèle, la réaction de chélation du calcium par le citrate correspond à (par commodité d'écriture, on écrira Ci les ions trisodium citrate) :

$$3\ \text{Ca}^{2+} + 2\ \text{Ci}^{3-} \longrightarrow \text{Ca}_3\text{Ci}_2$$

La constante de formation du complexe de citrate de calcium a été déterminée dans les travaux de Keowmaneechai and McClements [2002] : ils ont mesuré une constante K_f égale à 7.10^3 M. Steginsky et al. [1992] ont quant à eux mesuré par RMN la constante de dissociation

K_D entre le calcium et les blocs G de l'alginate et obtiennent $K_D = 2.10^{-4}$. Cette valeur est en accord avec les travaux de Wang and Spencer [1998], qui ont calculé une constante de formation de l'alginate de calcium K_f égale à 8.10^3 (donc un K_D de $1{,}25.10^{-4}$).

Notre diagramme de phase permet d'estimer une constante de précipitation entre le calcium et l'alginate. En effet, lorsque la concentration en citrate est nulle, la précipitation a lieu pour $[Ca^{2+}] \simeq 10^{-2}$. On considère que la constante K_D globale de notre gel est donc de l'ordre de 10^{-2}. On ne peut comparer cette valeur directement à celles données dans la littérature puisque il est impossible de connaître exactement la stœchiométrie de la réaction de précipitation écrite ci-dessus (combien existe-il de sites disponibles dans le polymère ?).

Ce qu'il faut retenir de ce diagramme de phase, c'est que les deux réactions de précipitation sont en compétition, et que la constante de précipitation du CaCi est supérieure à celle de l'alginate de calcium. Ainsi, lorsque les ions calcium sont ajoutés au système, ils sont immédiatement chélatés par les ions citrate dans les proportions stœchiométriques. Les ions calcium en excès précipitent ensuite avec l'alginate pour former le gel. Si on trace une droite dont la pente est exactement égale à la stœchiométrie de réaction de formation du CaCi, on s'aperçoit qu'elle correspond effectivement à la frontière de transition sol-gel de l'alginate (voir la Figure 3.5).

3.3.2 Stabilité en présence d'un sel non chélatant

L'étude de la stabilité thermodynamique du gel d'alginate en présence de sel a également été étudiée dans le cas d'un sel non chélatant du calcium, le chlorure de sodium NaCl.

Des études ont montré que les ions Na^+ pouvaient s'échanger avec les ions Ca^{2+} dans le gel d'alginate, ce qui a pour effet de gonfler le gel et augmenter le *"dezipping"* des structures types "boites d'œufs" [Baumberger and Ronsin, 2010]. Un diagramme de phase a été réalisé dans les mêmes conditions que celui présenté précédemment : une solution d'alginate à 2% en masse est mélangée à une solution de chlorure de calcium et de chlorure de sodium dans différentes proportions. On obtient alors le diagramme présenté dans la Figure 3.7.

À la différence du citrate, on constate ici que les ions Na^+ (ou Cl^-) n'ont aucun effet sur l'état thermodynamique du gel. En effet, la transition sol-gel de l'alginate n'est pas modifiée même lorsque la proportion en ions sodium devient importante. Cela traduit le fait que la constante thermodynamique d'association entre les ions calcium et l'alginate est bien plus élevée qu'entre les ions sodium et l'alginate. Même s'il existe un échange entre les ions Na^+ et Ca^{2+} dans les sites carboxylates de l'alginate, l'état d'équilibre sera toujours favorable pour les ions Ca^{2+}.

Ainsi, pour déplacer l'équilibre thermodynamique entre le calcium et l'alginate, il est nécessaire d'introduire dans le mélange un ion chélatant du calcium. L'ajout de cation monovalent n'a cependant pas d'effet sur la constante d'équilibre K_D du gel l'alginate.

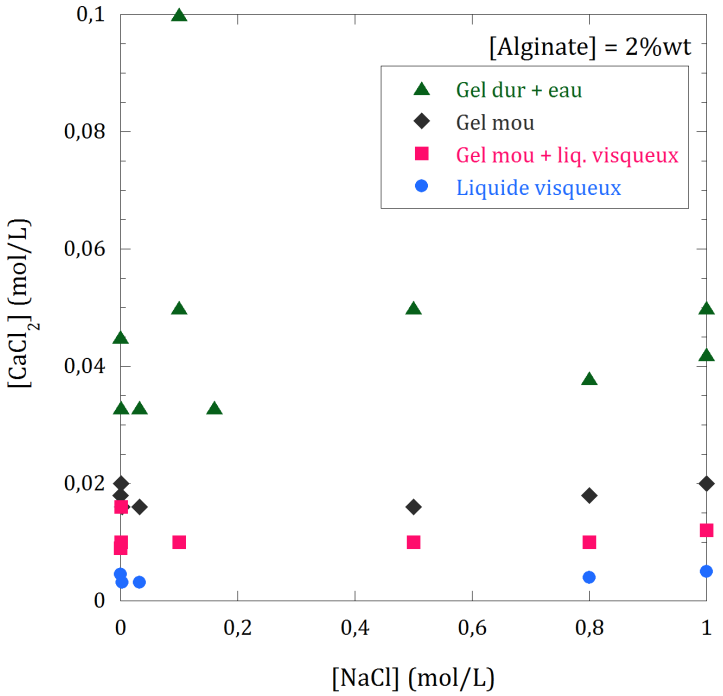


Figure 3.7 – Diagramme de phase d'une mélange ternaire alginate/calcium/sodium. La concentration de l'alginate est fixée à 2% en masse et on fait varier les concentrations en chlorure de calcium et chlorure de sodium.

3.4 Stabilité d'une membrane d'alginate de calcium

Dans cette expérience, nous nous sommes penchés sur l'effet de la force ionique sur la membrane d'alginate d'une capsule à cœur aqueux. Contrairement à l'étude des diagrammes de phases dans lesquels on observe l'équilibre thermodynamique des constituants, on se trouve ici dans un contexte différent : l'alginate est concentré localement à 2% dans la membrane gélifiée, mais la capsule se trouve dans un volume infini de solution salée. La quantité d'alginate dans le système est donc infiniment plus faible que celle des ions. Ici, le potentiel chimique de la solution externe est constant.

L'expérience consiste à plonger une capsule dans 50 mL d'une solution salée sous agitation. La capsule est constituée d'une membrane d'alginate d'épaisseur 50 μm et d'un cœur aqueux contenant une faible proportion de latex naturel, ce qui permet d'avoir une coloration blanche. À l'instant où la capsule est plongée dans la solution, un chronomètre est déclenché et on relève le temps de rupture de la membrane. La lecture de ce temps de rupture est possible grâce à la couleur blanche du cœur, qui est instantanément expulsé sous forme de volutes (voir le schéma de la Figure 3.8). Chaque mesure a été répétée 10 fois pour s'assurer de la reproductibilité du temps de rupture.

On comprend que cette "rupture" de la membrane ne correspond pas à la dissolution totale du gel. On sonde ici la fracture de la membrane, localisée dans une zone de plus faible épaisseur (membrane inhomogène). Néanmoins, bien que chaque expérience soit réalisée avec

une capsule nouvelle, l'erreur de mesure du temps de rupture reste raisonnable, ce qui témoigne de la reproductibilité du procédé de fabrication des capsules.

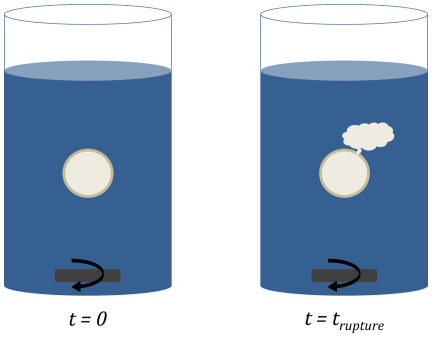


Figure 3.8 – Schéma de l'expérience de rupture d'une capsule dans un volume infini de sel. À l'instant $t_{rupture}$ une volute de la solution de cœur de la capsule est expulsée dans la solution extérieure.

Les parties suivantes présentent les résultats obtenus pour cette expérience de cinétique de rupture de la membrane des capsules. Nous avons dans un premier temps étudié l'effet de la force ionique de la solution extérieure, puis dans une seconde partie, nous avons voulu vérifier l'effet de la la taille de l'ion sur le temps de rupture.

3.4.1 Effet de la force ionique sur le temps de rupture

Il s'agit ici de mesurer le temps de rupture d'une capsule plongée dans une solution de sel en fonction de sa concentration. Nous avons étudié l'effet d'une solution de citrate de sodium, de chlorure de sodium ainsi qu'un mélange des deux sels. La Figure 3.9 présente le résultat de l'expérience. Le temps de rupture $t_{rupture}$ est tracé en fonction de la force ionique pour les trois types de solutions salines. On observe sur la courbe que $t_{rupture}$ diminue lorsque la force ionique de la solution augmente. Les barres d'erreur indiquent que l'expérience est reproductible entre chacun des 10 essais utilisant une nouvelle capsule. L'erreur devient cependant plus grande lorsque le temps s'approche de 1 seconde : elle est due à l'incertitude de la mesure.

Nous n'avions pas observé d'effet du chlorure de sodium sur l'état thermodynamique du gel d'alginate de calcium, et pourtant ici on remarque que la présence d'une solution de NaCl permet de rompre la membrane d'une capsule. En effet, le système se trouve ici dans une cas où le volume de sel est infini devant le volume de gel (ce qui n'était pas le cas dans les diagrammes de phase). Ainsi, lorsque un ion calcium est échangé par un ion sodium, il se trouve infiniment dilué dans la solution extérieure. La concentration des ions calcium devient alors infiniment faible devant la constante de complexation calcium/alginate, et la "re-complexation" est impossible. Plus la quantité d'ions sodium est importante, plus les ions calcium sont rapidement échangés et donc plus $t_{rupture}$ diminue.

Bien entendu, l'effet est encore plus important lorsque la solution extérieure contient des ions qui complexent le calcium. La constante de complexation est supérieure entre le calcium et le citrate qu'entre le calcium et l'alginate, et les ions citrate sont en excès devant les ions

calcium : l'équilibre est déplacé dans le sens de la formation du complexe de citrate de calcium et donc de la dissociation de l'alginate de calcium.

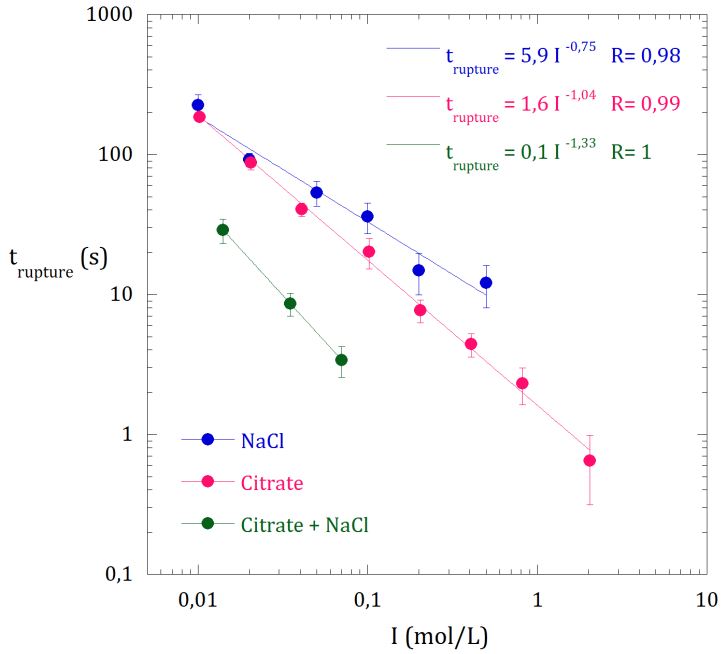


Figure 3.9 – Variation du temps de rupture d'une capsule dans un volume infini de sel en fonction de la force ionique de la solution. L'expérience a été réalisée dans une solution de citrate de sodium, de chlorure de sodium et dans une mélange des deux sels. Les points expérimentaux ont été ajustés par une loi de puissance du type $y = \alpha x^{\beta}$.

Quel que soit le sel utilisé, la variation de $t_{rupture}$ suit une loi de puissance avec la force ionique. Les points expérimentaux peuvent être ajustés par une loi de puissance proche de -1 pour les trois courbes. On peut ainsi écrire une loi empirique de la variation du temps de rupture de la membrane en fonction de la force ionique de la solution extérieure :

$$t_{rupture} \sim \frac{1}{I} \tag{3.2}$$

Si considère la réaction de dissociation de l'alginate de calcium dont l'équation a été écrite plus haut, on sait que la constante cinétique de dissociation k_{off} est égale à l'inverse du temps caractéristique de dissociation τ_{off}. Si on assimile $t_{rupture}$ au temps caractéristique de dissociation d'un lien Alg-Ca, on obtient une loi empirique entre la constante de vitesse k_{off} et la force ionique de la solution extérieure telle que :

$$k_{off} \sim I \tag{3.3}$$

On peut donc en déduire d'après la loi d'Arrhénius que :

$$E_a \sim -RT \ln I \tag{3.4}$$

Cette loi empirique permet d'appuyer l'observation de l'irréversibilité du gel dans l'eau pure. En effet, puisque la barrière énergétique E_a est proportionnelle à $-\ln I$, lorsque I devient très faible (eau ultra-pure), E_a devient très grande et donc la dissociation du gel est infiniment lente.

3.4.2 Effet de la taille de l'ion sur $t_{rupture}$

Nous nous sommes ensuite posé la question de savoir si la taille de l'ion qui s'échange avec le calcium a un influence sur le temps de rupture de la membrane. On peut en effet penser que plus le cation est gros plus il aura de mal à prendre la place d'un calcium. Nous avons donc comparé l'effet de 3 sels : LiCl, NaCl et KCl. Le rayon ionique des cations est donné dans le Tableau 3.1. On peut remarquer que les ions sodium ont un rayon comparable à celui des ions calcium.

Tableau 3.1 – Rayons ioniques des différents ions alcalins en comparaison avec le rayon ionique du calcium.

Cations	Ca^{2+}	Li^{+}	Na^{+}	K^{+}
Rayons ioniques (pm)	114	90	116	152

La Figure 3.10 présente les résultats de mesure du temps de rupture pour chacun des trois sels alcalins. Finalement, il n'existe pas de différence notable dans la variation de $t_{rupture}$ en fonction de I entre les trois solutions extérieures.

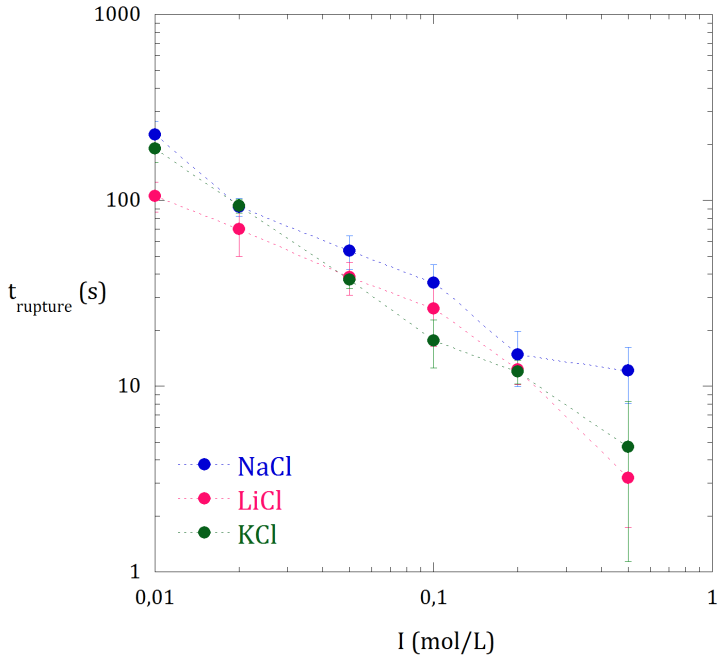


Figure 3.10 – Variation du temps de rupture d'une capsule dans un volume infini de sel en fonction de la force ionique de la solution. L'influence de la taille du cation a été étudiée en réalisant l'expérience dans une solution de chlorure de sodium, chlorure de lithium ou de chlorure de potassium.

On peut donc conclure que la taille de l'ion du sel n'a pas d'influence notable dans cette expérience de rupture. La force ionique de la solution saline est donc la seule grandeur pertinente : la dissolution du gel est régie par la force ionique de la solution, et les détails moléculaires tels que la taille des ions monovalents n'a pas d'influence.

3.5 Conclusion

L'alginate est un polysaccharide naturel extrait d'algues brunes et biocompatible. Ce biopolymère est aujourd'hui utilisé pour de nombreuses applications en biotechnologie, cosmétique, agroalimentaire ou encore en pharmacie. Il possède la particularité de gélifier en présence de cations divalents, et notamment d'ions calcium. Sa transition sol-gel est très rapide et donne lieu à un hydrogel physique irréversible dans l'eau pure : la constante de dissociation de la liaison calcium-alginate est très faible. Lorsque le gel est mis en présence d'ions chélatants du calcium comme le citrate, la barrière énergétique est abaissée : les ions calcium précipitent avec les ions citrate et le gel d'alginate est dissout.

Cependant, des expériences de rupture d'une membrane d'alginate ont permis de mettre en évidence la cinétique de dissolution du gel et nous avons montré l'effet de la force ionique d'une solution de volume infini. De ces observations, nous avons déduit une loi empirique entre l'énergie d'activation de la réaction de dissociation E_a et la force ionique de cette solution. La dissolution du gel d'alginate est gouvernée seulement par la force ionique I de la solution extérieure.

Conclusion de la première partie

Dans cette première partie, nous avons présenté les généralités sur les hydrogels. Ces réseaux polymériques gonflés par de l'eau peuvent être réticulés de manière chimique ou physique. Les propriétés physico-chimiques font de ces gels des candidats idéaux pour une utilisation en libération contrôlée, dans l'ingénierie tissulaire et l'immobilisation cellulaire ou encore dans les formulations cosmétiques. L'encapsulation de substances actives ou biologiques dans une matrice de polymère présente de nombreux enjeux dans les biotechnologies et nécessite l'utilisation de matériaux biocompatibles tels que les hydrogels.

Parmi les nombreux hydrogels existants, nous nous sommes intéressés en particulier à l'alginate. La laboratoire a développé un procédé original d'encapsulation qui permet de fabriquer des matériaux à structure cœur-coque biocompatibles. Ces capsules résultent de la gélification d'une solution d'alginate enveloppant une goutte liquide (aqueuse ou huileuse) dans un bain de calcium par co-extrusion en régime goutte-à-goutte ou par fragmentation d'un jet composé. La technique millifluidique nous permet d'obtenir des capsules millimétriques et submillimétriques avec une membrane d'hydrogel dont l'épaisseur est contrôlée et peut varier entre 30 et 150 μm.

Nous nous sommes penchés dans un premier temps sur la stabilité du gel d'alginate qui constitue la membrane. L'alginate présente une transition sol-gel en présence d'ions bivalents : en présence de calcium, les blocs G de l'alginate se dimérisent par interaction électrostatiques entre les groupes carboxyles et les ions calcium, formant ainsi une structure dite en "boite d'œufs". Cette transition sol-gel est instantanée et le gel formé est irréversible dans l'eau pure car la constante de dissociation de la liaison calcium-alginate est très faible. La réalisation de diagrammes de phase a permis de confirmer que la présence d'un sel chélatant du calcium permet de dissoudre l'hydrogel et de démontrer que la présence d'un ion monovalent n'a aucune influence sur l'équilibre thermodynamique du gel. D'autre part, une expérience de stabilité d'une capsule plongée dans une solution infinie de sel à potentiel chimique constant nous a permis de montrer que la force ionique augmente la constante de vitesse de dissociation et permet de dissoudre le

gel. Ainsi, nous avons établi une relation empirique entre l'énergie d'activation de dissociation E_a et la force ionique de la solution dans laquelle le gel est plongé : $E_a \sim -RT \ln I$.

À la lumière des applications potentielles des capsules d'alginate à cœur liquide fabriquées par notre technique, notre travail s'oriente vers l'étude de leurs propriétés physico-chimiques. Dans la partie suivante, nous intéressons à leurs propriétés de perméabilité.

Deuxième partie

Encapsulation par une membrane d'hydrogel et par une double membrane hydrogel + huile

Introduction

Dans les formulations cosmétiques, certains principes actifs sont incompatibles avec la phase continue (réaction, dégradation...). On cherche donc à les isoler de la phase externe en les encapsulant, jusqu'à leur utilisation sur la peau où ils sont libérés par rupture des capsules. Il est également possible d'encapsuler une substance dans le but de la transporter jusqu'à l'endroit où elle sera libérer pour agir. Cette technique est notamment utilisée en médecine et en pharmacie pour le relargage de médicaments. La micro-encapsulation de cellules est un concept développé dans de nombreuses applications telles que la thérapie cellulaire ou la production de protéines et d'anticorps. Plusieurs types de matériaux sont utilisés : des billes d'hydrogel, des capsules à cœur liquide ou avec un cœur gélifié [Rabanel et al., 2009]. L'étude des propriétés de diffusion et de transport dans ces matériaux est essentielle à leur utilisation. La porosité du gel constituant la membrane détermine la capacité d'encapsulation de la capsule et donc son application.

Cette partie traite de la capacité d'encapsulation de solutés hydrophiles dans un matériau de type cœur-coque constitué d'une membrane d'hydrogel d'alginate, fabriqué par le procédé de mise en forme présenté dans la partie 2.2.1.

Dans un premier temps, nous avons voulu savoir s'il était possible d'encapsuler durablement des composés en solutions aqueuse dans une capsule à membrane d'alginate. Pour cela, nous avons étudié la diffusion de différents composés à travers la membrane d'hydrogel, afin de déterminer une taille caractéristique du réseau semi-perméable.

Afin d'éviter la fuite des solutés hydrophiles vers l'extérieur de la capsule, une stratégie consiste à ajouter une barrière hydrophobe dans laquelle les composés sont insolubles. Avec l'équipe Recherche et Développement de Capsum, nous avons développé un nouveau type de capsule à double membrane hydrogel + huile, appelée DuoPearl Inverse (DPi). Il s'agit d'insérer entre le cœur aqueux de la capsule et la membrane d'alginate une couche lipophile qui permet d'empêcher la diffusion des espèces hydrophiles et leur fuite vers l'extérieur du cœur. Dans un second temps, nous nous sommes donc penchés sur l'étude de l'encapsulation dans ces objets à double membrane.

CHAPITRE 4

Diffusion à travers une membrane d'hydrogel

Nous nous intéressons dans cette partie à la diffusion de molécules hydrophiles encapsulées dans une capsule cœur-coque à membrane d'alginate afin d'étudier la perméabilité de la membrane d'hydrogel.

4.1 Description de l'expérience de diffusion dans une capsule d'alginate

Dans ces expériences de diffusion, on cherche à mesurer la cinétique du transport d'une molécule ou d'un polymère à travers la membrane d'alginate d'une capsule. Nous avons donc mis au point une expérience permettant de suivre cette cinétique de fuite de solutés par des mesures de réfractométrie.

4.1.1 Protocole expérimental

Les capsules d'alginate sont fabriquées selon le procédé millifluidique décrit dans la partie 2.2. La solution interne est une solution de glucose ou de Dextran solubilisé dans de l'eau ultrapure à la concentration initiale C_i^0 et la solution externe est une solution aqueuse d'alginate de sodium à 2% en masse contenant du SDS à 10 mM. L'étude s'est portée sur le transport de molécules de différentes masses molaires :

(i) Le glucose (M_w=180 g/mol), ainsi qu'un polysaccharide de Dextran à 20 kDa (Dextran 20).

(ii) Un polymère de Dextran de masse molaire moyenne égale à 2000 kDa (Dextran 2000).

Le ratio des débits R_q entre la solution interne et la solution d'alginate est de 10. On obtient alors une membrane d'alginate d'épaisseur moyenne relative $h/R = 0{,}03$.

Immédiatement après leur formation, 10 capsules sont rincées et plongées dans un 1 mL de la solution de cœur (glucose ou Dextran) à la concentration C_i^0, afin de rééquilibrer les concentrations dans le cœur. En effet, lors des étapes dans le bain de calcium et de rinçage dans l'eau, les solutés ont éventuellement déjà commencé à fuir à travers la membrane d'alginate. Après environ une heure d'équilibration de la concentration, on retire 950 μL de la solution. À $t = 0$, on ajoute 1 mL d'eau ultra-pure. La solution est agitée et on mesure alors la concentration en glucose (respectivement en Dextran) dans le bain extérieur au cours du temps.

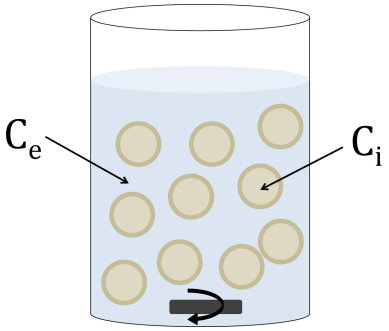


Figure 4.1 – Expérience de fuite sur 10 capsules de glucose ou de dextran encapsulés à la concentration C_i^0. L'évolution de la concentration dans le bain C_e est mesurée au cours du temps à T=23°C.

La réfractométrie a été choisie comme méthode de mesure de la concentration dans le bain extérieur. Cette technique s'avère être simple à mettre en oeuvre. De plus, comme nous le verrons dans la suite, elle donne une mesure assez précise de l'indice de réfraction proportionnel à la masse de soluté en solution.

4.1.2 Mesure de la fuite par réfractométrie

L'évolution temporelle de la concentration du bain extérieur $C_e(t)$ a été mesurée par réfractométrie. Les mesures d'indice de réfraction de la solution sont réalisées avec un réfractomètre (Abbemat WR, Anton Paar) à la longueur d'onde 589,3 nm. La précision de la mesure Δn du réfractomètre est de 4.10^{-5}.

À différents temps, un échantillon de 10 μL de solution extérieure est prélevé afin de faire la mesure d'indice n. L'indice de réfraction d'une solution est proportionnel à la masse de molécules solubilisées. Ainsi, la concentration massique de polymère qui diffuse à travers la membrane au cours du temps peut être déterminée grâce à n. Pour cela, une courbe de calibration $n = f(C)$ a été préalablement réalisée pour le glucose et le Dextran (voir Figure 4.2). Le Dextran étant un polymère du glucose, on obtient une unique droite de calibration d'équation :

$$n = 1.33294 + 0,127C$$

avec C la concentration en g/mL.

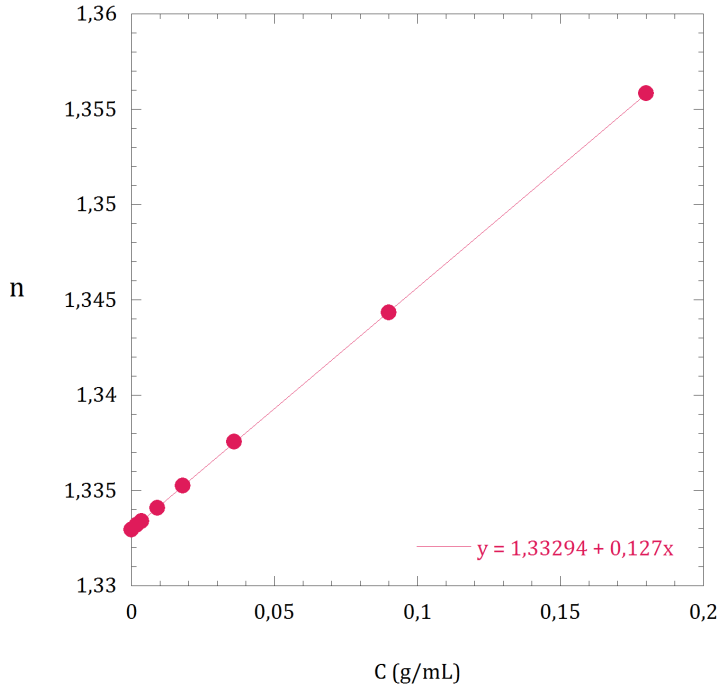


Figure 4.2 – Droite de calibration du glucose et du Dextran donnant l'indice de réfraction n en fonction de la concentration C en g/mL.

La valeur $\frac{dn}{dC} = 0{,}127$ mL/g est similaire à celle trouvée dans la littérature [Nordmeier, 1993]. Cette méthode de mesure par réfractométrie nous permet d'obtenir la concentration dans le bain extérieur avec une précision ΔC de $3{,}15.10^{-4}$ g/mL.

4.1.3 Résultats expérimentaux

Les courbes de cinétiques de transport des trois composés (Glucose, Dextran 20 et Dextran 2000) sont présentées dans la Figure 4.3. Nous pouvons tirer deux renseignements importants de ces courbes :

- La fuite des composés à travers la membrane peut être totale ou partielle : les cinétiques du glucose et du Dextran 20 saturent à 100%, alors que la cinétique du Dextran 2000 sature pour une valeur inférieur à 100%.
- Les cinétiques sont de plus en plus lentes lorsque la masse molaire des composés augmente.

Nous allons donc discuter de ces différentes observations, et notamment de l'influence de la taille des solutés sur leur diffusion à travers la membrane de l'hydrogel.

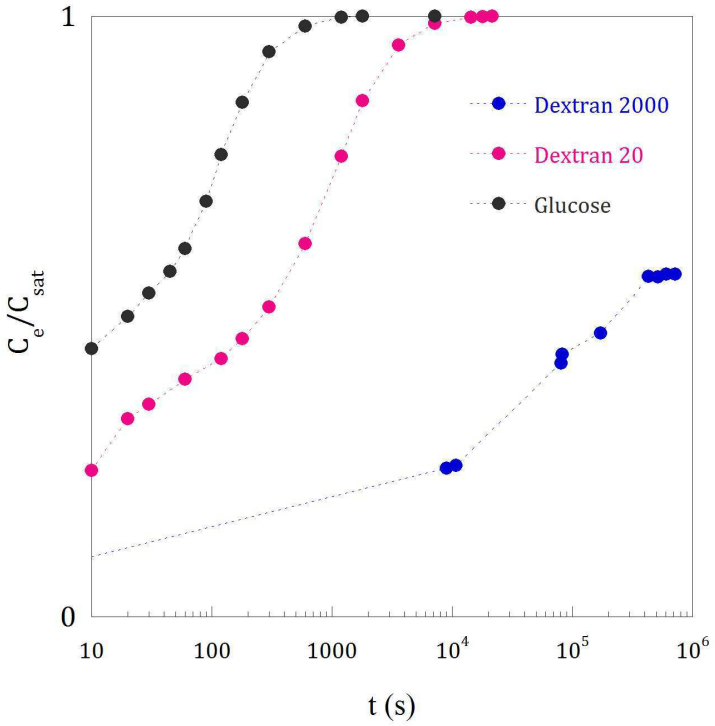


Figure 4.3 – Courbes de la cinétique de fuite du glucose, du Dextran 20 et du Dextran 2000 à travers la membrane d'alginate.

4.2 Diffusion de petites molécules

4.2.1 Modélisation

La diffusion dans les gels a toujours été importante en physico-chimie afin de déterminer la structure des réseaux de polymères. Le relargage contrôlé de médicaments ou actifs utilisés dans la médecine et la pharmacie rendent ces études de transport et de diffusion de plus en plus nécessaires. Il existe de nombreuses techniques de mesure de coefficient de diffusion, telles que la chromatographie, l'analyse de redistribution de fluorescence après photoblanchiment (FRAP), le profil de concentration dans un volume semi-infini en contact avec une phase liquide ou encore le relargage à partir de particules de gels dispersées dans une solution homogène. Une revue de Westrin et al. [1994] présente un panorama et une comparaison des différentes techniques de mesure de la diffusion de solutés dans des gels.

Dans le cas de notre expérience de fuite dans des capsules à membrane d'hydrogel, nous utiliserons un modèle de transport à l'état stationnaire [Crank, 1975]. Ce modèle a été utilisé par Li et al. [1996] pour l'étude de la diffusion dans un cylindre de gel d'alginate de calcium, ce qui leur a permis d'estimer une taille de pore du réseau et des coefficients de diffusion de protéines dans le gel. Le groupe de Westrin and Zacchi [1991] a également réalisé des mesures de coefficients de diffusion dans des billes d'alginate en utilisant ce modèle. Nous utiliserons les mêmes équations dans le cas de capsules à membrane fine d'alginate que pour les billes pleines,

puisque nous considérons que le coefficient de partition $K = \frac{C_{sat}^{gel}}{C_{sat}^{liq}}$ des solutés entre le gel et l'eau est égal à 1.

On considère m capsules d'hydrogel de volume V_i et de rayon R, dispersées dans un milieu homogène de volume V_e. On appelle C_e^0 la concentration initiale en soluté dans le bain extérieur que l'on suppose homogène, et C_i^0 la concentration initiale en soluté à l'intérieur des capsules (Figure 4.1).

Le transport du soluté est régi par l'équation de diffusion en coordonnées sphériques :

$$\frac{\partial C_e}{\partial t} = \frac{1}{r^2}\frac{\partial}{\partial r}\left(Dr^2\frac{\partial C_e}{\partial r}\right) \tag{4.1}$$

La solution analytique de l'équation (4.1) donnant la concentration du bain en fonction du temps $C_e(t)$ est :

$$\frac{C_e(t) - C_b^0}{C_i^0 - C_b^0} = \frac{1 - A(t)}{1 + \alpha} \tag{4.2}$$

où

$$A(t) = \sum_{n=1}^{\infty} \frac{6\alpha(1+\alpha)}{9 + 9\alpha + q_n^2\alpha^2} exp\left(\frac{-Dq_n^2 t}{R^2}\right)$$

avec D le coefficient de diffusion du soluté et α le ratio de solubilité ($\alpha = K\frac{V_{liq}}{V_{gel}}$). La constante de partition $K = \frac{C_{sat}^{gel}}{C_{sat}^{liq}}$ est prise égale à 1. q_n est la $n$ème racine positive de l'équation $\tan q_n = \frac{3q_n}{3 + \alpha q_n^2}$.

L'équation (4.2) peut être utilisée pour calculer un coefficient de diffusion. En traçant $\frac{C_e(t) - C_b^0}{C_i^0 - C_b^0}$ en fonction de $\frac{-Dq_n^2 t}{R^2}$, le paramètre inconnu D peut être déterminé grâce à une régression non linéaire de l'équation (4.2) jusqu'à ce que l'erreur quadratique moyenne entre les données expérimentales et la courbe de lissage soit minimale [Westrin and Zacchi, 1991].

4.2.2 Diffusion libre

Le transport du glucose et du Dextran 20 a été étudié grâce à l'expérience de fuite présentée dans la section 4.1. Des solutions de glucose et de Dextran 20 ont été préparées à la concentration initiale $C_i^0 = 0{,}1$ g/mL, avant d'être encapsulées par une membrane d'alginate selon le procédé de fabrication décrit dans la section 2.2.1.

La Figure 4.4 présente les courbes des cinétiques de diffusion du glucose et du Dextran 20 à travers la membrane d'alginate. La concentration extérieure C_e mesurée par réfractométrie a été normalisée par la concentration de saturation C_{sat} correspondant à la concentration d'équilibre entre le cœur des capsules et la solution extérieure. L'ajustement des points expérimentaux par l'équation (4.2) a été réalisée grâce à un programme *ad hoc* réalisé avec Matlab. L'optimisation des paramètres de l'équation (4.2) permet d'obtenir une courbe d'ajustement qui se superpose de

manière satisfaisante aux points expérimentaux (cf Figure 4.4). On obtient alors une évaluation du coefficient de diffusion du glucose et du Dextran 20 dans la membrane.

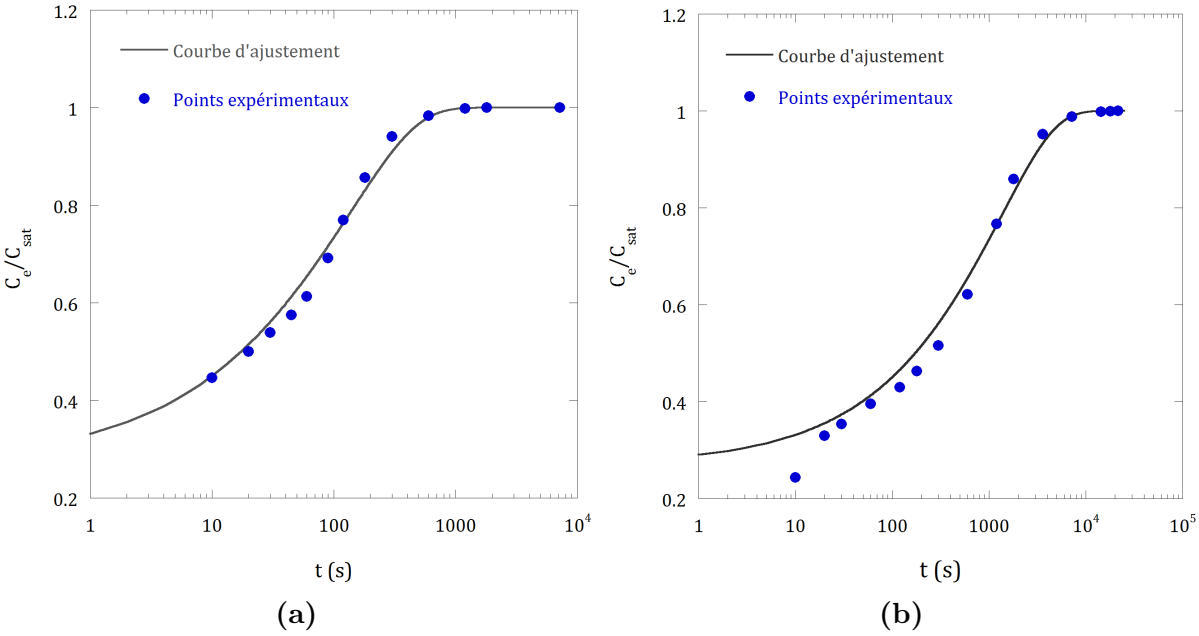
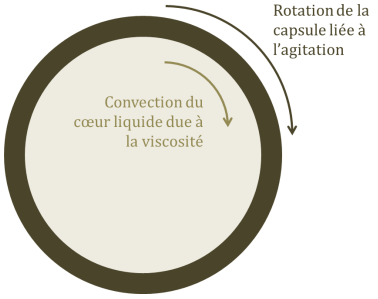


Figure 4.4 – Cinétique de diffusion du glucose **(a)** et du Dextran 20 **(b)** encapsulés à la concentration initiale $C_i^0 = 0{,}1$ g/mL. C_e/C_{sat} est la concentration mesurée dans le bain extérieur, normalisée par la concentration maximale à saturation.

La cinétique de transport du glucose (Figure 4.4(a)) est rapide, puisqu'elle atteint la saturation au bout de 1000 secondes environ. Le coefficient de diffusion du glucose D_{glu} mesuré par cette expérience de transport est de $1{,}5.10^{-9}$ m^2/s. Cette valeur est proche du coefficient de diffusion du glucose dans l'eau de $0{,}67.10^{-9}$ m^2/s donné par la littérature [Hannoun and Stephanopoulos, 1986]. L'équipe de Hannoun and Stephanopoulos [1986] a conduit des expériences de transport à travers des membranes d'alginate de calcium à 2% en masse. Ils ont déterminé un coefficient de diffusion du glucose dans l'hydrogel égal à $0{,}61.10^{-9}$ m^2/s. Tanaka et al. [1984] ont quant à eux étudié la diffusion de substrats dans des billes d'alginate de calcium et ont mesuré un coefficient de diffusion du glucose égal à $0{,}68.10^{-9}$ m^2/s. Ces résultats sont en accord et montrent que la diffusion du glucose dans l'hydrogel d'alginate à 2% en masse est similaire à sa diffusion dans l'eau pure.

Néanmoins, de manière surprenante, le coefficient de diffusion du glucose mesuré dans notre expérience est deux fois plus grand que dans l'eau pure. Cette différence peut s'expliquer par la contribution d'un effet convectif dû à l'agitation des capsules dans le bain extérieur : la membrane étant solide, le mouvement des capsules induit un flux dans le cœur par frottement visqueux de la solution interne. Finalement, la présence d'un cœur liquide implique que la convection n'est pas négligeable. La recircula-



tion influe sur le profil de concentration et met en question la validité du modèle de diffusion dans une bille de gel pour des objets type cœur-coque.

Le Dextran 20 possède une masse molaire environ 100 fois supérieure à celle du glucose (M_{glu} = 180 g/mol). Sa cinétique de diffusion est donc plus lente : l'équilibre est atteint au bout de 10^4 secondes (Figure 4.4(b)). Le coefficient de diffusion du Dextran 20 D_{Dex20} déterminé par l'ajustement de la courbe est égal à $1{,}5.10^{-10}$ m^2/s, c'est-à-dire environ 10 fois plus faible que celui du glucose. Cette valeur est cohérente puisque la taille du Dextran 20 est 10 fois supérieure à celle du glucose. En effet, le rayon hydrodynamique r_H est environ égal à $(M_w)^{0,5}$ (voir l'Annexe A). Cela signifie qu'un rapport de masse molaire égal à 100 correspond à un rapport de rayon égal à 10.

D'autre part, le coefficient de diffusion du Dextran 20 dans l'eau peut être évalué grâce à la relation de Stokes-Einstein [Schärtl, 2007] :

$$D = \frac{k_B T}{6\pi\eta r_H} \tag{4.3}$$

avec T la température en Kelvin, k_B=1,38.10^{-23} J.K^{-1} la constante de Bolztmann, $\eta = 10^{-3}$ Pa.s la viscosité de l'eau et r_H=4 nm le rayon hydrodynamique du Dextran 20 calculé par la formule (A.2). On calcule ainsi un coefficient de diffusion du Dextran dans l'eau à 293 K de $0{,}5.10^{-10}$ m^2/s. Cette valeur est 3 fois inférieure à celle mesurée par l'expérience de fuite à travers la membrane d'hydrogel des capsules. Là encore, les effets convectifs dû à la présence d'un cœur liquide ont pour conséquence une surévaluation de la valeur de D à travers la membrane de gel. Les travaux de Tanaka et al. [1984] sur la diffusion de substrats dans des billes d'alginate ont montré que les coefficients de diffusion de solutés de faible masse molaire ($M_w \simeq 20$ kDa) dans le gel sont similaires à ceux dans l'eau pure, ce qui est accord avec nos expériences.

En conclusion, le transport de petites molécules telles que le glucose ou le Dextran 20 à travers la membrane d'alginate à 2% est similaire à leur diffusion dans l'eau pure. De la même manière que l'éthanol [Hannoun and Stephanopoulos, 1986], le L-tryptophan ou encore l'α-lactoalbumin [Tanaka et al., 1984], le réseau du gel n'influe pas sur leur transport. La porosité du gel est donc largement supérieure à la taille du Dextran 20, donc supérieure à 4 nm. Afin de pouvoir estimer le rayon de coupure du réseau de l'hydrogel, nous devons donc conduire des expériences de diffusion avec des molécules de grande masse molaire.

4.3 Diffusion de grosses molécules : détermination d'un rayon de coupure

On considère maintenant la fuite de polymères de grande masse molaire à travers la membrane. L'expérience de fuite à travers la membrane d'alginate a été réalisée le Dextran à 2000 kDa (Sigma). Ce Dextran 2000 possède une masse molaire très distribuée autour de 2000 kDa. En effet, le fournisseur annonce une masse molaire M_w comprise entre 1500 et 2800 kDa. Des

solutions de Dextran 2000 ont été préparées à différentes concentrations C_i^0 (0,01, 0,025, 0,05 et 0,075 g/mL) avant d'être encapsulées par une membrane d'hydrogel d'alginate.

4.3.1 Fuite partielle

Nous avons observé sur la Figure 4.3 que la diffusion des molécules de Dextran 2000 est beaucoup plus lente que celle du glucose et du Dextran 20, puisque sa masse est en moyenne 100 fois supérieure. De plus, on observe une fuite partielle qui signifie qu'aux temps très longs, les plus grosses molécules sont restées piégées dans le cœur des capsules.

La Figure 4.5 présente les courbes de fuite du Dextran 2000 à travers la membrane des capsules au cours du temps, pour différentes concentrations initiales C_i^0.

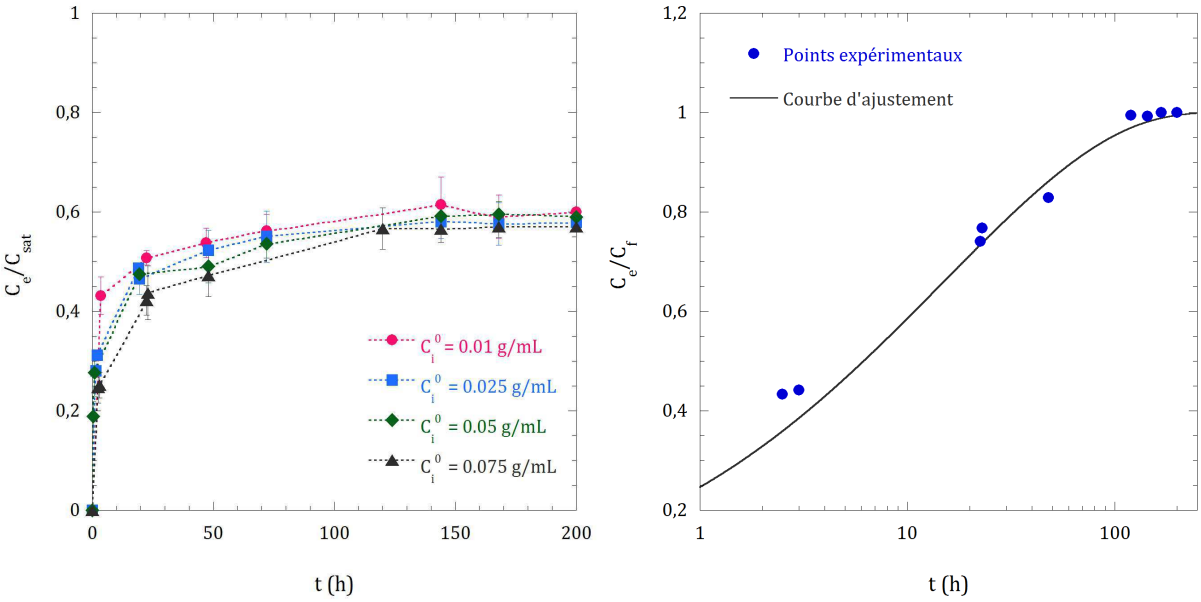


Figure 4.5 – **(a)** Cinétique de fuite du Dextran 2000 à différentes concentrations initiales C_i^0. C_e/C_{sat} est la concentration mesurée dans le bain extérieur, normalisée par la concentration de saturation. **(b)** Cinétique de fuite du Dextran 2000 à la concentration initiale $C_i^0 = 0{,}075$ g/mL. C_e/C_f est la concentration mesurée dans le bain extérieur, normalisée par la concentration finale à l'équilibre. Les points expérimentaux ont été ajustés avec le modèle de diffusion décrit dans la partie 4.2.1.

La concentration dans le bain extérieure C_e a été normalisée par la concentration de saturation C_{sat}, qui correspond à la concentration d'équilibre qui serait obtenue si la fuite était totale. Cette concentration C_{sat} a été mesurée en perçant les 10 capsules à la fin de l'expérience et en mesurant la concentration du bain extérieur par réfractométrie. Le ratio C_e/C_{sat} permet d'estimer le pourcentage de fuite du Dextran 2000 à travers la membrane.

Les courbes de la Figure 4.5(a) montrent que quelle que soit la concentration initiale en Dextran 2000 dans les capsules C_i^0, une saturation est atteinte au bout d'environ 150 heures et correspond à 60% de fuite. La porosité de la membrane a permis de retenir 40% de la masse

totale des polymères de Dextran 2000 à l'intérieur des capsules. Nous avons donc caractérisé la semi-perméabilité de la membrane des capsules. De plus, le temps de diffusion est 50 fois plus long que dans le cas du Dextran 20, où la saturation est atteinte au bout de 3h seulement.

4.3.2 Diffusion gênée

Les points expérimentaux de la fuite du Dextran 2000 à la concentration initiale $C_i^0 =$ 0,075 g/mL ont été ajustés par l'équation (4.2) (voir la Figure 4.5(b)). Le modèle permet de déterminer un coefficient de diffusion égal à $1{,}2.10^{-12}$ m^2/s pour la fraction de polymères qui traversent le gel.

Le Dextran 2000 possède une masse molaire moyenne 10^4 fois supérieure à celle du glucose. Son rayon hydrodynamique est donc environ 100 fois supérieur (puisque $r_H \sim (M_w)^{0,5}$), et on s'attend donc à un coefficient de diffusion 100 fois plus faible que celui du glucose. Cependant, le coefficient que l'on mesure est 1000 fois plus faible que celui du glucose. En fait, la diffusion des polymères de Dextran 2000 n'est pas libre : ils sont ralentis par la présence du réseau de l'hydrogel. En effet, le transport d'un soluté dans la matrice d'un polymère réticulé ne peut avoir lieu que dans le cas où la taille d'un "trou" entre les chaînes de polymère est assez large pour permettre le passage du soluté. Lorsque la taille du soluté est de l'ordre de grandeur de la taille moyenne de la maille du réseau, on parle de diffusion "gênée" et on peut évaluer un coefficient de diffusion dans le gel D_{gel} par un modèle d'encombrement décrit par Amsden [2001] et Zhang et al. [2006].

Finalement, cette expérience donne une mesure du pourcentage massique de polymère de Dextran 2000 qui peut traverser la membrane d'hydrogel et permet d'évaluer un coefficient de diffusion "gênée". Connaissant la distribution en masse du polymère, on peut en déduire la taille à partir de laquelle les polymères sont bloqués par le réseau de l'hydrogel et ne peuvent plus diffuser vers l'extérieur des capsules. Le parallèle entre la distribution de taille du polymère et les courbes de fuite va permettre d'estimer un rayon de coupure des pores de la membrane.

4.3.3 Rayon de coupure

La distribution de taille du Dextran 2000 (1500 kDa $<$ M_w $<$ 2800 kDa) nous permet de disposer d'une solution de polymères compris dans une gamme de taille assez large. Afin de connaître la taille des polymères qui diffusent à travers la membrane d'alginate, une mesure de la distribution du Dextran 2000 a été réalisée par diffusion dynamique de la lumière (DLS) sur un appareil ALV/CGS3 (Malvern Instrument) muni d'un laser de longueur d'onde 632,8 nm et d'un détecteur monté sur une platine goniométrique.

La Figure 4.6 présente la courbe de distribution massique du Dextran 2000 (obtenue par le logiciel ALV Correlator) ainsi que la courbe d'intégration normalisée. L'expérience de fuite a montré que 60% de la masse des polymères de Dextran 2000 diffusent à travers la membrane (Figure 4.5(a)). En intégrant la courbe de distribution, on peut déterminer à quel rayon maximal correspondent ces 60% de polymères. La courbe d'intégration normalisée, en rouge sur la Figure 4.6, atteint la valeur 60% pour un rayon de 18,5 nm.

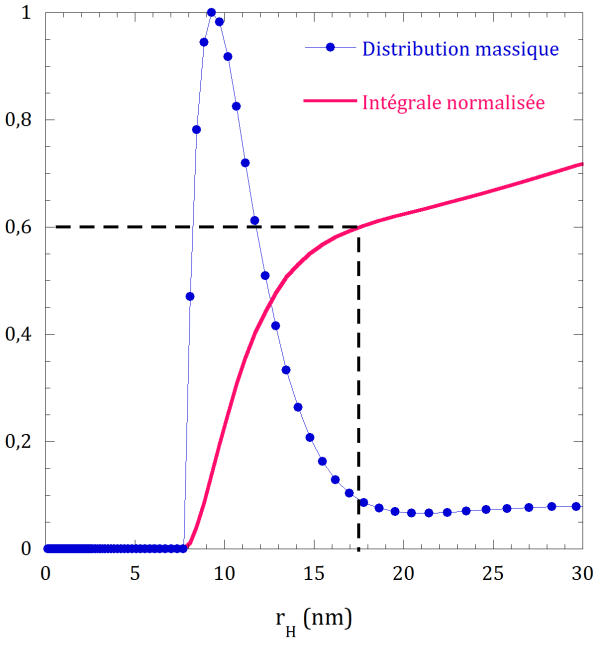


Figure 4.6 – Courbe de distribution en volume du Dextran 2000 mesurée par DLS et intégrale normalisée en fonction du rayon hydrodynamique r_H.

On sait donc que les polymères de rayon inférieur à 18,5 nm ont diffusé à travers l'hydrogel. On peut ainsi estimer un rayon de coupure r_c du gel d'alginate de l'ordre de 20 nm. Cette taille de coupure pour l'hydrogel d'alginate de calcium à 2% est en accord avec les valeurs trouvées dans la littérature. En effet, le groupe de Li et al. [1996] a rapporté un diamètre de pore de 14,7 et 17 nm pour des alginates concentrés à 3% et 1,5% en masse. Klein et al. [1983] ont quant à eux mesuré une taille de pore d'environ 16,6 nm pour de l'alginate à 3%, et Turco et al. [2011] ont déterminé par RMN sur des billes d'alginate à 2% une taille moyenne de pore de 15 nm.

Au vu de ces valeurs, il est raisonnable de considérer une taille de pore de notre hydrogel d'alginate à 2% comprise entre 10 et 20 nm. Cette estimation donne une idée de la taille maximale à partir de laquelle un soluté sera piégé dans le cœur de la capsule.

4.4 Conclusion

Dans ce chapitre sur l'encapsulation de molécules hydrophiles dans une capsule à membrane d'alginate, nous avons caractérisé les propriétés de transport à travers cette membrane ainsi que la taille moyenne des pores du réseau de l'hydrogel.

Nous avons montré que la membrane d'alginate est semi-perméable, avec une taille de pore de l'ordre de 20 nm. Les petites molécules encapsulées dans le cœur aqueux peuvent donc diffuser librement vers l'extérieur de la capsule. Leur diffusion n'est pas altérée par la présence du réseau dont les mailles sont trop larges. La diffusion de molécules de plus en plus grosses est de plus en plus gênée par la présence du gel, jusqu'à ce que les plus gros polymères, dont le rayon hydrodynamique est supérieur à la taille des pores, restent piégés dans le cœur.

Dans ces conditions, les capsules d'alginate peuvent être utilisées comme réservoirs pour la culture cellulaire : les cellules restent piégées et protégées du milieu extérieur. Seuls les nutriments et l'oxygène peuvent diffuser à travers la membrane, les bactéries étant trop grosses par rapport à la taille des pores. Par contre, l'encapsulation durable de petits solutés hydrophiles est impossible, ces derniers pouvant diffuser librement vers l'extérieur du cœur aqueux. Cela présente un avantage si l'on veut récupérer des molécules synthétisées par les cellules. Néanmoins, l'utilisation des capsules d'alginate telles quelles semble compromise pour des formulations cosmétiques dans lesquelles on cherche à piéger durablement des principes actifs hydrophiles du milieu extérieur. Dans cette optique, nous avons cherché à répondre à ce problème : nous avons développé avec Capsum un nouveau type de capsules à double membrane, en insérant une couche hydrophobe entre le cœur aqueux et la membrane d'alginate. L'étude de l'encapsulation de molécules dans ce nouveau type de matériau, appelé DuoPearl Inverse (DPi) est développé dans le chapitre suivant.

CHAPITRE 5

Encapsulation de solutés hydrophiles dans une DuoPearl Inverse

5.1 Introduction

Dans le chapitre précédent, nous avons montré que la membrane est semi-perméable. Elle ne permet pas aux molécules dont la taille est inférieure au rayon de coupure ($\simeq 20$ nm) de rester piégées à l'intérieur de la capsule. Dans une stratégie d'encapsulation de molécules hydrophiles - tels que des principes actifs cosmétiques - que l'on cherche à isoler du milieu extérieur, l'utilisation d'une simple membrane d'hydrogel d'alginate est impossible. Pour résoudre ce problème, nous avons créé avec Capsum un système original d'émulsion double eau/huile/eau macroscopique formée de globule millimétriques encapsulant un composé hydrophile par une couche huileuse. La fabrication de ces matériaux (appelés DPi) a été présentée dans la partie 2.2.2.

Dans cette partie, nous allons étudier et quantifier l'aptitude de ce nouveau matériau à encapsuler durablement des composés hydrophiles. Dans un premier temps, nous présenterons le modèle de transport à travers une membrane dans le cas simple linéaire, et nous introduirons le coefficient de partage K, avant d'appliquer ce modèle au cas des DPi et de présenter les expériences.

5.2 Le modèle de solubilité-diffusion

La propriété principale d'une membrane utilisée dans la séparation de composés est son habilité à contrôler la perméabilité de différentes espèces. Le modèle de solubilité-diffusion permet de décrire ce processus de perméabilité. Il consiste à considérer la dissolution du soluté

dans la membrane, puis sa diffusion contrôlée par un gradient de concentration. L'épaisseur de la membrane ainsi que la solubilité du soluté dans le matériau constituant cette membrane sont les facteurs déterminants pour le transport du composé.

5.2.1 Diffusion à travers une membrane : cas linéaire

La description mathématique de la perméation à travers une membrane, quelle qu'elle soit, repose sur un principe thermodynamique permettant de considérer que la force motrice de la diffusion est le gradient du potentiel chimique. D'autre part, le modèle de solubilité-diffusion suppose que le gradient de potentiel chimique peut être considérer uniquement comme un gradient de concentration [Zwolinski et al., 1949; Wijmans and Baker, 1995].

Plusieurs hypothèses sont nécessaires afin de décrire le transport à travers une membrane. La première consiste à considérer que chaque fluide de part et d'autre de la membrane est en équilibre avec l'interface du matériau constituant cette membrane. Cela revient à dire que le gradient de concentration est continu dans la membrane. Finalement, le flux d'un soluté i à travers la membrane s'écrit simplement en fonction du gradient de concentration :

$$J_i = -D_i \frac{dC_i}{dx} \tag{5.1}$$

Cette expression correspond à la loi de Fick, avec D_i le coefficient de diffusion du soluté i dans le matériau constituant la membrane. Considérons le cas simple d'une diffusion linéaire d'un soluté à travers une membrane d'épaisseur H séparant un milieu aqueux 1 de concentration C_1 d'un milieu aqueux 2 de concentration C_2. Les concentrations C_1 et C_2 sont homogènes et uniformes dans les milieux 1 et 2 (voir Figure 5.1).

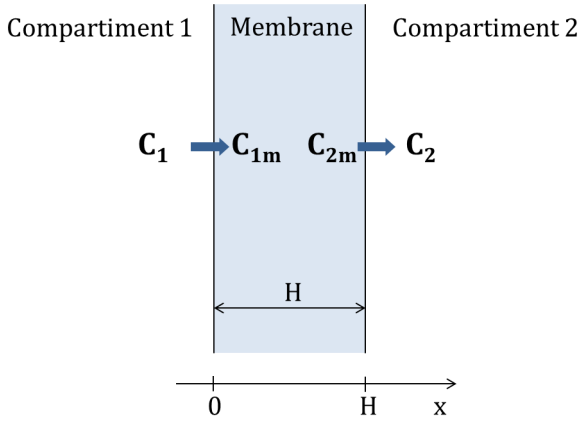


Figure 5.1 – Représentation de la diffusion d'un soluté d'un compartiment 1 à la concentration homogène C_1 vers un compartiment 2 à la concentration homogène C_2 à travers une membrane.

En intégrant l'équation de Fick (5.1) sur l'épaisseur de la membrane pour un profil de concentration linéaire (flux J constant dans la membrane), on obtient l'équation :

$$J = -D\frac{\Delta C}{H} \tag{5.2}$$

avec $\Delta C = C_{2m} - C_{1m}$ la différence de concentration en soluté aux interfaces de la membrane (conditions aux limites : $C(x=0)=C_{1m}$ et $C(x=H)=C_{2m}$) et D le coefficient de diffusion du soluté dans la membrane.

5.2.2 Introduction du coefficient de partage K

Le partage d'une molécule entre une phase aqueuse et une phase hydrophobe conditionne en partie ses propriétés comme que le transport et le passage à travers une membrane.

Depuis les travaux de Leo et al. [1971], le coefficient de partage K d'une molécule dans un système biphasique constitué de deux solvants non miscibles est reconnu pour sa faculté à décrire l'équilibre de cette molécule entre les deux phases, c'est-à-dire sa solubilité. Pour des solutions diluées, ce coefficient de partage est le rapport de la concentration d'une molécule de soluté dans la phase organique sur sa concentration dans l'eau lorsque le système biphasique est en équilibre :

$$K = \frac{C_{organique}}{C_{eau}} \tag{5.3}$$

Le plus souvent dans la littérature, K est donné dans le cas du partage entre l'octanol et l'eau, et il est appelé logP. Le partage est donc une propriété physico-chimique importante qui peut être utilisée pour représenter la nature lipophile ou hydrophile d'une molécule. Une molécule dont le coefficient K est élevé est très lipophile et peut diffuser à travers une membrane huileuse. Inversement, une molécule dont la valeur de K est faible est très hydrophile et passe donc très peu à travers la membrane.

Dans le cas présent (Figure 5.1), le coefficient de partage est défini par l'expression :

$$K = \frac{C_{1m}}{C_1} = \frac{C_{2m}}{C_2} \tag{5.4}$$

avec C_1 et C_2 les concentrations en soluté dans les compartiments 1 et 2 et C_{1m} et C_{2m} les concentrations en soluté dans la membrane à l'interface entre les compartiments 1 et 2.

L'introduction du paramètre K modifie le gradient de concentration à l'intérieur de la membrane. En effet, le moteur de la diffusion n'est pas le gradient initial $C_2 - C_1$, mais la différence de concentration dans la membrane $C_{2m} - C_{1m}$.

En remplaçant les expressions de C_{1m} et C_{2m} dans l'équation (5.2), on obtient l'expression finale du flux :

$$J = -DK\frac{C_2 - C_1}{H} \tag{5.5}$$

Ainsi, on introduit le coefficient de perméabilité P défini par la relation :

$$P = \frac{KD}{H} \tag{5.6}$$

Cette définition de la perméabilité est générale. Elle dépend des caractéristiques physico-chimiques (solubilité et diffusion) du soluté dans la membrane et est inversement proportionnelle à l'épaisseur de cette membrane.

Ainsi, la nature chimique de la membrane et donc la solubilité du composé dans cette dernière à une grande influence sur son gradient de concentration et donc sur son transport. En effet, dans le cas d'un faible coefficient de partage K, par exemple de l'ordre de 10^{-3}, le gradient à prendre en compte est 1000 fois plus faible que la différence de concentration entre les compartiments 1 et 2. Le flux total sera donc également 1000 fois plus faible et le temps de transport d'autant plus long. L'épaisseur de la membrane joue également un rôle important dans le transport du soluté, puisqu'elle définie l'échelle de taille sur laquelle s'établit le gradient et donne le flux (Figure 5.2).

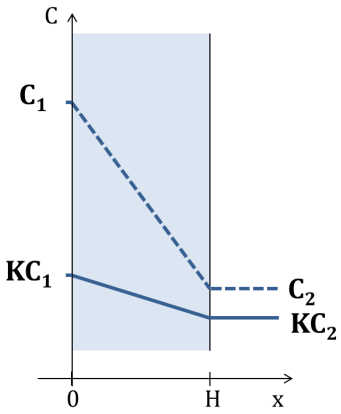


Figure 5.2 – Schéma du profil de la concentration en soluté dans la membrane modifié par le coefficient de partage K.

Dans le cas des DPi, il est possible de jouer sur la valeur de K en jouant sur le choix de composés en fonction de leur solubilité dans l'huile. Par contre, il est plus difficile de jouer sur la valeur de H : la gamme d'épaisseur de la couche huileuse accessible est limitée par le procédé de fabrication des DPi (stabilité du cœur aqueux au centre de la perle).

5.2.3 Diffusion à travers une couche huileuse : cas des DPi

Le cas simple de la diffusion en géométrie plane présenté précédemment a permis de comprendre le concept du transport d'un soluté à travers une membrane et d'introduire les paramètres importants, tels que l'épaisseur de la membrane H, le coefficient de diffusion D et le coefficient de partage K qui définissent le coefficient de perméabilité P. On utilise le même modèle dans une géométrie sphérique pour la perméation à travers les DPi.

Considérons une capsule millimétrique que l'on assimile à une sphère parfaite constituée d'un cœur aqueux de volume V_i contenant un soluté à la concentration C_i séparé du milieu extérieur aqueux par une membrane d'huile d'épaisseur H. On peut comparer cette capsule à un globule d'émulsion double eau/huile/eau macroscopique. On suppose que le cœur aqueux

reste positionné au centre de la capsule. On note r_i le rayon interne du cœur et R le rayon total de la capsule (voir la Figure 5.3). On néglige ici la présence de la membrane fine d'alginate, puisque nous avons montré dans le chapitre précédent qu'elle est totalement perméable aux petites molécules hydrophiles.

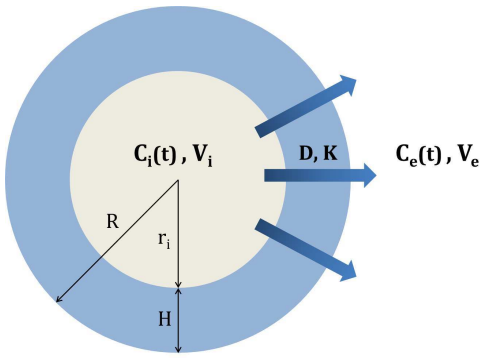


Figure 5.3 – Schéma d'une capsule millimétrique à cœur aqueux contenant un soluté à la concentration C_i et une membrane huileuse d'épaisseur H.

Le soluté hydrophile est initialement à la concentration C_i^0 dans le cœur. Il s'agit ici d'étudier son transport à travers la membrane huileuse. Comme on l'a montré dans le cas de la diffusion linéaire, on peut écrire l'expression du flux à travers la membrane en fonction du coefficient de perméabilité P telle que :

$$J = -P(C_e - C_i) \tag{5.7}$$

On fait l'hypothèse que les concentrations C_e et C_i sont homogènes dans le cœur aqueux et dans le bain extérieur. En effet, il est raisonnable de considérer que la diffusion du soluté dans le cœur aqueux et dans le bain extérieur est très rapide par rapport à sa diffusion dans la couche huileuse. On suppose également l'équilibre du soluté entre les phases aqueuses et huileuses, ce qui permet d'écrire le coefficient de partage tel que :

$$K = \frac{C_{i,m}}{C_i} = \frac{C_{e,m}}{C_e}$$

avec $C_{i,m}$ et $C_{e,m}$ les concentrations dans la membrane à l'interface entre le cœur et le bain extérieur. D'autre part, la conservation de la matière entre l'intérieur et l'extérieur de la goutte permet d'écrire :

$$J = \frac{1}{S}\frac{dn_e}{dt} \tag{5.8}$$

avec n_e la quantité de matière en soluté dans la solution extérieure. On suppose que la surface sur laquelle s'opère le flux est une surface moyenne S dont l'expression est $S = 4\pi R r_i$ (voir Annexe B).

En égalisant les deux expressions du flux (5.7) et (5.8), on obtient une équation différentielle pour $n_e(t)$:

$$\frac{1}{S}\frac{dn_e}{dt} = -P(C_e - C_i) \tag{5.9}$$

Comme $C_e - C_i = \frac{n_e}{V_e} - \frac{n_i}{V_i} = \frac{n_e}{V_e} - \frac{n_i^0 - n_e}{V_i} = (\frac{1}{V_e} + \frac{1}{V_i})n_e(t) - C_i^0$, on obtient finalement l'équation :

$$\frac{dn_e(t)}{dt} = SPC_i^0 - SP(\frac{1}{V_i} + \frac{1}{V_e})n_e(t) \tag{5.10}$$

En considérant la condition initiale telle que $n_e(t=0) = 0$, on obtient l'expression de $n_e(t)$ en fonction n_i^0, V_e, V_i, S et P :

$$n_e(t) = \frac{C_i^0 V_i V_e}{V_i + V_e}\left(1 - e^{-SP(\frac{1}{V_i}+\frac{1}{V_e})t}\right) \tag{5.11}$$

Ainsi, on peut suivre le transport de l'espèce diffusant à travers la membrane huileuse en mesurant l'évolution de sa concentration à l'extérieur de la capsule en fonction du temps :

$$C_e(t) = \frac{C_i^0 V_i}{V_i + V_e}\left(1 - e^{-SP(\frac{1}{V_i}+\frac{1}{V_e})t}\right) \tag{5.12}$$

De cette évolution exponentielle de la concentration en soluté à l'extérieur, on peut déduire un temps caractéristique de diffusion τ ayant pour expression :

$$\tau = \frac{1}{SP}\frac{V_i V_e}{V_e + V_i} \tag{5.13}$$

On fait l'hypothèse que l'épaisseur de la couche huileuse est faible devant le rayon de la capsule : $H << R$ et donc $r_i \simeq R$. Le volume extérieur V_e est très grand devant le volume du cœur aqueux V_i. On peut ainsi en déduire une expression simplifiée du temps caractéristique de diffusion telle que :

$$\tau = \frac{RH}{3KD} \tag{5.14}$$

Finalement, le temps caractéristique de transport d'un soluté hydrophile à travers la membrane permet d'évaluer son temps d'encapsulation dans le cœur hydrophile. Il dépend de deux facteurs :

(i) **Un facteur physico-chimique** : le terme KD tient compte de la solubilité de l'espèce diffusant dans la membrane, ainsi que de son coefficient de diffusion dans la membrane. Ainsi, si le composé est très hydrophile, sa solubilité sera très faible dans une membrane huileuse, donc son coefficient de partage K sera très petit. Le temps τ sera alors très grand et le composé restera piégé pendant un temps très long.

(ii) **Un facteur géométrique** : le terme $\frac{RH}{3}$ est déterminé par la géométrie du système, c'est-à-dire la taille de la capsule R et l'épaisseur de la membrane H. L'efficacité de l'encapsulation dépend donc de la taille de la capsule. La stratégie à adopter pour avoir un

temps d'encapsulation très long (τ très grand) consiste à utiliser des capsules de taille millimétrique.

Prenons comme exemple la situation classique consistant à encapsuler un composé hydrophile (une vitamine par exemple) tel que $K = 10^{-6}$ et $D = 10^{-11}\mathrm{m}^2/\mathrm{s}$ dans un solvant huileux.

- Si le composé est encapsulé dans une capsule micrométrique telle que $R = 2,5\mu\mathrm{m}$ et $H = 0,5\mu\mathrm{m}$, le temps caractéristique de fuite à l'extérieur de la capsule est d'environ 10h.
- Si le composé est encapsulé dans une capsule millimétrique telle que $R = 2,5\mathrm{mm}$ et $H = 0,5\mathrm{mm}$, on obtient un temps caractéristique de diffusion à travers la membrane de plus de 1000 ans ! On obtient donc un piégeage total du soluté hydrophile dans le cœur.

En jouant à la fois sur la géométrie du système (globule millimétrique) ainsi que les caractéristiques physico-chimiques de la membrane, nous montrons qu'il est possible d'encapsuler un composé hydrophile - comme un principe actif cosmétique - dans une phase continue aqueuse, par l'intermédiaire d'une émulsion double eau/huile/eau macroscopique stabilisée par la présence d'une membrane d'hydrogel. Les temps caractéristiques de diffusion obtenus sont tels que l'on peut considérer le principe actif piégé dans le cœur pour une durée largement supérieure à la durée d'utilisation du produit.

Afin de valider ce modèle de solubilité-diffusion, nous allons étudier la fuite de différents solutés modèles ayant des propriétés physicochimiques différentes.

5.3 Étude de la fuite de composés modèles

5.3.1 Matériaux

Nous étudions les propriétés d'encapsulation des DPi dont la fabrication a été présentée dans la partie 2.2.2.

On rappelle que la membrane des capsules est constituée d'une solution d'alginate à 2%wt gélifiée dans un bain de calcium à 5%wt. La membrane huileuse intermédiaire est un mélange de polymère gélifiant et d'un solvant huileux, et son épaisseur H est égale à 0,76 mm. Enfin, le cœur des DPi est constitué d'une solution aqueuse de solutés solubilisés dans de l'eau ultra-pure. L'intérêt de cette expérience est d'étudier la diffusion de solutés de différentes caractéristiques physico-chimiques (M_w, logP) à travers la couche d'huile d'une DPi. Pour cette étude, plusieurs molécules modèles ont été utilisées :

- La Rhodamine B
- Le Dextran-FITC
- La BSA-FITC

Ces molécules ont été choisies car il est nécessaire d'utiliser des solutés colorés ou fluorescents afin de pouvoir mesurer leur fuite par des méthodes optiques. Enfin, nous avons pu comparer la fuite en fonction du caractère plus ou moins hydrophiles des molécules puisque

leurs logP sont différents. Chacun de ces composés a été préalablement solubilisé dans de l'eau ultra-pure à la concentration C_i^0 avant d'être encapsulé dans une DPi. Le Tableau 5.1 présente les différentes caractéristiques physicochimiques des composés étudiés ainsi que leur concentration C_i^0 utilisée pour l'expérience.

Tableau 5.1 – Caractéristiques physico-chimiques et concentrations des composés.

Composés	M_w (g/mol)	logP	C_i^0 (mmol/L)
Rhodamine B	479	1,78 [1]	1
Dextran-FITC	70.10^3	-7,2 [1]	0,1
BSA-FITC	$66{,}5.10^3$	-0,5 [2]	0,01

[1] : http ://www.chemicalize.org/

[2] : http ://pharmacycode.com

Les valeurs de logP correspondent au coefficient de partage octanol/eau et renseignent sur l'hydrophilie des composés : le Dextran et la BSA sont des composés hydrophiles (logP < 0) alors que la Rhodamine B présente un caractère plus lipophile (logP > 0).

5.3.2 Méthodes expérimentales de mesure de la fuite

Le transport des solutés encapsulés dans le cœur aqueux des DPi à travers la couche huileuse a été étudié par un dosage de la phase extérieure. L'expérience consiste à plonger les DPi juste après leur formation dans un bain contenant uniquement de l'eau ultra-pure. La concentration en soluté dans le bain extérieur est alors mesurée en fonction du temps.

a. Flurorescence

La fuite du Dextran-FITC et de la BSA-FITC a été suivie par des mesures de fluorescence (voir la Figure 5.4). À t=0, quatre DPi sont disposées dans une cuve en quartz contenant 2,5 mL d'eau ultra-pure. L'intensité de flurorescence est mesurée dans la cuve à l'aide d'un spectrofluorimètre *SAFAS flx-Xenius*, aux longueurs d'onde de fluorescence de la FITC (λ_{ex}=490 nm et λ_{em}=520 nm). Chaque expérience a été réalisée sur 2 cuves en parallèle, maintenues à température constante et agitées entre les mesures.

b. Absorbance

La fuite de la Rhodamine B a été suivie par des mesures d'absorbance (voir la Figure 5.4). Un spectre d'absorption a été préalablement réalisé pour déterminer la longueur d'onde d'absorption maximale de la Rhodamine : $\lambda_{RB}^{max} = 554$ nm . Une droite de calibration a également été réalisée pour la Rhodamine à la longueur d'onde λ_{RB}^{max} afin de déterminer la loi de Beer-Lambert permettant de déduire la concentration de la solution en fonction de l'absorbance mesurée. Toutes les mesures ont été réalisées à l'aide d'un spectromètre *PerkinElmer Lambda 35 UV/Vis*.

À t=0, deux DPi sont disposées dans une cuve en plastique contenant 1,5 mL d'eau ultra-pure. L'absorbance est mesurée dans la cuve à différents intervalles de temps à la longueur d'onde

λ_{RB}^{max}. L'expérience a été réalisée sur 8 cuves en parallèle, maintenues à température constante et agitées entre les mesures.

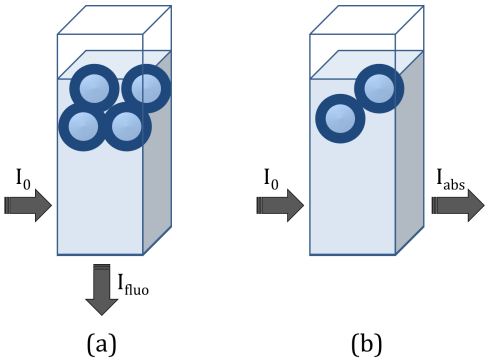


Figure 5.4 – Méthodes de mesure de la fuite des solutés à travers les DPi par fluorescence **(a)** et absorbance **(b)**.

5.3.3 Résultats expérimentaux

a. Encapsulation totale des composés hydrophiles

Sur le graphe présenté dans la Figure 5.5 sont tracées les valeurs des intensités de fluorescence mesurées au cours du temps dans le bain extérieur pour les DPi contenant le Dextran-FITC et la BSA-FITC. Ces intensités ont été normalisées par l'intensité maximale de saturation I_{sat} qui correspond à l'équilibre des concentrations entre le cœur et la solution extérieure. Afin de mesurer I_{sat}, la condition d'équilibre de concentration à la saturation a été volontairement créée en mélangeant un volume de soluté correspondant au volume total des cœurs aqueux des DPi dans le bain extérieur. Ainsi, 4×52 μL de Dextran-FITC à 10^{-4} M (respectivement BSA-FITC à 10^{-5} M) ont été ajoutés dans une cuve contenant 2,5 mL d'eau ultra-pure et l'intensité de fluorescence de cette solution a été mesurée (52 μL correspond au volume interne d'une DPi, voir le Tableau 2.1).

On observe sur la Figure 5.5 que l'intensité de fluorescence dans le bain extérieur est proche de 0, et qu'elle n'évolue pas en fonction du temps, même après 300 heures. On ne mesure donc pas de fuite du Dextran ni de la BSA. Dans le cas d'une capsule simple cœur-coque, ces deux solutés de masse molaire d'environ 70 kDa peuvent diffuser à travers la membrane d'alginate : sur la Figure 5.6, on observe 100% de fuite du Dextran au bout de 100 heures lorsque ce dernier est encapsulé par une membrane d'alginate. En comparaison, aucune fuite n'est observée lorsque le Dextran est encapsulé dans le cœur d'une DPi à membrane double alginate + huile.

Le temps de transport infiniment long du Dextran et de la BSA à travers la couche hydrophobe des DPi s'explique par un coefficient de partage K très faible (composés très hydrophiles).

Finalement, on montre que l'ajout d'une couche intermédiaire hydrophobe entre le cœur aqueux et la membrane d'alginate a permis de piéger de manière durable des composés de petites tailles et hydrophiles.

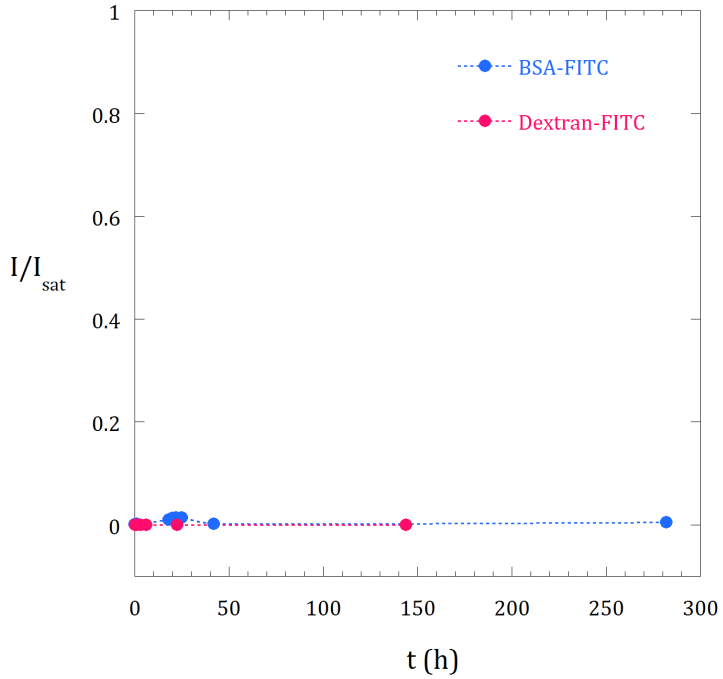


Figure 5.5 – Variation de l'intensité de fluorescence normalisée du Dextran-FITC et de la BSA-FITC dans le bain extérieur, au cours du temps.

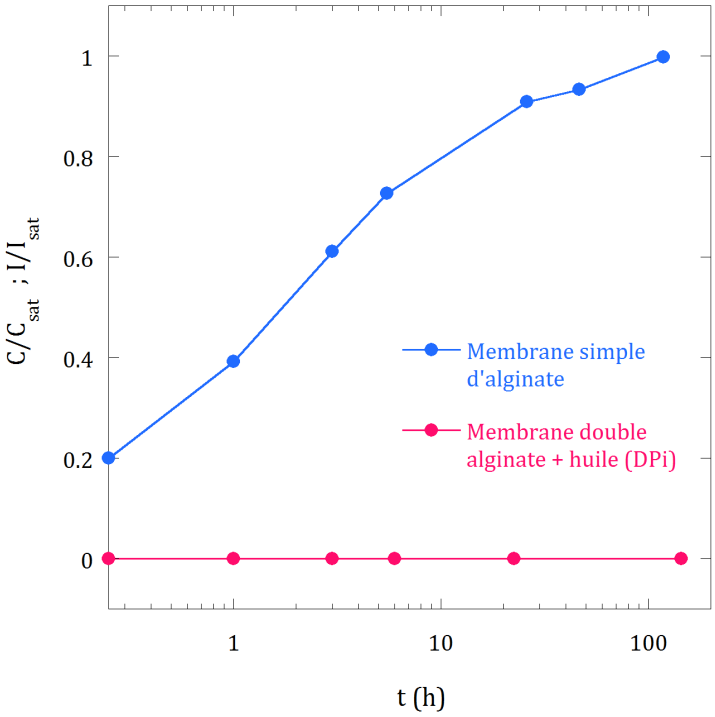


Figure 5.6 – Comparaison de la fuite du Dextran 70 encapsulé par une membrane d'alginate mesurée par réfractométrie, ou par une membrane double d'alginate + huile mesurée par fluorescence.

b. Fuite de la Rhodamine B

Le transport de la Rhodamine B à travers la couche huileuse des DPi a été suivi à différentes températures. Les courbes de fuite sont présentées dans la Figure 5.7. La concentration en Rhodamine B dans le bain extérieur a été déterminée à partir de l'absorbance de la solution grâce à la courbe de calibration $A = f(C)$ préalablement effectuée.

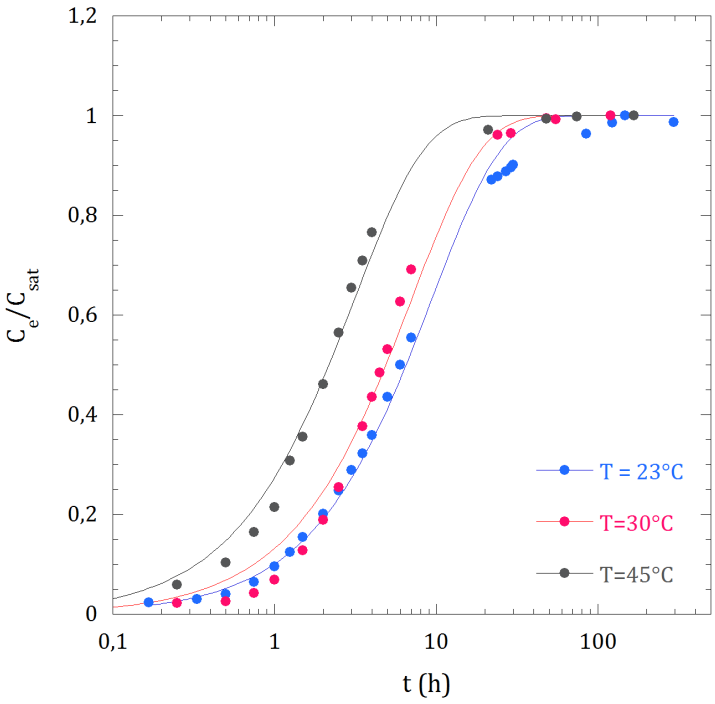


Figure 5.7 – Variation de la concentration normalisée en Rhodamine B dans le bain extérieur au cours du temps. Expérience réalisée à 3 températures.

Chaque point correspond à la concentration moyennée sur les huit essais réalisés en parallèle. Ces valeurs de concentration ont été normalisées par C_{sat}, qui correspond à la concentration d'équilibre entre le cœur des DPi et le bain extérieur :

$$C_{sat} = \frac{C_i^0 V_i}{V_i + V_e} \tag{5.15}$$

avec V_i le volume total interne des deux DPi ($V_i = 2 \times V_i^{DPi}$).

On observe sur ces trois courbes que la Rhodamine B diffuse à travers la couche huileuse des DPi et que l'équilibre est atteint aux alentours de 100 heures. Le modèle de solubilité-diffusion développé dans le paragraphe 5.2.3 a été utilisé pour décrire ces courbes de fuites. Dans la Figure 5.7, les points expérimentaux ont été ajustés par l'équation (5.12) normalisée par C_{sat} :

$$\frac{C_e(t)}{C_{sat}} = 1 - e^{-SP(\frac{1}{V_i}+\frac{1}{V_e})t} = 1 - e^{-\frac{t}{\tau}} \tag{5.16}$$

Perméabilité et temps caractéristique : L'équation d'ajustement (5.16) permet d'obtenir une valeur du temps caractéristique de transport τ dont l'expression est donnée par l'équation (5.13), et donc de déduire un coefficient de perméabilité P de la Rhodamine B. Le Tableau 5.2 donne les valeurs du temps caractéristique de transport τ et de la perméabilité P pour les trois températures.

Tableau 5.2 – Valeurs des paramètres τ et P de l'équation d'ajustement des courbes de diffusion de la Rhodamine B à travers la membrane huileuse des DPi.

T (°C)	τ (h)	P (m/s)
23	9,4	$1{,}07.10^{-7}$
30	7	$1{,}42.10^{-7}$
45	3,2	$3{,}11.10^{-7}$

Mesure du coefficient de partage K : Le coefficient de partage K de la Rhodamine B entre l'eau et la couche hydrophobe des DPi a été mesuré. Une solution aqueuse de concentration connue égale à 10^{-5} mol/L en Rhodamine B est mélangée avec une masse connue du mélange hydrophobe dans un tube à centrifuger. Le tube est placé sous agitation à 45°C pendant 48 heures. Après centrifugation, la phase aqueuse est extraite et son absorbance est mesurée à 554 nm. On mesure ainsi la concentration en Rhodamine B dans la phase aqueuse après séparation entre l'eau et l'huile. On peut donc en déduire le coefficient de partage K :

$$K = \frac{C_{huile}}{C_{eau}} \tag{5.17}$$

avec C_{eau} la concentration finale en Rhodamine B dans la phase aqueuse mesurée par absorbance et C_{huile} la concentration en Rhodamine B dans la phase huileuse. C_{huile} est calculée par différence entre les concentrations finale et initiale dans l'eau :

$$C_{huile} = \frac{m_{RB}^{huile}}{M_{RB} V_{huile}} = \frac{m_{RB}^{eau,i} - m_{RB}^{eau,f}}{M_{RB} \frac{m_{huile}}{\rho_{huile}}} \tag{5.18}$$

avec m_{RB}^{huile} la masse en Rhodamine dans l'huile, $m_{RB}^{eau,i}$ (respectivement, $m_{RB}^{eau,f}$) la masse en Rhodamine dans l'eau à l'état initial (respectivement, à l'état final), V_{huile} et m_{huile} le volume et la masse d'huile siliconée. M_{RB} est la masse molaire de la Rhodamine B. La masse volumique ρ_{huile} a été préalablement mesurée et vaut 0,86 g/mL. Cette expérience nous a permis d'évaluer un coefficient de partage de la Rhodamine B dans l'huile siliconée :

$$K = 1,05$$

Déduction du coefficient de diffusion D : La perméabilité P (déterminée par le modèle de diffusion) et le coefficient de partage K (mesuré expérimentalement) permettent de déduire une estimation du coefficient de diffusion D de la Rhodamine B dans l'huile siliconée en fonction

de la température. En effet, on rappelle l'expression reliant P, K et D :

$$D = \frac{HP}{K}$$

avec H l'épaisseur de la couche d'huile (H = 0,79 mm).

En considérant que la valeur de K reste égale quelque soit la température, on en déduit la valeur du coefficient de diffusion D. Ces valeurs sont réunies dans le Tableau 5.3. D augmente lorsque la température augmente ce qui signifie que la diffusion est thermiquement activée.

Tableau 5.3 – Coefficients de partage, perméabilité et coefficient de diffusion de la Rhodamine B dans la membrane d'huile siliconée pour trois températures.

T (°C)	K	P (m/s)	D (m^2/s)
23	1,05	$1{,}07.10^{-7}$	$7{,}6.10^{-11}$
30	1,05	$1{,}42.10^{-7}$	$1{,}03.10^{-10}$
45	1,05	$3{,}11.10^{-7}$	$2{,}25.10^{-10}$

Dans la littérature, on trouve un coefficient de diffusion de la Rhodamine B dans l'eau de $3{,}6.10^{-10}$ m^2/s à 21.5°C [Rani et al., 2005]. Notre expérience donne un coefficient de diffusion dans la couche huileuse 10 fois plus faible dans l'eau à température ambiante. Pourtant, si on mesure les viscosités de l'eau et de la couche huileuse, on obtient un facteur 1000 entre les deux : la viscosité de l'huile est d'environ 130 Pa.s alors que celle de l'eau est de 1 mPa.s. D'après Stokes-Einstein, on s'attendrait donc à retrouver un facteur 1000 entre les coefficients de diffusion. En réalité, la viscosité macroscopique de la couche huileuse est due à la présence du polymère gélifiant qui a été mélangé dans un solvant huileux de viscosité égale à 6 mPa.s. En considérant uniquement la viscosité de la phase continue huileuse (environ 10 fois plus visqueuse que l'eau), on retrouve le facteur 10 entre les coefficients de diffusion. On en conclut que le réseau de polymère gélifiant n'a pas d'influence sur la diffusion de la Rhodamine B dans l'huile.

Finalement, cette expérience de transport à travers la membrane hydrophobe d'une capsule millimétrique a permis de mettre en évidence un coefficient de diffusion macroscopique D qui correspondant à la diffusion de solutés à travers une membrane d'épaisseur H pendant un temps caractéristique τ (équation (5.14)). Le coefficient de partage K, directement lié à la solubilité de l'espèce dans la couche huileuse, influe également sur le temps de transport. La diffusion macroscopique est donc déterminée par deux facteurs géométrique et physico-chimique.

D'autre part, nous nous sommes posés la question de savoir si un différentiel de pression osmotique entre le cœur et la solution extérieur pouvait entraîner une diffusion de l'eau à travers la couche hydrophobe des DPi.

5.4 Transport de l'eau dans la couche hydrophobe

Le transport des molécules d'eau à travers la couche d'huile siliconée des DPi a été étudié par une expérience d'osmose. Elle a été également été modélisée par un modèle de solubilité-diffusion.

5.4.1 Diminution du volume du cœur aqueux par osmose

La diffusion de l'eau à travers la couche huileuse d'une DPi est observée par une expérience d'osmose. La DPi est placée dans des conditions telles que la différence de pression osmotique entre le cœur de la capsule et le milieu extérieur soit très grande. L'eau va alors diffuser afin d'équilibrer les concentrations de part et d'autre de la membrane. Une DPi est fabriquée selon le même procédé que précédemment, mais le cœur aqueux est constitué uniquement d'eau ultra-pure.

Immédiatement après sa fabrication, la capsule est plongée dans une cuve en verre contenant une solution de sel concentré ($CaCl_2$ à 20% ou 1% en masse). Comme la capsule flotte ($\rho_{DPi} < \rho eau$), une aiguille à embout droit permet de la maintenir totalement immergée dans le bain. La cuve est ensuite déposée sur un support stable, aligné avec une caméra et une source de lumière (voir la Figure 5.8(a)). La capsule est ainsi filmée pendant plusieurs jours, à raison d'une image enregistrée toutes les 5 minutes. La différence d'indice de réfraction entre l'eau et l'huile siliconée permet un fort contraste et il est facile de distinguer le cœur aqueux et la couche huileuse sur les images enregistrées (voir la Figure 5.8(b)). Un traitement d'image permet de tracer l'évolution du volume du cœur aqueux au cours du temps.

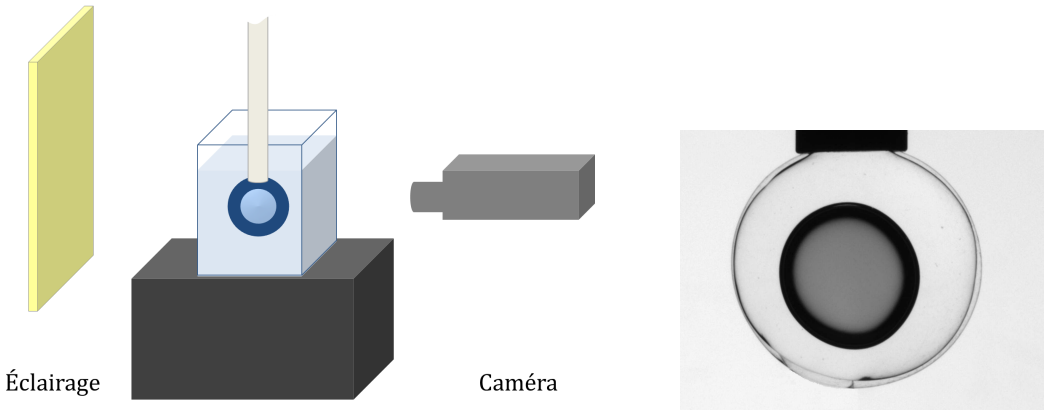


Figure 5.8 – **(a)** Schéma de l'expérience de fuite de l'eau à travers la membrane d'une DPi. **(b)** Image d'une DPi contenant de l'eau et maintenue immergée dans un bain de $CaCl_2$ par une aiguille non biseautée. On distingue le cœur aqueux en noir, entouré par la couche d'huile siliconée, ainsi que la membrane fine d'alginate perméable. On remarque que la DPi n'est pas parfaitement sphérique et le cœur n'est pas parfaitement centré.

5.4.2 Modélisation

Le modèle de solubilité-diffusion décrit dans la section 5.2.3 est utilisé également dans le transport de l'eau. On considère que la concentration extérieure en sel C_e est homogène. Le potentiel chimique μ_i dans le cœur aqueux est constant et égal à μ^0. Le potentiel chimique dans le bain extérieur μ_e dépend de la concentration en sel et vaut : $\mu_e = \mu^0 + RT \ln C_e$.

On peut donc écrire la différence de potentiel chimique entre l'extérieur et l'intérieur :

$$\Delta\mu = \mu_e - \mu_i = RT \ln C_e$$

D'après la loi de Fick, on peut écrire le flux à travers la couche d'huile en fonction de la différence entre les potentiels chimiques et le coefficient de partage de l'eau dans l'huile siliconée K :

$$J = -LK\frac{\Delta\mu}{H} = \frac{LK}{H}RT \ln C_e \tag{5.19}$$

avec L un coefficient de proportionnalité entre le flux et le potentiel chimique.

D'autre part, la conservation de la matière entre l'intérieur et l'extérieur de la goutte permet d'écrire :

$$J = -\frac{1}{S}\frac{1}{v_m}\frac{dV_i}{dt} \tag{5.20}$$

avec $S = 4\pi R r_i$ la surface moyenne de diffusion et v_m le volume molaire de l'eau égal à 18 mL/mole.

On égalise ces deux expressions du flux et on obtient une équation différentielle pour $V_i(t)$:

$$\frac{dV_i}{dt} = -\frac{LK}{H}Sv_m RT \ln C_e \tag{5.21}$$

On introduit D le coefficient de diffusion de l'eau dans l'huile : $D = LRT$. En considérant des conditions initiales telles que $V_i(t = 0) = V_i^0$, on obtient l'expression de $V_i(t)$ en fonction V_i^0, v_m, C_e, S, H et D :

$$V_i(t) = V_i^0 - \frac{KD}{H}Sv_m \ln C_e \times t \tag{5.22}$$

En normalisant par V_i^0, on obtient l'équation suivante :

$$\frac{V_i(t)}{V_i^0} = 1 - \frac{KD}{H}\frac{Sv_m}{V_i^0} lnC_e \times t \tag{5.23}$$

Le modèle de solubilité-diffusion donne une variation du volume V_i linéaire en fonction du temps.

5.4.3 Résultats de l'expérience

L'expérience de transport de l'eau dans à travers la membrane huileuse a été réalisée pour deux concentrations différentes en sel dans le bain extérieur. La Figure 5.9 présente la variation

du volume V_i du cœur aqueux d'une DPi au cours du temps normalisé par le volume initial V_i^0.

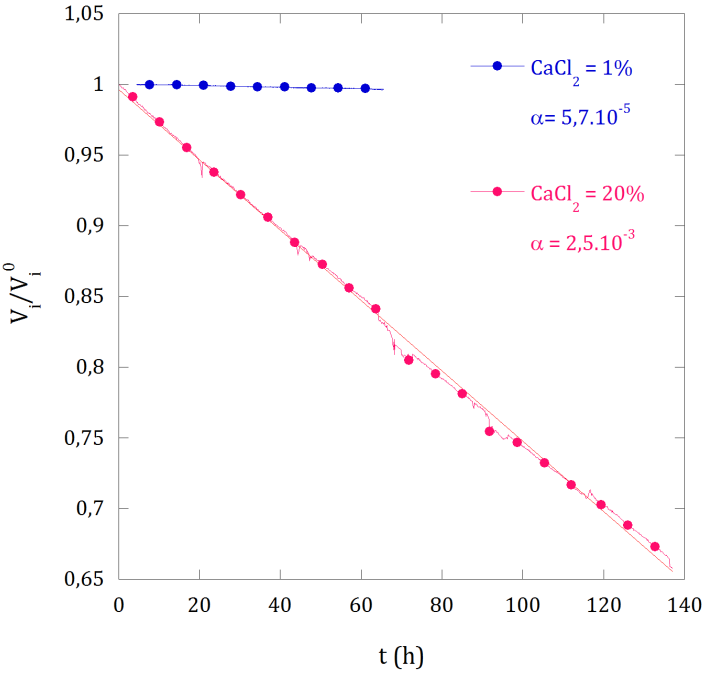


Figure 5.9 – Diminution linéaire du volume du cœur de la DPi au cours du temps pour deux concentrations en sel dans le bain extérieur. Les points expérimentaux ont été ajustés par une loi de type $y = 1 - \alpha x$.

Les points expérimentaux ont été ajustés par l'équation (5.23). On remarque que la modélisation est en accord avec les courbes expérimentales. Néanmoins, alors que le rapport entre les pentes $\frac{\alpha_1}{\alpha_2}$ devrait être égal au rapport entre les concentrations $\frac{\ln C_{e1}}{\ln C_{e2}}$, le calcul donne un facteur égal à 2. Cette erreur est probablement due au coefficient K que l'on considère égal quel que soit la concentration en sel. Hors il est fort probable que la force ionique joue sur la solubilité de l'eau dans la membrane à l'interface avec la solution extérieure.

La pente α de chaque droite donne accès à un temps caractéristique τ_{eau} qui dépend de la concentration en sel C_e et du coefficient de diffusion D de l'eau dans la phase huileuse :

$$\tau_{eau} = \frac{V_i^0 H}{SKDv_m lnC_e} \tag{5.24}$$

Ce temps caractéristique permet d'estimer le temps au bout duquel le cœur de la capsule sera complètement vidé, soit $V_i(\tau_{eau}) = 0$. Plus la solubilité de l'eau dans l'huile siliconée est faible, plus le temps de diffusion sera grand. Le Tableau 5.4 donne les valeurs du temps caractéristique τ_{eau} pour les deux concentrations C_e testées dans l'expérience.

Malheureusement, pour des raisons expérimentales, il n'a pas été possible de mesurer le coefficient de partage K de l'eau dans le mélange hydrophobe. On ne peut donc pas en déduire un coefficient de diffusion de l'eau dans l'huile. On peut néanmoins conclure sur les temps caractéristiques de transport obtenus. En effet, on constate que le phénomène de diffusion est relativement lent, notamment dans le cas où la différence de concentration entre les deux

réservoirs est faible. Pour ΔC de 0,2 g/mL, le temps caractéristique est de 400 heures, c'est-à-dire environ 16 jours. Par contre pour ΔC d'environ 0,01 g/mL, le temps caractéristique est de 17500 heures, soit environ 2 ans !

Tableau 5.4 – Temps caractéristique en fonction de la concentration du bain extérieur.

C_e **(mol/L)**	τ **(h)**
0,09	17500
2	400

Dans des conditions d'utilisation "classiques", telle qu'une formulation cosmétique par exemple, la différence de pression osmotique entre l'intérieur et l'extérieur des capsules est relativement faible. À l'échelle de temps d'une expérience en laboratoire, ou même d'une utilisation en cosmétique, on peut considérer que l'eau ne diffusera pas à travers la couche huileuse des DPi et que le volume du cœur restera constant.

5.5 Conclusion

Dans ce chapitre, nous avons étudié la diffusion de molécules plus ou moins hydrophiles à travers la couche d'huile siliconée des capsules DPi. Ce nouveau matériau nous permet d'encapsuler de manière durable des solutés hydrohpiles dans le cœur aqueux. En effet, nous avons montré que le transport d'une molécule à travers la couche hydrophobe était limité par la solubilité de cette molécule dans l'huile ainsi que par l'épaisseur de la couche huileuse. Les contraintes liées à la fabrication des capsules ne nous permettent pas de jouer de manière significative sur l'épaisseur h de la couche hydrophobe : les capsules sont donc millimétriques (2 mm de rayon total) et l'épaisseur de la membrane d'alginate h est de l'ordre de 1 mm.

Par contre, dans le cas d'une molécule plus lipophile comme la Rhodamine B, le transport à travers la couche hydrophobe est possible et nous avons déterminé un temps caractéristique de diffusion d'environ 10 heures à 23°C. Nous avons également montré que le transfert de l'eau dans la couche huileuse était possible, mais très lent lorsque l'écart de concentration entre le cœur interne de la DPi et la solution externe est très faible.

L'utilisation de ces capsules à double membrane hydrogel + huile est donc parfaitement appropriée pour les applications cosmétiques pour l'encapsulation durable de principes actifs hydrophiles que l'on cherche à isoler de la formulation extérieure.

Conclusion sur l'encapsulation

Dans cette deuxième partie, nous nous sommes penchés sur les problématiques de transport à travers la membrane d'hydrogel de nos capsules.

Dans un premier temps, nous avons étudié la diffusion de molécules à travers une membrane d'hydrogel d'alginate. Le réseau de l'hydrogel est très lâche, et nous avons montré que les petites molécules diffusent librement à travers la membrane. En effet, les coefficients de diffusion estimés par nos expériences pour le glucose et le Dextran 20 sont similaire à leurs coefficient de diffusion dans l'eau pure. La surestimation des valeurs obtenues s'explique par les effets convectifs non négligeables dans le cœur liquide des capsules. On démontre que le transport de ces composés n'est pas altéré par la présence de l'hydrogel et qu'il ne peuvent pas rester piégés par la membrane. Nous nous sommes ensuite intéressés au transport d'un polymère de grande masse molaire et distribué en taille, et nous avons estimer un rayon de coupure de la membrane. Nous avons montré qu'une fraction des polymères diffusent à l'extérieur des capsules, mais que les plus gros restent piégés dans le cœur. Cette expérience nous a permis d'en déduire un rayon de coupure des pores de la membrane d'environ 20 nm. Nous avons également mis en évidence que le réseau de l'hydrogel influe sur la cinétique de transport des polymères dont la taille est de l'ordre de grandeur de la maille du réseau, et nous avons déterminé un coefficient de diffusion "gênée" du Dextran 2000 dans le gel. La membrane semi-perméable des capsules d'alginate permet notamment d'utiliser ces objets comme réservoir de culture cellulaire à trois dimensions, puisqu'elles permettent d'encapsuler et de protéger des cellules (dont la taille est supérieure à celle des pores de la membrane) tout en laissant diffuser librement les nutriments nécessaires à leur viabilité (glucose, oxygène etc...) ou éventuellement des molécules d'intérêt (enzymes, protéines...) synthétisées par les cellules.

Cependant elle ne permet pas de piéger à long terme des composés hydrophiles de petite taille, tels que des actifs cosmétiques. Pour répondre à ce challenge, nous avons mis au point un nouveau procédé d'encapsulation. Il s'agit d'ajouter entre le cœur aqueux et la membrane d'alginate une couche lipophile. Nous avons mené une étude sur le transport de composés à travers la couche hydrophobe des DPi, et nous avons démontré que les solutés hydrophiles

restent piégés dans le cœur pendant un temps très grand devant le temps d'utilisation des matériaux. Un modèle de transport dans la membrane d'huile nous a permis d'exprimer le temps caractéristique de fuite des composés en fonction de paramètres géométrique et physicochimique : la taille des capsules ainsi que la solubilité des composés dans l'huile siliconée sont les deux facteurs qui le déterminent. Ainsi, certains principes actifs cosmétiques très hydrophiles auront un temps caractéristique de fuite infiniment grand par rapport à l'échelle de temps d'utilisation des capsules et resteront protégés de la phase extérieure jusqu'à leur libération par rupture des capsules lors de l'utilisation.

Dans la partie suivante nous nous intéressons aux comportements mécaniques des capsules à membrane fine d'alginate soumises à ces contraintes osmotique et de compression.

ANNEXE A

Rayon hydrodynamique du Dextran

Dans une étude sur les effets de la taille moléculaire, la forme et la charge du Dextran et du Ficoll comme sonde pour tester la perméation du glomérul rénal Venturoli and Rippe [2005], rappellent les relations entre la masse molaire et le rayon hydrodynamique du Dextran.

Dans le cas d'un solution de Dextran monodisperse, le rayon de Stokes des macromolécules peut être calculé par la formule suivante :

$$r_H = 0,488 \times (M_w)^{0,437} \tag{A.1}$$

Dans le cas d'une solution polydisperse de Dextran, la relation est légèrement différente :

$$r_H = 0,33 \times (M_w)^{0,463} \tag{A.2}$$

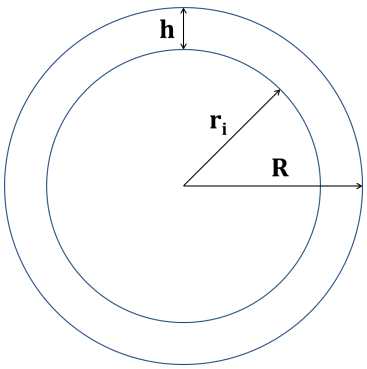
avec r_H en Å et M_w en Da.

Les solutions de polymères de Dextran utilisées dans ce travail de thèse sont polydisperses et le rayon hydrodynamique des macromolécules a donc été estimé à partir de l'équation (A.2).

ANNEXE B

Surface de diffusion

On considère une capsule sphérique de rayon interne r_i et de rayon externe R. Il s'agit ici d'étudier le flux de matière à travers la membrane d'épaisseur $h = R - r_i$.



On suppose la concentration interne C_i homogène et la concentration extérieure C_e constante :

$$C_i(r,t) = C_i(t) \tag{B.1a}$$

$$C_e = cte = C_\infty \tag{B.1b}$$

Le flux total dans la membrane est constant et s'écrit :

$$J_T = 4\pi r^2 D \frac{dC}{dr} = cte \tag{B.2}$$

avec D le coefficient de diffusion.

En intégrant l'équation (B.2), on obtient le profil de concentration dans la membrane :

$$C(r) = \alpha + \frac{\beta}{r} \tag{B.3}$$

$$\text{avec } \begin{cases} C(r = r_i) = C_i(t) \\ C(r = R) = C_\infty \end{cases} \qquad \text{on obtient :} \qquad \beta(\frac{1}{r_i} - \frac{1}{R}) = C_\infty - C_i(t)$$

On écrit maintenant la conservation de la matière :

$$\frac{dn_i}{dt} = 4\pi r_i^2 D \frac{dC}{dr} = 4\pi D\beta \tag{B.4}$$

soit

$$\frac{dn_i}{dt} = 4\pi D \frac{Rr_i}{R - r_i}(C_\infty - C_i(t)) = \frac{4\pi Rr_i}{h} D(C_\infty - C_i(t)) \tag{B.5}$$

On retrouve donc bien l'expression :

$$\frac{dn_i}{dt} = SD\frac{C_\infty - C_i(t)}{h} \tag{B.6}$$

avec S la surface moyenne de diffusion :

$$S = 4\pi Rr_i$$

Troisième partie

Comportements mécaniques d'une membrane fine d'alginate

Introduction

Nous avons présenté dans la partie précédente les propriétés de porosité des capsules à membrane fine d'alginate. Nous cherchons dans cette partie à caractériser leurs comportements mécaniques.

Il existe de nombreuses techniques conventionnelles qui permettent d'étudier les propriétés mécaniques du gel d'alginate. Elles renseignent sur l'élasticité ou la plasticité du matériau, et permettent également de mesurer un module d'Young ou encore d'évaluer son seuil de plasticité et de rupture.

Néanmoins, l'objectif de notre étude est de caractériser les comportements mécaniques d'une structure cœur-coque originale constituée d'une membrane fine d'hydrogel d'alginate, lorsqu'elle est soumise à différents types de contraintes.

Nous avons pour cela développé deux expériences : dans la première, nous étudions le comportement d'une capsule millimétrique seule soumise à une contrainte isotrope qui résulte d'une différence de pression osmotique. Une capsule se comporte comme un sac de dialyse : la membrane semi-perméable peut encapsuler un polymère de grande taille et laisse diffuser librement l'eau pure. La différence de pression osmotique entre le cœur et l'eau extérieure entraîne un gonflement et un étirement de la membrane d'hydrogel. Dans la deuxième expérience, nous nous focalisons sur le comportement mécanique d'une collection de capsules sub-millimétriques soumise à une contrainte de compression : cette expérience est inspirée des expériences d'élasticité d'émulsions concentrées [Princen, 1986; Princen and Kiss, 1987; Mason et al., 1995, 1997].

CHAPITRE 6

Introduction à la mécanique des hydrogels

Par nature, les hydrogels sont des réseaux à trois dimensions de polymères hydrophiles. Ce sont des solides mous gonflés d'eau. Les propriétés mécaniques spécifiques des hydrogels sont très importantes au regard de leurs applications potentielles. Cependant, ces propriétés dépendent d'un grand nombre de paramètres, tels que le type de monomère, les conditions de polymérisation, la densité de réticulation ou encore le milieu dans lequel le gel est gonflé [Anseth et al., 1996].

Après avoir rappelé les notions fondamentales de la mécanique des matériaux, nous nous focaliserons sur les comportements mécaniques des gels d'alginate et sur quelques méthodes de mesure de ces propriétés. Nous introduirons ensuite les différents concepts spécifiques à l'étude du comportement mécanique d'une structure cœur-coque soumise à différents types de contraintes.

6.1 Quelques notions de mécanique des matériaux

Lorsqu'un solide est soumis à une faible contrainte, la déformation qu'il subit est réversible : elle disparait lorsque la contrainte est relâchée. On parle alors de déformation élastique. On peut lui associer un *module élastique*, qui traduit la résistance du matériau à une petite déformation (généralement inférieure à 10^{-3}). Parmi les matériaux solides, il faut distinguer les solides *durs* et les solides *mous*. Pour les premiers (minéraux et métaux), les modules élastiques sont de l'ordre de 10^{11} Pa et les effets dissipatifs sont négligeables. Pour les seconds en revanche, les modules élastiques sont beaucoup plus faibles. Les élastomères et les gels de polymères entrent dans cette catégorie de matériaux. Les modules élastiques des élastomères et des gels varient généralement entre 10^5 et 10^8 Pa.

Dans un solide élastique linéaire, le comportement mécanique est régit par la loi de Hooke,

qui s'écrit :

$$\sigma = E \times \epsilon \tag{6.1}$$

avec σ la contrainte appliquée (force par unité de surface, en Pa) et ϵ la déformation. E est appelé le module élastique, ou module d'Young. La loi de Hooke montre que la déformation est proportionnelle à la contrainte appliquée : lorsque la contrainte est relâchée, la déformation s'annule et le solide revient à sa forme d'origine. La loi de Hooke suppose implicitement que le matériau répond instantanément à une sollicitation mécanique puisqu'il n'y a pas de temps caractéristique dans cette loi.

Le comportement mécanique d'un fluide visqueux est quant à lui régit par la loi de Newton :

$$\sigma = \eta \times \dot{\epsilon} \tag{6.2}$$

avec avec σ la contrainte appliquée et $\dot{\epsilon}$ le taux de déformation (i.e $\dot{\epsilon} = \frac{d\epsilon}{dt}$). η est la viscosité du fluide. Là encore, cette loi considère une réponse instantanée du fluide soumis à une contrainte. Contrairement aux solides élastiques, un fluide newtonien n'a pas de "mémoire", c'est à dire qu'il va subir une déformation permanente irréversible. Il coule sans jamais recouvrer son état initial, même après suppression de la contrainte.

Un solide peut s'écarter du comportement idéal d'élasticité linéaire : il existe une contrainte seuil à partir de laquelle la déformation devient permanente. Lorsque la contrainte est relâchée, le matériau ne retrouve pas sa forme originale. Dans ce cas, il a subit une déformation *plastique*. Cette contrainte seuil définit la limite d'élasticité du matériau, ou son seuil d'écoulement.

Nous avons considéré jusqu'à présent une réponse instantanée d'un matériau soumis à une contrainte. En réalité, les solides "mous" tels que les polymères réticulés (les élastomères par exemple) ont une réponse progressive à l'application d'une contrainte. Dans ces matériaux, les effets dissipatifs sont importants (les ondes sont fortement atténuées). On parle alors de solides *viscoélastiques* [Oswald, 2005] : ils se comportent comme des fluides visqueux aux temps courts et des solides élastiques aux temps longs (voir la Figure 6.1). Le temps caractéristique τ est une particularité du matériau étudié : il est donné par le rapport entre la viscosité et le module élastique. Lorsque la contrainte est relâchée, la déformation relaxe avec un temps caractéristique de relaxation τ. Si le solide retrouve sa déformation initiale, il est dit *viscoélastique*. S'il existe une déformation résiduelle (γ ne relaxe pas vers 0), le solide est *viscoplastique*. Cela signifie que la contrainte appliquée est supérieure à la contrainte seuil de plasticité du matériau [Oswald, 2005].

Le plus simple pour décrire le comportement viscoélastique d'un solide consiste à placer en parallèle un ressort et un amortisseur. Il s'agit du modèle de Kelvin-Voigt. Le ressort de raideur E décrit l'élasticité du matériau, et l'amortisseur de viscosité η rend compte des frictions internes et de la dissipation (voir la Figure 6.1).

La contrainte appliquée au matériau s'exprime alors comme suit :

$$\sigma = E\epsilon + \eta\dot{\epsilon} \tag{6.3}$$

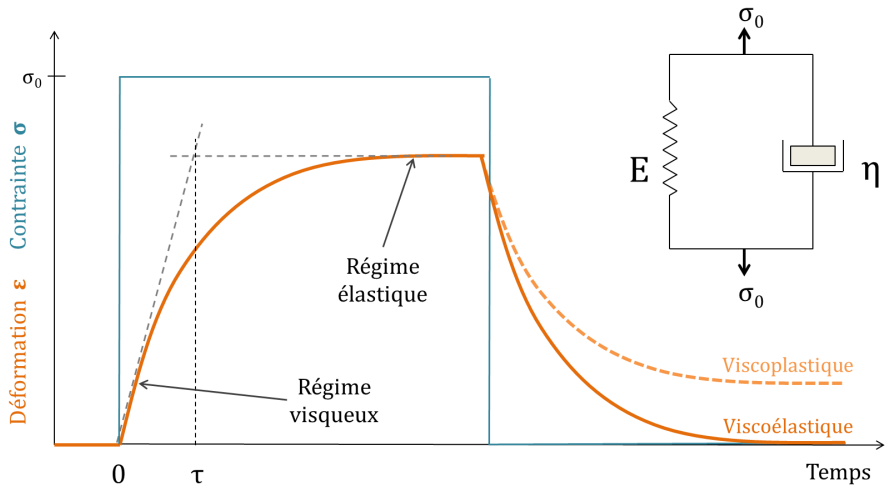


Figure 6.1 – Comportement d'un solide viscoélastique soumis à l'action soudaine d'une contrainte et schéma du modèle de Kelvin-Voigt.

L'évolution temporelle de la déformation s'écrit alors :

$$\epsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E}\left(1 - \exp(-t/\tau)\right) \qquad \text{pour } \sigma = \sigma_0$$

$$\text{et} \qquad \epsilon(t) = \frac{\sigma_0}{E}\exp(-t/\tau) \qquad \text{pour } \sigma = 0$$

On voit alors apparaître le temps de relaxation $\tau = \frac{E}{\eta}$, qui est le temps caractéristique que met le matériau à se déformer lorsqu'une contrainte est soudainement appliquée (ou relâchée). On peut également généraliser ce modèle aux matériaux qui possèdent plusieurs temps caractéristiques de relaxation.

Dans le cas des liquides viscoélastiques, leur comportement peut être décrit de manière simple par le modèle de Maxwell, qui contient les ingrédients essentiels de la viscoélasticité. Nous présenterons ici le cas simple d'un matériau décrit par un seul temps de relaxation et soumis à un cisaillement simple (voir la Figure 6.2). Le modèle de Maxwell est décrit par un ressort placé en série avec un amortisseur visqueux. Le taux de déformation est alors décrit par l'équation [Oswald, 2005] :

$$\dot{\epsilon} = \frac{\dot{\sigma}}{E} + \frac{\sigma}{\eta} \tag{6.4}$$

Pour un contrainte constante σ_0, on obtient une déformation linéaire en fonction du temps et un temps caractéristique de fluage $\tau = \frac{\sigma_0}{E}$. Le liquide viscoélastique coule infiniment jusqu'à ce que la contrainte soit relâchée. On observe alors une faible relaxation et une déformation résiduelle (plasticité).

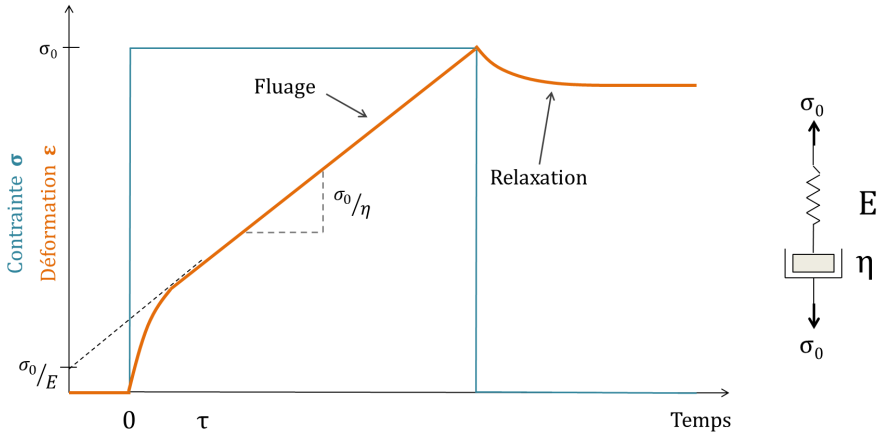


Figure 6.2 – Comportement d'un liquide viscoélastique soumis à l'action soudaine d'une contrainte et schéma du modèle de Maxwell.

6.1.1 Propriétés mécaniques des hydrogels

L'étude des comportements mécaniques des hydrogels utilise les théories de l'élasticité et de la viscoélasticité. Elles sont basées sur la dépendance temporelle de la réorientation et la réorganisation des chaînes de polymère.

L'élasticité caoutchoutique : Les élastomères sont des matériaux qui répondent à une contrainte mécanique par une déformation quasi instantanée et réversible. En comparaison, les verres peuvent être déformés élastiquement jusqu'à 1%, alors que les caoutchoucs présentent un comportement réversible jusqu'à environ 1000 % de déformation. Généralement, les caoutchoucs sont constitués d'un réseau polymérique peu réticulé, avec une large proportion de volume libre, ce qui permet un rapide réarrangement des chaînes de polymères. Lorsqu'ils sont gonflés, la plupart des hydrogels satisfont ces critères. Dans ces conditions, leur comportement mécanique dépend principalement de l'architecture du réseau polymérique. À faible température, ces gels peuvent perdre leur élasticité et manifester un comportement viscoélastique, qui sera discuté dans le paragraphe suivant. Les caractéristiques générales d'un comportement mécanique de type élastique caoutchouteux incluent [Anseth et al., 1996] :

- Une grande extensibilité induite par une faible contrainte mécanique.
- Une déformation totalement réversible après suppression de la contrainte.
- Une élasticité d'origine entropique et non enthalpique.

Dans les élastomères et les gels de polymères, l'élasticité est d'origine entropique : elle provient de la diminution d'entropie des chaînes polymériques due à la diminution du nombre de configurations possibles lorsqu'elles sont étirées ou comprimées. Ils sont donc considérés comme des solides mous. Dans les solides durs, l'élasticité est quant à elle d'origine enthalpique : elle est liée à la force des liaisons covalentes.

On peut montrer que le module élastique E des polymères réticulés est proportionnel à l'inverse de la masse molaire moyenne entre deux points de réticulation M_c. Ainsi, plus le réseau

est réticulé, plus le module élastique sera grand [Oswald, 2005] :

$$E = \frac{3RT\rho}{M_c} \tag{6.5}$$

avec ρ la masse volumique du polymère. M_c est inversement proportionnelle à la densité de réticulation.

La viscoélasticité : La théorie de la viscoélasticité d'un gel de polymère prend en compte la relation entre son élasticité, sa résistance à l'écoulement et la mobilité des chaînes. En général, les hydrogels ne sont pas des matériaux purement élastiques, mais présentent un comportement viscoélastique. L'application d'une contrainte sur l'hydrogel entraîne un mouvement des chaînes de polymères et donc une réponse temporelle de la déformation. Lorsque la contrainte est relâchée, on observe une relaxation de la déformation. Si l'hydrogel retrouve sa forme initiale, il a un comportement viscoélastique. S'il existe une déformation résiduelle aux temps longs, son comportement est dit viscoplastique [Anseth et al., 1996].

Dans un polymère réticulé chimiquement, dans lequel les points de réticulation sont fixes, les chaînes peuvent être étirées élastiquement jusqu'à leur rupture : il existe une contrainte (ou déformation) seuil de rupture. Lorsque les points de réticulation peuvent "lâcher", comme dans un hydrogel physique par exemple, l'application d'une contrainte sur le matériau entraîne une élasticité à faible déformation (les chaînes sont étirées) puis un fluage irréversible lorsque la déformation augmente (les liens se cassent et se reforment éventuellement). On voit alors apparaître une contrainte/déformation seuil de plasticité.

Études mécaniques du gel d'alginate : Il existe de nombreux travaux portant sur les propriétés rhéologiques de l'hydrogel d'alginate. Néanmoins ces travaux ne sont pas toujours en accord : l'alginate est un polymère naturel, et ses propriétés mécaniques dépendent de son origine (souche), des conditions environnementales ou même du lot, mais également de la concentration en polymère ou encore la densité et la nature de la réticulation.

Il existe aujourd'hui différentes méthodes de caractérisation des propriétés mécaniques des hydrogels. Le test de traction est une des méthodes les plus utilisées [Drury et al., 2004]. Elle consiste à étirer le matériau à déformation constante puis à enregistrer la force nécessaire au maintien de l'élongation. Elle permet d'obtenir une courbe contrainte *vs* déformation à partir de laquelle on peut déduire de nombreux paramètres mécaniques comme le module d'Young ou le seuil de plasticité. Le test de compression est le deuxième type de méthode utilisée. Elle consiste à comprimer le matériau entre deux plaques. De la force nécessaire pour comprimer l'hydrogel et du taux de déformation, on déduit la courbe contrainte *vs* déformation permettant de déduire un module de compression [Webber and Shull, 2004; Zhao et al., 2010]. Dans ces deux méthodes, le gel est étudié sous forme d'un cylindre d'épaisseur donnée.

Drury et al. [2004] utilisent un test de traction pour l'analyse du comportement mécanique de l'alginate en fonction du type de gel (masse molaire, ratio G/M). Les courbes de contrainte-déformation sont très dépendantes du taux de déformation et montrent un comporte-

ment viscoélastique du gel. Ils ont mesuré des modules élastiques entre 10 et 50 kPa, qui varient en fonction du type d'alginate et des conditions de gélification (température et solvant).

Webber and Shull [2004] ont étudié le comportement viscoélastique du gel d'alginate en utilisant une sonde *probe tack* qui leur permet d'effectuer à la fois des mesures de relaxation et des expériences d'oscillations sur des cylindres uniformes de gel. Ils ont alors montré la double nature du réseau d'hydrogel : un comportement élastique sous faibles contraintes, puis une viscoélasticité pour des contraintes plus importantes. Des tests de relaxation de contrainte leur ont permis de déterminer la déformation permanente du gel, c'est-à-dire sa plasticité, qui est d'autant plus grande que la contrainte appliquée est importante. Dans leurs travaux, Zhao et al. [2010] comparent les comportements mécaniques entre un gel d'alginate physique (liaisons ioniques) et chimique (liaisons covalentes). Un cylindre d'alginate est comprimé entre deux plaques à une déformation de 15%, et la relaxation temporelle de la contrainte est enregistrée. Ils ont montré que les deux types de gels ont un module élastique similaire ($E \simeq 26$ kPa), mais des temps de relaxation très différents. Dans le gel ionique, la contrainte relaxe jusqu'à 0, alors qu'elle tend vers un plateau non nul dans le gel covalent. De plus, le gel ionique présente un comportement plastique puisqu'il ne retrouve pas sa forme originale après l'expérience, contrairement au gel covalent qui présente un comportement élastique. Ainsi, lorsqu'un gel d'alginate est soumis à une déformation constante, la relaxation de la contrainte dans le gel dépend du type de réticulation. Dans un gel ionique, la contrainte relaxe complètement (fluage) par dissociation des points de réticulation qui se reforment ensuite, ayant pour conséquence une déformation plastique (phénomène de *"dezipping"* des assemblages type "boites d'œufs" du gel) [Kong et al., 2003]. Dans un gel covalent, le temps de relaxation est du à la migration de l'eau hors du gel, et la déformation est élastique jusqu'au seuil de rupture.

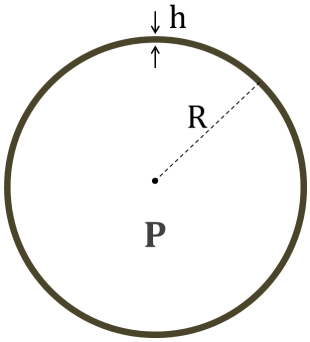
6.2 Comportement mécanique d'une membrane

Les hydrogels sont des matériaux souvent utilisés comme systèmes modèles de tissus biologiques. Il est donc intéressant d'étudier le comportement mécanique de ces matériaux sous forme de membrane. Nous introduisons ici les différents concepts liés à l'application d'une contrainte sur une structure de type cœur-coque.

6.2.1 Contrainte de pression isotrope

Concept théorique : Considérons une capsule sphérique de rayon R composée d'une membrane d'épaisseur h telle que $h/R \ll 1$, et soumise à une pression interne P. La pression exerce une contrainte isotrope sur la membrane telle que [Landau and Lifchitz, 1990] :

$$\sigma = \frac{R}{2h} P \tag{6.6}$$



Ainsi, à pression égale, la contrainte exercée est d'autant plus grande que la membrane est fine.

Exemples : Ahearne et al. [2005] ont présenté une nouvelle méthode de caractérisation des propriétés viscoélastiques d'une fine membrane d'alginate. Cette technique consiste à déformer une fine pellicule de gel d'alginate en déposant une bille d'acier inoxydable au centre de cette dernière. La déformation induite par le poids de la bille est mesurée par microscopie. La mesure du déplacement en fonction du temps et du poids de la bille d'acier leur a permis d'évaluer un module d'Young E égal à 14 kPa pour un gel concentré à 2% en masse.

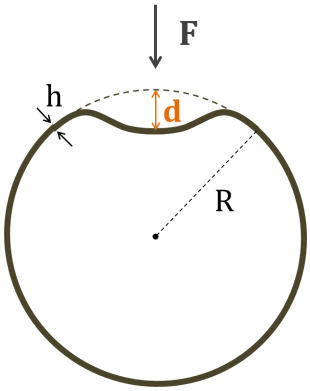
Au laboratoire, nous avons mis au point un procédé original pour sonder le comportement mécanique des capsules à cœur liquide et membrane fine d'alginate. Une contrainte isotrope est appliquée sur la membrane : elle est induite par une dépression osmotique entre l'intérieur et l'extérieur de la capsule. Cette approche est détaillée dans le chapitre suivant. Dans leurs travaux, Alessandri et al. [2013] ont utilisé cette technique pour mesurer un module d'Young de la membrane de leurs microcapsules, utilisées comme réservoir de culture cellulaire à 3D. Ils ont également réalisé des tests mécaniques de compression par indentation et de traction sur leur gel d'alginate, afin de comparer les différentes techniques. Ils obtiennent des modules similaires de l'ordre de 70 kPa avec les trois méthodes.

6.2.2 Contrainte de compression anisotrope

Concepts théoriques : Considérons une capsule sphérique de rayon R composée d'une membrane d'épaisseur h telle que $h/R \ll 1$, et soumise à une force de compression anisotrope F. La force induit une déformation de la membrane d localisée telle que [Landau and Lifchitz, 1990] :

$$d \sim \frac{F^2 R^2}{E^2 h^5} \tag{6.7}$$

La déformation induite sur la membrane est donc dépendante de l'épaisseur h : plus la membrane est fine, plus la déformation locale d sera importante.



Exemples : Rachik et al. [2006] ont réalisé des tests de compression de microcapsules artificielles à membrane d'hydrogel. Ils ont comparé leurs expériences à des simulations numériques afin de valider des modèles théoriques de compression d'une membrane fine. Ils ont ainsi vérifié que le module d'Young E de la membrane augmente de manière non linéaire avec l'épaisseur de la membrane.

6.2.3 Compression d'une collection de capsules

Lorsque la taille des capsules ne permet pas d'étudier à l'échelle d'une capsule unique les propriétés mécaniques de la membrane, il est possible de s'intéresser à une collection de ces capsules soumise à une force de compression. C'est ce qui a été réalisé dans l'étude de l'élasticité des émulsions concentrées [Princen, 1986; Princen and Kiss, 1987; Mason et al., 1995, 1997].

Élasticité d'une émulsion concentrée : Une émulsion est un ensemble de gouttes d'un fluide dispersées dans un second fluide immiscible, et stabilisées par un surfactant. La rhéologie des émulsions est une de leurs caractéristiques les plus remarquables : bien que constituées uniquement de phase liquide, les émulsions peuvent se comporter comme des solides élastiques. En effet, lorsqu'une pression est exercée sur les gouttes de l'émulsion, leur fraction volumique est augmentée et ces dernières sont déformées, ce qui a pour effet de stocker de l'énergie dans les interfaces. L'élasticité de l'émulsion résulte donc de l'énergie stockée lors de la déformation des gouttes sous contrainte [Mason et al., 1995].

Une caractéristique intéressante et reliée aux propriétés rhéologiques des émulsions est la "pression osmotique" du système. Cette pression osmotique est analogue au concept utilisé dans le cas des solutions conventionnelles. Dans le cas des émulsions concentrées, lorsque la fraction volumique de la phase dispersée Φ dépasse une fraction volumique critique, les gouttes se déforment et ne sont plus sphériques mais deviennent polyédriques. Par conséquent, leur énergie libre de surface est augmentée. Si le système communique avec la phase continue via une membrane mobile semi-perméable (c'est-à-dire perméable uniquement à la phase continue et non à la phase dispersée), la phase continue aura tendance à traverser la membrane pour "diluer" l'émulsion et diminuer la déformation des gouttes (et donc l'énergie de surface). Ce flux de phase continue peut être stoppé en appliquant une pression Π sur la membrane. Cette pression Π est appelée *pression osmotique du système*. Elle est égale à la force par unité de surface exercée par la phase dispersée sur la membrane. De la même manière que la pression osmotique d'une solution conventionnelle augmente avec la concentration en soluté, la pression osmotique Π d'une émulsion augmente avec sa fraction volumique Φ [Princen, 1986; Princen and Kiss, 1987].

Dans une émulsion, la nature de l'élasticité est inhabituelle : elle n'existe que parce que les gouttes se retrouvent comprimées par une pression osmotique externe Π et la fraction volumique de gouttes Φ devient suffisamment grande pour stocker une énergie interfaciale. Dès lors que $\Pi(\Phi)$ s'approche de la pression de Laplace ($2\gamma/r$, avec γ la tension superficielle et r le rayon des gouttes non déformées) des facettes sont créées entre gouttes voisines. Si la pression osmotique augmente encore, Φ s'approche de 1 et l'émulsion s'apparente à une "mousse bi-liquide". L'énergie stockée due à la déformation des gouttes comprimées par la pression osmotique donne lieu à un module élastique de l'émulsion. Ce module n'existe pas lorsque l'émulsion n'est pas comprimée : les gouttes sont séparées et l'émulsion perd sa rigidité [Mason et al., 1997].

L'origine de l'élasticité dans une émulsion résulte des forces exercée sur chaque goutte par compression sur ses voisines due à la pression osmotique. Toutes ces forces doivent néanmoins se compenser pour maintenir l'équilibre mécanique du système. Mason et al. [1997] ont développé un modèle pour déterminer la pression osmotique Π et le module de cisaillement G en fonction de la fraction volumique Φ d'émulsions comprimées. La fraction volumique Φ est liée à l'empilement des gouttes de la dispersion. Leur empilement détermine la fraction volumique critique Φ^* à partir de laquelle les gouttes commencent à être déformées. Φ^* est également appelée *compacité maximale*. La compacité maximale des structures cristallines ordonnées type cubique à face centrée ou hexagonale compact est égale à 0,74. Par opposition aux empilement ordonnés, les

empilements désordonnées ont une compacité maximale plus faible : en agitant mécaniquement un ensemble de billes macroscopiques, ou par mouvement brownien des particules colloïdales, on atteint une compacité maximale Φ^* d'environ 0,64 correspondant à l'empilement aléatoire le plus dense (*Random Close Packing*).

Pression osmotique et équation d'état : Tout comme la structure et les interactions entre les atomes déterminent l'équation d'état pression-volume dans les solides homogènes, la structure et la déformation entre les gouttes détermine l'équation d'état osmotique $\Pi(\Phi)$ de la dispersion. Comme les gouttes sont comprimées par une pression osmotique, la surface totale des gouttes $A(\Phi)$ augmente par rapport à la surface initiale A_0, qui est égale à $4\pi NR^2$ pour N gouttes monodisperses de rayon R. Pour n'importe quelle émulsion monodisperse à n dimensions, la pression osmotique peut être obtenue par [Mason et al., 1997] :

$$\Pi(\Phi) = \frac{\gamma}{R}\, n\Phi^2 \frac{\partial}{\partial\Phi}\left[\frac{A(\Phi)}{A_0}\right] \tag{6.8}$$

Lorsque $\Phi < \Phi^*$, les gouttes ne sont pas comprimées et la surface $A(\Phi)$ est constante égale à A_0. Dès lors que les gouttes sont comprimées au dessus de Φ^*, la surface augmente et Π augmente également.

Ils obtiennent alors une expression de la pression osmotique telle que :

$$\Pi(\Phi) = C\frac{\gamma}{R}\Phi^2(\Phi - \Phi^*) \tag{6.9}$$

avec C et Φ^* deux constantes dépendant de la géométrie de l'empilement des gouttes de l'émulsion.

Le modèle présenté par Mason et al. [1997] pour les émulsions peut également s'appliquer pour d'autres matériaux qui deviennent élastiques sous une pression osmotique. Dans le chapitre 8, nous étudions le comportement mécanique d'une collection de microcapsules à membrane d'alginate et nous allons le comparer au comportement dans les émulsions.

En conclusion, les modules d'Young mesurés dans la littérature pour les gels d'alginate peuvent varier entre 1 et 100 kPa. Il est important de noter que le module élastique de l'alginate dépend de nombreux paramètres tels que la masse molaire du polymère, le ratio G/M, la type de réticulation ou encore la densité de réticulation. D'autres part, les différentes méthode utilisées pour caractériser les propriétés mécaniques influent également sur la valeur finale du module E mesurée [Drury et al., 2004].

Dans cette partie notre objectif est d'étudier les comportements spécifiques de la membrane d'alginate en forme par notre procédé et de les comprendre à la lumière des concepts généraux introduits dans ce premier chapitre.

CHAPITRE 7

Gonflement osmotique d'une capsule

La membrane d'alginate étant semi-perméable, une capsule plongée dans l'eau pure peut se comporter comme un sac de dialyse. Lorsque le cœur de la capsule contient une solution de polymère, cela induit une différence de potentiels chimiques entre le cœur et le milieu extérieur. Cette différence de potentiels chimiques se traduit par un différentiel de pression osmotique, qui a pour conséquence un flux de l'eau vers le cœur de la capsule. L'eau qui diffuse dans le cœur de la capsule entraîne une augmentation de son volume. L'expérience que nous présentons dans ce chapitre consiste à mesurer le gonflement d'une capsule soumise à un différentiel osmotique.

7.1 Description de l'expérience

7.1.1 Matériaux

Dans l'expérience de gonflement osmotique, une capsule contenant un solution de polymère est plongée dans un volume d'eau ultra-pure infiniment grand devant le volume du cœur. Une fois la capsule plongée dans l'eau, la différence de pression osmotique induit un gonflement. La membrane est donc étirée par une contrainte osmotique isotrope.

Pour cette expérience, les capsules sont fabriquées en régime goutte à goutte (voir la partie 2.2.1 pour le procédé de formation). La membrane est constituée d'alginate à 2% et le cœur liquide est une solution de polymère, du Dextran 2000 kDa ou du PEG 1000kDa à différentes concentrations. L'épaisseur moyenne de la membrane h est déterminée par le ratio entre les débits des phases externes et internes : $h = R\left(1 - \left(\frac{R_q}{1+R_q}\right)^{1/3}\right)$. Le type et la concentration du polymère constituant le cœur liquide, la concentration en alginate ainsi que l'épaisseur de la membrane sont les paramètres expérimentaux sur lesquels nous avons joué dans cette expérience.

7.1.2 Protocole expérimental

Nous avons mis au point un protocole qui nous permet de visualiser une capsule unique soumise à une contrainte isotrope. La Figure 7.1 présente un schéma du dispositif expérimental : juste après sa formation, la capsule est rincée puis déposée dans une cuve contenant de l'eau ultra-pure. L'observation du phénomène de gonflement est réalisé à l'aide d'une caméra CCD, avec un pas de temps d'acquisition de 5 minutes.

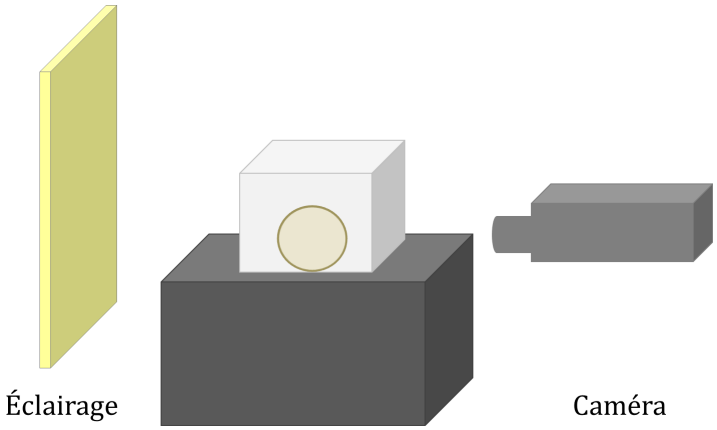


Figure 7.1 – Schéma du dispositif expérimental d'enregistrement du gonflement d'une capsule dans une cuve d'eau ultra-pure.

À la fin de l'expérience, les images sont analysées par un programme *ad hoc* (ImageJ et MatLab) : après un seuillage des niveaux de gris, le contour de la capsule est récupéré et ajusté par une sphéroïde (la projection plane est une ellipse) dont le volume est calculé. Une séquence d'images obtenues dans l'expérience de gonflement est présentée dans la Figure 7.2.

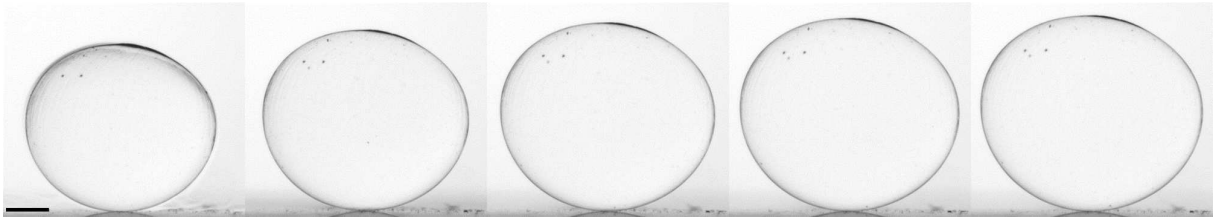


Figure 7.2 – Échantillon d'images d'une capsule soumise à l'expérience de gonflement osmotique. $\Delta t = 15$ min. Échelle = 1 mm.

Pour chaque expérience, le traitement d'image permet d'obtenir le volume de la capsule V à chaque instant t. Ce volume V est généralement normalisé par le volume initial V_0 et donne accès à la cinétique de gonflement de la capsule. On peut également en déduire la variation du rayon moyen de la capsule, ainsi que la déformation ϵ définie par :

$$\frac{R}{R_0} = \left(\frac{V}{V_0}\right)^{1/3}$$

$$\text{et,} \quad \epsilon = \frac{R}{R_0} - 1$$

Les parties suivantes présentent les résultats de deux types d'expériences :

- Dans la première expérience, la capsule est gonflée jusqu'à rupture de la membrane et on observe sa relaxation (dégonflement).
- Dans la deuxième expérience, la capsule est gonflée jusqu'à obtenir un volume maximal d'équilibre. On observe un plateau élastique dans la courbe de gonflement $\epsilon(t)$.

7.2 Résultats et observations

7.2.1 Rupture de la membrane et relaxation : régimes viscoélastique et viscoplastique

Dans le chapitre 4, nous avons étudié la diffusion de polymères à travers la membrane d'alginate. Dans ces expériences, les concentrations en Dextran étaient suffisamment faibles pour que l'on n'observe pas de gonflement osmotique des capsules. Par contre, dès que la concentration de la solution de Dextran est augmentée, on observe une augmentation du volume de la capsule dans l'eau.

La pression osmotique d'une solution de Dextran 2000 kDa concentré à 10% en masse est environ égale à 4 kPa [Bonnet-Gonnet et al., 1994]. Pour une telle contrainte osmotique, on observe un gonflement très rapide de la capsule plongée dans l'eau, suivi d'une rupture de la membrane et d'une relaxation de la contrainte. Une capsule dont le cœur est une solution de Dextran 2000 à 10% est plongée dans l'eau pure et filmée selon le protocole décrit dans le paragraphe précédent. L'expérience a été réalisée pour deux épaisseurs relatives h/R différentes. Les courbes de gonflement sont présentées dans la Figure 7.3(a).

L'analyse des courbes permet de faire quelques observations importantes :

- Aux temps courts, la différence de pression osmotique entre le cœur et la solution extérieure entraîne un gonflement rapide de la capsule. Pour une même contrainte osmotique, on constate que la vitesse de gonflement initiale est supérieure lorsque h/R diminue (courbe rose).
- Au bout d'un certain temps, on observe une chute de la déformation correspondant à la rupture de la membrane, suivi d'un dégonflement de la capsule. Lorsque la membrane est plus fine (courbe rose), la déformation seuil de rupture est plus faible. On retrouve le comportement décrit dans l'équation (6.6) : à pression égale, la contrainte σ exercée sur la membrane est inversement proportionnelle à h/R, donc lorsque h diminue, la contrainte augmente et la capsule se perce plus vite. Les deux courbes bleues, qui correspondent à deux expériences similaires (même conditions expérimentales), montrent

que la valeur de la déformation seuil rupture n'est pas reproductible. En effet, cette expérience permet de sonder les défauts de la membrane : la rupture a lieu à un endroit de faiblesse de la membrane. On en déduit que ces défauts ne sont pas les mêmes d'une capsule à l'autre (conséquence de l'inhomogénéité du gel).

- La rupture de la membrane donne lieu à la formation d'un petit trou, laissant s'échapper librement le polymère contenu dans le cœur liquide. La contrainte est alors brusquement relâchée, d'où la chute brutale de la courbe de gonflement. On observe ensuite une relaxation plus lente correspondant à la capsule qui se dégonfle en se vidant petit à petit du polymère (voir la Figure 7.3(b)). À la fin de l'expérience, les concentrations sont à l'équilibre et la valeur de l'allongement ϵ est stabilisée.

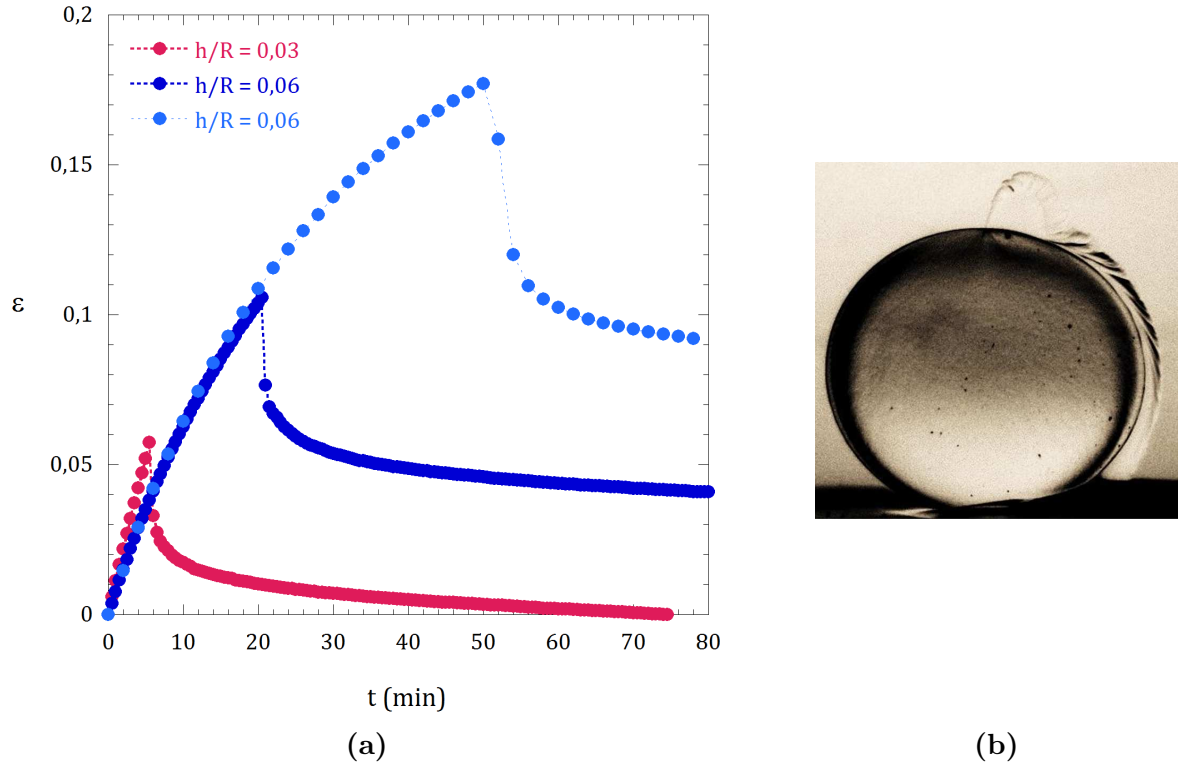


Figure 7.3 – **(a)** Gonflement d'une capsule de Dextran 2000 kDa à 10 %wt, suivi de la rupture de la membrane puis de la relaxation. **(b)** Photo de la formation d'un trou suite à la rupture de la membrane. On observe un petit "geyser" de la solution de polymère du cœur.

L'observation importante à tirer de cette expérience est la valeur de la déformation résiduelle après la relaxation, qui est directement liée à la valeur de la déformation seuil de rupture. Ainsi, nous constatons que lorsque la rupture a lieu pour un allongement de 6% (courbe rose), la capsule relaxe jusqu'à sa taille initiale : la déformation tend vers 0 à l'équilibre final. Dans ces conditions, la membrane a subi une déformation réversible.

Lorsque la déformation seuil est supérieure (courbes bleues), la capsule ne retrouve pas son volume initial : ϵ tend vers une valeur plateau non nulle. En outre, cette déformation résiduelle est d'autant plus importante que la déformation seuil de rupture est élevée. Dans ces conditions,

la membrane a été étirée de manière irréversible : les liens de réticulation ont été rompus puis reformés et la structure du gel a été modifié.

On peut déduire une déformation seuil ϵ^* environ égale à 0,08 ± 0,02. Pour une faible déformation ($\epsilon < \epsilon^*$), on sonde le régime viscoélastique de la membrane. Lorsque la déformation devient plus importante ($\epsilon > \epsilon^*$), le matériau devient viscoplastique.

7.2.2 Viscoélasticité de la membrane et module d'Young

Lorsqu'on encapsule un polymère dont la taille est supérieure au rayon de coupure de la membrane d'alginate, ce dernier reste piégé dans le cœur de la capsule. La pression osmotique initiale du cœur dépend de la concentration massique du polymère. Comme le polymère ne peut pas traverser la membrane d'alginate, la masse reste constante dans le cœur tout au long de l'expérience de gonflement. La pression osmotique est diminuée au cours du temps par l'effet de dilution dû au transport de l'eau vers l'intérieur de la capsule.

a. Cinétique de gonflement

Dans cette expérience, un polymère linéaire de grande masse molaire est encapsulé dans le cœur de la capsule. Nous utilisons le polyéthylène glycol (PEG) de masse molaire 1000 kDa. Nous avons dans un premier temps montré que la membrane est imperméable au PEG. En effet, la Figure 7.4 présente la courbe de la fuite du PEG à 2% en masse dans une capsule d'alginate mesurée par réfractométrie. On constate que la variation de l'indice de réfraction dans la solution extérieure est identique dans le cas de capsules contenant du PEG ou de l'eau pure. La légère augmentation de l'indice au début de l'expérience est due aux molécules de SDS ou aux cations libres (Ca^{2+} et Na^+) contenus dans la membrane. Nous avons également mesuré l'indice de la solution à la fin de l'expérience, après avoir percé les capsules : cette mesure correspond à la saturation, c'est à dire à l'indice maximal que l'on obtiendrait si tout le polymère sortait du cœur et que les concentrations s'équilibraient. À la vue de ces courbes, il semble raisonnable de considérer que toute la masse de PEO reste piégée dans le cœur des capsules pendant le temps de l'expérience.

La Figure 7.5 présente une courbe type de gonflement d'une capsule contenant une solution de PEG à 2%. La déformation ϵ est tracée en fonction du temps. On obtient une courbe dont l'allure correspond au comportement d'un matériau viscoélastique (cf. Figure 6.1). Aux temps courts, la capsule subit une déformation rapide due à l'étirement des chaînes de polymère sous l'effet d'une contrainte osmotique importante ($\Delta\Pi$ maximal). En gonflant, le cœur de la capsule est dilué et $\Delta\Pi$ devient de plus en plus faible. On observe alors le régime visqueux du matériau, avec un temps caractéristique de relaxation d'environ 1 heure. Aux temps longs, la force élastique de la membrane compense la différence de pression osmotique résiduelle. On observe alors un plateau correspondant au régime élastique de la membrane. Ce plateau ϵ_{max} correspond à la déformation maximale que peut subir la membrane. Il dépend de la pression osmotique initiale Π_0 et du module d'élasticité E de la membrane.

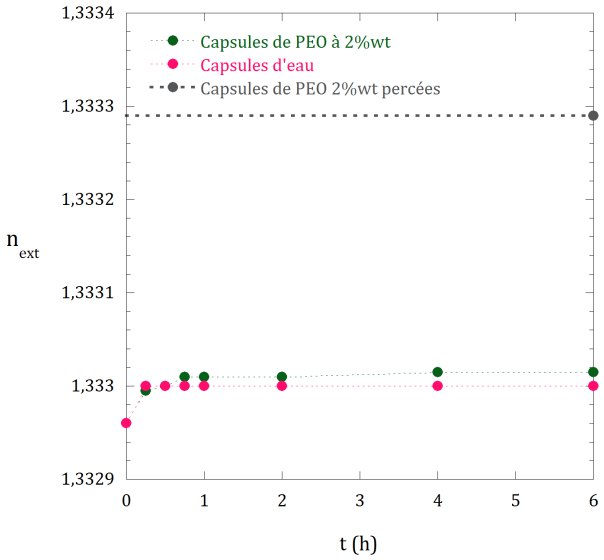


Figure 7.4 – Mesure de la fuite du PEG par réfractométrie. Quatre capsules sont immergées dans 500 μL d'eau ultra pure et l'indice de la solution extérieure n est mesuré en fonction du temps. L'expérience est réalisée avec des capsules contenant du PEG à 2% (points verts). À la fin de l'expérience, les capsules sont percées volontairement pour déterminer l'indice maximal de saturation (point gris). L'expérience de référence est réalisée avec des capsules contenant uniquement de l'eau pure (points roses).

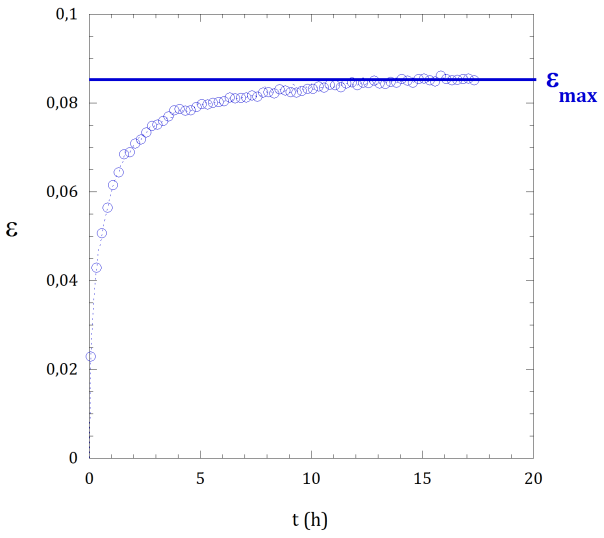


Figure 7.5 – Courbe type de gonflement d'une capsule d'alginate encapsulant une solution de PEG à 2%.

Dans cette étude du gonflement, nous nous sommes intéressé uniquement au régime élastique de la membrane, c'est-à-dire à la valeur de la déformation maximale au plateau ϵ_{max}. En effet, un essai préliminaire de modélisation de la cinétique du gonflement à l'aide d'un modèle viscoélastique de Kelvin-Voigt indique qu'il n'est pas possible d'ajuster la courbe avec un modèle

simple. On suppose donc qu'il est nécessaire d'introduire différents temps de relaxation, liés à différents phénomènes tels que la viscoélasticité de la membrane, la viscoélasticité de la solution de polymère ou encore la diffusion de l'eau.

b. Influence de la concentration en alginate et de l'épaisseur de la membrane

La valeur de la déformation élastique ϵ_{max} dépend directement des propriétés du gel et des caractéristiques de la membrane. En effet, le module élastique d'un polymère réticulé est proportionnel à la densité de réticulation (cf équation (6.5)). Plus le gel est concentré en polymère d'alginate, plus la densité de réticulation est importante et donc plus sa résistance mécanique est importante. On s'attend donc à ce que la capsule gonfle moins. De la même manière, lorsque la membrane d'alginate est plus fine, la contrainte exercée est plus importante ($\sigma \propto \frac{R}{h}\Pi$) et on s'attend à ce que la capsule gonfle plus. Le graphes de la Figure 7.6 présentent les résultats de trois expériences de gonflement, dans lesquelles nous avons fait varier d'une part la concentration en alginate (2% et 3% en masse), et d'autre part l'épaisseur de la membrane (h/R = 0,06 et 0,025). La pression osmotique initiale est égale pour les trois expériences (solution de PEG à 2% en masse dans le cœur, soit $\Delta\Pi_0 \simeq$ 1,2 kPa d'après l'équation (7.6)).

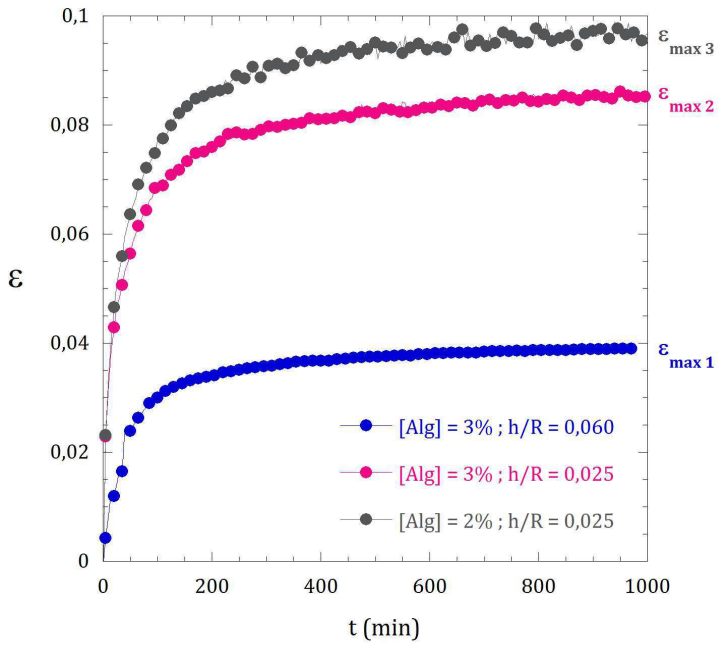


Figure 7.6 – Courbes de gonflement d'une capsule d'alginate encapsulant une solution de PEG à 2% pour deux concentrations en alginate et deux épaisseurs de membrane.

En comparant la courbe de gonflement bleue à la courbe rose, on constate que pour une même concentration en alginate, le gonflement est plus important lorsque la membrane est plus fine. Autrement dit, on trouve une déformation maximale inversement proportionnelle au ratio h/R : cette observation est en accord avec l'équation (6.6). On obtient bien le même coefficient de proportionnalité entre les valeurs de déformation maximale et les rapports h/R :

$$\frac{\epsilon_{max1}}{\epsilon_{max2}} = \frac{0,04}{0,085} = 0,47$$

$$\text{et } \frac{(h/R)_2}{(h/R)_1} = \frac{0,025}{0,06} = 0,42$$

De la même manière, en comparant les courbes rose et grise on rend compte de l'effet de la concentration en alginate sur l'élasticité de la membrane. Lorsque l'hydrogel est plus concentré (courbe rose), il contient plus de lien de réticulation et son module d'Young est supérieur. La membrane est donc plus résistante et la déformation élastique est plus faible. Cette observation est en accord avec l'équation (6.5).

c. Détermination du module d'Young E

On considère une capsule sphérique de rayon initial R_0 constituée d'une membrane d'hydrogel d'épaisseur h_0 et d'un cœur liquide contenant une solution de polymère à la concentration initiale c_0. La capsule est plongée dans une solution d'eau pure et l'effet de la pression osmotique la fait gonfler jusqu'à un rayon R. D'autre part, la diffusion de l'eau dans le cœur entraine une dilution de la solution en polymère de c_0 à c. La conservation de la matière permet d'écrire :

$$c = \left(\frac{R_0}{R}\right)^3 c_0 \tag{7.1}$$

Lorsque la capsule gonfle, la membrane est étirée et son épaisseur diminue de h_0 jusqu'à h. Par conservation du volume de la membrane, on déduit :

$$h = \left(\frac{R_0}{R}\right)^2 h_0 \tag{7.2}$$

D'autre part, l'énergie élastique d'étirement est donnée par [Landau and Lifchitz, 1990] :

$$W_{el} = 4\pi \frac{E}{1-\nu} h (R - R_0)^2 \tag{7.3}$$

avec E le module élastique de la membrane et ν le coefficient de Poisson, égal à $1/2$ si on considère le matériau incompressible.

Le soluté présent dans le cœur de la capsule étant un polymère de grande taille, sa pression osmotique est de la forme :

$$\Pi = \alpha c + \beta c^2 \tag{7.4}$$

Les coefficients α et β peuvent s'exprimer en fonction de la masse molaire du polymère et du second coefficient du Viriel [Cabane and Hénon, 2007] :

$$\Pi = RT \left(\frac{1}{M_w} c + A_2 c^2\right) \tag{7.5}$$

avec c la concentration massique de polymère en kg/m^3 et A_2 le second coefficient du Viriel. Le premier terme traduit le comportement du gaz parfait, dans lequel les molécules de solutés n'ont ni volume exclu ni interaction énergétiques. Il est prédominant dans le cas de solutions de petites molécules. Le second terme en c^2 décrit les interactions entre solutés dans le solvant. Il est dominant dans le cas de solutions de macromolécules.

Dans les expériences de gonflement, nous utilisons un PEG de masse molaire M_w égale à 1000 kDa. Le second coefficient du Viriel A_2 pour ce PEG a été mesuré par diffusion statique de la lumière (diagramme de Zimm) et vaut 1,2.10^{-3} m^3.mol/kg^2. Cette valeur est égale à celle trouvée dans la littérature [Devanand and Selser, 1991]. On obtient donc une expression de la pression osmotique de la solution de PEG à 298 K telle que :

$$\Pi = 2,48c + 2,97c^2 \tag{7.6}$$

avec c la concentration en kg/m^3.

Le travail effectué par la pression osmotique pour gonfler la capsule de R_0 à R peut être calculé de la manière suivante :

$$W_{os} = \int_{R_0}^{R} \Pi . 4\pi R^2 dR \tag{7.7}$$

En prenant en compte l'effet de la dilution dans l'expression de Π (introduire l'expression (7.1) dans l'équation (7.6)), on obtient une expression pour W_{os} égale à :

$$W_{os} = 4\pi R_0^3 \left[\alpha c_0 \ln\left(\frac{R}{R_0}\right) + \frac{1}{3}\beta c_0^2 \left(1 - \left(\frac{R}{R_0}\right)^3\right)\right] \tag{7.8}$$

La rayon d'équilibre de la capsule R est donné par le minimum de l'énergie totale $W_{el} + W_{os}$, et en supposant de faibles déformations ($\Delta R/R_0 << 1$), on arrive à l'expression suivante [Alessandri et al., 2013] :

$$\epsilon_{max} = \frac{\Pi_0}{\Pi' + 4E(h_0/R_0)} \tag{7.9}$$

avec Π_0 la pression osmotique initiale dans le cœur de la capsule, et $\Pi' = \Pi_0 + 3\beta c_0^2$. Cette expression nous permet de calculer le module d'élasticité de la membrane en fonction de la déformation maximale à l'équilibre.

Nous avons donc réalisé l'expérience de gonflement pour différentes concentrations en PEG dans le cœur de la capsule, avec une membrane d'alginate à la concentration 2% et un ratio d'épaisseur h_0/R_0 égal à 0,026. La figure Figure 7.7 représente la variation de la déformation maximale ϵ_{max} de la capsule en fonction de la pression osmotique initiale dans le cœur c_0. On constate que plus la concentration initiale - et donc la pression osmotique - est élevée, plus la déformation est importante.

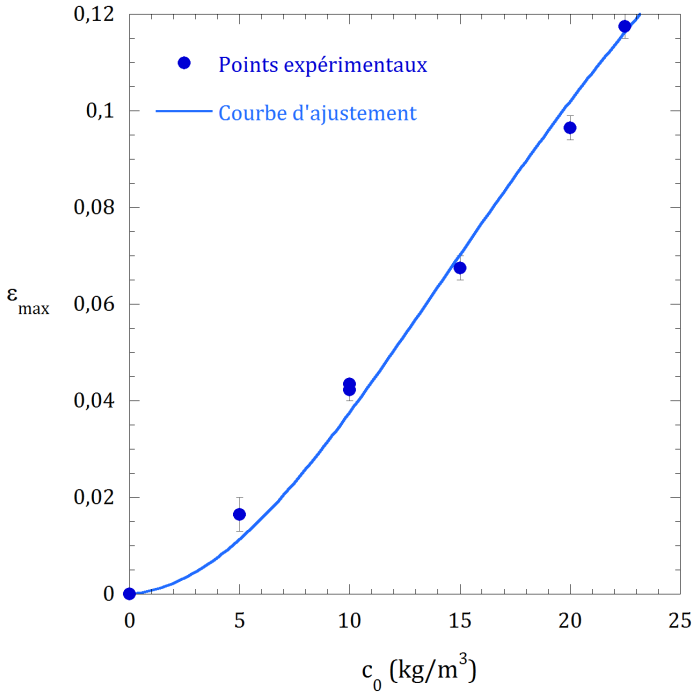


Figure 7.7 – Déformation maximale de la capsule $\epsilon_{max} = \Delta R/R_0$ obtenue à l'équilibre de gonflement en fonction de la concentration initiale dans le cœur c_0. Les points expérimentaux ont été ajustés par l'équation (7.9), permettant d'obtenir un module moyen E égal à 70 kPa.

Les points expérimentaux ont été ajustés avec l'équation (7.9). On en déduit alors un module d'Young E de 70 kPa. Cette valeur est en accord avec les valeurs déterminées dans les travaux de Alessandri et al. [2013], qui ont mesuré un module de 68 kPa par une méthode similaire, et un module de 71 kDa par une expérience de traction sur un cylindre de gel. Cet ajustement permet d'évaluer un module d'Young *moyen*, mais il est également possible de calculer la valeur de E correspondant à chaque valeur de la déformation ϵ_{max}.

On s'attend à un module E constant dans le régime élastique (faible déformation), puis à une chute du module lorsque le comportement devient plastique. En effet, on peut imaginer qu'en étirant la membrane plastiquement, certaines zones de réticulation du réseau de l'hydrogel sont cassées. Ceci entraîne une diminution de la densité de réticulation, c'est-à-dire une augmentation de M_c. Comme $E \propto \dfrac{1}{M_c}$, le module doit alors diminuer.

La courbe de la Figure 7.8 présente les valeurs du module d'Young E pour chaque allongement ϵ_{max}. On remarque sur cette courbe que E augmente de manière continue jusqu'à ϵ_{max}=0,1 . On n'observe pas de de régime élastique pour lequel E est constant. Néanmoins, on remarque une légère chute du module pour un allongement supérieur à 10% qui doit correspondre à un changement de régime du matériau.

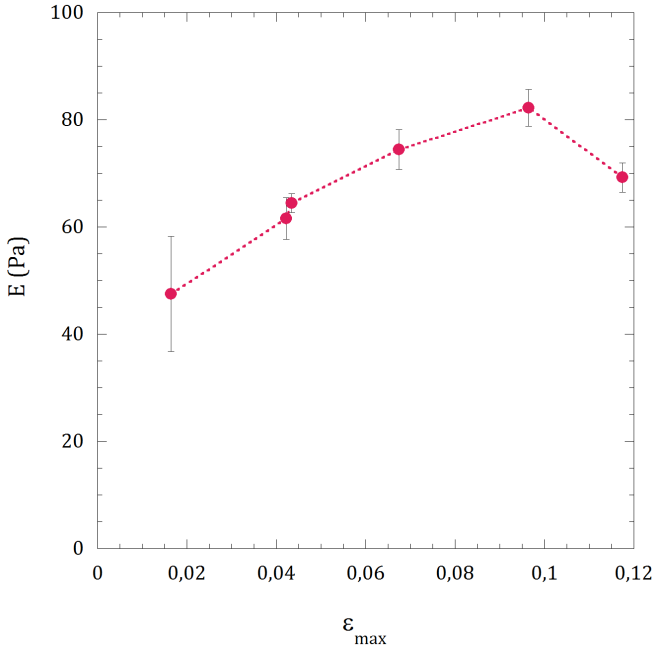
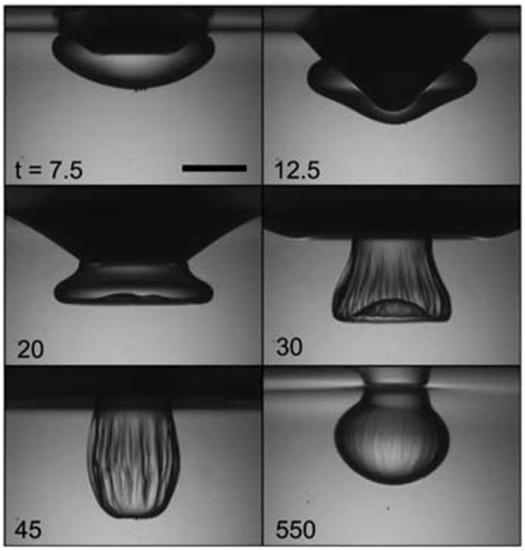


Figure 7.8 – Module d'Young E de la membrane en fonction de la déformation maximale ϵ_{max}.

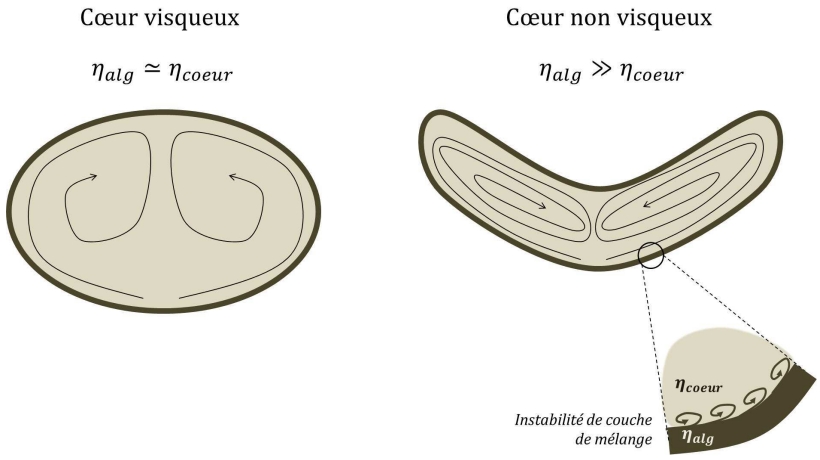
En réalité, cette expérience permet de rendre compte des limites du procédé de fabrication. En effet, dans le modèle de gonflement osmotique, on fait l'hypothèse d'une capsule sphéroïdale et d'une membrane d'épaisseur homogène et similaire dans chacune des expériences (quelle que soit la concentration en polymère dans le cœur). En fait, il s'avère que les caractéristiques rhéologiques de la solution interne jouent un rôle dans le procédé de fabrication des capsules. En effet, Bremond et al. [2010] ont montré que lorsque la solution interne est très peu visqueuse, la déformation de la goutte lors de l'impact augmente : la vitesse de recirculation des fluides miscibles augmente et la formation de vortex favorise leur mélange. D'autre part, il existe également une instabilité de cisaillement entre les solutions internes et externes : lorsque deux liquides de viscosités différentes sont soumis à un cisaillement, une instabilité dite de "couche de mélange" se forme à l'interface. Cette instabilité est d'autant plus importante que la vitesse et le différentiel de viscosité sont importants et elle a pour conséquence la formation d'une zone de mélange entre les deux fluides s'ils sont miscibles (voir la Figure 7.9).

Dans notre expérience de gonflement osmotique, lorsque la concentration de la solution initiale de polymère c_0 est modifiée, cela influe également sur sa viscosité. Lorsque la concentration c_0 devient faible, la viscosité de la solution interne devient très faible par rapport à celle de l'alginate : les vortex dus à l'impact ainsi que l'instabilité de cisaillement entraînent une "érosion" de la solution d'alginate avant gélification. La membrane formée est finalement plus fine que prévu. Le modèle utilisé pour la détermination de E utilise le rapport h/R théorique, calculé en fonction du ratio des débits. En réalité, ce rapport est sans doute surestimé lorsque c_0 diminue. En conséquence, le module E se trouve quand à lui sous estimé pour les faibles concentrations.

Nous mettons en évidence à travers cette expérience qu'on ne peut pas comparer directement des capsules qui n'ont pas été fabriquées dans les mêmes conditions expérimentales. On démontre que les caractéristiques mécaniques des capsules sont intimement liées au procédé de fabrication. Il serait donc nécessaire de réaliser cette expérience dans des conditions de fabrication identiques, c'est-à-dire avec une viscosité du cœur liquide qui soit la même quelle que soit la pression osmotique initiale.



(a)



(b)

Figure 7.9 – **(a)** Formation d'une capsule composée d'un cœur non visqueux (eau pure). Le temps à partir du contact est indiqué sur chaque image en millisecondes. L'échelle est de 2 mm. *Extrait de* [Bremond et al., 2010]. **(b)** Schéma d'une capsule lors de l'impact dans le bain : lorsque le cœur est peu visqueux, la déformation est plus importante et la vitesse de recirculation (vortex) est plus grande. L'instabilité de cisaillement entraîne un mélange plus efficace et une "érosion" de la couche d'alginate avant gélification .

7.3 Conclusion

Nous avons présenté dans ce chapitre un procédé original de caractérisation des propriétés mécaniques d'une membrane fine d'hydrogel.

En mesurant le gonflement isotrope d'une capsule soumise à une pression osmotique, nous avons sondé les régimes de viscoélasticité et de viscoplasticité du matériau. L'équilibre de gonflement nous a permis de vérifier que la déformation maximale est inversement proportionnelle au ratio h/R ($\sigma \propto R/h$) et qu'elle diminue lorsque la concentration en alginate augmente ($E \propto 1/M_c$). Nous avons également évalué un module d'élasticité E moyen de la membrane en accord avec la littérature.

Cependant, nous avons été limité dans cette expérience par le procédé de fabrication. En effet, nous avons constaté qu'il n'était pas possible de comparer directement des capsules qui n'ont pas été fabriquées dans les mêmes conditions expérimentales. L'épaisseur de la membrane d'hydrogel est très dépendante des propriétés rhéologiques de la solution interne. En diminuant la viscosité dans le cœur des capsules, la vitesse de recirculation à l'impact avec le bain lors de la formation entraîne un mélange et une "érosion" de la couche d'alginate. Les capsules que nous avons étudiées n'avaient pas exactement la même membrane : les modules d'Young mesurés ont été sous-estimés dans les conditions de faible pression osmotique (faible c_0).

Pour s'affranchir de ces limitations expérimentales dues au procédé de fabrication, il serait donc nécessaire de réaliser la même expérience de gonflement osmotique avec une viscosité de la solution de cœur similaire pour chaque capsule.

CHAPITRE 8

Compression d'une dispersion de microcapsules

Dans ce chapitre, nous nous intéressons au comportement mécanique d'une dispersion de capsules de taille submillimétrique. À la différence de l'expérience de gonflement osmotique présentée dans le chapitre précédent, nous n'observons plus ici le comportement individuel d'une capsule, mais le comportement collectif d'un ensemble de capsules dispersées dans l'eau.

Plusieurs arguments ont guidé notre choix dans la réalisation de cette expérience. Au vu de la taille du dispositif expérimental, les capsules "classiques" de 4 mm de diamètre ne sont pas adaptées à la réalisation de l'expérience. De plus, le laboratoire a développé (notamment grâce au travail de thèse de Hugo Doméjean) un nouveau procédé de fabrication de capsules d'alginate monodisperses de taille submillimétrique. L'étude du comportement mécanique de ces capsules est donc pertinente car leur taille est parfaitement adaptée à la dimension du dispositif expérimental.

L'expérience présentée dans ce chapitre consiste à exercer une contrainte de compression non isotrope. Cette expérience s'inspire de l'étude de la rhéologie des dispersions fluide/fluide, et notamment de la mesure de l'élasticité d'émulsions ou de mousses concentrées par pression osmotique [Princen, 1986; Princen and Kiss, 1987; Mason et al., 1995, 1997]. Ces travaux ont montré qu'on pouvait écrire une équation d'état osmotique de la forme :

$$\Pi(\Phi) = \Pi_0 \; f(\Phi) \tag{8.1}$$

avec Π_0 égale à $\frac{\gamma}{r}$ et $f(\Phi)$ une fonction de la fraction volumique Φ de l'émulsion.

Par analogie avec les émulsions, nous avons chercher à savoir s'il était possible de déterminer une telle équation d'état pour les microcapsules d'alginate. Nous avons réalisé une expérience analogue de compression d'une dispersion concentrée de microcapsules à cœur huileux dans l'eau. La "pression osmotique" est une pression mécanique imposée par un piston sur

la colonne de capsules. Dans la partie suivante, nous décrivons cette expérience de compression d'une dispersion des microcapsules.

8.1 Description de l'expérience

8.1.1 Matériaux

Dans cette expérience, nous utilisons des capsules submillimétriques fabriquées par fragmentation d'un jet composé, dont le procédé a été décrit dans la partie 2.2.3.

On rappelle que les microcapsules sont constituées d'une membrane fine d'alginate à 2%. De plus, pour des raisons de contraintes expérimentales, nous avons choisi comme solution de cœur une huile minérale visqueuse (*Parol, Sonneborn*), que nous avons colorée en bleu pour une meilleure visibilité des capsules dans l'eau.

Le Tableau 8.1 regroupe les caractéristiques (diamètre, épaisseur de la membrane) pour les deux types de microcapsules utilisées dans cette expérience.

Tableau 8.1 – Caractéristiques des microcapsules utilisées dans l'expérience de compression.

Diamètre des capsules d_{caps} (μm)	550	550
Épaisseur de la membrane h (μm)	37	80
Ratio h/R	0,09	0,20

8.1.2 Protocole expérimental

Afin de déterminer l'équation d'état d'une dispersion concentrée de microcapsules, nous nous sommes inspirés des expériences d'élasticité des émulsions concentrées [Princen, 1986; Mason et al., 1995, 1997] comme décrit dans le chapitre 6. L'expérience consiste à appliquer une pression sur une dispersion concentrée de microcapsules (voir Figure 8.1). Pour cela, un masse de capsules ($m = 4$ grammes) est disposée dans une colonne contenant de l'eau. Les capsules étant constituées d'un cœur huileux, elles crèment à la surface de l'eau. Pour exercer une pression sur les capsules, un piston sans frottement est déposé sur la colonne de capsules. Lorsqu'on dépose une masse m_{piston} sur le piston, les capsules sont comprimées et l'eau est évacuée vers le haut du piston. La hauteur H de l'empilement de capsules est diminuée, et la fraction volumique Φ augmente.

La pression exercée sur les microcapsules est équivalente à la pression osmotique du système Π définie par Princen [1986]. On peut la calculer en fonction de la masse du piston :

$$\Pi = m_{piston} \times g \times S_{piston} \tag{8.2}$$

avec S_{piston} la surface du piston.

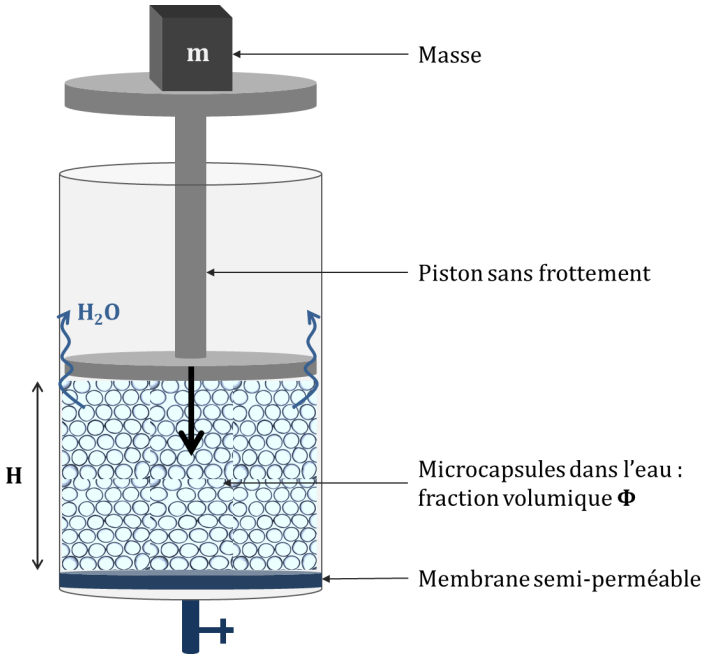


Figure 8.1 – Schéma de l'expérience de compression d'une pile de microcapsules d'huile dispersées dans l'eau par ajout d'une masse sur un piston sans frottement.

D'autre part, on peut calculer la fraction volumique des capsules Φ en fonction de la hauteur H telle que :

$$\Phi = \frac{m_{caps}/\rho_{caps}}{H \times S_{piston}}$$

avec m_{caps} la masse de microcapsules initialement introduite dans le système et ρ_{caps} la masse volumique d'une capsules.

La masse volumique ρ_{caps} peut être facilement calculée à partir du ratio entre les volumes des phases externe et interne et de leurs masses volumiques. Soit V_{alg} (respectivement V_{huile}) le volume d'alginate (respectivement le volume d'huile) dans une capsule et ρ_{alg} (respectivement ρ_{huile}) la masse volumique de l'alginate (respectivement celle de l'huile). On peut alors exprimer la masse volumique d'une capsule ρ_{caps} comme :

$$\rho_{caps} = \frac{\rho_{alg}V_{alg} + \rho_{huile}V_{huile}}{V_{alg} + V_{huile}}$$

$$= \frac{\rho_{alg} + \rho_{huile}R_q}{1 + R_q}$$

avec $R_q = \dfrac{Q_{huile}}{Q_{alginate}}$.

La masse volumique de l'alginate est égale à la masse volumique de l'eau, soit 1 g/cm^3. La masse volumique de l'huile (Parol, Sonneborn) est égale à 0,850 g/cm^3. Pour un ratio R_q égal à

3 on obtient une masse volumique de capsules ρ_{caps} égale à 0,8875 g/cm^3. De la même manière, pour un ratio R_q égal à 1, on obtient une masse volumique ρ_{caps} égale à 0,925 g/cm^3

Les capsules ont été préalablement séchées sur un tamis afin de peser une masse m_{caps} égale à 4 g. L'eau est ajoutée en excès dans le réservoir. On dépose ensuite le piston et les capsules se compriment entre le piston et le bas du réservoir. Nos expériences consistent à ajouter des masses sur le piston et de mesurer la hauteur de capsules H en fonction de la masse du piston m_{piston}. La partie suivante présente les résultats des différentes expériences réalisées avec ce dispositif.

8.2 Résultats

8.2.1 Relaxation temporelle

Lors des expériences de compression, la première question que l'on se pose est : combien de temps attendre après avoir appliqué la masse m_{piston} avant de faire la mesure de H ? Pour répondre à cette question, nous avons réalisé une expérience de relaxation, en filmant la variation de la hauteur de microcapsules H en fonction du temps, après l'application d'une masse de 630 grammes sur le piston. La même expérience a ensuite été réalisée avec des microbilles d'alginate à 2% sous l'application d'une masse de 304 grammes. La colonne de capsules a été filmée par une caméra PixelLink, et un traitement d'images (programme écrit avec MatLab) permet de tracer la hauteur H de capsules en fonction du temps.

La Figure 8.2 présente la courbe de variation temporelle de la hauteur de microcapsules et de microbilles H normalisée par la hauteur initiale H_0 (c'est-à-dire la hauteur de microcapsules (respectivement de microbilles) avant l'introduction du piston de masse $m_{piston} = 630$ g (respectivement 304 g)).

- Lorsque le piston est déposé sur les microcapsules, la hauteur H diminue rapidement : l'eau est éjectée puis le système relaxe ensuite la contrainte. En 1 minute, la hauteur est diminuée d'environ 30%. Au bout de 10 minutes, la hauteur H est quasiment constante. On observe une variation de moins de 1% entre 10 et 50 minutes. Cette variation de H est très faible devant la précision de la mesure et on considère que le système est stabilisé aux alentours de 10 minutes.
- Lorsque le piston est déposé sur les microbilles d'alginate, on constate que la relaxation est beaucoup plus lente et que le système n'est toujours pas stabilisé au bout de 5000 secondes. En effet, le gel se restructure sous la contrainte, les liens sont défaits et l'eau est expulsée du gel. On comprend que plus la membrane d'alginate est épaisse ($h/R \to 1$), plus la relaxation de la contrainte est lente : plus il y a de gel, plus il y a de liens de réticulation qui se restructurent et plus il y a de l'eau à évacuer.

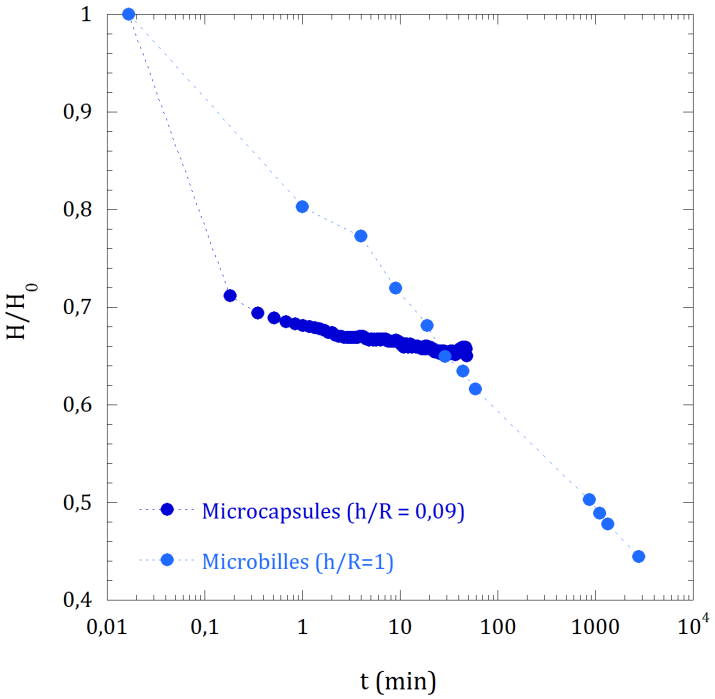


Figure 8.2 – Variation de la hauteur H de microcapsules et de microbilles normalisée par la hauteur initiale H_0 en fonction du temps après l'application d'un piston de masse égale 630 g (respectivement 304 g).

On rend compte grâce à cette expérience d'une propriété particulière de notre matériau soumis à une compression : à la différence des émulsions considérées comme parfaitement incompressibles, nous sommes ici en présence d'une membrane de gel dont l'eau peut être expulsée sous compression. Cette observation remet en question l'hypothèse d'un matériau incompressible ($\nu = 1/2$) que nous avons fait dans l'expérience de gonflement. Bien qu'il existe un régime élastique incompressible, lorsque la contrainte de compression devient très grande, la membrane peut être considérée comme un matériau compressible.

Dans les expériences suivantes, des masses d'environ 30 grammes sont déposées petit à petit sur le piston, et la mesure de H est effectuée après 10 minutes.

8.2.2 Équation d'état du système $\Pi = f(\Phi)$

Dans cette expérience, nous cherchons à déterminer l'équation d'état osmotique du système. Nous avons à disposition plusieurs masses que l'on dépose sur le piston (voir la Figure 8.1). Après avoir rempli le réservoir avec les capsules "séchées" et de l'eau en excès, le piston est déposé sur le système. La pression Π est augmentée progressivement par ajout de masses m_{piston}. Entre chaque masse, le système relaxe pendant une dizaine de minutes avant la mesure de la hauteur de capsules H. Nous avons voulu comparer l'équation d'état du système pour deux valeurs du ratio h/R. L'expérience a donc été réalisée pour les deux types de capsules présentées dans le Tableau 8.1.

La Figure 8.3 présente la variation de la hauteur de capsules H normalisée par la hauteur initiale H_0. On constate sur ces courbes que, à masse égale, les capsules dont la membrane est plus épaisse ($h/R = 0{,}2$) sont plus comprimées que celles dont la membrane est plus fine ($h/R = 0{,}09$). Ceci s'explique à nouveau par le fait que les membranes d'alginate sont compressibles, car l'eau est évacuée du gel sous l'effet de la compression. Ainsi plus la membrane est épaisse, plus la compressibilité du système est importante.

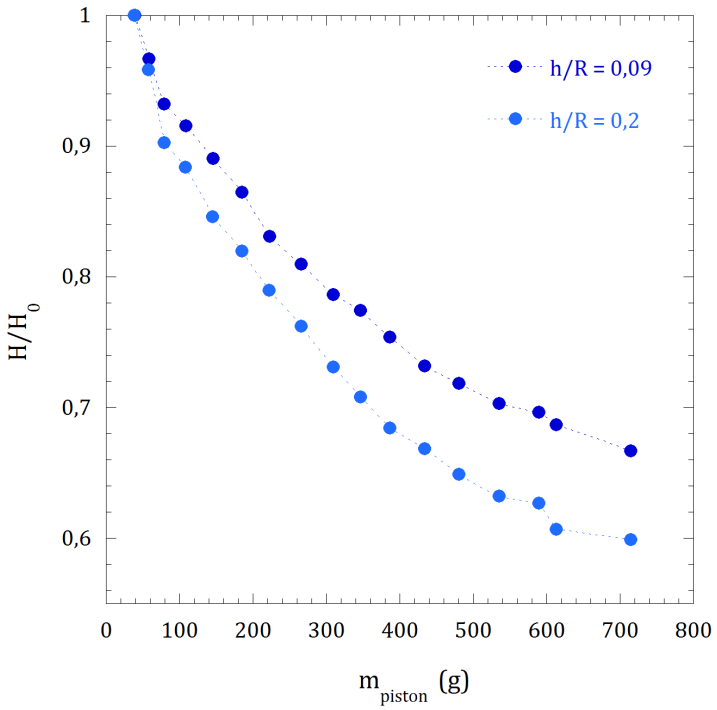


Figure 8.3 – Hauteur de la dispersion de capsules H normalisée par la hauteur initiale H_0 en fonction de la masse m_{piston}, pour deux ratios h/R.

À partir de ces données, nous pouvons tracer une équation d'état du système. Pour cela, la pression est calculée à partir de l'équation (8.2). D'autre part, on peut écrire :

$$\Phi = \Phi^* \frac{H_0}{H} \tag{8.3}$$

On fait l'hypothèse d'un empilement compact des capsules dans l'état initial ($\Pi = 0$) avec $\Phi^* = 0{,}6$. La mesure de l'empilement compact des capsules a été réalisé dans une autre expérience (voir le chapitre 9). On remarque que Φ^* est légèrement inférieur la compacité maximale de sphères parfaites ($\Phi^* = 0,64$). On peut l'expliquer par le fait que les microcapsules ne sont pas parfaitement sphériques. On obtient finalement la variation de Π en fonction de la fraction volumique de capsules Φ, et donc l'équation d'état osmotique $\Pi(\Phi)$ du système.

La figure Figure 8.4 présente les courbes $\Pi = f(\Phi)$ pour les deux types de capsules. Ces courbes présentent la même allure que celles obtenues pour une émulsion concentrée dans les travaux de Princen [1986] et Mason et al. [1997]. La pression osmotique augmente lorsque la fraction volumique augmente et elle diverge quand Φ tend vers 1. Lorsque aucune pression n'est

appliquée sur les capsules, la fraction volumique est égale à la compacité Φ^*.

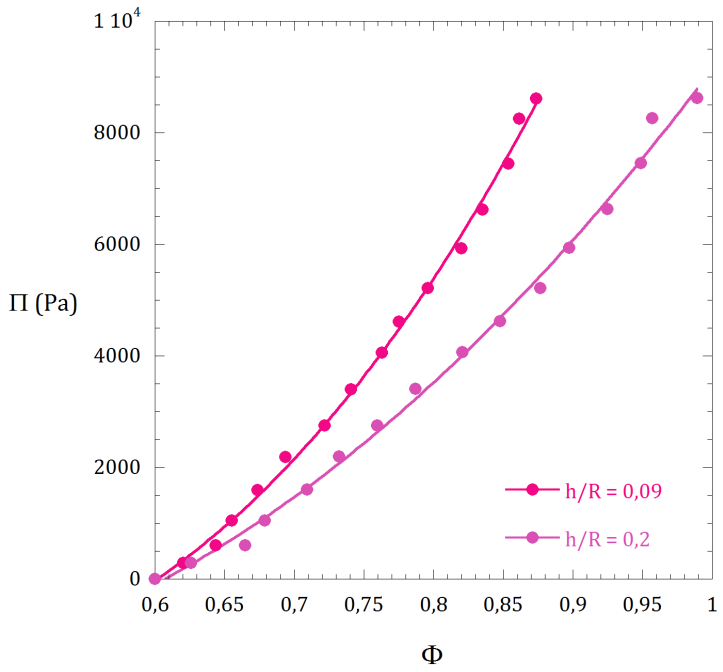


Figure 8.4 – Équation d'état d'une dispersion de capsules d'alginate pour deux ratios h/R. Les points expérimentaux ont été ajustés par l'équation $\alpha\Phi^{\beta}(\Phi - \Phi^*)$.

De plus, on peut ajuster les courbes avec une équation du type $\Pi_0\Phi^{\beta}(\Phi-\Phi^*)$, et on obtient un résultat différent selon la valeur du ratio h/R :

- Pour $h/R = 0{,}2$: $\Pi_0\Phi^{1,1}(\Phi - \Phi^*)$, avec $\Pi_0 = 23$ kPa.
- Pour $h/R = 0{,}09$: $\Pi_0\Phi^{1,6}(\Phi - \Phi^*)$, avec $\Pi_0 = 39$ kPa.

Les courbes d'ajustement sont comparables à celle obtenue par Mason et al. [1997] qui obtiennent un coefficient β égal à 2, et Mason et al. [1995], qui ajustent leurs données avec un coefficient β égal à 1.

Finalement, cette expérience de compression nous permet d'écrire une équation d'état du système du même type que celle déterminée dans les émulsions concentrées. Néanmoins, l'analyse de cette équation ne nous permet pas de déduire facilement une caractéristique mécanique du système telle que son élasticité. En effet, dans leur travaux, Mason et al. [1995] aboutissent à la détermination d'un module élastique des émulsions. Cependant notre système s'avère être trop complexe pour exprimer de manière évidente le module d'Young E en fonction des paramètres de l'équation d'état, et notamment de Π_0.

L'influence de l'épaisseur de la membrane d'alginate sur l'équation d'état témoigne de la complexité du matériau. Pour atteindre une fraction volumique similaire, il faudra comprimer la dispersion de microcapsules d'autant plus fort que la membrane est fine. On arrive ici à une observation contre-intuitive, puisqu'on s'attendrait à ce qu'une membrane plus épaisse se déforme moins (d'après l'expression $d \propto \dfrac{R^2}{h^5}$ introduite dans le chapitre 6).

Ce changement de comportement mécanique du gel dû à la perte d'eau peut également être observé dans le cas d'un test mécanique classique soumis à un changement de température : si la température augmente, on observe une augmentation du module d'Young, qui résulte d'une évaporation de l'eau dans le gel et d'un changement de sa structure [Anseth et al., 1996].

8.2.3 Élasticité du système et plasticité

Dans cette partie, nous avons cherché à mettre en évidence l'élasticité du système ainsi que sa plasticité. L'expérience consiste à mesurer la réponse élastique du système soumis à des variations de contrainte. Elle est réalisée avec les microcapsules de ratio h/R égal à 0,09. Concrètement, la hauteur de capsules H est mesurée après avoir déposé une masse m_1. Puis cette masse est enlevée pour revenir à une pression nulle : on observe alors si la hauteur H remonte à sa valeur d'origine. La même masse est à nouveau déposée, H est mesurée, puis la masse est enlevée : cette "oscillation" entre le système sous contrainte et le système sans contrainte est réalisée 10 fois. À la suite de ces 10 oscillations, une masse m_2 supérieure à m_1 est déposée sur les capsules, et 10 oscillations entre m_2 et m_1 sont à nouveau effectuées. Enfin, la même série de mesure est réalisée avec une masse m_3 (10 oscillations entre m_3 et m_2). À la fin de l'expérience, les masses sont enlevées progressivement pour revenir à l'état initial, c'est-à-dire sans aucune pression.

En résumé, l'expérience est semblable à l'expérience de mesure de l'équation d'état (partie précédente), avec ici seulement 3 paliers de pression (3 masses) appliqués au système et 10 aller-retours sont effectués entre chaque paliers afin de mesurer l'élasticité du système. Là encore, les mesures de la hauteur H sont effectuées après 10 minutes afin d'atteindre l'équilibre du système.

La Figure 8.5 présente le résultat de l'expérience décrite ci-dessus. La rapport H/H_0 est tracé en fonction de la masse du piston m_{piston}.

Le point initial correspond au système non soumis à une pression (il s'agit en fait de la masse du piston "à vide", négligeable devant les masses déposées ensuite). Le ratio H/H_0 est alors égal à 1. En déposant la première masse (environ 150 g), les capsules sont comprimées et la hauteur H diminue en conséquence, jusqu'à une valeur de 0,9 environ. On enlève ensuite la masse pour revenir à l'état de pression nulle initial, et on s'aperçoit que la hauteur de capsule ne revient pas à sa valeur initiale. H/H_0 se stabilise à 0,94 environ. Le système a donc dissipé de l'énergie : on a mis en évidence sa plasticité. Lorsqu'on dépose à nouveau la masse m_1 et que l'on oscille ensuite entre cette masse et 0, le système est élastique et H/H_0 oscille entre les mêmes valeurs (aux incertitudes de mesure près). On observe ici l'élasticité du système.

La masse du piston est ensuite augmentée ($m_2 \simeq 300$ g) et là encore on observe une perte irréversible du système, puis une partie élastique. Enfin, on observe les mêmes phénomènes d'irréversibilité et d'élasticité pour une masse m_3 d'environ 540 grammes.

À la fin de l'expérience, toutes les masses sont ôtées et le système se trouve à nouveau dans son état de contrainte initial, c'est-à-dire non soumis à une pression. Cependant, la hauteur H/H_0 ne retrouve pas sa valeur d'origine. Les capsules restent "compactées" et H/H_0 se stabilise à une valeur de 0,79.

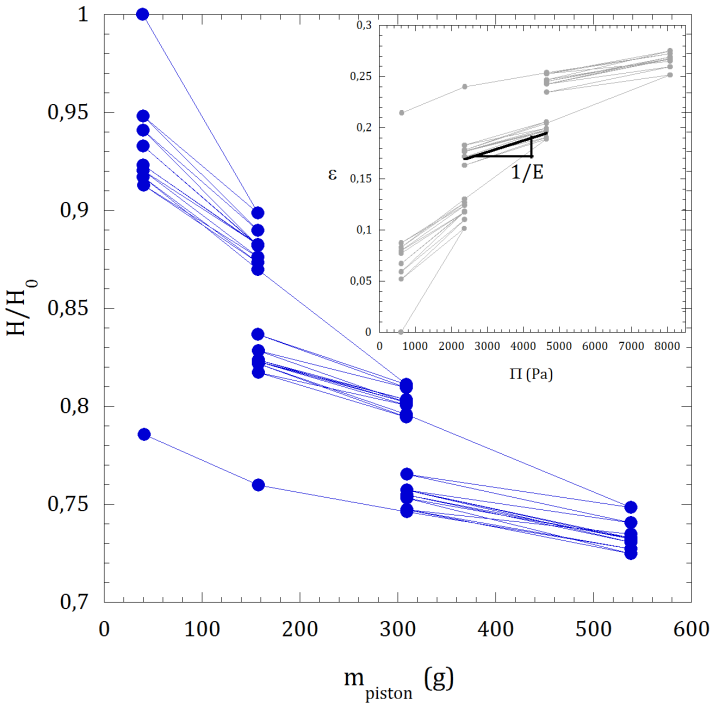


Figure 8.5 – Variation de hauteur de capsules H normalisée par la hauteur initiale H_0 en fonction de la masse du piston m_{piston}. ***Inséré*** : Variation de l'allongement ϵ en fonction de la pression Π appliquée sur les capsules.

Deux observations importantes sont à retenir de la courbe de la Figure 8.5 :

- L'irréversibilité que l'on observe à chaque ajout d'une masse sur le système est liée à la compressibilité du gel et à l'expulsion de l'eau. Ainsi, à chaque nouvelle pression appliquée, une quantité d'eau est expulsée du gel et l'alginate est concentré : la structure du gel change. Ceci explique l'impossibilité de déduire de l'équation d'état un module d'Young de la membrane, puisque cette membrane est rigidifiée à chaque point.
- Dans les zones d'oscillations, on observe le régime élastique du système. On peut donc déduire pour chacune des trois zones un module d'Young, qui correspond au module d'élasticité global de la colonne de capsules comprimées. Dans l'hypothèse d'une loi de Hooke simple, on peut écrire :

$$\epsilon = \frac{1}{E}\Pi$$

avec ϵ la déformation du système égale à $1 - \frac{H}{H_0}$. Ainsi, pour chaque zone d'élasticité, la pente de la courbe insérée dans la Figure 8.5 nous donne une estimation du module d'Young. Le Tableau 8.2 présente les valeurs des modules d'élasticité E du système sous compression pour chacune des trois masses appliquées.

Pour chaque masse, la structure du gel est modifiée, et donc sa résistance mécanique également. Plus la masse appliquée sur les capsules est grande, plus la quantité d'eau expulsée est importante, et donc plus la concentration locale en alginate dans les membranes est importante : la densité de réticulation augmente, donc M_c diminue. Comme $E \propto 1/M_c$, le module élastique

augmente lorsque la masse augmente.

Tableau 8.2 – Modules d'Young E des trois régimes élastiques du système correspondant aux différentes masses m_{piston}.

m_{piston} (g)	150	300	550
E (kPa)	40	100	148

D'autre part, cette expérience a permis de mettre en évidence l'hystérèse du système. La courbe de l'allongement ϵ en fonction de la m_{piston} a été représentée de manière schématique sur la Figure 8.6.

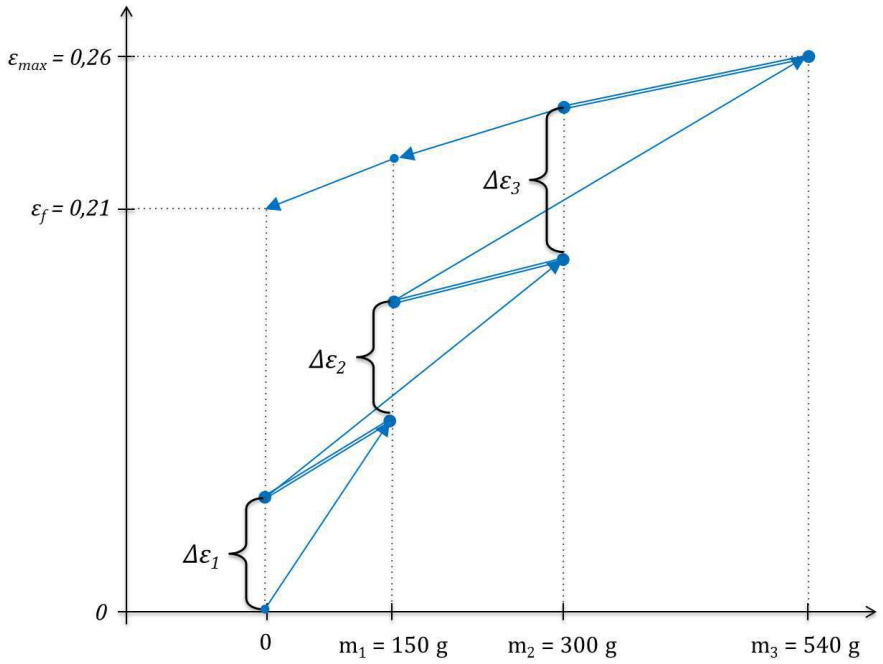


Figure 8.6 – Schéma de la courbe d'hystérèse du système. ***Inséré :*** Courbe expérimentale correspondante.

À chaque ajout d'une masse sur les capsules, on observe un saut $\Delta\epsilon_i$. La courbe présente trois "paliers" qui correspondent aux trois masses déposées sur le piston. Les trois régimes élastiques de chaque état du gel sont représentées par les lignes doubles sur la Figure 8.6. Ces $\Delta\epsilon$ traduisent une dissipation dans le système due au réarrangement de la membrane de gel et à l'expulsion de l'eau. L'alginate est concentré et les points de réticulation se réarrangent à l'intérieur du gel. L'allongement final ϵ_f correspond à la déformation résiduelle à la fin de l'expérience, lorsque la pression exercée sur les capsules a été relâchée. Il est égal à la somme $\Delta\epsilon_1 + \Delta\epsilon_2 + \Delta\epsilon_3$. Cette déformation ϵ_f donne la plasticité totale du système : la structure du gel a été modifiée, et l'eau ne regonfle pas les membranes lorsque la pression diminue.

Comparaison avec l'expérience de gonflement osmotique : La membrane de gel d'alginate n'a pas le même comportement mécanique lorsqu'elle est soumise à une contrainte isotrope (comme dans le gonflement osmotique) ou à une contrainte de compression anisotrope. La plasticité du gel est supérieure dans le cas où il est soumis à une compression. Ceci est dû au phénomène d'expulsion de l'eau du réseau et à la concentration locale en polymère. On peut illustrer ce phénomène par le schéma de la Figure 8.7. La diminution du volume due à la compression locale et à l'expulsion de l'eau entraîne une rigidification de la structure du gel qui est irréversible. Lorsque le gel est étiré par une contrainte isotrope, il est incompressible et la plasticité est liée au réarrangement des liens de réticulation.

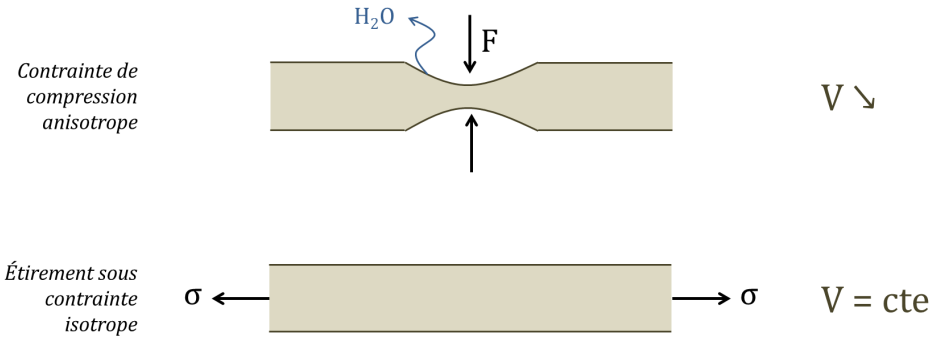


Figure 8.7 – Lorsque le gel est soumis à une compression anisotrope, l'eau est expulsée du gel et son volume diminue. Soumis à un allongement isotrope, le gel est étiré mais son volume reste constant. La plasticité est plus grande dans le premier cas.

Comparaison avec les émulsions concentrées : Au fur et à mesure que la pression augmente, les capsules sont de plus en plus déformées et il est raisonnable de supposer que lorsque Φ approche 1, toutes les capsules sont devenues polyédriques (comme dans une mousse) et la surface totale de membrane a été augmentée. Princen [1986] ont montré que pour une émulsion monodisperse incompressible, on peut admettre que la surface totale a été augmentée de 10% lorsque Φ s'approche de 1 :

$$\frac{S_\infty}{S_0} \simeq 1,10$$

Dans notre expérience, il n'est pas possible d'estimer une variation de surface car le gel se comporte comme un matériau compressible lorsqu'il est comprimé. De plus, les capsules ont été déformées plastiquement et on observe une déformation résiduelle (voir la Figure 8.8).

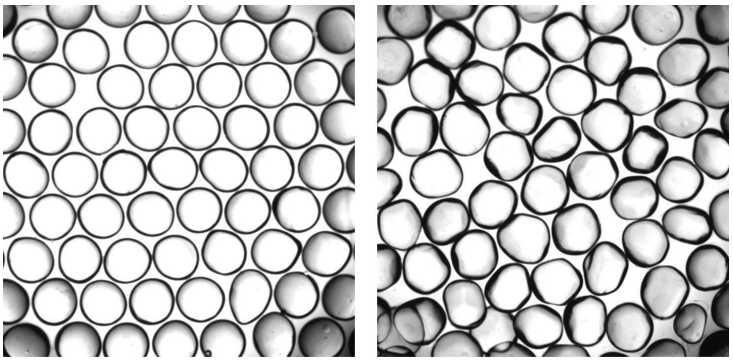


Figure 8.8 – Photo des microcapsules avant et après l'expérience de compression. Le diamètre initial des capsules est de 550 μm.

8.3 Conlusion

Dans ce chapitre, nous avons présenté une expérience de compression d'un empilement de microcapsules. Nous avons cherché à sonder le comportement mécanique d'une collection de capsules d'alginate, à la manière des travaux effectués sur les émulsions concentrées.

Comme pour les émulsions, nous avons déterminé une équation d'état du système $\Pi = f(\Phi)$. Cependant, nous n'avons pas pu en déduire un module d'élasticité des capsules. En effet, les capsules d'alginate sont des matériaux complexes : soumise à une compression, la membrane d'hydrogel subit une perte d'eau irréversible. Le polymère est concentré et la structure de la membrane est rigidifiée.

La réalisation d'une courbe d'hystérèse nous a permis de mettre en avant la plasticité du système ainsi que ses régimes élastiques. Nous avons déterminé un module d'Young global du système qui est d'autant plus grand que la pression est élevée.

Finalement, la réponse mécanique d'une membrane d'hydrogel dépend du type de contrainte appliquée : la plasticité du système est supérieure dans le cas d'une compression (conséquence de la compressibilité du gel) que dans le cas d'un étirement de la membrane sous pression.

Conclusion sur la mécanique

Dans cette troisième partie, nous nous sommes intéressés au comportement mécanique des capsules à membrane d'alginate soumises à différents types de contraintes.

Tout d'abord, nous avons présenté une expérience de gonflement d'une capsule unique soumise à une contrainte isotrope. La membrane semi-perméable permet d'encapsuler un polymère de grande taille dans le cœur de la capsule. Lorsqu'elle est plongée dans l'eau pure, elle se comporte comme un sac de dialyse. La différence de pression osmotique induit une diffusion de l'eau vers le vers le cœur. Cette diffusion entraîne un gonflement de la capsule que l'on a mesuré afin d'étudier le comportement mécanique de la membrane.

Lorsque la pression osmotique est très grande, la capsule se déforme jusqu'à rupture de la membrane, puis relaxe jusqu'à une déformation résiduelle. Nous avons mis en évidence les régimes viscoélastique et viscoplastique de la membrane. Pour une faible déformation rupture, la déformation résiduelle est nulle : la capsule a subit une déformation viscoélastique. Lorsque la déformation maximale atteint une valeur seuil ($\epsilon^* \simeq 0,08$), la déformation résiduelle est non nulle : la capsule a subit une déformation plastique. La structure du gel a été modifiée de manière irréversible par réorganisation des liens de réticulation du gel physique (*"dezipping"* des structures type "boites d'œufs"). Nous montrons également que la déformation plastique est d'autant plus importante que la déformation maximale est grande. Lorsque la pression osmotique est plus faible, la capsule se déforme jusqu'à atteindre une déformation maximale d'équilibre qui correspond au régime élastique de la membrane. Cette déformation maximale nous a permis d'estimer un module d'Young E moyen dont la valeur est comparable à celle mesurée dans la littérature [Alessandri et al., 2013]. Nous avons également vérifié que la déformation est inversement proportionnelle au ratio h/R ($\sigma \propto R/h$) et qu'elle diminue lorsque la concentration en alginate augmente ($E \propto 1/M_c$). Le calcul du module élastique E en fonction de la déformation nous a confronté aux limites du procédé de fabrication, et notamment au fait que l'épaisseur de la membrane dépend fortement de la rhéologie de la solution de cœur.

Nous nous sommes ensuite penchés sur le comportement mécanique d'une collection de

microcapsules fabriquées par fragmentation d'un jet composé. Nous avons mis au point un expérience de compression d'une colonne de microcapsules à cœur huileux dans l'eau. Nous avons déterminé une équation d'état de notre système. Néanmoins, cette équation d'état ne nous a pas permis d'en déduire les propriétés d'élasticité du gel de manière évidente. En effet, cette expérience a permis de rendre compte de la compressibilité du matériau : soumis à une contrainte de compression, la structure de l'hydrogel est rigidifiée de manière irréversible par l'expulsion de l'eau contenue dans le réseau. Nous avons ensuite mis en évidence la plasticité du système ainsi que son élasticité par une expérience de compression/décompression. Cela nous a permis d'estimer un module E du matériau global et de montrer qu'il est lié à la compressibilité de l'hydrogel : en effet, il augmente lorsque la pression appliquée et l'épaisseur de la membrane augmentent.

En conclusion, ces deux types d'expériences ont permis de montrer que le comportement mécanique de la membrane d'alginate dépend du type de contrainte. Le gel devient compressible lorsqu'il est soumis à une contrainte de compression, et sa déformation plastique est plus importante à celle induite par un contrainte isotrope (gonflement).

L'analyse des différents comportements mécaniques des capsules d'alginate est essentielle au regard de leurs applications potentielles dans les biotechnologies. Le procédé de gonflement osmotique peut être appliqué en biologie avec des microcapsules qui sont utilisées comme capteur de force lors de la croissance d'amas cellulaire [Alessandri et al., 2013]. En cosmétique, les capsules utilisées pour l'encapsulation de principes actifs peuvent être soumises à une différence de pression osmotique lorsqu'elles sont plongées dans une phase continue. De plus, les microcapsules concentrées peuvent être soumises à une compression (sous l'effet de la gravité par exemple) lorsqu'elles sont stockées dans des flacons.

Après avoir mis en avant les différents comportements mécaniques de ces objets soumis à différentes contraintes, nous nous intéressons dans la partie suivante aux propriétés d'écoulement des microcapsules dans l'eau.

Quatrième partie

Écoulement de microcapsules d'alginate

Introduction

Après s'être intéressé aux comportements mécaniques de la membrane d'alginate et à la résistance mécanique des capsules soumises à une compression, nous nous focalisons dans cette partie sur le comportement de microcapsules à cœur huileux dans un écoulement. Grâce à leur grande stabilité dans l'eau, leur résistance mécanique, leur perméabilité et leur attrait esthétique, les microcapsules d'alginate sont des matériaux à fort potentiel, que ce soit dans les domaines des biotechnologies ou de la cosmétique. Quelle que soit leur utilisation, les microcapsules sont dispersées dans une phase liquide et seront potentiellement en écoulement (dans un canal millifluidique en biotechnologie, ou dans un flacon de cosmétique par exemple). Par conséquent, il est nécessaire de se pencher sur la manière dont s'écoulent ces objets.

De part leur taille et leur membrane rigide, les microcapsules s'apparentent à un milieu granulaire. Nous nous sommes donc posés la question de savoir si une dispersion concentrée de microcapsules dans l'eau allait s'écouler de la même manière que du sable, ou allait à l'inverse se comporter comme un milieu totalement liquide. On sait que l'écoulement du sable dans une constriction (un sablier par exemple) est régit à la fois par la friction solide entre les grains et le flux d'air qui traverse le poreux constitué de sable. En conséquence le flux de l'écoulement constant et indépendant de la hauteur de la colonne de sable. Retrouve-t-on le même type de comportement dans l'écoulement de microcapsules concentrées ?

Pour tenter de répondre à cette question, nous avons imaginé un "sablier" dans lequel s'écoule une dispersion de microcapsules à cœur huileux dans l'eau. À l'instar des granulaires classiques, nous avons observé une vitesse d'écoulement constante et indépendante de la hauteur du poreux de capsules, et qui dépend du diamètre du col du sablier. Nous avons ensuite cherché à expliquer la physique qui régit cet écoulement en réalisant des expériences de lit fluidisé et de crémage dans un tube à section constante.

CHAPITRE 9

Les microcapsules comme milieu granulaire : écoulement dans un "sablier liquide"

Avant de nous pencher sur l'écoulement des microcapsules, nous nous sommes posé la question de l'existence d'une friction "solide" entre ces dernières, de la même manière que la friction solide dans les granulaires classiques. Nous nous sommes donc dans un premier temps intéressé au comportement statique d'un volume de microcapsules dans l'eau, et nous avons montré l'existence d'un angle de repos égal à l'angle de talus d'un granulaire, mettant ainsi en évidence un coefficient de friction statique.

9.1 Friction statique entre les microcapsules

Le comportement des milieux granulaires et notamment leur écoulement est très dépendant des propriétés mécaniques de leurs constituants. Les phénomènes de fluidisation, décompaction, blocage par effet d'arches et les différents modes d'écoulement sont très largement déterminés par la nature et l'importance des interactions entre les grains et avec les parois du récipient. Autrement dit, dans les milieux granulaires secs, le comportement est régit par la dissipation locale de l'énergie. Néanmoins, bien que la physique des interactions solide-solide s'avère indispensable à la compréhension des milieux granulaires, elle est encore très peu maîtrisée [Duran, 1997].

Nous cherchons ici une analogie entre les microcapsules d'alginate et les matériaux granulaires classiques. Nous nous contenterons dans cette partie de modèles simples pour décrire succinctement les phénomènes de frottement entre solides et dans les milieux granulaires.

9.1.1 Le frottement solide

Les lois macroscopiques du frottement solide sont d'origine expérimentale et régissent la statique et le mouvement de deux solides en contact. Au XVII^{e} siècle, Léonarde de Vinci a été le premier à faire l'observation que pour mettre en mouvement un solide posé sur un autre, il faut exercer une force tangentielle qui ne dépend pas de la surface de contact, mais qui est proportionnelle à la force qui presse les deux solides l'un contre l'autre [Duran, 1997].

Considérons un solide posé sur une surface inclinée (Figure 9.1). Lorsque le solide est en équilibre sur la surface inclinée, les forces $\overrightarrow{P}$ et $\overrightarrow{R}$ sont égales. Ainsi :

$$P\cos\theta = R_N$$
$$\text{et, } P\sin\theta = R_T$$

Lorsque l'angle θ augmente et devient égal à θ_0, le solide se met à glisser et on a alors :

$$\frac{R_T}{R_N} = \tan\theta_0 = \mu_s$$

μ_s est le coefficient de frottement statique. Ce coefficient de friction statique dépend très peu de la nature des matériaux solides en contact. Ainsi, la friction métal/métal est caractérisée par un coefficient μ_s de l'ordre de 1, la friction roche/roche par un coefficient de l'ordre de 0,7 et la friction papier/papier par un coefficient de l'ordre de 0,4 [Duran, 1997]. Néanmoins, les coefficients de friction dans les gels de polymères sont sensiblement plus faibles que pour des solides. De manière générale, dans ses travaux sur la friction dans les hydrogels, Gong [2006] a montré que leur coefficient de friction μ peut varier entre 10^{-3} et 10^{-4}.

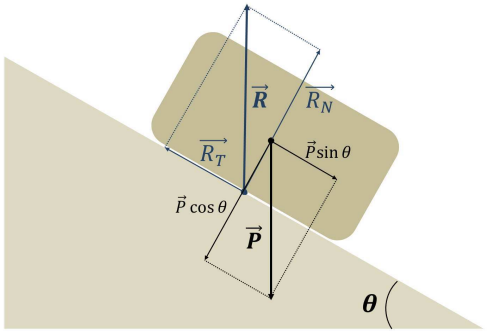


Figure 9.1 – Schéma d'un solide en équilibre sur une surface inclinée.

9.1.2 Friction dans un granulaire et angle de talus

L'angle de repos distingue les matériaux granulaires des fluides. Lorsqu'on incline un verre contenant un liquide, la surface libre reste horizontale de sorte qu'elle corresponde à une surface isobare. Si on réalise la même expérience avec un milieu granulaire comme du sable, l'effet sera différent : le sable tourne avec le verre et sa surface libre forme un angle avec l'horizontale.

Tout le monde a déjà observé qu'il est impossible de réaliser avec du sable sec des parois verticales, ou très inclinées par rapport à l'horizontale. Si on cherche à donner au tas de sable une inclinaison dépassant une certaine valeur critique, celui s'écroule jusqu'à présenter une pente d'angle déterminé qui se trouve être dans la majorité des cas, proche de 35° [Duran, 1997]. Cet angle est appelé "angle de talus".

C'est ce que nous observons en versant des grains sur une surface par un entonnoir. Les grains qui tombent sous l'effet de la pesanteur forment un tas conique. En arrivant sur le sommet, ils se déversent par saccades sur les flans du tas et le tas grandit tout en gardant le même angle limite. L'angle de talus reste ainsi le même quelle que soit la taille du talus (cf Figure 9.2). Stegner and Wesfreid [1999] ont obtenu des résultats similaires pour un granulaire dans l'eau.



Figure 9.2 – Illustration d'écoulement de sable formant un tas dont l'angle de talus est égal à 35° environ [Duran, 1997].

Dès le XVIII^{e} siècle, Charles de Coulomb, spécialiste du frottement solide, établi un modèle reposant sur l'idée que deux nappes adjacentes d'un matériau granulaire sec ne peuvent être mises en mouvement par cisaillement l'une par rapport à l'autre qu'en les inclinant d'un angle θ tel que $\theta = \arctan \mu_s$. Par analogie avec le frottement solide, μ_s est un coefficient caractéristique du frottement nappe-nappe du granulaire déterminé par la tangente de l'angle de talus, qui est proche 35° quel que soit le type de matériau granulaire. [Duran, 1997].

9.1.3 Friction entre microcapsules

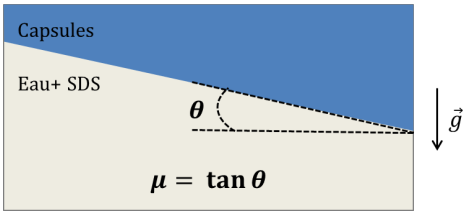
Nous avons constaté qu'il existait également un angle de repos dans les échantillons de capsules dispersées dans l'eau. En s'écoulant sur une surface plane, les capsules forment un tas pyramidal, à la manière du sable (voir la Figure 9.3).

De la même manière, si on incline délicatement un échantillon de microcapsules dans l'eau, elles sont mises en mouvement et la surface libre du tas de capsules forme finalement un angle non nul par rapport à l'horizontale. Tout comme dans un milieu granulaire, il existe un angle de repos dans les microcapsules d'alginate permettant de calculer un coefficient de friction $\mu_s = \tan \theta$ (voir Figure 9.4(a)). La présence d'un angle de repos dans un échantillon de microcapsules permet d'affirmer qu'il existe une friction entre les capsules, probablement due à la présence de la membrane de gel d'alginate.

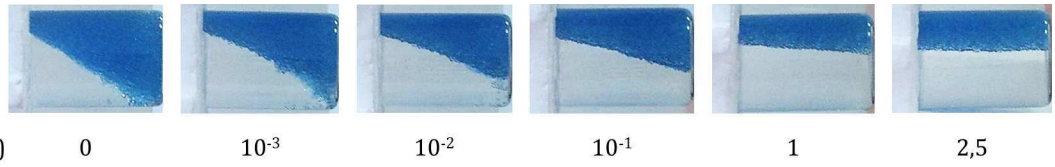


Figure 9.3 – Photo de capsules formant un tas dont l'angle de talus est environ égal à 35°. Les capsules composées d'un cœur huileux remontent sous l'effet de la poussée d'Archimède.

Nous nous sommes aperçus qu'il était possible de changer la friction dans les microcapsules en changeant leurs propriétés d'interface. En effet, en ajoutant un tensioactif ionique dans la phase continue, nous avons réussi à supprimer la friction et à passer d'un milieu granulaire à un liquide, où l'angle de friction est nul. La Figure 9.4(b) présente des clichés du tas de capsules à l'équilibre pour différentes quantité de SDS dans l'eau. On remarque que l'angle de repos des capsules diminue lorsque la quantité de SDS est augmentée.



(a)



(b)

Figure 9.4 – **(a)** Schéma de l'expérience définissant l'angle de friction et le calcul du coefficient de friction. **(b)** Photo de l'expérience de variation de l'angle de friction en fonction de la concentration en SDS dans la phase continue.

La Figure 9.5 présente les résultats de l'expérience de friction des microcapsules. Elle donne l'angle de friction θ et le coefficient de friction μ_s des microcapsules en fonction de la concentration en SDS dans la phase continue. On observe sur cette courbe qu'en ajoutant du SDS, l'angle et donc le coefficient de friction diminuent. Dans l'eau pure, l'angle de repos est d'environ 35° et μ_s est environ égal à 0,7. On trouve donc ici un angle de repos égal à l'angle de talus des granulaires. Pour une concentration en SDS de 2,5 mM , on ne peut plus mesurer d'angle de repos et le coefficient de friction devient très faible. D'autre part, l'expérience nous a montré que pour des concentrations en SDS supérieures à 2,5 mM, la membrane d'alginate

était gonflée par la présence du contre-ion sodium. Cette augmentation de volume change alors la cohésion du système ainsi que sa dynamique (la remontée du tas de capsules est beaucoup plus lente). La concentration maximale de SDS qui permet d'annuler la friction sans pour autant changer le volume ou l'état du gel est donc égale à 2,5 mM.

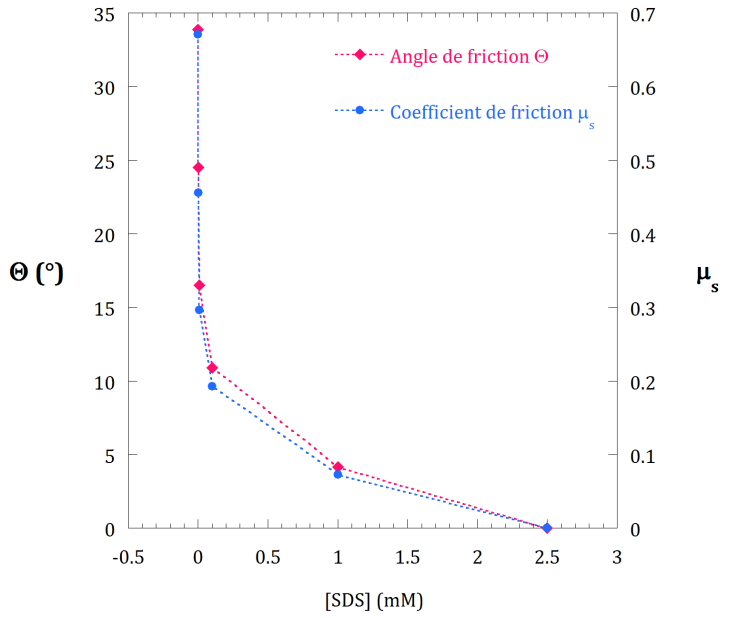


Figure 9.5 – Variation de l'angle de friction θ et du coefficient de friction μ_s des microcapsules en fonction de la concentration en SDS dans la phase continue.

Dans ce paragraphe, nous avons montré qu'une suspension macroscopique de microcapsules à membrane d'alginate peut se comporter comme un milieu granulaire. La présence d'une membrane "solide" d'hydrogel confère au système un angle de repos non nul dans l'eau pure et donc un coefficient de friction. Néanmoins, il est possible de modifier cette friction et de passer d'un système granulaire à un liquide (angle de repos et coefficient de friction nuls) par lubrification des interfaces entre les capsules.

Cette caractéristique des microcapsules nous a amené à nous interroger sur leur manière de s'écouler. Le comportement est-il celui d'un liquide ou d'un milieu granulaire ? L'écoulement est-il comparable à celui du sable dans un sablier ? Nous nous sommes donc intéressé à la manière dont les microcapsules s'écoulent dans une constriction, et pour ce faire, la manière la plus simple a été d'imaginer des "sabliers liquides" contenant les microcapsules dans l'eau.

9.2 Écoulement dans un "sablier liquide"

9.2.1 Introduction

Bien que les sabliers soient utilisés depuis le Moyen-Age, la physique de l'écoulement des grains demeure peu facile à comprendre. Le sablier est un minuteur préréglé dépendant de l'écoulement de particules solides dont le flux est constant. Il est à distinguer de la clepsydre qui

utilise un écoulement de liquide dont le flux dépend de la pression hydrostatique. Les premiers sabliers ont été inventés dans l'Europe médiévale, contrairement aux clepsydres connues depuis l'Égypte, la Grèce et la Rome antiques.

Bien que le nom de sablier fasse référence au sable à proprement parlé, d'autres types de particules ont déjà été utilisées, comme par exemple des billes de verre, la poudre de marbre ou même des coquilles d'œufs broyées ! Néanmoins, les recettes historiques mettent l'accent sur le fait que qu'elle que soit sa nature, le matériau granulaire doit être proprement lavé, séché et tamisé avant son utilisation. Traditionnellement, un sablier consiste à connecter deux ampoules de verre partiellement remplies de grains par un petit trou au niveau d'un goulot étroit [Mills et al., 1996].

Ces dernières années, les sabliers ont gagné un intérêt croissant dans la communauté des physiciens puisqu'ils constituent un système pratique et simple à mettre en oeuvre dans l'étude des écoulements granulaires [Veje and Dimon, 2001]. En effet, malgré de nombreuses investigations, l'écoulement des matériaux granulaires comme le sable ou les poudres, demeurent très peu compris. Cela vient en partie du fait que l'état granulaire est un état singulier de la matière, ni liquide ni solide. Dans un sablier classique, le sable coule de manière continue à la manière d'un fluide, mais le flux reste constant durant l'écoulement. Cette stabilité remarquable du flux est le résultat d'un "effet d'arche" qui transfère les contraintes au niveau des parois. Cet effet n'existe pas dans les liquides, où la pression varie de manière continue avec la hauteur de la colonne de fluide [Wu et al., 1993]. Le fait que le flux soit indépendant de la hauteur de la colonne de sable est une caractéristique typique des écoulements granulaires qui a notamment mené à l'invention des silos, qui permettent de stocker une grande quantité de grains dans des colonnes très hautes sans que tout le poids de la colonne ne soit ressentie à sa base.

De manière générale, les études d'écoulements granulaires dans les silos ou dans les sabliers ne donnent que des lois empiriques. La dépendance du temps d'écoulement en fonction de la différence entre le diamètre de col du sablier et le diamètre des particules (D_{col} - d_{part}) a été observée dans les travaux de Mills et al. [1996]. Ils ont notamment montré que le temps d'écoulement de particules sphériques dans un sablier pouvait s'écrire :

$$t = K \times \frac{V}{(D_{col} - d_{part})^{2,5}} \tag{9.1}$$

avec V le volume total de particules en mL et K une constante de proportionnalité dépendant de la forme du sablier. Cette expression est directement dérivée de la loi de Beverloo [Beverloo et al., 1961] : dans une publication de référence sur l'écoulement de milieux granulaires à travers un orifice, Beverloo et al. [1961] ont montré que le débit massique W peut s'exprimer en fonction du diamètre de l'orifice D et celui des particules d selon l'expression :

$$W = C\ \rho_c\ g^{1/2}\ (D - kd)^{2,5}$$

avec ρ_c la densité de la phase continue, g l'accélération due à la gravité, C et k des constantes empiriques. Pour des particules sphériques monodisperses, k peut être pris égal à 1 [Mills et al., 1996].

Dans son ouvrage, Nedderman [2005] présente les travaux réalisés sur les écoulements de granulaires dans un cône, appelé *Hour-Glass Theory*. La principale conclusion théorique est que le débit volumique de l'écoulement est effectivement indépendant de la quantité initial de matériau dans le réservoir. Finalement, la théorie du sablier permet une excellent prédiction qualitative de la dépendance du débit en fonction de la densité, de la gravité, du diamètre de l'orifice, de la pente du cône et de l'angle de friction interne. Cependant, il s'avère que cette théorie ne prédit pas de manière quantitative l'écoulement, puisque les calculs donnent des valeurs typiquement deux fois supérieures à celle observées en pratique [Nedderman, 2005].

Wu et al. [1993] ont été les premiers à montrer expérimentalement que les oscillations dans l'écoulement des sabliers n'est pas uniquement une conséquence des effets d'arches, mais résulte d'un couplage entre l'écoulement du sable et le contre-flux de l'air à travers le poreux de sable. Le système à considérer est donc un système d'écoulement à deux phases, avec un couplage entre les grains et le flux d'air. L'explication théorique de ce problème pose encore aujourd'hui de nombreuses questions. Néanmoins, des modèles empiriques simples peuvent être utilisés, comme dans les travaux de Wu et al. [1993] et Muite et al. [2004] qui considèrent l'écoulement d'air comme un écoulement de Darcy. Wu et al. [1993] ont été les premiers à montrer que le flux intermittent d'un sablier apparait uniquement pour des valeurs du paramètre R/r comprises dans une gamme limitée, c'est-à-dire lorsque $2 < R/r < 12$, où R est le rayon de l'orifice du sablier et r est le rayon des grains de sable. Pour des grosses particules ($R/r \simeq 2$), l'écoulement est discontinu à cause de la formation d'arches stables en amont de l'orifice. Lorsque les particules sont très petites ($R/r > 12$), l'écoulement est également discontinu à cause de très fortes interactions inter-granulaires. Dans le régime intermittent, la période des oscillations est remarquablement indépendante de la taille des particules, alors que la masse de particules qui tombent pendant une période en dépend fortement.

Nous avons donc cherché à comparer l'écoulement des microcapsules d'alginate avec les résultats empiriques observés dans l'écoulement des granulaires "classiques". Nous avons donc imaginé un " sablier liquide" contenant de l'eau et des microcapsules d'alginate à cœur huileux comme particules. Les capsules possédant un cœur huileux moins dense que l'eau, elles ne vont pas tomber comme dans un sablier classique, mais monter sous l'effet de la pesanteur.

9.2.2 Matériaux

La fabrication des sabliers a été réalisée avec l'aide d'un verrier, par chauffage et étirement de tubes de verre. Quatre différents sabliers ont été commandés au verrier, chacun ayant un diamètre de col différent. Le Tableau 9.1 donne le nom de chaque sablier ainsi que le diamètre du col correspondant D_{col}. Pour assurer un écoulement continu, nous devons nous assurer d'un diamètre minimal de col par rapport à celui des capsules. Nos expériences ont montré un blocage de l'écoulement lorsque le diamètre de col devient 3,5 fois inférieur au diamètre des capsules. Ce phénomène correspond probablement à la formation d'arches stables, que l'on observe dans les granulaires classiques lorsque le ratio entre D_{col} et le diamètre moyen des grains d devient inférieur à 4 [Mills et al., 1996].

Tableau 9.1 – Nom des sabliers utilisés dans les expériences ainsi que leurs diamètres respectifs D_{col} et D.

Nom du sablier	Sablier A	Sablier B	Sablier C	Sablier D
D_{col} (mm)	2,18	2,86	3,17	3,86
D (mm)	14	14	12,5	14

Les microcapsules à cœur huileux utilisées dans les expériences d'écoulement ont été présentées dans le chapitre 2. Elles ont été fabriquées par la technique de fragmentation d'un jet composé d'une phase externe d'alginate et d'un cœur d'huile minérale (Parol, Sonneborn) dans les mêmes conditions expérimentales que celles décrites dans la partie 8.1.1. Deux diamètres de capsules ont été utilisées dans les expériences d'écoulement (cf Tableau 2.2 pour les conditions expérimentales) :

$$d_{caps} = 412 \text{ et } 550 \ \mu\text{m}$$

Un volume total V_{caps} de microcapsules égal à 2 mL est introduit dans chacun des sabliers. On ajoute ensuite l'eau en prenant soin de chasser toutes les bulles d'air, qui auraient pour conséquence de bloquer l'écoulement des capsules dans le col. La Figure 9.6 présente un schéma ainsi qu'une photo d'un "sablier liquide" rempli de microcapsules. L'huile a été colorée en bleu (*Fat Blue*) pour une meilleure visibilité. Il faut bien entendu garder à l'esprit que les capsules étant composées d'un cœur huileux, leur densité est inférieure à celle de l'eau et les capsules remontent dans le sablier (la densité des capsules est égale à $\rho_{caps} = 0{,}8875$ g/mL). On a donc affaire à un sablier "liquide" et "inversé".

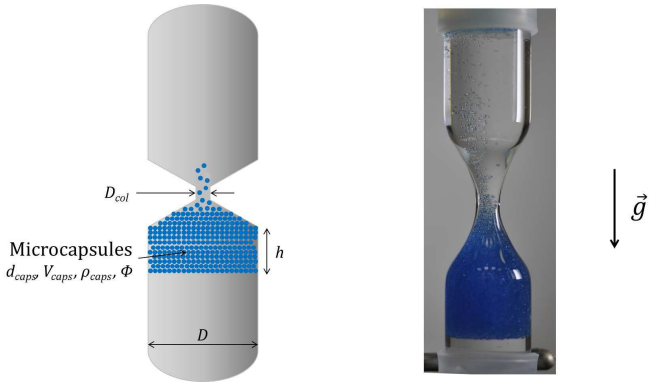


Figure 9.6 – Schéma et photo d'un sablier "liquide" rempli d'eau et d'un volume V_{caps} de microcapsules d'huile. Le diamètre intérieur du col du sablier est appelé D_{col}. Les microcapsules ont un diamètre d_{caps}, une masse volumique ρ_{caps} et leur fraction volumique est Φ.

9.2.3 Protocole expérimental

Afin d'étudier l'écoulement des microcapsules dans les différents sabliers, nous avons mis en place un montage nous permettant de les filmer. L'enregistrement d'images du front de remontée

des capsules dans le bas du sablier nous permet de déduire la vitesse d'écoulement. Le schéma de la Figure 9.7 présente le protocole expérimental : le sablier est aligné avec un éclairage uniforme et une caméra CCD (cf Figure 9.7). Le sablier est maintenu vertical par un système de pince. Au déclenchement de la caméra, le sablier est retourné rapidement afin de provoquer l'écoulement des capsules.

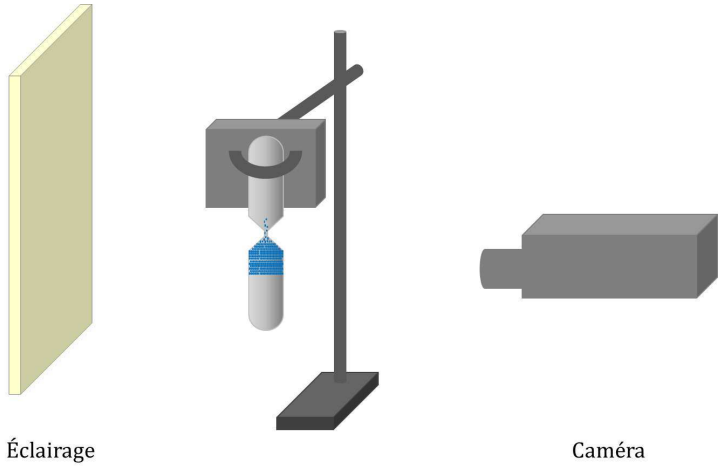


Figure 9.7 – Schéma de l'expérience d'enregistrement de l'écoulement des microcapsules dans un sablier.

Dans la Figure 9.8, un échantillon d'images obtenues par cette expérience permet de visualiser le front de capsules qui remonte dans le sablier au cours du temps. La fréquence d'acquisition de la caméra pour cette expérience est de 1 ou 2 images par seconde.

Un programme de traitement d'image *ad hoc* (écrit avec MatLab) nous permet de mesurer la position du front des capsules en fonction du temps. Il consiste à rechercher le maximum du gradient d'intensité qui localise l'interface capsules/eau. On en déduit ainsi aisément le temps et la vitesse d'écoulement globale des capsules dans le sablier.

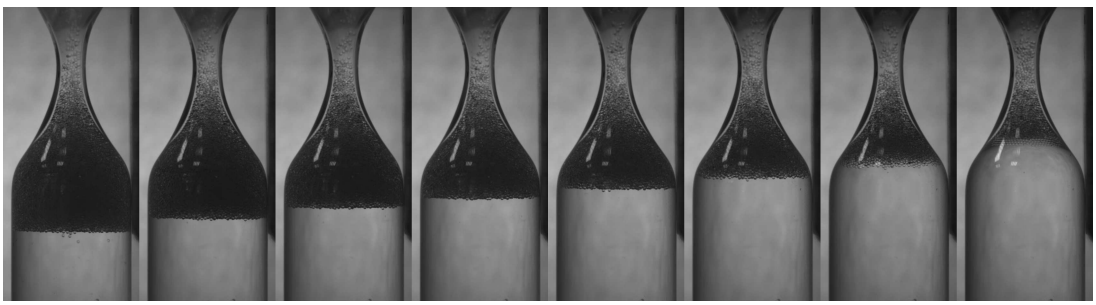


Figure 9.8 – Écoulement de microcapsules d'huile dans un sablier. Le diamètre des billes est de 412 μm, le diamètre du col est de 2,18 mm. Δt=1min.

9.3 Mesure de la vitesse d'écoulement

L'expérience de visualisation du front de crémage des capsules a été réalisée trois fois pour chacun des sabliers. Nous avons également étudié la vitesse d'écoulement en fonction de différentes paramètres tels que le rayon du col, l'angle du sablier ou encore la taille des capsules.

L'analyse des images permet de tracer la position du front en fonction du temps. L'allure typique des courbes obtenues est présentée dans la Figure 9.9. On remarque que la position du front évolue linéairement au cours du temps pendant la majeure partie de l'écoulement. La pente de cette zone linéaire donne accès à la vitesse de l'écoulement des capsules, qui est constante pendant la quasi totalité de l'écoulement. L'accélération que l'on observe à la fin de la courbe correspond au moment où le front entre dans la zone d'étranglement proche du col.

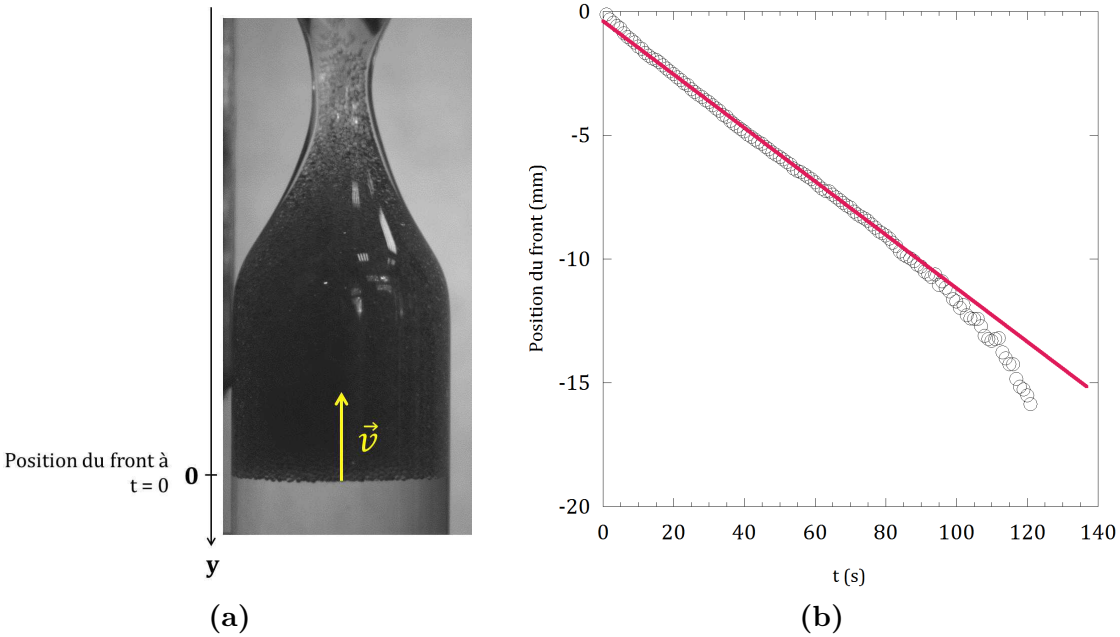


Figure 9.9 – **(a)** Image du front de capsules dans un sablier à $t = 0$. **(b)** Courbe typique obtenue pour la position du front en fonction du temps.Expérience réalisée avec le Sablier C et des capsules de 550 μm de diamètre.

De la même manière que dans les sabliers classiques, on observe ici un écoulement dont le débit est constant et indépendant de la hauteur de la colonne de granulaire (l'accélération finale est négligée car sa durée est très petite devant la durée totale de l'écoulement). C'est notamment une propriété fondamentale qui distingue l'écoulement d'un granulaire par rapport à celui d'un liquide [Mills et al., 1996].

Nous nous sommes ensuite penchés sur l'influence que peut avoir le diamètre du col du sablier et le diamètre des capsules sur la vitesse de l'écoulement. Mais dans un premier temps, nous avons constaté lors des premières expériences que l'écoulement était très dépendant de la position du sablier, c'est-à-dire de son angle par rapport à la verticale. Pour commencer, nous avons étudié l'effet de l'angle du sablier sur la vitesse d'écoulement.

a. Effet de l'angle du sablier sur la vitesse d'écoulement

Afin de vérifier la reproductibilité des expériences et afin de pouvoir toutes les comparer (notamment entre les différents sabliers), nous nous sommes aperçu qu'il était très important de faire attention à la verticalité des sabliers. En effet, lors de la première expérience réalisée avec le Sablier C et les capsules de diamètre égal à 550 μm, nous avons remarqué que la courbe de position obtenue n'était pas reproductible. Nous avons donc supposé que la position initiale du sablier devait avoir une influence. Pour le démontrer, l'expérience a été réalisée pour 3 différents angles. On peut visualiser dans la Figure 9.10 l'angle θ que nous avons choisi de faire varier dans l'expérience.

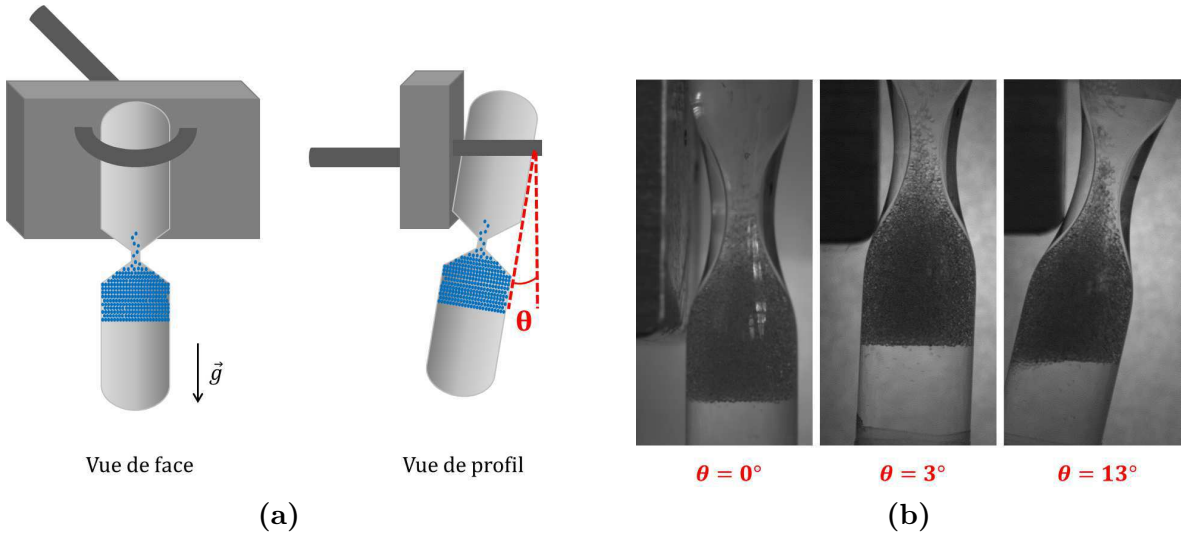


Figure 9.10 – **(a)** Schéma de fixation du sablier sur son support. Vue de face, le sablier est maintenu vertical. L'effet de la position du sablier sur la vitesse d'écoulement a été étudiée en variant l'angle θ. **(b)** Photos du Sablier C pour les trois angles θ étudiés dans l'expérience.

La Figure 9.11 présente les courbes de position du front en fonction du temps obtenu pour chacune des trois expériences, réalisées avec le même sablier. Les trois courbes sont linéaires et la vitesse d'écoulement varie sensiblement en fonction de l'angle du sablier (voir le graphe inséré dans la Figure 9.11). Plus l'angle est important, plus la vitesse est grande. On constate qu'une inclinaison de seulement 3 degrés la fait augmenter d'environ 40%.

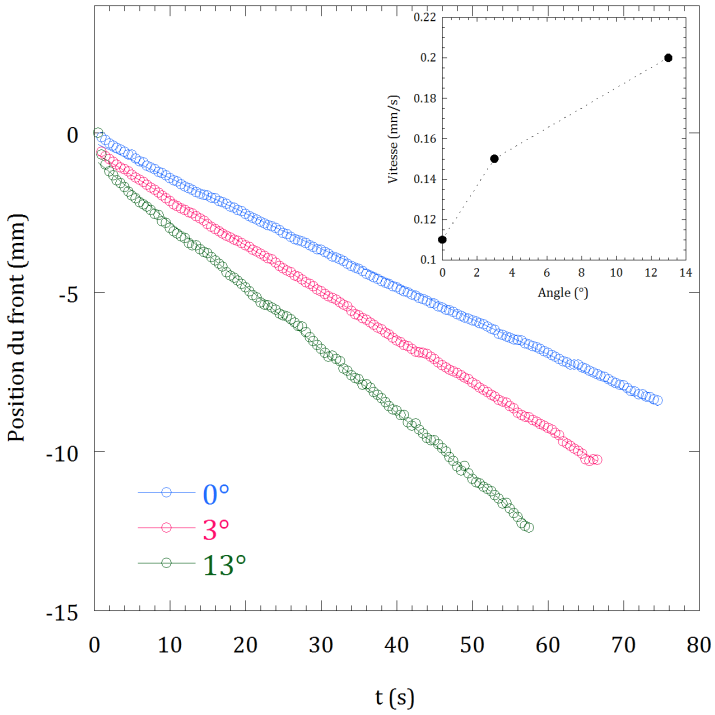


Figure 9.11 – Position du front arrière en fonction du temps pour trois différents angles θ. ***Inséré*** : Vitesse du front en fonction de l'angle du sablier. Expérience réalisée avec le Sablier C et les billes de 550 μm de diamètre.

Ce phénomène peut s'expliquer simplement par l'Effet Boycott, qui est un phénomène physique observé pour la première fois par le biologiste Arthur Boycott en 1920, alors qu'il étudiait la sédimentation des globules rouges [Boycott, 1920]. Il a observé que la sédimentation était plus rapide dans un tube incliné que dans un tube vertical. En effet, lorsque le tube est incliné, les sédiments s'accumulent rapidement sur la paroi inférieure du tube, libérant un flux de contre-écoulement le long de la paroi opposée : deux flux de densités différentes sont alors formés. De la même manière, dans le col des sabliers non vertical, les capsules remontent contre la paroi supérieure et le flux d'eau s'écoule contre la paroi inférieure : ces deux flux opposés de densités différentes créent un courant de recirculation qui a pour effet d'accélérer l'écoulement (il n'y a plus de contre écoulement à travers les capsules, donc moins de dissipation).

Le résultat de cette expérience démontre qu'il est nécessaire de faire attention à la verticalité des sabliers lors des expériences si l'on veut obtenir des résultats qui soient reproductibles et comparables. Nous pouvons maintenant étudier l'influence d'autres paramètres, tels que le diamètre du col du sablier et le diamètre des capsules.

b. Variation du diamètre du col des sabliers D_{col}

L'expérience d'écoulement a été réalisée avec les 4 différents sabliers. Les sabliers ont tous été remplis avec le même volume de capsules (diamètre des capsules égal à 550 μm). Nous avons cherché à savoir si la vitesse d'écoulement était dépendante de la taille du col.

La Figure 9.12 présente la variation de la vitesse en fonction du diamètre du col des sabliers. Le graphique inséré dans la Figure 9.12 présente l'évolution de la position du front de capsules en fonction du temps pour chacun des quatre sabliers. On remarque sur ces courbes que la vitesse d'écoulement des capsules est très dépendante du diamètre du col : plus le diamètre du col est large, plus l'écoulement est rapide.

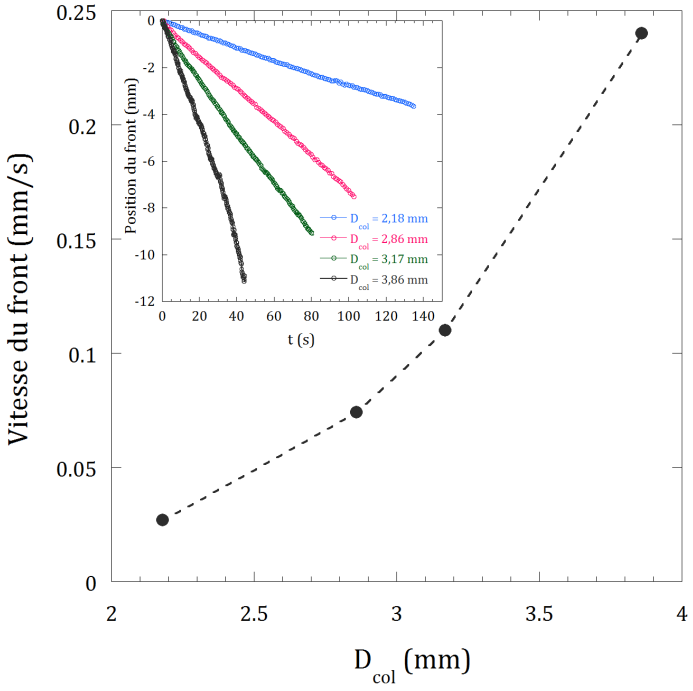


Figure 9.12 – Vitesse du front de capsules en fonction du diamètre du col des sabliers. ***Inséré*** : Position du front en fonction du temps pour les 4 différents sabliers.

c. Variation du diamètre des capsules $d_{capsules}$

Nous avons comparé l'écoulement dans les sabliers pour des microcapsules de diamètres différents (412 et 550 μm). On mesure un écoulement plus rapide avec les plus petites capsules (voir Figure 9.13(a)). De plus, on remarque sur cette courbe un léger écart à la tendance de la vitesse d'écoulement dans le cas du Sablier D avec les petites capsules (courbe bleue). Cet écart est probablement lié à un phénomène de remous observé observé durant cette expérience : le diamètre du col étant grand par rapport à la taille des capsules, le flux d'eau est assez important pour fluidiser les capsules. Dans la Figure 9.13(b), nous avons tracé la vitesse d'écoulement en fonction de la différence entre le diamètre du col et le diamètre des capsules ($D_{col} - d_{caps}$). Les points expérimentaux rouges correspondant aux capsules de diamètre supérieur (550 μm) peuvent être ajustés par une loi de puissance. Les points correspondant aux petites capsules se superposent à la courbe, si l'on fait exception des deux derniers points, et on obtient une loi de puissance telle que :

$$v = (D_{col} - d_{caps})^{\alpha} \tag{9.2}$$

avec α environ égal à 3.

On retrouve ici une loi de la variation de la vitesse d'écoulement comparable à la loi de Beverloo (cf équation (9.1)).

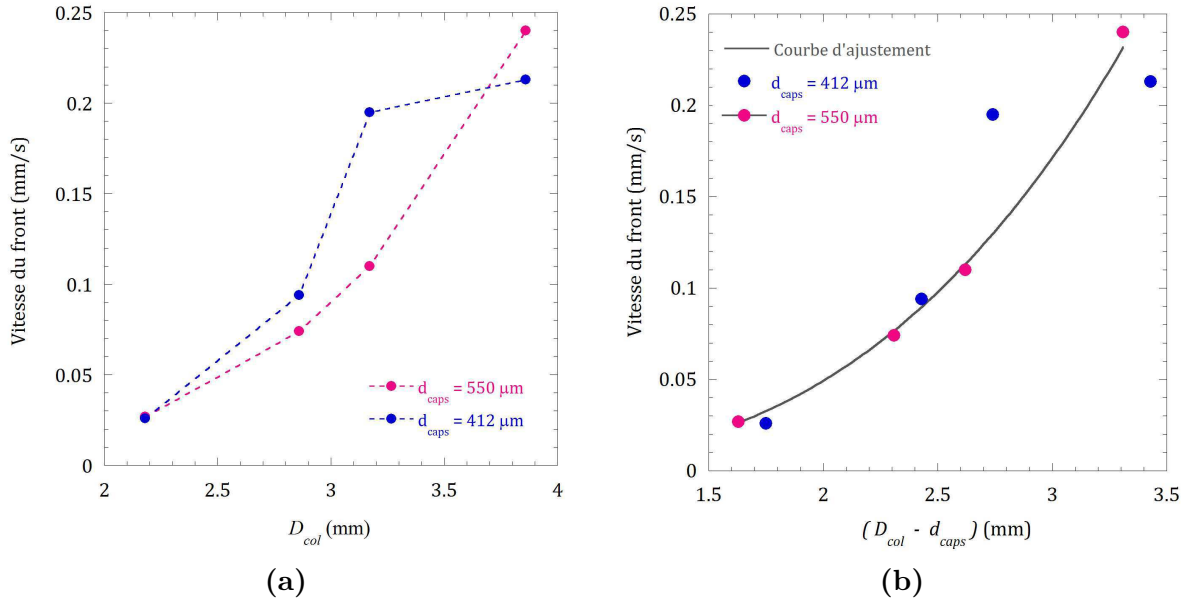


Figure 9.13 – **(a)** Vitesse de montée du front de capsules en fonction du diamètre du col pour deux tailles de capsules. **(b)** Vitesse de montée du front de capsules en fonction de la différence entre le diamètre du col et de diamètre des capsules ($D_{col} - d_{capsules}$) pour deux tailles de capsules.

Nos expériences ont permis de mesurer une vitesse d'écoulement constante et indépendante de la hauteur initiale de capsules, et qui dépend du diamètre du col. Dans la partie suivante, nous cherchons à comprendre les phénomènes physiques qui régissent l'écoulement dans les sabliers.

9.4 Quels sont les phénomènes physiques mis en jeu ?

Dans les sabliers "classiques", la friction entre les grains joue un rôle essentiel dans l'écoulement, notamment par la formations d'arches au niveau de l'étranglement. Nous nous sommes donc dans un premier temps questionnés sur l'influence de la friction dans les microcapsules sur leur vitesse d'écoulement.

Dans un deuxième temps, nous avons cherché à comprendre si le flux de l'écoulement était déterminé par la dissipation dans le poreux de capsules ou dans le col. Pour "découpler" deux phénomènes, nous avons émis deux hypothèses et mis au points deux expériences : la première consiste considérer un écoulement de Darcy dans le poreux de capsules, modélisé par une expérience de lit fluidisé ; la deuxième consiste à considérer que le temps de l'écoulement est uniquement déterminé au niveau du col du sablier. Ce phénomène est modélisé par une expérience de crémage des capsules dans un tube fin.

9.4.1 Influence de la friction dans l'écoulement des microcapsules

Suite à l'expérience de friction présentée dans le paragraphe 9.1, nous nous sommes interrogés sur le rôle que pouvait jouer la friction dans l'écoulement des microcapsules dans les sabliers. En effet, comme nous l'avions observé dans l'expérience, il existe un coefficient de friction entre les capsules lorsque ces dernières sont dans l'eau. Elles se comportent donc comme un milieu granulaire classique. Dans nos expériences, les sabliers sont remplis avec de l'eau pure et nous supposons qu'il existe des frictions entre les capsules. L'écoulement des capsules semble ainsi être comparable à l'écoulement d'un granulaire classique.

Cependant, nous avons montré que l'ajout d'un tensioactif dans la solution permet de supprimer la friction. Il est donc intéressant de comparer l'écoulement dans les sabliers avec ou sans SDS. Nous avons donc réalisé l'expérience d'écoulement dans un sablier contenant une solution à 1 mM en SDS comme phase continue. Le résultat est présenté dans la Figure 9.14.

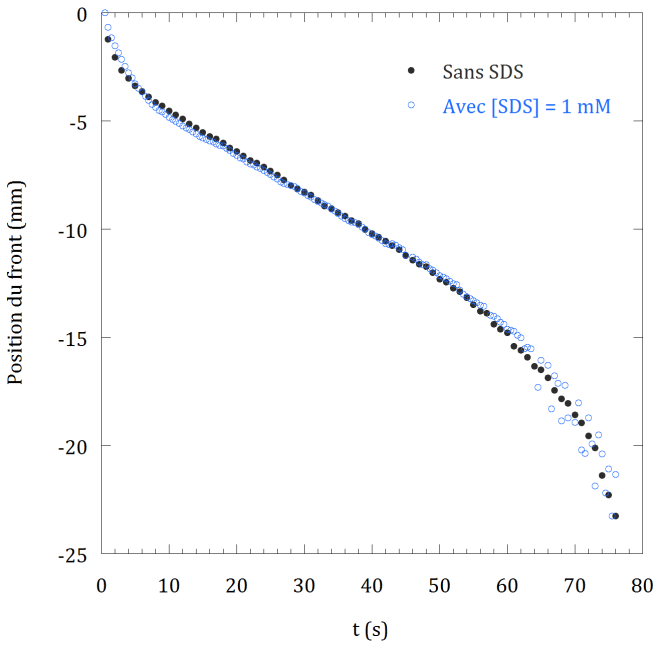


Figure 9.14 – Position du front de capsules en fonction du temps dans le Sablier C avec et sans SDS.

En observant les courbes d'écoulement, on remarque qu'il n'existe pas de différence sensible entre l'écoulement dans un milieu avec ou sans friction. Bien que l'expérience de variation de la friction en fonction de la quantité de SDS soit convaincante, on constate ici que cette friction n'a aucun effet sensible dans l'écoulement des capsules dans un sablier. On peut donc conclure que l'effet est trop faible pour qu'on puisse le détecter dans cette expérience, et que l'écoulement dans les sabliers n'est pas un phénomène gouverné par la friction.

9.4.2 Fluidisation d'un lit de microcapsules

Nous avons dans un premier temps cherché à expliquer pourquoi la vitesse est constante au cours du temps lors de l'écoulement et ne dépend pas de la hauteur de capsules. Notre première hypothèse consiste à considérer le tas de capsules comme un milieu poreux dans lequel s'écoule un liquide où la dissipation visqueuse est prédominente, i.e à bas nombre de Reynolds.

Écoulement dans un milieu poreux et loi de Darcy : Un milieu poreux est un matériau massif dans lequel se trouvent des pores reliés entre eux par des canaux ou éventuellement isolés. Dans la majorité des cas, la taille a des pores et la vitesse v_i d'écoulement dans les pores sont assez faibles pour que la condition de faible nombre de Reynolds soit satisfaite, c'est-à-dire :

$$R_e = \frac{av_i}{\nu} \ll 1$$

avec ν la viscosité cinématique du fluide en m^2/s.

Les capsules monodisperses s'organisent et forment un empilement désordonné dans l'eau de compacité comprise en 0,59 et 0,64. On les assimile donc à un milieu poreux, au travers duquel l'eau doit s'écouler. La porosité du milieu est défini comme le rapport entre le volume des pores et le volume total :

$$\epsilon = \frac{V_{pores}}{V_{total}}$$

ϵ varie donc entre 0 (solide plein) et 1 (volume complètement vide). Ce paramètre de porosité est complémentaire de la fraction volumique des particules Φ (ou compacité) telle que :

$$\epsilon = 1 - \Phi$$

L'étude fondatrice des écoulements dans un milieu poreux a été réalisée par l'ingénieur Darcy en 1856. Il a mis en évidence une relation linéaire entre la vitesse du fluide (ou le débit) et le gradient de pression de part et d'autre du matériau poreux (cf Figure 9.15(a)).

La loi de Darcy s'applique à un matériau poreux homogène et isotrope parcouru par un écoulement à faible nombre de Reynolds. Dans ces conditions, on peut écrire la vitesse moyenne de l'écoulement comme :

$$u = -\frac{k}{\eta}\frac{\Delta P}{L} \tag{9.3}$$

avec η la viscosité dynamique du fluide et $\frac{\Delta P}{L} = \frac{P_2 - P_1}{L}$ le gradient de pression appliqué à l'échantillon de longueur L. On peut également exprimer la loi de Darcy en considérant le débit volumique de fluide $Q = v \times S = -\frac{k}{\eta} S \frac{\Delta P}{L}$, où A est la section de l'échantillon de poreux. Le signe négatif dans la loi de Darcy traduit le fait que le fluide s'écoule de la zone de haute pression vers la zone de basse pression ($P_1 > P_2$).

La constante de proportionnalité k est la *perméabilité* du milieu poreux. Elle est homogène à une surface et son ordre de grandeur est donné par la section d'un pore individuel, comme nous

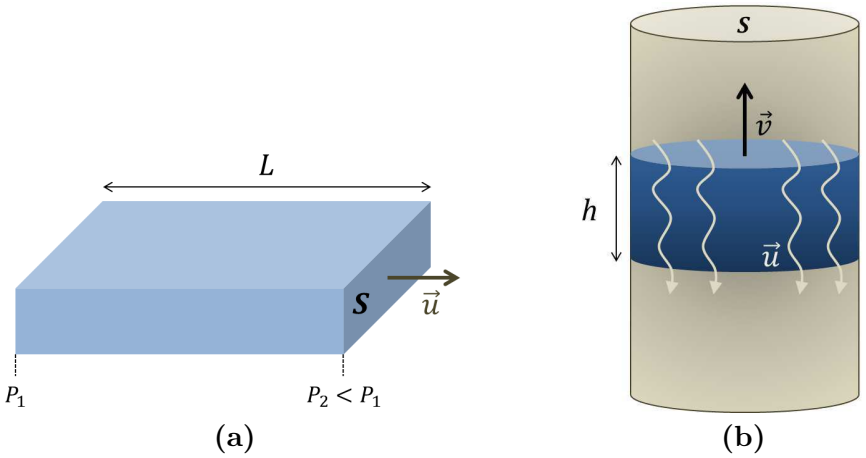


Figure 9.15 – **(a)** Schéma montrant les paramètres intervenant dans l'écoulement d'un fluide à travers un milieu poreux. **(b)** Schéma du modèle de crémage d'un lit de capsules d'huile dans l'eau, dans un cylindre à section constante.

verrons plus loin [Guyon et al., 2001]. Il est important de noter que ce paramètre k ne dépend pas de la nature du fluide, mais seulement de la structure poreuse du matériau. D'autre part, il ne faut pas confondre la vitesse moyenne u et la vitesse du fluide dans les pores. En effet, u est bien une vitesse moyenne de l'écoulement, moyenne effectuée sur le volume du matériau poreux. Par contre, la vitesse du fluide dans les pores, appelée *vitesse interstitielle* s'écrit comme :

$$v_i = \frac{u}{\epsilon} \tag{9.4}$$

Cette vitesse v_i est bien supérieure à u car $\epsilon < 1$.

Durant l'écoulement des microcapsules dans l'eau des sabliers, un empilement compact de capsule se créé à l'entrée du col. Les capsules d'huile remontent sous l'effet de la poussée d'Archimède. Par conservation du volume, le même flux d'eau est déplacé dans le sens contraire. L'eau doit donc traverser la couche compacte de capsules dans le bas du sablier. Nous pouvons donc estimer la vitesse moyenne de l'eau traversant le poreux grâce à la loi de Darcy.

Considérons le modèle simple d'un bloc de poreux de hauteur h (les microcapsules) dans un cylindre d'eau à section constante S (cf Figure 9.15(b)). Le bloc de capsules remonte sous l'effet de la gravité à la vitesse v. On appelle u la vitesse moyenne de l'eau dans le poreux. On fait l'hypothèse que les frictions entre les capsules et avec la paroi sont négligeables par rapport à la dissipation visqueuse dans le poreux. D'autre part, on considère ici que la fraction volumique de capsule est constante et égale à Φ. Un modèle similaire a été utilisé par Senis et al. [2001] dans leurs travaux sur la sédimentation de colloïdes.

En régime stationnaire, on peut écrire l'équilibre des forces appliquées sur le bloc de capsules : la poussée d'Archimède qui fait remonter les capsules s'équilibre avec la force exercée par l'eau qui traverse le poreux, soit :

$$\Delta P_{Archimède} \times S = \Delta P_{Darcy} \times S$$
$$\Leftrightarrow \Delta\rho \; g \; h \; \Phi = \frac{h\eta}{k} \; u \tag{9.5}$$

On remarque que la hauteur h se simplifie et donc que la vitesse d'écoulement est bien indépendante de la hauteur du poreux, ce qui est en accord avec nos observations. D'autre part, par conservation du volume, on peut écrire que pendant dt le poreux déplace un volume d'eau égal à $\Phi v S dt$. Ce volume d'eau doit passer dans les pores, on peut donc aussi l'écrire en fonction de la porosité ϵ et de la vitesse interstitielle v_i : $\epsilon v_i S dt$. On a donc :

$$\Phi v = (1 - \Phi) v_i \tag{9.6}$$

Il s'agit maintenant d'exprimer v_i en fonction de u et v. Nous ne pouvons pas écrire directement la relation de l'équation (9.4). En effet, nous sommes dans un cas où le poreux n'est pas immobile, et la vitesse interstitielle de l'eau est ralentie par le flux inverse induit par le mouvement du poreux. On peut alors introduire une vitesse interstitielle *réelle* v_i' telle que $v_i' = v_i - v$. L'équation (9.4) s'écrit donc :

$$u = \epsilon v_i' = (1 - \Phi)(v_i - v) \tag{9.7}$$

En combinant les équations (9.6) et (9.7), on obtient que la vitesse de remontée des capsules est égale à la vitesse moyenne d'écoulement de l'eau dans le lit de capsules :

$$u = v$$

On retrouve de manière logique par conservation du volume que la vitesse moyenne d'écoulement de l'eau à travers le poreux est égale à la vitesse de déplacement du poreux lui-même. Ainsi, d'après l'équation (9.5), on obtient une expression de la vitesse du lit de capsules :

$$v = \frac{\Delta\rho g \Phi k}{\eta} \tag{9.8}$$

Dans cette géométrie simple, la vitesse du lit de capsules (et donc celle de l'eau) est une constante indépendante de h et nous pouvons évaluer sa valeur dans le cas de notre système de microcapsules dans l'eau afin de la comparer à nos expériences.

Nous devons dans un premier temps calculer la perméabilité k de notre poreux de microcapsules. Pour un empilement poreux de grains sphériques monodisperses de diamètre d, on peut écrire le modèle de Konenzy-Carman qui donne la relation dite d'Ergun [Guyon et al., 2001] :

$$k = \frac{(1 - \Phi)^3 \; d^2}{180 \; \Phi^2} \tag{9.9}$$

Si on fait l'hypothèse d'un empilement aléatoire le plus dense (*"Random Close Packing"*) pour les microcapsules, Φ est égal à 0,64. Pour les capsules de diamètre $d = 550$ μm, on obtient

donc une perméabilité k de 190 μm^2 et pour des capsules de diamètre $d = 412$ μm, la perméabilité k est égale à 110 μm^2.

La densité d'une capsule est égale à 0,8875, d'où $\Delta\rho$= 0,1125 kg/m^3. La viscosité η de l'eau est de 10^{-3} kg.m^{-1}.s^{-1}. On peut donc calculer la vitesse de remontée du front de capsule grâce à l'équation (9.8), et on obtient :

$$\text{Pour } d = 550\ \mu m, v = 0{,}14 \text{ mm/s}$$
$$\text{Pour } d = 412\ \mu m, v = 0{,}07 \text{ mm/s}$$

La loi de Darcy permet d'expliquer que la vitesse est constante et indépendante de la hauteur de capsules h, et les valeurs calculées sont du même ordre de grandeur que celles mesurées dans nos expériences. D'autre part, nous avons réalisé une expérience de lit fluidisé (présentée dans l'annexe C). Cette expérience permet de modéliser l'écoulement dans le poreux constitué de capsules, et nous obtenons des résultats en accord avec la théorie et avec nos mesures de vitesse dans les sabliers. Néanmoins, la loi de Darcy ne permet pas d'introduire la dépendance de la vitesse en fonction du diamètre du col. Nous en avons donc conclu que le phénomène physique qui régit l'écoulement dans les sabliers n'est pas déterminé par la dissipation due au contre écoulement de l'eau dans le bloc de microcapsules.

Pour comprendre l'effet du diamètre du col sur la vitesse, nous avons mis en place une expérience d'écoulement de microcapsules dans un tube fin dont le diamètre est proche du diamètre des particules.

9.4.3 Crémage d'une colonne de microcapsules

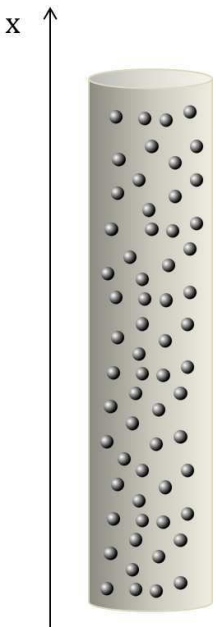
Dans cette expérience, nous avons filmé le crémage d'un lit de microcapsules dans différentes tubes à section constante dont le diamètre vaut 5 à 15 fois celui des microcapsules. Cela nous permet d'isoler l'écoulement qui a lieu dans le col des sabliers. Cette expérience s'apparente à la sédimentation de particules colloïdales, qui a été étudiée il y a longtemps dans le cas d'un milieu non confiné, et qui permet de prédire l'évolution de la fraction volumique en particules en fonction de la position et du temps [Kynch, 1952; Russel et al., 1989].

a. Sédimentation dans un milieu non confiné

Dispersion homogène dans un milieu infini : Le problème hydrodynamique de la chute d'une particule dans un fluide a été résolu par Stokes. La vitesse v_0 d'une sphère de densité $\rho_{particule}$ et de rayon a en dilution infinie dans un fluide de densité ρ_{fluide} et de viscosité η est déterminée par l'équilibre des forces visqueuse et gravitationnelle. Elle s'écrit :

$$v_0 = \frac{2a^2}{9\eta}(\rho_{fluide} - \rho_{particule})g$$

Considérons maintenant la sédimentation d'une dispersion homogène de particules monodisperses dans un milieu infini (voir le schéma ci-contre). La vitesse d'une particule au sein de la dispersion n'est plus celle de Stokes car la particule est "freinée" par ses voisines et sa vitesse dépend de la densité locale en particules Φ. La vitesse de sédimentation des particules v est donnée par la loi semi-empirique de Richardson-Zaki [Guazzelli and Morris, 2012] :



$$v = v_0(1-\Phi)^n \tag{9.10}$$

avec v_0 la vitesse de Stokes d'une particule, Φ la fraction volumique locale en particule et n environ égal à 6,5.

Que se passe-t-il si on considère maintenant une dispersion non homogène, c'est-à-dire une fraction volumique Φ fonction de x et du temps : $\Phi(x,t)$?

La vitesse v est une fonction de Φ : $v(\Phi)$. En écrivant un bilan de matière entre x et $x+dx$ pendant un temps dt, on obtient l'équation de conservation suivante :

$$\frac{\partial \Phi}{\partial t} + \frac{\partial}{\partial x}(\Phi v) = 0 \tag{9.11}$$

avec Φv le flux de particules. Cette équation peut également s'écrire :

$$\frac{\partial \Phi}{\partial t} + V(\Phi)\frac{\partial \Phi}{\partial x} = 0 \tag{9.12}$$

$$\text{avec} \qquad V(\Phi) = \frac{d(\Phi v)}{d\Phi}$$

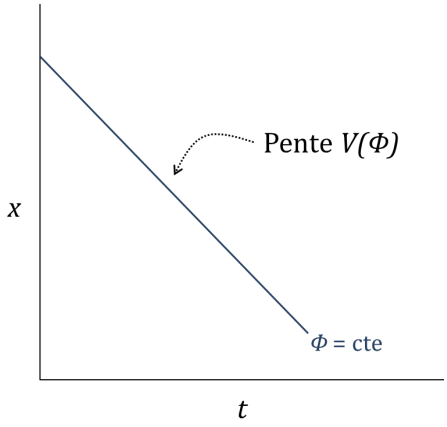
On peut interpréter cette équation de la manière suivante : sur un graphique de la position x en fonction du temps t, on veut tracer les courbes "d'iso-fraction volumique", c'est-à-dire reliant les points de même fraction volumique Φ. Ces courbes respectent donc la condition :

$$\Phi(x+dx, t+dt) = \Phi(x,t)$$

$$\text{i.e.} \qquad \frac{\partial \Phi}{\partial x}dx + \frac{\partial \Phi}{\partial t}dt = 0 \tag{9.13}$$

En combinant les équations (9.12) et (9.13), on obtient la pente de la courbe égale à :

$$\frac{dx}{dt} = V(\Phi)$$



Comme Φ est constant, $V(\Phi)$ est aussi constant et la courbe "iso-fraction volumique" est donc une droite. En résumé, dans un diagramme spatio-temporelle x *vs* t, la fraction volumique de particules Φ est constante le long d'une droite dont la pente $V(\Phi)$ dépend uniquement de la valeur de Φ. L'allure du diagramme est donc déterminée par la condition initiale $\Phi(t = 0)$. Dans une région où la fraction volumique est constante, on peut tracer les droites "iso-Φ" et ces droites ne se croisent jamais. Cela correspond au cas idéal d'une dispersion homogène dans un tube infini. Considérons maintenant le cas de la sédimentation dans un tube fermé de hauteur H.

Sédimentation non homogène dans un tube fermé : Lorsque les particules sédimentent, le fond du tube impose une condition aux limite sur la vitesse des particules, qui s'annule lorsque ces dernières s'entassent et forment un sédiment. Il apparaît alors un front qui se propage correspondant à une discontinuité de fraction volumique. De la même manière, il existe un front qui se propage entre le haut de la dispersion qui sédimente et l'eau (voir dans l'Annexe D pour la construction des lignes de discontinuité).

Ces observations s'appliquent de la même manière avec les microcapsules qui crèment. Traçons l'allure de la courbe du flux de particules Φv en fonction de Φ à partir de l'équation de Richardson-Zaki (9.10). Cette courbe est présentée dans la Figure 9.16(b). Le flux passe par un maximum pour une valeur de la fraction volumique Φ_n qui dépend de la valeur de n.

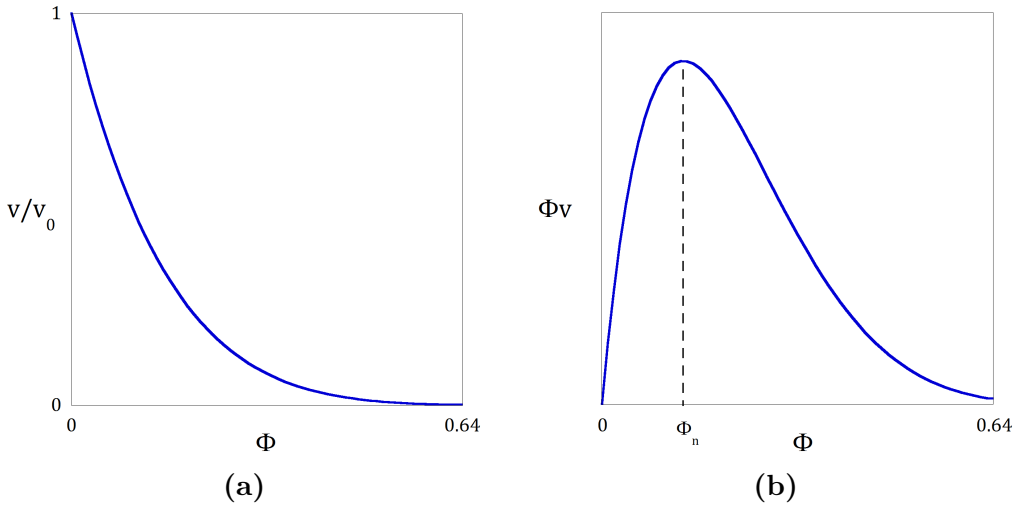
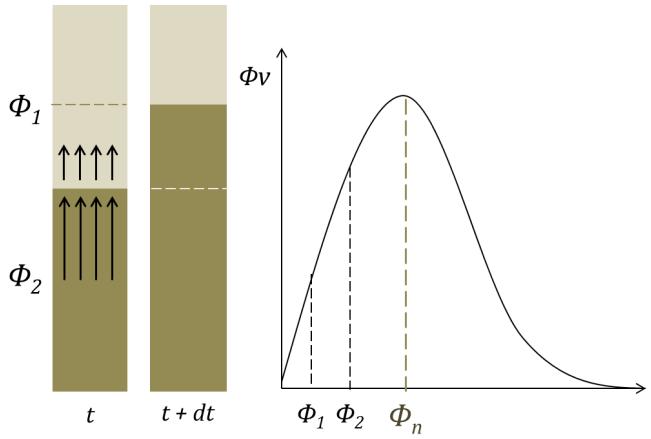
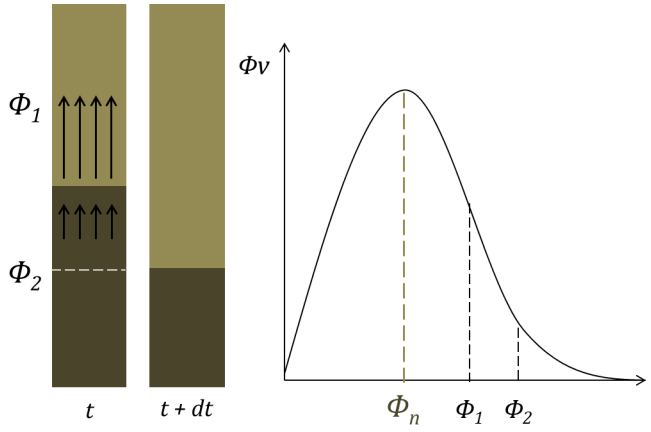


Figure 9.16 – **(a)** Allure de la loi de Richardson-Zaki (équation (9.10)). **(b)** Flux de particules Φv en fonction de la fraction volumique Φ.

Afin de bien comprendre le phénomène de propagation d'un front correspondant à une discontinuité de concentration, on peut représenter de manière schématique deux exemples présentés dans la Figure 9.17. On considère un tube contenant deux zones de concentration différentes Φ_1 et Φ_2 de capsules qui crèment, avec $\Phi_2 > \Phi_1$. Dans le premier cas (Figure 9.17(a)), le flux de particules $\Phi_2 v_2$ est supérieur au flux $\Phi_1 v_1$. Il y a donc plus de particules qui arrivent au niveau du front que de particules qui en partent, et on comprend donc que le front monte. Dans le deuxième cas (Figure 9.17(b)), le flux de particules qui partent du front est supérieur à celui des particules qui arrivent, et on obtient donc un front descendant.



(a) Front ascendant



(b) Front descendant

Figure 9.17 – Représentation schématique d'une discontinuité de concentration dans un tube contenant des capsules qui crèment. **(a)** $\Phi_2 > \Phi_1$ et $\Phi_2 v_2 > \Phi_1 v_1$. **(b)** Cas où $\Phi_2 > \Phi_1$ et $\Phi_2 v_2 < \Phi_1 v_1$. Les flèchent symbolisent la vitesse du flux.

La résolution numérique de l'équation différentielle (9.12) à l'aide d'un programme réalisé avec *MatLab* permet de tracer le diagramme spatio-temporel correspondant au crémage d'une dispersion dans un tube de hauteur H. Il est présenté dans la Figure 9.18.

À l'instant initial, les capsules sont compactées dans le bas de la colonne ($\Phi = 0{,}64$) et l'eau ($\Phi = 0$) se trouve dans la partie supérieure. Les droites "iso-Φ" sont tracées à partir du point de discontinuité initial : on considère une variation continue de Φ sur une épaisseur infinitésimale, et on peut tracer une infinité de droites ("en éventail"), chaque pente étant égale à $V(\Phi)$ (seules quelques droites sont représentées dans le diagramme ci-dessous). On voit alors apparaître un gradient continu de la fraction volumique dans la zone fluidisée, ainsi que deux fronts descendants entre les zones compactes et fluidisées et un front de crémage entre l'eau et la zone fluidisées.

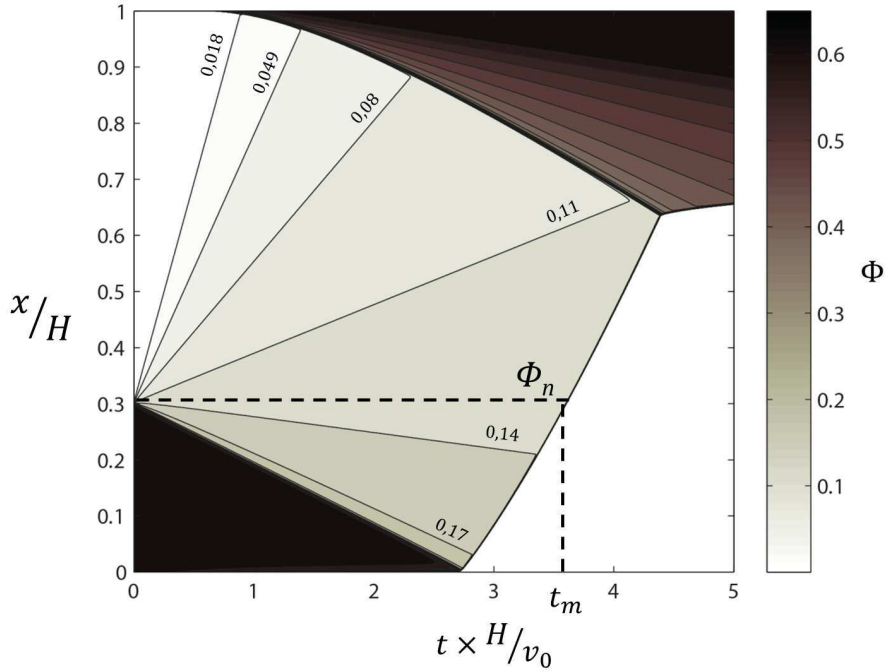


Figure 9.18 – Diagramme spatio-temporel théorique de la fraction volumique Φ de microcapsules qui crèment dans une colonne d'eau. Paramètre de la loi de Richardson-Zaki : $n = 6{,}5$.

La représentation schématique de la Figure 9.17 et la simulation numérique de la Figure 9.18 permettent de comprendre que l'écoulement d'une dispersion non homogène est essentiellement déterminé par la fraction volumique Φ_n qui correspond au débit maximum. En effet, le débit de l'écoulement converge vers le débit maximum car la fraction Φ_n devient majoritaire.

En considérant la quantité de matière initiale $H \times 0,64$ dans la colonne s'écoule avec un débit constant égal à $\Phi_n v(\Phi_n)$, on peut calculer le temps moyen de crémage t_m selon la formule :

$$t_m = \frac{H \times 0,64}{\Phi_n v(\Phi_n)}$$

avec Φ_n=0,13 pour n=6,5. Avec une hauteur H de 30 mm et une vitesse v_0 égale à

10,4 mm/s pour les microcapsules d'huile de diamètre égal à 412 μm, on obtient $t_m = 35$ secondes. On peut vérifier t_m sur le diagramme à partir de la droite "iso-Φ_n, dont la pente est nulle (car $V(\Phi_n) = \left.\frac{d(\Phi v)}{d\Phi}\right|_{\Phi_n}$). On obtient une valeur en accord avec le calcul précédent.

b. Effet du confinement

La vitesse de Stokes v_0 définie la chute d'une particule dans un fluide en milieu infini. Lorsque le milieu n'est plus infini, les effets de bord font diminuer cette vitesse. La loi de Faxén donne une expression de la vitesse de chute v_0' d'une particule de rayon a dans un tube de diamètre D [Sutterby, 1973] :

$$\frac{v_0'}{v_0} = 1 - 2,104\frac{2a}{D} + 2.09\left(\frac{2a}{D}\right)^3 - 0.95\left(\frac{2a}{D}\right)^5 \tag{9.14}$$

Cette loi s'applique dans le cas d'un fluide à nombre de Reynolds R_e inférieur à 0,1 et pour un ratio $\frac{2a}{D}$ jusqu'à 0,3. Dans nos expérience, $R_e = 0,05$ et $\frac{2a}{D} < 0,25$.

Il existe très peu d'études phénoménologiques et théoriques sur l'écoulement d'une suspension dans un milieu confiné.

Considérons le crémage d'une dispersion de particules de fraction volumique Φ dans un tube de diamètre D. Par analogie avec les simulations numériques réalisées dans les travaux de [Kuusela et al., 2004] on écrit la vitesse des particules v' selon une loi de type Richardson-Zaki telle que :

$$\frac{v'}{v_0'} = (1-\Phi)^{n'} \tag{9.15}$$

$$\begin{array}{lllll} \text{avec} & v_0'(D) \to v_0 & \text{quand} & D \to \infty \\ \text{et} & n'(D) \to 6.5 & \text{quand} & D \to \infty \end{array}$$

On fait l'hypothèse que lorsque $\Phi = 0,64$ (compaction maximale), la vitesse v' est égale à la vitesse de Richardson-Zaki v. On en déduit ainsi la loi de puissance n'. Sur la Figure 9.19, on trace les lois de vitesse ainsi que le flux Φv de particules en fonction de Φ pour différents diamètres de tubes D.

Finalement, on montre que la vitesse des particules diminue lorsque la dimension du système diminue, et que cet effet est principalement dû à la dissipation introduite par les parois du tube. D'autre part, on remarque que la fraction volumique Φ_n correspondant au flux de particules maximum évolue très peu lorsque le diamètre diminue (on observe une légère augmentation de Φ_n lorsque D diminue).

En adaptant la théorie de la sédimentation à un système confiné, nous avons exprimé la loi de vitesse de crémage d'une dispersion en fonction de la fraction volumique Φ et du diamètre D du tube. Nous avons donc démontré que le temps moyen de l'écoulement est déterminé par le flux maximum, qui dépend du diamètre D du tube. L'effet du diamètre sur le flux est principalement

dû aux effets de bord, qui entrainent une diminution de la vitesse d'une particule v_0', et donc une diminution du flux maximal et une augmentation du temps d'écoulement.

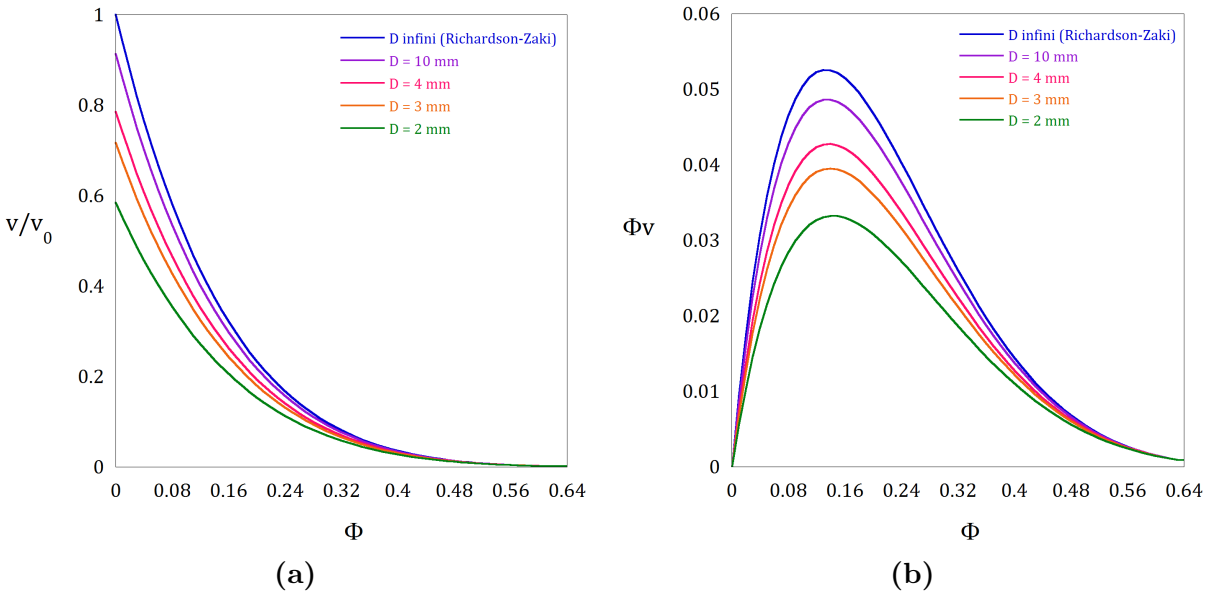


Figure 9.19 – **(a)** Lois de vitesse des particules en fonction de Φ pour différents diamètres. **(b)** Flux de particules Φv en fonction de la fraction volumique Φ pour différents diamètres.

c. Description de l'expérience

Nous avons réalisé une première expérience avec un tube de diamètre D égal à 3 mm dans lequel nous introduisons un volume V de microcapsules. Nous avons filmé l'écoulement des microcapsules dans la colonne. Au début de l'expérience, le tube vertical est fixé dans l'alignement d'une caméra et éclairé par une lumière homogène (montage semblable à celui présenté dans la Figure 9.7). Les capsules sont donc compactées au sommet de la colonne.

À l'instant initial, le tube est rapidement retourné (en s'assurant de sa verticalité) et l'écoulement est enregistré par une caméra Pixelink (pas de temps de 500 ms). Un traitement d'image est ensuite réalisé grâce au logiciel *ImageJ* et permet de tracer le diagramme spatio-temporel de l'expérience. Un échantillon des images obtenues est présenté dans la Figure 9.20. Une coupe de chaque image est effectuée selon un segment d'épaisseur égale à 1 pixel et correspondant au milieu de la colonne de capsules (voir Figure 9.20 image (a)). Chacun de ces segments est ensuite juxtaposé pour obtenir le diagramme spatio-temporel dont l'ordonnée correspond à la hauteur de la colonne et l'abscisse au temps (voir Figure 9.20 image (b)). Le diagramme spatio-temporel expérimental est présenté dans la Figure 9.21. On voit apparaître différentes zones de miccrocapsules compactes et fluidisées (changements de niveau de gris) séparées par des frontières correspondant aux différents fronts. Leurs pentes donnent une mesure de leurs vitesses de propagation.

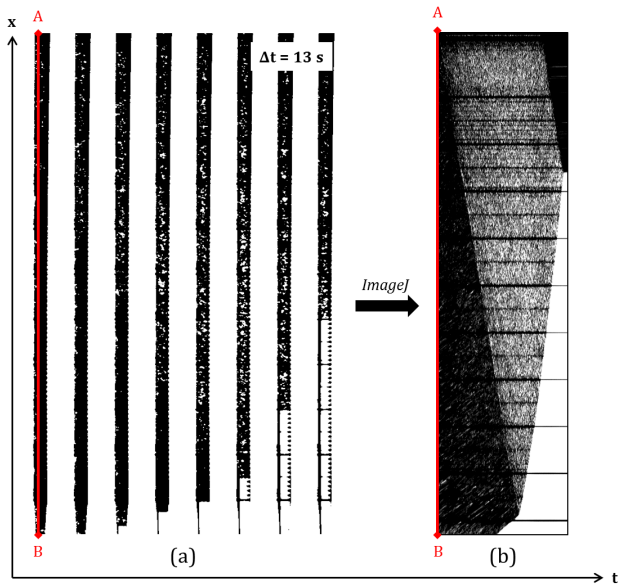


Figure 9.20 – Analyse de l'expérience de crémage des microcapsules : **(a)** Échantillon d'images ($\Delta t = 13s$) enregistrées avec la caméra Pixelink. Le segment AB est une ligne de 1 pixel d'épaisseur correspondant au milieu de la colonne. **(b)** Diagramme spatio-temporel obtenu par juxtaposition des coupes AB sur chaque image, réalisé avec le logiciel ImageJ. L'expérience a été réalisée avec des capsules de diamètre 412 μm et un diamètre de tube D égal à 3 mm.

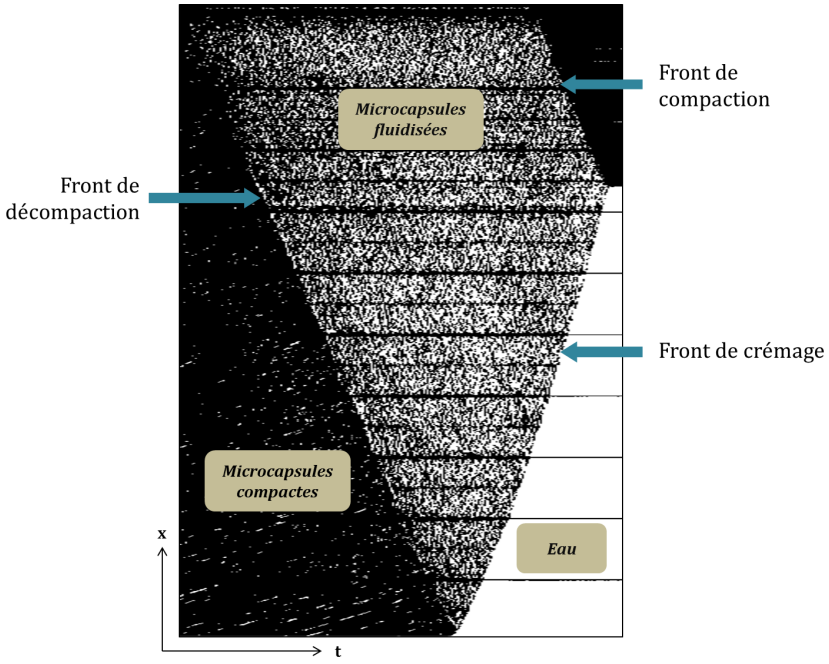


Figure 9.21 – Diagramme spatio-temporel expérimental du crémage de microcapsules dans une colonne d'eau. Expérience réalisée avec des capsules de diamètre 412 μm et un diamètre de tube D égal à 3 mm.

Ce que l'on observe durant l'expérience est schématisé dans la Figure 9.22.

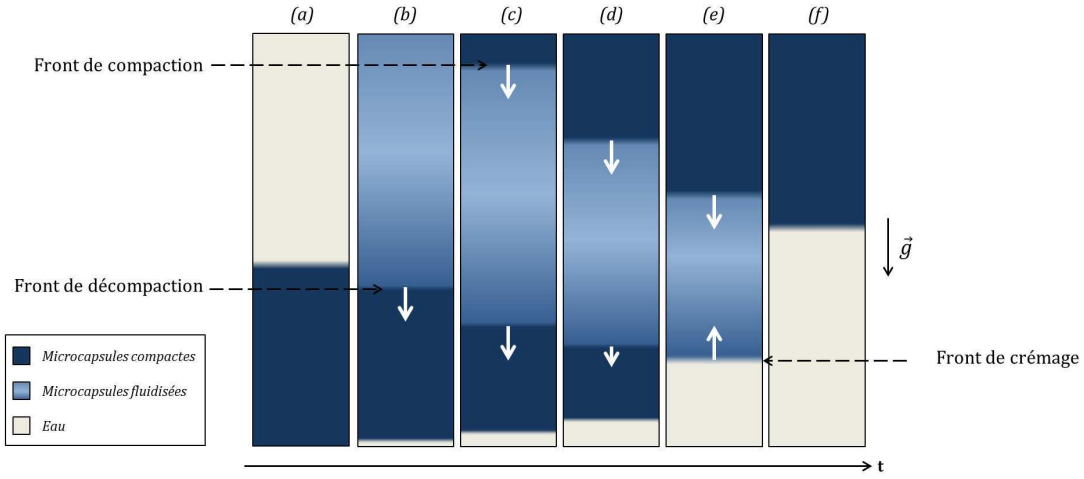


Figure 9.22 – Représentation schématique du crémage de microcapsules d'huile dans une colonne d'eau. Les flèches blanches traduisent le mouvement de la position des différents fronts.

On distingue dans la colonnes trois fronts correspondants à des variations abruptes de la concentration en microcapsules :

- Le front de crémage des capsules, qui correspond à la limite capsules/eau et qui remonte au cours du temps sous l'effet de la gravité à la vitesse $v'(\Phi, D)$.
- Le front de décompaction, qui correspond à la frontière entre les capsules compactées et les capsules fluidisées, et dont la position descend au cours du temps.
- Le front de compaction, qui correspond à la frontière des capsules qui s'entassent et se compactent au sommet de la colonne, et qui descend au cours du temps.

Au début de l'expérience, les capsules sont compactées en bas de la colonne et commencent à remonter sous l'effet de la gravité (images *(a)* et *(b)*). On voit apparaitre une variation abrupte de la concentration en capsules entre la zone compacte et la zone fluidisée, que l'on appelle front de décompaction. La position de ce front descend au cours du temps (images *(b)* à *(d)*), jusqu'à ce que toutes les capsules soient fluidisées. Le front de crémage devient la frontière entre les capsules fluidisées qui crèment à la vitesse v'_0 et l'eau (image *(e)*). Dans le même temps, les capsules qui crèment se compactent au sommet de la colonne, et on voit apparaître un front de compaction. Ce front descend au cours du temps (images *(c)* à *(e)*). À la fin de l'expérience, nous retrouvons le poreux de capsules compactes au sommet de la colonne (image *(f)*).

d. Discussion

Le diagramme spatio-temporel de l'écoulement des microcapsules est en accord avec la simulation numérique : on observe des frontières linéaires entre les zones compactes et fluidisées. Cependant, compte tenu de la résolution des images obtenues dans l'expérience, il est impossible de distinguer le gradient de fraction volumique Φ dans la zone fluidisée et dans la zone de

compaction au sommet de la colonne. Dans la suite, nous ferons donc l'hypothèse de fractions volumiques constantes dans chaque zone.

Si on appelle Φ la fraction volumique de capsules dans la zone fluidisée et Φ_0 celle de la zone compacte, la conservation du volume doit nous imposer (voir Figure 9.23(a)) :

$$v_c = \left(\frac{\Phi}{\Phi_0 - \Phi} \right) v_{cr} \tag{9.16}$$

avec v_c la vitesse de compaction et v_{cr} la vitesse de crémage des capsules fluidisées.

Un autre bilan de matière permet également d'écrire que la vitesse de compaction v_c est égale à la vitesse de décompaction v_d (voir Figure 9.23(b)) :

$$v_c(\Phi_0 - \Phi) = v_d(\Phi_0 - \Phi) \tag{9.17}$$

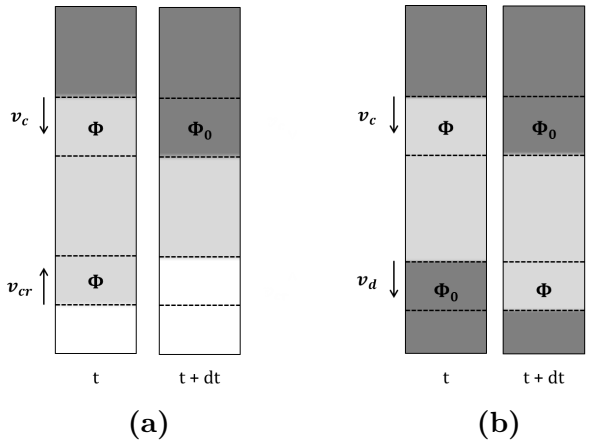


Figure 9.23 – **(a)** Schéma du bilan de matière entre la vitesse de compaction v_c et la vitesse de crémage fluide v_{cr}. **(b)** Schéma du bilan de matière entre la vitesse de compaction v_c et la vitesse de décompaction v_d.

Mesure des vitesses et détermination de Φ *:* La mesure de la pente des différentes frontières linéaires permet d'estimer la vitesse de décompaction v_d , la vitesse de crémage "fluide" v_{cr} ainsi que la vitesse de compaction v_c. L'erreur de mesure de l'angle de la pente est d'environ 1°.

À partir de l'équation (9.16), on peut déterminer la fraction volumique Φ de la zone fluidisée. Elle est calculée avec une valeur de Φ_0 égale à 0,6 ± 0,02. Les résultats sont présentés dans le Tableau 9.2.

Tableau 9.2 – Vitesses des différents fronts et fraction volumique Φ des microcapsules dans une colonne de diamètre D = 3mm. *Les vitesses sont en mm/s.*

v_c	v_d	v_{cr}	Φ
1,87 ± 0,3	1,77 ± 0,3	2,81 ± 0,3	0,24 ± 0,05

On remarque que les vitesses de compaction v_c et de décompaction v_d sont similaires,

ce qui est en accord avec l'équation (9.17). La fraction volumique Φ calculée est de l'ordre de grandeur de la fraction volumique donnant le flux maximal (voir la Figure 9.19(b)).

Finalement, cette expérience préliminaire nous permet de valider qualitativement le modèle théorique. Nous avons mesuré les vitesses des différents front et déduit une fraction volumique "moyenne" de l'ordre de grandeur de Φ_n qui fixe le flux maximal $\Phi_n v$ vers lequel converge le flux de l'écoulement. Néanmoins, des expériences supplémentaires doivent être réalisées afin de mesurer l'effet de D sur la vitesse de l'écoulement qui nous permettra de valider quantitativement notre modèle théorique.

Finalement, nous avons démontré la phénoménologie de l'écoulement d'une dispersion non homogène dans un milieu confiné. Nous avons montré que la vitesse de l'écoulement converge vers le flux maximum, qui dépend du diamètre du tube via la dissipation due au confinement.

Conclusion sur l'écoulement de microcapsules dans un sablier

Dans cette dernière partie, nous nous sommes intéressés à l'écoulement de microcapsules concentrées dans l'eau. Dans un premier temps, nous avons étudié le comportement statique des microcapsules dans l'eau, et nous avons mis en évidence l'existence d'un angle de repos. La suspension macroscopique de microcapsules présente un comportement statique similaire à celui d'un matériau granulaire classique. La présence de la membrane rigide d'alginate confère au système un coefficient de friction non nul. Nous avons montré qu'il est possible de modifier cette friction en ajoutant un tensioactif dans la phase continue : la dispersion de microcapsules passe d'un comportement statique type granulaire (angle de repos non nul) à un comportement liquide (surface libre horizontale).

Dans un second temps, la fabrication de plusieurs "sabliers liquides" nous a permis de mesurer des vitesses d'écoulement en fonction du diamètre du col des sabliers. Nous avons montré que la vitesse d'écoulement est constante et ne dépend pas de la hauteur initiale de capsules dans le sablier. De plus, nous avons également montré que la vitesse de l'écoulement dépend du diamètre du col des sabliers et suit une loi comparable à celle des sabliers classiques (loi de Berverloo).

Nous avons par la suite cherché à expliquer les phénomènes physiques mis en jeu dans l'écoulement des microcapsules. Nous avons tout d'abord montré que la vitesse de l'écoulement ne dépend pas de la friction entre les microcapsules. Nous avons ensuite réalisé deux expériences annexes qui permettent de découpler deux phénomènes :

- D'une part, nous avons considéré un écoulement régit par la loi de Darcy dans le poreux de microcapsules. Cette hypothèse a permis de valider une vitesse constante et indépendante de la hauteur de capsules. De plus, une expérience de lit fluidisé a permis de vérifier les ordres de grandeurs des vitesses mesurées dans les sabliers. Néanmoins, la loi de Darcy ne permet d'expliquer la variation de la vitesse avec la taille du col du sablier.

- Une expérience de crémage de microcapsules dans un tube de diamètre constant $D \simeq 7 \times d_{caps}$ nous a permis de caractériser l'écoulement dans le col des sabliers. Nous avons adapté un modèle théorique de sédimentation à un milieu confiné, ce qui nous a permis de comprendre que le temps moyen d'écoulement est déterminé par le flux maximum. Ce flux maximum des conditions initiales (fraction volumique et hauteur de capsules) et d'une loi de vitesse de crémage des capsules fixée par le diamètre du tube.

Finalement, nous avons démontré que l'écoulement d'une dispersion de particules dans un tube dont le diamètre D est proche du diamètre des particules converge rapidement vers un débit maximum fixé par ce diamètre.

Nos observations expérimentales préliminaires nous ont permis de conclure que l'écoulement dans les sabliers n'est pas conditionné par des effets d'arches comme dans les granulaires classiques. Il est purement lié à un phénomène hydrodynamique dont la dissipation est localisée dans le col des sabliers sous l'effet du confinement. Nous avons démontré et vérifié qualitativement que le débit de l'écoulement converge rapidement vers un débit maximum fixé par le diamètre du col via la vitesse de crémage d'une particule et la fraction volumique locale. Des expériences supplémentaires doivent être réalisées afin de valider notre modèle par des résultats quantitatifs.

ANNEXE C

Fluidisation d'un lit de microcapsules

Cette expérience permet de modéliser l'écoulement de l'eau dans le poreux de capsules par un modèle de Darcy, sans prendre en compte l'écoulement dans le rétrécissement du col du sablier.

C.1 Description de l'expérience

L'invention du lit fluidisé revient au chimiste allemand Fritz Winkle, qui en 1922 réalisa la première application industrielle de fluidisation à la combustion du charbon réduit en poudre. Aujourd'hui, les lits fluidisés sont utilisés dans certains procédés industriels (les réactions catalytiques ou les combustions par exemple) afin d'assurer un meilleur échange de masse ou de chaleur entre une phase fluide en écoulement et une phase solide sous forme de particules. Le "lit" de particules est placé dans un courant ascendant de fluide. Ces dernières étant plus denses que le fluide en question, elles ont tendance à sédimenter pour former un empilement compact (poreux). Au contraire, le courant inverse de fluide tend à soulever les particules. Lorsque le débit de fluide est tel que la traînée est supérieure au poids apparent des particules, elles sont alors soulevées du fond et le sédiment devient moins compact. On parle alors de fluidisation du lit de particules. On peut alors déterminer le débit minimal de fluidisation du lit et déterminer la faction volumique de particules en fonction du débit de fluide.

Dans le cas des microcapsules d'alginate, nous avons adapté l'expérience de lit fluidisé à un système non pas de sédimentation, mais de crémage. La Figure C.1 présente un schéma de l'expérience de lit fluidisé avec les microcapsules. Un volume V_{caps} de microcapsules est disposé dans une colonne cylindrique de section constante S remplie d'eau. Une membrane semi-perméable est située au dessus du lit de capsules. La hauteur du lit capsules est appelée

H. Un écoulement d'eau descendant est contrôlé par un pousse-seringue (entrée A). L'eau, que l'on considère en flux laminaire, traverse la membrane semi-perméable et le lit de capsules avant d'être évacuer par une sortie (point B). À l'état initial, c'est-à-dire pour un écoulement d'eau à vitesse nulle, la hauteur des capsules vaut H_0.

Dans cette expérience, on cherche à mesurer la différence de pression entre les deux extrémités de la colonne, c'est-à-dire entre les points A et B. Pour cela, on connecte le système aux points A et B et on effectue une lecture de la différence de hauteur d'eau Δh, qui nous donne directement ΔP avec :

$$\Delta P = P_A - P_B = \rho g \Delta h \tag{C.1}$$

Ce montage permet de mesurer la différence de pression dynamique entre A et B en "court-circuitant" la différence de pression hydrostatique.

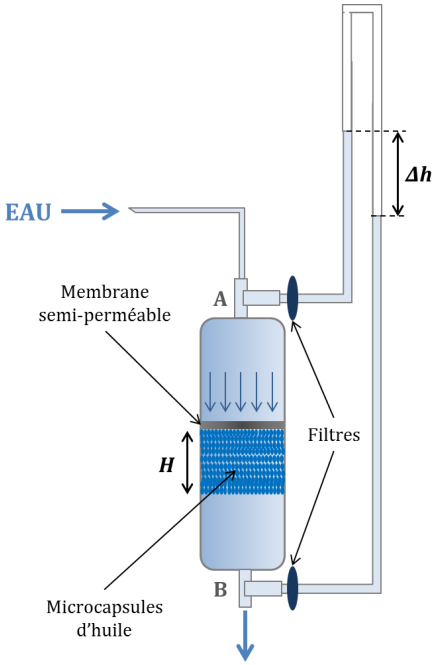


Figure C.1 – Schéma de l'expérience de lit fluidisé avec les microcapsules de diamètre 412 μm. Les deux filtres situés aux points A et B servent de résistance (perte de charge) et évitent que l'écoulement de l'eau ne soit dévié de la colonne.

C.2 Résultats

L'expérience consiste à faire varier le débit d'écoulement d'eau et de mesurer pour chaque débit :

- La différence de hauteur Δh du fluide, afin d'en déduire ΔP.
- La hauteur du lit de capsules, afin de calculer sa fraction volumique Φ.

Les résultats de l'expérience sont présentés dans la Figure C.2. La courbe bleue représente la variation du différentiel de pression ΔP en fonction du débit de l'écoulement d'eau dans la colonne Q ou de sa vitesse $q = \dfrac{Q}{S}$. La courbe rose donne quant à elle la variation de la fraction volumique de capsules Φ en fonction de Q et q.

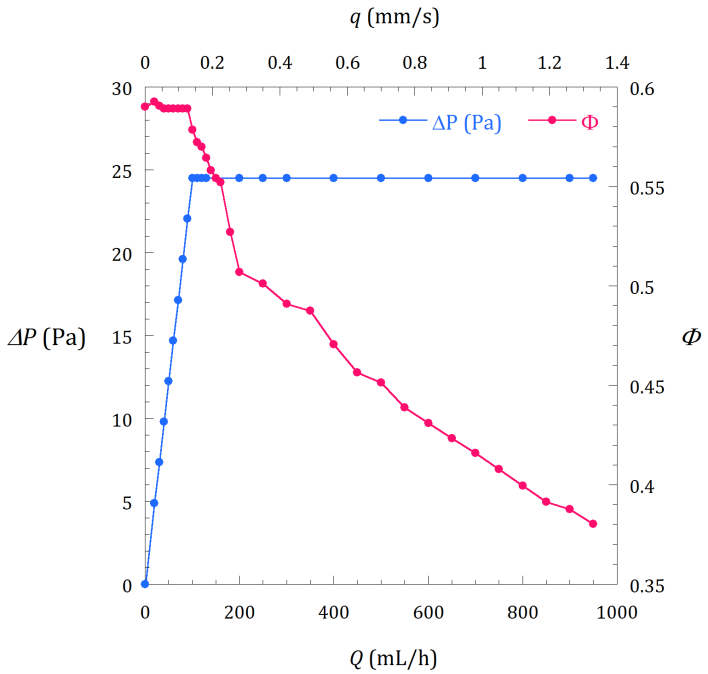


Figure C.2 – Variation de la différence de pression ΔP entre les extrémités de la colonne et de la fraction volumique du lit de capsules Φ en fonction du débit d'écoulement de l'eau Q (ou de sa vitesse $q = Q/S$) L'expérience a été réalisée avec des capsules de diamètre égal à 412 μm.

Sur le graphique, on distingue deux régimes distincts :

- **Pour $Q < 100$ mL/h (respectivement $q < 0{,}15$ mm/s)** : ΔP est linéaire en fonction de q, et la pente vaut 166 Pa.mm^{-1}.s. On retrouve donc dans ce régime la loi de Darcy, où le différentiel de pression est proportionnel à la vitesse moyenne d'écoulement dans un poreux de compacité Φ_0. Cherchons à calculer cette fraction Φ_0 à partir de la loi de Darcy établie dans la partie 9.4.2. On sait que la pente est égale à $\dfrac{H\eta}{k}$, avec H la hauteur du poreux de microcapsules et η la viscosité de l'eau. D'autre part, la perméabilité k s'exprime grâce à la relation d'Ergun : $k = \dfrac{(1-\Phi)^3\, d^2}{180\ \Phi^2}$. Grâce à ces deux relations, on peut calculer la fraction volumique Φ du poreux comme solution de l'équation :

$$\frac{(1-\Phi)^3}{\Phi^2} = \frac{180 H\eta}{pente \times d^2}$$

  Dans ce régime compacté, la hauteur H est égale à 3,25 cm. On obtient donc une compacité Φ_0 constante et égale à 0,59. Cette valeur est légèrement plus faible que la compacité de 64% d'un empilement aléatoire le plus dense. Cette différence peut provenir de l'erreur sur le diamètre des capsules d, sur la valeur de la viscosité de l'eau qui dépend

fortement de la température ou encore de l'erreur expérimentale sur la mesure de H.

- **À partir de $Q = 100$ mL/h (respectivement $q = 0{,}15$ mm/s)** : ΔP est constante et égale à 24,5 Pa. Par ailleurs, la compacité Φ diminue au fur et à mesure que la vitesse d'écoulement q augmente (la hauteur H augmente). Ce régime correspond au régime de fluidisation du lit de capsules. Dans ce régime, la différence de pression compense exactement le poids de l'eau et des capsules. Ainsi :

$$\Delta P = (\rho_{eau} - \rho_{caps})\ g\ \Phi\ H$$

Par conservation du volume, le produit $\Phi\ H$ est constant, et on comprend donc que ΔP ne varie plus au delà du seuil de fluidisation. L'application numérique avec un fraction volumique Φ de 0,6 pour une hauteur H de 3,25 cm (correspondant à l'état initial), donne une valeur de ΔP égale à 22 Pa, ce qui est en accord avec le résultat de la mesure expérimentale.

Loi phénoménologique de Richardson-Zaki : On rappelle que la vitesse de crémage d'une particule dans un milieu infini est freinée par la présence d'autres particules. Elle dépend donc de la fraction volumique selon la loi de Richardson-Zaki.

$$\frac{v_{cr}}{v_0} = (1 - \Phi)^n$$

Dans le cas d'une microcapsule d'huile de diamètre égal à 430 μm qui crème dans l'eau pure, la vitesse v_0 est égale à 11,3 mm/s.

Dans l'expérience de lit fluidisé, nous avions mesuré la vitesse d'écoulement q de l'eau à travers le lit de capsule de fraction volumique Φ. Par changement de référentiel, cette vitesse q est équivalente à la vitesse de crémage v_{cr}. On peut donc tracer la variation de v_{cr} normalisée par v_0 en fonction de Φ grâce aux points expérimentaux de l'expérience de lit fluidisé. On obtient alors la courbe présentée dans la Figure C.3. La valeur de la vitesse de Stokes a été ajoutée aux points expérimentaux, et on peut ajuster ces points par une loi de type Richardson-Zaki (équation (9.10)) avec un coefficient n égal à 4,8.

Finalement, l'expérience de fluidisation des microcapsules permet de valider la loi phénoménologique de Richardson-Zaki.

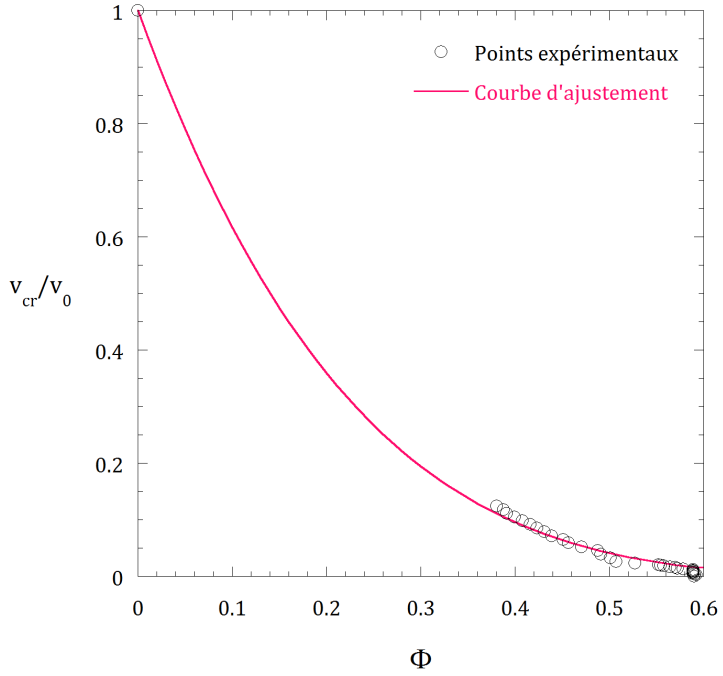


Figure C.3 – Variation de la fraction volumique Φ de la zone fluidisée en fonction du diamètre du tube.

C.3 Conclusion

Dans cette expérience de lit fluidisé, nous avons mis en évidence les deux régimes du poreux : compact ou fluidisé. Dans le régime de Darcy, nous retrouvons une fraction volumique proche d'un empilement compact, ce qui est compatible avec les expériences d'écoulement dans les sabliers. De plus, la rupture de régime est observé pour une vitesse minimale de fluidisation de 0,15 mm/s. On comprend alors pourquoi dans les expériences de mesure de vitesse du front dans les sabliers, nous observions des remous lors de l'écoulement des petites capsules dans les sabliers C et D. En effet, les vitesses mesurées dans ces deux cas étaient d'environ 0,2 mm/s. Pour une telle vitesse d'écoulement, le poreux de capsules se trouvait alors dans le régime fluidisé.

On retrouve donc des ordres de grandeurs comparables aux valeurs expérimentales, mais le modèle de Darcy ne permet par d'expliquer la variation de la vitesse en fonction du diamètre du col.

ANNEXE D

Théorie de la sédimentation

D.1 Construction des lignes de discontinuité

Considérons à l'instant initial deux fractions volumiques Φ_1 et Φ_2. On construit le diagramme x *vs* t en traçant les droites "iso-Φ" dans les régions à Φ constante. Les pentes $V(\Phi_1)$ et $V(\Phi_2)$ étant différentes, on voit apparaître une zone dans laquelle les différentes droites se coupent. Cette solution étant physiquement inacceptable, on doit construire une ligne de discontinuité entre les deux zones à Φ_1 et Φ_2 (voir la Figure D.1).

Ainsi, un changement brutal de concentration entraîne une ligne de discontinuité (un front) qui se déplace à une vitesse U. Par conservation de la matière, le flux de particules dans la zone à la concentration Φ_1 est égal au flux de particules dans la zone à la concentration Φ_2.

$$\Phi_1 v_1 + \Phi_1 U = \Phi_2 v_2 + \Phi_2 U \tag{D.1}$$

Finalement, le front se déplace avec une vitesse égale à :

$$U = \frac{\Phi_1 v_1 - \Phi_2 v_2}{\Phi_2 - \Phi_1} \tag{D.2}$$

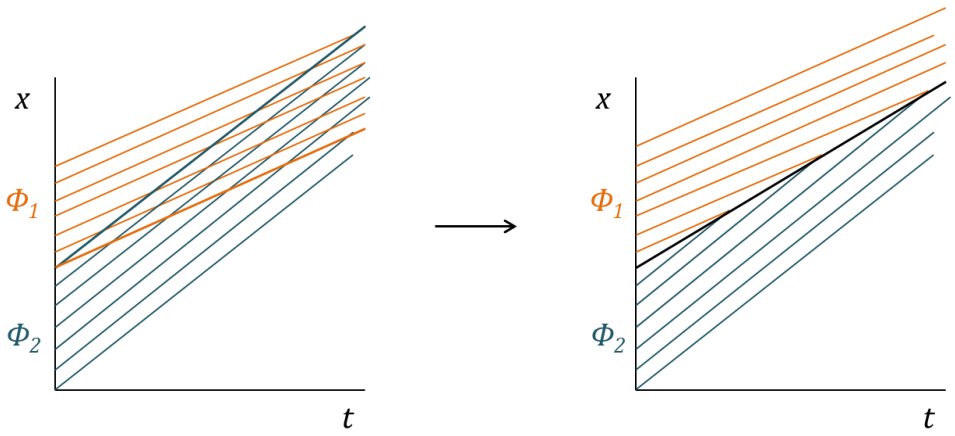


Figure D.1 – Représentation schématique de la construction d'une ligne de discontinuité dans un diagramme spatio-temporel.

Conclusion générale

Dans ce travail de thèse, nous avons examiné et caractérisé les propriétés physico-chimiques spécifiques de capsules à cœur liquide possédant une membrane d'alginate. Ces structures cœur-coque sont élaborées par un procédé original millifluidique mis au point au laboratoire, qui consiste à gélifier une solution d'alginate enveloppant une goutte liquide (aqueuse ou huileuse) par coextrusion en régime goutte-à-goutte ou par fragmentation d'un jet composé. Elle permet de fabriquer des capsules biocompatibles millimétriques ou sub-millimétriques dont la membrane d'alginate possède une épaisseur variable de 150 à moins de 40 μm. Ces capsules ont déjà trouvé des applications en cosmétique (produits Capsum) et en biophysique comme capteur de pression d'un amas cellulaire en croissance [Alessandri et al., 2013]. Au regard de leurs applications potentielles, l'objectif de ce travail s'est naturellement orienté vers la caractérisation des propriétés physico-chimiques fondamentales de ces objets originaux.

Partant de l'observation que les capsules d'alginate sont très stables dans un volume infini d'eau pure, nous nous sommes dans un premier temps intéressé à la stabilité de l'hydrogel d'alginate. La réalisation de diagramme de phases a permis de confirmer que la présence d'ions chélatant permet de dissoudre l'hydrogel, et de démontrer que la présence d'un sel monovalent n'a aucune influence sur l'équilibre thermodynamique du gel. Cependant, en étudiant la stabilité d'une capsule dans une solution saline à potentiel chimique constant, nous avons montré que la force ionique permet d'augmenter la constante de vitesse de dissociation k_{off} du gel selon une loi empirique $k_{off} \sim \ln I$.

Nous avons ensuite mis en place des techniques spécifiques de caractérisation de l'hydrogel d'alginate sous forme de membrane solide enveloppant un cœur liquide.

Dans la deuxième partie, nous nous sommes intéressés aux propriétés de perméabilité de la membrane d'alginate en étudiant la fuite de solutés. La fuite totale du Glucose et du Dextran 20 et la fuite partielle du Dextran 2000 polydisperse a permis de mettre en évidence la semi-perméabilité de l'hydrogel, et nous avons estimé un rayon de coupure de 20 nm. En mesurant les coefficients de diffusion des différents solutés dans le gel, nous avons montré que le

glucose et le Dextran 20 diffusent librement dans le réseau ($D_{gel} \simeq D_{eau}$) alors que dans le cas du Dextran 2000, la diffusion est gênée ($D_{gel} \ll D_{eau}$). D'autre part, nous avons présenté une stratégie d'encapsulation de petits solutés hydrophiles par ajout d'une couche hydrophobe entre le cœur aqueux et la membrane d'alginate. Nous avons démontré que le temps caractéristique de transport est déterminé par la géométrie du système et les propriétés de solubilité du soluté dans la phase huileuse. Lorsque le composé est très hydrophile, le temps caractéristique est très grand devant l'échelle de temps d'utilisation des matériaux. Le composé est donc totalement piégé dans ce nouveau type de capsule à double membrane hydrogel et huile.

Dans la troisième partie, nous avons présenté deux expériences mises au point spécifiquement pour l'étude des comportements mécaniques des capsules d'alginate. Dans un premier temps, nous nous sommes penchés sur l'étude du comportement d'une capsule unique soumise à une différence de pression osmotique. Le gonflement de la capsule sous pression entraîne un étirement de la membrane. Lorsque la contrainte est grande, le gonflement induit une rupture de la membrane et une relaxation de la déformation qui nous a permis de sonder les régimes viscoélastiques et viscoplastiques. Nous avons estimé un seuil de plasticité à partir duquel la capsule présente une déformation résiduelle, liée à la déstructuration irréversible des points de réticulation du gel physique (*dezipping* des structures type "boites d'œufs"). Lorsque la contrainte est plus faible, la déformation de la capsule présente une saturation correspondant au régime élastique de la membrane, à partir duquel nous avons estimé un module d'Young. Dans un deuxième temps, nous nous sommes intéressés au comportement mécanique d'une collection de microcapsules concentrées soumise à une compression. Nous avons déterminé une équation d'état du système, et nous avons démontré la compressibilité du gel soumis à une contrainte de compression non isotrope. Nous avons mis en évidence que la plasticité du matériau est due à l'expulsion irréversible de l'eau du gel qui entraîne une rigidification de sa structure.

Dans la dernière partie, nous nous sommes intéressé à l'écoulement d'une suspension concentrée de microcapsules dans l'eau. Nous avons mis en évidence l'existence d'une friction statique dans les microcapsules qu'il est possible de supprimer par ajout d'un tensioactif dans la phase continue. Cette observation nous a amené à regarder la manière dont s'écoulent ces objets dans un sablier liquide. Nos expériences ont montré que la vitesse de l'écoulement est constante et indépendante de la hauteur de microcapsules, et qu'elle varie en fonction du diamètre du col. Nous avons montré dans un premier temps que la friction n'avait aucun effet, et que le contre écoulement de l'eau dans le poreux composé de capsules n'est pas l'origine principale de la dissipation. En effet, la loi de Darcy ne permet pas d'expliquer l'influence du diamètre du col sur la vitesse d'écoulement. Pour caractériser l'écoulement au niveau du col des sabliers, nous avons mis au point une expérience de crémage dans des tubes à section constante. Nous avons alors démontré que la dissipation est essentiellement localisée dans le col et que l'écoulement est lié à un phénomène purement hydrodynamique dû aux effets de confinement dans le col. Finalement, le temps moyen d'écoulement est déterminé par le flux qui converge rapidement vers un flux maximal qui dépend du diamètre du col via la vitesse de crémage d'une particule. Nos observations expérimentales ont permis de valider qualitativement nos conclusions théoriques,

et des expériences supplémentaires seront réalisées pour une démonstration quantitative.

En conclusion, nous avons mis en œuvre différentes techniques expérimentales spécifiques à la caractérisation des propriétés de structures constituées d'une coque d'hydrogel d'alginate et d'un cœur liquide dont la réponse est intimement liée à leur fabrication. La complexité de ces objets découle d'un procédé de mise en forme inédit, et la compréhension de leurs comportements singuliers les rend d'autant plus valorisables pour des applications en biotechnologie ou en cosmétique.

Bibliographie

Agnely, F., Djedour, A., Bochot, A., and Grossiord, J. (2006). Properties of various thermoassociating polymers : pharmaceutical and cosmetic applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 16(1) :3–10.

Ahearne, M., Yang, Y., El Haj, A. J., Then, K. Y., and Liu, K.-K. (2005). Characterizing the viscoelastic properties of thin hydrogel-based constructs for tissue engineering applications. *Journal of the Royal Society, Interface / the Royal Society*, 2(5) :455–63.

Alessandri, K., Sarangi, B. R., Gurchenkov, V. V., Sinha, B., Kiessling, T. R., Fetler, L., Rico, F., Scheuring, S., Lamaze, C., Simon, A., Geraldo, S., Vignjevic, D., Domejean, H., Rolland, L., Funfak, A., Bibette, J., Bremond, N., and Nassoy, P. (2013). Cellular capsules as a tool for multicellular spheroid production and for investigating the mechanics of tumor progression in vitro. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, pages 1309482110–.

Amsden, B. (1998). Solute Diffusion within Hydrogels. Mechanisms and Models. *Macromolecules*, 31(23) :8382–8395.

Amsden, B. (2001). Diffusion in Polyelectrolyte Hydrogels :Â Application of an Obstruction-Scaling Model to Solute Diffusion in Calcium Alginate. *Macromolecules*, 34(5) :1430–1435.

Anseth, K. S., Bowman, C. N., and Brannon-Peppas, L. (1996). Mechanical properties of hydrogels and their experimental determination. *Biomaterials*, 17(17) :1647–1657.

Augst, A. D., Kong, H. J., and Mooney, D. J. (2006). Alginate hydrogels as biomaterials. *Macromolecular Bioscience*, 6(8) :623–633.

Baumberger, T. and Ronsin, O. (2010). Cooperative effect of stress and ion displacement on the dynamics of cross-link unzipping and rupture of alginate gels. *Biomacromolecules*, 11(6) :1571–8.

Beverloo, W., Leniger, H., and van de Velde, J. (1961). The flow of granular solids through orifices. *Chemical Engineering Science*, 15(3-4) :260–269.

Blandino, A., Macias, M., and Cantero, D. (1999). Formation of calcium alginate gel capsules : Influence of sodium alginate and CaCl2 concentration on gelation kinetics. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 88(6) :686–689.

Bonnet-Gonnet, C., Belloni, L., and Cabane, B. (1994). Osmotic Pressure of Latex Dispersions. *Langmuir*, 10(11) :4012–4021.

Boycott, A. E. (1920). Sedimentation of Blood Corpuscles. *Nature*, 104(2621) :532–532.

Brandenberger, H., Nüssli, D., Piëch, V., and Widmer, F. (1999). Monodisperse particle production : A method to prevent drop coalescence using electrostatic forces. *Journal of Electrostatics*, 45(3) :227–238.

Breguet, V., Gugerli, R., Pernetti, M., von Stockar, U., and Marison, I. W. (2005). Formation of microcapsules from polyelectrolyte and covalent interactions. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 21(21) :9764–72.

Bremond, N., Santanach-Carreras, E., Chu, L. Y., and Bibette, J. (2010). Formation of liquid-core capsules having a thin hydrogel membrane : liquid pearls. *Soft Matter*, 6(11) :2484–2488.

Cabane, B. and Hénon, S. (2007). *Liquides : Solutions, dispersions, émulsions, gels*. Belin.

Chang, T. M. S. (1964). Semipermeable Microcapsules. *Science*, 146(3643) :524–525.

Chen, X., Martin, B., Neubauer, T., Linhardt, R., Dordick, J., and Rethwisch, D. (1995). Enzymatic and chemoenzymatic approaches to synthesis of sugar-based polymer and hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 28(1) :15–21.

Crank, J. (1975). *The Mathematics of Diffusion*. Oxford University Press.

Danicher, L., Gramain, P., Frère, Y., and Le Calvé, A. (1999). Model capsules. *Reactive and Functional Polymers*, 42(1) :111–125.

Devanand, K. and Selser, J. C. (1991). Asymptotic behavior and long-range interactions in aqueous solutions of poly(ethylene oxide). *Macromolecules*, 24(22) :5943–5947.

Donath, E., Sukhorukov, G., Caruso, F., Davis, S., and Mohwald, H. (1998). Novel hollow polymer shells by colloid-templated assembly of polyelectrolytes. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 37(16) :2202–2205.

Draget, K., Skjakbrak, G., and Smidsrod, O. (1994). Alginic acid gels : the effect of alginate chemical composition and molecular weight. *Carbohydrate Polymers*, 25(1) :31–38.

Draget, K., Smidsrod, O., and Skjakbrak, G. (2005). *Alginates from Algae*.

Drury, J. L., Dennis, R. G., and Mooney, D. J. (2004). The tensile properties of alginate hydrogels. *Biomaterials*, 25(16) :3187–3199.

Duran, J. (1997). *Sables, poudres et grains - Introduction à la physique des milieux granulaires*. Eyrolles.

Eggers, J. and Villermaux, E. (2008). Physics of liquid jets. *Reports on Progress in Physics*, 71(3) :036601.

Ferreira, L., Seiller, M., Grossiord, J., Marty, J., and Wepierre, J. (1994). Vehicle influence on in vitro release of metronidazole : role of w/o/w multiple emulsion. *International Journal of Pharmaceutics*, 109(3) :251–259.

Fundueanu, G., Nastruzzi, C., Carpov, A., Desbrieres, J., and Rinaudo, M. (1999). Physico-chemical characterization of Ca-alginate microparticles produced with different methods. *Biomaterials*, 20(15) :1427–1435.

Goedde, E. F. and Yuen, M. C. (1970). Experiments on liquid jet instability. *Journal of Fluid Mechanics*, 40(03) :495.

Gombotz, W. (1998). Protein release from alginate matrices. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 31(3) :267–285.

Gong, J. P. (2006). Friction and lubrication of hydrogels : its richness and complexity. *Soft Matter*, 2(7) :544.

Guazzelli, E. and Morris, J. F. (2012). Sedimentation. In *A physical Introduction to Suspension Dynamics*, chapter 6, pages 125–155. Cambridge University Press.

Guyon, E., Hulin, J.-P., and Petit, L. (2001). *Hydrodynamique physique*. EDP Sciences.

Hannoun, B. J. and Stephanopoulos, G. (1986). Diffusion coefficients of glucose and ethanol in cell-free and cell-occupied calcium alginate membranes. *Biotechnology and bioengineering*, 28(6) :829–35.

Hennequin, Y., Pannacci, N., de Torres, C. P., Tetradis-Meris, G., Chapuliot, S., Bouchaud, E., and Tabeling, P. (2009). Synthesizing microcapsules with controlled geometrical and mechanical properties with microfluidic double emulsion technology. *Langmuir : the ACS journal of surfaces and colloids*, 25(14) :7857–61.

Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1) :3–12.

Jen, A. C., Wake, M. C., and Mikos, A. G. (1996). Review : Hydrogels for cell immobilization. *Biotechnology and bioengineering*, 50(4) :357–64.

Johnston, A. P., Cortez, C., Angelatos, A. S., and Caruso, F. (2006). Layer-by-layer engineered capsules and their applications. *Current Opinion in Colloid & Interface Science*, 11(4) :203–209.

Kashyap, N., Kumar, N., and Kumar, M. N. V. R. (2005). Hydrogels for Pharmaceutical and Biomedical Applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 22(2) :107–150.

Keowmaneechai, E. and McClements, D. J. (2002). Influence of EDTA and Citrate on Physicochemical Properties of Whey Protein-Stabilized Oil-in-Water Emulsions Containing CaCl 2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(24) :7145–7153.

Kim, D.-G., Jeong, Y.-I., Choi, C., Roh, S.-H., Kang, S.-K., Jang, M.-K., and Nah, J.-W. (2006). Retinol-encapsulated low molecular water-soluble chitosan nanoparticles. *International Journal of Pharmaceutics*, 319(1-2) :130–8.

Klein, J., Stock, J., and Vorlop, K. D. (1983). Pore size and properties of spherical Ca-alginate biocatalysts. *European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology*, 18(2) :86–91.

Kong, H. J., Lee, K. Y., and Mooney, D. J. (2003). Nondestructively probing the cross-linking density of polymeric hydrogels. *Macromolecules*, 36(20) :7887–7890.

Kopeček, J. and Yang, J. (2007). Hydrogels as smart biomaterials. *Polymer International*, 56(9) :1078–1098.

Köster, S., Angilè, F. E., Duan, H., Agresti, J. J., Wintner, A., Schmitz, C., Rowat, A. C., Merten, C. A., Pisignano, D., Griffiths, A. D., and Weitz, D. A. (2008). Drop-based microfluidic devices for encapsulation of single cells. *Lab on a chip*, 8(7) :1110–5.

Kuusela, E., Lahtinen, J., and Ala-Nissila, T. (2004). Sedimentation dynamics of spherical particles in confined geometries. *Physical Review E*, 69(6) :066310.

Kynch, G. J. (1952). A theory of sedimentation. *Transactions of the Faraday Society*, 48 :166.

Landau, L. and Lifchitz, E. (1990). *Théorie de l'élasticité*. MIR, 2nd edition.

Lee, E. and Kim, B. (2011). Smart delivery system for cosmetic ingredients using pH-sensitive polymer hydrogel particles. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 28(6) :1347–1350.

Lee, K. Y. and Mooney, D. J. (2001). Hydrogels for Tissue Engineering. *Chemical Reviews*, 101(7) :1869–1880.

Lee, K. Y. and Mooney, D. J. (2012). Alginate : properties and biomedical applications. *Progress in polymer science*, 37(1) :106–126.

Lee, M.-H., Oh, S.-G., Moon, S.-K., and Bae, S.-Y. (2001). Preparation of Silica Particles Encapsulating Retinol Using O/W/O Multiple Emulsions. *Journal of colloid and interface science*, 240(1) :83–89.

Leo, A., Hansch, C., and Elkins, D. (1971). Partition coefficients and their uses. *Chemical Reviews*, 71(6) :525–616.

Li, R. H., Altreuter, D. H., and Gentile, F. T. (1996). Transport characterization of hydrogel matrices for cell encapsulation. *Biotechnology and Bioengineering*, 50(4) :365–373.

Lin, C.-C. and Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations : network design and mathematical modeling. *Advanced drug delivery reviews*, 58(12-13) :1379–408.

Lobato-Calleros, C., Rodriguez, E., Sandoval-Castilla, O., Vernon-Carter, E., and Alvarez-Ramirez, J. (2006). Reduced-fat white fresh cheese-like products obtained from W1/O/W2 multiple emulsions : Viscoelastic and high-resolution image analyses. *Food Research International*, 39(6) :678–685.

Mason, T., Bibette, J., and Weitz, D. (1995). Elasticity of Compressed Emulsions. *Physical Review Letters*, 75(10) :2051–2054.

Mason, T., Lacasse, M.-D., Grest, G., Levine, D., Bibette, J., and Weitz, D. (1997). Osmotic pressure and viscoelastic shear moduli of concentrated emulsions. *Physical Review E*, 56(3) :3150–3166.

Mills, A. A., Day, S., and Parkes, S. (1996). Mechanics of the sandglass. *European Journal of Physics*, 17(3) :97–109.

Miyata, T., Asami, N., and Uragami, T. (1999). A reversibly antigen-responsive hydrogel. *Nature*, 399(6738) :766–9.

Monllor, P., Bonet, M. A., and Cases, F. (2007). Characterization of the behaviour of flavour microcapsules in cotton fabrics. *European Polymer Journal*, 43(6) :2481–2490.

Morales, M. E., Gallardo, V., Clarés, B., García, M. B., and Ruiz, M. A. (2009). Study and description of hydrogels and organogels as vehicles for cosmetic active ingredients. *Journal of cosmetic science*, 60(6) :627–36.

Muite, B. K., Hunt, M. L., and Joseph, G. G. (2004). The effects of a counter-current interstitial flow on a discharging hourglass. *Physics of Fluids*, 16(9) :3415.

Mundargi, R. C., Babu, V. R., Rangaswamy, V., Patel, P., and Aminabhavi, T. M. (2008). Nano/micro technologies for delivering macromolecular therapeutics using poly(D,L-lactide-co-glycolide) and its derivatives. *Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society*, 125(3) :193–209.

Nedderman, R. N. (2005). The prediction of mass flow rate. In *Statics And Kinematics Granular Materials*, chapter 10, pages 292–306. Cambridge University Press.

Nelson, G. (2002). Application of microencapsulation in textiles. *International Journal of Pharmaceutics*, 242(1-2) :55–62.

Nigam, S. C., Tsao, I.-F., Sakoda, A., and Wang, H. Y. (1988). Techniques for preparing hydrogel membrane capsules. *Biotechnology Techniques*, 2(4) :271–276.

Nordmeier, E. (1993). Static and Dynamic Light-scattering Solution Behavior of Pullulan and Dextran In Comparison. *Journal of Physical Chemistry*, 97(21) :5770–5785.

Oswald, P. (2005). *Rhéophysique - Ou comment coule la matière*. Belin, Collection Echelles.

Papon, P., Leblond, J., and Meijer, P. H. (1999). *Physique des transitions de phases - Concepts et applications*. Dunod.

Park, J. K. and Chang, H. N. (2000). Microencapsulation of microbial cells. *Biotechnology Advances*, 18(4) :303–319.

Patel, A. and Mequanint, K. (2011). Hydrogels Biomaterials. In Reza Fazel, P., editor, *Biomedical Engineering - Frontiers and Challenges*, chapter 14. Intech edition.

Peppas, N. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 50(1) :27–46.

Peppas, N. A., Huang, Y., Torres-Lugo, M., Ward, J. H., and Zhang, J. (2000). Physicochemical foundations and structural design of hydrogels in medicine and biology. *Annual review of biomedical engineering*, 2 :9–29.

Peyratout, C. S. and Dähne, L. (2004). Tailor-made polyelectrolyte microcapsules : from multilayers to smart containers. *Angewandte Chemie (International ed. in English)*, 43(29) :3762–83.

Potter, K., Balcom, B. J., Carpentier, T. A., and Hall, L. D. (1994). The Gelation of Sodium Alginate With Calcium-ions Studied By Magnetic-resonance-imaging (mri). *Carbohydrate Research*, 257(1) :117–126.

Princen, H. M. (1986). Osmotic pressure of foams and highly concentrated emulsions. I. Theoretical considerations. *Langmuir*, 2(4) :519–524.

Princen, H. M. and Kiss, A. D. (1987). Osmotic pressure of foams and highly concentrated emulsions. 2. Determination from the variation in volume fraction with height in an equilibrated column. *Langmuir*, 3(1) :36–41.

Qiu, Y. and Park, K. (2001). Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53(3) :321–339.

Rabanel, J. M., Banquy, X., Zouaoui, H., Mokhtar, M., and Hildgen, P. (2009). Progress Technology in Microencapsulation Methods for Cell Therapy. *Biotechnology Progress*, 25(4) :946–963.

Rachik, M., Barthes-Biesel, D., Carin, M., and Edwards-Levy, F. (2006). Identification of the elastic properties of an artificial capsule membrane with the compression test : Effect of thickness. *Journal of Colloid and Interface Science*, 301(1) :217–226.

Rani, S. A., Pitts, B., and Stewart, P. S. (2005). Rapid diffusion of fluorescent tracers into Staphylococcus epidermidis biofilms visualized by time lapse microscopy. *Antimicrobial agents and chemotherapy*, 49(2) :728–32.

Russel, W., Saville, D., and Schowalter, W. (1989). Sedimentation. In *Colloidal Dispersions*, chapter 12, pages 394–428. Cambridge University Press.

Schärtl, W. (2007). *Light Scattering from Polymer Solutions and Nanoparticle Dispersions*. Springer Publishers.

Senis, D., Gorre-Talini, L., and Allain, C. (2001). Systematic study of the settling kinetics in an aggregating colloidal suspension. *The European Physical Journal E*, 4(1) :59–68.

Shah, R. K., Kim, J.-W., Agresti, J. J., Weitz, D. A., and Chu, L.-Y. (2008). Fabrication of monodisperse thermosensitive microgels and gel capsules in microfluidic devices. *Soft Matter*, 4(12) :2303.

Standford, E. (1881). No Title.

Steginsky, C. A., Beale, J. M., Floss, H. G., and Mayer, R. M. (1992). Structural determination of alginic acid and the effects of calcium binding as determined by high-field n.m.r. *Carbohydrate Research*, 225(1) :11–26.

Stegner, A. and Wesfreid, J. (1999). Dynamical evolution of sand ripples under water. *Physical Review E*, 60(4) :R3487–R3490.

Sutterby, J. L. (1973). Falling Sphere Viscometry. I. Wall and Inertial Corrections to Stokes' Law in Long Tubes. *Journal of Rheology*, 17(4) :559.

Tanaka, H., Matsumura, M., and Veliky, I. A. (1984). Diffusion Characteristics of Substrates In Ca-alginate Gel Beads. *Biotechnology and Bioengineering*, 26(1) :53–58.

Tanaka, Y., Gong, J. P., and Osada, Y. (2005). Novel hydrogels with excellent mechanical performance. *Progress in Polymer Science*, 30(1) :1–9.

Tate, T. (1864). XXX. On the magnitude of a drop of liquid formed under different circumstances. *Philosophical Magazine Series 4*, 27(181) :176–180.

Temenoff, J. S. and Mikos, A. G. (2000). Injectable biodegradable materials for orthopedic tissue engineering. *Biomaterials*, 21(23) :2405–2412.

Turco, G., Donati, I., Grassi, M., Marchioli, G., Lapasin, R., and Paoletti, S. (2011). Mechanical spectroscopy and relaxometry on alginate hydrogels : a comparative analysis for structural characterization and network mesh size determination. *Biomacromolecules*, 12(4) :1272–82.

Uludag, H., De Vos, P., and Tresco, P. A. (2000). Technology of mammalian cell encapsulation. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 42(1-2) :29–64.

Utada, A. S., Lorenceau, E., Link, D. R., Kaplan, P. D., Stone, H. A., and Weitz, D. A. (2005). Monodisperse double emulsions generated from a microcapillary device. *Science*, 308(5721) :537–541.

Vandamme, T. F., Poncelet, D., and Subra-Paternault, P. (2007). *Microencapsulation - Des sciences aux technologies*. TEC & DOC.

Veje, C. T. and Dimon, P. (2001). The dynamics of granular flow in an hourglass. *Granular Matter*, 3(3) :151–164.

Venturoli, D. and Rippe, B. (2005). Ficoll and dextran vs. globular proteins as probes for testing glomerular permselectivity : effects of molecular size, shape, charge, and deformability. *American journal of physiology. Renal physiology*, 288(4) :F605–13.

Wang, X. and Spencer, H. G. (1998). Calcium alginate gels : formation and stability in the presence of an inert electrolyte. *Polymer*, 39(13) :2759–2764.

Webber, R. E. and Shull, K. R. (2004). Strain dependence of the viscoelastic properties of alginate hydrogels. *Macromolecules*, 37(16) :6153–6160.

Weiss, J., Scherze, I., and Muschiolik, G. (2005). Polysaccharide gel with multiple emulsion. *Food Hydrocolloids*, 19(3) :605–6015.

Westrin, B. A., Axelsson, A., and Zacchi, G. (1994). Diffusion measurement in gels. *Journal of Controlled Release*, 30(3) :189–199.

Westrin, B. A. and Zacchi, G. (1991). Measurement of Diffusion-coefficients In Gel Beads - Random and Systematic-errors. *Chemical Engineering Science*, 46(8) :1911–1916.

Wichterle, O. (1968). Reshaping a xerogel by mechanical removal and swelling to form a hydrogel contact lens, US Patent 3361858.

Wichterle, O. (1978). Soft Contact Lenses. pages 3–5. New-York.

Wichterle, O. and Lim, D. (1960). Hydrophilic Gels for Biological Use. *Nature*, 185(4706) :117–118.

Wijmans, J. and Baker, R. (1995). The solution-diffusion model : a review. *Journal of Membrane Science*, 107(1-2) :1–21.

Wu, X.-l., Må løy, K., Hansen, A., Ammi, M., and Bideau, D. (1993). Why hour glasses tick. *Physical Review Letters*, 71(9) :1363–1366.

Yildirim, O. E., Xu, Q., and Basaran, O. A. (2005). Analysis of the drop weight method. *Physics of Fluids*, 17(6) :062107.

Zhang, H., Tumarkin, E., Peerani, R., Nie, Z., Sullan, R. M. A., Walker, G. C., and Kumacheva, E. (2006). Microfluidic production of biopolymer microcapsules with controlled morphology. *Journal of the American Chemical Society*, 128(37) :12205–12210.

Zhao, X. H., Huebsch, N., Mooney, D. J., and Suo, Z. G. (2010). Stress-relaxation behavior in gels with ionic and covalent crosslinks RID B-1532-2008 RID B-1067-2008. *Journal of Applied Physics*, 107(6) :63509.

Zhao, Y., Hu, F., Evans, J. J., and Harris, M. T. (2011). Study of sol - gel transition in calcium alginate system by population balance model. *Chemical Engineering Science*, 66(5) :848–858.

Zwolinski, B., Eyring, H., and Reese, C. (1949). Diffusion and membrane permeability 1. *Journal of Physical and Colloid Chemistry*, 53(9) :1426–1453.